

Nuestra Facultad

TESIS DOCTORALES

EVALUACIÓN ECOTOXICOLÓGICA DE FILTROS ULTRAVIOLETA EN INVERTEBRADOS. ANÁLISIS DE LOS EFECTOS CELULARES EN EL INSECTO ACUÁTICO *CHIRONOMUS RIPARIUS*

En los últimos cien años, como consecuencia del desarrollo industrial, ha aumentado de forma considerable la producción de nuevos compuestos químicos que junto con sus productos de desecho han sido vertidos de forma incontrolada al medio ambiente [1]. Los contaminantes emergentes abarcan una amplia diversidad de compuestos, desde productos farmacéuticos, de cuidado personal, químicos industriales, nuevos plaguicidas, etc., hasta los metabolitos derivados de todos estos compuestos [2]. La introducción de nuevos tóxicos en el medio ambiente es cada vez mayor, y suponen un riesgo potencial para las poblaciones animales, pero también pueden ocasionar problemas en la salud humana [3]. Esto pone de manifiesto la importancia de analizar el impacto toxicológico de estos nuevos compuestos antes de ser liberados indiscriminadamente al medio ambiente.

Un grupo de contaminantes son los denominados disruptores endocrinos (EDCs); estos compuestos interfieren con la producción, liberación, transporte, metabolismo, unión, acción o eliminación de las hormonas naturales del organismo, responsables del mantenimiento, homeostasis y regulación del desarrollo [4]. Los estudios realizados hasta el momento han permitido clasificar cada vez más sustancias con esta capaci-

dad de disrupción endocrina, revelando que constituyen una seria amenaza para la salud humana, la fauna y los ecosistemas. Actualmente la lista publicada por la Comisión Europea incluye 553 sustancias con potenciales efectos disruptores endocrinos [5]. Entre los contaminantes descritos en los ecosistemas acuáticos que presentan estos efectos existe una gran diversidad incluyéndose productos como el dicloro difenil tricloroetano (DDT), el bisfenol A, los bifenilos policlorados (PCBs), los furanos, los ftalatos, etc. [6].

Los filtros ultravioleta (UV), compuestos químicos orgánicos, se utilizan en una gran cantidad de productos cotidianos debido a que sus propiedades físico-químicas ayudan a protegerlos de los efectos adversos de la radiación ultravioleta; los encontramos por ejemplo en plásticos, textiles, pinturas, etc. La luz UV también tiene consecuencias negativas en los seres humanos, provocando alergias, dermatitis, quemaduras e incluso cáncer por la aparición de melanomas, lo que favorece que cada vez sea más frecuente el uso de los filtros UV en diversos productos cosméticos [7]. La concentración de los filtros UV en los ecosistemas acuáticos ha aumentado de forma considerable en los últimos años, principalmente por la utilización de cremas solares en aguas de recreo, llegando a considerarse contaminantes emergentes [8].

Investigaciones recientes han demostrado que algunos filtros UV interfieren en el sistema endocrino de distintos organismos, principalmente vertebrados, lo que evidencia la importancia de conocer sus potenciales efectos en la biota acuática [8-9]. Sin embargo, y como ocurre de manera frecuente, los estudios en invertebrados son muy limitados a pesar de que forman la base de los ecosistemas acuáticos.



Figura 1. Ejemplos de productos que contienen filtros ultravioleta.



Figura 2. Ciclo de vida de *Chironomus riparius*. Las imágenes representan distintas etapas de su ciclo de vida. Etapas acuáticas: embrión, larvas del primer y cuarto estadio y pupa. Etapa aérea: adultos macho y hembra.

Los quironómidos representan uno de los grupos de invertebrados bénticos más abundantes de los ecosistemas de agua dulce. *Chironomus riparius* es ampliamente utilizado como organismo modelo o de referencia en estudios de toxicidad acuática, debido a varias características como son su amplia distribución, su ciclo de vida corto, cultivo en laboratorio fácil y poco costoso, tolerancia fisiológica a condiciones de contaminación ambiental y a que su desarrollo larvario se encuentra asociado a los sedimentos, donde se acumula gran parte de la contaminación. Estos insectos se utilizan en test ecotoxicológicos como bioindicadores, tanto a nivel de organismo y población como a nivel de alteraciones celulares y moleculares [10-12].

En esta tesis se han estudiado los efectos de seis filtros UV en el insecto béntico *C. riparius* con la intención de analizar sus mecanismos de acción a nivel celular y molecular y cono-

cer su posible acción como disruptores endocrinos. Los seis filtros UV seleccionados son los que aparecen más frecuentemente en los ecosistemas acuáticos: 4-metilbencilideno alcanfor (4-MBC), octil metoxicinamato (OMC), octil dimetil paraaminobenzoato (OD-PABA), octocrileno (OC), benzofenona-3 (BP-3) y 4-hidroxibenzofenona (4-HB). Se analizó la toxicidad en dos estadios del ciclo vital: larvas y embriones. Además, se evaluaron los efectos subletales cuantificando, por medio de PCR en tiempo real, las alteraciones en la expresión de genes relacionados con el sistema endocrino de insectos, la respuesta de estrés celular y los procesos de detoxificación celular.

Los resultados obtenidos demuestran que todos los filtros UV ensayados son capaces de alterar el sistema endocrino al activar la expresión del receptor de la ecdisona en larvas y/o embriones de *C. riparius*. La ecdisona es una hormona esteroidea clave en la regulación del desarrollo de insectos, ac-

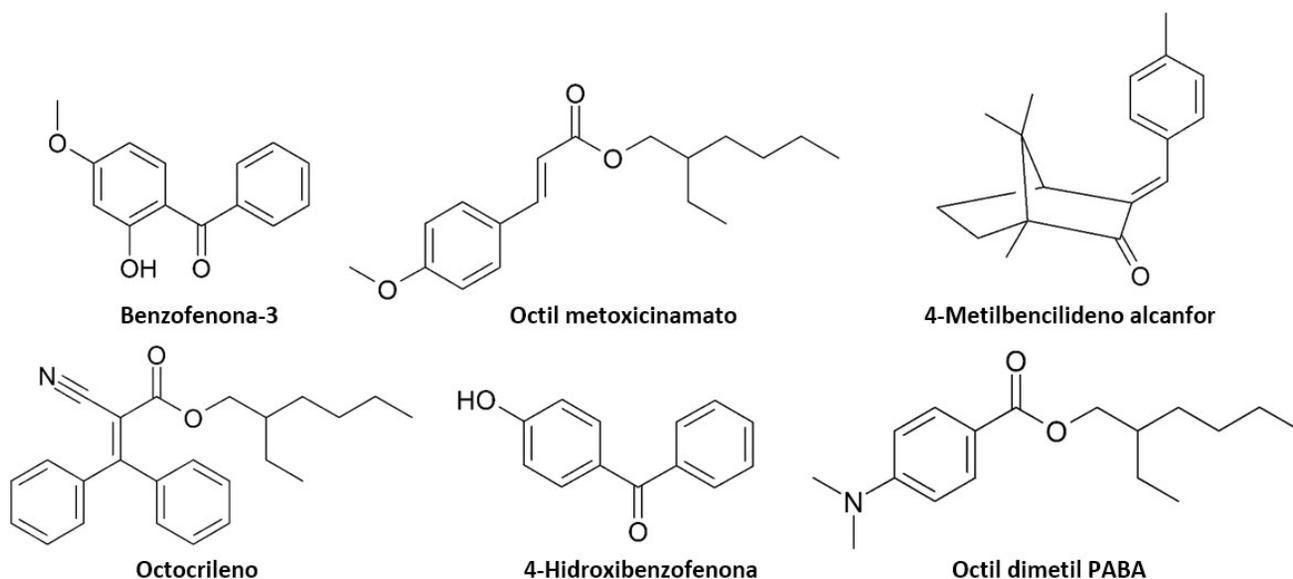


Figura 3. Estructura química de los filtros ultravioleta estudiados en este trabajo.

tuando como regulador central de las transiciones en el desarrollo. También se observó un incremento en el ARNm del gen *hsp70*, indicando una activación en la ruta de estrés celular. Por otro lado, los resultados obtenidos sugieren que los embriones son más sensibles que las larvas a la acción de los filtros UV.

Los experimentos sobre la acción específica del BP-3 en larvas, embriones y órganos aislados, nos permiten concluir que este compuesto mimetiza la acción de la hormona ecdisona desencadenando una respuesta genómica similar y en la misma secuencia temporal que la propia hormona natural. Además, el BP-3 provoca un retraso en el desarrollo embrionario.

El presente trabajo demuestra por primera vez en invertebrados una interacción directa de los filtros UV con genes implicados en rutas endocrinas, siendo estos resultados consistentes con los efectos observados previamente en receptores hormonales esteroideos de vertebrados. La demostración experimental, a nivel genómico, de la interacción de los filtros UV con la ruta endocrina de la ecdisona tiene una gran relevancia ambiental, ya que es esencial en insectos y constituye la hormona esteroidea que funciona en el mayor número de organismos del planeta. Por tanto, sería necesario evaluar el riesgo ecotoxicológico de estos compuestos, así como su impacto ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] EEA (2011). Hazardous substances in Europe's fresh and marine waters. European Environmental Agency. EEA Technical Report 8/2011. doi:10.2800/78305.
- [2] P.E. Rosenfeld, L.G.H. Feng (2011). Emerging contaminants. En: Risk of Hazardous wastes, Ed. Elsevier, pp. 215-222.
- [3] S. Ortiz de García, G.P. Pinto, P.A. García-Encina, R.I. Mata (2013). Ranking of concern, based on environmental indexes, for pharmaceutical and personal care products: an application to the Spanish case. *Journal of Environmental Management*, 129:384-397.
- [4] USEPA (2012). US Environmental Protection Agency. 13 September, 2012. Endocrine Disruptors Research. Disponible en: <http://www.epa.gov/endocrine>. Visitado por última vez: Noviembre 2014.
- [5] EEA (2011). Hazardous substances in Europe's fresh and marine waters. European Environmental Agency. EEA Technical Report 8/2011. doi:10.2800/78305.
- [6] J. Lintelmann, A. Katayama, N. Kurihara, L. Shore, A. Wenzel (2003). Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 75:631-681.
- [7] D.R. Sambandan, D. Ratner (2011). Sunscreens: an overview and update. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 64(4):748-758.
- [8] M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló (2009). Chemical analysis and ecotoxicological effects of organic UV-absorbing compounds in aquatic ecosystems. *Trends in Analytical Chemistry*, 28:708-717.
- [9] M. Schlumpf, S. Durrer, O. Faass, C. Ehnes, M. Fuetsch, C. Gaille, M. Henseler, L. Hofkamp, K. Maerkel, S. Reolon, B. Timms, J. Tresguerres, W. Lichtensteiger (2008). Developmental toxicity of UV filters and environmental exposure: a review. *International Journal of Andrology*, 31:144-151.
- [10] USEPA (2000). US Environmental Protection Agency. Methods of measuring the toxicity and bioaccumulation of sediments associated contaminants with freshwater invertebrates, EPA-600/R-99/064.
- [11] OECD (2004). Guideline for testing of chemicals, sediment-water chironomid toxicity test using spiked sediment. Organization for Economic Cooperation and Development Test No. 218:1-21.
- [12] OECD (2006). Detailed review paper on aquatic arthropods in life cycle toxicity test with an emphasis on developmental, reproductive and endocrine disruptive effects. OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment N° 55. Paris, July 2006.

Irene Ozáez Martínez

*Grupo de Biología y Toxicología Ambiental
Dpto. de Física Matemática y de Fluidos*