

MCTA

**MUTAGÉNESIS,
CARCINOGENESIS
Y TERATOGENESIS
AMBIENTAL**

MUTAGENESIS,
CARCINOGENESIS
AND ENVIRONMENTAL
TERATOGENESIS

MCTA 1

EL ANTIBIÓTICO ESTREPTOZOTOCINA INDUCE FRAGILIDAD TELOMÉRICA EN CÉLULAS HUMANAS LINFOBLASTOIDEAS

Cardozo A.G.¹, C.M. Plez Ragusa^{1,2}, D.C. Castrogiovanni¹, A.D. Bolzán^{1,2}. ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), La Plata, Buenos Aires, Argentina; ²Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina. E-mail: andreagabrielacardozo@gmail.com

Los telómeros son complejos nucleoproteicos localizados en los extremos de los cromosomas eucarióticos, que están involucrados en la preservación de la integridad de los mismos. La estreptozotocina (EZ) es un antibiótico antitumoral con propiedades diabéticas cuyos efectos sobre los telómeros humanos son desconocidos. El objetivo de este trabajo fue determinar si la EZ induce inestabilidad telomérica *in vitro* en células humanas. Se utilizó una línea celular linfoblastoidea generada a partir de un cultivo primario de linfocitos de sangre periférica inmortalizados con el virus de Epstein-Barr. Las células fueron tratadas durante 1 h a 37° C con concentraciones crecientes de EZ (0,5 a 4,0 mM) y se analizaron las aberraciones cromosómicas a las 24 h (primera mitosis) postratamiento, utilizando la técnica de Hibridación *In Situ* Fluorescente con sondas pantelomérica y pancentromérica de tipo PNA ("Peptide Nucleic Acid"). Esto último permitió detectar simultáneamente a todos los telómeros y centrómeros presentes en los cromosomas de cada metafase a analizar. Se observó una inducción significativa ($p < 0,05$) de duplicaciones de señales teloméricas en las células tratadas con EZ en comparación con las células no expuestas al antibiótico (control negativo y control con el solvente de la EZ, citrato de sodio). Nuestros resultados preliminares (obtenidos del análisis de un primer experimento) indican que en células humanas linfoblastoideas la EZ induce fragilidad telomérica, evidenciada por la presencia de señales teloméricas duplicadas.

MCTA 2

GENOTOXICIDAD DE TEBUCONAZOL ANALIZADA EN LA LÍNEA CELULAR HEP-2

Andrioli N.B.¹, M. Nieves², M. Poltronieri³, C. Bonzon³, G. Chaufán³. ¹GIBE-FCEyN-UBA/IEGEB-CONICET, Buenos Aires, Argentina; ²Centro de Investigaciones en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE)-CEMIC, CONICET, Buenos Aires, Argentina; ³Laboratorio de Enzimología Estrés y Metabolismo, FCEyN-UBA/IQUIBICEN-CONICET, Buenos Aires, Argentina. E-mail: nancyandrioli@gmail.com

Los efectos toxicológicos de agroquímicos sobre la población humana están vinculados al consumo de residuos en alimentos y a las fuentes de exposición al momento de aplicación. El tebuconazol (TB) es uno de los fungicidas del que escasean datos sobre su potencial genotóxico. Con el objetivo de evaluar el potencial genotóxico *in vitro* se utilizó la línea celular HEP-2 para implementar la prueba de micronúcleos (MN) con sonda centromérica diferenciando clastogénesis de aneugénesis (MNC- y MNC+). Las células se expusieron a concentraciones subletales de 20, 30, 40 y 50 µg/mL de TB. Para evaluar daño al ADN (ID) se realizó el ensayo cometa a 40, 60 y 80 µg/mL. El índice de división nuclear y el índice de replicación no arrojaron diferencias significativas entre células tratadas y no tratadas indicando que no afectó la división celular. La frecuencia de MN mostró diferencias significativas entre las concentraciones de TB y el control negativo con $p = 0,00112$, 0,001, 0,001 y 0,0045, respectivamente, siendo la relación MNC-/MN totales = 0,72, indicando clastogenicidad. Los valores ID muestran inducción de daño con efectos diferenciales en la reparación dependientes de la concentración. La genotoxicidad inducida en concentraciones subletales y subcitotóxicas implica un riesgo de mutagenicidad, ya que a esas concentraciones no se detiene la proliferación celular, favoreciendo un linaje portador de mutaciones viables. El presente estudio realizado sobre un modelo *in vitro* es una aproximación a la evaluación del riesgo de mutagenicidad causada por bajas concentraciones de un agente genotóxico que podría alcanzar a la población humana.

MCTA 3**EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON MICRONUTRIENTES MINERALES SOBRE LA VIABILIDAD CELULAR EN CULTIVOS DE SANGRE BOVINA**

Gribaudo V.¹, N. Gallardo¹, R. Gambaro¹, G Padula^{1,2}, A. Seoane¹. ¹IGEVET-CONICET-UNLP, La Plata, Argentina; ²Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, Argentina. E-mail: aseane@fcv.unlp.edu.ar

Las vitaminas y minerales son aditivos alimentarios muy utilizados en producción animal. Se emplean cuando los animales presentan deficiencia debido a una disminución en el consumo o por alteraciones metabólicas. Existen enfoques nutricionales dirigidos a optimizar la salud del ganado y los rasgos productivos después del destete, un ejemplo es la suplementación con minerales dado su papel en la salud y el crecimiento. El objetivo del trabajo fue valorar los posibles efectos sobre la viabilidad celular provocados por la suplementación con combinaciones de minerales (CM) conteniendo edetato de cobre (1%) y de zinc (6%), ioduro de potasio (1%) y selenito de sodio (0,5%) en concentraciones coincidentes con las comerciales. El ensayo se llevó a cabo en sangre periférica bovina cultivada *in vitro*. Los cultivos se realizaron por 48 h a 37° C con medio HamF12, suero bovino fetal y antibióticos. Durante las últimas 24 h se efectuaron los tratamientos (concentración de cada mineral en µg/ml): 1. Control negativo, 2. CM 1 (0,1 Cu; 0,6 Zn; 0,1 I; 0,05 Se); 3. CM 2 (0,2 Cu; 1,2 Zn; 0,2 I; 0,1 Se); 4. CM 3 (0,4 Cu; 2,4 Zn; 0,4 I; 0,2 Se); 5. Control positivo: etanol 10%. Se realizó el ensayo MTT. Los resultados evidenciaron que la suplementación con diferentes combinaciones de micronutrientes minerales resultó inocua para los cultivos. La mayor viabilidad celular se observó en la CM 1. Dado que una menor concentración a la utilizada habitualmente para suplementar a los animales *in vivo* presenta una mayor viabilidad celular, se propone investigar sus efectos sobre el estrés oxidativo y el daño genético.

MCTA 4**ALTERACIONES NUCLEARES EN PICHONES DE CODORNIZ COMÚN (*Coturnix coturnix* L.) EXPUESTOS A UNA FORMULACIÓN DE CLOROPIRIFOS DURANTE INCUBACIÓN ARTIFICIAL**

Quero M., N. Gorla. Universidad Juan Agustín Maza, Buenos Aires, Argentina. E-mail: aamartinquero@gmail.com

En la actualidad es conocido el riesgo que representan los insecticidas organofosforados para las aves silvestres que habitan sitios agrícolas. La codorniz común, *Coturnix coturnix* L., es un modelo experimental apropiado para evidenciar efectos que manifestarían las aves expuestas en ambientes naturales. El presente estudio tiene por objeto detectar variaciones en la frecuencia de micronúcleos (MN) y otras alteraciones nucleares (AN) en eritrocitos de pichones de *C. coturnix* expuestos a una formulación comercial de clorpirifos CPF (Icona®) durante el desarrollo embrionario. Un total de 109 huevos se incubaron durante 18 días. Se aplicaron tratamientos en base a las concentraciones: 38,4 µg CPF/huevo (h), 192 µg CPF/h, 384 µg CPF/h, agua destilada, Mitomicina C 0,1 mg/h; en tres momentos: los días 1, 4 y 14 de la incubación, mediante una aplicación única que simula la pulverización a campo. De los pichones eclosionados (n=59 individuos) se obtuvieron frotis de sangre, se colorearon con Giemsa y se analizaron 10.000 eritrocitos por individuo. Fueron cuantificados: MN, brotes nucleares, eritrocitos binucleadas, puentes nucleoplásmicos, colas y hendiduras nucleares, núcleos periféricos y eritroplástidos. Existieron diferencias en las frecuencias de MN y de hendiduras por exposición a CPF ($p < 0,05$), uno de los insecticidas más utilizados en frutales de Mendoza. El efecto fue concentración-dependiente. La formulación de CPF aplicado una sola vez induce efectos genotóxicos en embriones de codorniz. Esto demuestra el potencial tóxico que podrían representar las aplicaciones rutinarias sobre la avifauna de los ecosistemas agrícolas.

MCTA 5

TOXICIDAD DE IMIDACLOPRID (CONFIDOR®) SOBRE HUEVOS DE *Chrysoperla externa* Hagen (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) UTILIZANDO ENSAYO COMETA

Fernández Acevedo V., A. Seoane², S. Rodríguez Gil¹, M.I. Schneider¹. ¹CEPAVE, La Plata, Buenos Aires, Argentina; ²GEVET, La Plata, Buenos Aires, Argentina. E-mail: victoriafernandez@outlook.com

Chrysoperla externa es una especie relevante como controlador biológico de plagas agrícolas. Se realizó el ensayo cometa para analizar el daño genético del insecticida imidacloprid. Dado que no existe protocolo estandarizado se ajustó la técnica para huevos de *C. externa*. El material biológico provino de colonias establecidas en el laboratorio de Ecotoxicología y Control Biológico del CEPAVE. Huevos de ≤ 24 h de edad se trataron con imidacloprid (Confidor 20®, Bayer) a través del método de inmersión con la dosis de campo recomendada (50 hl/cc) y diferentes tiempos de exposición (5, 10 y 15 s), utilizando agua destilada como disolvente. Los controles fueron tratados solo con solvente. Se realizó el ensayo cometa con algunas modificaciones respecto de la técnica original. La solución de lisis se preparó con solución salina y 0,5% de tritón. Se utilizó durante una hora. La corrida electroforética se realizó por 10 min con 25 voltios a 250 mA. Para la visualización los preparados se tiñeron con 20 μ l de colorante SYBR Green y se analizó con microscopio de fluorescencia Olympus BX40 (filtros de excitación de 515–560 nm) con objetivo 40x. Los controles mostraron células en grado 0 y 1 que reflejan la ausencia de daño en el ADN. Los huevos tratados presentaron células en grado 3 y 4 permitiendo inferir la inducción de daño en el material genético. Se necesitará aumentar el número de experiencias para encontrar resultados estadísticamente fidedignos y futuros estudios para relacionar el daño genético con aspectos biológicos.

MCTA 6

EVALUACIÓN GENOTÓXICA Y CITOTÓXICA DE *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg., Lanj. & W. Bôer EN CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE *Allium cepa* L.

Fournier Aldunate K.A.^{1,2}, J.D. Caffetti¹, C.G. Altamirano². ¹Instituto de Biología Subtropical (UNaM-IBS-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina; ²Laboratorio de Farmacobotánica “Dr. Aníbal Amat”, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina. E-mail: katherine.ale.fournieraldunate@gmail.com

Sorocea bonplandii Burg., Lanj. & W. Bôer (Moraceae) o “Ñandipá”, es una especie arbórea nativa de la provincia de Misiones y uno de los adulterantes frecuentes de *Monteverdia ilicifolia* (Reissek ex Mart.) Biral (Celastraceae) o “Congorosa”, debido principalmente a su similitud morfo-anatómica. Se la utiliza como antiulceroso y adelgazante, aunque existen escasos antecedentes de su toxicidad. Por ello se propuso como objetivo evaluar la actividad citotóxica y genotóxica de extractos acuosos de hojas de *S. bonplandii*, empleando el test de *Allium cepa* L. Se utilizaron bulbos previamente detoxificados con agua destilada oxigenada por burbujeo continuo. Luego se expusieron a las diferentes concentraciones de los extractos que fueron preparadas cada 24 h a partir de una solución madre de 20 g de droga vegetal por litro de agua. Se probaron concentraciones de 300, 150, 50 y 20 ml de solución madre por litro de agua (V/V), se empleó como control negativo agua destilada y como control positivo Paracetamol 125 mg/L por un periodo de 72 h. Se obtuvo un $IC_{50}=44,62$ ml/L. Las concentraciones testeadas mostraron reducción del índice mitótico, además de frecuencias significativas elevadas ($p<0,05$) de micronúcleos y anomalías nucleares respecto al control negativo para las concentraciones de 150 y 300 ml/L. No se detectaron diferencias en relación a las alteraciones cromosómicas. Los extractos testeados de *S. bonplandii* causan efecto citotóxico y daño genotóxico en *A. cepa*. Por lo que se propone continuar el estudio mediante un modelo animal, además de una det

BAG

**Journal of Basic
& Applied Genetics**