



**Cepas transgénicas de *Caenorhabditis elegans*
TJ 356 y VC 128 como biomarcadores ambientales de toxicidad
por la presencia de metales pesados en fuentes hídricas**

Lizeth Dayann Márquez Díaz

Erika Meneses Marin

Yeimy Yisseth Moreno Guerrero

Asesora interna

Ruth Melida Sanchez Mora

Ph.D. en Biotecnología

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Bacteriología y Laboratorio Clínico

Bogotá D.C 2021

Marco Teórico

Metales pesados



Elementos químicos de alta densidad



Tóxicos para la salud humana y el medio ambiente.



Bioacumulables

Pb, Cr, Cd, Zn, Hg, As, Sn, Ni, Co



Río Ocoa, río Guatiquía, río Coello, río Algodonal, Caño Grande, río Magdalena, río Bogotá y el río Medellín.



Figura 1



Tiempo

Dosis

Duración

Frecuencia de exposición

Marco Teórico

Se ha propuesto el uso de las cepas TJ 356 y VC 128 de *Caenorhabditis elegans* como biomarcador ambiental para evaluar toxicidad por la presencia de metales pesados.



Normativa internacional ISO
10872:2010



Determinación del efecto tóxico de muestras de sedimentos y suelos sobre el crecimiento, la fertilidad y la reproducción de *Caenorhabditis elegans*.



Caenorhabditis elegans

Primer organismo multicelular en ser secuenciado genéticamente por completo

60 - 80%

Similitud a nivel fisiológico y genético



Estructura bilateral simétrica, cuerpo cilíndrico tubular, vermiforme.

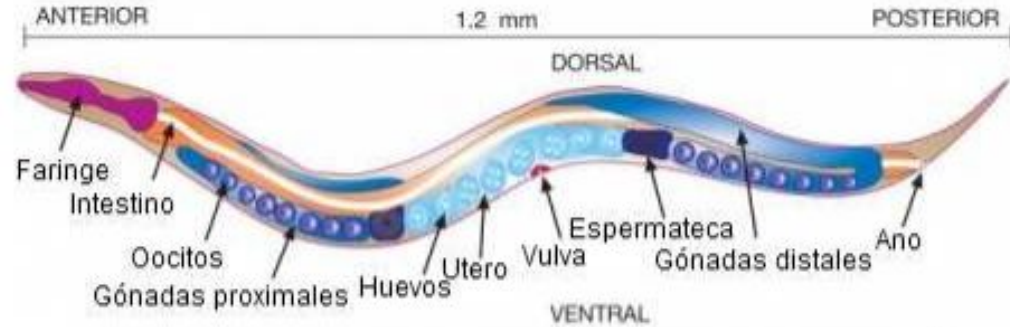


Fig 2

Ciclo de Vida

Tiempo de desarrollo:
3 a 4 días

Estadios larvales:
L1, L2, L3, L4

Fase embrionaria:
14 horas

Fase Post-embrionaria:
46 horas

Temperatura óptima:
16 a 25 °C

Caenorhabditis elegans

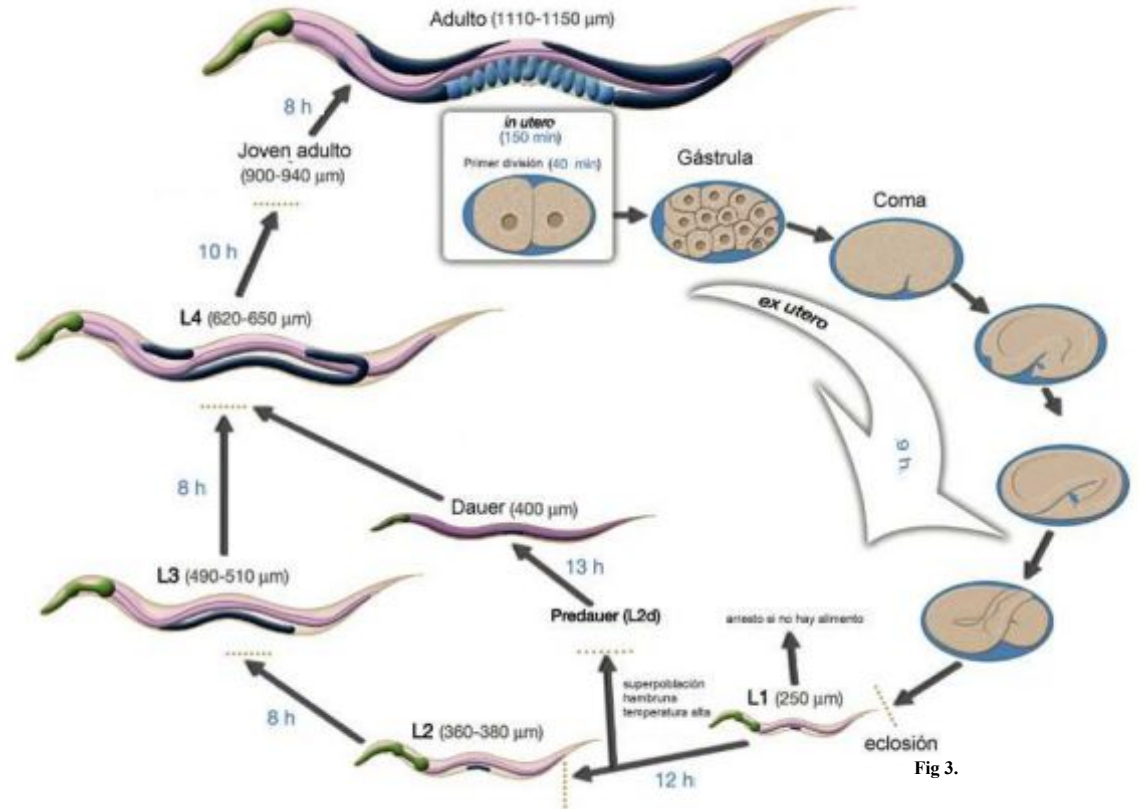


Fig 3.

Transgénesis



Permite la construcción de nuevas combinaciones de material genético mediante la inserción de un fragmento de ADN de interés en un vector que permita su replicación y expresión en las células de un organismo.

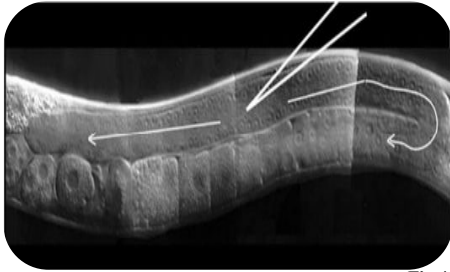


Transgénesis

Microinyección de ADN



Fragmentos de ADN ó plásmidos



Gónada distal u ovocito de *C. elegans*



3-6 líneas germinales en 7 a 10 días

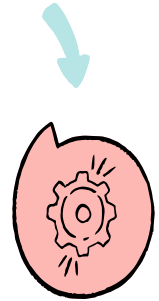
Bombardeo de micropartículas



Fig 5



Micropartículas de oro recubiertas con el ADN



Cepas transgénicas integradas estables

Objetivos



General

Realizar una revisión bibliográfica del uso de las cepas transgénicas TJ 356 y VC 128 de *C. elegans* como biomarcadores de toxicidad por la presencia de metales pesados en fuentes hídricas.



Objetivos



Específicos



Identificar las causas de la contaminación en fuentes hídricas por metales pesados.



Revisar estudios previos que evidencian la presencia de metales pesados en algunas fuentes hídricas de Colombia y su impacto en la salud.



Identificar por literatura el tipo de muestra ideal a usar en futuros ensayos con *C. elegans* para el análisis de metales pesados en fuentes hídricas.



Describir estudios relacionados a la evaluación de metales pesados en las cepas transgénicas TJ 356 y VC 128 de *C. elegans* como biomarcadores ambientales frente a la presencia de metales pesados en fuentes hídricas.

Antecedentes



Fig 6.

2010

La calidad de los ríos se refleja directamente en los sedimentos.

Menzel R.

Suelos agrícolas pueden estar contaminados dependiendo del origen del agua de riego.

Silva R.

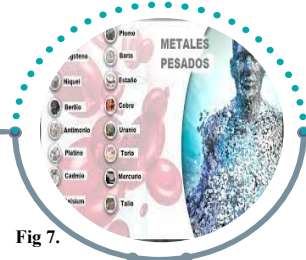


Fig 7.

2012

El ser humano se encuentra expuesto a diversos metales pesados que pueden ser perjudiciales para la salud.

Hall J.



Fig 8.

2014

Es recomendable incluir un indicador animal para complementar el análisis de aguas superficiales naturales.

Kronberg F.

Las MT son estimuladas frente a la exposición a metales pesados siendo actores clave en la protección contra la toxicidad.

Polak N.

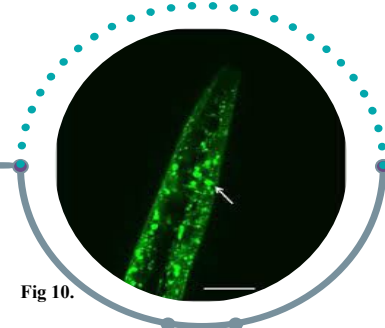
Antecedentes



2016

C. elegans en el río Magdalena de Colombia para evaluar la presencia de sustancias tóxicas.

Tejada L.



2019

Problemática de contaminación por metales pesados a causa de la extracción de material de arrastre.

Garzón E et al.

Metodología

→ Elaboración de bases de datos y análisis de la información

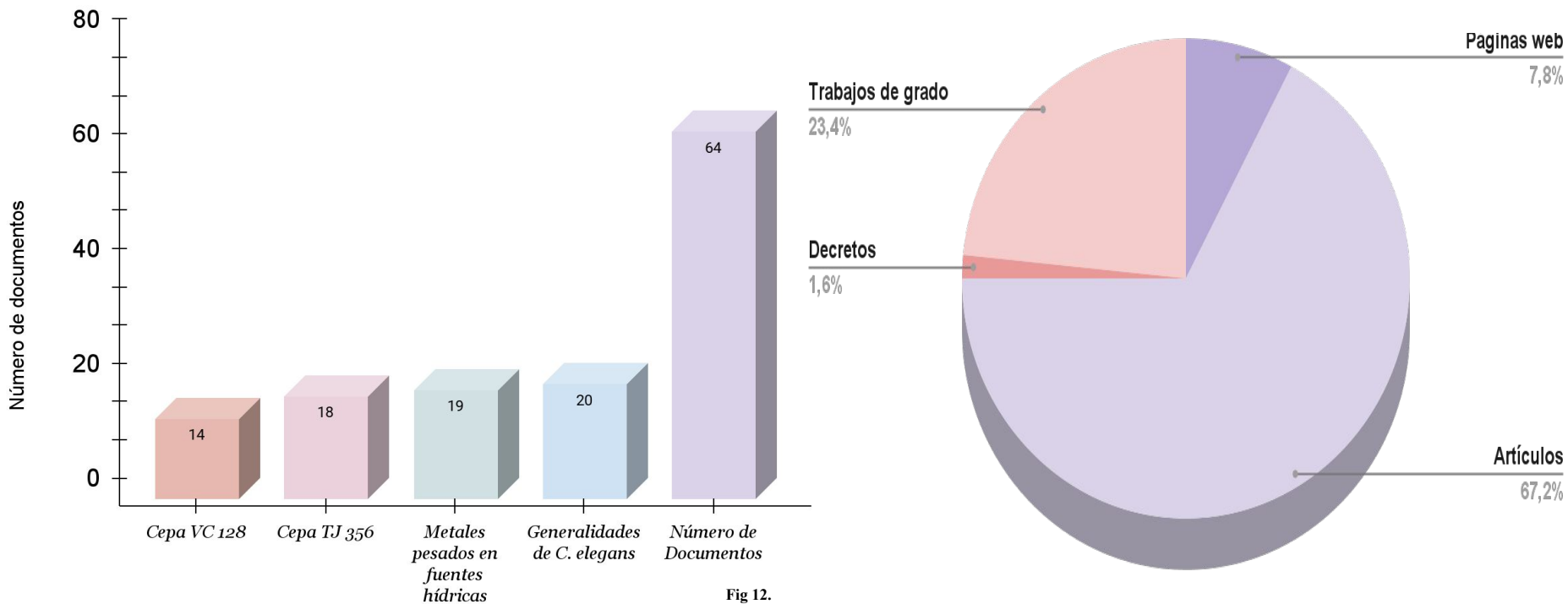
	A	B	C	D	E	F	G	H
1		Autores (maximo 6, et al)	Titulo	Revista. [internet]	Año de publicación	[citado año mes día]	Disponible en / Available in	Referencias
2	1	Stiernagle T.	Maintenance of <i>C. elegans</i> . WormBook	WormBook, ed. The <i>C. elegans</i> Research Community.	2005	[cited September 18 2020]	doi/10.18955/wormbook.1.7.1 , http://www.wormbook.org , http://www.wormbook.org/chapters/www_strainmaintain/strainmaintain.pdf	WormBook [internet] ed. The <i>C. elegans</i> Research Community. [internet] 2005 [cited 24 Oct 2020]. Available in: http://www.wormbook.org/chapters/www_strainmaintain.html
3	2	Nass R, Hanza I	The nematode <i>C. elegans</i> as an animal model to explore toxicology in vivo: solid and axenic growth culture conditions and compound exposure parameters	Current Protocols in Toxicology	2007	[September 23 2020]	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20922756/	Nass R, Hanza I The nematode <i>C. elegans</i> as an animal model to explore toxicology in vivo: solid and axenic growth culture conditions and compound exposure parameters. Current Protocols in Toxicology [Internet] 2007 [cited September 23 2020]. Available in: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20922756/
4	3	Rieckher M, Kouritis N, Pasparaki A, Tavemarakis N	Transgénesis en <i>Caenorhabditis elegans</i>	Methods Mol Biol	2009	[cited September 18 2020]	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19304062/	Rieckher M, Kouritis N, Pasparaki A, Tavemarakis N. Transgénesis en <i>Caenorhabditis elegans</i> . Methods Mol Biol [internet] 2009. [cited September 18 2020]. Available in: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19304062/

Fig 11.

Pubmed, Scielo, Science, national center biotechnology information, NCBI, Wormbase, BioMed Central Genomics, Springer, Science, Business y PLOS ONE.

Resultados

➔ Elaboración de bases de datos y análisis de la información



Resultados

→ Elaboración de bases de datos y análisis de la información

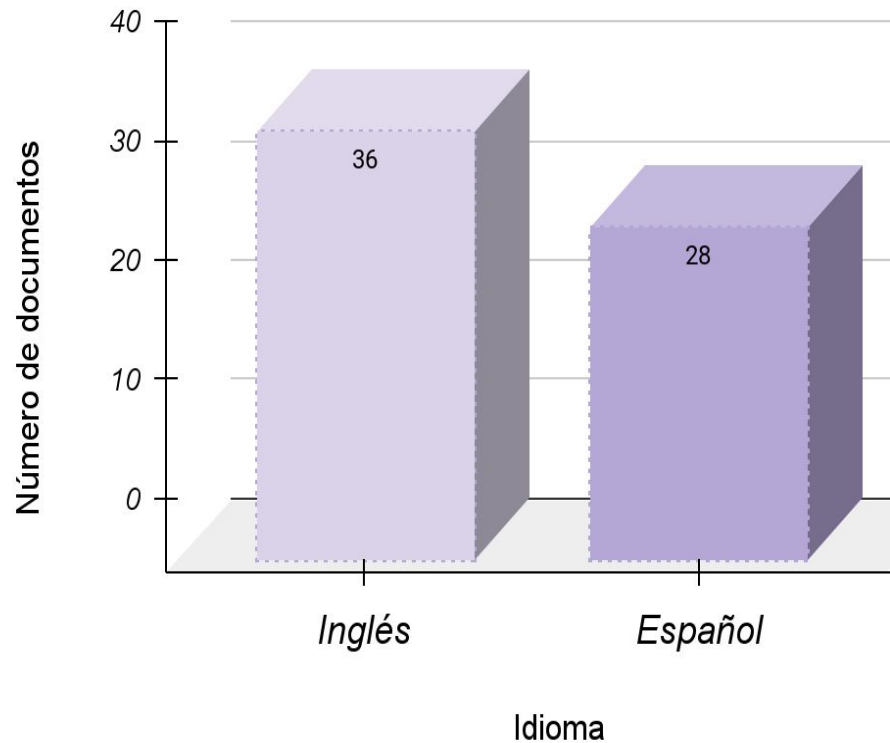
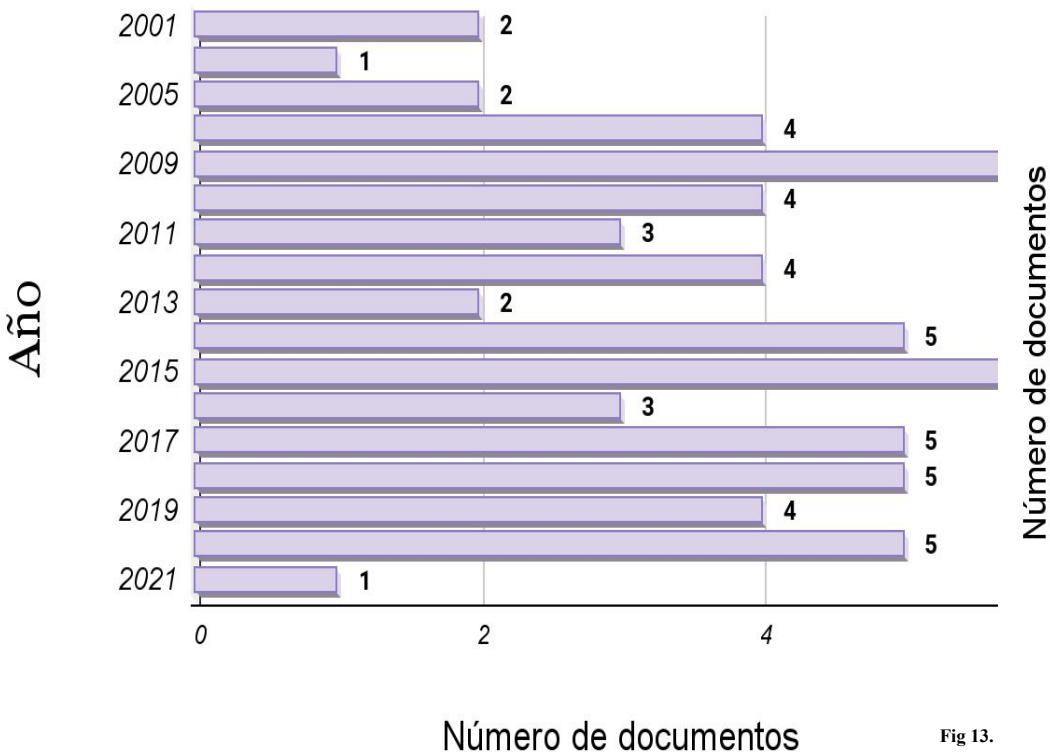


Fig 13.

Resultados



→ Fuentes hídricas contaminadas en Colombia



Fig 14.

Río Ocoa

Villavicencio, Meta.
contaminantes: Pb, Ni, Cr.



Fig 15.

Caño Grande

Villavicencio. Contaminación:
Aguas residuales y materia
orgánica .



Fig 16.

Río Guatiquía

Nace en el páramo de chingaza
hasta desembocar en el río Meta
contaminantes: fertilizantes,
agroquímicos, residuos de
extracción .

Resultados



→ Fuentes hídricas contaminadas en Colombia



Fig 17.

Río Coello

Nace en el nevado del Tolima desemboca en el río Magdalena contaminantes: Aceite quemado, derrames involuntarios de combustible, material particulado



Fig 18.

Río Magdalena

Nace en el Suroriente de Colombia, contaminación: metales pesados Cd y Pb, vertimientos, agroquímicos, pesticidas, fertilizantes.



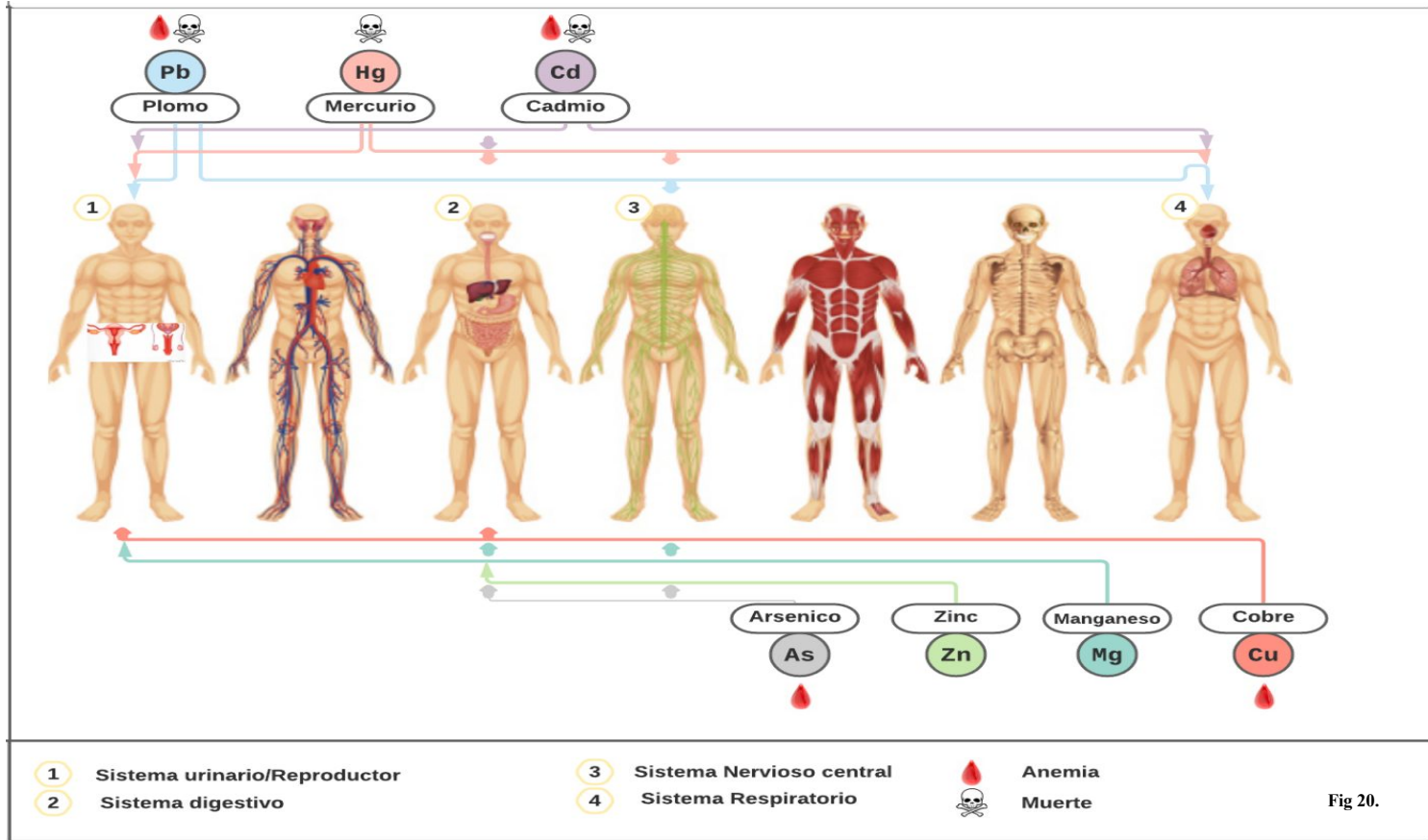
Fig 19.

Río Algodonal

Norte de Santander. contaminantes: Gases y material particulado derrame de aceites, aceite combustible para motores ACPM.

Resultados

→ ¿Cómo influyen los metales pesados en la salud ?



Resultados

→ Tipo de muestra de preferencia para la evaluación de la presencia de metales en fuentes hídricas



En las muestras de sedimentos los metales pesados suelen concentrarse más.



Debido a la adsorción, coprecipitación y complejidad de los metales pesados

Rosas H.2005

Tejada L, Oliveros J. 2016

Metal pesado	Relación química de la materia orgánica con el metal pesado (sedimento)
Mercurio	Excelente
Cobre	Excelente
Plomo	Buena
Cromo	Buena
Níquel	Buena
Zinc	Buena
Cadmio	Aceptable
Arsénico	Aceptable

Tabla 1. Relación química de los sedimentos con metales pesados. Construcción propia. Marquez L, Meneses E, Moreno Y.

Resultados

→ Ventajas de *C. elegans* como biomarcador ambiental

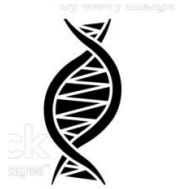


Cepas transgénicas
TJ 356 y VC 128

Nass R et al. 2007
Clavijo et al. 2016

Ventajas

- Genoma bien caracterizado
- Facilidad en su mantenimiento y corto ciclo de vida
- Sensibilidad y especificidad
- Ensayos económicos y sencillos
- Longevidad, longitud del cuerpo, reproducción y estrés térmico
- Alerta temprana de riesgos ambientales.



Resultados

→ Características de la cepa TJ356 de *C. elegans*

→ Cepa transgénica

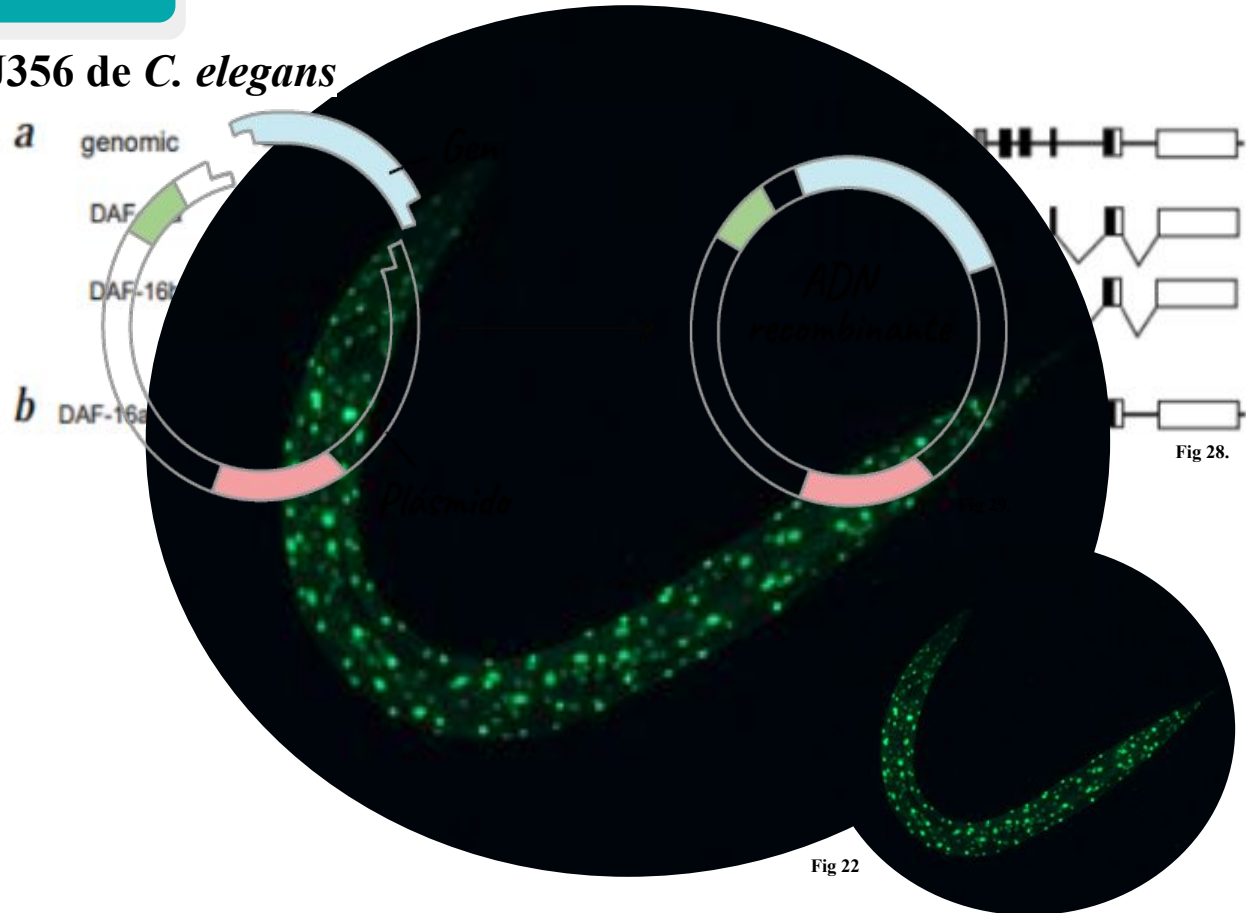
→ Modificada genéticamente

→ Microinyección de ADN

→ Plasmido PGP30

→ Factor de transcripción Daf-16

→ Daf-16::GFP



Resultados

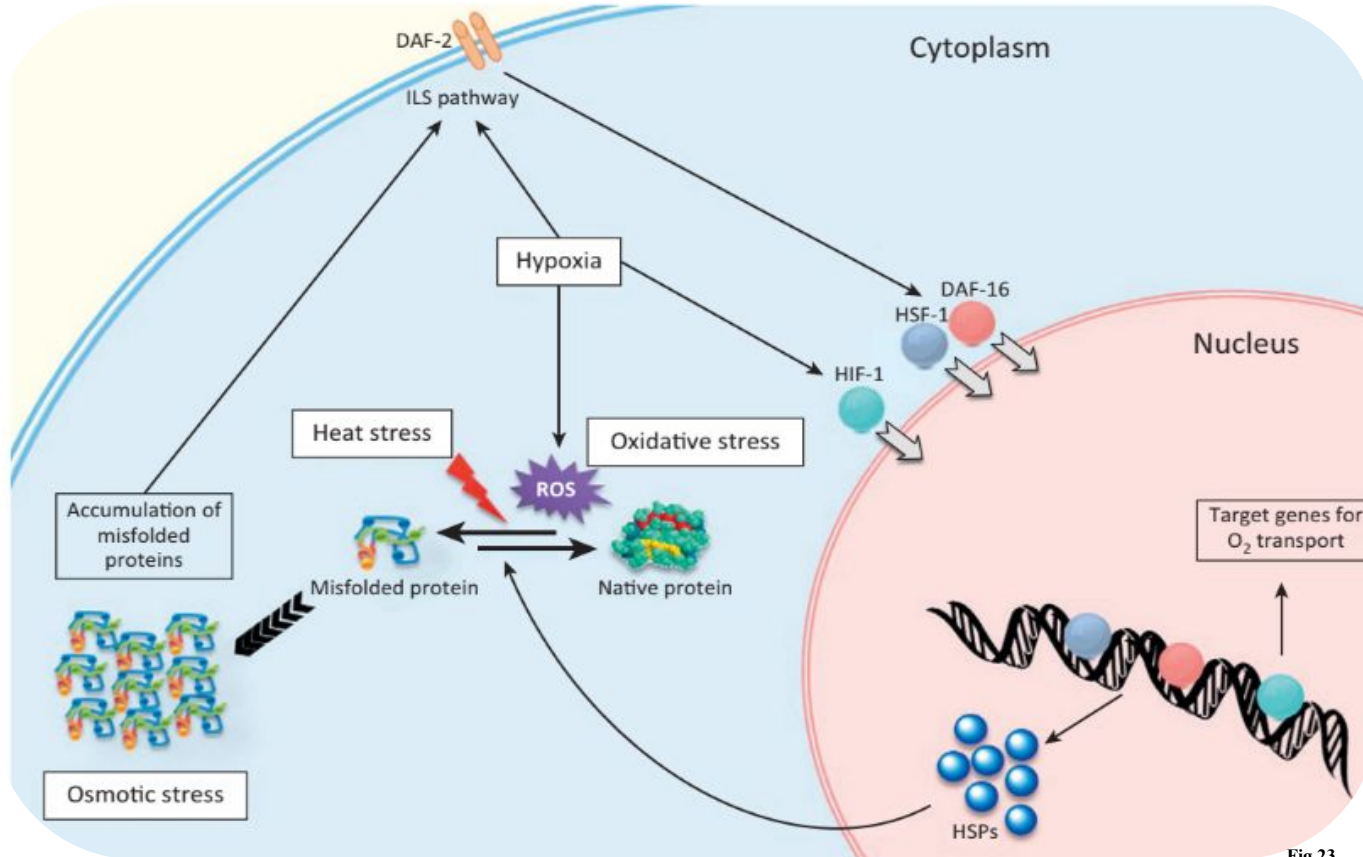


Fig 23.

Resultados

→ **Importancia de Daf-16::GFP en la evaluación toxicológica de la presencia de metales pesados en fuentes hídricas**

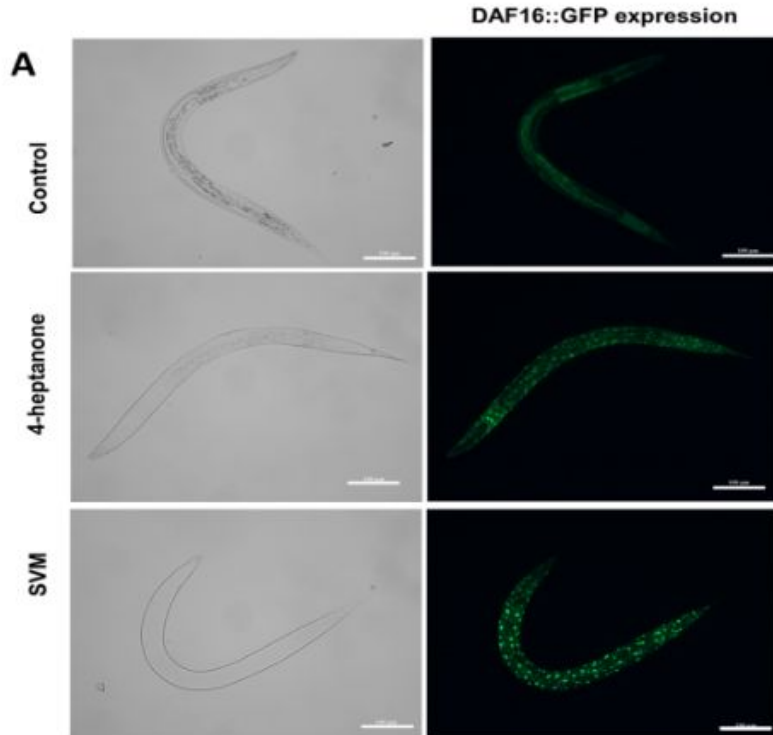


Fig 24.



Compuestos volátiles:

- 3-metil-1-butanol
- 2-metil-1-butanol,
- 4-heptanona
- Acetato de isoamilo

Resultados

→ **Importancia de Daf-16::GFP en la evaluación toxicológica de la presencia de metales pesados en fuentes hídricas**



Los parabenos se han detectado en aguas residuales, ríos y aguas superficiales

MeP: Metilparabeno
EtP: Etilparabeno
PrP: Propilparabeno
BuP: Butilparabeno

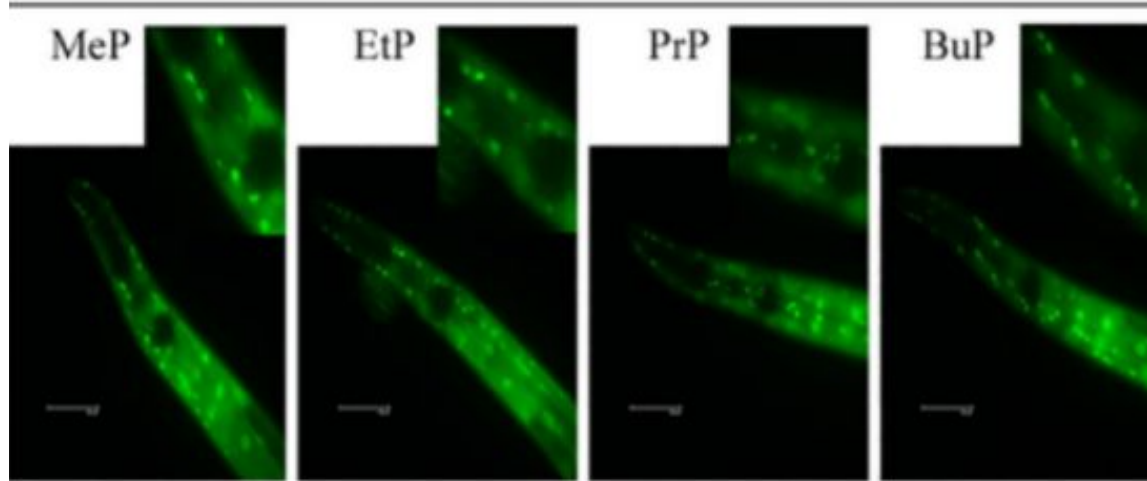


Fig 25.

Resultados

→ **Importancia de Daf-16::GFP en la evaluación toxicológica de la presencia de metales pesados en fuentes hídricas**

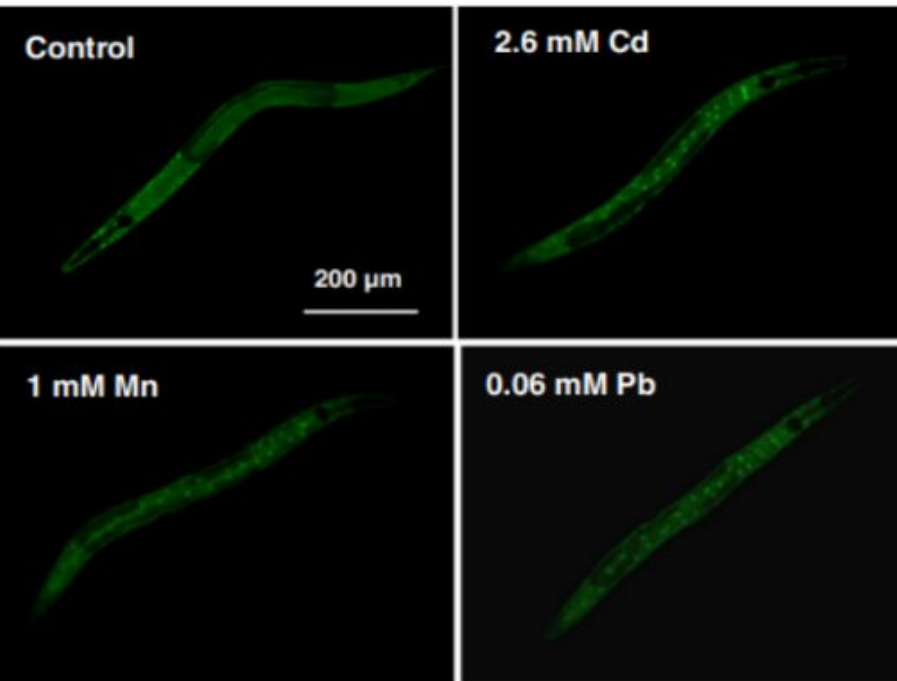


Fig 26

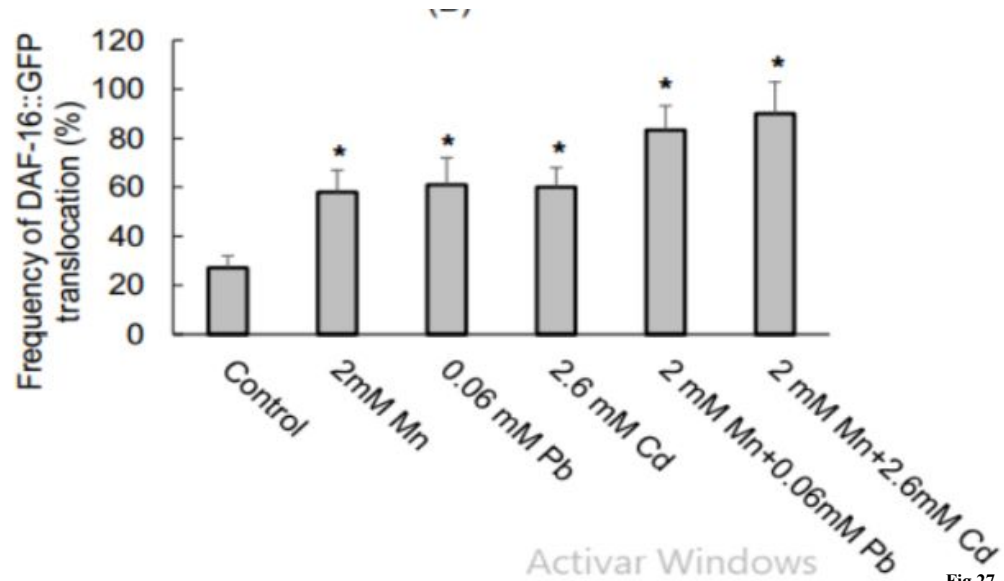


Fig 27

Resultados

→ Características de la cepa VC 128 de *C. elegans*

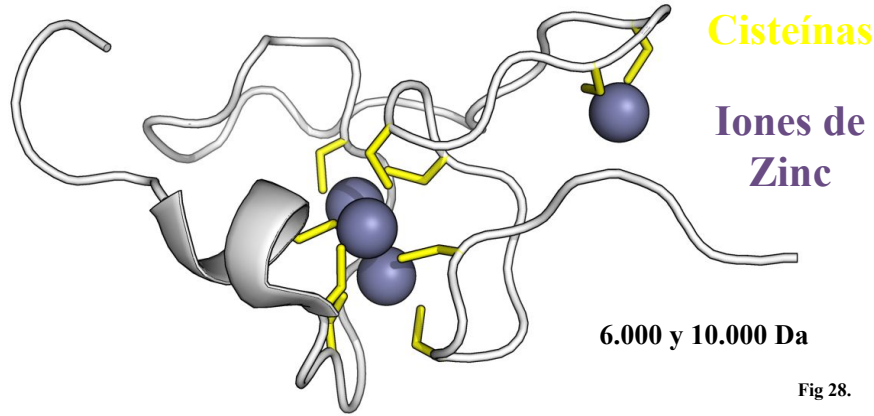


Fig 28.

Metalotioneínas

Tienen la capacidad de unirse a metales pesados tanto fisiológicos (Zn, Cu) como xenobióticos (como Cd, Hg, Ag), a través de los grupos tiol (-SH) de sus residuos de cisteína.

VC 128

Fue modificada genéticamente por microinyección de ADN para expresar el gen *mtl-2::GFP*.

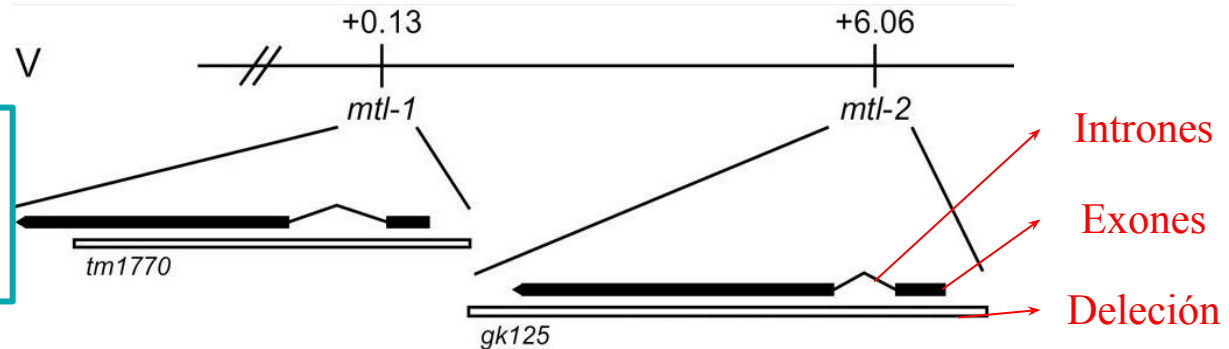


Fig 29.

Resultados

Metalotioneínas de *C. elegans*

mtl-1: Transportador intracelular - retiene el metal

mtl-2: Transportador de salida - transporta el metal al exterior de la célula.

Jiang G, et al. 2009

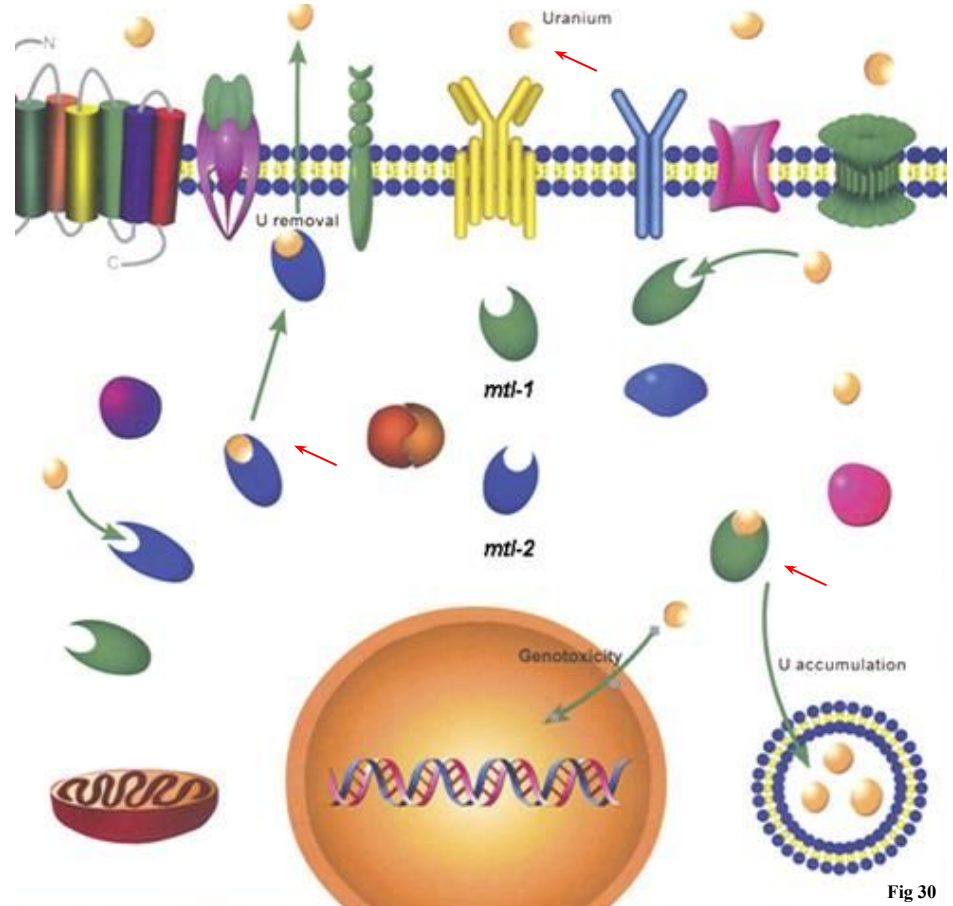


Fig 30

Resultados

→ **Importancia de las metalotioneínas en la evaluación de la presencia de metales pesados en fuentes hídricas**



Fig 31.

Uranio

La exposición a 10 μ M de Uranio (24h) induce la expresión de las metalotioneínas en *C. elegans*

Jiang G, et al. 2009

Resultados

- **Importancia de las metalotioneínas en la evaluación de la presencia de metales pesados en fuentes hídricas**

Cadmio

Se evidencia una expresión de *mtl-2* estadísticamente significativa en el intestino de la cepa *mtl-2::GFP*.

Höckner M. 2011

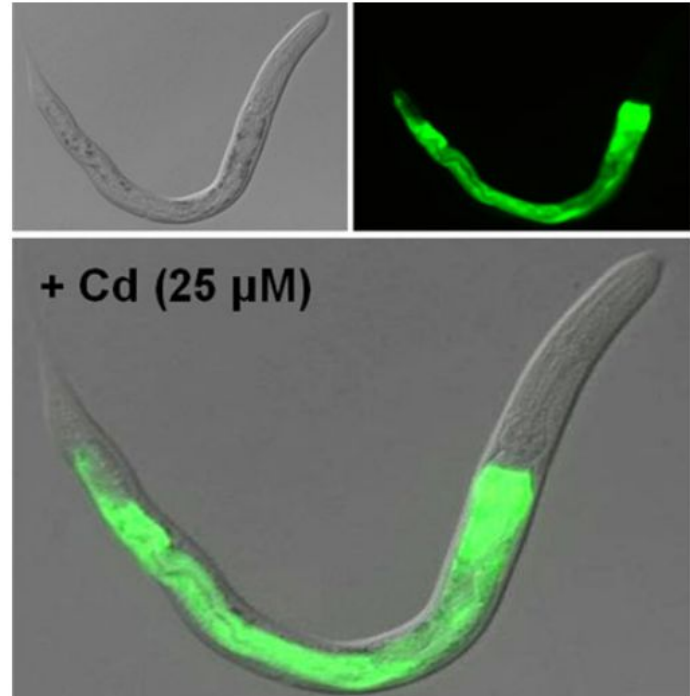


Fig 32.

Resultados

- **Importancia de las metalotioneínas en la evaluación de la presencia de metales pesados en fuentes hídricas**

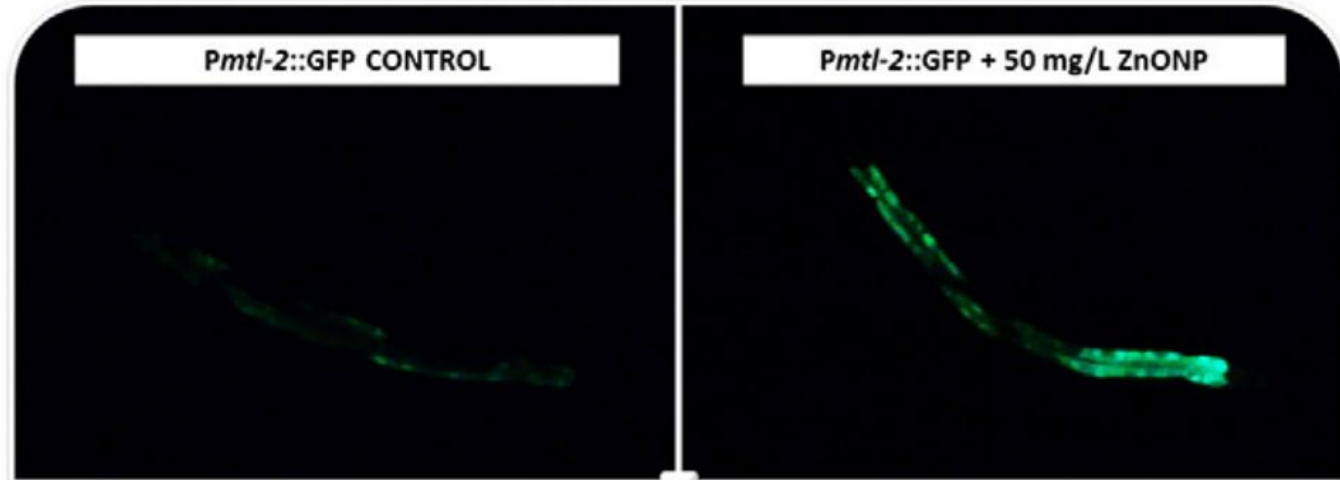
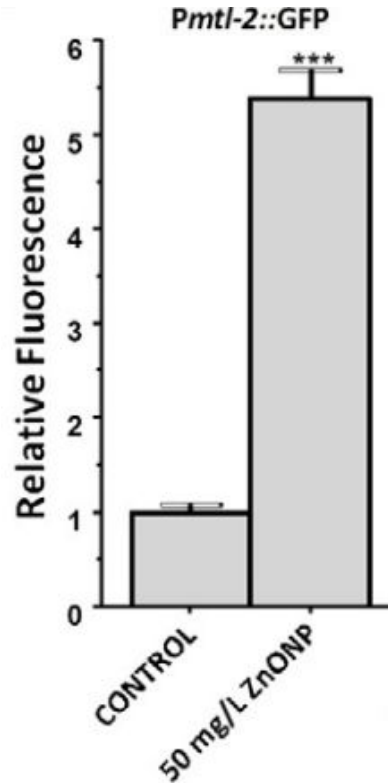


Fig 33.

Zn

Anbalagan C comprobó que la exposición al Zn genera altos niveles de radicales libres en *C. elegans* provocando la activación de las metalotioneínas.

Conclusiones



Las fuentes hídricas presentan una problemática de contaminación por metales pesados, generados por parte de los sectores minero, industrial, agrícola y las curtiembres.



C. elegans es un biomarcador ambiental ideal para la determinación de metales pesados en fuentes hídricas .



El tipo de muestra más apropiado para los análisis en fuentes hídricas son los sedimentos.



Las cepas TJ 356 y VC 128 permiten la evaluación de diversos compuestos potencialmente tóxicos, como los metales pesados más comunes (Cd, Hg, Cu, Ni, As, Cr, Pb, U y Zn) y los compuestos como Mn, Sn, Ba que se consideran tóxicos a altas concentraciones

Logros



REGIONAL

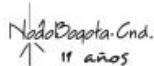


NACIONAL

Evaluación de toxicidad en el río Guatiquía usando la cepa transgénica TJ356 de *Caenorhabditis elegans* como modelo biológico de contaminación

Fig 34.

Logros



XIX ENCUENTRO REGIONAL DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN 2021

**"LOS SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN EN PANDEMIA
RETOS PARA LOS PROCESOS DE FORMACIÓN"**

**La Fundación Red Colombiana de Semilleros de Investigación RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca**

Otorga certificado a:

Yeimy Yisseth Moreno Guerrero

Con cedula de ciudadanía: **1.014.308.203**

en calidad de: **Ponente**

En el XIX Encuentro Regional de Semilleros de Investigación,
Nodo - Bogotá - Cundinamarca Modalidad Virtual, durante los días 10 al 14 de Mayo de 2021.

Carlos Carranza

Carlos Edwin Carranza Gutierrez
Coordinador RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca

German Eduardo Vargas Zapata

German Eduardo Vargas Zapata
Tesorero RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca



Logros



XIX ENCUENTRO REGIONAL DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN 2021

**"LOS SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN EN PANDEMIA
RETOS PARA LOS PROCESOS DE FORMACIÓN"**

*La Fundación Red Colombiana de Semilleros de Investigación RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca*

Otorga certificado a:

Lizeth Dayann Márquez Diaz

Con cedula de ciudadanía: **1.024.600.890**

en calidad de: **Ponente**

En el XIX Encuentro Regional de Semilleros de Investigación,
Nodo - Bogotá - Cundinamarca *Modalidad Virtual*, durante los días 10 al 14 de Mayo de 2021.

Carlos Carranza

Carlos Edwin Carranza Gutierrez
Coordinador RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca

German Eduardo Vargas Zapata

German Eduardo Vargas Zapata
Tesorero RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca



Gracias por su atención

Lizeth Dayann Marquez Diaz
Erika Meneses Marín
Yeimy Yisseth Moreno Guerrero

Asesora interna
Ruth Melida Sanchez Mora
Ph.D. en Biotecnología

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de ciencias de la salud
Bacteriología y laboratorio clínico



Referencias de figuras



- **Figura 1.** <https://www.google.com/search?q=rio+coello&ei=leBxYc-4MMSWwbkPutWIkA4&ved=0ahUKEwiP15aJvtzzAhVESzABHboqAulQ4d>
- **Figura 2.** Características anatómicas de *C. elegans*. Tomado de: Araceli M. Clavijo L (15).
- **Figura 3.** Ciclo de vida *C. elegans*. Tomado de: Araceli M. Clavijo L (15).
- **Figura 4.** <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcSBDaVkh14d30jtK5Jk4QWcPfCbQjhIua6d3A&usqp=CAU>
- **Figura 5.** <http://2.bp.blogspot.com/-2-XIK0GUqVY/UdL3Fae0LmI/AAAAAAAAAU8/yukANE2vNsU/s470/gene+gun+2.jpg>
- **Figura 6.** <https://revistadigital.inesem.es/gestion-integrada/files/2020/09/indicadores-de-calidad-del-agua-1020x680.jpg>
- **Figura 7.** <https://www.lavidalucida.com/wp-content/uploads/2015/06/How-Heavy-Metal-Toxicity-Can-Ruin-Your-Health.png>
- **Figura 8.** <https://www.google.com/search?q=rio+coello&ei=leBxYc-4MMSWwbkPutWIkA4&ved=0ahUKEwiP15aJvtzzAhVESzABHboqAulQ4d>
- **Figura 9.** www.google.com/search?q=rio+coello&ei=leBxYc-4MMSWwbkPutWIkA4&ved=0ahUKEwiP15aJvtzzAhVESzABHboqAulQ4d
data:image/jpeg;base64,/9j/4AAQSkZJRgABAQAAQABAAD/2wCEAAoHCBUVFBgUFRUZGRgaGx0bGhsbHcMiGx0kIB0gICIdJCMjIy0mHSApHh0aJtclKS4wNDQ0GyM5PzkyPi0yNDABCwsLEA8QHRISHTIpIyMyMjIyMjIyMjIyMDIyMjIyMjIyMjIyM
- **Figura 10.** <https://www.google.com/search?q=rio+coello&ei=leBxYc-4MMSWwbkPutWIkA4&ved=0ahUKEwiP15aJvtzzAhVESzABHboqAulQ4d>
- **Figura 11.** Elaboración de bases de datos y análisis de la información construcción propia
- **Figura 12.** Elaboración de bases de datos y análisis de la información Gráficas Construcción propia
- **Figura 13.** Elaboración de bases de datos y análisis de la información Gráficas Construcción propia
- **Figura 14.** data:image/jpeg;base64,/9j/4AAQSkZJRgABAQAAQABAAD/2
- **Figura 15.** data:image/jpeg;base64,/9j/4AAQSkZJRgABAQAAQABAAD/2wCEAAoHCBYWFrgWFhYZGRgaGhocGhoaHB8aHB4YGR
- **Figura 16.** data:image/jpeg;base64,/9j/4AAQSkZJRgABAQAAQABAAD/2wCEAAoHCBYWFrgWFhYZGBgaHBwaHBwcHR
- **Figura 17.** <https://www.google.com/search?q=rio+algodonald&aq=rio+algodonald&aq=chrome..69i57j46i512j0i512j0i22i30i2.6463j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
- **Figura 18.** <https://www.google.com/search?q=rio+coello&ei=leBxYc-4MMSWwbkPutWIkA4&ved=0ahUKEwiP15aJvtzzAhVESzABHboqAulQ4dUDCA4&uact=5&aq=rio+coello>
- **Figura 19.**
data:image/jpeg;base64,/9j/4AAQSkZJRgABAQAAQABAAD/2wCEAAoHCBUVFRgVFRYYGRgaGBoaGhwaGhoaHBgaGhgaGhoaGhgclS4IHCErIRgaJjgmKy8xNTU1GiQ7QDs0Py40NTEBDawME
- **Figura 20.** Órganos que son afectados por los metales pesados en el ser humano Pb-plomo, Hg-Mercurio, Cd-Cadmio, Cu-Cobre, Mn-Manganeso, Zn-Zinc Y As-Arsénico. Construcción propia. Marquez L, Meneses E, Moreno Y. 2021
- **Figura 21.** data:image/jpeg;base64,/9j
- **Figura 22.** Construcción propia
- **Figura 23.** Acción de Daf-16 frente a algunos factores de estrés (estrés oxidativo, estrés osmótico, choque térmico e hipoxia). Tomado de: Rodríguez M, Basten L, Bono De M, Kammenga E (62).
- **Figura 24.** Efectos de 4-heptanona y SVM en la localización nuclear de Daf-16 :: GFP. Tomado de: Sanadhya P, Bucki P, Liarzi O, Ezra D, Gamliel A, Braun S.
- **Figura 25.** Localización de Daf-16::GFP en TJ 356 frente a la exposición a parabenos MeP, EtP, PrP, BuP. Tomado de: Nagar Y, Singh R, Parveen T, Kumar D, Ravi K, Satish A
- **Figura 26.** Traslocación de Daf-16 :: GFP en *C. elegans* frente a compuestos individuales de Mn, Pb y Cd. Tomado de: Lu C, Svoboda KR, Lenz KA

Referencias de figuras



- **Figura 27.** Porcentaje de nematodos que demuestran translocación de Daf-16::GFP frente a la exposición a los metales individuales y mezclas de metales. Tomado de: Lu C, Svoboda KR, Lenz KA
- **Figura 28.** <https://es.wikipedia.org/wiki/Metalotione%C3%ADnas>
- **Figura 29.** https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3493192/?fbclid=IwAR0WFmW3YmMBUdFREKHFurjKoKW4nWJQdPDprx34FREF6eb2_qbYfulDQY8 .
- **Figura 30.** Funciones diferenciales de mtl-1 y mtl-2 e interacciones entre las MT y el Uranio. Tomado de: Jiang G , Sam Hughes , Stürzenbaum S , Evje L , Syversen T , Aschner M (50).
- **Figura 30** Expresión de las MT mtl-1::GFP y mtl-2::GFP en la cepa VC 128 de *C. elegans* por exposición al Uranio. Tomado de: Jiang G , Sam Hughes , Stürzenbaum S , Evje L , Syversen T , Aschner M (50).
- **Figura 31.** Expresión de mtl-2::GFP en el intestino de *C. elegans* por exposición al Cd (25uM). Tomado de: Höckner M, Dallinger R, Stürzenbaum S (45).
- **Figura 32.** Inducción de mtl-2 :: GFP en respuesta al Zn. Tomado de: Polak N, Read D, Jurkchat K, Matzke M, Kelly F, Spurgeon D, et al (44). La imagen de fluorescencia muestra la inducción de mtl-2:: GFP en respuesta al Zn mientras que la gráfica de barras muestra la fluorescencia relativa de la metalotioneína mtl-2.
- **Figura 33.** https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Nass+R&cauthor_id=20922756
- **Figura 34.** <data:image/jpeg;base64,9j/4AAQSkZJRgABAQAAQABAAD/2wCEAAkGBxATEBMTEhMWFhMVGBYaFhUXFxUVGBUWFxUWFhGWFxUYHighGBolGxgYIzEhJSkrLi4vFx81ODMsNystLisBCgoKDg0OGxAQGzUIICUtlZEtLS0v>