Indicadores de estrés oxidativo hemático como biomarcadores de recuperación en tortugas bobas (*Caretta caretta)* varadas en aguas del Archipiélago Canario.

Ester García-Pastor[1], David Quinto-Alemany[1], Fátima Mesa-Herrera[1], Santiago Mayans[2], Mario Díaz[1]

1. Dpto. De Biología Animal y Edafología y Geología UDI Fisiología Animal, Universidad de La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España.
E-mail: madiaz@ull.es
2. Centro de Recuperación de Fauna Silvestre "La Tahonilla", La Laguna, Tenerife, España.
E-mail: santiago@tenerife.es

Introducción:

La producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) es un componente importante de la respuesta de los organismos marinos expuestos a una variedad de estresores medioambientales, incluida la contaminación marina. El conocimiento de los niveles de actividad enzimática antioxidante y la capacidad de recuperación frente al estrés oxidativo en *Caretta Caretta* pueden suponer una valiosa herramienta para la conservación de esta especie y de su hábitat. La respuesta bioquímica es la primera línea de defensa para las células expuestas a contaminantes siendo la primera y más rápida respuesta a los cambios ambientales.

Esta respuesta enzimática frente a las especies reactivas del oxígeno, puede reflejar posibles efectos adicionales que se manifestarían posteriormente en una escala macroscópica en el organismo afectado y ser una gran herramienta para la evaluación de la salud ambiental de las especies y para su conservación.

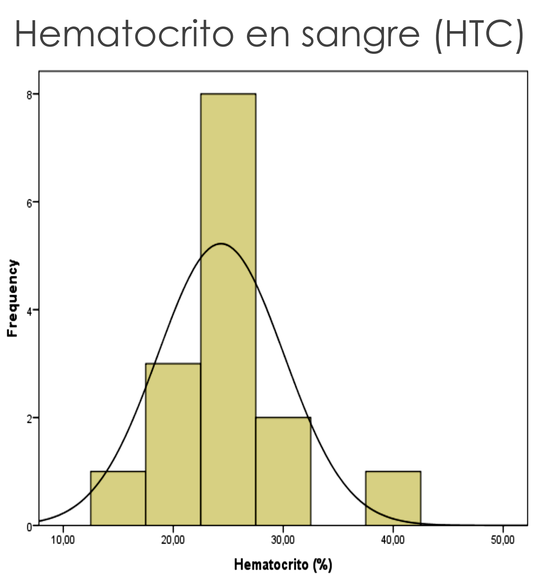
Métodos:

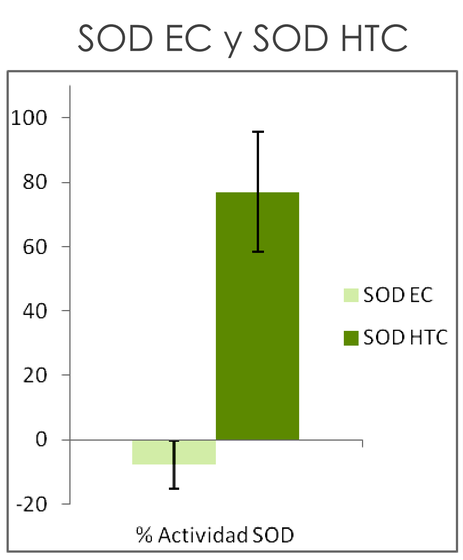
Se ha utilizado una metodología de análisis sencilla y poco invasiva, como son las muestras de sangre, y junto a técnicas espectrofotométricas hemos podido determinar las actividades de las principales enzimas antioxidantes, y establecer unos parámetros de referencia para animales control (n=7), clínicamente sanos (n=5).

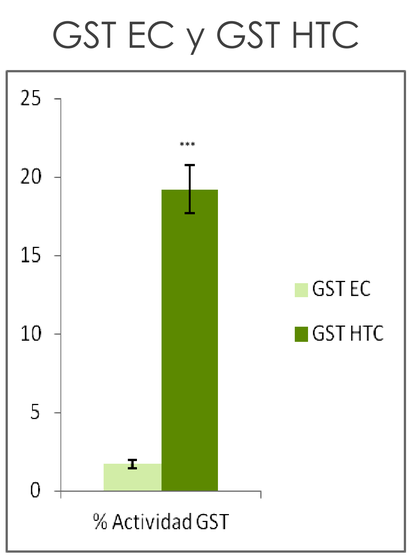
- La obtención de muestras sanguíneas se realizó mediante punción en los senos cervicales dorsales.
- Para determinar la actividad SOD se utilizó una adaptación del método de Marklund y Marklund (1974). [1]
- Para la medida de la actividad CAT utilizamos el método descrito por Claiborne (Claiborne et al. 1985).[2]
- La actividad GST fue determinada utilizando el método Habdous (Habdous et al., 2002).[3]
- La proteína total se determinó por el método de Bradford.[4]

Resultados:

Figura 1: Caracterización de distintos parámetros relacionados con el estatus hemático y de defensa antioxidante en tortugas control, diagnosticadas como clínicamente sanas (n=5)







✓Rangos inferiores que en otros reptiles.
✓Posible adaptación hematopoyética.
✓Reducción de los valores de HTC→ baja η en sangre.
✓Futura comparación con ejemplares salvajes.

✓SOD EC enzima inducible, más activa frente a estresores externos.
✓SOD HTC tamponación de los efectos del metabolismo celular.
✓No existe actividad SOD EC en los animales clínicamente sanos→ libres de estresores ambientales.

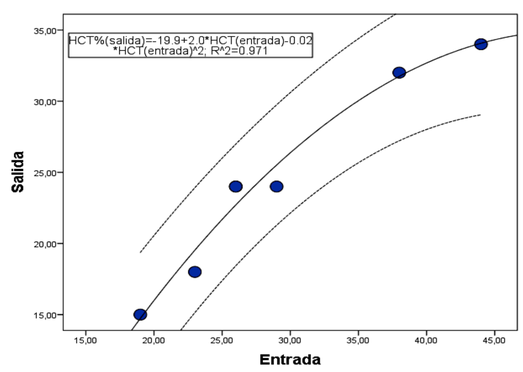
SOD EC → BIOMARCADOR DE ESTRÉS EN TORTUGAS

✓GST→ detoxificante de productos del estrés oxidativo. Enzima inducible.
✓El plasma está equipado con maquinaria antioxidante contra contaminantes.
✓Datos en linea con la actividad SOD.

ANIMALES CONTROL LIBRES DE ESTRESORES AMBIENTALES.

Figura 2: Evaluación de los cambios en el estatus hemático y de defensa antioxidante, en animales varados y tratados en el centro de recuperación en el momento del ingreso y justo antes de su devolución al medio.

EJEMPLARES RECUPERADOS- Hematocrito en sangre (HTC)

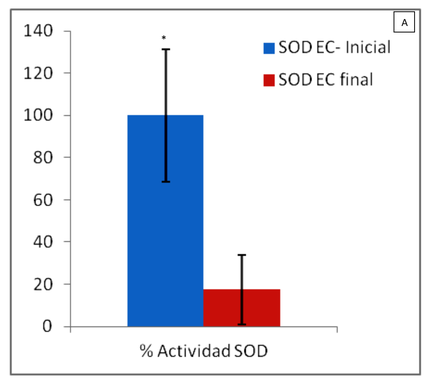


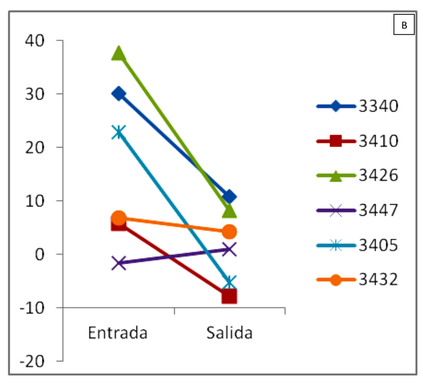
✓El % HTC disminuyó durante la recuperación en el CRFS.
✓Aumento de O_2 en sangre → Disminución de producción de eritropoyetina.
✓Relación hiperbólica entre los niveles de entrada y salida.

%HTC→ BIOMARCADOR DE ESTRÉS EN TORTUGAS

EJEMPLARES RECUPERADOS- ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

SOD EC





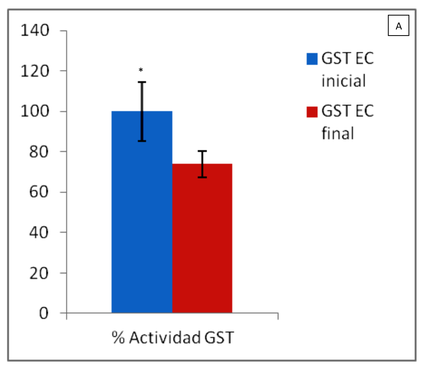
A) Variación del porcentaje de actividad SOD EC a la entrada y a la salida del centro. B): Variación de actividad SOD EC (U/mg proteína) medida por individuo a la entrada y a la salida del centro. (* p>0,05)

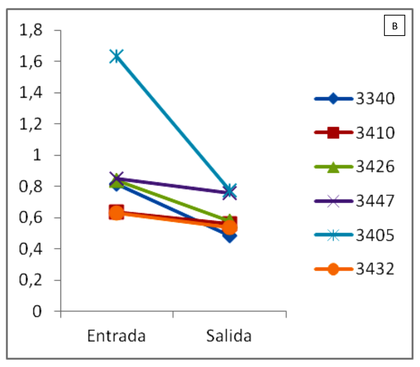
✓El estrés por hipoxia desaparece en el CRFS.

SOD EC → BIOMARCADOR DE ESTRÉS EN TORTUGAS

EJEMPLARES RECUPERADOS- ENZIMAS DETOXIFICANTES

GST EC





Variación del % de actividad GST EC medida a la entrada y a la salida del centro. B) Variación individual de la actividad GST EC (µmol/min·mg proteína) a la entrada y a la salida del centro. (*p<0,05).

✓Incremento de los valores de GST EC→ Relación con la isquemia por hipoxia- reperfusión.
✓El estrés por isquemia desaparece en el CRFS.

GST EC → BIOMARCADOR DE ESTRÉS EN TORTUGAS

Conclusiones:

1) Los parámetros hemáticos y de estrés oxidativo en el plasma y en la fracción del hematocrito que han sido determinados en este estudio podrían ser utilizados como biomarcadores de diferentes tipos de estrés en Caretta caretta.
2) Las variaciones en los parámetros analizados en las tortugas varadas entre la entrada al centro de recuperación y su liberación al medio, demuestran que los animales varados sufren de un estrés oxidativo crónico, que puede ser revertido durante el periodo de recuperación.
3) De entre los distintos parámetros analizados, los valores del hematocrito y las actividades superóxido dismutasa extracelular (SOD EC) y glutatión-S-transferasa extracelular (GST EC), parecen ser los biomarcadores más sensibles a las condiciones de estrés en ejemplares de C. caretta.

Referencias:

1. Marklund S and Marklund G (1974) Involvment of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 47,469-474.
2. Clairborne, A. 1985. Catalase activity. Handbook of methods for oxygen radical research. Ed Greenwald, R.A. Pp. 283–284. Florida, USA.
3. Habdous, M., Vincent-Viry, M., Visvikis, S. y Siest, G. 2002. Rapid spectophotometric method for serum glutation S-transferases activity. Clinica Chimica Acta. 326:131-142. doi: 10.1016/S0009-8981(02)00329-7
4. Bradford M (1976) A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. Anal. Biochem. 72, 246-254.