

## ESTRÉS OXIDATIVO EN PECES INDUCIDO POR CONTAMINANTES AMBIENTALES

Ochoa DM<sup>1</sup>, González JF<sup>2</sup>

Grupo de Investigación en Toxicología Acuática y Ambiental  
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia  
Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá

### RESUMEN

El estrés oxidativo inducido por diversas clases de contaminantes como mecanismo de toxicidad ha sido un foco de interés en el campo de la toxicología acuática y ambiental durante la última década. Numerosas evidencias indican que muchos de estos agentes contaminantes al llegar a cuerpos de agua pueden desencadenar el proceso de estrés oxidativo en organismos que allí habitan, y son responsables de efectos en células y tejidos asociados a mutagénesis y carcinogénesis. El estrés oxidativo se genera cuando existe una sobrecarga en la formación de radicales libres o agentes prooxidantes, la cual no es debidamente compensada por los mecanismos de defensa antioxidante que posee el organismo. Los factores que son importantes al momento de la presentación del proceso de estrés oxidativo en peces, así como los mecanismos de defensa contra el ataque de agentes prooxidantes y las consecuencias de dicho evento, se revisarán en el presente artículo.

**Palabras clave:** xenobióticos, peces, toxicología, estrés oxidativo.

## OXIDATIVE STRESS IN FISHES CAUSED BY ENVIRONMENTAL CONTAMINANTS

### ABSTRACT

A wide variety of environmental pollutants are capable of inducing oxidative stress. This has received increasing interest in the field of aquatic toxicology in the last decade. Evidence suggests that pollutants in aquatic environments play an important role in the mechanistic aspects of oxidative damage in aquatic species, leading to adverse effects such as cellular damage associated to carcinogenesis and mutagenesis. The imbalance between the generation and the neutralization of free radicals and other reactive oxygen species by antioxidant mechanisms within an organism is called oxidative stress. This review summarizes current knowledge and advances in the understanding of such deleterious processes and the role of antioxidant defenses in fishes.

**Key words:** xenobiotics, fish, toxicology, oxidative stress.

1 dmochoac@gmail.com

2 jfgonzalezma@unal.edu.co

## INTRODUCCIÓN

Desde los años setenta el incremento en la síntesis de productos químicos en respuesta a actividades tanto agrícolas como industriales ha generado una continua descarga de estos al medio acuático ya sea por proximidad al sitio de uso, por derrames accidentales o por deriva del químico después de una aplicación aérea. Estudios sobre los efectos causados por dichos contaminantes y su relación con el estrés oxidativo se han reportado en diversos organismos acuáticos; los peces son un foco de especial atención. En los peces la toma de estos contaminantes puede ocurrir a partir de sedimentos, material particulado en suspensión, columna de agua o fuentes alimenticias, lo cual dependerá de la dieta y del modo de vida del organismo (1). Estos contaminantes ambientales o xenobióticos pueden incluir metales de transición, hidrocarburos aromáticos policíclicos, pesticidas organoclorados y organofosforados, piretroides, policlorinados bifenílicos y dioxinas, entre otros (2, 3).

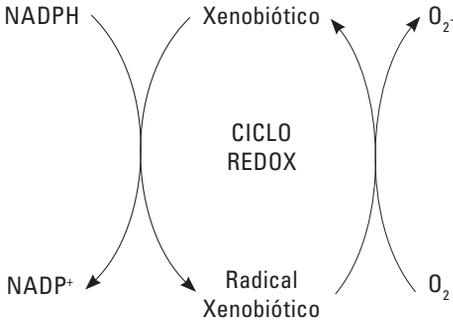
Se entiende por estrés oxidativo una alteración generada por un desequilibrio entre la producción de radicales libres o agentes prooxidantes y los mecanismos de defensa antioxidante o la capacidad antioxidante de un organismo. Esto puede conducir a daño de componentes celulares y tejidos que favorecen la presentación de procesos patológicos. Una condición de estrés oxidativo puede ser causada por un aumento en la producción de factores prooxidantes debido a una exposición a agentes generadores de radicales libres que exceden la capacidad antioxidante del organismo o a una deficiencia en los mecanismos de defensa. Dichos mecanismos celulares de defensa incluyen sistemas enzimáticos y no enzimáticos los cuales se encargan de evitar la formación

de radicales libres, capturar los que ya se han formado y remover o reparar las biomoléculas ya dañadas. La cuantificación de los mecanismos antioxidantes y de los daños provocados por la condición de estrés oxidativo en sistemas biológicos puede ser usada para evaluar efectos tóxicos inducidos por diferentes clases de contaminantes ambientales (2, 4, 5).

El proceso de estrés oxidativo se ha considerado un mecanismo de toxicidad significativo sobre los organismos a los que afecta y ha permitido su uso como herramienta de diagnóstico, con capacidad predictiva de evidenciar el impacto de los contaminantes sobre los organismos (3, 6).

### ESTRÉS OXIDATIVO GENERADO POR CONTAMINANTES AMBIENTALES

El efecto tóxico de muchos xenobióticos está mediado por la formación de especies reactivas de oxígeno. Un xenobiótico es capaz de inducir estrés oxidativo como resultado de un proceso cíclico de oxidación-reducción (ciclo redox) en el cual, al ser biotransformado, sufre la reducción por un electrón donado por el NADPH (la mayor fuente de equivalentes reducidos), transformándose luego en un intermediario o especie reactiva que puede ser un radical libre (figura 1) (7, 8). Esta especie reactiva, al intentar recuperar su configuración original, busca transferir o donar su electrón no apareado al oxígeno ( $O_2$ ). Así el  $O_2$  se reduce transformándose en el anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) con la consecuente regeneración del componente parental. El  $O_2^{\cdot-}$  reacciona a su vez con otras moléculas o consigo mismo y genera el radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) que mediante una serie de reacciones en cadena y la capacidad de oxidar macromoléculas puede ocasionar la muerte celular (9-11).



**Figura 1.** Esquema de oxidorreducción de un xenobiótico.

Tomado de Martínez-Cayuela (39).

**RADICALES LIBRES**

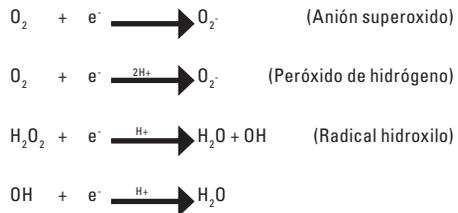
Un radical libre es la especie química que posee uno o más electrones no apareados (impares) en su orbital más externo. Su configuración le confiere una vida media corta debido a que es una especie muy inestable y reacciona rápidamente con otras moléculas a través de reacciones redox para lograr una configuración más estable al completar su propio orbital, hecho que puede provocar una reacción en cadena. Un tipo de radical libre es el de oxígeno en cuya estructura está presente el O<sub>2</sub> como centro funcional, por lo que es común el término especies reactivas de oxígeno (EROS), para incluir dentro de este grupo especies químicas que se comportan como oxidantes. Las especies

reactivas de nitrógeno también tienen importancia biológica (12). Un análisis de estas, sin embargo, no se hace en esta revisión.

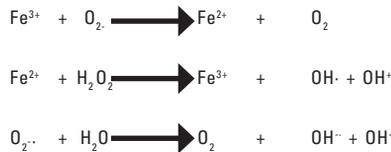
**FUENTES DE RADICALES LIBRES**

En condiciones normales existe una continua formación de ciertas especies reactivas de oxígeno las cuales son producto del proceso de respiración celular (generación de ATP, fosforilación oxidativa). La respiración celular de organismos aeróbicos involucra la reducción tetravalente del oxígeno

molecular a agua (H<sub>2</sub>O) en el sistema de transporte de electrones. Esta reducción ocurre a través de cuatro pasos en cada uno de los cuales se da la formación de intermediarios reactivos parcialmente reducidos y altamente inestables, como el anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y el radical hidroxilo (OH<sup>•</sup>) (figura 2). En presencia de metales de transición como el hierro, el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno pueden ser convertidos en radical OH<sup>•</sup> por medio de la reacción de Fenton (figura 3). El OH<sup>•</sup> es el intermediario más activo ya que reacciona instantánea e indiscriminadamente con macromoléculas como lípidos, proteínas y ADN (13-16).



**Figura 2.** Pasos en la reducción del oxígeno molecular hasta llegar a agua. Tomada de Di Giulio et ál. (16).



**Figura 3.** Reacción de Fenton.

**TOMADO DE LIVINGSTON**

Se estima que cerca de 1 a 3% del oxígeno consumido en la respiración celular por el animal es convertido a especies reactivas (1). La mayoría de los estudios acerca de la generación de radicales libres en organismos acuáticos han empleado investigaciones in vitro de transporte de electrones microsomales. Los organismos acuáticos, adicionalmen-

te a la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, pueden experimentar otras fuentes de producción de radicales libres, por ejemplo síntesis de prostaglandinas y reacción de la xantina oxidasa con la hipoxantina o xantina; y durante la fagocitosis en que intermediarios reactivos, principalmente el  $O_2^-$ , son liberados con propósitos bactericidas como se ha demostrado en la especie *Heteropneustes fossilis* y en macrófagos de *Oncorhynchus mykiss* (16). De las causas externas se ha mencionado la contaminación en cuerpos de agua como la principal contribuyente a la presentación de estrés oxidativo en peces, siendo un claro ejemplo las respuestas antioxidantes y el daño oxidativo manifestado por *Channa punctatus* expuesto por periodos crónicos a descargas de desechos de la industria del papel, la cual es una mezcla compleja de metales pesados, fenoles, dioxinas, hidrocarburos policíclicos aromáticos, furanos, componentes de lignocelulosa, ácidos grasos, resinas ácidas, etc. (7).

## **MECANISMOS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE EN PECES**

### **Antioxidantes enzimáticos**

En células sanas los EROS, o agentes prooxidantes, son detoxificados por defensas antioxidantes, incluyendo atrapadores de bajo peso molecular (no enzimáticos) de radicales libres y enzimas antioxidantes específicas (15). Dentro de los antioxidantes de bajo peso molecular se incluyen moléculas tanto hidrosolubles como liposolubles (1). Así existe un balance entre la producción de prooxidantes y el sistema antioxidante de defensa; sin embargo cuando hay una marcada producción de dichas especies reactivas el sistema de defensa puede resultar insuficiente, lo que lleva a un incremento en el daño a macromoléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando diversos procesos celulares (16).

Tanto los mamíferos como los peces exhiben respuestas celulares muy similares ante el estrés oxidativo (3, 6, 17); no obstante, el grado de variación en los niveles basales de dichas actividades entre especies de peces y en diferentes tejidos es evidente (18). Diversos estudios han demostrado la importancia de las defensas antioxidantes en proteger los sistemas celulares del estrés oxidativo inducido por xenobióticos. Peces de agua dulce expuestos a diferentes clases de contaminantes, como insecticidas organofosforados (diclorvos, azinfosmetil), herbicidas fenoxiacéticos (2,4-D), piretroides (deltametrina) o hidrocarburos aromáticos policíclicos (fenantreno), mostraron daño tisular por estrés oxidativo en exposiciones crónicas, así como alteración en la actividad de las enzimas antioxidantes, con tendencia al aumento, principalmente en hígado y branquias, en exposiciones agudas. No obstante, con altos niveles de contaminación la concentración de dichas enzimas puede verse reducida (3, 7, 10, 17).

Tres de las principales fuentes antioxidantes son las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (Gpx); sin embargo, debe tenerse en cuenta otra serie de enzimas especializadas con funciones indirectamente antioxidantes, como es el caso de la glutatión reductasa (GR) cuya función es regenerar el glutatión a su forma reducida (GSH) y la glutatión-S-transferasa (GST) que participa en el transporte y la eliminación de componentes reactivos y en el sistema de transporte de conjugados con el glutatión (figura 4) (6). Estas enzimas antioxidantes han sido propuestas como biomarcadores de contaminación mediada por estrés oxidativo y su inducción como una respuesta específica ante la exposición a contaminantes (16).

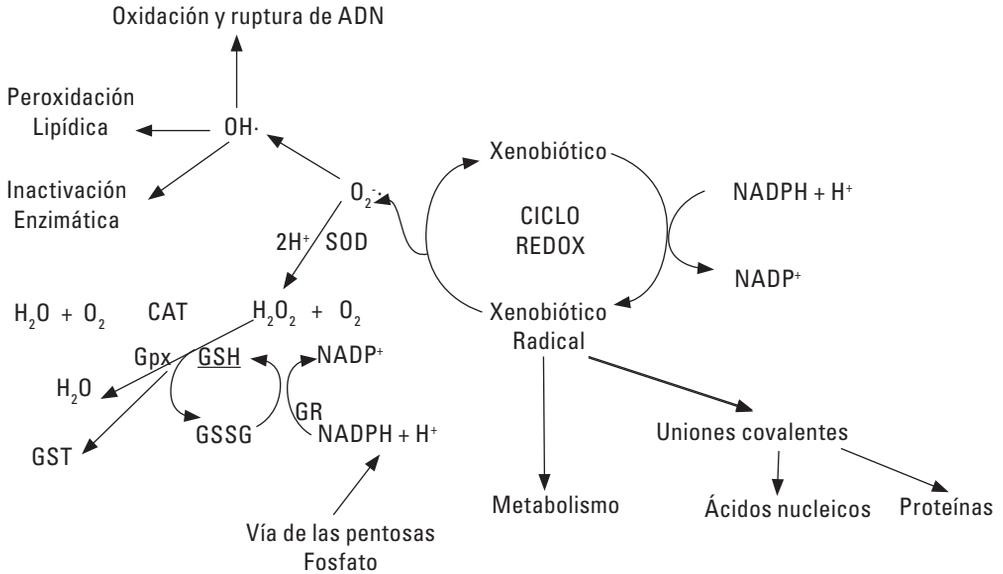


Figura 4. Sitio de acción de las principales defensas antioxidantes enzimáticas y principales consecuencias toxicológicas del ataque de los radicales libres.

Tomada de Di Giulio (16).

La SOD es una metaloproteína de la cual existen tres isoformas: SOD Cu, SOD Zn (citoplasmáticas) y SOD Mn que se encuentra en la matriz mitocondrial. Su función consiste en dismutar el  $O_2^{\cdot-}$  a  $H_2O_2$  y  $O_2$  (17-19). Los niveles basales de actividad de la SOD se evaluaron en 22 especies de peces del Amazonas, en los que se encontró que los niveles de actividad estuvieron cerca de 4 veces por debajo al compararlos con resultados de estudios hechos en peces marinos (18). Estudios en *Cyprinus carpio* y en *Ictalurus nebulosus* expuestos a concentraciones subletales de diclorvos, un insecticida organofosforado, demostraron aumentos en la actividad SOD durante una exposición aguda en hígado, corazón y músculo de ambas especies (20). Las especies *Mugil cephalus* y *Platichthys flesus*, provenientes del río Douro en Portugal, contaminado con una gran variedad de desechos industriales como zinc, cobre, plomo, PCB, entre otros, se compararon con respecto a su actividad

antioxidante SOD y se encontró que *Mugil cephalus* mostró una mayor actividad de esta enzima, transformando más eficientemente el  $O_2^{\cdot-}$  (5).

La CAT está asociada primariamente con peroxisomas en que se detoxifica el  $H_2O_2$  llevándolo a dos moléculas de  $H_2O$  y  $O_2$  (19). Su actividad ha sido estudiada en diversas especies y muchos de los resultados para *Channa punctatus*, *Piaractus brachipomus* y *Oncorhynchus mykiss* han coincidido en el hecho de encontrar una depleción de la actividad cuando los ejemplares son expuestos a contaminantes en períodos agudos; no obstante, su inducción también ha sido observada en peces expuestos a vertientes de desechos industriales; es el caso de *Channa punctatus*, *Oreochromis niloticus* y *Cyprinus carpio* durante períodos crónicos de exposición (5, 7, 10, 11, 19).

La Gpx es una enzima citoplasmática que reacciona con el  $H_2O_2$  para reducirlo a  $H_2O$  y alcohol usando el GSH como agente re-

ductor. Sin embargo, altas concentraciones de  $H_2O_2$  se catalizan preferiblemente por la CAT. La actividad de esta enzima puede verse inducida por contaminantes ambientales. Esto se reportó en tejido hepático de *Channa punctatus* expuesta a desechos industriales. Se ha observado que, a medida que aumentan los niveles de contaminación, los niveles de esta enzima también son más altos; sin embargo órganos como riñón y branquias de la misma especie no respondieron de igual manera, lo cual demostró menor capacidad de dichos órganos en esta especie para neutralizar el impacto de los peróxidos y radicales libres generados por la contaminación (7).

La GR cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) usando el  $NADPH+H^+$  como donador de hidrógenos; por esta razón la glutatión reductasa es la responsable del mantenimiento de las concentraciones intracelulares del glutatión reducido (GSH). En estudios con *Oreochromis niloticus* se observó un descenso en la actividad de esta enzima cuando se realizaron muestreos de sitios contaminados (3). En exposiciones de *Cyprinus carpio* e *Ictalurus nebulosus* a diclorvos se encontró una inhibición de la GR en ambas especies directamente proporcional con la oxidación del GSH (20); dichos resultados concuerdan con los realizados con el mismo pesticida y el metabolismo del GSH en el que la administración de precursores del GSH favorecen directamente los niveles de la GR (11).

La GST es una familia de enzimas de la fase II de biotransformación. En peces como *Oncorhynchus kisutch* se ha reportado su función de catalizadora de reacciones de conjugación del GSH a xenobióticos electrofílicos y la reducción de hidroperóxidos (21, 22). Su uso como biomarcador de exposición a xenobióticos que generan estrés oxidativo ha sido reportado en *Oreochromis niloticus* y *Cyprinus carpio*, así como en

*Channa punctatus*, ya que la actividad inducida de esta enzima refleja el papel protector respecto a la detoxificación y excreción de xenobióticos y sus metabolitos (10).

#### **Antioxidantes no enzimáticos**

El glutatión, el ácido úrico y la bilirrubina son compuestos de bajo peso molecular sintetizados endógenamente; mientras que la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), la vitamina A ( $\beta$ -caroteno) y los flavonoides no son sintetizados en los peces y consecuentemente su presencia está directamente ligada con la dieta, lo cual supone que individuos herbívoros posean una mayor cantidad de vitamina E y  $\beta$ -caroteno (23, 24).

El GSH es un tripéptido ( $\gamma$ -L-glutamil-L-cisteinilglicina) muy importante en la defensa celular pues puede actuar como sustrato para algunas enzimas antioxidantes, como un atrapador independiente de radicales libres; manteniendo el estado reducido de los grupos tioles de las proteínas o participando en la detoxificación de muchos xenobióticos con centros electrofílicos (23, 24). Adicionalmente el GSH es capaz de recuperar la vitamina C, la cual a su vez es capaz de regenerar la vitamina E de su estado oxidado. Como consecuencia de dichas reacciones el GSH tiende a oxidarse a GSSG, el cual es reducido otra vez a GSH por medio de la enzima GR (21). En *Channa punctatus* sometidos a una exposición de deltametrina se ha observado un incremento en los niveles de GSH en tejidos como hígado, riñón y branquias después de 48 horas. Esto se ha explicado como un intento del organismo de compensar el ataque de xenobióticos que inducen estrés oxidativo (7, 10). Sumado a esto, Ahmad et ál. (7) evidenciaron igualmente un aumento en la concentración de GSH, la cual dependió del tiempo de exposición de *Channa punctatus* a desechos de la industria del papel.

La vitamina E intracelular convierte los radicales OH·, O<sub>2</sub><sup>-·</sup> y LOO· en formas menos reactivas, mientras la vitamina C de ubicación extracelular se encarga de atrapar OH· y O<sub>2</sub><sup>-·</sup>. La vitamina A y el β-caroteno son lipofílicos y atrapan O<sub>2</sub><sup>-·</sup> o reaccionan con radicales peroxilo (6, 10, 21, 24). Diversos estudios han reportado que, cuando las reservas enzimáticas se encuentran agotadas, mecanismos secundarios como la vitamina C previenen la reacción en cadena de oxidación. En peces como *Channa punctatus* se demostró que después de una exposición a un organofosforado los niveles de ácido ascórbico se incrementaron en hígado y riñón, aunque no en branquias (7). Sin embargo, respuestas contrarias se han visto en otros casos, como en *Brycon cephalus* expuesto a fenol durante 96 horas (25).

**DAÑO OXIDATIVO**

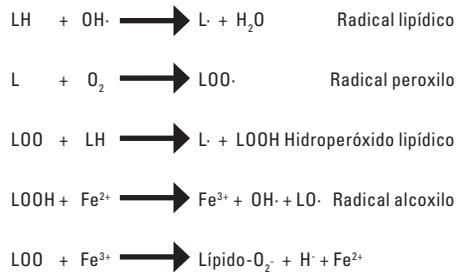
Dentro de las principales lesiones asociadas con el ataque de estos radicales se encuentra la oxidación de las membranas lipídicas (peroxidación lipídica), oxidación a proteínas, oxidación a ácidos nucleicos y alteración del estatus celular redox (17, 23).

**Peroxidación lipídica**

La peroxidación lipídica (LPO) se ha reportado como uno de los efectos de la acción tóxica de contaminantes ambientales (9), que conduce a pérdida de función celular bajo condiciones de estrés oxidativo (26). La peroxidación lipídica puede darse en los lípidos que se encuentran en la membrana celular, hecho que puede alterar la cohesión, fluidez, permeabilidad y función metabólica, además de conducir a una inestabilidad de la membrana y consecuente daño y muerte celular (26, 27).

La peroxidación lipídica proviene de una reacción en cadena cuyos productos secundarios son capaces de inactivar enzimas, reaccionar con grupos específicos de proteínas e incluso interactuar con el ADN

celular. Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) son un sustrato afín para la peroxidación lipídica y su susceptibilidad aumenta a medida que se eleva el número de enlaces insaturados. La peroxidación lipídica se inicia por la sustracción de un átomo de hidrógeno de un grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-) en el ácido graso poliinsaturado (LH) generando el radical lipídico (L·) (figura 5) (27). Posteriormente se genera un dieno conjugado que reacciona rápidamente con el O<sub>2</sub> para dar origen a un radical peroxilo (LOO·) (15) y se forma un hidroperóxido lipídico (LOOH) y un nuevo L· (figura 5) (27). Los hidroperóxidos lipídicos pueden reaccionar con algunos complejos de metales de transición para dar origen a los radicales alcoxilo (LO·). Adicionalmente el LOOH puede ser descompuesto en varias especies reactivas incluyendo aldehídos como el malondialdehído (MDA), alcanos, epóxidos lipídicos y alcoholes, la mayoría de los cuales son tóxicos y mutágenos activos (28). Los radicales peroxilo pueden reaccionar con compuestos de hierro (figura 5) y sustraer átomos de hidrógeno de otras fuentes como ADN y proteínas para formar nuevamente el producto primario de la oxidación y de esta manera perpetuar la reacción (27, 28).



**Figura 5.** Reacciones de peroxidación lipídica. Tomada de Fraga et ál. (18).

Una de las técnicas más comúnmente utilizadas en peces para medir los niveles de peroxidación lipídica es el empleo de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúri-

co (TBARS), que cuantifica los niveles de producción de malondialdehído (MDA). En *Catostomus comersoni* proveniente de diferentes partes de un río contaminado con descargas de la industria del papel se demostraron aumentos en los niveles de TBARS tanto hepático como gonadal. Dichos niveles aumentaban a medida que se tomaban muestras más cercanas a las descargas industriales y de la misma manera disminuían a medida que se alejaban de las mismas (29).

La inducción de la peroxidación lipídica se ha observado en peces expuestos a organofosforados como el clorpirifos en *Gambusia affinis* (30). El herbicida glifosato recientemente se ha identificado como un inductor de estrés oxidativo, causando peroxidación lipídica en *Ramdia quelea* (31). Igualmente se han encontrado efectos de peroxidación lipídica en cachama blanca (*Piaractus brachyomus*) y yamú (*Brycon amazonicus*) expuestos a una concentración subletal del herbicida comercial Roundup® (glifosato) (32). Insecticidas como el metilparation y el diazinon han sido estudiados como inductores de estrés oxidativo en *Oncorhynchus mykiss*, donde se ha evidenciado un aumento en los niveles de peroxidación lipídica medida como niveles de MDA (33).

### OXIDACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Las reacciones de oxidación de las proteínas resultan en la oxidación de las cadenas laterales de aminoácidos particularmente con grupos tiol (S) los cuales son transformados a disulfuros, ácido sulfenilico y ciertos aminoácidos aromáticos. Esto conduce a una alteración en su estructura y función como en los puentes de hidrógeno de la estructura secundaria de las proteínas (13).

El OH· puede remover protones de los grupos metileno de los aminoácidos llevando a la formación de carbonilos los cuales

tienden a ligar aminas de las proteínas o unirse covalentemente al ADN causando un entrecruzamiento. Los cofactores de las proteínas pueden también modificarse, como en el caso de la transferencia de electrones al hierro de la hemoglobina, lo cual determina el desarrollo de metahemoglobinemia (16, 30).

La inducción de grupos carbonilo como biomarcador de estrés oxidativo fue usada en estudios de laboratorio para determinar efectos tóxicos de tres pesticidas: deltametrina, endosulfán y paraquat en *Channa punctatus*. Las mediciones, realizadas en branquias, hígado y riñón, evidenciaron que desde las 48 horas y durante 28 días de exposición hubo una inducción en todos los tejidos, aunque una inducción más pronunciada se observó durante periodos agudos. En el mismo estudio se identificó a las branquias como el órgano más sensible a sufrir daño oxidativo. Lo anterior sugiere que la medida de grupos carbonilo puede ser una técnica conveniente para detectar y cuantificar modificaciones oxidativas de las proteínas durante el estrés oxidativo. La inducción de la formación de grupos carbonilo de las proteínas en peces es identificada como un potencial biomarcador de estrés oxidativo que permite su aplicación en diversas investigaciones (34).

### Oxidación de ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos son moléculas ricas en electrones que pueden unirse covalentemente a contaminantes electrofílicos conduciendo a la oxidación y fragmentación de desoxirribosas, ruptura y entrecruzamiento de las cadenas de ADN y modificación de las bases nitrogenadas (sitios apurínicos) (13). La más importante modificación del ADN después del ataque por radicales libres y más usado como biomarcador de estrés oxidativo y genotoxicidad en el organismo vivo es el 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina

(8-OHdG) (producto de la hidroxilación de la guanosina) (13, 16).

La *Anguilla anguilla* fue expuesta a cromo para comprobar la capacidad oxidante y genotóxica de dicho metal. En el estudio se evaluó actividad de enzimas antioxidantes, niveles de peroxidación lipídica y rompimiento de las cadenas de ADN. El rompimiento de dicha cadena se pudo evidenciar con las mayores concentraciones del tóxico y se encontró una correlación con bajos niveles de GSH; sin embargo, fue inversamente proporcional a la inducción de las enzimas antioxidantes (35). Considerando la evidencia de que en estudios anteriores pesticidas como el paraquat y el 2,4 D son inductores de estrés oxidativo, Martínez-Tabche et ál. (36) decidieron encontrar la relación de la presentación del estrés oxidativo con la inducción de genotoxicidad en branquias de *Oncorhynchus mykiss* por exposición a dichos pesticidas. Para este estudio se utilizó el ensayo del cometa para determinar el nivel de daño en las cadenas de ADN; la conclusión fue que el daño en las cadenas de ADN se presentó con los dos tipos de pesticida y que dependió tanto de la concentración del pesticida como del tiempo de exposición; además se encontró una relación directa con los niveles de peroxidación lipídica y el daño al ADN; se concluyó que el daño en la molécula de ADN fue determinado por la producción de radicales libres.

Muchos autores coinciden en que la respuesta al estrés oxidativo manifestada por los peces depende de la especie. En diversos estudios se ha demostrado una relación inversamente proporcional entre la inducción en los niveles de las enzimas antioxidantes y los niveles de peroxidación lipídica. Sin embargo, un ejemplo contrario es reportado por un estudio hecho en *Leporinus obtusidens* que fue expuesto a cuatro tipos de herbicidas usados comúnmente en cultivos de arroz, en el cual hubo un aumento en los

niveles de TBARS concomitante con incremento en los niveles de actividad CAT (37).

El efecto tóxico del paraquat, reconocido ampliamente por su capacidad de inducir estrés oxidativo, ha sido relacionado con el aumento en la producción de radicales libres en el organismo como el anión superóxido y especies reactivas de oxígeno como el peróxido de hidrógeno. En estudios realizados en *Oncorhynchus mykiss* y *Channa punctatus*, expuestos a concentraciones subletales de paraquat por periodos agudos, se demostró que la respuesta exhibida con respecto a su actividad antioxidante es órgano-dependiente al comparar órganos como hígado y riñón (36, 38).

## CONCLUSIONES

El estrés oxidativo comprende un importante aspecto de la toxicología por lo que ha recibido una especial atención en los últimos años. Diversas investigaciones se han centrado en estudiar los diferentes aspectos relacionados con el estrés oxidativo, entre los que se incluyen los mecanismos por los cuales se produce daño a nivel celular y bioquímico así como los mecanismos de defensa que exhibe el organismo ante este ataque. Se ha encontrado una gran significancia ecológica al proceso de estrés oxidativo particularmente relacionado con diferentes tipos de contaminantes ambientales como los pesticidas que ingresan al agua y causan efectos en los organismos acuáticos. Se ha hallado que los peces son organismos sensibles ante los cambios provocados por agentes inductores de estrés oxidativo. El entendimiento de los mecanismos por los cuales el estrés oxidativo genera sus efectos es un tema de gran importancia al momento de identificar posibles biomarcadores que indiquen los efectos de la exposición de los organismos acuáticos ante contaminantes. Los efectos agudos de estrés oxidativo pueden servir como una señal de alarma de

exposiciones tempranas al contaminante y de las posibles consecuencias que se relacionan con daños celulares posteriores.

## REFERENCIAS

- Livingstone DR. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue Méd. Vét.* 2003; 154(6):427-30.
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2006; 64:178-189.
- Dias Bainy AC. Oxidative stress as a biomarker of polluted aquatic sites. In: *Physiology and biochemistry of fishes of the amazon*. Edited by AL Val, MF Almeida-Val and DJ Randall. 1996; 331-34.
- Storey KB. Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1996; 29:1715-1733.
- Ferreira M, Moradas-Ferreira P, Reis-Henriques MA. Oxidative stress biomarkers in two resident species, mullet (*Mugil cephalus*) and flounder (*Platichthys flesus*), from a polluted site in River Douro Estuary, Portugal. *Aquatic Toxicology* 2005; 71:39-48.
- Kelly SA, Havrilla CM, Brady TC, Abramo KH, Levin ED. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems environmental health perspectives; 1998. p. 106-7.
- Ahmad I, Hamid T, Fatima M, Chand HS, Jain SK, Athar M, Raisuddin S. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000; 1523:37-48.
- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit* 2004; 10(6):141-47. Banerjee BD, Seth V, Ahmed RS. Pesticide-induced oxidative stress: perspectives and trends. *Rev Environ Health* 2001; 16(1):1-40.
- Sayeed I, Parvez S, Pandey S, Bin-Hafeez, Haque R, Raisuddin S. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicology Environmental Safety* 2003; 56:295-301.
- Dorval J, Hontela A. Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology and Applied Pharmacology* 2003; 192:191-200.
- Livingston DR. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin* 2001; 42(8):656-66.
- Peña S. Estudios y modulación del metabolismo del glutatión en la tolerancia al estrés oxidativo generado por plaguicidas en organismos acuáticos de interés comercial. Tesis doctoral, Universidad de Valencia, Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal. 2002. p. 17-28.
- Reed DJ. Toxicity of oxygen. Molecular and cellular mechanisms of toxicity. Editores: Francesco De Matters, Lewis L. Smith. CRC Press; 1995. p. 35-50.
- Schlenk D. General mechanism of toxicity. Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts. Volume 2. Systems. Daniel Schleak, William H. Benfor Taylor & Francis. New York; 2001. p. 7-15.
- Di Giulio RT, Benson WH, Sanders BM, Van Veld PA. Biochemical mechanisms: metabolism, adaptation, and toxicity. In: Rand G, editor. *Fundamentals of aquatic toxicology, effects, environmental fate, and risk assessment*. London: Taylor & Francis; 1995. p. 523-61.
- Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk. *Assessment Environmental Toxicology and Pharmacology* 2003; 13:57-149.
- Fraga CG, Cavanagh E, Carrasquedo F, Lotiti, Lucesoli F, Oteiza P. Antioxidants defenses and mechanisms of protection against

- oxygen radicals. In: Physiology and biochemistry of fishes of the amazon. Edited by AL Val, MF Almeida-Val and DJ Randall; 1996. p. 323-30.
18. Pedrajas J, Peinado J, López-Barea J. Oxidative stress in fish exposed to model xenobiotics. Oxidatively modified forms of Cu-Zn superoxide dismutase as potential biomarkers. *Chemic-biological interactions* 1995; 98:267-282.
  19. Hai DQ, Varga I, Matkovic. Organofosphate effects on antioxidants system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comp Biochem Physiol* 1997; 117C(1):83-8.
  20. Ozcan Oruc E, Sevgiler Y, Uner N. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 2004; 137:43-51.
  21. Trute M, Gallis B, Doneanu C, Shaffer S, Goodlett D, Gallagher E. Characterization of hepatic glutathione *S*-transferases in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquatic Toxicology* 2007; 81:126-36.
  22. Peña-Llopis S, Ferrando DM, Peña JB. 2003. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology* 2003; 65:337-60.
  23. Marcon JL, Filho DW. Antioxidant processes of the wild tambaqui, *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, serrasalmidae) from the Amazon. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1999; Part C(123):257-63.
  24. Avilez IM, Fernandes TS, de Almeida LC, Hackbarth A, da Cunha J, Neto, Freire VL, Moraes G. Effects of phenol in antioxidant metabolism in matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 2008; Part C(148):136-42.
  25. Oakes KD, McMaster ME, Pryce AC, Mun-Kittrick KR, Portt CB, Hewitt LM, MacLean D, Van Der Kraak GJ. Oxidative stress and bioindicators of reproductive function in pulp and paper mill effluent exposed in white sucker. *Toxicology Science* 2003; 74:51-65.
  26. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2005; 15:316-28.
  27. Zaman K, Pardini R. An overview of the relationship between oxidative stress and mercury and arsenic. *Toxic Substance Mechanisms* 1996; 15:151-81.
  28. Oakes KD, Glen J, Van Der Kraak GJ. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology* 2003; 63:447-63.
  29. Kavitha P, Venkateswara Rao J. Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2008; 26:192-98.
  30. Gluszczak L, dos Santos Miron D, Moraes BS, Rodrigues SR, Chitolina SMR, Morsch VM, Loro VL. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 2007; Part C(146): 519-24.
  31. Ochoa DM, González JF. Oxidative stress and changes in plasma transaminases in juveniles of white cachama (*Piaractus brachypomus*) and yamú (*Brycon amazonicus*) acutely exposed to sublethal concentrations of glyphosate (Roundup®). En prensa.
  32. Isik I, Celik I. Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2008; 92:38-42.
  33. Parvez S, Raisuddin S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *Environmental*

- Toxicology and Pharmacology 2005; 20:112-17.
34. Ahmad VLM, Oliveira M, Pacheco M, Santos MA. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to naphthoflavone. Mutation Research 2006; 608:16-28.
  35. Martínez-Tabche L, Madrigal-Bujaidar E, Negrete T. Genotoxicity and lipoperoxidation produced by Paraquat and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*). Bulletin Environmental Contamination Toxicology 2004; 73:146-52.
  36. Moraes BS, Loro VL, Gluszcak L, Pretto A, Menezes C, Marchezan E, de Oliveira Machado S. Effects of four rice herbicides on some metabolic and toxicology parameters of teleost fish (*Leporinus obtusidens*) Chemosphere 2007; 68:1597-1601.
  37. Parvez S, Raisuddin S. Effects of Paraquat on the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch): non-enzymatic antioxidants as biomarkers of exposure arch. Environmental Contamination Toxicology 2006; 50:392-97.
  38. Martínez Cayuela M. Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. Ars Pharmaceutica 1998; 39(1): 5-18.