



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y ANÁLISIS
ESTRUCTURAL DEL RIÑÓN CEFÁLICO DEL PEZ *Colossoma macropomum*
EXPUESTO A CADMIO
(Modalidad: Investigación)

ANÍBAL JOSÉ MARCANO RODRÍGUEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2011

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y ANÁLISIS
ESTRUCTURAL DEL RIÑÓN CEFÁLICO DEL PEZ *Colossoma macropomum*
EXPUESTO A CADMIO

APROBADO POR:

Prof. Raquel Salazar
Asesora

Prof. Mairín Lemus

Prof. America Vargas

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
Muestra poblacional	6
Aclimatación y manipulación	6
Exposición de los peces a 0,1 mg/l de cadmio	7
Medición de la concentración de cadmio en las muestras problema	7
Determinación de los parámetros bioquímicos	8
Análisis histológico del riñón cefálico	8
Análisis de los datos.....	9
RESULTADOS.....	10
Parámetros bioquímicos en el tiempo cero	10
Niveles de cadmio por gramo de tejido.....	11
Parámetros bioquímicos al finalizar el bioensayo.....	12
Histología del riñón cefálico	13
DISCUSIÓN	18
CONCLUSIONES	24
RECOMENDACIONES	25
BIBLIOGRAFÍA	26
HOJA DE METADATOS	32

DEDICATORIA

A:

Dios Jehová por permitirme vivir y así hacer lo que estuviera en mis manos para poder terminar este trabajo.

A mi esposa Mariana Flores y a mi hija Valeria Marcano que moralmente me dieron el apoyo necesario para continuar en la lucha académica.

AGRADECIMIENTOS

A:

La profesora Raquel Salazar que con su determinación y confianza en hacer las cosas me impulso continuamente a seguir adelante a pesar de los tropiezos y decepciones en el camino.

El Consejo de Investigación Universidad de Oriente, CI -2-040102-1247-05 y del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) UDO-PROYECTO G-2005000775.

La profesora América Vargas y a la licenciada Ivic Blanco las cuales están de corazón y con pasión comprometidas con lo que llaman el proyecto cachama.

La ALMA CA por haber donado los peces al proyecto UDO-PROYECTO G-2005000775.

La ingeniera María Isabel Perez por la cordial atención brindada a nuestra solicitud de donación de ejemplares de cachama.

La profesora María Valentina Fuentes por haberme brindado un poco de cadmio y asesoría.

La profesora Luz Marina Rojas quien con su dedicación a la actividad académica ha beneficiado a innumerables personas donde me incluyo.

La profesora Luisa Rojas por poner a mi disposición sus conocimientos y

material de laboratorio necesarios para determinar los niveles de cadmio.

El técnico de laboratorio del Instituto Oceanográfico de Venezuela Edymir Parra, el cual me asistió en la realización de los análisis de determinación de cadmio.

El personal de la Universidad de Oriente que me auxilió en el Laboratorio de Proteínas e Inmutoxicidad del Departamento de Bioanálisis Universidad de Oriente núcleo de Sucre cuando se presentaron los inconvenientes de aguas blancas y electricidad.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores promedio de la concentración de glucosa, urea, marcadores del metabolismo lipídico y bilirrubina total y fraccionada evaluados en <i>C. macropomum</i> en el tiempo cero.	10
Tabla 2. Valores promedio de la actividad enzimática evaluada en <i>C. macropomum</i> en el tiempo cero.	10
Tabla 3. Valores promedio de la concentración de los bioelementos evaluados en <i>C. macropomum</i> en el tiempo cero.	11
Tabla 4. Valores promedio de la concentración de cadmio por gramos de tejido en riñón cefálico, riñón excretor e hígado evaluados en <i>C. macropomum</i> expuestos a cadmio y su grupo control.	11
Tabla 5. Valores promedio de la concentración de glucosa, urea, marcadores del metabolismo lipídico y bilirrubina total y fraccionada evaluados en <i>C. macropomum</i> expuestos a cadmio y su grupo control.	12
Tabla 6. Valores de la concentración promedio de bioelementos evaluados en <i>C. macropomum</i> expuestos a cadmio y su grupo control.	12
Tabla 7. Valores promedio de la actividad enzimática evaluada en <i>C. macropomum</i> expuestos a cadmio y su grupo control.	13
Tabla 8. Valores promedio del grosor de la membrana basal del endotelio capilar y del número de células ortocromáticas por campo en cortes histológicos de riñón cefálico evaluados en <i>C. macropomum</i> expuestos a cadmio y su grupo control.	14

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Riñón cefálico control (100 X). Se observa tejido compacto con abundantes macrófagos (cabeza de flecha), escasos melanomacrófagos (flecha punteada), y un vaso central normal (V) con un endotelio capilar muy delgado (flecha continua). Dentro del vaso se pueden ver numerosos eritrocitos (E)..... 15

Figura 2. Riñón cefálico control (100 X). **A y B.** Se observa un tejido compacto con muchas células y abundantes macrófagos visiblemente agrupados (*), y un vaso central normal (V) con un endotelio capilar muy delgado (flecha)..... 16

Figura 3. Riñón cefálico de peces expuestos al cadmio (100 X). Note el gran engrosamiento de la membrana basal del vaso central (V). En la luz del vaso se aprecian algunos eritrocitos (E). Se observa, además una pérdida de la integridad del tejido que se manifiesta como espacios vacíos o claros (*) producto de la escases celular. Es evidente la poca cantidad de macrófagos los cuales no se presentan agrupados y poseen una intensa ortocromasia en comparación con el control (cabeza de flecha). 16

Figura 4. Riñón cefálico de peces expuestos al cadmio (100 X). Se evidencia claramente, una pérdida de la integridad del tejido que se manifiesta como espacios vacíos o claros (*). Es evidente la escases de macrófagos los cuales se encuentran dispersos o aislados sin formar aglomeraciones (cabeza de flecha)..... 17

RESUMEN

Se evaluó el efecto del cadmio sobre los parámetros bioquímicos y la estructura del riñón cefálico de juveniles del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum*. Los organismos fueron aclimatados durante 15 días y posteriormente expuestos a una dosis de cadmio de 0,1mg/l durante 31 días a una temperatura de 24 a 25°C y a un pH de $7,0 \pm 0,3$. Finalizados los 31 días de exposición se tomaron muestras de sangre para realizar las determinaciones de glicemia, urea, triglicéridos, colesterol, lipoproteína de muy baja densidad (VLDL); bilirrubina total y fraccionada; de las enzimas alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), lactato deshidrogenasa (LDH), creatin kinasa (CK) y fosfatasa alcalina (ALP) y de los bioelementos; calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio; se tomaron muestras de riñón cefálico para el análisis por microscopia de luz y se determinaron las concentraciones de cadmio en riñón cefálico, riñón excretor e hígado. Los niveles de cadmio ($\mu\text{g} / \text{g}$) en riñón cefálico resultaron aumentados significativamente en comparación con el grupo control, en el riñón excretor fueron significativos en comparación con el grupo control y en el hígado muy significativos en comparación con el grupo control; los niveles de cadmio en orden decreciente por tejido fueron: riñón excretor > hígado > riñón cefálico. También se obtuvo un aumento altamente significativo de la glicemia en comparación con el grupo control; la urea, bilirrubina directa y LDH presentaron de igual manera aumentos significativos en comparación con el grupo control; al contrario los niveles de calcio y magnesio mostraron disminuciones muy significativas y el fósforo presentó disminuciones significativas en comparación con el grupo control; en los cortes de riñón cefálico se observó un engrosamiento altamente significativo de la membrana basal, se observó pérdida del compactamiento del tejido y disminución significativa en el número de células ortocromáticas en comparación con el grupo control; Los resultados indican que a dosis subletales el cadmio afecta los parámetros bioquímicos y la estructura del riñón cefálico de *C. macropomum*.

Palabra y/o Frases Claves: Riñón cefálico, cadmio, cortisol

INTRODUCCIÓN

En América latina se ha incrementado la utilización del cadmio y con ello, los daños toxicológicos a los sistemas biológicos en especial en los ríos y cuencas (García *et al.*, 2004; Salazar *et al.*, 2004; Cordero *et al.*, 2005). En Venezuela, se han reportado niveles de cadmio en cuencas y ríos por encima de las normas establecidas por el Ministerio del Ambiente, en el decreto número 883, para el control de calidad de los cuerpos de agua y los líquidos vertidos (Vaquero *et al.*, 2004).

El cadmio es un metal pesado, relativamente abundante y muy tóxico; se deriva como subproducto de la fundición de plomo, cobre y cinc; es utilizado en la fabricación de cerámicas, manufactura de plaguicidas y fertilizantes, en la industria de la galvanoplastia, como estabilizador de plásticos y como pigmento en pinturas (Doli, 1993). El cadmio es absorbido y bioacumulado en los tejidos con relativa facilidad por largos periodos de tiempo, por lo que causa numerosos daños en los órganos (Swiergosz *et al.*, 1998).

Los principales órganos donde se acumula el cadmio son en el riñón e hígado, se une a las metalotioneínas y cuando las concentraciones superan el complejo cadmio-metalotioneínas se originan patologías tales como: neoplasias, nefropatías, neuropatías y osteopatías (Doli, 1993; Allison *et al.*, 1996; Orłowski *et al.*, 1998; Croute *et al.*, 2000).

Otras patologías asociadas a la exposición a cadmio son: deficiencia de cobre, hierro y zinc, neoplasia testicular, disminución del crecimiento celular, daño tubular renal y anemia (Salazar y Reyes, 2000). El cadmio ocasiona pérdida de la integridad de la membrana celular y mitocondrial debido a su aparente efecto inhibitorio de la glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa (Korotkov *et al.*, 1998). Por otra

parte, es posible que el cadmio ocasione histólisis celular y retención de sodio por inhibición de la bomba sodio-potasio (ATPasa Na/K) (Koizumi *et al.*, 1996). Además de tener la facultad de ocasionar apoptosis de las líneas celulares inmunológicas de vertebrados (Tsangares y Tzortzaton, 1998).

En peces la citotoxicidad del cadmio está bien documentada; por ejemplo en el pez *Oreochromis mossambicus*, expuesto a cadmio se ha observado vacuolización de hepatocitos, hialinización e inflamación celular a nivel hepático; igualmente en el pez *Dicentrarchus labrax* se ha visto a nivel del túbulo proximal del riñón la presencia de cuerpos mieloides, vacuolización citoplasmática y dilatación de la envoltura nuclear por exposición a cadmio y por último; en el pez *Centropomus undecimalis* se observó en el tejido renal una condensación e hinchazón masiva de las mitocondrias, degeneración nuclear, vesiculación y fragmentación del retículo endoplasmático rugoso, presencia aumentada de grandes vacuolas y lisosomas hidrópicos por exposición a este metal (Thophon *et al.*, 2004; Van Dyck *et al.*, 2005; Giari *et al.*, 2006).

El órgano responsable de la hematopoyesis en peces es el riñón cefálico (pronefro) y está involucrado en funciones inmunológicas y renales (Ellis *et al.*, 1976; Ellis, 1980); se puede comparar con la médula ósea de vertebrados superiores, pues posee facultades morfofuncionales parecidas (Zapata y Cooper, 1990), en este órgano tiene lugar la diferenciación celular de los granulocitos, linfocitos, monocitos y eritrocitos en teleósteos; el riñón tiene dos segmentos uno con predominio linfo-hematopoyético y otro, donde el tejido hematopoyético forma una matriz entre el sistema excretor y las nefronas (Ferguson, 1989).

El riñón cefálico; Además de ser el centro de producción de anticuerpos, es un filtro que contiene macrófagos, componentes renales, linfomioides y endocrinos irrigado por la vena porta caudal y las arterias. Pero existe poca información de la

citoarquitectura de las células del pronefro y menos sobre los cambios inducidos en este órgano por tóxicos ambientales. En el pez *Brycon cephalus*, el riñón cefálico está constituido por dos lóbulos laterales, ubicados en la porción anterior de la vejiga natatoria ventrolateralmente a la columna vertebral, se encuentra cubierto por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso, su parénquima está constituido por tejido cromafín, una glándula Inter-renal y los centros melanomácrofagos (CMM), el tejido hematopoyético tiene un predominio de eritroblastos y proeritroblastos (Ellis, 1989; Fänge, 1992).

La célula granulocítica que predomina en el pez *Brycon cephalus* es el eosinófilo que puede presentar núcleo lobulado, con una inclusión hialina característica en los gránulos citoplasmáticos; también se observan neutrófilos con núcleo excéntrico ocasionalmente lobulado y el nucléolo pocas veces visible, con aparato de Golgi y retículo endoplasmático rugoso escaso. Los basófilos son semejantes a los eosinófilos pero se distinguen por sus gránulos, los linfocitos son pequeños con núcleos grandes y escaso citoplasma y por último, las células plasmáticas se caracterizan por el abundante retículo endoplasmático rugoso y aparato de Golgi en la zona del centriolo (Flores *et al.*, 2003).

En el riñón cefálico del pez *Seroila dumerilii* también se ha observado los melanomacofagos, los cuales son células que no aparecen en sangre periférica, se les puede conseguir agrupados formando los centros melanomacofagos que suelen estar rodeados por una cápsula compuesta por granulocitos o células reticulares o se les puede localizar sueltos en el parénquima o estroma del riñón; tienen función inmunológica; por otra parte, los eritrocitos se observan nucleados (Bernal, 1999). Se puede utilizar la determinación plasmática de parámetros bioquímicos para evaluar o comprobar el grado de estrés al que pudieran estar sometidos una población de peces; estos parámetros se dan como respuesta endocrina secundaria que pudiera originar desviaciones significativas de los valores en la concentración de enzimas,

carbohidratos, marcadores del metabolismo lipídico y bioelementos (Wedemeyer y Mcleay, 1981; Heath, 1995; Almeida *et al.*, 2001; Ricard *et al.*, 1998).

Se ha comprobado que, en la especie *Platichthys flesus* la explosión a cadmio afecta marcadamente el intercambio de los bioelementos fósforo, calcio, magnesio y potasio no así, a los iones sodio y cloro (Larsson *et al.*, 1981). En el pez *Oreochromis niloticus*, la exposición a cadmio resulto en un aumento de los niveles plasmáticos de glucosa, urea, proteínas totales, triglicéridos, colesterol, así como alteraciones en las enzimas alanino aminotransferasa (ALT); aspartato aminotransferasa (AST) y fosfatasa alcalina (ALP), y disminución de los bioelementos sodio, potasio y calcio estos resultados muestran que algunos parámetros bioquímicos pudieran utilizarse como biomarcadores sensibles de contaminación por cadmio; en ésta misma especie, también se ha reportado alteraciones de la catalasa hepática, fosfatasa alcalina; ATPasa Na/K y ATPasa Calcio (Oner, *et al.*, 2008).

Para el pez *Oncorhynchus mykiss*, la exposición a cadmio puede traducirse en alteraciones endocrinas que producen un inestable estado fisiológico como disminución de los niveles plasmáticos de calcio, contenido de glucógeno en el hígado y desviaciones en los niveles de cortisol (Ricard *et al.*, 1998).

El estrés crónico en peces tiene efectos directos que afectan el metabolismo de los organismos originando alteraciones en las enzimas, osmorregulación y regulación hormonal (Larsson *et al.*, 1981), son numerosos los trabajos que indican la viabilidad de utilizar la medición de las respuestas primarias, secundarias o modificaciones de performance individual como indicadores de estrés (McCormick *et al.*, 1998).

Son varios los factores que influyen en la respuesta al estrés, y mientras que la intensidad de ésta puede entenderse como indicador de la magnitud al estrés hay que tomar en cuenta que, en sus diferentes niveles la repuesta depende bastante de la

capacidad individual de cada pez o especie en particular incluso de la edad y grado de desarrollo (Barton *et al.*, 1987; Pankhurst y Kraak, 2000).

En el pez *Colossoma macropomun*, el cadmio tiende acumularse específicamente en la fracción citoplasmática de las células del riñón e hígado y se ha reportado una distribución según su concentración en este pez en el siguiente orden: riñón>hígado>branquias>músculo (Hernández, 2005; Matsuo y Val, 2007). *Colossoma macropomum* es un pez de agua dulce de amplia distribución en los ríos Orinoco y Amazonas de nuestro país, con amplio poder comercial y un creciente auge en la piscicultura por su apetecible carne (Eigemam, 1975).

El pez *Colossoma macropomun* es el modelo que se viene empleando en el Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad del Postgrado de Biología Aplicada de la Universidad de Oriente para estandarizar ensayos inmunológicos que permitan ser utilizados como marcadores de riesgo al estrés ambiental acuático y que sirvan de base, para evaluar el estado de salud del pez de gran importancia en la acuicultura. En este trabajo, se determinaron los niveles plasmáticos de algunos parámetros bioquímicos y se realizaron análisis por microscopía óptica del riñón cefálico de *C. macropomum* sometido a cadmio; con el objetivo de comprobar que algunos parámetros bioquímicos y citológicos pueden ser utilizados como biomarcadores de estrés ambiental por contaminación con cadmio.

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

Para la realización de este trabajo experimental se utilizaron 45 ejemplares juveniles de cachama (*C. macropomum*), donados por la piscicultora ALMA CA localizada en la carretera nacional Cantaura-Aguasay, Campo Mata, distrito Freitas del estado Anzoátegui.

Los ejemplares fueron capturados en las lagunas de cría de la piscicultora, utilizando como arte de pesca chinchorros de malla de 0,5 cm de diámetro aproximadamente y fueron transportados al Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad del Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Aclimatación y manipulación

Los peces fueron transportados en bolsas plásticas desde la lagunas de cría hasta el laboratorio, una vez en el laboratorio permanecieron treinta minutos en reposo y luego fueron sacados de las bolsas y colocados uno a uno en acuarios de vidrio con dimensiones de 60x30x40 cm³, aproximadamente, con una cantidad de 50 l de agua previamente aireada y declorada con 24 horas de anticipación.

Los acuarios fueron cubiertos con bolsas negras, con el objetivo de no alterar a los organismos y se mantuvieron oxigenados por un sistema de aireadores y piedras difusoras. Para prevenir infecciones bacterianas y fúngicas en los peces se les añadió, al agua de los acuarios, una cápsula de cloranfenicol y un ml de verde de malaquita, las primeras 24 horas y se alimentaron con alimento comercial granulado; los peces

fueron aclimatados durante quince días para recuperarse del estrés de la captura y transporte.

Finalizada la aclimatación los peces, fueron reubicados al azar en cantidades iguales en cinco acuarios diferentes, en los tres primeros sometidos a una dosis de 0,1 mg/l de cadmio y los dos últimos con condiciones de control, todo ello por 31 días a un pH de 7,0 – 7,3 y temperatura de 24 – 25°C.

Exposición de los peces a 0,1 mg/l de cadmio

A partir de una solución madre de cadmio de concentración 50 mg/l se tomaron alícuotas de 100 ml y se añadieron en cada uno de los acuarios con volúmenes de 50 l, para lograr una concentración final de 0,1 mg/l y colocar los peces a exposición durante 31 días. El agua fue recambiada en un 60-80%, previo a ello se realizó la recolección de una muestra de agua para la determinación de la concentración de cadmio.

Medición de la concentración de cadmio en las muestras problema

Se usó el método de digestión húmeda para digerir el tejido, el cual consistió en añadir 10 ml de ácido nítrico concentrado al 65% por cada 2 g de muestra de tejido en un matraz Erlenmeyer y dejar actuar por 24 horas, posteriormente la mezcla se calentó en una cocinilla eléctrica hasta 60°C, luego a 80°C y finalmente a 110°C la mezcla resultante se filtró con papel filtro Wathman N° 42 en un balón aforado de 25 ml y se completó con agua desionizada hasta la línea de aforo; el agua de los acuarios fue filtrada con el uso de papel filtro Wathman N° 42; luego se realizaron las determinaciones mediante el uso de espectrofotometría de emisión atómica, con fuente de plasma acoplado por inducción para la determinación de cadmio en el agua en un equipo marca Perkin Elmer modelo óptima 5300 DV y para los tejidos un

equipo de espectrofotometría de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo 3110 con horno de grafito acoplado marca Perkin Elmer modelo HGA-600 debido a que este equipo es mas sensible a los niveles de cadmio que se esperaban hallar en los tejido(Sardiñas y García, 1996).

Determinación de los parámetros bioquímicos

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción en la vena caudal del pez usando jeringas de 3 ml con previo baño con heparina, posteriormente fueron centrifugadas a 3000 rpm por cinco minutos para obtener el plasma, posteriormente se realizaron las determinaciones de glicemia, urea, triglicéridos, colesterol, VLDL, bilirrubina total y fraccionada, ALT, AST, LDH, CK y ALP y de los bioelementos, calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio en un equipo de química clínica automatizado marca Olympus modelo AU60 con kits comercial de Roche.

Se determinó la concentración plasmática de los parámetros bioquímicos de todos los peces antes de iniciar el bioensayo lo que se conoce como tiempo cero, de utilidad para conocer la salud de los peces.

Análisis histológico del riñón cefálico

Una vez extirpado el riñón cefálico, se colocó en una cápsula con glutaraldehído al 3%. Luego, con la ayuda de una hojilla éste se cortó en pequeñas secciones de 2 mm² aproximadamente, las cuales se colocaron en viales con glutaraldehído al 3% (45 min bajo refrigeración). Transcurrido ese tiempo, fueron lavados dos veces con tampón fosfato 0,1 mol/l (15 min) y postfijados durante 2 horas en tetraóxido de osmio (OsO₄ 1%) en el mismo tampón fosfato. Posteriormente, se lavaron dos veces en agua destilada (15 min) y se deshidrataron con unos patrones de etanol de concentraciones crecientes (desde 50 hasta 100%, 5 min c/u). Para la infiltración, se sustituyó el etanol por óxido de propileno (15 min), luego se utilizaron

una mezcla 1:1 Epón-óxido de propileno (6 horas) y Epón puro (2 horas). Las muestras fueron incluidas en Epón, en moldes de silicona y polimerizadas en una estufa a 60°C (48 horas). A continuación, se realizaron cortes semifinos (0,7 µm) en un ultramicrotomo marca Leica con una cuchilla de vidrio y fueron teñidos con azul de toluidina. Finalmente, los análisis histológicos se hicieron a partir de micrografías tomadas con un fotomicroscopio marca Zeiss, modelo FL 40 (Geneser, 2000).

Análisis de los datos

Todos los resultados de las mediciones de cadmio, parámetros bioquímicos y microscópicos fueron procesados en el programa de análisis estadístico G-Stat ver 2.0 donde las diferentes variables del grupo control fueron comparadas con el grupo expuesto mediante el método de análisis de varianzas (ANOVA) de un vía para apreciar las diferencias significativas en los distintos parámetros entre ambos grupos (Stell y James, 1980).

RESULTADOS

Parámetros bioquímicos en el tiempo cero

En la tabla 1 se aprecia los valores de la concentración de glucosa, urea, marcadores del metabolismo lipídico y concentración de bilirrubina total y fraccionada en los peces en un tiempo previo a la exposición a cadmio o tiempo cero.

Tabla 1. Valores promedio de la concentración de glucosa, urea, marcadores del metabolismo lipídico y bilirrubina total y fraccionada evaluados en *C. macropomum* en el tiempo cero.

Parámetro	Tiempo Cero
Glucosa (mg/dl)	70,67 ± 14,71
Urea (mg/dl)	3,12 ± 0,93
Colesterol (mg/dl)	142,88 ± 18,85
Triglicéridos (mg/dl)	409,94 ± 109,99
VLDL (mg/dl)	71,50 ± 12,09
Bilirrubina total (mg/dl)	0,15 ± 0,05
Bilirrubina directa (mg/dl)	0,10 ± 0,00
Bilirrubina indirecta (mg/dl)	0,13 ± 0,07

La tabla 2 presenta los valores de la actividad enzimática de la CK, AST, ALT, ALP, y LDH en los peces en el tiempo cero.

Tabla 2. Valores promedio de la actividad enzimática evaluada en *C. macropomum* en el tiempo cero.

Parámetro	Tiempo Cero
CK (UI/l)	3830,50 ± 769,91
AST (UI/l)	143,64 ± 28,44
ALT (UI/l)	4,83 ± 1,34
ALP (UI/l)	22,85 ± 3,98
LDH (UI/l)	706,17 ± 155,85

En la tabla 3 se pueden observar las concentraciones promedio de los bioelementos en los peces en el tiempo cero.

Tabla 3. Valores promedio de la concentración de los bioelementos evaluados en *C. macropomum* en el tiempo cero.

Parámetro	Tiempo Cero
Calcio (mmol/l)	3,02 ± 0,25
Fósforo (mmol/l)	4,05 ± 0,49
Magnesio (mmol/l)	1,33 ± 0,12
Sodio (meq/dl)	172,23 ± 12,09
Potasio (meq/dl)	1,55 ± 0,38

Niveles de cadmio por gramo de tejido

En la tabla 4 se presentan los resultados de los análisis estadísticos de los valores de microgramos de cadmio por gramos de tejido húmedo en riñón cefálico, riñón excretor e hígado; se observó que en los peces expuestos, el riñón excretor presentó la concentración promedio más elevada seguido del hígado y el riñón cefálico.

Sin embargo es en el riñón cefálico del grupo expuesto donde existe un aumento altamente significativo de concentración promedio de cadmio en comparación con el grupo control; seguido del hígado que presentó una concentración media muy significativa en comparación con el grupo control y por último, el riñón excretor donde se observó un aumento significativo en comparación con el grupo control.

Tabla 4. Valores promedio de la concentración de cadmio por gramos de tejido en riñón cefálico, riñón excretor e hígado evaluados en *C. macropomum* expuestos a cadmio y su grupo control.

Concentración de cadmio (µg/g)	Grupo expuesto	Grupo control	F
Riñón excretor	5,3940 ± 1,8755	0,0269 ± 0,0274	14,74 *
Hígado	1,7152 ± 0,3678	0,0263 ± 0,0138	37,93 **
Riñón cefálico	0,0178 ± 0,0004	0,0041 ± 0,0015	262,91 ***

***- altamente significativo (P<0,001); **- muy significativo (P< 0.01); *- significativo (P<0,05)

Parámetros bioquímicos al finalizar el bioensayos

En la tabla 5 se muestran aumentos significativos de los valores de glucosa, urea y bilirrubina directa; por otra parte no se observaron cambios significativos en los valores de los marcadores de metabolismo lipídico.

Tabla 5. Valores promedio de la concentración de glucosa, urea, marcadores del metabolismo lipídico y bilirrubina total y fraccionada evaluados en *C. macropomum* expuestos a cadmio y su grupo control.

Parámetro	Grupo Expuesto	Grupo Control	F
Glucosa (mg/dl)	110,86 ± 22,76	67,50 ± 14,73	22,94 ***
Urea (mg/dl)	2,40 ± 0,55	1,70 ± 0,48	6,47 *
Colesterol (mg/dl)	133,5 ± 16,57	129,00 ± 10,21	0,40 NS
Triglicéridos (mg/dl)	341,00 ± 23,80	340,67 ± 23,24	0,00 NS
VLDL (mg/dl)	68,20 ± 4,55	66,78 ± 8,18	0,12 NS
Bilirrubina total (mg/dl)	0,15 ± 0,05	0,12 ± 0,04	1,66 NS
Bilirrubina directa (mg/dl)	0,08 ± 0,04	0,02 ± 0,04	8,10 *
Bilirrubina indirecta (mg/dl)	0,10 ± 0,07	0,07 ± 0,08	0,59 NS

***- altamente significativo (P<0,001); * - significativo (P<0,05); NS - no significativo (P>0,05)

Con respecto a los bioelementos, se observó una disminución muy significativa para los valores de calcio y magnesio en el grupo experimental.

De igual forma, el fósforo también presenta una disminución significativa en el grupo experimental (Tabla 6), el resto de los bioelementos se mantuvieron en los valores de los controles.

Tabla 6. Valores de la concentración promedio de bioelementos evaluados en *C. macropomum* expuestos a cadmio y su grupo control.

Parámetro	Grupo expuesto	Grupo Control	F
Calcio (mmol/l)	2,56 ± 0,04	2,75 ± 0,14	12,59 **
Fósforo (mmol/l)	3,89 ± 0,36	4,54 ± 0,20	5,12 *
Magnesio (mmol/l)	1,28 ± 0,15	1,66 ± 0,25	10,54 **
Sodio (meq/l)	153,40 ± 2,07	155,43 ± 2,64	3,17 NS
Potasio (meq/l)	1,36 ± 0,49	1,97 ± 1,09	2,47 NS

* - significativo (P<0,05); ** muy significativo (P>0,01); NS - no significativo (P>0,05)

En cuanto a la actividad de las enzimas evaluadas, se observó un aumento significativo de la LDH y aunque no se suscitaron variaciones significativas en los demás parámetros enzimáticos; se pudo apreciar un ligero aumento de los mismos en comparación con el grupo control (Tabla 6).

Tabla 7. Valores promedio de la actividad enzimática evaluada en *C. macropomum* expuestos a cadmio y su grupo control.

Parámetro	Grupo Expuesto	Grupo Control	F
CK (UI/l)	3297,50 ± 1482,80	2608,80 ± 395,82	1,20 ^{NS}
AST (UI/l)	78,67 ± 7,31	71,25 ± 12,30	1,71 ^{NS}
ALT (UI/l)	8,00 ± 1,41	6,86 ± 1,35	2,21 ^{NS}
ALP (UI/l)	20,67 ± 4,03	18,88 ± 4,91	0,53 ^{NS}
LDH (UI/l)	412,60 ± 31,26	298,33 ± 99,26	6,03 [*]

^{NS} - no significativo (P>0,05); ^{*} - significativo (P<0,05)

Histología del riñón cefálico

En el grupo control, el riñón cefálico muestra un tejido con contenido heterogéneo y evidente integridad estructural, diferentes tipos celulares con predominio de estructuras ortocromáticas, macrófagos aislados y macrófagos en grupos delimitados por una cápsula refringente (CMM), macrófagos con intensa ortocromasia escasos, acúmulos de melanina escasos; los eritrocitos son de forma irregular con núcleo centrado basófilo y los endotelios vasculares se observaron bien definidos.

Por el contrario, el riñón cefálico del grupo expuesto al cadmio presentaron pérdida de la integridad estructural. Además, se observaron macrófagos aislados con abundante ortocromasia. Sin embargo, en lo que respecta a los centros melanomacrofágicos, estos se encontraron parecidos a los del grupo control, es decir, con escasos acúmulos de melanina.

También se observaron eritrocitos con morfología homóloga a los del grupo

control, disminución en el número de células ortocromáticas en comparación con el grupo control y por último, aumento altamente significativo del grosor de la membrana basal del endotelio capilar en contraste con el grupo control.

Tabla 8. Valores promedio del grosor de la membrana basal del endotelio capilar y del número de células ortocromáticas por campo en cortes histológicos de riñón cefálico evaluados en *C. macropomum* expuestos a cadmio y su grupo control.

Parámetro	Grupo expuesto	Grupo control	F
Grosor de membrana basal (μm)	$5,35 \pm 0,61$	$1,87 \pm 0,32$	186,84 ^{***}
Células por campo	$29,00 \pm 4,36$	$69,67 \pm 17,04$	16,04 [*]

***- altamente significativo ($P < 0,001$); * - significativo ($P < 0,05$)

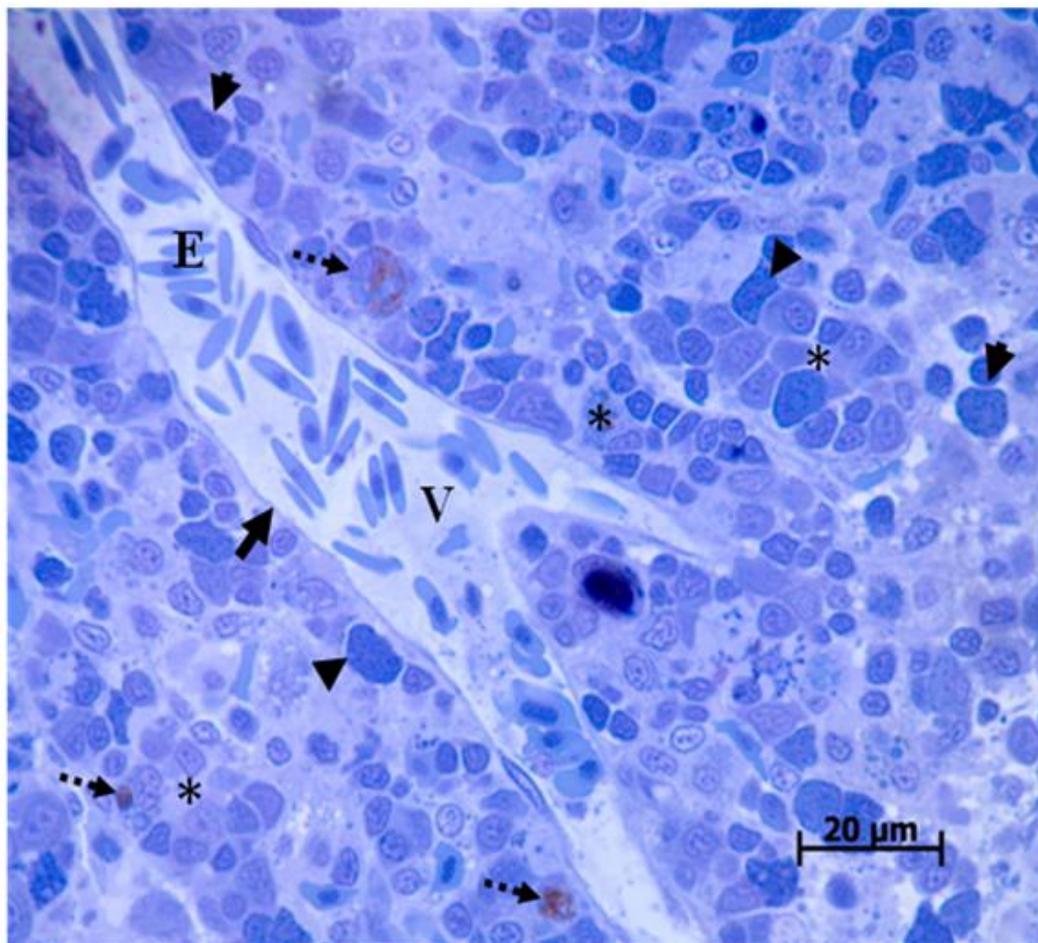


Figura 1. Riñón cefálico control (100 X). Se observa tejido compacto con abundantes macrófagos (cabeza de flecha), escasos melanomacrófagos (flecha punteada), y un vaso central normal (V) con un endotelio capilar muy delgado (flecha continua). Dentro del vaso se pueden ver numerosos eritrocitos (E).

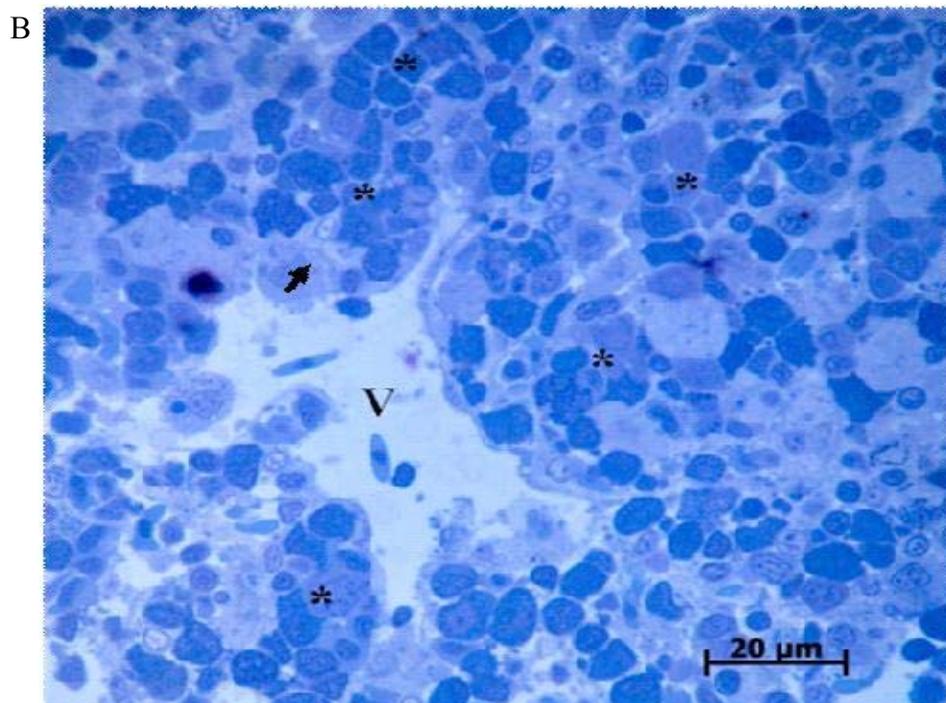
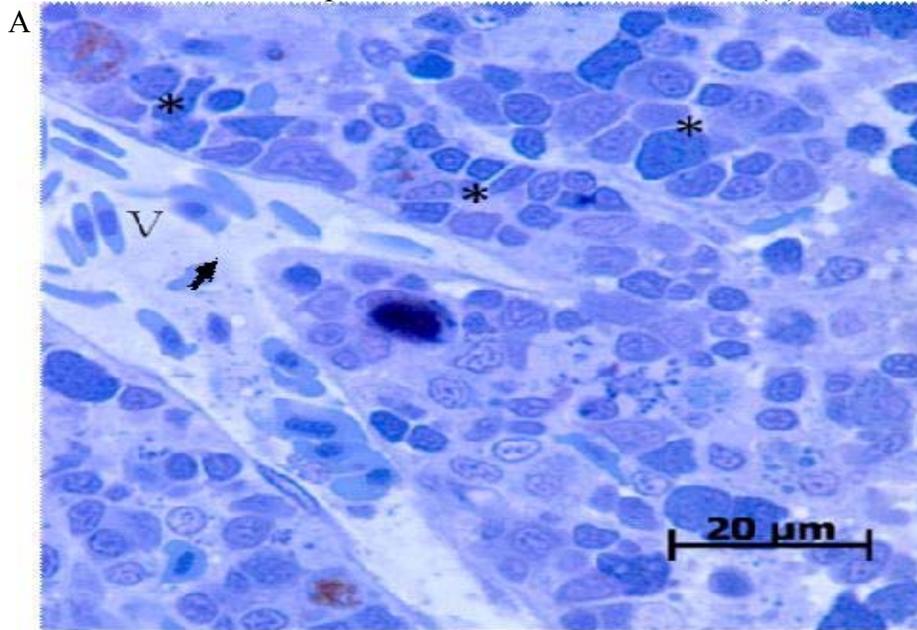


Figura 2. Riñón cefálico control (100 X). **A y B.** Se observa un tejido compacto con muchas células y abundantes macrófagos visiblemente agrupados (*), y un vaso central normal (V) con un endotelio capilar muy delgado (flecha)

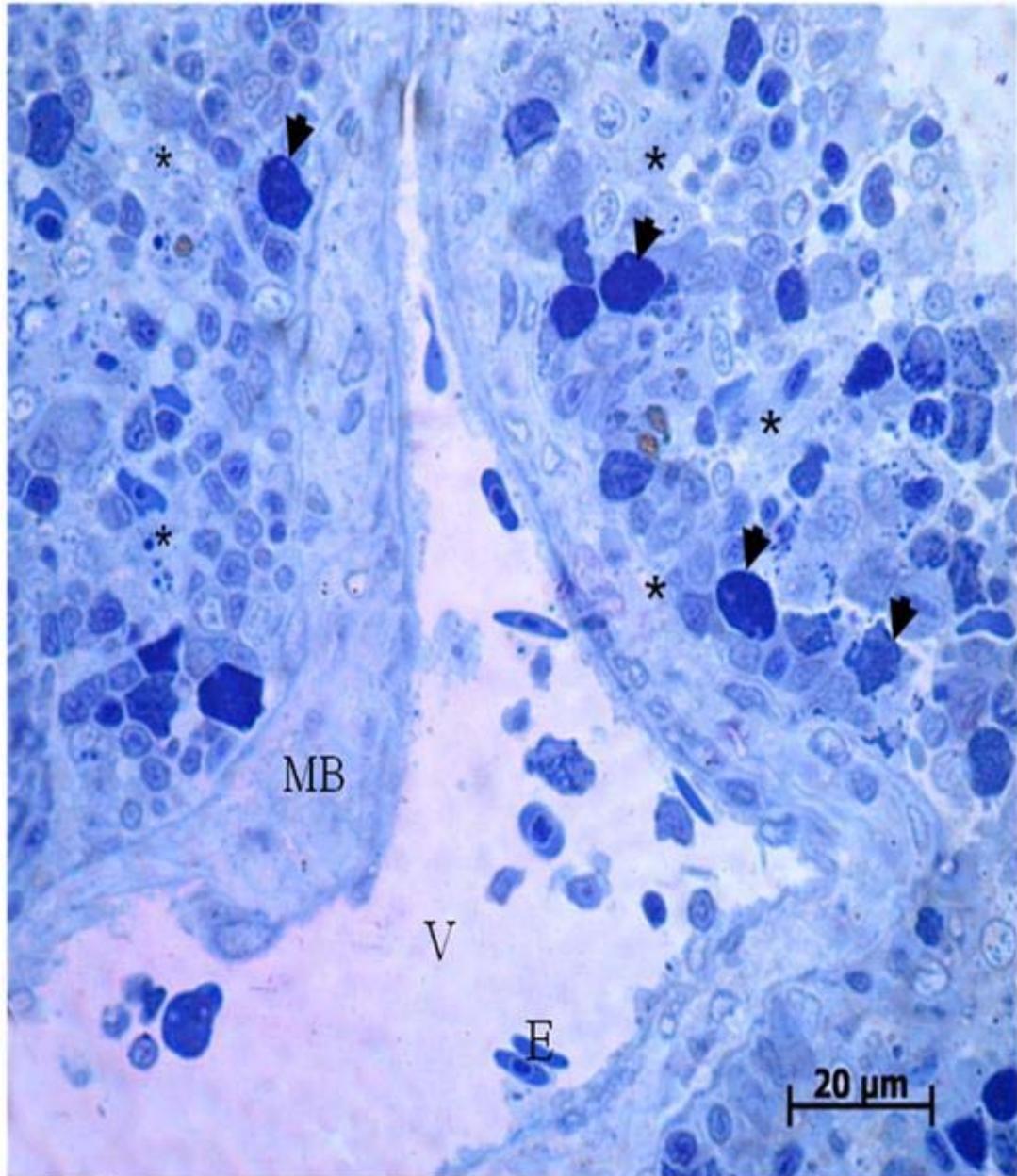


Figura 3. Riñón cefálico de peces expuestos al cadmio (100 X). Note el gran engrosamiento de la membrana basal del vaso central (V). En la luz del vaso se aprecian algunos eritrocitos (E). Se observa, además una pérdida de la integridad del tejido que se manifiesta como espacios vacíos o claros (*) producto de la escases

celular. Es evidente la poca cantidad de macrófagos los cuales no se presentan agrupados y poseen una intensa ortocromasia en comparación con el control (cabeza de flecha).

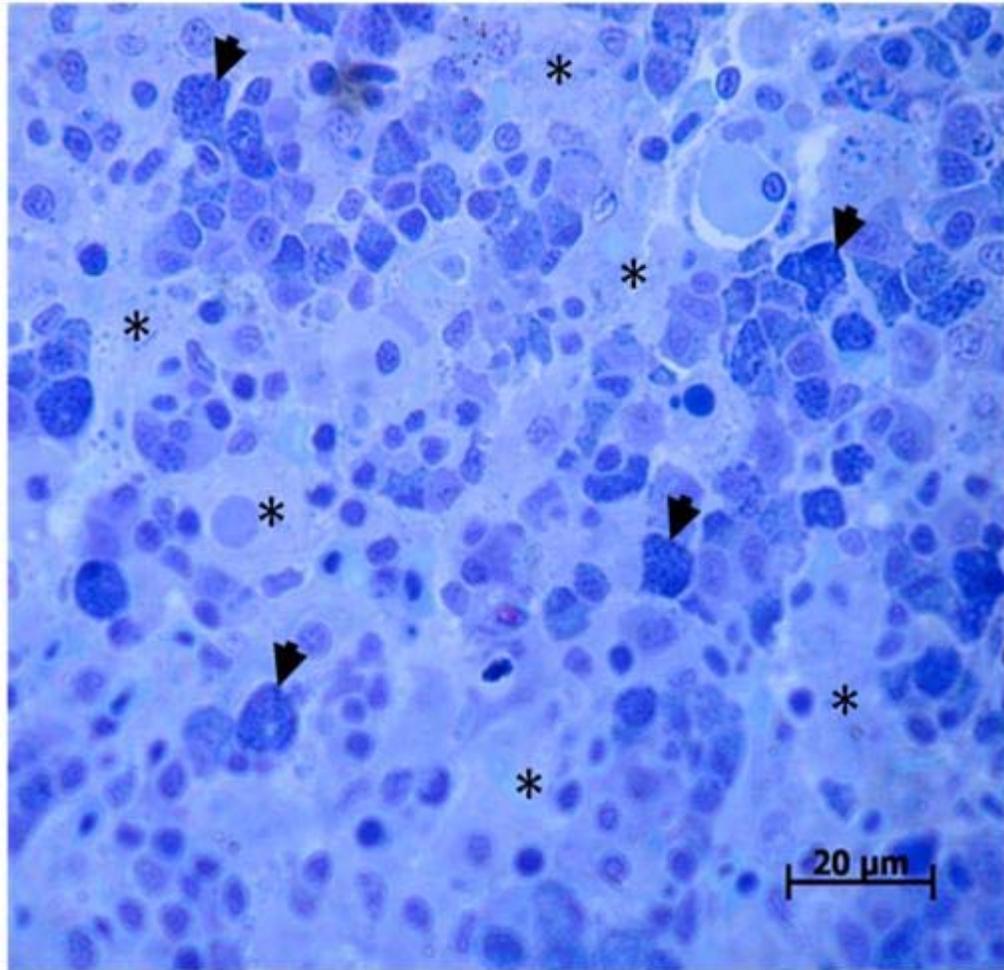


Figura 4. Riñón cefálico de peces expuestos al cadmio (100 X). Se evidencia claramente, una pérdida de la integridad del tejido que se manifiesta como espacios vacíos o claros (*). Es evidente la escases de macrófagos los cuales se encuentran dispersos o aislados sin formar aglomeraciones (cabeza de flecha).

DISCUSIÓN

El riñón excretor es el órgano que acumula cadmio en mayor proporción, siendo el encargado de la eliminación del complejo cadmio-metalotioneínas (Cd-MT) dicho complejo es de tamaño tal, que atraviesa el glomérulo renal y llega a la orina primaria donde las células del túbulo proximal lo reabsorbe casi completamente vía pinocitosis, esto sucede cuando la exposición es baja, en caso contrario se supera la producción de metalotioneínas dejando cantidades de cadmio libre que ocasionan daños a las membranas celulares renales (Klassen *et al.*, 2004).

Matsuo y Val (2007), demostraron mayores concentración de cadmio en riñón excretor que en hígado, branquias y músculos en *C. macropomum* expuestos a cadmio; por otra parte Woodling *et al.* (2001), reportaron mayor concentración de cadmio en la porción de predominio renal que en la de predominio hematopoyético en el riñón de *Salmo trutta*, lo que coincide a lo encontrado en este trabajo donde se obtuvo mayor concentración de cadmio en riñón excretor que en riñón cefálico; cabe destacar que en teleósteos, el riñón tiene dos segmentos uno con predominio linfo-hematopoyético (riñón cefálico) y otro, donde el tejido hematopoyético forma una matriz entre el sistema excretor y las neuronas (riñón excretor) por lo que ambos órganos están relacionados histológicamente (Ferguson, 1989).

En peces el cadmio tiende a acumularse en mayor concentración en el riñón excretor como demostró Hernández (2005), en *C. macropomum* en proporción con el tiempo de exposición, lo que también es corroborado en este trabajo donde se obtuvo un valor promedio de 5 3940 µg de cadmio por gramo de tejido húmedo, lo que se tradujo en un aumento significativo en comparación con el grupo control.

Los peces del grupo expuestos a cadmio presentaron un aumento altamente

significativo de la glucosa plasmática, resultado semejante al obtenido por Oner *et al.* (2008), al exponer a una dosis subletal de cadmio al pez de agua dulce *Oreochromis niloticus* por treinta días; el aumento de la glucosa plasmática es el resultado de la gluconeogénesis y de la glucogenólisis, procesos metabólicos estimulados hormonalmente tanto por las catecolaminas como por el cortisol; y estas hormonas aumentan en respuesta al estrés químico al que están sometidos los organismos (Flores, 2002).

Ciertos trabajos de investigación señalan directamente que las catecolaminas originan un aumento en los niveles de glucosa, pero ésta misma respuesta es observada por un aumento del cortisol; Wenderlaar (1997) propone que el cortisol media el aumento de la glucosa a largo plazo y las catecolaminas en el corto plazo; es de considerar que las cantidades de glucosa circulantes en la sangre guardan íntima relación con el estado nutricional, la dieta y la temperatura a la que estén sujetos los peces (Barton *et al.*, 1987; Barton *et al.*, 1988; Vijayam y Moon, 1992).

De igual forma, el aumento de la urea también pudiera deberse a la acción estimulante del cortisol sobre el catabolismo de las proteínas musculares (Leach y Taylor 1980); en ratas, Morales *et al.* (2004), informaron de niveles plasmáticos de urea elevados por exposición a cadmio; algunos autores, han reportado en el pez *O. niloticus* disminuciones en la concentración de proteínas totales en el hígado y músculo blanco independiente de los niveles de glucógeno de los tejidos expuestos a cadmio (Almeida *et al.*, 2001; Oner *et al.*, 2008), estos resultados coinciden con los obtenidos en este estudio.

Por otra parte, el aumento encontrado en la concentración de la LDH es un comportamiento bioquímico observado en organismos estresados por exposición a cadmio. Sánchez *et al.* (2006), informaron de aumentos plasmáticos de la LDH en ratas por exposición a cadmio, y en el músculo rojo del pez *O. niloticus*; Almeida *et*

al. (2001) reportaron niveles elevados de LDH, lo que coincide con los resultados obtenidos en este trabajo; este aumento obtenido en la concentración de la LDH se pudiera deber al hecho demostrado de que, por lo general, los peces bajo estrés químico necesitan de una manera más rápida obtener energía adicional y para ello, aumentan la glicólisis anaeróbica, aumentando los niveles de LDH para satisfacer esa necesidad, lo que se corrobora con la hiperglicemia obtenida para el grupo expuesto (Botello *et al.*, 2005).

La disminución plasmática en los valores de calcio, fósforo y magnesio por exposición a cadmio en peces han sido reportadas; Ricard *et al.* (1998), informaron niveles bajos de calcio en *Oncorhynchus mykiss* por exposición a cadmio a dosis subletal por treinta días; Larsson *et al.* (1981), demostraron que en el pez *Platichthys flesus* la exposición a cadmio induce disminución de los niveles de calcio, fósforo y magnesio.

El cadmio tiende a comportarse en peces como un interruptor del equilibrio iónico y alterador de las características de permeabilidad de la membrana celular, afectando el transporte activo y movimiento pasivo de los iones bien sea, por inhibición directa de la ATPasa, o por secuela secundaria, como pudiera ser la reducción de la disponibilidad de ATP (Vázquez, 2005).

Está demostrado experimentalmente que los peces expuestos a cadmio presentan inhibición de la enzima ATPasa Ca^{+2} dependiente, ATPasa Mg^{+2} , hidroxilación de la vitamina D, disminución en la absorción intestinal de calcio y disminución en la disponibilidad de calcio por inhibición recíproca, concentración dependiente en el tejido renal causando perturbaciones en la homeostasia del este elemento; además en condiciones de estrés por lo general, los peces aumentan los niveles plasmáticos de cortisol lo cual, altera el balance hidromineral en sangre y tejidos, ocasionando perturbaciones osmóticas e iónicas

La alta concentración de cadmio en el riñón excretor que es el órgano encargado del balance hidromineral demostrada en este estudio, sugiere que este metal pudiera estar afectando la homeostasia de los bioelementos, lo que pudiera explicar los descensos en los niveles de calcio, fósforo y magnesio en el grupo expuesto (Fassett, 1975; Nogawa, 1981; Robertson *et al.*, 1988; Repetto, 1995; Rodríguez *et al.*, 2005; Gagnon *et al.*, 2007).

Las alteraciones histológicas a nivel del riñón cefálico observadas en el pez *C. macropomum*, son indicativas de la citotoxicidad del cadmio la cual se ha demostrado inhibe la actividad de las enzimas responsables del mantenimiento de la integridad celular, tal como indican Marcano *et al.* (2006), en tejido hepático de ratones albino (Gunn y Gould, 1970; Gabbiani *et al.*, 1974; Fende y Niewenhuis, 1977; Aoki y Hoffer, 1978).

El engrosamiento o inflamación de la membrana basal observado en los capilares del riñón cefálico de los peces expuestos, pudiera ser causado directamente por el aumento en la concentración de sodio intracelular con consecuente hinchazón e histólisis celular como consecuencia de la inhibición de la enzima ATPasa Na/K causada por el cadmio tal como establecen Koizumi *et al.* (1996), este resultado es semejante a los obtenidos por Giari *et al.* (2006), en el pez *Dicentrarchus labrax* por exposición a cadmio; además, se ha demostrado que el cadmio ocasiona ruptura en las uniones de las células endoteliales de los capilares testiculares en ratones, ocasionado aumento de la permeabilidad vascular seguido de edema, hemorragia y necrosis.

Por otra parte, la pérdida del compactamiento y necrosis del tejido probablemente es el resultado directo de la posible acción negativa del cadmio sobre el metabolismo del colágeno el cual, actúa como responsable mecánico de esta cualidad tisular (Repetto, 1995); además, el cadmio también pudiera estar causando

este efecto de forma sinérgica a través de la inhibición de las enzimas glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa lo que favorece la biodisponibilidad de peróxidos y radicales libres los cuales, afectan todos los componentes celulares deformando de ésta manera la arquitectura tisular (Korotkov, 1998), también se ha demostrado que, el cadmio afecta a las cadherinas del epitelio renal y del endotelio vascular ocasionando pérdida de las uniones célula a célula y pérdida de la morfología celular (Walter *et al.*, 2009).

La depleción o disminución en el número de células en los cortes de riñón cefálico observados de los peces expuestos a cadmio, se corresponde con la disminución de los bioelementos calcio, fósforo y magnesio los cuales, son elementos necesarios en los procesos de crecimiento celular y formación de tejidos.

Salazar *et al.* (2009), reportaron disminuciones en el número de reticulocitos en el pez *C. macropomum* por exposición a cadmio y señalan que, la disminución de estas células posiblemente se deba a la acumulación y efecto directo del cadmio en el riñón cefálico, lo que es corroborado en este estudio en donde se observó que este tejido acumula cadmio en concentraciones altamente significativas aunado a los cambios histológicos observados en dicho tejido; además cabe resaltar que el riñón cefálico tiene función hematopoyética por lo tanto, el cadmio afecta el conteo de células sanguíneas.

También es posible que la disminución observada por Salazar *et al.* (2009), en el conteo de reticulocitos y la hemoglobina se deba al efecto del cadmio en esta célula, afectando la homeostasis del hierro y de la hemoglobina generando indirectamente estrés oxidativo, lo cual es corroborado en este trabajo al encontrar un aumento significativo de la bilirrubina conjugada en los peces expuestos al metal lo cual, es un indicador del metabolismo de la hemoglobina y destrucción de eritrocitos.

La intensa ortocromasia observada en los macrófagos, pudiera estar causada por acúmulos de pigmentos endógenos tales como ceroide o hemosiderina, los ceroides son producto de la degradación de la lipofuscina contenida en los macrófagos la cual a su vez, es un producto intermediario de la peroxidación lipídica lo cual sugiere aumento del estrés oxidativo en el grupo expuesto por efecto del cadmio lo que induce destrucción celular, por otra parte la hemosiderina pudiera indicar anemia o alteraciones en el metabolismo del hierro en el grupo expuesto por acción del cadmio sobre las células de la serie roja (Blazer *et al.*, 1994; Krüger *et al.*, 1996; Gerlane, 2007)

El cadmio es un metal que produce toxicidad a bajas concentraciones como es corroborado en este estudio, donde se pudo observar que los peces expuestos a cadmio alteran su metabolismo, observándose aumentos en la LDH, la glucosa y bilirrubina conjugada, así como disminución del calcio, fósforo y magnesio también induce alteraciones histológicas, corroborando su efecto al demostrarse concentraciones significativas en órganos importantes como el riñón cefálico, riñón excretor e hígado.

CONCLUSIONES

La exposición a cadmio induce aumentos en la concentración plasmática de glucosa, urea y bilirrubina directa en juveniles de cachama.

La exposición a cadmio altera la actividad de la LDH en *Colossoma macropomum*.

Los valores de calcio, fósforo y magnesio disminuyen por exposición a cadmio en *Colossoma macropomum*.

La exposición a cadmio altera la estructura del riñón cefálico en pez *Colossoma macropomum* induciendo engrosamiento de la membrana basal, depleción en el número de células y pérdida del compactamiento celular.

El cadmio se bioacumula en los tejidos analizados en el orden siguiente: riñón excretor > hígado > riñón cefálico.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar mediciones de las concentraciones de cortisol sérico en *C. macropomum* expuestos a cadmio y sus controles para comprobar el efecto del cadmio sobre los niveles de cortisol y su relación con el consecuente efecto en los parámetros bioquímicos.

También se recomienda analizar la ultraestructura e histoquímica del riñón cefálico de *C. macropomum* expuesto a cadmio y sus controles para detallar los daños tisulares.

BIBLIOGRAFÍA

Allison, K.; Cerny, E.; Smith, D.; Wagh, A. y Bhattacharyya, M. 1996. Effects of cadmium on osteoclast formation and activity in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 140: 451-460.

Almeida, J.; Novelli, E.; Dal, S. y Júnior, R. 2001. Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environ Pollut*, 114(2): 169-175.

Aoki, A. y Hoffer, A. 1978. Reexamination of the lesions in rat testis caused by cadmium. *Biology of Reproduction*, 18: 579-591.

Barton, B.; Schreck, C. y Barton, L. 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress responses in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2: 173-185.

Barton, B.; Schreck, C. y Fowler, L. 1988. Fasting and diet content affect stress-induced changes in plasma glucose and cortisol in juvenile Chinook salmon. *Progressive Fish Culturist*, 50: 16-22.

Bernal, M. 1999. Estudio microscópico del riñón cefálico y de las células sanguíneas de seriola (*Seriola dumerilii*). Tesis Doctoral, Departamento de Biología Celular, Universidad de Murcia, Murcia.

Blazer, V. Facey, D.; Fournie, J.; Courtney, L. y Summers, J. 1994. Macrophage aggregates as indicators of environmental stress. En: Modulators of fish immune response. Stolen, J. SOS Publication, New Jersey. 169-185.

Botello, A.; Rendón, J.; Bouchot, G. y Hernandez, C. 2005. Golfo de México: impacto e ambiental: diagnóstico y tendencias. Universidad Autónoma de Tabasco, Villa Hermosa.

Cordero, J.; Guevara, M.; Morales, E. y Lodeiros, C. 2005. Efecto de metales pesados en el crecimiento de la microalga tropical *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae). *Revista de Biología Tropical*, 53: 325-33.

Croute, F.; Beau, B.; Arrabit, C.; Gaubin, Y.; ODelmas, F.; Murat, J. y Soleilhavoup, J. 2000. Pattern of stress protein expression in human lung cell-line A549 after short- or long-term exposure to cadmium. *Environmental Health Perspectives*, 108(1): 55-60.

- Doli, R. 1993. *Cadmium in the human environment*. Oxford University, Oxford.
- Eigemam, C. 1975. The sersal minae and my linea. *Annals of Carnegie Museum*, 9: 226-272.
- Ellis, A.; Munroe, A. y Roberts, R. 1976. Defence mechanism in fish. *Journal of Fish Biology*, 8: 67-78.
- Ellis, A. 1980. Antigen-trapping in the spleen and kidney of the plaice (*Pleuronectes platessa*). *Journal of Fish Disease*, 3: 413-426.
- Ellis, A. 1989. The immunology of teleosts. En: fish pathology. Roberts, R. (eds). Baillière Tindall, Londres, Págs. 135-152.
- Fänge, R. 1992. Fish blood cells. En: *Fish physiology*. Hoar, W.; Randall, D. y Farrell, A. (eds). Academic Press, Londres, Págs. 2-46.
- Fassett, D. 1975. Cadmium: biological effects and occurrence in the environment. *Annual Review of Pharmacology*, 15:425-35.
- Fende, L. y Niewenhuis, R. 1977. An electron microscopic study of the effects of cadmium chloride on cryptorchid testes of the rat. *Biology of Reproduction*, 16: 298-305.
- Ferguson, H. 1989. Systemic Pathology of Fish. A text and atlas comparative tissue response in diseases of teleost. Iowa state University . Iowa.
- Fletcher, T. 1986. Modulation of non specific host defenses in fish. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 12: 59-67.
- Flores, Q.; Hernández, D. y Pino, M. 2003. “Características estructurales y ultraestructurales del riñón anterior del salmón de río *Brycon cephalus* (Teleostei-Characidae)”. “comunicaciones científicas y tecnológicas 2003 unne”. <<http://www.unne.edu.ar/cyt/2003/cyt.htm>> (01/01/2009).
- Flores, Q. 2002. Respuestas neuroendocrinas al estrés en peces teleósteos. *Revista de Ictiología*, 10: 57-78.
- Gabbiani, G.; Badonnel, M; Mathewson, S. y Ryan, G. 1974. Acute cadmium intoxication. Early selective lesions of endothelial clefts. *Laboratory Investigation*, 30: 686-695.
- Gagnon, E.; Hontel, A. y Jumarie, C. 2007. Reciprocal inhibition of Cd and Ca uptake in isolated head kidney cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

Elsevier, 21: 1077-1086.

García, J.; Acuña, J. y Vargas, J. 2004. Metales traza en sedimentos costeros de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 52 (Supl, 3A): 51-60.

Gerlane, M. 2007. Estudo histomorfológico e análise dos perfis celulares do rim cefálico, fígado, baço e timo do *Piractus mesopotamicus* (Holmerberg, 1887, Teleosteo, Characidae), pacu. Tesis de Pos-Grado. Departamento de Cirugía, Universidad de São Paulo, São Paulo.

Geneser, F. 2000. Histología: sobre bases biomoleculares. Tercera edición. Editorial médica panamericana. Madrid.

Giari, L.; Manera, M.; Simoni, E. y Dezfuli, B. 2006. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L) exposed to cadmium. *Chemosphere*, 67(6): 1171-81.

Gunn, S. y Gould, T. 1970. Cadmium and other mineral elements. En: The Testis. Gomes, W.; Van Demark, N.,(eds). Academic Press, New York.

Heath, A. 1995. Water pollution and fish physiology. Segunda edición, Lewis Publishers, Boca Raton.

Hernández, M. 2005. Proteínas en diferentes tejidos (hígado, riñón y branquias) del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum* Expuestos a dosis subletales de cloruro de cobre y cadmio. Tesis de Grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Klassen, K.; Crenshaw, R.; Kozyraki, P.; Verroust, L.; Tio, S.; Atrain, P. y Hammond, T. 2004. Megalin mediates renal uptake of heavy metal metallothionein complexes. *Renal Physiol* 287: 393-403.

Korotkov, S.; Skuiskii, I. y Giazunov, V. 1998. Effects on respiration and swelling of rat liver mitochondria were modified by monovalent cations. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 70: 17-23.

Koizumi, T.; Shirakura, H.; Kumagai, H.; Tatsumoto, H. y Suzuki, T. 1996. Mechanism of cadmium induced cytotoxicity in rat hepatocytes: cadmium induced active oxygen - related permeability changes of the plasma membrane. *Toxicology*, 114: 125-134.

Krüger, R.; Pietrock, M.; Meinelt, T.; Yoshida, T.; Steffens, W. y Steinberg, C. 1996. Distribution of macrophage centres in bream (*Abramis brama* L.) liver from the

Oder river (Germany/Poland) within the nature reserve “ Unteres Odertal” near the town of Schwedt, *Int. Revue Ges. Hydrobiologie*, 81(4): 635-644.

Larsson, A.; Bengtsson, B. y Haux, C. 1981. Disturbed ion balance in flounder, *Platichthys flesus*(L), exposed to sublethal levels of cadmium. *Aquatic Toxicology*, 1:19-35.

Leach, G. y Taylor, M.; 1980. The role of cortisol in stress-induced changes in fundulus heteroclitu. *General and Comparative Endocrinology*, 42: 219 -227.

Marcano, L.; Faria, C.; Carruyo, I. y Xiomara, M. 2006. Citotoxicidad del cadmio en hepatocitos de ratón albino y sus posibles implicaciones en ambientes tropicales. *Revista de Biología Tropical*, 54(2): 257-263.

Matsuo, A. y Val, A. 2007. Dietary tissue cadmium accumulation in an amazonian teleost (Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Brazil journal of biology*, 67(4): 657-661.

McCormick, S; Shrimpton, J; Carey, J; O’dea, M; Sloan, K; Moriyama, S. y Björnson, B. 1998. Repeated acute stress reduces growth rate of atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol. *Aquaculture*, 168: 221-235.

Morales, M.; Sánchez, V.; Sandoval, S.; Tagarro, F.; López, J. y Pérez, F. 2004. Efecto de la quercetina sobre la nefrotoxicidad producida por el cadmio. *Revista de toxicologia*, 21(1): 1697-1748.

Nogawa, K. 1981. Itai-itai disease and follow-up-studies. En: Cadmium in Environment. Nriagu, J. (eds). John Wiley & Sons, New York. Págs. 1-38.

Oner, M.; Atli, G. y Canli, M. 2008. Changes in serum biochemical in parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(2): 360-366.

Orlowski, C.; Piotrowski, J.; Subdys, J. y Gras, A. 1998. Urinary cadmium as indicator of renal cadmium in humans and autopsy study. *Human & Experimental Toxicology*, 17: 302-306.

Pankhurst, N. y Kraak, G. 2000. Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout in vivo, through the action of cortisol. *General and Comparative Endocrinology*, 117: 225-237.

Repetto, M. 1995. Toxicología avanzada. Ediciones Díaz de Santos. Madrid.

Ricard, A.; Daniel, C.; Anderson, P. y Hontela, A. 1998. Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Environmental Contamination and Toxicology*, 34(4):377-381.

Robertson, L.; Thomas, P. y Arnold, C. 1988. Plasma cortisol and secondary stress response of cultured red drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures. *Aquaculture*, 68: 117-129.

Rodríguez, B.; Marcano, L. y Villamediana, P. 2005. Efecto de la exposición al cloruro de cadmio sobre la maduración *in Vitro* de ovocitos bovinos. *Revista Científica*, 15: 443-450.

Salazar, M.; Lizano, O. y Alfaro, E. 2004. Composición de sedimentos en las zonas costeras de Costa Rica utilizando fluorescencia de rayos-X (FRX). *Revista de Biología Tropical*, 52 (Suppl, 2): 61-75.

Salazar, R.; León A. y Lemus, M. 2009. Efecto del cadmio y la temperatura sobre el conteo de células sanguíneas del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum*. *Revista Científica*, 19(1): 7-14.

Salazar, R. y Reyes, R. 2000. Efecos tóxicos y mecánicos de tolerancia al cadmio en los seres vivos. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 4: 17-22.

Sanchez, P.; Vicente, C.; Arevalo, M.; Perez, F.; López, J. y Morales, A. 2006. Papel de la vía Ras un modelo de nefrotoxicidad inducida por cadmio. Efecto protector del antioxidante quercetina. *Revista de Toxicología*, 23: 130-137.

Sardiñas, O. y García, M. 1996. Método para el análisis de cadmio en tejidos biológicos por espectrometría de absorción atómica. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 34: 2.

Stell, R. y James, H. 1980. Principles and procedures of statistics. Segunda edición. McGraw-Hill, New York.

Swiergosz, R.; Zakrzewska, M.; Sawicka, K.; Bacia, K. y Janowska, I. 1998. Accumulation of cadmium in and its effect on bank Vole tissues after chronic exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 41: 130-136.

Thophon, S.; Pokethitiyook, P.; Charlermwat, K.; Upatham, E. y Sahaphong, S. 2004. Ultrastructural alterations in the liver and kidney of white sea bass, *Lateolabrax niloticus*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Toxicology*, 19(1): 11-19.

Tsangares, E. y Tzortzaton, F. 1998. Cadmium induces apoptosis differentially on immune system cell lines. *Toxicology*, 128: 143-190.

Van Dyck, J.; Pieterse, G. y Van Vuren, J. 2005. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(3): 432-40.

Vaquero, J.; Quilarte, L.; López, J.; Williams, V.; Rojas, L.; Bonilla, J. y Ramírez, A. 2004. Evaluación de la concentración por metales de la cuenca del río tigre. *Acta Científica Venezolana*, 55: 81.

Vázquez, A. 2005. Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. Segunda edición. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México D.F.

Vijayam, M. y Moon, T. 1992. Acute Handling stress Alters Hepatic Glycogen Metabolism in Food-Deprived Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal Fish Aquatic Science* 49(11): 2260-2266.

Walter, P.; Joshua, E.; Daniel, N.; James, W.; Aaron, B. y William, A. 2009. The Vascular System as a Target of Metal Toxicity. *Toxicological Sciences*, 102(2): 207-218.

Wedemeyer, G. y Mcleay, D. 1981. Methods for determining the tolerance of fish to environmental stresses. En: stress and fish. Pickering, P. (eds). Academic press. Londres, Págs, 247-275.

Wenderlaar, B. 1997. The stress response in fish. *Physiological Review*, 77(3): 591-625.

Woodling, J.; Brinkman, S. y Cuerno, B. 2001. Nonuniform accumulation of cadmium and copper in kidneys of wild brown trout (*Salmo trutta*) populations. *Environmental Contamination and Toxicology*, 40(3): 381-385.

Zapata, A. y Cooper, E. 1990. The immune system: comparative histophysiology. Universidad de Michigan, Michigan.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y ANÁLISIS ESTRUCTURAL DEL RIÑÓN CEFÁLICO DEL PEZ Colossoma macropomum EXPUESTO A CADMIO
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Aníbal José Marcano Rodríguez	CVLAC	16313805
	e-mail	Janibal5823920@hotmail.com
	e-mail	Janibal5823920@gmail.com
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Riñón cefálico, cadmio, cortisol

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se evaluó el efecto del cadmio sobre los parámetros bioquímicos y la estructura del riñón cefálico de juveniles del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum*. Los organismos fueron aclimatados durante 15 días y posteriormente expuestos a una dosis de cadmio de 0,1mg/l durante 31 días a una temperatura de 24 a 25°C y a un pH de $7,0 \pm 0,3$. Finalizados los 31 días de exposición se tomaron muestras de sangre para realizar las determinaciones de glicemia, urea, triglicéridos, colesterol, lipoproteína de muy baja densidad (VLDL); bilirrubina total y fraccionada; de las enzimas alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), lactato deshidrogenasa (LDH), creatin kinasa (CK) y fosfatasa alcalina (ALP) y de los bioelementos; calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio; se tomaron muestras de riñón cefálico para el análisis por microscopia de luz y se determinaron las concentraciones de cadmio en riñón cefálico, riñón excretor e hígado. Los niveles de cadmio ($\mu\text{g /g}$) en riñón cefálico resultaron aumentados significativamente en comparación con el grupo control, en el riñón excretor fueron significativos en comparación con el grupo control y en el hígado muy significativos en comparación con el grupo control; los niveles de cadmio en orden decreciente por tejido fueron: riñón excretor > hígado > riñón cefálico. También se obtuvo un aumento altamente significativo de la glicemia en comparación con el grupo control; la urea, bilirrubina directa y LDH presentaron de igual manera aumentos significativos en comparación con el grupo control; al contrario los niveles de calcio y magnesio mostraron disminuciones muy significativas y el fósforo presentó disminuciones significativas en comparación con el grupo control; en los cortes de riñón cefálico se observó un engrosamiento altamente significativo de la membrana basal, se observó pérdida del compactamiento del tejido y disminución significativa en el número de células ortocromáticas en comparación con el grupo control; Los resultados indican que a dosis subletales el cadmio afecta los parámetros bioquímicos y la estructura del riñón cefálico de *C. macropomum*.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Raquel Salazar	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	5855836
	e-mail	raquellugove@yahoo.com
	e-mail	
Mairiín Lemus	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	6.429.405
	e-mail	mlemus88@gmail.com
	e-mail	
America Vargas	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	9.978.150
	e-mail	americabelen2@yahoo.es
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2011	03	23

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-AnibalMarcano.doc	Application/ Word.doc

Alcance:

Espacial: Universal

Temporal: Intemporal

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

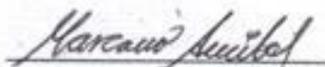
Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

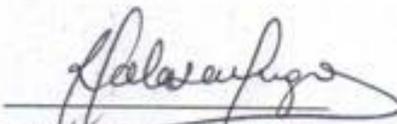
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

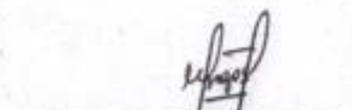
El autor garantiza en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir, por cualquier medio, contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar a la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. El autor se reserva los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.



Br. Anibal marcano
Autor



Dra. Raquel Salazar
Asesora


Dra. Mairin Lemus
Jurado
MSc. America vargas
Jurado

POR LA COMISIÓN DE TESIS:

