

EFFECTOS OXIDATIVOS Y GENOTÓXICOS INDUCIDOS POR FUNGICIDAS DE USO AGRONÓMICO EN LÍNEAS CELULARES HUMANAS



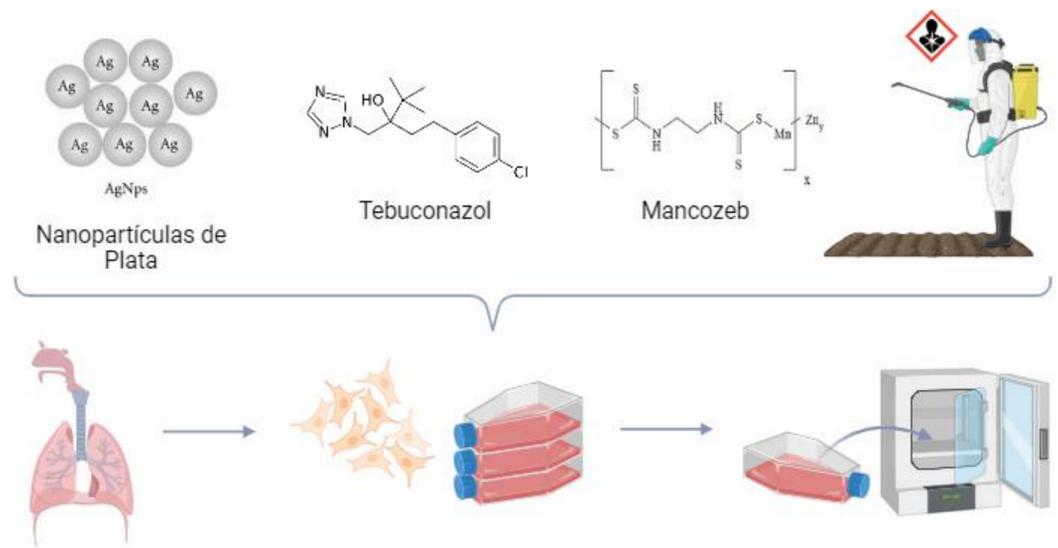
Andrioli Nancy, Bonzon Chiara, Dominguez Melissa, Poltronieri Mariel, Zylberstein Stefan, Chaufan Gabriela*

Laboratorio de Enzimología, Estrés oxidativo y Metabolismo (LEEM) QB78 (DQB) y Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE) lab 46 (DEGE), 4to piso, Pabellón 2.
gchaufan@qb.fcen.uba.ar

<http://www.iqubicen.fcen.uba.ar/research/laboratorio-de-enzimologia-estres-oxidativo-y-metabolismo/>

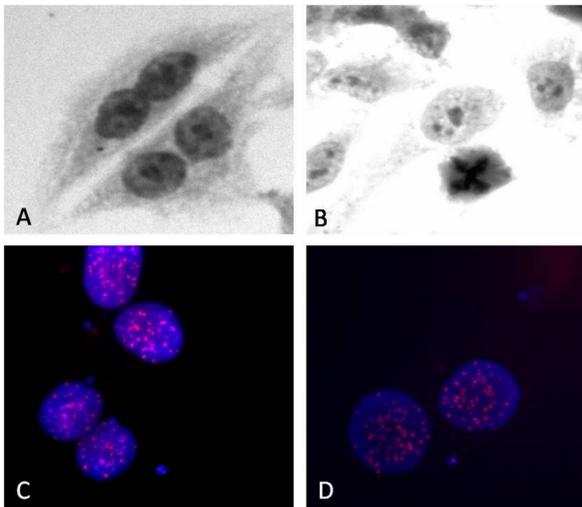
INTRODUCCIÓN

Los fungicidas, necesarios para combatir enfermedades causadas por hongos en cultivos, se aplican en diversas etapas, desde el tratamiento de semillas hasta el almacenamiento post-cosecha, propiciando diferentes condiciones de exposición. La fumigación a cielo abierto y especialmente el cultivo en invernaderos, donde las condiciones favorecen la acumulación de pesticidas, representan escenarios de alta vulnerabilidad para la población humana.



Ensayo de MNCB

A: células binucleadas
B: célula tetranucleada



Marcaación de núcleos (DAPI) y centrómeros positivos (FISH) (C, D)

OBJETIVO

El objetivo de nuestro trabajo es comprender los mecanismos de toxicidad, tanto citotóxicos como genotóxicos, de diversos agentes fungicidas en líneas celulares, como A549 y HEp-2, derivadas de tejidos respiratorios humanos. Estos modelos *in vitro* ofrecen una alternativa ética para evaluar la toxicidad de compuestos, reduciendo la necesidad de ensayos en animales y aportando datos para la metodología IVIVE (*in vitro in vivo extrapolation*) relacionando los datos obtenidos con los provenientes de ensayos *in vivo* previos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo Celular:

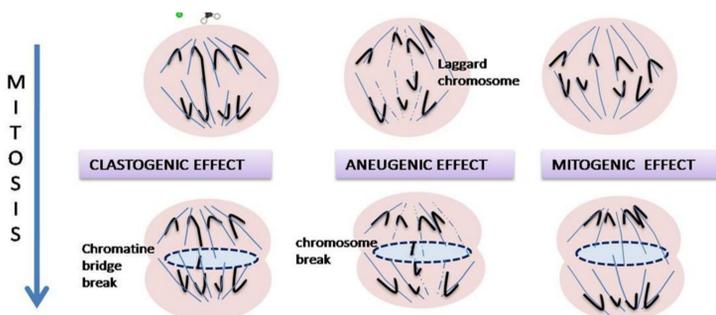
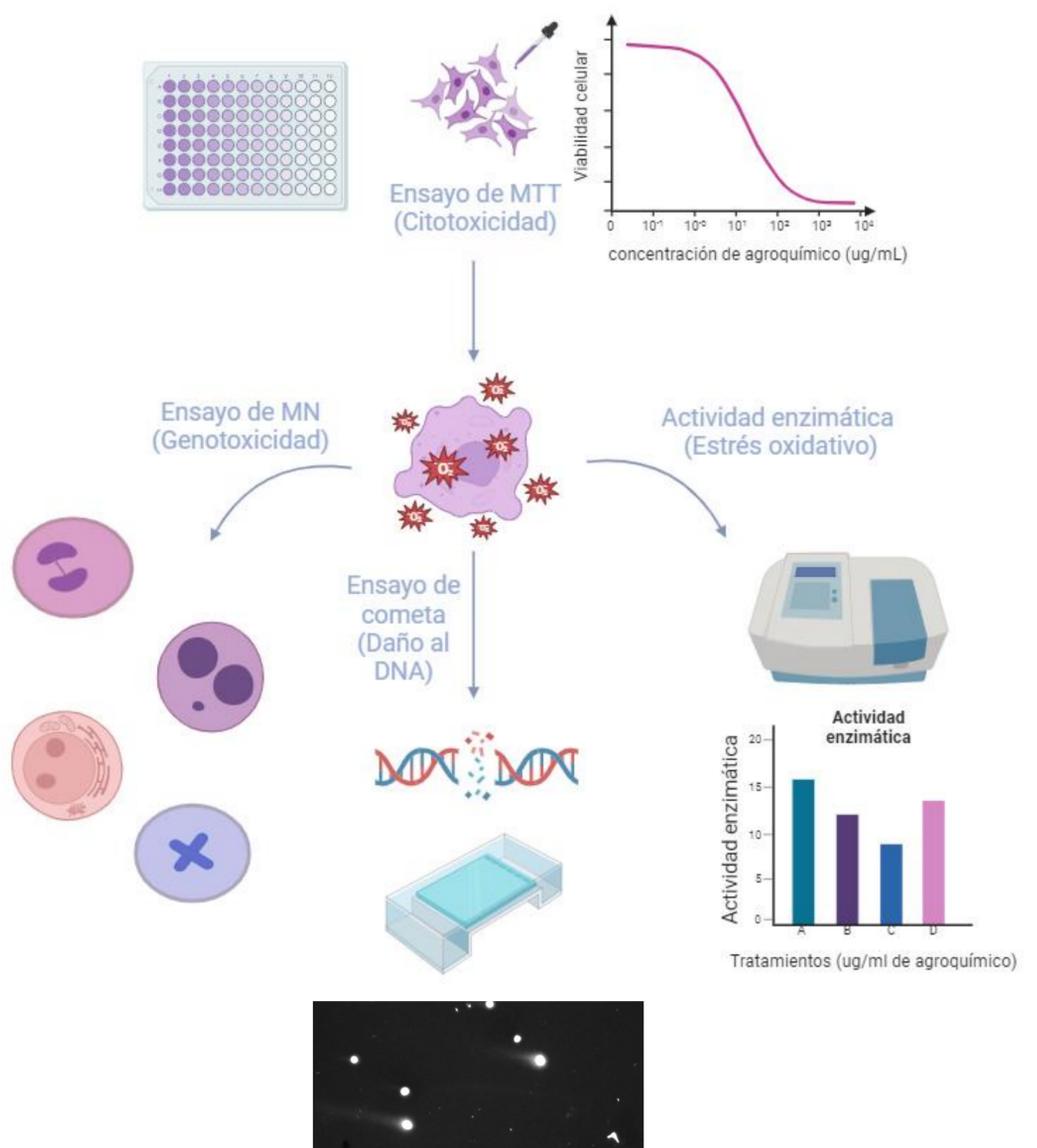
- ★ Medio mínimo esencial con suero fetal bovino al 10%, penicilina, estreptomina y anfotericina B.
- ★ Condiciones controladas a 37 °C y 5% de CO₂.

Ensayos de Genotoxicidad:

- ★ Micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (MNCB) y ensayo cometas (EC).
- ★ Exposición de células a concentraciones subletales de agroquímicos.
- Biomarcadores:
 - ★ Índice de División Nuclear (IDN) calculado como (M1 + 2M2 + 3M3)/N.
 - ★ Micronúcleos (MNI): Número de células binucleadas con micronúcleos/total de células binucleadas.
 - ★ Índice de Daño (ID): $0xn_0 + 1xn_1 + 2xn_2 + 3xn_3 + 4xn_4$, donde n_x es el número de células con niveles de daño X.

Determinación de Enzimas Indicadoras de Estrés Oxidativo:

- ★ Crecimiento celular en placas de Petri (6 por tratamiento).
- ★ Cosecha de células mediante tripsina y centrifugación.
- ★ Almacenamiento a -20°C.
- ★ Determinaciones enzimáticas (CAT, SOD, GST), no enzimáticas (GSH) y de daño (oxidación de proteínas).



CONCLUSIÓN

Los resultados contribuyen a comprender los mecanismos celulares implicados en la toxicidad de los agentes estudiados, respaldando medidas regulatorias que buscan proteger a la población humana. Este enfoque se alinea con los principios de las 3R, reduciendo, refinando y reemplazando la necesidad de ensayos en animales, mejorando la ética en la investigación.