

“Estudio inmunohistoquímico de proliferación de células Na^+/K^+ ATPasa inmunorreactivas en branquias de *Prochilodus lineatus* (sábalo), de diferentes ambientes.”

Pastor, R.; Sbodio O.; Galván, M.; Espíndola, B.

Universidad Nacional del Litoral - Facultad de Ciencias Veterinarias – Departamento de Anatomía e Histología

Introducción

La utilización de organismos vivos como indicadores del impacto ambiental se ha desarrollado enormemente en los últimos años. Los peces presentes en los cuerpos de agua, experimentan gran variedad de mecanismos de adaptación, siendo utilizados como organismos indicadores del estado del estrés ambiental³.

En este sentido *Prochilodus lineatus* (sábalo), es un pez distribuido por toda la Cuenca del Plata. Sus hábitos alimentarios son estrictamente iliófagos, por lo tanto consume barro del sedimento y con él microorganismos, transformando la materia orgánica en biomasa disponible para los niveles superiores de la red trófica acuática, por lo que tiene un importante rol en el ecosistema acuícola, de esta Cuenca. Para este estudio se eligieron las branquias, por su importancia funcional, ya que participa en la respiración, en la osmorregulación y por ser considerado órgano de choque. Estas, están formadas por un arco branquial, del cual parten los filamentos branquiales y dando origen a su vez a las laminillas branquiales. Varios tipos celulares se extienden sobre la superficie de los filamentos, siendo motivo de este estudio las células ricas en mitocondrias (CRM) o ionocitos, estando ubicadas en la base y en el espacio interlamelar, son de forma ovoidea o redondeada, poseen abundantes mitocodrias y un amplio sistema tubular intracitoplasmático e intervienen en la electrosmorregulación⁴. La Na^+/K^+ ATPasa es una proteína que se expresa en dichas células.

La aplicación de estudios inmunohistoquímicos representa una herramienta útil para evaluar posibles cambios en los tejidos de las branquias, proporcionándonos información acerca de los posibles efectos de las sustancias poluentes y permitiendo la definición y análisis de biomarcadores³. El objetivo del presente trabajo fue comparar la proliferación de células Na^+/K^+ atpasa inmunorreactivas de las branquias de *Prochilodus lineatus* de las cuencas del Río Salado y Río Paraná, mediante inmunohistoquímica, procurando identificar diferencias atribuibles a cambios en su medio ambiente

Metodología

Se trabajó con muestras de 20 peces, 10 muestras obtenidas en la Cuenca del río Salado en el departamento Las Colonias (Provincia de Santa Fe) y las 10 restantes fueron tomadas en el río Paraná 50Km aguas arriba de la ciudad de Paraná (Provincia de Entre Ríos), durante el invierno del año 2010. Las piezas se enmarcaron dentro del Reglamento de Pesca dispuesto por la Subsecretaría de Medio Ambiente y Ecología de la Provincia de Santa Fe. Las muestras obtenidas se fijaron en formol bufferado al 10% durante 12 hs. a temperatura ambiente, lavándose luego con buffer fosfato salino (PBS) y procesándose siguiendo protocolos de rutina para efectuar la inclusión en parafina (Woods y Ellis, 1994). Sobre los cortes de 3 μm de espesor, se realizó la técnica de inmunohistoquímica indirecta, utilizando un anticuerpo contra Na^+/K^+ ATPasa ($\alpha 5$ -DSHB). Los resultados fueron evidenciados mediante análisis digital de imágenes; éstas fueron generadas con un microscopio Olympus CH2 y digitalizadas mediante una cámara SONY CCD-IRIS conectada a una PC de escritorio. La evaluación histomorfométrica se realizó con un analizador digital de imágenes (IMAGE PRO PLUS 3.0.1), evaluando los resultados a través del test de t de Student.

Resultados

Mediante la técnica de Na^+/K^+ ATPasa se pudo evidenciar marcación de membrana en las células ricas en mitocondrias (CRM), en los peces de ambos sitios; siendo el promedio de los % de células inmunorreactivas para los peces del río Salado de 77,83 +/- 5,78%, con respecto a los peces del río Paraná, que fue de 24,51 +/- 7,06%. El análisis estadístico mostró que el % de células inmunoreactivas fue en los peces del río Salado significativamente mayor ($p < 0,05$) que el hallado en los peces del río Paraná.

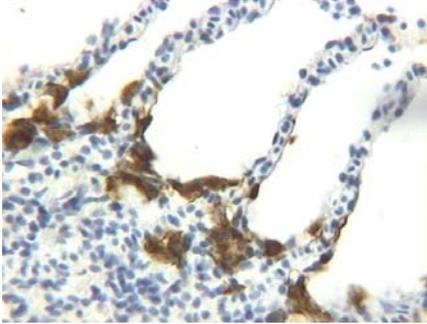


Fig.1: branquias: inmunomarcación para Na^+/K^+ atpasa. Río Salado x40.

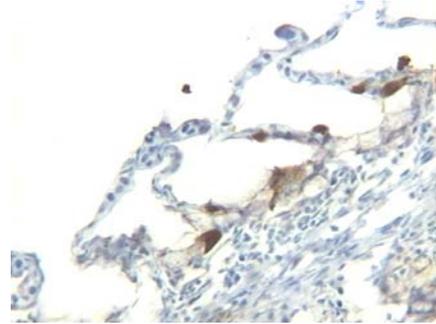


Fig.1: branquias: inmunomarcación para Na^+/K^+ atpasa. Río Paraná x40.

Conclusiones

Esta técnica nos permitió observar las diferencias en la expresión de la proteína estudiada en peces de diferentes ambientes. En este sentido, las diferencias en la inmunoreactividad en peces de dos ambientes acuáticos diferentes, podrían relacionarse con alteraciones en el medio en el que habitan, provocando modificaciones en la cinética de las células ricas en mitocondrias (CRM) aumentando su número en los peces del río Salado¹⁻². Estos resultados preliminares nos ayudarían a establecer posibles variables a analizar en esta especie que nos permitan su utilización como bioindicador de contaminación ambiental.

Referencias bibliográficas

- 1- Dang Z.; Lock, R. A. C; Flik, G. & S. E. Wendelaar Bonga. 2000. Na^+/K^+ -ATPase Immunoreactivity in branquial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to cooper. J. Exp. Biol. 203: 379-387.
- 2- Pastor R.; Sbodio O.; Galván S.; Rossini M.; García Cervera, M.L 2009. "Inmunoexpresión de Na^+/K^+ ATPasa en branquias de *Pimelodus albicans* de las cuencas del Río Salado y Paraná". Rev. Nat. Neotrop. Vol. 40:1-2.
- 3- Rendón von Osten, J. 2005. Uso de biomarcadores en ecosistemas acuáticos, p. 121-140. En: A.V. Botello, J. Rendón von Osten, G. Gold- Bouchot y C. Agraz- Hernández (Eds.). Golfo de México Contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias, 2da. edición. Univ. Autón. de Campeche, Univ. Nac. Autón. de México Instituto Nacional de Ecología, p. 696.
- 4- Vigliano, F.A; Alemañ, N.; Quiroga, M.I.; Nieto, J.M. (2006a). Ultrastructural characterization of gills in juveniles of the Argentinian silverside, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atheriniformes). Anat. Histol. Embriol. 35: 76-83.