

Capítulo 7

Efecto de los metales pesados sobre la diversidad: el caso del mercurio en quelonios

Santiago Monsalve Buriticá y Joan Gastón Zamora Abrego

7.1 Introducción

Los fenómenos de emanación de tóxicos ambientales, de bioacumulación y biomagnificación de metales pesados tienen efectos en la variabilidad de las especies pues los contaminantes pueden afectar la constitución genética produciendo mutaciones génicas o variaciones cromosómicas. En ese orden de ideas, estudiar las mutaciones producto de la exposición a metales pesados es de suma importancia ya que se presentan en todos los seres vivos. Las interacciones ocurridas entre las actividades humanas y los ecosistemas terrestres e hídricos han generado diferentes procesos de perturbación, fragmentación y degradación de hábitats que potencialmente han afectado la biodiversidad del planeta.

Los quelonios dulceacuícolas continentales son considerados depredadores tope haciendo que puedan intercambiar energía a lo largo de los niveles tróficos, esto podría llevar a acumular concentraciones altas de tóxicos a través del consumo de sus presas.

En la actualidad existe un creciente interés en los estudios ecotoxicológicos con reptiles debido a que sus características fisiológicas y ecológicas los hace buenos candidatos como especies bio-monitoras del estado de contaminación del ambiente (Novillo, Noppadon, Márquez y Callard, 2005; Quiroz- Herrera y Palacio-Baena, 2017). Los quelonios, al ser indicadores de bioacumulación, podrían ser importantes para conocer el estado de los metales pesados contaminantes y sus efectos a largo plazo en la variabilidad genética de las poblaciones. Unos de los principales sistemas con mayor contaminación en nuestro país son los sistemas lóticos y lénticos hídricos debido a que los metales pesados han sido emanados de manera constante en ellos, volviéndose contaminantes estables y persistentes en los ambientes acuáticos. Esta revisión intenta acercarse al conocimiento de los efectos que tienen los metales pesados encontrados en sistemas dulceacuícolas en Colombia, así como profundizar en sus secuelas sobre la variabilidad genética, fenotípica y genotípica, de los quelonios continentales (Zapata, Bock y Palacio. 2014).

Los metales pesados están siempre presentes en nuestro ambiente debido tanto a fuentes naturales como antropogénicas. Esta ubicuidad permite que se encuentren prácticamente en todos los organismos vivos, donde ejercen un rango de funciones importantes y complejas; sin embargo, hay una serie de elementos y formas químicas que pueden suponer un serio problema para la salud de la población y del ambiente (Carmona, 2009). En las últimas décadas, la concentración de metales pesados en el ambiente ha tenido un aumento exponencial como consecuencia de las actividades de origen

antrópico por lo que representan en la actualidad una clase importante de contaminante. Los metales pesados y plaguicidas han sido descritos como tóxicos que pueden producir alteraciones en la división celular, el contenido y organización cromosómica de diversos organismos (principalmente referidos a supresión mitótica), poliploidización y degeneración celular; sumado a esto, a nivel de cromosomas individuales se han descrito aneuploidías y fusión de cromátidas hermanas (Barsiene et al., 2006); finalmente, se ha demostrado un efecto selectivo en contra de determinados genotipos por exposición a altas concentraciones de estos metales y se ha propuesto que la interacción de estos con la estructura de las proteínas podría cambiar las propiedades enzimáticas de diferentes genotipos en un locus polimórfico.

La genotoxicidad y la citotoxicidad son importantes indicadores del impacto de los contaminantes en ecosistemas acuáticos ya que pueden estar asociados con efectos en el pool de genes, la salud, la fecundidad y el ciclo biológico de los organismos. Puesto que el análisis de la genotoxicidad es un indicador claro del estado de salud de las poblaciones frente a la exposición a xenobióticos, es importante su análisis en especies de fauna silvestre para el mantenimiento de la biodiversidad (López-Díez y Restrepo-Alzate, 2016). Colombia es un país que no se encuentra exento de problemas de tipo antrópico; la minería ilegal, la expansión agrícola y ganadera, la escasa implementación de procesos ambientalmente amigables en la industria, entre otros conllevan a la contaminación de ecosistemas acuáticos y su biota, generando su posible genotoxicidad en humanos (Calao y Marrugo, 2015). Estudiar los quelonios supone una forma

de comprender estos procesos ya que son considerados bioindicadores de la calidad ecosistémica debido a su tendencia a bioacumular contaminantes ambientales por factores como la longevidad, por ser organismos tope en la cadena trófica y, en algunas especies, por el poco desplazamiento que tienen en diferentes estadios fisiológicos dentro de sus hábitats naturales (Zapata, Bock y Palacio, 2014).

7.2 Clasificación de los metales pesados

Desde los puntos de vista biológico y toxicológico los metales pesados pueden ser clasificados en cuatro grupos:

- a. Metales con toxicidad aparente y con amplia distribución en el ambiente (arsénico, cadmio, plomo, mercurio y uranio).
- b. Metales traza esenciales (cromo, cobalto, manganeso, selenio y zinc).
- c. Metales de importancia biológica (níquel y vanadio).
- d. Metales con interés farmacológico (aluminio, galio, litio y platino) (Carmona, 2009).

7.3 Toxicidad de los metales pesados

Los metales pesados muestran toxicidad cuando no son metabolizados por el organismo y por tanto se acumulan en los tejidos (Carmona, 2009). Las propiedades toxicológicas de los metales pesados dependen en gran medida del elemento metálico involucrado en la toxicidad según el tipo de compuesto formado, si es orgánico o inorgánico, si es hidrofílico o lipofílico. Estos factores determinan la toxicocinética y así sus dianas biológicas (Hartwig, 1998; Carmona, 2009), ya que los metales pesados poseen alta reactividad biológica dada su capacidad para unirse con diversos tipos de moléculas orgánicas. Los procesos de bioacumulación se deben a la imposibilidad por parte del organismo afectado de mantener los niveles necesarios de excreción del contaminante por lo que comienza a almacenarlo en su interior, este proceso se agrava a lo largo de las cadenas tróficas pues los niveles de incorporación experimentan un fuerte incremento a lo largo de sus sucesivos eslabones, así, los animales que hacen parte del tope de esta cadena concentran mayores niveles de contaminantes. La ruta de exposición a metales pesados es múltiple ya que pueden entrar al cuerpo de ejemplares silvestres y humanos a través de alimentos, agua, aire o por absorción cutánea (Carmona, 2009).

Todos los metales pesados pueden causar toxicidad, sin embargo, algunos compuestos pueden desencadenar problemas de diversa índole en el ambiente y sus organismos aun en concentraciones bajas. En la actualidad existen varias incógni-

tas sobre los mecanismos de acción y la línea base del conocimiento referente a este tema en nuestro país.

7.4 Contaminación del recurso hídrico

7.4.1 Posibles efectos de los metales pesados en los quelonios

De forma indirecta, las liberaciones antropogénicas contribuyen con el aumento en los niveles de metales y la generación de otras especies químicas, por ejemplo en el medio acuático el mercurio existe en formas inorgánicas y orgánicas, y es el metilmercurio el más tóxico de los compuestos organomercuriales (Ramírez, 2008).

Los quelonios dulceacuícolas continentales son considerados depredadores tope y juegan un papel importante en los ecosistemas en tanto intercambian energía a lo largo de los diferentes niveles tróficos. Estos animales han sido excluidos de los estudios de contaminación ambiental y las evaluaciones de riesgo ecológico, a pesar de ser elementos importantes del ecosistema y de ser más susceptibles a la acumulación de sustancias nocivas gracias a sus características fisiológicas, su larga esperanza de vida y su posición en la cadena trófica (Zapata et al., 2014). Los quelonios almacenan niveles de tóxicos en su sistema a través del consumo de sus presas, por lo tanto deberían ser consideradas especies representativas como indicador para la determinación de grados de contaminantes en el medio así como fuentes de análisis para el establecimiento de los efectos que la acumulación de tóxicos tiene a largo plazo sobre la variabilidad genética de las poblaciones, y cómo ésta

puede estar afectando la calidad del ambiente (Zapata et al., 2014). Se debe considerar que cuando existe exposición a los metales pesados en las zonas donde habitan los quelonios estos contaminantes son incorporados a los tejidos y pueden reaccionar con una gran variedad de moléculas, de manera que sus efectos tóxicos específicos sobre un sistema biológico dependen de las complejas reacciones que pueden llevar a producir una disrupción en las funciones esenciales de dicho sistema, tal como sucede con la afinidad que tienen estos contaminantes por los grupos sulfhidrilo, y en menor medida por los radicales amino, fosfato, carboxilo, imidazol e hidroxilo pertenecientes a enzimas y proteínas esenciales (Carmona, 2009).

La magnitud de la contaminación actual y su impacto en los ecosistemas costeros del país apenas se ha comenzado a evaluar en unos pocos casos a pesar de estimarse considerable. Los factores causantes de mayor deterioro en los ecosistemas dulceacuícolas, marinos y costeros son tanto naturales como antropogénicos, entre los que se encuentran la sedimentación, las anomalías climáticas, la acumulación de contaminantes y basuras, la interrupción de los flujos energéticos, la sobreexplotación de los recursos marinos, la utilización de artes de pesca altamente destructivas y las actividades turísticas (Gracia, Marrugo y Alvis, 2010).

Los metales pesados pueden ser tóxicos para la flora, la fauna terrestre y acuática, además, son acumulables por los organismos que los absorben los cuales a su vez son fuente de alimentación en la red trófica facilitando su transferencia a cada uno de sus eslabones (Marrugo, Lans y Benítez, 2007; Madero y Marrugo, 2011). Estas formas iónicas al ser consumidas frecuentemente por

el hombre a través del agua y los alimentos, provocan muchas enfermedades, algunas de las cuales pueden llegar a causar la muerte (Budtz-Jørgensen, Grandjean, Keiding, White y Weihe, 2000; Ip, Li, Zhang, Wai y Li, 2007; Cernichiari, Myers, Ballatori, Zareba, Vyas y Clarkson, 2007). La descomposición de la vegetación terrestre inundada y el carbono del suelo estimulan la metilación de formas inorgánicas; ejemplo de ello es el mercurio que, si bien se encuentra de forma natural en el suelo, es convertido a formas más tóxicas metiladas (MeHg) llegando a acumularse y biomagnificarse en los tejidos de los organismos acuáticos y en un sinnúmero de organismos de la cadena alimenticia (Marrugo et al., 2007; Madero y Marrugo, 2011). Así, algunos estudios han demostrado que el mayor problema que afecta a los reservorios es la contaminación de peces con metilmercurio (MeHg) (Porvari, 2003; Tulonen, Pihlström, Arvola y Rask, 2006). Un proceso de bioacumulación similar ocurre con la mayoría de los metales pesados como cadmio (Cd), cobre (Cu) y plomo (Pb) (Morillo, Usero y Gracia, 2004).

7.4.2 Genotoxicidad y pérdida en la diversidad fenotípica

La genotoxicidad es un tipo específico de toxicidad que ocurre porque los metales pesados tienen la capacidad de interactuar con el DNA, directa o indirectamente, provocando efectos biológicos nocivos para las células y en consecuencia para los organismos. Los metales pueden inducir genotoxicidad por sí solos o por la interacción entre agentes que potencian sus efectos (Beyersmann y Hartwig, 2008; Carmona, 2009). El daño en el material genético se da cuando se produce estrés oxidativo en las células principalmente por las especies reactivas de oxígeno,

las cuales pueden provocar la peroxidación de lípidos, daños en el DNA, reducción de grupos sulfhidrilo, así como alteraciones en las vías de señalización celular y de la homeóstasis del calcio (Valko, Morris y Cronin, 2005; Carmona, 2009). Las células en presencia de xenobióticos muestran un amplio rango de alteraciones cuyo origen son las lesiones causadas por los niveles de especies reactivas de oxígeno en los lípidos, proteínas y DNA. Esto sugiere que la toxicidad por metales pesados puede ser explicada por la capacidad de inducir estrés oxidativo en las células (Gurer-Orhan y Nukhet, 2001; Carmona, 2009; Ercal, Gurer-Orhan y Nukhet, 2001).

Los radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno generados por los metales pueden promover distintos tipos de daño en el DNA, tales como roturas de cadena simple y modificaciones en sus bases nitrogenadas. Los metales también pueden inducir genotoxicidad por su habilidad para inhibir los mecanismos de reparación del DNA, el níquel y el plomo por ejemplo pueden ser comutagénicos debido a que interfieren con los procesos de reparación por escisión de nucleótidos y de las bases (Ercal et al., 2001; Carmona, 2009). Se ha demostrado que los metales afectan la fidelidad en la replicación del DNA pues están capacitados para inhibir las enzimas involucradas en este proceso, de igual forma, pueden producir alteraciones en los procesos de metilación (Wedrychowski, Schmidt y Hnilica, 1986; Singh y Snow, 1998; Vaisman, Warren y Chaney, 2001; Carmona, 2009).

7.5 Situación en Colombia

Los metales pesados son emanados de manera constante volviéndose contaminantes estables

y persistentes en ambientes acuáticos, situación que se ve impulsada por el hecho de que dichos tóxicos pueden ser llevados desde la industria agropecuaria y minera por lixiviación y escorrentía. Los sedimentos de los ríos han sido considerados depósitos de metales pesados en cuanto retienen y acumulan tóxicos; por otro lado, la distribución en los sedimentos del fondo se ve afectada por su composición mineral, el material en suspensión, la influencia antrópica y los procesos *in situ* como la deposición de sedimentos, la absorción y enriquecimiento por microorganismos (Marrugo et al., 2007).

En Colombia los estudios sobre metales han evidenciado su presencia en sedimentos muy por encima de la norma permisible (Rúa-Cardona, Flórez-Molina y Baena, 2013). Estudios realizados en el departamento de Córdoba relacionados con la detección de niveles de mercurio en especies ícticas de la cuenca del río San Jorge, demuestran que, en su mayoría, este metal sobrepasa el umbral estipulado (200 ng/g) por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para las poblaciones en riesgo (Marrugo et al., 2007). Otros estudios evidencian la contaminación con mercurio en plantas, peces y sedimentos en algunos cuerpos de agua en la región de la Mojana y en la Ciénaga de Ayapel (Olivero-Verbel, Johnson-Restrepo y Arguello, 2002; Marrugo et al., 2007; Marrugo, 2014). Las fuentes sugieren que toda la problemática de la contaminación con metales está asociada a las actividades mineras desarrolladas en la principal zona aurífera de Colombia y en la cuenca del Río San Jorge. En Colombia, la mayor zona de explotación minera de oro se encuentra ubicada entre el norte de Antioquia y sur de Bolívar, con más de 12.400 minas en explotación que involucran un número de personas superior a 50.000 las cuales reciben

influencia directa o indirecta de esta actividad (Veiga, 2010). La cantidad de mercurio liberado en el ambiente en esta actividad no ha sido calculada con exactitud, pero se estima que se halla entre las 80 y 100 toneladas al año.

El manejo inadecuado de este metal ha producido la contaminación de suelos, sedimentos, cuerpos de agua y demás compartimientos ambientales (Olivero-Verbel et al., 2002). Los suelos del bajo San Jorge son en gran parte utilizados para la explotación agrícola y sus principales cultivos son maíz, arroz, sorgo y yuca, alimentos que han estado expuestos a frecuentes aplicaciones de plaguicidas; el problema emerge en la medida en que es común que no exista un control real sobre las cantidades y frecuencias para la utilización de estos productos, pues no se tiene un conocimiento del grado de acumulación de estas sustancias en el suelo. Es pertinente recalcar que los residuos pueden permanecer en el medio ambiente por tiempo indefinido y que se ha reportado contaminación con níquel en los sedimentos en esta zona geográfica (Marrugo et al., 2007).

7.6 Metilmercurio

El mercurio es un elemento no esencial para la vida, se encuentra presente en la naturaleza debido a fenómenos geológicos que participan en su liberación al ambiente como el vulcanismo, la desgasificación de la corteza terrestre y la erosión del suelo. Su variado empleo en la industria y la agricultura durante los últimos años ha permitido que sus niveles se eleven considerablemente, de igual manera gracias a la metilación el mercurio, en forma de metilmercurio (CH_3Hg), atraviesa las membranas biológicas logrando su incorporación en la red

trófica acuática. (Svobodova-Lloyd, Machova y Vykusova, 1993; Núñez-Nogueira, Bautista-Ordóñez y Rosiles Martínez, 1998; Escobar, 2010).

El mercurio de fuentes naturales y antropogénicas se deposita en lagos, ríos o bahías y se transforma por acción microbiana en metilmercurio, este es ingerido por el fitoplancton, luego pasa al zooplancton y finalmente a los quelonios en los que se acumula sobre todo por su longevidad. El metilmercurio es la forma química más tóxica del mercurio absorbible por los organismos vivos, en altas dosis este compuesto es tóxico

para el sistema nervioso central especialmente en desarrollo, siendo el cerebro de organismos juveniles el órgano más sensible a los efectos tóxicos del metilmercurio (Figura 14) (Schneider, Maher, Green y Vogt, 2013).

7.7 Genotoxicidad del mercurio

Los efectos mutagénicos del mercurio pueden inducir genotoxicidad sobre los cromosomas de las células eucariotas provocando aberraciones

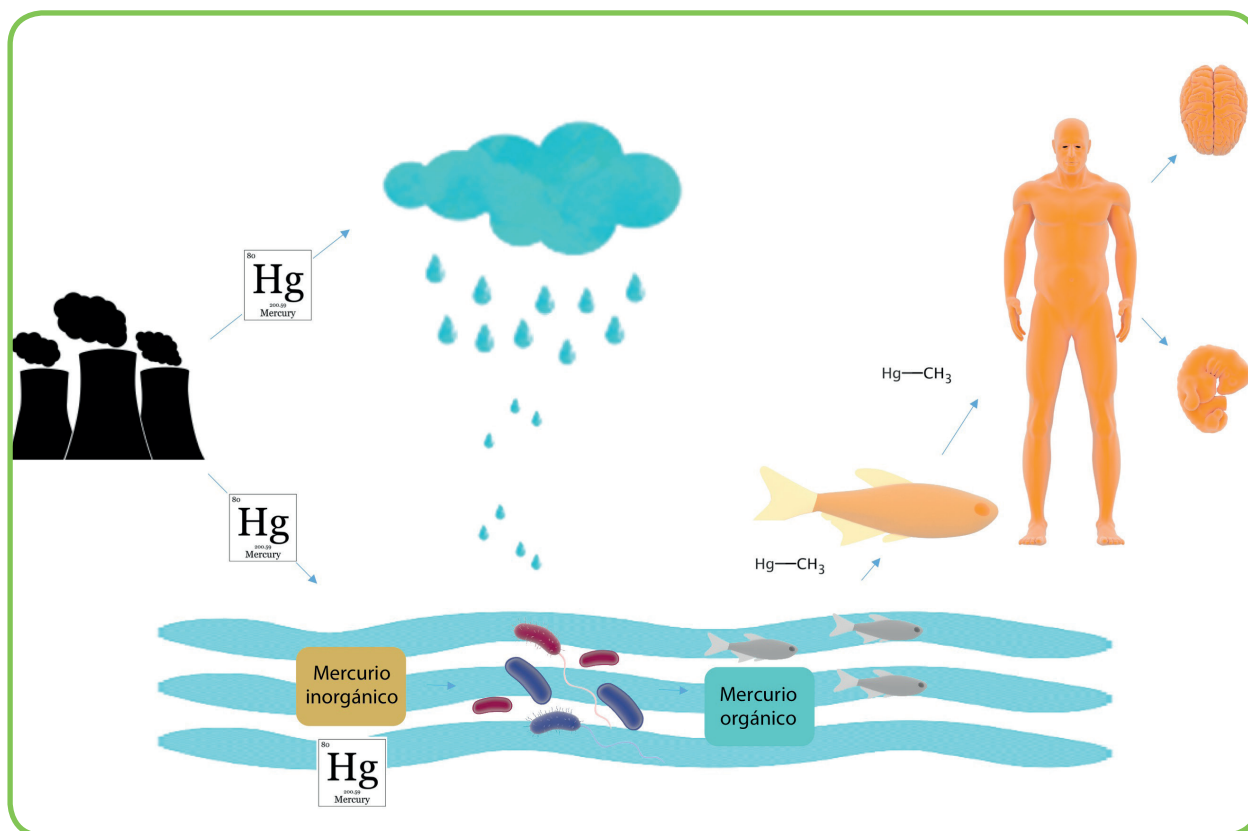


Figura 14. Ciclo del mercurio. En el medio acuático el mercurio existe en formas inorgánicas y orgánicas, y es el metilmercurio el más tóxico de los compuestos organomercuriales. La emisión antropogénica del metilmercurio puede ser rara pero puede ser formada por sedimentos por metilación bacteriana de mercurio inorgánico. Mucho de este metilmercurio tiene gran afinidad por los lípidos de organismos y como resultado, se produce la acumulación del mercurio principalmente como metilmercurio en organismos acuáticos, concurrente con el fenómeno de bioamplificación y bioacumulación a través de la cadena trófica (Lin y Pehkonen, 1999).

cromosómicas, clastogenicidad y efectos aneugénicos (De Flora, Bennicelli, y Bagnasco, 1994; Phillips, Farmer, Beland, Nath, Poirier, Reddy y Turtletaub, 2000; Akiyama, Oshima y Nakamura, 2001; Carmona, 2009). Los estudios en humanos expuestos al mercurio han mostrado alteraciones cromosómicas y presencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica (Franchi, Loprieno, Ballardín Petrozzi y Migliore, 1994; Amorim, Mergler, Bahia, Dubeau, Miranda, Lebel y Lucotte, 2000; Carmona, 2009). El mercurio tiene la capacidad de reaccionar con los grupos sulfhidrido de la tubulina afectando las funciones del huso mitótico y produciendo errores en la segregación de los cromosomas durante la división celular, en consecuencia se presentan aberraciones cromosómicas y poliploidías (De Flora et al., 1994; Carmona, 2009). Otros estudios confirman que el mercurio afecta la constitución del DNA por la formación de complejos entre el metal pesado y el glutatión, que, al ser el principal antioxidante de las células, sugiere la generación de radicales libres (De Flora et al., 1994; Rao, Chinoy, Suthar y Rajvanshi, 2001; Carmona, 2009).

7.8 Los quelonios como biomodelos ecosistémicos de estudios de metales pesados

La acumulación de metales pesados tiene efectos en la variabilidad de las especies puesto que los contaminantes pueden afectar la constitución genética produciendo mutaciones o variaciones cromosómicas. Estudiar las mutaciones resulta importante debido a que los cambios genéticos surgen en todos los seres vivientes, y si bien las mutaciones genómicas son fenómenos fundamentalmente aleatorios que permiten a los individuos adquirir polimorfismos (variabilidad genética) y por consecuencia evolucionar, las interacciones ocurridas entre las actividades humanas y los ecosistemas terrestres e hídricos producen diferentes procesos de perturbación, fragmentación y degradación de hábitats que potencialmente han afectado la biodiversidad del planeta, y con ello, los procesos de mutación genómica (Gascon, Malcolm, Patton, da Silva, Bogart, Loughheed y Boag, 2000). Un indicador en los cambios antrópicos de variabilidad es la aparición y expresión de genes de estrés ambiental (por ejemplo genes de choque térmico) que pueden hacer cambiar una especie y llevarla incluso a la extinción (Trinchella, Cannetiello, Simoniello, Filosa y Scudiero, 2010). Además se ha demostrado un efecto selectivo en contra de determinados genotipos por exposición a altas concentraciones de metales pesados y se ha propuesto que la interacción de los metales con la estructura de las proteínas podría cambiar las propiedades enzimáticas de diferentes genotipos en un locus polimórfico.

Los sedimentos de los ríos han sido considerados depósitos de metales pesados, ya que retienen y acumulan tóxicos (Marrugo et al., 2007) y, en tanto los quelonios dulceacuícolas continentales son organismos que se encuentran en los niveles

más altos de la cadena trófica, pueden ser consideradas especies representativas para conocer el estado de los metales pesados en el medio como indicadores de bioacumulación y los efectos que podría tener este fenómeno con la variabilidad genética de las poblaciones y su ambiente a largo plazo (Zapata et al., 2014). Los metales pesados son quizás los agentes tóxicos más conocidos desde la antigüedad, este conocimiento se ha ampliado en los últimos años con el estudio de los potenciales efectos tóxicos y mecanismos de acción de los iones metálicos, es decir, los compuestos inorgánicos y organometálicos que constituyen parte de los productos y subproductos tecnológicos (Kosnett, 2010; Ortega-Ortega, Beltrán-Herrera y Marrugo-Negrete, 2011). El mercurio (Hg) genera uno de los mayores problemas ambientales actuales debido a su alta toxicidad y capacidad para bioacumularse y biomagnificarse (Zheng, Liu, Hu y He, 2008; Ortega-Ortega et al., 2011) alterando el equilibrio ecológico y genera graves problemas de salud pública. Este contaminante está relacionado con daños severos al sistema nervioso central, teratogénesis y con afecciones del hígado y los riñones (Magos, 2003; Tavares, Câmara, Malm y Santos, 2005; Novoa-Muñoz, Pontevedra-Pombal, Martínez-Cortizas y García-Rodeja Gayoso, 2008).

7.9 Metodologías para determinar la genotoxicidad en quelonios

7.9.1 Validación y determinación de biomarcadores relacionados con estrés por contaminación ambiental

Las concentraciones de metales pesados han sido determinados como causantes de problemas de tipo carcinogénico, mutagénico y teratogénico para un gran número de especies animales (Waalkes, 2003; Beyersmann y Hartwig, 2008; Thompson y Bannigan, 2008). Los daños intracelulares causados por la exposición a los metales pesados incluyen desnaturalización de las proteínas, peroxidación de lípidos y ruptura del DNA (Bertin y Averbeck, 2006; Jin, Clark, Slebos, Al-refai, Taylor, Kunkel y Gordenin, 2009). Análisis genéticos de especies vegetales y animales han demostrado que la exposición a concentraciones subletales de estos contaminantes pueden ofrecer indicadores como los cambios en la expresión génica (Carginale, Capasso, Scudiero y Parisi, 2002; Liao y Freedman, 2002; Minglin, Yuxiu y Tuanyao, 2005), los cuales se pueden analizar de forma satisfactoria gracias al descubrimiento de genes regulados en respuesta a la exposición de metales pesados, incluyendo algunas proteínas sensibles como las de choque térmico (por ejemplo las chaperonas) (Carginale et al., 2002; Bertin y Averbeck, 2006). Algunos contaminantes ambientales inducen

a la sobreexpresión de los genes Hsp90, Hsp70, Hsp60, producidos a nivel basal en el citosol de eucariotas (Barsiene et al., 2006). Los ácidos nucleicos pueden ser empleados tanto para la validación de los genes de diversidad como para las regiones bioindicadoras de estrés celular utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Trinchella et al., 2010).

7.9.2 Determinación de daños cromosómicos

Quelonios utilizados como bioindicadores ecosistémicos de contaminación ambiental han sido documentados en áreas con una gran variedad de contaminantes ambientales (Matson, Palatnikov, Islamzadeh, McDonald, Autenrieth, Donnelly y Bickham, 2005). La citometría de flujo y los ensayos de micronúcleos se han utilizado para valorar el daño cromosómico en tortugas acuáticas (*Emys orbicularis* y *Mauremys caspica*) que habitan en humedales contaminados en Azerbaiyán en donde fueron analizadas muestras de sedimentos en zonas de anidación y postura de quelonios, determinando niveles de hidrocarburos aromáticos policíclicos y mercurio, asociando las relaciones potenciales de contaminantes con las alteraciones genéticas de estos reptiles. Se observó una correlación positiva significativa entre altas concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos de sedimentos y las estimaciones de daños cromosómicos en *E. orbicularis* (Matson et al., 2005).

7.9.3 Ensayo cometa

Esta es una técnica ampliamente utilizada para evaluar los impactos de las genotoxinas de

ambientes acuáticos gracias a su simplicidad, bajo costo y ahorro de tiempo (Tice, Agurell, Anderson, Burlinson, Hartmann, Kobayashi y Sasak, 2000; Zapata et al., 2014). Este ensayo mide el daño genotóxico en células individuales requiriendo un número reducido de células para el análisis y permite cuantificar daños pequeños en el ADN (Mitchelmore y Chipman, 1998; Tice et al., 2000; Lee y Steinert, 2003; Frenzilli, Nigro y Lyons, 2009; Rocha, Luvizotto, Kosmehl, Böttcher, Storch, Braunbeck y Hollert, 2009; Zapata et al., 2014). En el ensayo cometa (también conocido como single-cell gel electrophoresis - SCGE), se construye una visualización en forma de patrón similar a la cola de este tipo de cuerpos celestes después de correr la electroforesis, convirtiéndolo en un método sensible para establecer la genotoxicidad y citotoxicidad de agentes físicos o químicos (Lee y Steinert, 2003; Zapata et al., 2014). La longitud de la cola y el contenido de ADN son directamente proporcionales al daño en el ADN. Se ha demostrado que si el daño en el ADN observado por medio de esta técnica incrementa, la migración de los fragmentos es mayor (Mitchelmore y Chipman, 1998; Zapata et al., 2014); es por esta razón que la longitud de la cola del cometa indica el grado de actividad genotóxica (Zapata et al., 2014). En Colombia se ha evidenciado estrés genotóxico en tortugas *Podocnemis lewyana* y *Trachemys callirostris* que habitan áreas con influencia de minería aurífera mediante las pruebas de micronúcleos (MN) y ensayo cometa, lo que permitió determinar patrones de genotoxicidad, sin embargo, no se pudo evidenciar una correlación significativa relacionada con la acumulación de mercurio en los tejidos de los quelonios analizados (Zapata et al., 2014).

7.9.4 Efectos en el desarrollo gonadal

Se ha determinado el efecto del cadmio en el desarrollo gonadal de quelonios (*Trachemys scripta* y *Chrysemys picta*) durante la fase final de migración de células germinales y la maduración gonadal postnatal (Kitana y Callard, 2008). Huevos de animales afectados con concentraciones significativamente altas de cadmio muestran que puede existir un descenso en la proliferación y/o migración de retardo de células germinales a la cresta genital; de igual manera resulta significativa la presencia de apoptosis de ovocitos, lo que puede conllevar a la reducción en el número de folículos en tortugas adultas de las zonas estudiadas afectadas por contaminantes. El cadmio puede afectar procesos de desarrollo gonadal de las tortugas de agua dulce en las etapas embrionarias y postnatales que pueden resultar en la interrupción de los procesos reproductivos (Kitana y Callard, 2008).

7.10 Conclusiones

Los fenómenos de emanación de tóxicos ambientales, de bioacumulación y biomagnificación de metales pesados tienen efectos en la variabilidad de las especies, los contaminantes pueden afectar la constitución genética produciendo mutaciones génicas o variaciones cromosómicas. Es así que estudiar las mutaciones resulta completamente pertinente debido a que los mismos cambios genéticos aleatorios que permiten a los individuos adquirir polimorfismos y por consecuencia evolucionar, pueden verse alterados por las interacciones ocurridas entre las actividades humanas con impacto ambiental y los ecosistemas terrestres e hídricos. La medición del contenido de metales

pesados en tejidos de animales es importante debido a que son considerados indicadores de contaminación y presentan una visión de la distribución espacial del contaminante. Todos estos factores permiten reconocer que los ecosistemas dulceacuícolas y animales de comportamientos acuáticos como los quelonios continentales están siendo alterados fuertemente por descargas de desechos de todo tipo. Adicionalmente, la problemática de la contaminación química en los ecosistemas acuáticos por metales pesados o trazas es muy compleja, lo cual hace necesario estudiar el comportamiento de dichos contaminantes en los organismos de este medio, ya que permitiría diagnosticar y evaluar la situación que se presente para adoptar las medidas correspondientes de mitigación. Se debe investigar y crear una línea base de conocimiento para determinar y concluir si los mayores niveles en concentraciones de metales pesados encontrados en sistemas dulceacuícolas en Colombia pueden reflejar mayores indicadores de efectos en la variabilidad genotípica y fenotípica de quelonios continentales que pueden conducir a mayores indicadores de pérdida en la diversidad genética; por ejemplo determinar la relación de altos niveles de metales pesados en quelonios continentales y sus hábitats con respecto a indicadores genotípicos como la expresión de genes de estrés ambiental.

Referencias

- Aguirre, A. A., y Lutz, P. (2004). Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator? *EcoHealth*, 1(3), 275-283. Recuperado de: <http://doi.org/10.1007/s10393-004-0097-3>
- Akiyama, M., Oshima, H., y Nakamura, M. (2001). Genotoxicity of mercury used in chromosome aberration tests. *Toxicology in Vitro*, 15(4-5), 463-467.

Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/S0887-2333\(01\)00051-0](http://doi.org/10.1016/S0887-2333(01)00051-0)

- Amorim, M. I. M., Mergler, D., Bahia, M. O., Dubeau, H., Miranda, D., Lebel, J., Lucotte, M. (2000). Cytogenetic damage related to low levels of methylmercury contamination in the Brazilian Amazon. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 72(4), 496-507. Recuperado de: <http://doi.org/10.1590/S0001-37652000000400004>
- Barsiene, J., Schiedek, D., Rybakovas, A., Syvokiene, J., Kopecka, J., y Forlin, L. (2006). Cytogenetic and cytotoxic effects in gill cells of the blue mussel *Mytilus* spp. from different zones of the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 53(8-9), 469-478. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.11.015>
- Bertin, G., y Averbeck, D. (2006). Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88(11), 1549-1559. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.10.001>
- Beyersmann, D., y Hartwig, A. (2008). Carcinogenic metal compounds: Recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Archives of Toxicology*, 82(8), 493-512. Recuperado de: <http://doi.org/10.1007/s00204-008-0313-y>
- Budtz-Jørgensen, E., Grandjean, P., Keiding, N., White, R. F., y Weihe, P. (2000). Benchmark dose calculations of methylmercury-associated neurobehavioural deficits. *Toxicology Letters*, 112-113, 193-199. Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00283-0](http://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00283-0)
- Calao, C. R., y Marrugo, J. L. (2015). Efectos genotóxicos asociados a metales pesados en una población humana de la región de La Mojana, Colombia, 2013. *Biomédica*, 35(2015), 139-151. Recuperado de: <http://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2392>
- Carginale, V., Capasso, C., Scudiero, R., y Parisi, E. (2002). Identification of cadmium-sensitive genes in the Antarctic fish *Chionodraco hamatus* by messenger RNA differential display. *Gene*, 299(1-2), 117-124. Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/S0378-1119\(02\)01020-X](http://doi.org/10.1016/S0378-1119(02)01020-X)
- Carmona, E. (2009). Evaluación genotóxica de algunos metales pesados en *Drosophila melanogaster* mediante los ensayos SMART de alas y Cometa, 185.
- Cernichiari, E., Myers, G. J., Ballatori, N., Zareba, G., Vyas, J., y Clarkson, T. (2007). The biological monitoring of prenatal exposure to methylmercury. *NeuroToxicology*, 28(5 SPEC. ISS.), 1015-1022. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.neuro.2007.02.009>
- De Flora, S., Bennicelli, C., y Bagnasco, M. (1994). Genotoxicity of mercury compounds. *Mutat Res*, 2(317), 57-79.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., y Nukhet, A.-B. (2001). Toxic Metals and Oxidative stress Part I: Mechanisms Involved in Metal induced Oxidative Damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1, 529-539.
- Escobar, O. (2010). Bioacumulación y biomagnificación de mercurio y selenio en peces pelágicos mayores de la costa occidental de baja california sur. *Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario De Ciencias Marinas*, 144. Recuperado de: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&intitle=bioacumulaci+n+y+biomagnificaci+n+de+mercurio+y+selenio+en+peces+pelgicos+mayores+de+la+costa+occidental+de+baja+california+sur,+m?xico#0>
- Franchi, E., Loprieno, G., Ballardini, M., Petrozzi, L., y Migliore, L. (1994). Cytogenetic monitoring of fishermen with environmental mercury exposure. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 320(1-2), 23-29. Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/0165-1218\(94\)90056-6](http://doi.org/10.1016/0165-1218(94)90056-6)
- Frenzilli, G., Nigro, M., y Lyons, B. P. (2009). The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 681(1), 80-92. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.03.001>
- Gascon, C., Malcolm, J. R., Patton, J. L., da Silva, M. N., Bogart, J. P., Loughheed, S. C., ... Boag, P. T. (2000). Riverine barriers and the geographic

- distribution of Amazonian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(25), 13672-13677. Recuperado de: <http://doi.org/10.1073/pnas.230136397>
- Gracia, L., Marrugo, J. L., y Alvis, E. (2010). Contaminación por mercurio en humanos y peces en el municipio de Ayapel, Córdoba, Colombia, 2009. *Revista Facultad Nacional Salud Pública*, 28, 118-124.
- Hartwig, A. (1998). Carcinogenicity of metal compounds: possible role of DNA repair inhibition. *Toxicology Letters*, 102-103, 235-9. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10022259>
- Ip, C. C., Li, X. D., Zhang, G., Wai, O. W., y Li, Y. S. (2007). Trace metal distribution in sediments of the Pearl River Estuary and the surrounding coastal area, South China. *Environmental Pollution*, 147(2), 311-323. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.06.028>
- Jin, Y. H., Clark, A. B., Slebos, R. J. C., Al-refai, H., Taylor, J. A., Kunkel, T. A., Gordenin, D. A. (2009). NIH Public Access, 34(3), 326-329. Recuperado de: <http://doi.org/10.1038/ng1172>. Cadmium
- Kitana, N., y Callard, I. P. (2008). Effect of cadmium on gonadal development in freshwater turtle (*Trachemys scripta*, *Chrysemys picta*) embryos. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/hazardous Substances y Environmental Engineering*, 43(3), 262-271. Recuperado de: <http://doi.org/10.1080/10934520701792753>
- Kosnett, M. J. (2010). Chelation for heavy metals (arsenic, lead, and mercury): protective or perilous? *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 88(3), 412-415. Recuperado de: <http://doi.org/10.1038/clpt.2010.132>
- Lee, R. F., y Steinert, S. (2003). Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 544(1), 43-64. Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/S1383-5742\(03\)00017-6](http://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00017-6)
- Ley, C. (2009). *Determinación De Metales Pesados En Tortugas Marinas Del Noroeste De México*. Instituto Politécnico Nacional.
- Liao, V. H. C., y Freedman, J. H. (2002). Differential display analysis of gene expression in invertebrates. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 1256-1263.
- López-Díez, LC., y Restrepo-Alzate, L. (2016). Mercurio total en sangre de tortuga hicoatea del Caribe (*Trachemys callirostris*) en el departamento de Córdoba y sus posibles implicaciones en la salud pública. Trabajo de grado. Programa medicina veterinaria. Corporación Universitaria Lasallista.
- Madero, A., y Marrugo, J. L. (2011). detección de metales pesados en bovinos, en los valles de los ríos sinú y san jorge, departamento de córdoba, colombia *Aura*, 16(1), 2391-2401.
- Magos, L. (2003). Neurotoxic character of thimerosal and the allometric extrapolation of adult clearance half-time to infants. *Journal of Applied Toxicology*, 23(4), 263-269. Recuperado de: <http://doi.org/10.1002/jat.918>
- Mancera, N. J., y Álvarez León, R. (2006). De Mercurio Y Otros Metales Pesados En Peces. *Acta Biológica Colombiana*, 11(1), 3-23.
- Marrugo, J. (2014). Problemas ambientales del Caribe Colombiano. *II Seminario de Ciencias Ambientales Sue-Caribe y VII Seminario Internacional de Gestión Ambiental*, 14-19.
- Marrugo, J., Lans, E., y Benítez, L. (2007). Finding of Mercury in Fish From the Ayapel Marsh, Córdoba, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 12(1), 878-886. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682007000100003&lng=eny&nrm=isoyt&lng=es
- Matson, C. W., Palatnikov, G., Islamzadeh, A., McDonald, T. J., Autenrieth, R. L., Donnelly, K. C., y Bickham, J. W. (2005). Chromosomal damage in two species of aquatic turtles (*Emys orbicularis* and *Mauremys caspica*) inhabiting contaminated sites in Azerbaijan. *Ecotoxicology*, 14(5), 513-525. Recuperado de: <http://doi.org/10.1007/s10646-005-0001-0>

- Minglin, L., Yuxiu, Z., y Tuanyao, C. (2005). Identification of genes up-regulated in response to Cd exposure in *Brassica juncea* L. *Gene*, 363(1-2), 151-158. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.gene.2005.07.037>
- Mitchelmore, C. L., y Chipman, J. K. (1998). DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 399(2), 135-147. Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/S0027-5107\(97\)00252-2](http://doi.org/10.1016/S0027-5107(97)00252-2)
- Morillo, J., Usero, J., y Gracia, I. (2004). Heavy metal distribution in marine sediments from the southwest coast of Spain. *Chemosphere*, 55(3), 431-442. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.10.047>
- Novillo A, Noppadon K, Márquez E, Callard I. Reptilian genotoxicity. In: Toxicology of reptiles. Gardner S. y E. Oberdörster (eds). Boca Ratón, Florida: Taylor y Francis eds; 2005. p. 241-266.
- Novoa-Muñoz, J. C., Pontevedra-Pombal, X., Martínez-Cortizas, A., y García-Rodeja Gayoso, E. (2008). Mercury accumulation in upland acid forest ecosystems nearby a coal-fired power-plant in Southwest Europe (Galicia, NW Spain). *Science of the Total Environment*, 394(2-3), 303-312. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.044>
- Núñez-Nogueira, G., Bautista-Ordóñez, J., y Rosiles Martínez, R. (1998). Concentración y distribución de mercurio en tejidos del cazón (*Rhizoprionodon terraenovae*) del Golfo de México. *Vet. Méx.*
- Olivero-Verbel, J., Johnson-Restrepo, B., y Arguello, E. (2002). Human exposure to mercury in San Jorge river basin, Colombia (South America). *Science of The Total Environment*, 289(1-3), 41-47. Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)01018-X](http://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)01018-X)
- Ortega-Ortega, R. E., Beltrán-Herrera, J. D., y Marrugo-Negrete, J. L. (2011). Acumulación de mercurio (Hg) por caña flecha (*Gynerium sagittatum*) (Aubl) Beauv. in vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(1), 33-41.
- Phillips, D. H., Farmer, P. B., Beland, F. A., Nath, R. G., Poirier, M. C., Reddy, M. V, y Turtletaub, K. W. (2000). Methods of DNA adduct determination and their application to testing Methods of DNA Adduct Determination and Their Application to Testing Compounds for Genotoxicity, 2280(March 2016), 222-233. Recuperado de: [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2280\(2000\)35](http://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2280(2000)35)
- Porvari, P. (2003). *Sources and fate of mercury in aquatic ecosystems. Research, Boreal Environment* (Vol. 23).
- Quiroz-Herrera, V. H., y Palacio-Baena, J. (2017). Niveles sanguíneos de biomarcadores de daño genético en eritrocitos de *Lepidochelys olivacea* (Cheloniidae) en Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 22(3), 322-330
- Ramírez, A. (2008). Revisiones Mercury occupational poisoning, 69(1), 46-51.
- Rao, M. V., Chinoy, N. J., Suthar, M. B., y Rajvanshi, M. I. (2001). Role of ascorbic acid on mercuric chloride-induced genotoxicity in human blood cultures. *Toxicology in Vitro*, 15(6), 649-654. Recuperado de: [http://doi.org/10.1016/S0887-2333\(01\)00081-9](http://doi.org/10.1016/S0887-2333(01)00081-9)
- Rocha, P. S., Luvizotto, G. L., Kosmehl, T., Böttcher, M., Storch, V., Braunbeck, T., y Hollert, H. (2009). Sediment genotoxicity in the Tietê River (São Paulo, Brazil): In vitro comet assay versus in situ micronucleus assay studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 1842-1848. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.04.013>
- Rúa-Cardona, A. F., Flórez Molina, M. T., y Baena, J. P. (2013). Variación espacial y temporal en los contenidos de mercurio, plomo, cromo y materia orgánica en sedimento del complejo de humedales de Ayapel, Córdoba, noroccidente colombiano. *Revista Facultad de Ingeniería*, (69), 244-255.
- Schneider, L., Maher, W., Green, A., y Vogt, R. C. (2013). *Mercury contamination in reptiles: an emerging problem with consequences for wildlife and human health. Mercury: Sources, Applications and Health Impacts.*

- Singh, J., y Snow, E. T. (1998). Chromium(III) decreases the fidelity of human DNA polymerase. *Biochemistry*, 37(26), 9371-9378. Recuperado de: <http://doi.org/10.1021/bi9731551>
- Svobodova, Z., Lloyd, R., Machova, J., y Vykusova, B. (1993). *Water Quality and fish health*. (No. 35). EIFAC, Rome.
- Tavares, L. M. B., Câmara, V. M., Malm, O., y Santos, E. C. D. O. (2005). Performance on neurological development tests by riverine children with moderate mercury exposure in Amazonia, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 21(4), 1160-1167. Recuperado de: <http://doi.org/10.1590/S0102-311X2005000400018>
- Thompson, J., y Bannigan, J. (2008). Cadmium: Toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology*, 25(3), 304-315. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.02.001>
- Tice, R. R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Sasak, F. (2000). Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35, 206-221.
- Trinchella, F., Cannetiello, M., Simoniello, P., Filosa, S., y Scudiero, R. (2010). Differential gene expression profiles in embryos of the lizard *Podarcis sicula* under in ovo exposure to cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 151(1), 33-39. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.cbpc.2009.08.005>
- Tulonen, T., Pihlström, M., Arvola, L., y Rask, M. (2006). Concentrations of heavy metals in food web components of small, boreal lakes. *Boreal Environment Research*, 11(3), 185-194.
- Vaisman, A., Warren, M. W., y Chaney, S. G. (2001). The effect of DNA structure on the catalytic efficiency and fidelity of human DNA polymerase beta on templates with platinum-DNA adducts. *J Biol Chem*, 276(22), 18999-9005. Recuperado de: <http://doi.org/10.1074/jbc.M007805200>
- Valko, M., Morris, H., y Cronin, M. T. D. (2005). Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208. Recuperado de: <http://doi.org/10.2174/0929867053764635>
- Veiga, M. (2010). Antioquia, Colombia: the world's most polluted place by mercury: impressions from two field trips, 2010(February), 1-24. Recuperado de: http://redjusticiaambientalcolombia.files.wordpress.com/2011/05/final_revised_feb_2010_veiga_antioquia_field_trip_report.pdf
- Waalkes, M. P. (2003). Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533(1-2), 107-120. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2003.07.011>
- Wedrychowski, A., Schmidt, W. N., y Hnilica, L. S. (1986). The in vivo cross-linking of proteins and DNA by heavy metals. *Journal of Biological Chemistry*, 261(7), 3370-3376.
- Zafra-Mejía, C. A., Peña-Valbuena, N. Á., y Álvarez-Prieto, S. (2013). Contaminación por metales pesados en los sedimentos acumulados sobre el corredor vial Bogotá - Soacha. *Heavy Metal Pollution in the Sediments Accumulated on Bogotá - Soacha Highway (Colombia)*, 17(37), 99-108. Recuperado de: <http://doi.org/10.14483/udis-trital.jour.tecnura.2013.3.a09>
- Zapata, L. M., Bock, B. C., y Palacio, J. A. (2014). Mercury concentrations in tissues of Colombian slider turtles, *Trachemys callirostris*, from northern Colombia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92(5), 562-566. Recuperado de: <http://doi.org/10.1007/s00128-014-1198-5>
- Zheng, Y. M., Liu, Y. R., Hu, H. Q., y He, J. Z. (2008). Mercury in soils of three agricultural experimental stations with long-term fertilization in China. *Chemosphere*, 72(9), 1274-1278. Recuperado de: <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.052>

