

# MCTA

**MUTAGÉNESIS,  
CARCINOGENÉESIS  
Y TERATOGENÉESIS  
AMBIENTAL**

MUTAGENESIS,  
CARCINOGENESIS  
AND ENVIRONMENTAL  
TERATOGENESIS



**MCTA 1****CONDICIONES AMBIENTALES DE ZONAS AGRÍCOLAS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA Y GENOTOXICIDAD**

Salinero M.C.<sup>1,2,3</sup>, L. Agost<sup>4,5</sup>, M.F. Bonatto<sup>1</sup>, D. Aiassa<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética y Mutagénesis Ambiental (GeMa), Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina;

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina; <sup>3</sup>Instituto de Ciencias de La Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA), UNRC-CONICET, Río Cuarto, Córdoba, Argentina; <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional Córdoba, Córdoba, Argentina; <sup>5</sup>Centro de Ecología y Recursos Naturales Renovables (CERNAR), Córdoba, Argentina.

E-mail: daiassa@exa.unrc.edu.ar

En Argentina, existen localidades donde lo rural y lo urbano se enlazan como resultado de un proceso histórico, y donde se desarrollan gran parte de actividades asociadas a la producción agrícola. Se plantea describir las variables comunes de estos ambientes (distancia a cultivos, hectáreas cultivadas con soja y maíz) y la frecuencia de marcadores de genotoxicidad (micronúcleos y otras anormalidades) en mucosa bucal en niños sanos que habitan en tres localidades agrarias de Córdoba. Se calcularon distancias lineales en metros al cultivo más próximo de cada caso muestreado y cantidad de hectáreas circundantes en 4.000 metros periféricos a cada punto. Con la frecuencia de micronúcleos y otras anormalidades nucleares, se confeccionó una medida por caso, realizando la sumatoria lineal de ellos para un valor único denominado "Indicador de genotoxicidad". El indicador promedio en niños de Las Vertientes fue de 143 (n=20, edad:10,1±2,84); de Oncativo 167 (n=6, edad:4±1,96); de Marcos Juárez 82 (n=19, edad: 9,68±2,49). Estos datos se compararon con niños de la localidad de Río Cuarto, cuyo valor promedio fue 10 (n=8, edad:11,5±1,41). El análisis de coeficiente de correlación de Pearson mostró correlación negativa (-0,65) significativa ( $p<0,001$ ), donde a menor distancia al primer cultivo en metros, mayor Indicador de genotoxicidad. Estos resultados permiten brindar una primera aproximación a lo que pueda estar sucediendo con la población pediátrica en localidades agrarias por lo que se considera la necesidad de ampliar la muestra e investigar las causas del daño genotóxico hallado.

**MCTA 2****EL ANTIBIÓTICO ESTREPTOZOTOCINA INDUCE INESTABILIDAD TELOMÉRICA DEBIDA A LA PÉRDIDA DE EXTREMOS CROMOSÓMICOS EN CÉLULAS HUMANAS LINFOBLASTOIDEAS**

Cardozo A.G.<sup>1</sup>, D.C. Castrogiovanni<sup>1</sup>, A.D. Bolzan<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), La Plata, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina. E-mail: andreagabrielacardozo@gmail.com

La estreptozaotocina (EZ) es un antibiótico antitumoral con propiedades diabetogénicas cuyos efectos sobre los telómeros humanos son desconocidos. El objetivo de este trabajo fue determinar si la EZ induce inestabilidad telomérica a nivel cromosómico en células humanas, ya sea bajo la forma de pérdida de extremos cromosómicos o de aberraciones producto de la disfunción telomérica. Se utilizó una línea celular linfoblastoide 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, disuelta en citrato de sodio) y se analizaron las aberraciones cromosómicas a las 24 h postratamiento (primera mitosis), utilizando la técnica de Hibridación *In Situ* Fluorescente con sondas pantelomérica y pancentromérica, lo que permitió identificar tanto a los telómeros como a los centrómeros de todos los cromosomas analizados. Se observó una inducción significativa ( $p<0,05$ ) de aberraciones cromosómicas relacionadas con la pérdida de extremos cromosómicos (cromosomas incompletos y fragmentos acéntricos terminales o compuestos) y de rupturas de mono- e isocromátida en las células tratadas con EZ, en comparación con las células no expuestas al antibiótico (control sin EZ ni citrato de sodio y control con citrato de sodio). Nuestros resultados indican que en células humanas linfoblastoideas la EZ induce inestabilidad telomérica en forma de pérdida de extremos cromosómicos y sugieren que dicho antibiótico no induce disfunción telomérica.

### MCTA 3

## ESTUDIO COMPARATIVO DE INESTABILIDAD GENÓMICA POR EFECTO DE LA BLEOMICINA EN *Macaca fascicularis* Y *Sapajus cay* (PRIMATES)

Ferreras E.O.<sup>1</sup>, M.I. Ayala<sup>2,3</sup>, C.B. Fernández<sup>2,3</sup>, A.G. Cardozo<sup>3</sup>, S. Kubickova<sup>4</sup>, M. Vozdova<sup>4</sup>, T. Manzur<sup>1</sup>, A.D. Bolzán<sup>2,3</sup>, N.B. Andrioli<sup>5</sup>, M. Nieves<sup>6</sup>. <sup>1</sup>Centro de Investigación en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE), CEMIC Saavedra, Unidad Asociada Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Argentina; <sup>2</sup>Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, IMBICE, CONICET-UNLP-CICPBA, La Plata, Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina; <sup>4</sup>Department of Genetics and Reproductive Biotechnologies, Veterinary Research Institute, Brno, República Checa; <sup>5</sup>Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), FCEyNUBA, Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBAA) - CONICET, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; <sup>6</sup>CONICET, Argentina. E-mail: estofer20@gmail.com

La estabilidad de los genomas puede examinarse exponiéndolos a agentes genotóxicos. La proporción de heterocromatina extracentromérica es un factor que puede afectar la estabilidad. Realizamos la exposición *in vitro* a bleomicina, un agente genotóxico y radiomimético, para estudiar la resistencia al daño de los genomas de *Sapajus cay* y *Macaca fascicularis* (Primates) en relación con sus contenidos de heterocromatina. *M. fascicularis* presenta heterocromatina solo en las regiones centroméricas, *S. cay* posee grandes bloques de heterocromatina extracentromérica en varios pares cromosómicos. Realizamos cultivos de linfocitos de sangre periférica de 72 h, con exposición durante las últimas 24 h a una concentración de 10 µg/ml del compuesto y sin exposición a la droga como control negativo. Se contaron aberraciones cromosómicas con tinción Giemsa, tanto en cultivos expuestos como no expuestos, en 100 metafases de un macho y una hembra de cada especie, cuantificando los tres tipos principales de aberraciones: rupturas de mono e isocromátida y dicéntricos. Se realizó FISH con sondas centroméricas y teloméricas específicas para confirmación de las aberraciones. Los resultados indican que los tratamientos inducen aberraciones en ambas especies, mientras que el daño global por célula se incrementa linealmente en células expuestas respecto al control negativo y en *M. fascicularis* respecto a *S. cay*. Esto señala que el genoma de *S. cay* es menos susceptible al daño inducido por bleomicina, posiblemente vinculado a la presencia de grandes cantidades de heterocromatina extracentromérica.

### MCTA 4

## EFECTO DE LOS AGROQUÍMICOS TIABENDAZOL Y ZINEB SOBRE LOS TELÓMEROS DE *Macaca fascicularis* (CATARRHINI, CERCOPHITECIDAE, PRIMATES)

Cardozo A.G.<sup>1</sup>, M.I. Ayala<sup>1,2</sup>, C.B. Fernández<sup>1,2</sup>, E.O. Ferreras<sup>3</sup>, T.D. Manzur<sup>3</sup>, M. Nieves<sup>3</sup>, A.D. Bolzán<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), La Plata, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup>Centro de Investigaciones en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE)-CEMIC, CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina. E-mail: andreagabrielacardozo@gmail.com

Los fungicidas del grupo de los carbamatos y los benzimidazoles son agroquímicos de amplio uso, por lo cual el estudio de sus efectos genotóxicos es de gran interés. Analizamos los efectos de tiabendazol (TBZ, 50, 100 y 200 µg/mL) y zineb (ZNB, 1, 5 y 10 µg/mL) sobre los telómeros de un macho y una hembra de la especie *Macaca fascicularis* (2n=42), utilizando cultivos de linfocitos de sangre periférica de 72 h de duración, expuestos durante las últimas 24 h a dichos compuestos. Se analizaron las aberraciones cromosómicas teloméricas utilizando la técnica de PNA-FISH con sondas pancentromérica y pantelomérica. Aproximadamente un 7% de las señales teloméricas se encontraron ausentes en los cromosomas provenientes de los controles negativos (sin agroquímicos) de *Macaca fascicularis*, lo cual indica que varios de los telómeros de los ejemplares estudiados de esta especie son demasiado cortos como para ser detectados con la técnica de PNA-FISH y lleva a pensar en un efecto asociado al cautiverio prolongado. Tanto en el macho como en la hembra el TBZ y el ZNB indujeron daño cromosómico a nivel telomérico en forma de duplicaciones y pérdidas de señales teloméricas, lo cual indica fragilidad y acortamiento telomérico, respectivamente, además de fragmentos acéntricos y cromosomas incompletos (con pérdida de uno o ambos extremos) no observados en los controles sin agroquímicos. Estos resultados indican que ambos compuestos dañan a los telómeros e inducen así inestabilidad cromosómica en *Macaca fascicularis*. Resta dilucidar el mecanismo por el cual producen dicho efecto.

**MCTA 5****EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CLASTOGÉNICA Y ANEUGÉNICA DE CIPERMETRINA, USADA COMO ANTIPARASITARIO EN PRODUCCIÓN BOVINA**

Ferré D.<sup>1,2</sup>, R. Carracedo<sup>1</sup>, M. Nieves<sup>2,3</sup>, N. Andrioli<sup>4</sup>, M. Vozdová<sup>5</sup>, S. Kubíčková<sup>5</sup>, N.B.M. Gorla<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina; <sup>2</sup>CONICET, Argentina; <sup>3</sup>Centro de Investigaciones en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE) - Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC), Buenos Aires, Argentina; <sup>4</sup>Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, FCEyN-UBA, CABA, Argentina; <sup>5</sup>Veterinary Research Institute, República Checa. E-mail: dferre@profesores.umaza.edu.ar

La Cooperación Internacional para la Armonización de Requisitos Técnicos para el Registro de Medicamentos Veterinarios (VICH) recomienda evaluar la genotoxicidad de medicamentos que pueden estar presentes como residuos en alimentos para las personas, mediante una batería de pruebas. Cipermetrina (Cip) es usado como antiparasitario en ganadería y es un potencial residuo en carne/grasa. El objetivo del estudio fue caracterizar el efecto clasto y/o aneugénico de Cip sobre linfocitos de bovino. Se realizaron cultivos por duplicado de sangre de un novillo Aberdeen Angus en SFB, RPMI, fitohemoaglutinina y antibióticos por 72 h a 38° C y 5% CO<sub>2</sub> con exposición a 7,02; 14,05 y 28,11 µg Cip/ml; mitomicina C (control +) y control negativo. Se implementó el ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (CBMN) con adición de citocalasina B a las 44 h. Se estimaron frecuencias de células binucleadas con micronúcleos (BNMN) coloreadas con Giemsa y el Índice de Proliferación (CBPI). Mediante FISH con sonda centromérica de *Bos taurus* se analizó la presencia de células binucleadas con MN, BNMN centrómeros + y -. El CBPI del control negativo fue 1,09. El análisis de Pearson no evidenció una correlación significativa ( $r=0,86$ ;  $p=0,33$ ) entre el aumento de las concentraciones de exposición y la cantidad de BNMN (8, 12 y 13/1.000 BN para cada concentración). Se evidenció daño clastogénico (BNMN centrómeros -) aunque la cantidad de BN (4,7-6,9%) imposibilitó obtener frecuencias relativas. Otras pruebas deben realizarse para la caracterización del efecto clasto-aneugénico de Cip en este sistema.

**MCTA 6****ADITIVOS FARMACOLÓGICOS EN ANIMALES DOMÉSTICOS; EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD MITOCONDRIAL EN LINFOCITOS BOVINOS EXPUESTOS A SALINOMICINA IN VITRO**

Gallardo N.<sup>1</sup>, V. Gribaudo<sup>1</sup>, F. Pellegrino<sup>1</sup>, G. Padula<sup>1,2</sup>, A. Seoane<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), CONICET-UNLP, Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, Buenos Aires, Argentina. E-mail: analiaseoane@hotmail.com

Los aditivos alimentarios farmacológicos, como antibióticos y coccidiostáticos, son productos utilizados para controlar la salud intestinal, evitando la presencia masiva de gérmenes patógenos o dañinos al animal. La coccidiosis es una infección parasitaria causada por protozoarios del *Phylum Apicomplexa (Sporozoa)*. Afecta a bovinos, borregos, cabras y aves de corral, así como también a los seres humanos causando graves problemas de salud. Para combatir la infección por coccidios se utilizan agentes antimicrobianos. Basados en la hipótesis de que la suplementación con los aditivos farmacológicos coccidiostáticos autorizados por SENASA (2018) es inocua para los animales, se propone valorar el efecto de salinomycin sobre la actividad de enzimas mitocondriales en sangre periférica bovina cultivada *in vitro*. Se realizaron los cultivos de los linfocitos a 37° C durante 48 h y durante las últimas 24 h se expusieron a diferentes dosis de salinomycin: 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 µg/ml. Se llevó a cabo el ensayo MTT, en el que se cuantificó la actividad de la enzima NAD(P)H por espectrofotometría para inferir la proporción de células viables. Los resultados mostraron que las dosis mayores a 20 µg/ml producen hemólisis de los cultivos y las dosis de 5 a 15 µg/ml disminuyeron significativamente la viabilidad celular. La concentración sugerida para el control de esporozoitos en animales domésticos es aún superior a las aquí evaluadas, por ello se propone continuar con los estudios con el fin de revisar el posible efecto perjudicial de este coccidiostático sobre algunos tipos celulares.

## MCTA 7

### EFFECTO DE *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* RC009 (*S. Boulardii* RC009) SOLA Y COMBINADA A FITASA EN VARIABLES PRODUCTIVAS Y GENOTÓXICAS DE POLLOS

Magnoli A., S. Watson<sup>1</sup>, F. Escobar<sup>2,3</sup>, P. Wittouck<sup>1</sup>, M.I. Ortiz<sup>2</sup>, M.V. Coniglio<sup>1</sup>, M.E. Ortiz<sup>1</sup>, L. Cavaglieri<sup>2,3</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC, Río cuarto, Córdoba, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales, UNRC, Río cuarto, Córdoba, Argentina; <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. E-mail: pwittouck@ayv.unrc.edu.ar

En producción animal es relevante el óptimo aprovechamiento de nutrientes, libre de enfermedades transmisibles o tóxicas. Por ello, se recurre a antibióticos promotores de crecimiento (APC), derivando en una reducida eficacia terapéutica. Se postula que la conjunción biológico-enzima sustituyen los APC. El objetivo fue evaluar el efecto de *S. boulardii* RC009 combinada con una fitasa sobre variables productivas y genotóxicas en pollos parrilleros libres de APC. El ensayo fue con 153 aves de 1-56 días de edad, con agua y alimento comercial *ad libitum* según la fase del desarrollo, régimen de iluminación y control diario. Se crearon tres grupos de peso uniforme y se asignó al azar 51 aves a cada tratamiento (3 réplicas/tratam., 17 aves/réplica): T1) dieta basal (DB-control)+APC); T2) DB+PROBIO. SACCH® (PBS®); T3) DB+PBS®+fitasa (1.000 FTU/T). PROBIO.SACCH® es un biológico basado en *S. boulardii* RC009 (1x10<sup>12</sup> UFC/T) aislado del ecosistema animal. Se registró peso cada 7 d, ganancia de peso diaria (GPD) e índice de conversión (IC). Al concluir, se extrajo médula femoral para recuento de micronúcleos (MN) de seis aves al azar/réplica y evaluaron 2.000 células/ave. Se empleó un modelo lineal general (INFOSTAT®) contrastando medias a través de Fisher ( $p < 0,05$ ). GPD e IC mejoraron significativamente en T2 y T3. En T3 el IC no se diferenció de aquel en T2. El porcentaje de MN observado en T1 fue de 1,73±0,38; T2 y T3 no se diferenciaron significativamente. En conclusión, el uso de *S. boulardii* RC009 sola y combinada con fitasa mejoró los parámetros productivos sin efecto genotóxico apreciable.

## MCTA 8

### EXAMINAR EL POTENCIAL EFECTO GENOTÓXICO DE IMIDACLOPRID MEDIANTE BIOENSAYO EN PEZ CEBRA

Mendez S., K. Nazzarro, M. Caliri<sup>1,2</sup>, A. Muñoz Torres<sup>1</sup>, M.E. Palma Leotta, N. Gorla<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción (GenAR), Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina; <sup>2</sup>CONICET, Argentina. E-mail: noragorla@gmail.com

El insecticida imidacloprid (ICD) es utilizado en cereales, oleaginosas, frutales, hortalizas y es parte de la formulación de fármacos de uso veterinario y ambiental. Es un neonicotinoide de alta solubilidad en agua, y persistencia en suelo favorecida por materia orgánica que lo absorbe. Por lixiviación y escorrentía post fumigación llega a cuerpos de agua y puede constituir un riesgo para organismos acuáticos no blanco. El objetivo de este estudio fue evaluar la potencial genotoxicidad inducida por ICD en pez cebra mediante la valoración de micronúcleos (MN) y otras alteraciones nucleares (AN). Diez peces/pecera de 70 L, luego de 10 días de aclimatación, se expusieron a 0; 23,7; 37,8 y 154,1 mg ICD/L durante 96 h, ciclo luz-oscuridad 12-12 h, pH 8,3; 25,5° C; 1.306 µS/cm. Se realizó eutanasia previa inmovilización por congelación, y se obtuvieron muestras de sangre por impronta. Las muestras se colorearon con Giemsa y se analizaron 2.000 eritrocitos por individuo (N=40). Se efectuaron las pruebas de Shapiro Wilk y Kruskal Wallis. Se observaron MN y otras alteraciones nucleares como núcleo periférico (NP), constricción nuclear (CN); muescas nucleares (NN), núcleo arriñonado (NK), células binucleadas, núcleo lobulado, núcleo ampollado (B) y brotes nucleares. Las NN y NK fueron más abundantes en la mayor concentración evaluada; los NP, CN, MN y B en la concentración intermedia ( $p=0,271$ ). Se concluye que el ICD en estas concentraciones no produjo diferencias estadísticas significativas en los MN y AN analizadas en pez cebra.