

**LA UTILIZACION DE ORGANOS DE ANOLIS SP
COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINACIÓN**

Marina Valera Regús*

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la contaminación atmosférica por plomo y se estudia la posibilidad del uso de la especie del suborden Sauria, familia Iguanidae, género Anolis como bioindicador de contaminación.

ABSTRACT

In this work we study lead pollution and the use of species suborder Sauria, family Iguanidae, genus Anolis as pollution bioindicator.

PLABRAS CLAVES: Anolis, Contaminación, Plomo.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del medio ambiente es un problema acuciante del medio moderno. Su causa principal es la combustión, que se produce debido a la actividad de las industrias, del transporte público o privado y la incineración incontrolada de basuras.

Los contaminantes pueden afectar al hombre, los animales y a las plantas y el daño que puedan causar al organismo depende de la forma en que se hallen y su forma de inclusión a éste, lo cual

* Universidad de La Habana, Cuba

constituye tema de importantes investigaciones científicas por el alcance y la gravedad que tienen sus consecuencias.

Las afectaciones al hombre que pudieran causar los contaminantes son objeto de estudio experimental en animales que sirven como bioindicadores¹. El presente trabajo pretende verificar la posibilidad de usar el reptil suborden Sauria, familia Iguanidae, género *Anolis* como bioindicador de contaminación.

El género *Anolis* fue el seleccionado para esta investigación por ser representante de un numeroso grupo altamente distribuido por toda Cuba, donde realizamos el trabajo, y específicamente en la Provincia Habana y en Ciudad de La Habana, según reporta Riubal en 1964. Sus especies son estacionarias, escogen su microhábitat en espacios soleados, de alimentación sobre plantas, parásitos o larvas. Su tamaño oscila desde los 70mm en los machos hasta los 46mm en las hembras.

Se caracterizan por su color pardo y franjas verticales amarillas con puntos en los costados, su saco gular es rojo-anaranjado².

La especie utilizada es el *Anolis sagrei* que tiene amplia distribución por las islas del Caribe como Cuba, Jamaica, Bahamas e islas Caimán.

El Plomo: La contaminación y sus efectos

Se considera que existe contaminación cuando el ambiente contiene impurezas en concentraciones perjudiciales para el hombre o su medio³. El tamaño de las partículas contaminantes es el parámetro más importante pues define su comportamiento: las partículas mayores de 10 micrones no son nocivas a los humanos, las de 10 a 0.1 micrones son abundantes y muy dañinas debido a su alta permanencia en el aire, las partículas menores de 0.1 micrón no pueden pesarse y solo se cuentan.

Las fuentes naturales de plomo en el aire no contribuyen significativamente a la contaminación. La fuente principal del plomo contaminante, perjudicial a la salud humana son sus aplicaciones industriales y tecnológicas. La más dispersiva es la fabricación y uso de los derivados alquílicos del plomo, que se

agregan al combustible para aumentar el octanaje. Así, el tránsito vehicular se convierte en la fuente más importante de contaminación por plomo del aire⁴.

Las partículas de plomo son menores de 0.4 micrones, lo que facilita su penetración en los pulmones. El 40% del plomo que entra al cuerpo inspirado es absorbido, se absorbe menos por ingestión y afecta mayormente a los niños el metal usado como colorante de caramelos, en la pintura y el polvo⁵.

El plomo es un metal blando de color plateado, que posee 4 electrones en su órbita de valencia y solo 2 se ionizan fácilmente, por lo que su estado de oxidación en los compuestos inorgánicos es de +2 y no +4.

En condiciones apropiadas de síntesis se forman compuestos estables del plomo ligado directamente a un carbono. El tetraetilo y tetrametilo son muy conocidos. El punto de ebullición del tetrametilo es de 110°C y del tetraetilo 200°C. La escala de temperaturas de ebullición de los hidrocarburos de la gasolina va de 20°C a 200°C de modo que su evaporación tiende a concentrar ambos derivados en el residuo líquido descomponiéndose a la temperatura de ebullición o a una algo inferior. En los gases de escape la proporción del tetraetilo y tetrametilo aumenta a medida que se calienta el motor⁵.

El tetraetilo y tetrametilo de plomo son manufacturados comercialmente por alquilación de una aleación de plomo sódico con etilcloruro, usándose metilcloruro para producir tetrametilo. Estos productos no son exportados por Estados Unidos, aunque sí las mezclas antidetonantes.

Hasta los años 70 el uso de los componentes antidetonantes de los combustibles alcanzó los 312 millones de kilogramos en los EE.UU. Desde 1978 el consumo viene disminuyendo luego de que la Agencia de Protección del Ambiente emitiera regulaciones que requerían una reducción gradual en el contenido de plomo en la gasolina. Se han dispuesto regulaciones específicas al plomo para un ambiente aéreo de calidad en una concentración límite de 1.5 gr/l. La regulación del nivel biológico de plomo en sangre ha sido limitada por la CEE a no mayor de 200 µgr/l para

la población y en 350 $\mu\text{gr/l}$ para los individuos, sobre la cual se debe reducir la exposición⁷.

La disminución del consumo del plomo y las regulaciones a que ha sido objeto se han debido a los efectos nocivos a la salud humana que ya se observan a nivel mundial.

Los efectos de un determinado contaminante dependen del tipo de sustancia que lo forman, la sensibilidad del organismo, el tipo de órgano que afecta, su concentración y el tiempo de exposición al él³.

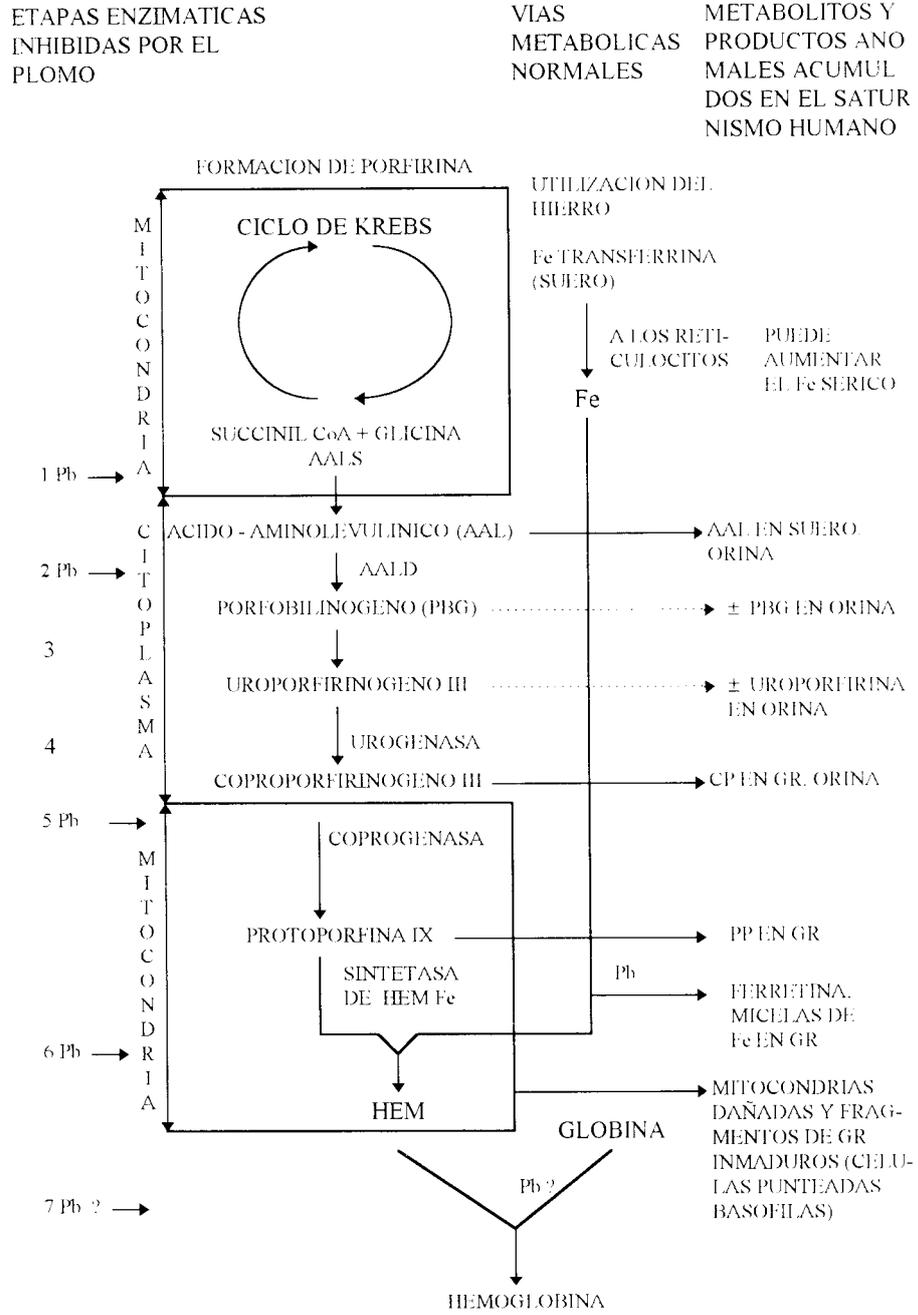
El daño causado por el plomo, mercurio, hierro, cobalto como metales pesado contaminantes consiste en que provocan alteraciones debido a su alta afinidad con el sulfuro que se encuentra en la estructura de las proteínas. Encontrándose dentro del organismo, estos elementos fácilmente reaccionan con los grupos sulfhidrilos (-SH) contenidos en las proteínas alterando su composición y, por ende, afectando su función³. También atacan los grupos amino y carboxilo. Diversos estudios demuestran la inhibición del transporte de sustancias en la membranas celulares debido a metales pesados como el plomo⁸.

El uso excesivo del plomo ha obligado a establecer los “sígnos de intoxicación plúmbica” llamados saturnismo. Se han determinado afectaciones por plomo a los sistemas reproductor, renal, gastrointestinal, cardiovascular, respiratorio, nervioso y hematopoyético.

Las afectaciones por plomo al sistema reproductor incluyen daños a la fertilidad por reportes de partos de fetos muertos¹¹ y abortos espontáneos entre mujeres que trabajan en la industria de ese metal^{5,9}, provocados por alteraciones en las respuestas estrogénicas a nivel de los receptores para esta hormona, así como afectaciones masculinas como hiperplasia prostática e inhibición de la espermatogénesis; asimismo interfiere a diferentes niveles del ciclo reproductivo irregularizando el ciclo estral y la implantación¹⁰, por medio de la afección bioquímica de la esteroidogénesis¹¹.

Los efectos renales son de dos tipos; el primero se caracteriza por la Triada de Fanconi de aminoaciduria, hiperfosfaturia y

INTERFERENCIA DEL PLOMO EN LA BIOSINTESIS DEL HEM (NAS-NRC,1972)



glucosuria; el segundo tipo se caracteriza anatómicamente por esclerosamiento y fibrosis intersticial, lo cual reduce la capacidad de filtración y es irreversible⁵.

El daño gastrointestinal se manifiesta por contracciones espásmicas desde el estómago hasta el yeyuno, acompañados de estreñimiento y cólicos⁵. En el sistema respiratorio, el plomo afecta los macrófagos alveolares, importantes en la degradación de sustancias nocivas y otras reacciones defensivas⁷. El plomo traspa la placenta materna conllevando mayor riesgo en el primer trimestre de vida intrauterina. La exposición pre- y postnatal provoca cambios irreversibles en los receptores del sistema nervioso⁹, daño que persiste en la edad adulta con sus efectos negativos al índice de inteligencia, capacidad de aprendizaje, pérdida de la memoria y capacidad de concentración.¹¹

Los efectos al sistema hematopoyético se verifican a concentraciones de plomo en sangre (Pb-H) inferiores a los demás sistemas⁵. Ocurre interferencia en varias etapas enzimáticas de la biosíntesis del grupo hemo que forma parte de los citocromos respiratorios mitocondriales, de enzimas como la catalasa y la peroxidasa y de hemoproteínas tisulares como la mioglobina, inhibe la adenosín trifosfatasa (ATPasa) eritrocitaria y disminuye la concentración de hemoglobina.⁶

La distribución intracelular del plomo se ha verificado experimentalmente demostrando su alta afinidad por las membranas celulares, especialmente por las mitocondrias que presentan alteraciones funcionales y ultraestructurales en los órganos afectados⁵.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para comparar el nivel de contaminación que pudiera ser detectado en nuestro objeto biológico de estudio fueron seleccionados dos lugares de colecta: los jardines de la estación práctica de la facultad de Biología de la Universidad de La Habana llamada Laboratorio Biológico Docente (LBD), donde la contaminación se considera nula, y los jardines de la Imprenta cercano a la Facultad de química de la Universidad antes mencionada, lugar donde se contempla encontrar signos de contaminación.

En el primero fueron colectados 4 ejemplares de *Anolis*, machos adultos. En el segundo lugar se colectaron 5 ejemplares, machos adultos. Los animales fueron sacrificados mediante la aspiración de vapores de éter. Se practicó la disección y extracción de los órganos a estudiar, el hígado y el riñón, los cuales fueron fijados en solución de formalina al 6%, lavados, procesados en alcohol e incluidos en parafina.

Las muestras en bloques de parafina fueron cortadas a 5 micrómetros y la tinción realizada con el método del Azul Prusia que detecta el hierro férrico; terminada la coloración de contraste se montó el material en resina neutra.

El análisis histológico y citológico reveló la existencia de manchas azules (MA) como pigmentación al exterior del tejido, y de reacción azul de Prusia positiva (RAP+) como pigmentación interna del tejido considerados posibles signos de contaminación.

Se realizaron 8 conteos por animal para las (MA) y la (RAP+), obteniéndose 32 conteos (N=32) para el LBD y 40 (N=40) para el patio de la Facultad de Química, con valores extremos, cuya distribución fue no paramétrica por lo que se utilizó la prueba U de Mann Whitney con un programa estadístico preparado por el prof. A. Sigarroa en 1985.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al efectuar la disección del hígado y riñón tanto de los animales procedentes del laboratorio Biológico Docente (LBD) como los del patio de la Facultad de Química, no hallamos signos anómalos in situ. Los lóbulos y coloración del hígado no mostraron desviación de acuerdo a lo reportado por Gurtovoi¹² en 1976. Para el riñón, de igual forma, su ubicación, cápsula de grasa y color se observaron normales.

El análisis de los cortes histológicos con la tinción azul de Prusia evidencia para el hígado, una tendencia a la organización en lobulillos con los hepatocitos dispuestos en hileras o trabéculas alrededor de una vena central, disposición ya reportada para los reptiles. Las células hepáticas no muestran signos evidentes de daños y se observan algunos núcleos poliploides. Se aprecia-

ron conductos biliares de diferentes diámetros y la cápsula de tejido conectivo bien definida.

Con relación a las llamadas manchas azules (MA) y la reacción azul de Prusia positiva (RAP+), su frecuencia de aparición se evidenció más en los cortes de hígado de los animales procedentes del LBD. Los valores de U ratifican la observación al microscopio pues tanto para las MA Como para la RAP+ se ofrecía una diferencia significativa, favorable a los conteos de cortes de la LBD.

Valor de U ($p < 0.05$) para los conteos de MA de los cortes de hígado procedentes del LBD y el patio de Química.

$$U = 853.00^*$$

Valor de U ($p < 0.05$) para los conteos de acúmulos de RAP+ de los cortes de hígado procedentes del LBD y el patio de Química.

$$U = 812.50^*$$

La aparición de las manchas azules como signo de hierro depositado en el tejido pudieran explicarse por la riqueza de ese mineral en el suelo del LBD. Dicho suelo aparece clasificado como ferralítico rojo entre otros suelos de las provincias Ciudad de La Habana y La Habana¹³.

Si estos Anolis se alimentan preferentemente de insectos y larvas y éstos de hojas de plantas, las lagartijas pudieran incorporar el hierro vía oral que previamente se ha adherido a las plantas que sirven de sustento en esta cadena alimentaria a los insectos y larvas.

Que los microorganismos captan pigmentos se ha demostrado, pues se encontró que dentro de los actinomicetos en los suelos rojos ferralíticos existían especies dominantes de estreptomices con colores rojos en sumicelio aereo y vegetativo, lo cual pudiera estar vinculado a la presencia de pigmentos que contengan hierro¹³.

Por otra parte, en la provincia Guantánamo ya se combate la anemia en cerdo mediante hierro soluble obtenido a partir de suelo

mezclado con agua y miel de purga, por lo que porciones de hierro se han quelatizado y pasan al torrente sanguíneo.

De manera, que las denominadas manchas azules (MA) pudieran ser la expresión de una deposición de exceso de hierro incorporada indirectamente a través de la dieta.

Para los acúmulos de RAP+ que hallamos como introducidos dentro del tejido pudiera también ser válida la explicación anterior pero pudiera ser la evidencia de una contaminación con plomo, que fue el encontrarla, el propósito inicial de este trabajo.

Los derivados trialquílicos de plomo son formados por dealquilación en el hígado y aquellos perturban la síntesis del grupo hemo en el humano. El plomo interfiere en varias etapas enzimáticas de la biosíntesis del hemo, en la utilización del hierro y en la síntesis de globina en los eritrocitos. Si bien no se comprenden claramente los mecanismos *in vivo*, el hierro presente en el hemo (ferritina y micelas de hierro) se acumula en los glóbulos rojos con mitocondrias dañadas.

Por lo anterior el exceso de acúmulo (RAP') encontrados en el hígado de los animales del LBD pudiera ser producto de la contaminación por plomo obtenida por vía respiratoria a la sangre y de ésta al hígado debido a la cercanía de esa estación docente al Aeropuerto Internacional José Martí, que constituye una fuente constante de emisión de gases que contienen tetraalquilos de plomo. Ya se había observado un efecto fatal en aves que se encontraban en situación similar⁶.

Los cortes de riñón estudiados presentan patrones histológicos normales, para los nefrones y conductos y es ahí, a nivel estructural . donde se reportan mayores daños. No se aprecian en las preparaciones manchas azules en abundancia o acúmulos de RAP+, tanto para los cortes de riñón del LBD, como los procedentes del patio de Química y los valores de U ratifican lo observado siendo no significativas en la comparación de ambos casos.

Valor de U ($p < 0.05$) para los conteos de manchas azules de los cortes de riñón procedentes del LBD y el patio de Química.

U=709.00

Valor de $U(p < 0.05)$ para los conteos de acúmulos de RAP+ de los cortes de riñón procedentes del LBD y del patio de Química.

$$U = 651.00$$

Lo anterior es lógico pues aunque por el riñón pasa toda la sangre varias veces al día, el daño del mismo sería morfológico merced a la constante eliminación de los derivados tóxicos formados en el hígado y cuyo efecto en los eritrocitos ya comentamos.

CONCLUSIONES

En los casos estudiados se observó que el hígado de *Anolis* sp evidencia signos de deposición de hierro que puede provenir por vía alimentaria directa o respiratoria a través de contaminación ambiental por plomo.

La acumulación de hierro en el hígado puede estar relacionada con el ciclo de vida de los eritrocitos, los cuales constituyen el componente crítico de la acción tóxica del plomo.

En los riñones de los citados ejemplares de *Anolis* sp no se aprecia daño morfológico que manifieste contaminación, ni deposición de hierro significativas.

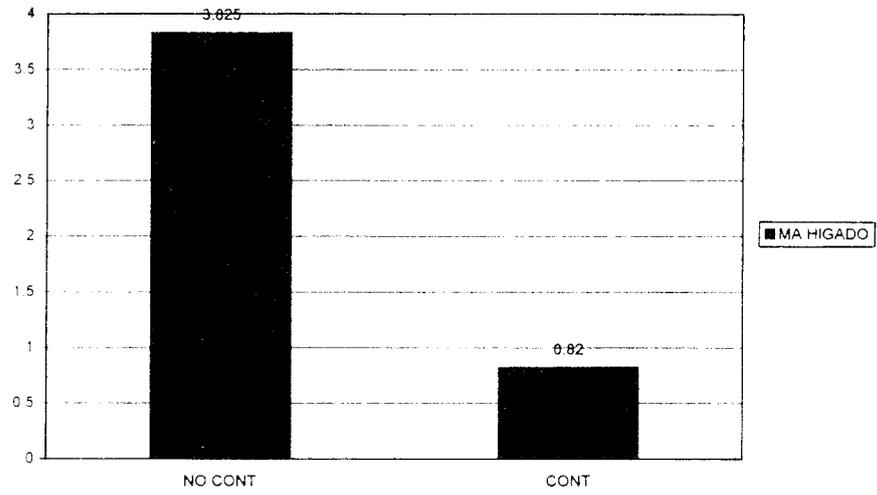
RECOMENDACIONES

Si la riqueza en hierro del hígado tiene procedencia alimentaria, se recomienda para demostrarlo mostrar invertebrados de suelos diferentes y medir en ellos el contenido en hierro.

Realizar cortes de pulmón en los *Anolis* para apreciar el efecto en este órgano.

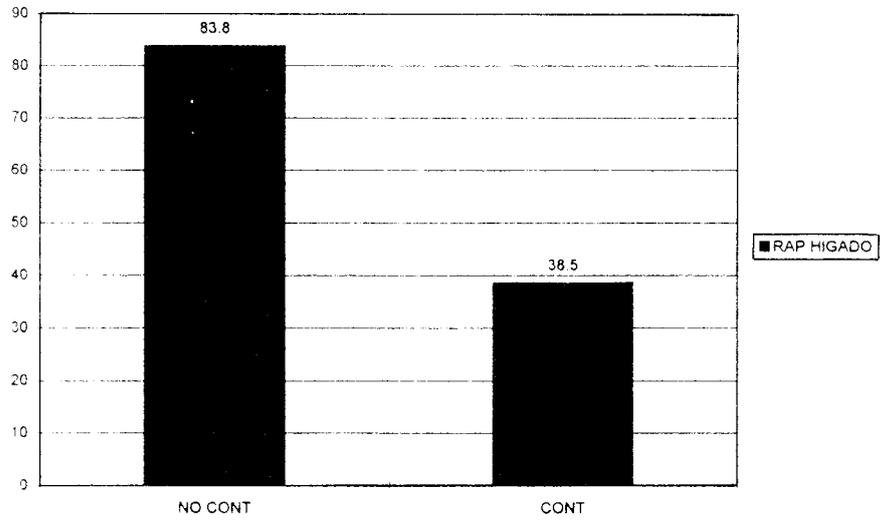
Comprobar con mayor exactitud la proveniencia del hierro en hígado, realizando experimentos en condiciones deseadas que pudieran mostrar el efecto real de la ingestión de hierro o contaminación por plomo.

MA HIGADO



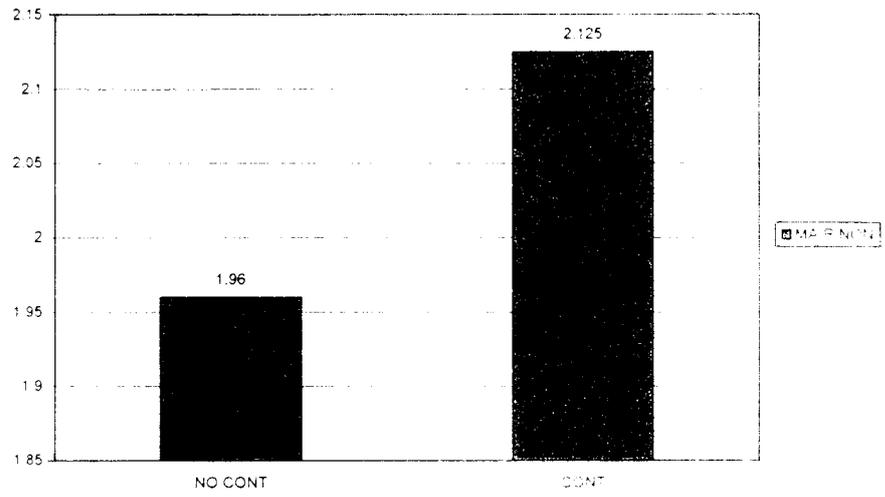
Niveles de manchas azules en hígado para especies en condiciones contaminadas y no contaminadas

RAP HIGADO



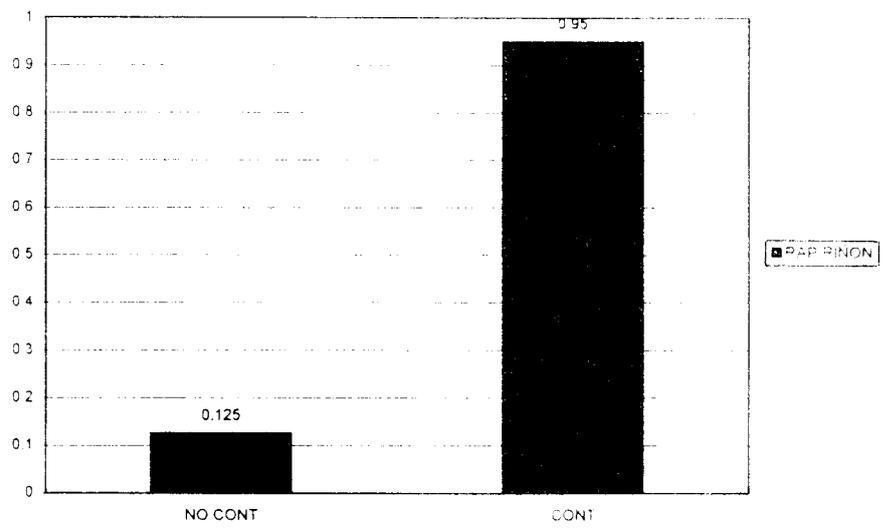
Reacción al azul de Prusia en el hígado de especies en condiciones contaminadas y no contaminadas

MA RIÑON



Niveles de manchas azules en riñones para especies en condiciones contaminadas y no contaminadas

RAP RIÑON



Reaccion al azul de Prusia en riñones de especies en condiciones contaminadas y no contaminadas

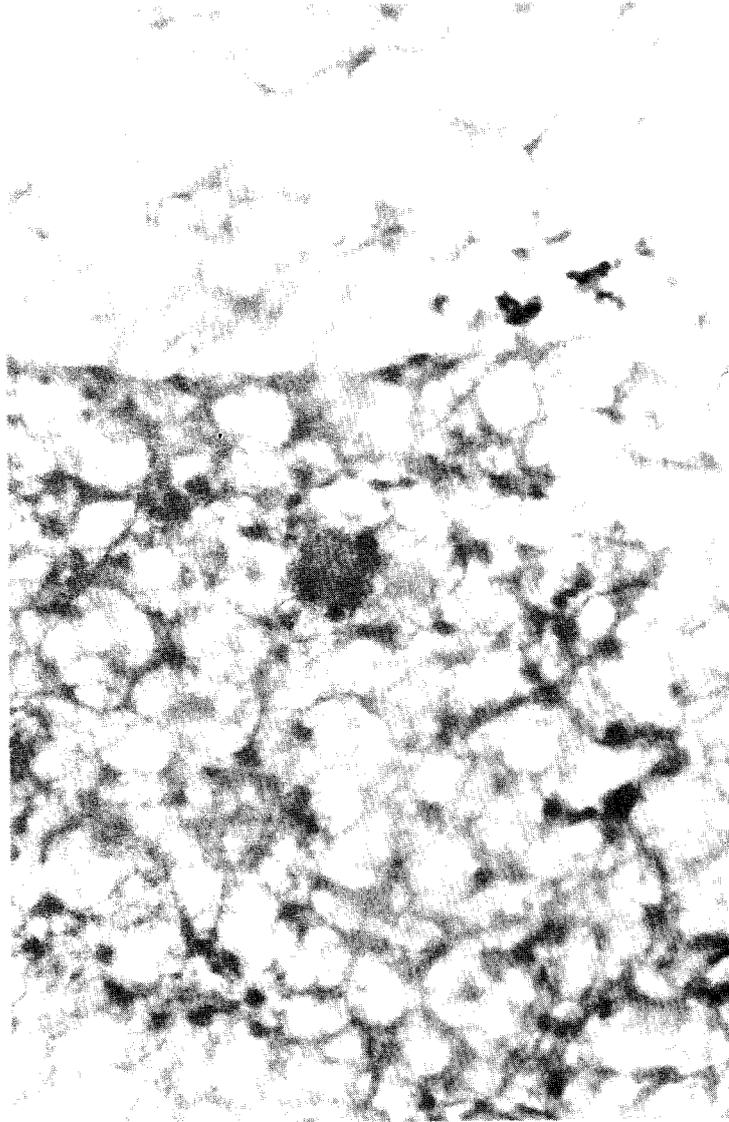


Fig 1. Manchas azules (MA) en el hígado de Anolis procedentes de LBD. 125x.

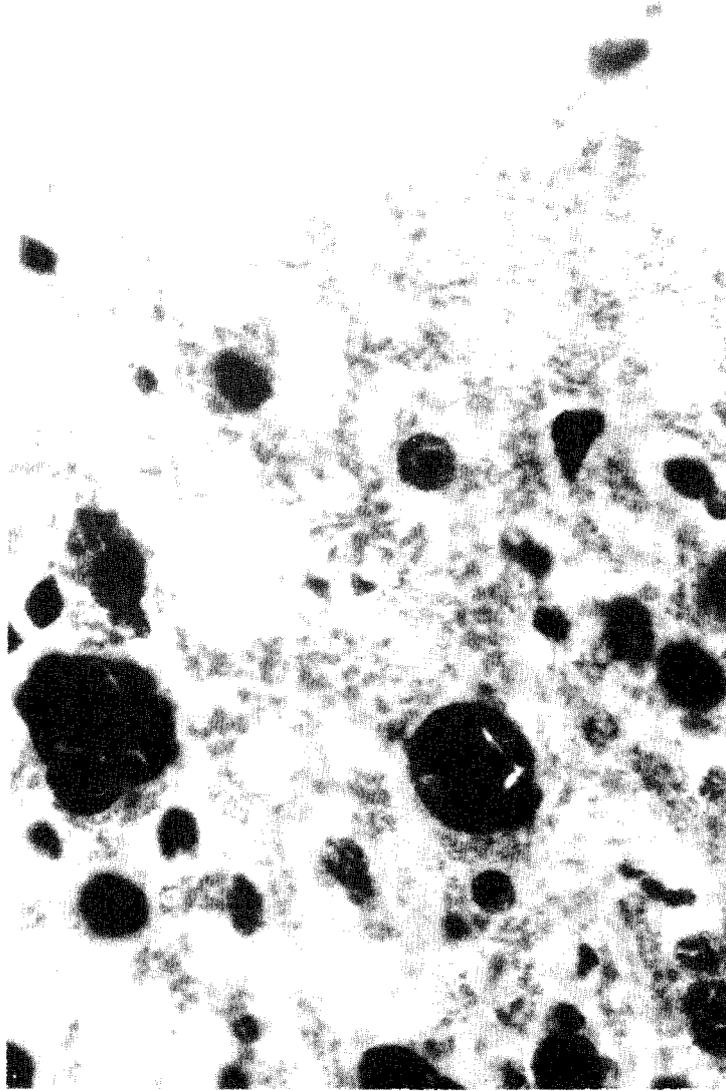


Fig 2. Reacción azul de Prusia positiva (RAP+) en el hígado de Anolis procedentes de LBD. 125x.

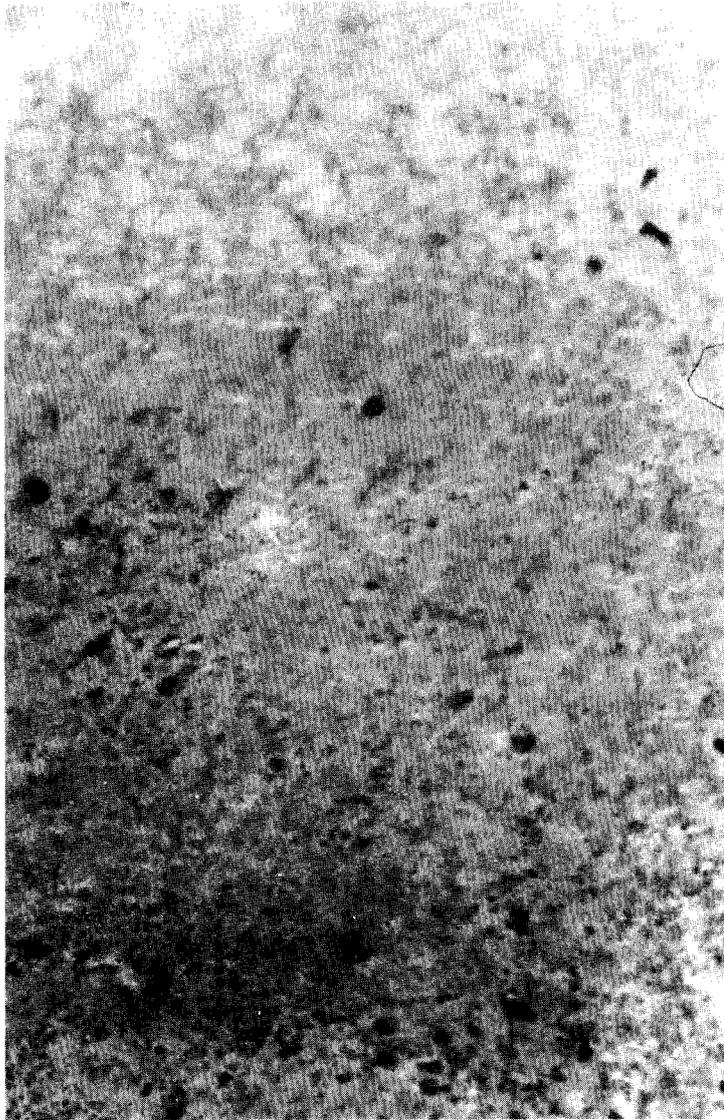


Fig 3. Reacción azul de Prusia positiva (RAP+) en el hígado de Anolis procedentes del patio de Química. (Nótese la ausencia de manchas azules). 125x.

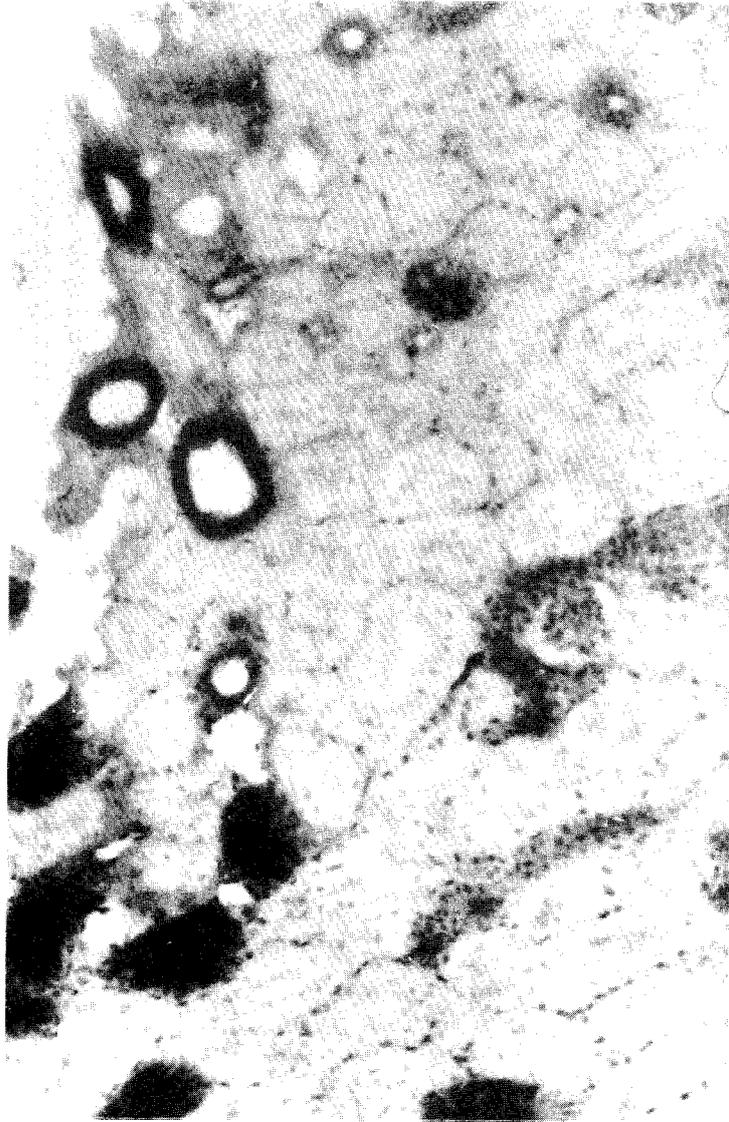


Fig 4. Riñón de Anolis de LBD. Se aprecia la ausencia de (RAP+) y (MIA).
125x.

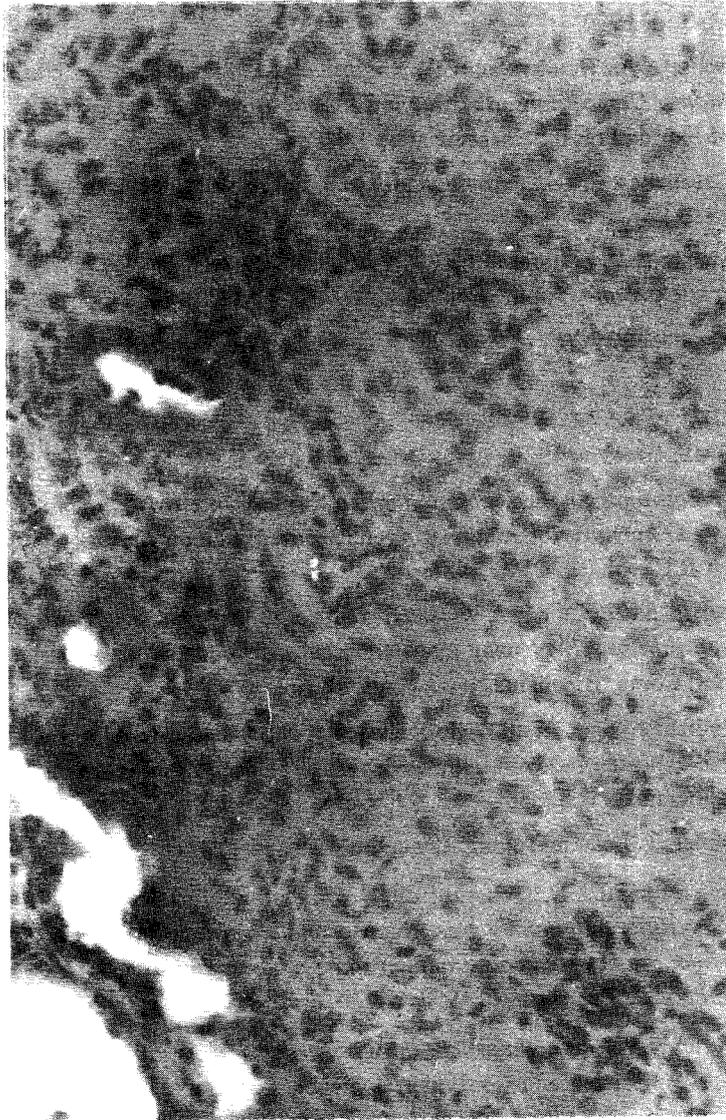


Fig 5. Riñón de Anolis procedentes del patio de Química. Se aprecia la ausencia de (RAP+) y (MA). 125x.

BIBLIOGRAFIA

1. Martínez - Conde, E. *La paloma urbana como bioindicador (plomo en la ciudad de Madrid)*, Edición del Ayuntamiento de Madrid, 1990.
2. Schartz, A.; Henderson, R.W. *Amphibians and reptiles of the West Indies: Descriptions, distributions and Natural History*, University of Florida Press, Sainessville, 1991.
3. Casanelles. E. *La contaminación, hoy*, Editorial Teide, Barcelona, 1983.
4. Suess, M.J.; Crawford, S.R. *Manual de calidad del aire en el medio urbano*, Publicación científica 401, OMS, 1980.
5. *Criterios de salud ambiental 3*. Publicación científica 388. OMS. 1979.
6. *Lead - Enviromental Aspects. Enviromental Health Criteria 85*. OMS. Ginebra. 1989.
7. *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*. International Agency for research on cancer. I.A.R.C. vol. 23. OEA. 1988.
8. Iturris, S. ; Peña, A. *Heavy metal- induced inhibition of active transport in the rat small intestine in vitro. Interaction with other ions*. Comp. Biochem. Physiol. vol. 84c, No. 2. 1986.
9. Rothenberg, S.J. et all. *Neurobehavioral deficits after low level lead exposure in neonates: the Mexico city pilot study*. Neurotoxicol. teratol. 11: 85. 1989.
10. Oliver, T. *Lead poisoning*. Londres. N.K. Lewis. 1914.
11. Tchernithcin, A.N.; Tchernitchin, N. *Imprinting of paths of heterodifferentiation by prenatal or neonatal exposure to hormones, pharmaceuticals, pollutants and other agents and conditions*. Med. Sci. Pres. 20.1992.
12. Gurtovoi, N. *Zootomía práctica de los vertebrados, anfibios y reptiles*. Edición en ruso. Editorial Escuela Superior. Moscú. 1978.
13. Fernández, C. *Estudio en las comunidades de actinomicetos de diferentes ecosistemas*. Tesis de grado, Budapest, Hungría, 1980