

Estudio del efecto in vivo de nanoestructuras en el modelo animal *C. elegans*



Álvaro Fernández Navarro¹, Pablo Frutos García¹, Fernando Gandía Herrero², M^a Alejandra Guerrero Rubio², Samanta Hernández García² y Bruno Martiz Liza¹

¹ IES Ramón y Cajal, ² Dpto. Bioquímica y Biología Molecular A, Universidad de Murcia.



INTRODUCCIÓN

Los plásticos, producidos y desechados por los seres humanos se disgregan en micropartículas que contaminan el medio ambiente, dañan la fauna marina y, en última instancia, son ingeridas por los seres humanos [1].

Por otro lado, los nanotubos, son una tecnología emergente y está en debate su utilización hasta demostrar su inocuidad [2].

El estudio de la toxicidad de la ingesta de estas nanopartículas se suele llevar a cabo en modelos animales como el *C. elegans*, provocándoles estrés oxidativo y reduciendo su tiempo de vida [3] [4].



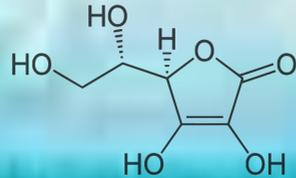
Fuente: WWF (2009) [1]



Fuente: WWF (2009) [1]

OBJETIVOS

- 1.- Estudiar el efecto tóxico producido en el *C. elegans* tras la ingesta de microplásticos y nanotubos.
- 2.- Comprobar si estos efectos negativos pueden paliarse con el consumo de antioxidantes como el ácido ascórbico (vitamina C)

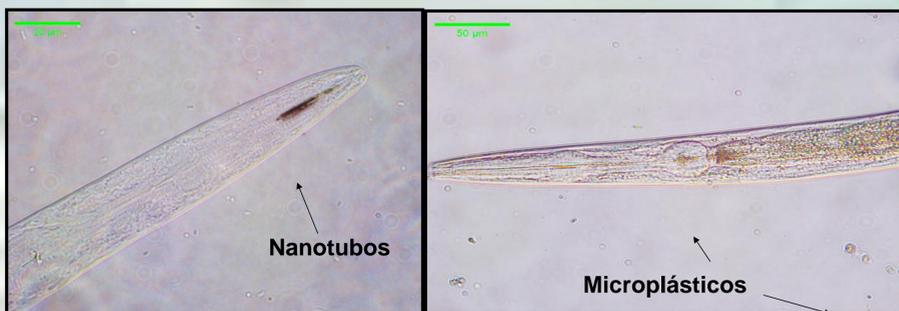


METODOLOGÍA

Las estirpes de *C. elegans* ya sincronizadas fueron proporcionadas por el grupo de investigación de la Universidad de Murcia [5]. Las medidas de longitud del *C. elegans* se han utilizado como factor fisiológico del efecto de los microplásticos y nanotubos. Las fotografías de fluorescencia se han analizado utilizando Fiji ImageJ analizando únicamente el canal verde para obtener la intensidad fluorescente por área. Para evaluar las especies reactivas de oxígeno se ha utilizado la sonda fluorescente DCFH-DA en el microscopio de fluorescencia Leica DM 2500 Led utilizando el filtro I3.

RESULTADOS

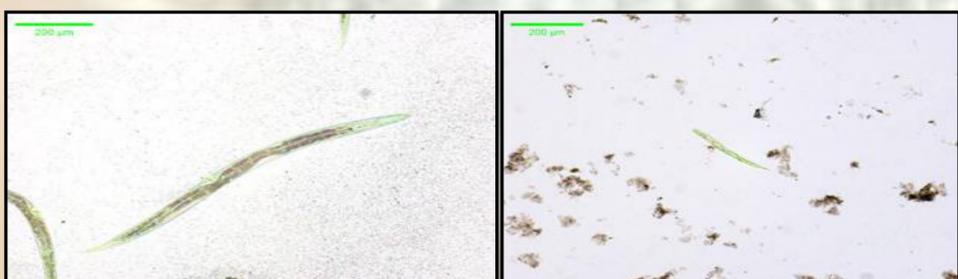
A) EXPOSICIÓN A MICROPARTÍCULAS



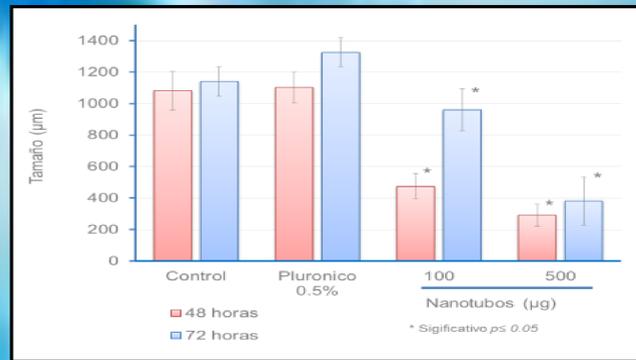
Los nanotubos y microplásticos son ingeridos por los *C. elegans* y se localizan por todo el aparato digestivo acumulándose principalmente en la válvula faríngea

B) EFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS EN EL TAMAÑO

La medida de la longitud es un parámetro indicativo de la toxicidad, por lo que una disminución del tamaño indica una alteración en el desarrollo de estos animales.

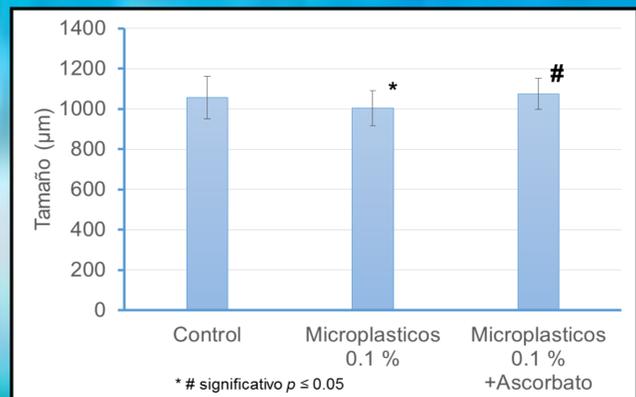


La exposición a 500 µg/mL de nanotubos durante 48 h provocó una reducción del tamaño del 73,12 %.



A las 72 h, se produce un aumento del tamaño, lo que indica que la exposición a nanotubos retrasa el crecimiento pero no lo impide.

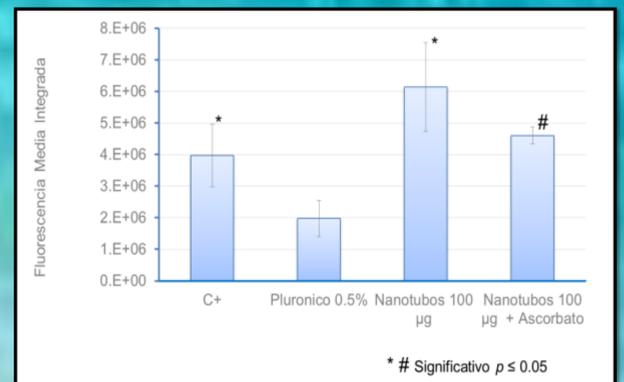
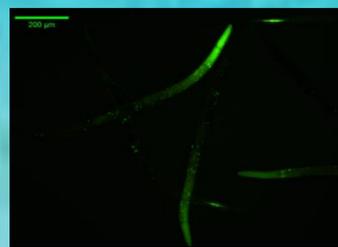
La exposición a microplásticos (1000 µg/mL) redujo el tamaño de los nematodos sólo en un 5.05 % (disminución estadísticamente significativa).



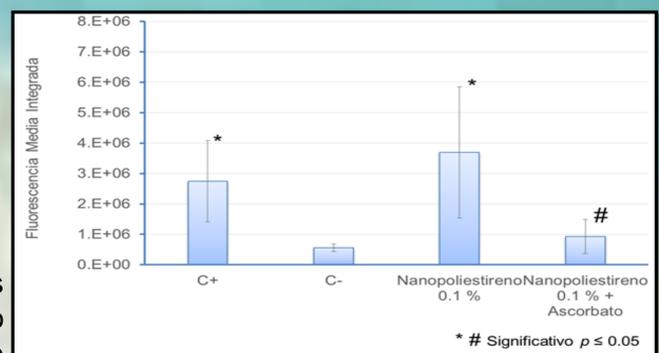
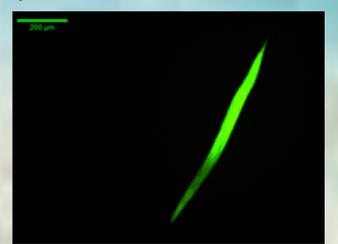
Se consiguió paliar la toxicidad tratando a los nematodos con 50 µM de ascorbato sódico (vitamina C).

C) MEDIDAS DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

El estudio del estrés oxidativo provocado por las nanopartículas se analizó con la sonda fluorescente 2,7-diclorofluoresceína diacetato que reacciona a la presencia de ROS (especies reactivas de oxígeno).



La presencia de nanotubos provoca que los *C. elegans* tengan 2 veces más especies ROS que los nematodos control. Este efecto se reduce un 20 % en presencia de ascorbato



Los microplásticos provocan un efecto similar en el nivel de ROS, generando 5 veces más especies reactivas de oxígeno que los nematodos control. El efecto se reduce por tratamiento con ascorbato.

CONCLUSIONES

La ingesta de microplásticos o nanotubos de carbono tiene un efecto negativo en el animal modelo, que acumula partículas en el tubo digestivo, disminuye su desarrollo y aumenta su estrés oxidativo. En este trabajo de investigación hemos demostrado que la exposición al antioxidante ácido ascórbico protege de estos efectos a los animales, que recuperan parcialmente los valores normales.

REFERENCIAS

- [1] WWF (2009). ISBN: 978-2-940529-95-7. [2] Naseer et al., (2018). *Nanotechnol Rev*, doi:10.1515/ntrev-2018-0076. [3] Chen et al, (2013). *Biomaterial*, doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.093. [4] Lei et al, (2018). *Sci Total Environ*, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.103. [5] Guerrero-Rubio et. al. (2019). *Food Chem*, doi:10.1016/j.foodchem.2018.09.067