

Libros de Cátedra

Toxicología general y aplicada

Leda Giannuzzi (coordinadora)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas


Editorial
de la Universidad
de La Plata



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

TOXICOLOGÍA GENERAL Y APLICADA

Leda Giannuzzi

(coordinadora)

Facultad de Ciencias Exactas



Índice

Capítulo 1

Principios generales de la toxicología _____ 5

Autor: Leda Giannuzzi

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Capítulo 2

Disposición de tóxicos _____ 28

Autor: Leda Giannuzzi

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Capítulo 3

Toxicidad no- órgano específico _____ 72

Autores: Leda Giannuzzi, Daniela Sedan y Cristian Oliver

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Capítulo 4

Toxicidad órgano específico _____ 106

Autores: Darío Andrinolo, Daniela Sedan y Cristian Oliver

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Capítulo 5

Agente tóxicos particulares _____ 171

Autores: Darío Andrinolo, Daniela Sedan

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Capítulo 6

Efectos tóxicos de los metales y no –metálicos _____ 249

Autor: Alejandra Rasile

Capítulo 7

Efectos tóxicos de los plaguicidas, insecticidas Organofosforados y carbamatos _____ 286

Autor: Leda Giannuzzi

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Capítulo 8

Toxicidad presentada por medicamentos _____ 316

Autor: Daniela Sedan, Guido Mastrantonio

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Los autores _____ 353

CAPÍTULO 1

Principios generales de la toxicología

Autor: Leda Giannuzzi

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Fundamentos de toxicología

Las personas están expuestas a una gran variedad de sustancias naturales y otras fabricadas por el hombre. En ciertas circunstancias estas exposiciones causan efectos adversos en la salud que varían desde cambios biológicos casi imperceptibles a hasta la muerte.

Definición y objeto de la toxicología

La toxicología estudia la naturaleza, el mecanismo de acción tóxica de agentes físicos, sustancias químicas capaces de producir alteraciones patológicas a los seres vivos. Identifica y cuantifica los efectos adversos asociados a la exposición de los agentes. También intervienen en esta definición la evaluación cuantitativa de la severidad y frecuencia de estos efectos en relación con la exposición de los organismos vivos. También estudia los procedimientos para detectar, identificar y valorar su grado de toxicidad.

La toxicología estudia las interacciones entre las sustancias químicas y los sistemas biológicos con el objeto de determinar cuantitativamente el daño potencial que resulta en efectos adversos a organismos vivos. La Toxicología investiga la naturaleza, la incidencia, los mecanismos de acción, los factores que influyen en su desarrollo y reversibilidad de los efectos adversos.

Por lo expuesto **se define toxicología** como la ciencia que estudia las sustancias químicas y los agentes físicos capaces de producir alteraciones patológicas en los seres vivos, evalúa los mecanismos de producción de tales alteraciones y los medios para contrarrestarlos, así como los procedimientos para detectar, identificar y determinar tales agentes y valorar su grado de toxicidad.

La toxicología presenta un amplio campo de acción: investigación básica sobre el mecanismo de acción de los agentes tóxicos y sustancias químicas empleas en medicina diagnóstica, en la industria de los alimentos, en la agricultura, industria química, componentes e intermedios de plásticos, entre otros. Además, el toxicólogo participa en la determinación de los límites de exposición seguros tendientes a la elaboración e interpretación de pruebas normalizadas para determinar las propiedades tóxicas de los agentes. Estas incluyen las ingestiones diarias aceptables y los valores del límite de umbral o en una evaluación de los riesgos en los que se

utiliza en relación con sustancias cuyos efectos se creen que no tienen umbral o que éste no se puede determinar.

La toxicología se estudia en disciplinas normalizadas, como la toxicología clínica, la forense, la de investigación, la reguladora, la analítica, la clínica, la ambiental, laboral, etc. Otra clasificación hace referencia a los sistemas o procesos orgánicos que se ven afectados, como la inmunotoxicología o la toxicología genética; puede presentarse también desde el punto de vista de sus funciones, así como en investigación, realización de ensayos y evaluación de los riesgos.

El principal objeto de la toxicología es determinar el potencial daño al organismo y su intacto y en algunos casos la extrapolación al hombre.

Por ello, **un tóxico** es cualquier agente (físico o químico) que puede producir algún efecto nocivo sobre un ser vivo, alterando sus equilibrios vitales. Se utiliza el término tóxico a los agentes cuyo origen deviene de la actividad antropogénica o subproductos.

El término **toxina** se refiere a las sustancias tóxicas que son producidas por sistemas biológicos tales como las plantas, animales, hongos y bacterias.

Una diferencia se establece con el concepto de **veneno** la cual es una sustancia empleada en forma intencional.

Uno de los conceptos fundamentales de la toxicología es la dosis, la cual determina la toxicidad. Este axioma, acuñado por Paracelso (1493-1541) indica que todas las sustancias son toxicas, no hay ninguna que no lo sea. La dosis hace el veneno. Se define a la dosis a la cantidad de sustancia ingerida o administrada que produce un efecto tóxico. Presenta unidades de mg/Kg de peso corporal. Sustancias inofensivas como el agua en dosis elevadas resultan ser tóxicas.

Espectro de la dosis tóxica

Un tóxico puede definirse como cualquier sustancia capaz de provocar una respuesta nociva en un sistema biológico. Prácticamente todas las sustancias químicas conocidas presentan la capacidad de ocasionar lesiones o incluso la muerte si se encuentran en cantidad suficiente. En la Tabla 1 se presentan las dosis de algunas sustancias químicas que es necesario administrar para causar la muerte al 50% de los animales tratados, dicho parámetro es denominado dosis letal 50 (DL50). La DL50 se expresa en mg/kg de peso corporal. Puede observarse que hay sustancias químicas muy poco toxicas como el etanol mientras que la toxina botulínica (la sustancia proteica más toxica conocida) en muy pequeña dosis puede matar al 50% de la población. Debe tenerse en cuenta que las medidas de la letalidad aguda como la DL50 pueden no reflejar con exactitud el espectro completo de la toxicidad o riesgo que se asocia a la exposición a un producto químico. Una sustancia química que presenta una baja toxicidad aguda puede producir toxicidad crónica, tal como los carcinogénicos o teratogénicos.

Clasificación de las sustancias tóxicas

Los agentes tóxicos se ordenan en función de diversas categorías tomando como criterio los órganos afectados, el uso, el origen y los efectos de las sustancias. Así podemos clasificar a las sustancias como hepatotóxicas, nefrotoxicas, neurotóxicas, etc., según afecten a órganos como el hígado, riñón o sistema nervioso. Según su uso reciben nombres como insecticidas, fungicidas, molusquicidas, etc según se utilice para combatir insectos, hongos y moluscos. Además, las sustancias se clasifican según su estado físico, estabilidad o reactividad química, su estructura química, reactividad química o su potencial tóxico.

Tabla 1: DL50 (mg/Kg peso corporal) de sustancias químicas

Sustancia	DL50 (mg/kg peso corporal)
Etanol	10000
Cloruro sódico	4000
Sulfato ferroso	1500
Sulfato de morfina	900
Fenobarbital sódico	150
Picrotoxina	5
Sulfato de estricnina	2
Nicotina	1
d-tubocurarina	0.5
Hemicolina-3	0.2
Tetradotoxina	0.10
Dioxina	0.001
Toxina botulínica	0.00001

Efecto tóxico

El efecto tóxico es el producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis del agente tóxico. El efecto tóxico o respuesta tóxica corresponde a cualquier desviación del funcionamiento normal del organismo que ha sido producida por la exposición a substancias tóxicas. Sólo se consideran como desviaciones significativas los cambios irreversibles o los cambios que permanecen por un período prolongado después de que la exposición ha cesado.

Efectos adversos

Son aquellos que producen un detrimiento ya sea de la supervivencia o de la normal funcionalidad del individuo. Corresponden a cambios morfológicos, fisiológicos y en el desarrollo del crecimiento en la vida de un organismo que resulta en un deterioro de la capacidad funcional o de la homeostasis y/o compensatoria de los efectos de stress o en un aumento en la susceptibilidad a los efectos dañinos del medio ambiente. Resultan ser los efectos que producen una disminución en la supervivencia o normal funcionamiento de un individuo.

Xenobióticos

Sustancias extrañas al organismo las cuales se diferencian de los compuestos endógenos. Ejemplos de xenobióticos son los fármacos, las sustancias químicas industriales, los tóxicos presentes en la naturaleza, los contaminantes del medio ambiente, etc.

Órgano blanco

Zona del organismo donde el tóxico ejerce su acción dañina. Muchas veces ese órgano puede no ser el que contenga la mayor concentración del tóxico (ejemplo los compuestos organoclorados ejercen su acción en el sistema nervioso y se acumulan y presentan mayor concentración en el tejido adiposo).

Toxicidad

La capacidad intrínseca que posee un agente químico de producir efectos adversos sobre un sistema biológico. La mayoría de las sustancias químicas conocidas tienen potencial de ocasionar lesiones o incluso la muerte si se encuentran en cantidades importantes.

Características de la exposición

Una sustancia química provoca efectos tóxicos sobre un sistema cuando dicha sustancia o sus metabolitos alcanzan el lugar apropiado del organismo durante un tiempo adecuado, una concentración suficiente como para producir una manifestación tóxica. Que ocurra o no la respuesta tóxica dependerá de las características químicas y físicas de las sustancias, del lugar de exposición, de la metabolización del agente y de la sensibilidad del sistema biológico.

Rutas, sitios de exposición

Las principales vías o rutas por las que las sustancias tóxicas acceden al cuerpo son por el tubo digestivo por ello la ruta de exposición se denomina oral, si la exposición es por los pulmones la vía de exposición es inhalatoria, si es por la piel la exposición es dérmica, o por otras vías parentales. Los efectos más intensos y la respuesta más rápida de los tóxicos, se producen cuando estos se introducen directamente en el torrente sanguíneo (vía intravenosa). El orden de eficacia descendente aproximado para las vías es: inhalatoria, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intradérmica, oral y dérmica. El medio en que está disuelta la sustancia, denominado vehículo, así como otros factores de la formulación

pueden influir en la absorción de la misma. La vía de administración también repercute en la toxicidad de las sustancias.

Duración y frecuencia de la exposición

Otro factor que influye en la toxicidad de las sustancias es el tiempo. La exposición de los animales de experimentación a las sustancias químicas se divide en cuatro categorías según sea la dosis y el tiempo de exposición. Surge entonces la denominación de toxicidad aguda, subaguda, subcrónica y crónica.

Una exposición aguda se define como la exposición a una sustancia durante menos de 48 horas (tiempo corto). En general se realiza la exposición en única dosis, sin embargo, con determinadas sustancias existe la posibilidad de repetir las dosis durante las 24 horas. La exposición aguda por inhalación significa que ha habido una exposición continua durante menos de 24 horas normalmente 4 horas.

La exposición repetida se divide en tres categorías: subaguda, subcrónica y crónica.

La exposición subaguda se refiere a la exposición repetida a un agente químico durante un mes o menos y la duración de las exposiciones subcrónicas y crónicas son de 1 a tres meses y mayor de tres meses respectivamente.

Para seres humanos las frecuencias y duración de las exposiciones no están tan bien definidas como en los estudios en animales. Las exposiciones en los lugares de trabajo o ambientales se describen como agudas (derivadas de un accidente o episodio único), subcrónicas (las que se producen repetidamente durante varias semanas o meses) o crónicas (aquellas que se producen de forma repetida durante meses o años).

La exposición aguda a sustancias que se absorben rápidamente muy probablemente provocará efectos tóxicos inmediatos, pero también puede dar lugar a una toxicidad retardada que puede ser similar o no a las consecuencias tóxicas una exposición crónica. La exposición crónica a un agente tóxico puede producir además de los efectos prolongados de poca intensidad o crónicos, determinados efectos inmediatos (agudos) después de cada exposición.

Otro factor relacionado con el tiempo es el intervalo de exposición. Una sustancia tóxica que en una dosis única produce efectos graves puede carecer de ellos si la misma dosis total se administra fraccionada en varios momentos diferentes. Los efectos tóxicos crónicos pueden aparecer cuando las sustancias se acumulan en el sistema biológico (velocidad de absorción es mayor que la de eliminación) cuando el agente tóxico produce efectos tóxicos irreversibles o cuando el intervalo de exposición no concede el tiempo suficiente para que el sistema se recupere del daño tóxico.

Tabla 2: Ejemplos de toxicidad clasificados de acuerdo a la escala de tiempo y sitio de acción

Exposición	Sitio	Efecto	Sustancia
Aguda	Local	Corrosivo en la piel	Metilamina
		Daño al pulmón	HCl
	Sistémica	Daño al riñón	Fenacetina
		Hemólisis	Arsina
	Mezcla	Pulmón y Metahemoglobina	Óxidos de N
Crónica	Local	Bronquitis	SO ₂
		Carcinoma	Mostazas N
	Sistémica	Leucemia	Benceno
	Mixta	Daño al riñón	Cd

Espectro de los efectos indeseables

El espectro de los efectos indeseables de las sustancias químicas es muy amplio. En terapéutica, un fármaco produce numerosos efectos, pero solo uno de ellos se asocia al objetivo principal del tratamiento, el resto de los efectos se denominan efectos secundarios o indeseables. Algunos de los efectos secundarios de los fármacos son nocivos para el ser humano, son los denominados efectos adversos, nocivos o tóxicos.

Reacciones alérgicas

La alergia consiste en una respuesta inmunitaria desencadenada por una sensibilización anterior a esa sustancia o a otra con estructura similar. Para describir esta situación se utilizan los términos hipersensibilidad, reacción alérgica y reacción de sensibilización. Una vez que se ha producido la sensibilización, la reacción alérgica será una consecuencia de la exposición a una dosis relativamente muy baja de la sustancia, por ese motivo son muy pocas las ocasiones en las que se han obtenido las curvas dosis-respuesta de una población para las reacciones alérgicas. Estas reacciones en un individuo alérgico guardan relación con la dosis. Las reacciones de sensibilización a veces son muy graves y en ocasiones llegan a ser mortales.

Reacciones idiosincrásicas

La idiosincrasia química hace referencia a una reactividad anormal de origen genético frente a una sustancia química. La respuesta observada suele ser cualitativamente parecida a la que presentan todos los individuos, pero puede manifestarse como una sensibilidad extrema a bajas dosis de la sustancia como una insensibilidad exagerada a dosis elevadas.

Toxicidad inmediata y toxicidad demorada

Los efectos tóxicos inmediatos aparecen rápidamente después de la administración de una dosis única de una sustancia, mientras que los efectos tóxicos retardados aparecen después de transcurrido un tiempo. En seres humanos, los efectos carcinogénicos de las sustancias químicas suelen presentar largos períodos de latencia a menudo entre 20 y 30 años desde la primera exposición hasta que se desata el cáncer.

Efectos tóxicos reversibles e irreversibles

Un efecto tóxico reversible es aquel que al desaparecer la exposición al tóxico se revierte el efecto observado. En cambio, un efecto tóxico es irreversible cuando al cesar la exposición perdura el efecto observado. Esto indica que se ha producido un daño en el organismo como puede ser una lesión tisular. Sin embargo, cuando una sustancia provoca una lesión tisular, será la capacidad de regeneración de ese tejido quien determine en gran medida si el efecto tóxico es reversible o irreversible. En el caso del hígado, su elevada capacidad de regeneración hace que la mayoría de las lesiones sean reversibles, mientras que las lesiones del sistema nervioso central (SNC) son en su mayor parte permanente porque las células diferenciales del SNC son irremplazables. Una vez que se producen los efectos carcinogénicos y teratogénicos de las sustancias químicas estos se suelen considerar consecuencias tóxicas irreversibles.

Toxicidad local y sistémica

Otra diferencia entre los tipos de efectos se refiere al lugar de acción. Los efectos tóxicos locales se producen en el lugar donde del primer contacto entre la sustancia tóxica y el sistema biológico. Por otro lado, los efectos sistémicos requieren que el tóxico se absorba, se distribuya hasta un punto distante donde provocará los efectos nocivos. La mayor parte de las sustancias químicas salvo las que son extremadamente reactivas producen efectos generales. La mayoría de las sustancias que provocan toxicidad sistémica suelen producir los efectos en uno o dos órganos que se denominan órganos diana. A menudo el órgano afectado por el tóxico no se corresponde con el lugar donde se alcanza la concentración más elevada de la sustancia química. Los órganos que resultan ser más frecuentemente afectados son el SNC, el aparato circulatorio, el sistema sanguíneo y hematopoyético, el hígado, los riñones, los pulmones y la piel. El músculo y los huesos son menos afectados.

Tolerancia

La tolerancia es la disminución de la sensibilidad al efecto tóxico de una sustancia que se produce como consecuencia de una exposición anterior a dicha sustancia o a otra estructuralmente semejante. Dos son los principales mecanismos responsables de la tolerancia: uno es la reducción de la cantidad del agente tóxico que alcanza el lugar donde se produce la acción tóxica (tolerancia farmacocinética) y el otro, consiste en la disminución de la respuesta de un

tejido frente a la acción del tóxico. Estos conceptos se aplican a determinadas drogas que generan tolerancia en el individuo requiriendo mayores dosis para alcanzar el efecto buscado.

Respuesta a la dosis

Las características de la exposición y el espectro de los efectos se enmarcan en una relación correlativa denominada relación dosis-respuesta. Sea cual sea la respuesta elegida para su medición, la relación entre el grado de respuesta de un sistema biológico y la cantidad de sustancia tóxica administrada adopta una forma tan constante que hace que sea considerada como el concepto más importante y general de la toxicología. Desde un punto de vista práctico, existen dos tipos de relaciones de relaciones entre dosis y la respuesta: 1) la relación entre la dosis y el efecto, que describe la respuesta de un único organismo a dosis variables de una sustancia química y que a menudo se denominan gradual porque el efecto medido es continuo en un intervalo de dosis y 2) la relación entre la dosis y respuesta que representa la distribución de las respuestas a dosis diferentes entre una población de organismos.

Relación dosis-efecto (individual-gradual)

La relación entre la dosis y el efecto provocado en un individuo, se caracteriza por un incremento en la magnitud de la respuesta en relación con la dosis.

Relación dosis-efecto: describe la respuesta de un solo individuo a diferentes dosis de un compuesto. Está caracterizada por un aumento de la gravedad del efecto con el aumento de la dosis (respuesta gradual). La curva de dosis-efecto es la expresión gráfica de la relación entre la dosis y la magnitud del cambio biológico producido, medido en unidades apropiadas. Se aplica a cambios mensurables que dan una respuesta gradual al aumentar la dosis de un medicamento o xenobiótico. Cuando se toma en cuenta la variación biológica, ésta representa el efecto producido en un animal o persona. Pueden ser ejemplos de ello las variaciones del peso corporal, de la presión sanguínea o del nivel de determinada enzima o la mayor irritación del tracto respiratorio por la exposición a mayores concentraciones de un gas tóxico como el cloro.

Relación dosis-respuesta: describe la distribución de respuestas a diferentes dosis en una población de individuos. Se caracteriza por un aumento del número de individuos afectados (respuesta cuantal: presente o ausente) al aumentar la dosis. La curva de dosis-respuesta puede ser definida como la expresión gráfica de la relación entre la dosis y la proporción de individuos que experimentan un efecto de todo o nada y es esencialmente la representación de la probabilidad de una ocurrencia (o la proporción de una población que presenta un efecto) en función de la dosis. Los ejemplos típicos de tales efectos totales o nulos son la mortalidad o la incidencia de cáncer.

Entre la ausencia de efecto y la letalidad existe un amplio margen de cambios fisiológicos y patológicos que experimental los animales en los estudios de dosis- respuesta. La exposición puede ser tan pequeña que no hay respuesta apreciable o puede presentarse respuestas con alteraciones mensurables de actividad enzimática, aumento de frecuencia cardíaca, dilatación de pupilas, etc. El

extremo opuesto se corresponde con la muerte. Las curvas dosis respuesta consideran dos aspectos importantes: 1) existe un fenómeno básico en que la mayoría de los tóxicos la magnitud de la respuesta biológica está relacionada con la dosis, es decir, a mayor exposición mayor es la intensidad de la respuesta. 2) No todos los animales responden de igual manera ante la misma exposición, existen variaciones entre los sujetos. Considerando la variabilidad que refleja las diferencias inherentes a respuestas esperadas se utilizan cuantificaciones como la desviación típica, varianza e intervalos de confianza para definir los límites o las variaciones esperadas en la relación dosis-respuesta. Las relaciones dosis-respuesta se utilizan para el determinar la DL50 o la CL50 (concentración letal 50). El sujeto vive o muere, no hay intermedios (respuesta binaria). Otras respuestas biológicas pueden ser clasificadas en forma semejante si se definen con claridad un punto de corte, ej. Presión sanguínea mayor a 140 mmHg e inferior a 140 mmHg para otro grupo. Puede calcularse la dosis precisa para que el 50% de los sujetos alcancen una presión sanguínea mayor a 140 mmHg.

También puede definirse la llamada CE50 como la concentración efectiva media. Es la concentración de una sustancia que provoca algún efecto en el 50% de la población expuesta. Este efecto puede ser letal o no letal. Debe especificarse la duración de la exposición, la vía de ingreso y la especie de organismo utilizado. Se expresa en mg/L, ppm, mg/Kg, etc.

Relación cuantal dosis-respuesta

A diferencia de la relación entre dosis-efecto individual que es gradual o en escala continua, la relación entre dosis y respuesta en una *población* se caracteriza por seguir la ley de *todo o nada* es decir, para una dosis determinada, un individuo de la población responderá o no responderá. Aunque resulte útil distinguir entre relaciones de dosis y efecto gradual y relaciones de dosis y respuesta en una población, los dos tipos de respuestas son idénticos desde el punto de vista conceptual. En ambos casos, en el eje de ordenadas se encuentra la respuesta que puede ser la magnitud de la respuesta o el efecto observado en un individuo o sistema, o bien la fracción de la población que responde. En el eje de abscisas se distribuyen las dosis administradas.

Ensayos de toxicidad

El conocimiento de la toxicidad de las sustancias sólo puede conocerse (aparte de las previsiones teóricas) por los estudios retrospectivos de casos de intoxicación y por la experimentación con plantas y animales. La experimentación con seres humanos se realiza únicamente en contadas ocasiones debido a sus implicaciones éticas y legales.

El uso de animales de experimentación para la determinación de la “dosis letal” hoy día está siendo reorientado debido a la presión de las asociaciones protectoras de animales y una mayor sensibilización por parte de la sociedad. Se emplean menos animales, las técnicas de ensayo se han refinado para provocar menos sufrimiento y para optimizar la cantidad de información extraída de la experiencia. Los requerimientos de las Good Laboratory Practices son de obligado cumplimiento si queremos asegurar la calidad de los resultados obtenidos experimentando con animales. Seguidamente veremos aspectos que nos permitan establecer algunos parámetros del ensayo de toxicidad y su intervalo de confianza.

Ensayos de toxicidad con animales. Calculo de la LD50

Toxicidad aguda: Efectos adversos que se manifiestan luego de la aplicación de una única dosis o múltiples dosis de una sustancia en el lapso de 24 horas y durante una observación de al menos 15 días. Todas las sustancias son tóxicas cuando se administran a dosis altas. La toxicidad puede observarse de diversas maneras, siendo la determinación de la toxicidad aguda el ensayo más corriente. Esta determinación permite apreciar los síntomas de intoxicación y la dosis tóxica: Dosis mínima mortal y Dosis Letal 50 (DL50). Como los efectos tóxicos no se muestran a menudo más que después de un periodo de tiempo en el organismo, los ensayos de toxicidad crónica efectuados con animales se realizan cuando la sustancia química presenta un interés terapéutico. Por último, existen riesgos terapéuticos que no se manifiestan en estos ensayos de toxicidad y que son objeto de ensayos especiales: evaluación de efectos teratogénicos, carcinogénicos y mutágenos.

En un estudio de la toxicidad aguda se definen los siguientes términos. La dosis letal 50 (DL50) corresponde a la dosis capaz de producir la muerte en condiciones determinadas, de la mitad de los animales (de una misma especie) sometidos a la experiencia. Esta determinación se basa en la evaluación de respuestas de todo ó nada: muerte o supervivencia del animal. Como es imposible obtener de manera inmediata el 50% de muertes a partir de un único grupo, el método consiste en experimentar con 5 ó 6 lotes de 10 a 20 animales a los cuales se administran dosis crecientes de la sustancia a ensayar, de manera que el porcentaje de mortalidad varíe entre 0-100%. El procedimiento para estimar la DL50 con su tolerancia fue propuesto por Trevan (1927) y consiste en transformar la relación obtenida entre el % de mortalidad y la dosis en una relación final lineal que permite interpolar la dosis que corresponde al 50% de mortalidad. Para ello primero se representa el porcentaje de mortalidad frente al logaritmo de la dosis correspondiente, pues la distribución de frecuencias que se construye después parece ajustarse mejor a la lognormal que a la normal. La Fig. 1 a muestra que la respuesta como la letalidad presenta una distribución normal o gaussiana. El histograma de frecuencias también indica la relación entre la dosis y la respuesta. Las barras corresponden al porcentaje de animales que murieron a cada dosis menos el porcentaje de los mismos que murieron a la dosis inmediatamente inferior. Puede observarse que solo pocos animales responden a dosis bajas o dosis altas. El mayor número de animales responden a dosis intermedias y la frecuencia máxima de respuestas ocurre en dosis intermedia. Esta es la curva con forma de campana denominada distribución normal de frecuencias (Fig. 1 a). Esto es debido a que cada individuo presenta diferente sensibilidad a las sustancias. Los animales que responden a dosis bajas se denominan sensibles mientras que los que responden a dosis altas son los resistentes. Si sumamos el número de animales que responden a cada dosis consecutiva se obtiene la relación de frecuencias acumuladas de respuestas frente a la dosis como se muestra en la curva sigmoidea de la Fig. 1b. Una curva de distribución normal se aproxima a 0 a medida que la dosis disminuye y del 100% a medida que la dosis aumenta. No están definidas las respuestas para 0 y 100%.

La curva sigmoidea presenta una parte lineal entre 16 y 84%, estos valores son los límites de una desviación estándar de la media. En una población normalmente distribuida,

tenemos dos parámetros fundamentales: la medida del valor representativo o más probable del conjunto y la medida de la dispersión del conjunto de datos. Una estimación adecuada para el valor más probable sería la media de las dosis (--sus logaritmos--), y para la dispersión, la desviación estándar (SD) que puede tomarse como la magnitud que mide la distancia desde la media a cualquiera de las dos inflexiones de la curva. El área de la curva limitada por la media $\pm 1\text{SD}$ contiene un 68% de la población; para la media $\pm 2\text{SD}$ y $\pm 3\text{SD}$ llegamos a un 95 y un 99.7% de la población. Considerando que las curvas dosis respuesta siguen una distribución normal, podemos convertir el porcentaje de respuestas en unidades de desviación de la media o desviación normal equivalente (DNE). Así, la DNE para una respuesta del 50% es 0, la DNE es +1 para una respuesta del 84%. Para evitar las cifras negativas las unidades de las DNE se convierten añadiendo 5 a su valor. Se obtiene así la llamada unidad de probabilidad o probit. Según ello, una respuesta del 50% corresponde a un probit de 5, una desviación standard +1, se corresponde a un probit de 6 y una desviación estándar de -1 corresponde a un probit de 4 como se indica en la Tabla 2:

Tabla 3: Relación entre % Mortalidad, NED y Probits

%Mortalidad	NED	Probit
0.1	-3	2
2.3	-2	3
15.9	-1	4
50.0	0	5
84.1	1	6
97.7	2	7
99.9	3	8

La Fig. 1 c se representa los datos de las Fig. 1 a y b en unidades probit siendo una línea recta el resultado de la transformación. De esta manera es posible mediante este método ajustar la mortalidad u otras respuestas de todo o nada a una distribución normal de la población obteniéndose una línea recta. La DL50 se obtiene trazando una línea horizontal desde la unidad de probit 5 que representa la mortalidad del 50% hasta la línea dosis respuesta. Desde allí, se traza una línea vertical que corta la abscisa en un punto que corresponde con la DL50. También es posible obtener la pendiente de la curva dosis- respuesta.

La Fig. 2 muestra las curvas de mortalidad para dos compuestos A y B. El compuesto A presenta una pendiente más plana que significa un cambio grande en la dosis para observar un cambio importante en la respuesta. El compuesto B muestra una relación dosis –respuesta más pronunciada indicando que un cambio de dosis relativamente pequeño produce un cambio importante en la respuesta.

Otro concepto importante en la relación entre dosis y respuesta es el de dosis umbral.

La dosis umbral

Es la dosis mínima que provoca una respuesta de todo o nada aun cuando no pueda calcularse experimentalmente. La dosis umbral es la dosis por debajo de la cual la probabilidad que un individuo responda es cero. En el caso de la relación entre dosis y respuesta es cierto que existen umbrales para la mayoría de los efectos tóxicos, aunque la variabilidad interindividual de la respuesta y los cambios cualitativos que provocan la dosis en el patrón de respuesta hacen difícil establecer una verdadera dosis inefectiva carente de efectos para cualquier sustancia.

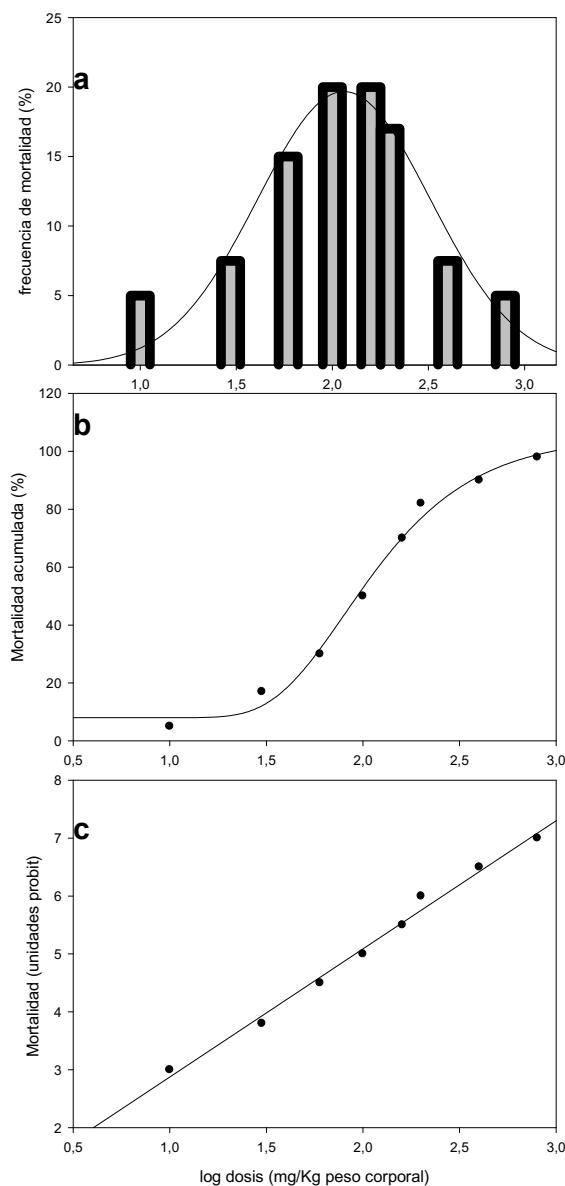


Fig. 1: Curva dosis-respuesta a) distribución de frecuencias, b) frecuencias acumuladas y c) en unidades probit

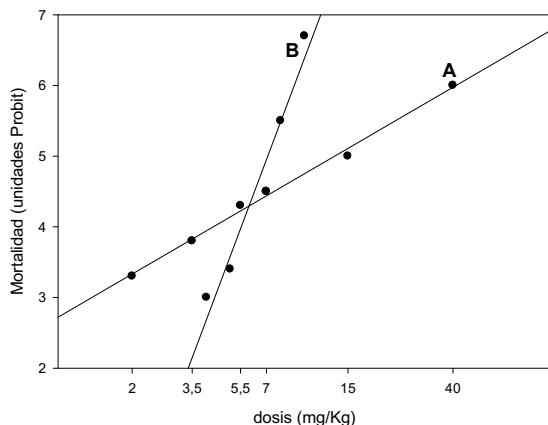


Fig. 2: Comparación de las curvas de dosis respuesta de dos sustancias diferentes A y B

Variaciones de las respuestas tóxicas

Toxicidad selectiva

La toxicidad selectiva significa que una sustancia química es nociva para una clase de individuos, pero no perjudica a otra forma de vida cuando coexisten en estrecho contacto. Esta toxicidad selectiva se deberá a diferencias toxicocinéticas (absorción, biotransformación o excreción) o a aquel mecanismo molecular del procesamiento bioquímico de la sustancia tóxica es distinto en cada organismo.

Diferencias entre especies

Existe la posibilidad de obtener respuesta a las sustancias tóxicas que muestren diferencias cualitativas y cuantitativas entre distintas especies. Identificar los mecanismos moleculares y celulares de tales diferencias permitirá establecer la trascendencia de los datos obtenidos en animales para la respuesta en los seres humanos.

Diferencias individuales

Dentro de la misma especie puede haber importantes diferencias individuales en la respuesta a una sustancia causada por sutiles diferencias genéticas denominadas polimorfismos genéticos que corresponden a diferentes variaciones que pueden existir sobre el ADN de un mismo gen. Estos polimorfismos son responsables de las reacciones idiosincrásicas de las diferencias interindividuales en las respuestas a los tóxicos.

Pruebas descriptivas de toxicidad en animales

Todas las pruebas de toxicidad que se llevan a cabo en animales se basan en dos principios fundamentales. El primero es que cuando se cumplen los requisitos adecuados, los efectos producidos por un compuesto en animales de laboratorio son aplicables al hombre. El segundo

principio se basa en que la exposición de los animales de experimentación a altas dosis de una sustancia química es un método válido y necesario para descubrir posibles peligros en el hombre ya que la incidencia de un efecto en una población aumenta a medida que se incrementa la dosis o la exposición.

Las pruebas de toxicidad no están concebidas para demostrar si una sustancia es segura sino para identificar los efectos tóxicos que pueda provocar. No existe una batería de pruebas toxicológicas que haya de realizarse en cada compuesto que se quiera comercializar. Dependiendo de la aplicación final de la sustancia, los efectos tóxicos producidos por los análogos estructurales y los efectos tóxicos producidos por la propia sustancia contribuirán a determinar que pruebas toxicológicas deben practicarse.

Letalidad aguda

La primera prueba de toxicidad sobre una sustancia química es la de toxicidad aguda. Se determina la DL50 y otros efectos tóxicos agudos de una o más vías de administración, en una o más especies habitualmente ratón, rata y en ocasiones conejo y perro. Durante un período de 14 días después de una dosis única se examinan los animales a diario y se registran los animales que mueren. Las pruebas de toxicidad aguda proporcionan 1) un cálculo cuantitativo de la DL50 2) se identifican el o los órganos blanco y otras manifestaciones clínicas de toxicidad aguda, 3) establecer la reversibilidad de la respuesta tóxica y 4) orientan en cuanto al intervalo de dosis para otros estudios.

Si los animales son expuestos a sustancias presentes en el aire que respiran o el agua donde viven (peces), lo habitual es determinar la concentración letal 50 (CL50) para un tiempo de exposición conocido, es decir, la concentración de la sustancia química en el aire o en el agua que provoca la muerte del 50% de los animales.

Debe especificarse la duración de la exposición, la vía de ingreso y la especie de organismo utilizado. Se expresa en mg/L, ppm, etc.

La prueba de toxicidad dérmica aguda suele realizarse en conejos. Se rasura la zona de exposición y se aplica la sustancia tapándola 24 horas y descubriendola después. Se limpia la piel y se observan los animales durante 14 días. Los estudios de letalidad aguda son esenciales para definir los efectos tóxicos de las sustancias y el peligro que representan para el hombre. La información más importante que brindan las pruebas de toxicidad aguda es que se obtiene de las observaciones clínicas y de la necropsia de los animales y no el valor concreto de la DL50.

Muchas organizaciones protectoras de animales han luchado en contra de la DL50, debido al sufrimiento animal que genera la muerte lenta y dolorosa que deben soportar los animales. Es así que varios países han prohibido los ensayos de DL50 oral y en el año 2001 la Organización Europea para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) suprimió el requisito de la prueba oral. En su lugar ha sido remplazado por el ensayo a dosis fija.

El enfoque evita la muerte innecesaria de gran número de animales y lo ha remplazado por ensayos basados en la observación de signos claros de toxicidad en una de una serie de nive-

les de dosis fijas. Los estudios fueron validados in vivo y posteriormente utilizando modelos matemáticos mostrando que el procedimiento es reproducible, utiliza menos animales y causa menos sufrimiento que los métodos tradicionales y es capaz de clasificar las sustancias de manera similar a los métodos tradicionales.

En el ensayo a dosis fija, se emplean grupos de animales de un solo sexo los que se dosifican en un procedimiento escalonado usando las dosis fijas de 5, 50, 300 y 2000 mg/kg. El nivel de dosis inicial se selecciona sobre la base de un estudio de observación previo de dosis que producen algunos signos de toxicidad sin causar efectos tóxicos graves ni mortalidad. Otros grupos de animales se pueden dosificar a dosis fijas más altas o más bajas, dependiendo de la presencia o ausencia de signos de toxicidad o mortalidad.

Este procedimiento continúa hasta que la dosis que cause toxicidad evidente o no se detecte más de una muerte se detecte, o cuando no se observen efectos en la dosis más alta o cuando las muertes ocurren a la dosis más baja.

Irritaciones cutáneas y oculares

Para la prueba de irritación dérmica (test de Draize) se rasura la piel de los conejos y se aplica la sustancia en una zona integra y en dos superficies raspadas tapándolas todas durante 4 horas. El grado de irritación cutánea se puntea teniendo en cuenta la aparición de eritema (enrojecimiento) y de escaras (costras) y de edema (hinchazón) y la acción corrosiva. Una vez retirado el parche, la irritación dérmica se comprueba repetidamente a diferentes intervalos. Para determinar la intensidad de la irritación ocular, se instila la sustancia química en uno de los ojos de cada conejo. El otro sirve de control. Los ojos de los animales tratados se examinan en diferentes momentos después de la aplicación.

Para evaluar la toxicidad cutánea y ocular, se han diseñado modelos in Vitro como los cultivos de queratinocitos epidérmicos y de células epiteliales de la córnea.

Sensibilización

Todos aquellos compuestos que puedan entrar en contacto con la piel repetidamente además de las pruebas de irritación se necesitan información sobre su capacidad para sensibilizar la piel. En general la sustancia investigada se administra por vía tópica o intradérmica o por ambas sobre la piel rasurada de un cobayo y durante 2 a 4 semanas. Entre 2 y 3 semanas después del último tratamiento los animales son expuestos a una concentración no irritante de la sustancia investigada y se evalúa la formación de eritema.

Pruebas de toxicidad subagudas (estudio de dosis repetidas)

Las pruebas de toxicidad subaguda e llevan a cabo para obtener información sobre la toxicidad de una sustancia química después de administraciones sucesivas, normalmente durante 14 días y lo ayudan a establecer las dosis para los estudios subcrónicos.

Pruebas subcrónicas

La exposición subcrónica suele durar 90 días. Los objetivos son determinar los niveles

NOAEL: No Observable Adverse Effect Level (nivel de efecto adverso no observable), Mayor dosis de sustancia en experimentación o en observación que causa alteración **no detectable** en la morfología, capacidad funcional, en el crecimiento del organismo blanco en condiciones definidas de exposición. Se expresa en mg/Kg de peso corporal/día.

NOEL: Mayor concentración de sustancia en experimentación o en observación que no causa una alteración morfológica, funcional o en el desarrollo que resulta distingurable.

LOAEL: (lowest observed adverse effect level) es la menor concentración o cantidad de sustancia empleada en experimentación que causa una alteración adversa en la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo de la vida en el organismo blanco. Se expresa en mg/Kg peso corporal/día.

Los estudios subcrónicos suelen realizarse en dos especies (perro, rata para Food Drugs Administration (FDA) rata y ratón para Environmental Protection Agency (EPA)) y por la vía de exposición prevista. Se emplean al menos tres dosis: una dosis alta que produce toxicidad, pero con nivel de mortalidad menor al 10%, una dosis baja que no produce efectos tóxicos evidentes y una dosis intermedia. Los animales deben observarse una o dos veces al día en busca de signos de toxicidad. Todas las muertes prematuras deben anotarse e investigarse con una necropsia. Los animales que agonizan se sacrifican para observar los tejidos y reducir el sufrimiento innecesario. Al cabo de 90 días se sacrifican los animales sobrevivientes recogiendo sangre y tejidos para su análisis posterior. Las anomalías macrosópicas y microscópicas de los órganos y tejidos se anotan y se estudian. Los análisis bioquímicos y urinarios se llevan a cabo antes de la exposición y en una etapa intermedia y al final de la exposición. Se realizan análisis de hemoglobina, hematocrito, hemograma, fórmula leucocitaria, recuento de plaquetas, tiempo de coagulación y el tiempo de protrombina. Las determinaciones en sangre comprenden glucosa, calcio, potasio, nitrógeno ureico enzima alanina aminotransferasa (ALT) aspartato aminotransferasa (AST) gammaglutamil transferasa (GGT), sorbitol deshidrogenasa, lactato deshidrogenasa y fosfatasa alcalina, creatinina, bilirrubina, triglicéridos, colesterol, albúmina, globulinas y proteínas totales. El análisis de orina comprende la determinación de la densidad específica y la osmolaridad, el pH, las proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, bilirrubina y urobilinógeno así como el examen microscópico de los elementos formes. Si existe la probabilidad de que los seres humanos experimenten una exposición significativa a la sustancia mediante contacto cutáneo o inhalación también es necesario llevar a cabo las pruebas dérmicas.

Pruebas crónicas

Los estudios de exposición crónica o prolongada se llevan a cabo de forma parecida a los estudios de subcrónicos, pero el período de exposición oscila entre 6 meses y 2 años. Las pruebas de toxicidad crónica están concebidas para valorar tanto la toxicidad acumulada como el potencial carcinogénico de las sustancias químicas. Los estudios anatopatológicos ma-

croscópicos y microscópicos se practican no sólo en los animales que sobreviven a la exposición crónica sino también en aquellos que mueren prematuramente.

La elección de la dosis es esencial para扇atizar que la mortalidad prematura secundaria a la toxicidad crónica no limita el número de animales se alcanza la esperanza de vida normal.

La mayoría de las disposiciones reglamentarias exigen que la dosis máxima administrada sea la **dosis máxima tolerable (DMT)** que corresponde a la dosis que inhibe ligeramente el aumento de peso corporal en un estudio subcrónico de 90 días. Generalmente se investigan una o dos dosis más, habitualmente un cuarto y la mitad de la DMT y un grupo control.

Los ensayos de toxicidad crónica suelen evaluar la capacidad carcinogénica de las sustancias. Deben ser registrados los tumores benignos y los malignos. Para los estudios crónicos de carcinogénesis están convenientemente diseñados es necesario disponer de un grupo control simultáneo con la edad, dieta, y condiciones equiparables de vida.

Otras pruebas

La mutagénesis es la capacidad que tienen las sustancias químicas para alterar el material genético del núcleo celular de manera que tales alteraciones se transmiten durante la división celular. En capítulos posteriores se describe estos métodos.

Los Estudios Toxicológicos Experimentales pueden tener, al menos, los siguientes objetivos:

1. Identificar el peligro o toxicidad
2. Conocer los efectos, su tratamiento y su reversibilidad: Es decir, cuales son las manifestaciones de la intoxicación, y si reivierten al cesar la exposición
3. Identificar los órganos diana sobre los que se produce fundamentalmente la acción del tóxico
4. Investigar los mecanismos de acción fisiopatológica, incluyendo el estudio de las dinas moleculares y las respuestas homeostáticas del organismo
5. Identificar la cinética de la sustancia en el organismo y metabolismo hacia productos más o menos activos
6. Investigar la susceptibilidad variable entre las distintas especies, sexos, etc, es decir, aquellos factores que modifican la toxicidad y que servirán para identificar grupos de población con más riesgo
7. Conocer las Interacciones con otras sustancias, tanto nutricionales como medicamentosas, tóxicas o teóricamente inactivas, así como de las condiciones que puedan modificar su absorción o eliminación
8. Diagnosticar la presencia del tóxico en muestras biológicas o no biológicas mediante bioensayos más sensibles que técnicas analíticas instrumentales, como en el caso de la detección de la toxina botulínica
9. Monitorizar y controlar la presencia de compuestos perjudiciales para el medio ambiente
10. Controlar la calidad en productos farmacéuticos, vacunas, etc.

Ensayos Toxicológicos Básicos

Según se ha indicado previamente, las legislaciones establecen requerimientos específicos de estudios diferentes según el uso de las sustancias. Básicamente suele estudiarse, además de las propiedades fisicoquímicas, lo siguiente:

1. Efectos agudos (tras una sola exposición)
2. Efectos por exposición repetida o prolongada
3. Efectos corrosivos
4. Efectos irritantes
5. Efectos sensibilizantes
6. Efectos carcinogénicos
7. Efectos mutagénicos
8. Efectos tóxicos para la reproducción y el desarrollo
9. Efectos tóxicos sobre el ambiente
10. Cinética en el organismo y degradación ambiental

Concepto de Métodos alternativos en experimentación animal

En la actualidad se sintetizan cada año más de 2000 nuevos productos entre sustancias químicas, medicamentos, cosméticos, plaguicidas, aditivos alimentarios, etc. La necesidad de evaluar experimentalmente su toxicidad para que las autoridades reguladoras autoricen su comercialización y uso, ha provocado una serie de reacciones. Por un lado, la exigencia de garantizar la salud pública de la población humana; por otro el gran número de animales empleados, 1500 animales en promedio se emplean para evaluar un producto y el sufrimiento a que se les somete, ha motivado la oposición de las asociaciones de defensa de los animales. Por su parte, los fabricantes se quejan del excesivo coste de los estudios toxicológicos. Entre ellos, se sitúan los toxicólogos, que consideran que los métodos actuales son ética y científicamente mejorables y en ciertos casos sustituibles. Todo ello está motivando el interés por el desarrollo de métodos alternativos a los protocolos oficiales de evaluación de la toxicidad en animales, bien por refinamiento de los procedimientos *in vivo*, bien por el diseño de nuevos ensayos totalmente *in vitro*.

El concepto de alternativas adquiere un sentido especial en este contexto e incluye a todos los métodos o técnicas que pudieran sustituir a los experimentos realizados con animales, reducir el número de animales empleados en cada ensayo, o mejorar los procedimientos ya existentes con el fin de disminuir el estrés y evitar el sufrimiento infringido a los animales. **Las tres erres** corresponden a las letras iniciales de los tres principios básicos que identifican a los métodos alternativos: **Reemplazo** de los procedimientos que emplean animales por otros que no los precisen; **Reducción** en el número de animales utilizados; y **Refinamiento** de los métodos usados para mejorar su eficacia o disminuir el dolor o sufrimiento infligido. Los campos más importantes en los que se sitúan los métodos alternativos son la educación, la investigación biomédica y la valoración de la toxicidad de los compuestos químicos.

Los estudios en animales han sido empleados en el área médica desde hace mucho tiempo ya sea en la investigación básica y aplicada, la enseñanza, así como en la valoración de las acciones y efectos producidos por xenobioticos.

En 1967 se creó en USA, "The United Action for Animals" (UAA), para promover las alternativas y fundamentalmente la sustitución de los métodos *in vivo*. En 1969, se establece en Inglaterra FRAME (Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments), con el objetivo de proponer estas prácticas en el ámbito científicas. Los organismos internacionales también han fomentado los métodos alternativos.

En 1971, la Resolución 621 del Consejo de Europa propone el establecimiento de un centro de documentación e información en métodos alternativos y bancos de tejidos para investigación. En 1986, mediante la Comunidad Europea insta a sus Estados miembros para que promocionen la legislación en torno a las "tres erres", lo que vienen haciendo desde entonces.

Centro Europeo para la Validación de los Métodos Alternativos (ECVAM), situado en Ispra, Italia, y en los Estados Unidos ha establecido un Comité Inter-agencias para la Validación de Métodos Alternativos (ICCVAM). Este organismo ha establecido los siguientes ítems:

1. **Evitar la repetición innecesaria** de experimentos *in vivo* e *in vitro*: Protocolos y estudios previos: Disponibilidad de la información, intercambio. Flexibilidad. Estrategias integradas.
2. **Modelos Matemáticos de Predicción:** Cinética ambiental de compuestos químicos Fármaco-toxicocinética (PB-PK) Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR).
3. **Mejoras en el diseño de estudios animales:** Reducción: número de animales usados Refinamiento: minimización del dolor y estrés; nuevos modelos.
4. **Uso de organismos inferiores no protegidos:** Bacterias, hongos, protozoos, algas, plantas, animales invertebrados.
5. **Vertebrados en etapas iniciales de desarrollo:** Peces, anfibios, reptiles, pájaros, mamíferos.
6. **Métodos *In vitro*:** Según su finalidad, los ensayos *in vitro* pueden ser pruebas sustitutivas de los ensayos con animales, o bien pruebas previas a las de aquellos, o con el carácter de complementarias para mejorar la sensibilidad y especificidad de los estudios con animales. Los métodos *in vitro* no pretenden suplantar globalmente a los ensayos *in vivo*. Los métodos *in vitro* presentan entidad propia entre los métodos experimentales y proporcionan una información más profunda sobre los mecanismos de acción tóxica que la obtenida *in vivo*. Los ensayos *in vitro* se agrupan y forman una batería de pruebas, cuyos resultados, conjuntamente considerados, permitirán la interpretación del objetivo propuesto.
Órganos: baños, perfusión, cultivo, cortes, órganos reconstituidos Explantes, reagregados celulares, micromasas, cocultivos Cultivo primario de células dispersadas, Líneas celulares/transgénesis Sistemas libres de células.
7. **Otros:** son empleados en educación, como los sistemas audiovisuales, los modelos mecánicos, o las simulaciones por computadora. Los estudios humanos, incluyen los epidemiológicos, la tóxico-vigilancia tras la introducción de los productos en el mercado, y el empleo de voluntarios. La utilización de humanos plantea diferentes interrogantes de tipo ético, que no debieran reservarse sólo a la experimentación con animales. Sin embargo, la información obtenida pue-

de ser muy valiosa. Así, varios estudios recientes con voluntarios han demostrado que algunos métodos oficiales de experimentación toxicológica con animales, como por ejemplo el de irritación dérmica, poseen muy mala capacidad predictiva de la toxicidad humana.

Biología de sistemas

Las nuevas tecnologías disponibles permiten examinar todo el universo de respuestas biológicas a una sustancia tóxica. Estas nuevas tecnologías que se aplican en el campo de la toxicología incluyen a la genómica (caracterización de gran parte o del conjunto del genoma de un organismo), la transcriptómica (caracterización de la mayoría o de todos los mRNAs, expresado en una célula o tejido), la proteómica (caracterización de la mayoría o de todas las proteínas expresadas en una célula o en el tejido), y la metabonómica (caracterización de la mayoría o todas las moléculas pequeñas en una célula o tejido, incluyendo sustratos, productos, y co-factores de reacciones enzimáticas). La integración de todos estos niveles de función molecular (genómica, transcriptómica, proteómica, metabonómica, etc.) hacia la comprensión del funcionamiento de un organismo vivo se denomina Biología de Sistemas.

Toxicogenómica

Los enfoques científicos tradicionales para dilucidar los efectos bioquímicos y moleculares de las sustancias tóxicas se han centrado en gran medida en el examen de vías bioquímicas que se relacionan con las respuestas observadas identificadas en la patología macroscópica, la histología, los análisis en sangre, así como las observaciones conductuales. En las últimas décadas, numerosas nuevas tecnologías basadas en el genoma han sido desarrolladas y se encuentran disponibles lo cual permite el análisis a gran escala de respuestas a estímulos externos. Debido a que cada nivel de análisis genera una base de datos enorme, la recolección, la organización, la evaluación estadística de los datos entra en el campo de la Bioinformática. En el campo de toxicología, el término toxicogenómica se utiliza para definir el área de investigación que combina la transcripción, la proteína y el perfil de metabolitos con la toxicología convencional para investigar la interacción entre los genes y el estrés ambiental en la causalidad de la enfermedad.

Genómica

El genoma humano se compone de aproximadamente 3 mil millones bases de desoxirribonucleótidos. En el genoma humano, hay, en promedio, alrededor del 0,1% de variabilidad en la secuencia de ADN entre dos individuos, y son estas diferencias las que contribuyen a la unicidad de cada persona. La mayor parte de esta variabilidad se encuentra en el polimorfismo de un solo nucleótido, o SNPs, aunque segmentos más grandes del ADN puede ser variable entre individuos, incluyendo la duplicación o pérdida de genes enteros. La identificación de variantes genéticas, como el polimorfismo genético podría contribuir a las diferencias interindividuales que presentan ciertos individuos con diferente susceptibilidad a los productos químicos u otros factores ambientales.

Además, la información genómica debe ser expresada en la célula. La expresión del genoma ocurre cuando la secuencia de codificación secuencia del ADN se convierte en ARN mensajero (mRNA). La transcripción de la información genómica contenida en la célula es sólo parcial. La expresión diferencial de genes en una célula dada es en gran parte responsable de la diversa función de las células, los tejidos y los órganos diferentes que constituyen el organismo de un individuo. Comprender cuales genes se expresan en un tejido dado, a qué nivel, y cómo los tóxicos perturban la transcripción del mismo es de gran relevancia para la toxicología. El ADN también genera pequeños ARN interferentes (siRNA, microRNAs) que son biológicamente activos y pueden participar en la regulación de la expresión génica. Además, la metilación del ADN es un determinante de la expresión génica en células y tejidos y las sustancias químicas exógenas pueden interferir con la función transcripcional mediante la metilación del ADN. Es importante destacar que, aunque tales cambios epigenéticos no resultan en la alteración de la genómica, pueden dar lugar a cambios fenotípicos hereditarios. Por lo tanto, los análisis genómicos en toxicología también pueden incluir técnicas para identificar los cambios inducidos por tóxicos en los patrones de metilación del ADN.

La toxicogenómica es la ciencia que estudia la modificación de la expresión génica debida a la acción de los tóxicos. Implica una nueva estrategia metodológica que utiliza las herramientas de la genómica para establecer el perfil de la expresión genética en individuos o células normales y expuestas a xenobióticos. Investiga los posibles mecanismos de toxicidad y propone un abanico de cambios en la expresión genética tanto frente a sustancias conocidas, como para nuevos xenobioticos.

Entre los ejemplos de la modificación de la expresión génica por xenobióticos encontramos: Existen modificaciones relacionadas con mecanismos de defensa en forma específicas, a modo de ejemplo, el ión níquel induce de forma altamente específica la expresión del gen *cap43*. También existen modificaciones que son relativamente inespecíficas como las respuestas de una célula al ser tratada con compuestos metálicos, en la que aumenta la expresión del gen de la metalotioneina (proteína directamente implicada en el transporte y bloqueo del metal) y que por tanto protege frente a su acción tóxica.

También encontramos modificaciones relacionadas con mecanismos de regulación.

Muchos compuestos, por ejemplo, concentraciones picomolares de plomo, actúan como señales para la activación de genes implicados en rutas de regulación enzimática, como las catalizadas por proteinquinasas, o bien alteran factores de transcripción.

Los genes que son inducibles por los tóxicos son candidatos para su utilización como biomarcadores de la exposición. Los cambios pueden hacerse permanentes por exposiciones prolongadas y surgir así fenotipos resistentes que aportan información sobre las dianas bioquímicas y los mecanismos de defensa. En ocasiones, surgen espontáneamente, por mutación, cambios permanentes, hereditarios, se seleccionan de forma natural a lo largo del tiempo y son responsables de la heterogeneidad de los individuos. Son útiles en este caso como marcadores de la susceptibilidad individual.

Transcriptómica

Uno de los primeros cambios que una célula exhibirá después de la exposición a una sustancia tóxica es un cambio en la expresión del gen.

El transcriptoma (todas las especies maduras de mRNA presente en una célula en un punto dado en el tiempo) es dinámico y representa el estado estacionario entre la velocidad de síntesis (transcripción) y la degradación de mRNAs en una célula. Los toxicólogos han utilizado el denominado análisis de "Northern blot" para evaluar el nivel de expresión de genes individuales en células o tejidos durante décadas. El ensayo Transcriptase Polymerase Chain Reaction "(RT-PCR) permite medir cuantitativamente el número relativo de especies de mRNA de genes específicos. Utilizando cebadores generales, también es posible amplificar el transcriptoma completo cuantitativamente para hacer muchas copias completas *in vitro*. Así, se puede obtener grandes cantidades de material para el análisis a partir de un número relativamente pequeño de las células. Utilizando tecnologías de microarrays, donde decenas de miles de oligonucleótidos únicos (o cDNAs) están anclados en una matriz sólida, es posible evaluar cuantitativamente la expresión de miles de ARNm únicos en una sola muestra, lo que permite capturar un perfil de expresión de todo el transcriptoma en un análisis.

Los perfiles de expresión génica pueden ser utilizados para proporcionar señales de tipo específico de respuesta tóxica, como una respuesta celular al daño del ADN o al estrés oxidativo.

Se espera que los ensayos de expresión génica puedan ser utilizados para facilitar una extrapolación más exacta entre especies, por ejemplo, los cambios inducidos por tóxicos en la expresión de genes en hepatocitos de rata, puedan ser comparables con la expresión de hepatocitos humanos bajo las mismas condiciones experimentales. Sin embargo, una de los principales desafíos en la toxicogenómica es que la regulación de la transcripción es altamente dinámica y que los perfiles de expresión cambian dramáticamente con la dosis y el tiempo. Debido a que la expresión funcional de un gen generalmente requiere la traducción del mRNA a una proteína, también hay un gran interés en el estudio del proteoma o de la totalidad de proteínas que están presentes en una célula o tejido a punto en el tiempo.

Proteómica

El análisis del proteoma de una célula o tejido es mucho más difícil que el análisis del transcriptoma, principalmente porque todavía no es posible "amplificar" el número de copias de proteínas en una célula. Además, la identificación inequívoca de proteínas específicas es mucho más difícil que la identificación de los ARNm individuales. La identificación de proteínas específicas se realiza generalmente utilizando una combinación de técnicas de separación (por ejemplo, electroforesis en gel 2D, cromatografía líquida de alta performance), seguido por espectrometría de masas en tandem para la identificación. El poder potencial de la proteómica reside en la capacidad de identificar patrones únicos de expresión de proteínas o la identificación de proteínas o péptidos, que son predictivos de una respuesta tóxica temprana o posterior desarrollo de la enfermedad.

Metabonomica o metabolomica

Se utiliza ambos términos en forma indistinta para describir el análisis del universo de las pequeñas moléculas que sirven como sustratos, productos y cofactores del medio de las reacciones enzimáticas y otros procesos metabólicos que definen las células vivas, y por lo tanto el organismo. Aunque se usan prácticamente en forma indistinta, para algunos autores los términos metabolómica y metabonómica hacen referencia a objetivos diferentes. Mientras la metabolómica cataloga y cuantifica a las moléculas pequeñas que se encuentran en los sistemas biológicos, la metabonómica estudia cómo cambian los perfiles metabólicos como respuesta a estreses, tales como enfermedades, tóxicos o cambios en la dieta.

Entre las posibles aplicaciones de la metabolómica se encuentran los estudios toxicológicos, ya que se podría estudiar el metaboloma de la orina y otros fluidos corporales para detectar los cambios fisiológicos causados por la exposición a un posible tóxico. Como parte de la genómica funcional, la metabolómica puede ser una herramienta para estudiar la función de los genes, a través de la mutación, delección o inserción de los mismos.

Los cambios metabolómicos deben reflejar los cambios biológicamente relevantes en la transcripción del gen, la traducción, la función de las proteínas y otros procesos celulares, incluidas las respuestas temporales y adaptativas, ignorando cambios biológicamente irrelevantes en estos factores.

Se utilizan para este fin dos técnicas que permiten identificar y medir cientos, o incluso miles, de pequeñas moléculas en muestras biológicas: la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y la espectrometría de masas. Ambos tienen sus ventajas y limitaciones y es probable que los enfoques más exitosos a la aplicación de la metabonómica a los problemas toxicológicos sea el empleo de ambas técnicas.

La toxicología ha evolucionado utilizando las herramientas científicas de avanzada, sin embargo sigue teniendo como finalidad elucidar los mecanismos de toxicidad y generar conocimiento para mejor entender el riesgo que provocan los xenobióticos utilizando tecnologías modernas.

Bibliografía

- Repetto, M. (1997). Toxicología fundamental. Ed. Díaz de Santo.
- Cassarett y Doull. (2005). Fundamentos de Toxicología. Ed. Mc Graw-Hill/Interamericana. Madrid-España.
- Eaton, D. and Klaassen, C. (2001). Chapter 2. Principles of Toxicology, en: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 6th edition: by Curtis D. Klaassen (Editor) By McGraw-Hill Professional.
- Haschek, Wallig & Rousseaux Editor. (2009). Fundamentals of Toxicologic Pathology, [2ndEdition](#), Elsevier.

CAPITULO 2

Disposición de tóxicos

Autor: Leda Giannuzzi

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

La toxicidad de una sustancia depende de la dosis. La concentración de un compuesto en su lugar de acción es proporcional a la dosis, pero existen diferencias cinéticas los compuestos en los cuales a una misma dosis dos compuestos generen concentraciones diferentes en un órgano o tejido. La disposición de un xenobiótico abarca los procesos de absorción, distribución y excreción. La Fig. 1 muestra las diferentes vías de absorción, distribución y excreción de tóxicos en el organismo.

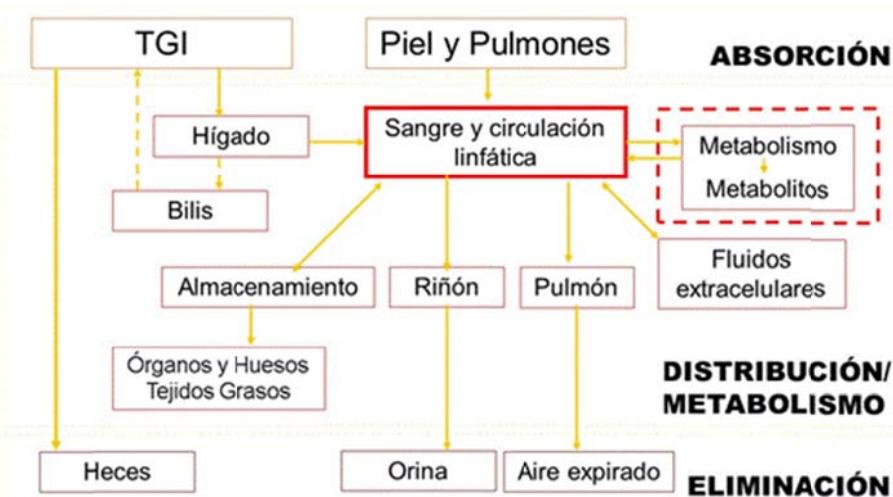


Figura 1: Vías de absorción, distribución y excreción de tóxicos en el organismo.

Una sustancia tóxica puede causar daño solo después de ser absorbida por el organismo.

Absorción

La **absorción** se define como el pasaje de un tóxico a través de una membrana hacia la circulación sanguínea. Esta puede ocurrir a través de la piel, tracto gastrointestinal, pulmones u otras vías de menor importancia.

La naturaleza de los efectos tóxicos de un producto químico depende de la concentración en los órganos objetivo. La concentración depende no solo de la dosis administrada sino también de otros factores: la absorción, distribución, unión a proteínas transportadores y excreción. Para ello, las sustancias deben atravesar membranas celulares (estratos bimolecular lípido-proteíco).

El grado de absorción, distribución y excreción de tóxicos está influenciado por las propiedades físico químicos de éstos y de las moléculas que influyen en ese transporte.

La absorción depende de ciertas características de las sustancias químicas como ser el grado de ionización, la liposolubilidad. También depende del área en la cual se absorbe.

Existen conceptos importantes a tener en cuenta en este proceso. Los iones que forman hidratos de gran tamaño impiden el paso a través de la membrana o forman complejos tipo mucopolisacáridos. Las sustancias muy polares como las sales amonio cuaternario no se absorben.

Una molécula liposoluble se absorbe fácilmente. Para ácidos y bases débiles la absorción depende del grado de ionización que es función del pK de la sustancia y del pH del medio.

Existen diversos factores que influyen en estos procesos, entre ellos, la velocidad de absorción o la fracción de absorción. Una baja velocidad de absorción no permitirá alcanzar una concentración suficiente para causar toxicidad. Además, puede ocurrir que la distribución de la sustancia química no sea en el tejido blanco de acción y por ello, disminuye su toxicidad. Asimismo, la biotransformación del xenobiótico puede dar lugar a un compuesto más o menos tóxico con consecuencias en la concentración y toxicidad en el lugar de acción.

Por otra parte, si la sustancia química es eliminada rápidamente, menor será su concentración y por ende su toxicidad en el órgano. Si un compuesto se distribuye hacia el tejido adiposo es probable que su eliminación sea lenta dado que una concentración en plasma muy baja impide la eliminación renal o por otra vía rápida.

La piel, los pulmones y el tracto gastrointestinal son las principales barreras que separan al organismo del medio que contiene gran cantidad de sustancias químicas. En los estudios toxicológicos experimentales a menudo se eligen otras vías como la intraperitoneal o la subcutánea.

Entre las diferentes vías de ingreso encontramos la intramuscular, la inhalatoria, a través de mucosas, la intraperitoneal, la rectal, la subcutánea, la intramuscular, la oral y la cutánea.

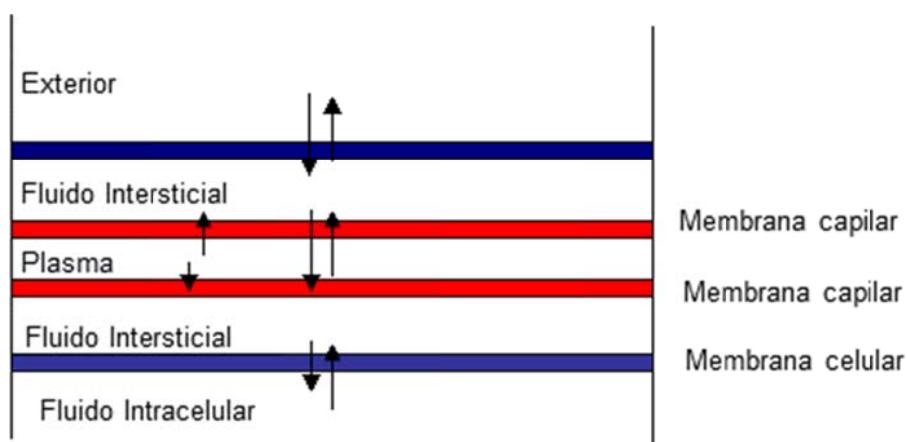


Figura 2: Absorción de los tóxicos

Los tóxicos atraviesan las membranas por mecanismos de transporte pasivo o activo. Las moléculas orgánicas lipofílicas difunden a través de la membrana por difusión simple. Las moléculas hidrofílicas pequeñas difunden por canales acuosos dependiendo de su gradiente de potencial químico. Para moléculas grandes, se forma un complejo liposoluble en la superficie de la membrana que difunde a favor de un gradiente de concentración. El mecanismo de transporte activo implica a un portador que desplaza células a través de una membrana en oposición a un gradiente de concentración. Requiere gasto de energía metabólica y puede ser inhibido por sustancias que interfieran en el metabolismo celular.

Sistema gastrointestinal (TGI)

El estómago es un sitio de absorción importante para ácidos débiles que existirán en la forma difusible no ionizada soluble de lípidos. La absorción en el intestino se realiza también por difusión y debido a su pH casi neutro, las bases y ácidos débiles no ionizados se pueden absorber con facilidad.

También existe reacciones con sustancias contenidas en el estómago (alimentos, medicamentos (gel de aluminio) o secreciones como mucina, pepsina, lipasa. Los metales tóxicos se absorben en baja cantidad.

El sistema digestivo puede visualizarse como un tubo que recorre todo el cuerpo. Su contenido debe ser considerado como exterior al organismo: los tóxicos no producirían daño hasta que no sean absorbidos por las paredes de algún tramo del TGI. La mayoría necesitará pasar a la sangre para ejercer su efecto. La absorción puede producirse en cualquier sitio a lo largo del TGI, desde la boca hasta el recto.

La nitroglicerina administrada sublingual se utiliza para tratar episodios de angina de pecho en personas que padecen la enfermedad de las arterias coronarias. Si el tóxico es un ácido o una base débil, se absorberá por difusión en aquella zona del tracto donde el pH asegure la máxima concentración de la forma no ionizada, la más liposoluble. Considerando que el jugo gástrico del estómago es muy ácido y que el contenido intestinal es prácticamente neutro, veremos que la absorción de un tóxico puede ser marcadamente distinta según la zona del TGI. Por ejemplo, la proporción de ácido benzoico o de anilina que existen en forma ionizada en el estómago y en el intestino se puede calcular así:

Para ácidos débiles

$$pK_a - pH = \log \frac{[\text{noionizada}]}{[\text{ionizada}]}$$

Ácido benzoico: $pK_a = 4$

Estómago: pH 2

$$4 - 2 = \log \frac{[\text{noionizada}]}{[\text{ionizada}]}$$

Para bases débiles

$$pK_a - pH = \log \frac{[\text{ionizada}]}{[\text{noionizada}]}$$

Anilina: $pK_a = 5$

Estómago: pH 2

$$5 - 2 = \log \frac{[\text{ionizada}]}{[\text{noionizada}]}$$

$$100 = \log \frac{[\text{noionizada}]}{[\text{ionizada}]}$$

$$1000 = \log \frac{[\text{ionizada}]}{[\text{noionizada}]}$$

La relación favorece la absorción en el estomago

Intestino pH= 6

$$4 - 6 = \log \frac{[\text{noionizada}]}{[\text{ionizada}]}$$

$$-2 = \log \frac{[\text{noionizada}]}{[\text{ionizada}]}$$

$$1/300 = \log \frac{[\text{noionizada}]}{[\text{ionizada}]}$$

Intestino pH=6

$$5 - 6 = \log \frac{[\text{ionizada}]}{[\text{noionizada}]}$$

$$-1 = \log \frac{[\text{ionizada}]}{[\text{noionizada}]}$$

$$1/10 = \log \frac{[\text{ionizada}]}{[\text{noionizada}]}$$

La relación favorece la absorción en el intestino

Podemos concluir que un ácido débil alcanza su máxima proporción de forma no-ionizada en el estómago (menor pH) y será predominantemente absorbido en ese comportamiento. Por otra parte, una base débil se absorberá preferentemente en el intestino (mayor pH). Debe considerarse además la capacidad del intestino delgado para absorber ácidos orgánicos débiles debido a su gran área absorbiva respecto a la del estómago y por ello, la cantidad absoluta que finalmente pasa de la sustancia es grande, aun cuando la forma no ionizada es proporcionalmente menor.

El TGI de los mamíferos posee sistemas especializados de transporte para la absorción de nutrientes y electrolitos: conocemos que los azúcares presentan un transportador particular; los aminoácidos son absorbidos de tres maneras diferentes; hay un transporte activo para las pirimidinas y los iones calcio, sodio y hierro tienen sistemas de transporte independientes. Los tóxicos aprovechan estos mecanismos fisiológicos para absorberse. Así es que 5-fluoruracilo (utilizada en terapia contra el cáncer) entrará como una pirimidina normal, el talio utiliza al transportador de hierro y el plomo con el transportador de calcio. La absorción de algunos metales es un proceso en dos etapas: el hierro difunde en las células intestinales y luego es transportado activamente a la sangre. El cobalto y el manganeso compiten con Fe en este sistema.

Pocos tóxicos que se absorben de modo activo en el TGI, la mayoría pasa por difusión simple. Debe considerarse que los mecanismos que regulan la absorción de tóxicos son de tipo generales. Si un compuesto tiene baja liposolubilidad, no significa que no será absorbido y por ello no tendrá efecto dañino; aún la entrada de una pequeña fracción de la dosis total puede

resultar tóxica. Los mecanismos que regulan la absorción de compuestos no liposolubles no están aún bien entendidos.

El epitelio del TGI tiene capacidad para absorber también materia particulada. Ejemplos de esto son ciertos colorantes azoicos o polímeros que pasan a las células intestinales como vesículas (por pinocitosis), siguen a la capa conjuntiva (lamina propria), y pasan finalmente al sistema linfático.

La estabilidad química de las sustancias frente al pH ácido del estómago, a las enzimas digestivas de éste y del intestino y a la flora intestinal es de importancia crucial en la toxicidad resultante. Por ejemplo, un veneno de víbora no es demasiado tóxico si es administrado oralmente, por la degradación enzimática que sufre en el TGI. En el estómago pueden formarse nitrosaminas carcinogénicas cuando debido al bajo pH, los nitritos utilizados como conservantes en chacinados reaccionan con aminas secundadas presentes naturalmente en frutas y pescado. La ingestión de nitratos en el agua de consumo es mucho más peligrosa en niños que en adultos, ya que ambos difieren en la calidad y ubicación de la flora intestinal que puede metabolizar nitrato a nitrito, un agente metahemoglobinizante. La flora intestinal es capaz también de realizar reducciones de grupos nitro-orgánicos, resultando en un factor carcinogénico para el hombre.

Varios factores son capaces de alterar la absorción gastrointestinal de tóxicos. Por ejemplo, el EDTA aumenta la permeabilidad de las membranas hacia todo tipo de compuestos debido a que secuestra al calcio. La alteración de la motilidad intestinal es otro factor importante pues a mayor tiempo de residencia mayor será la proporción absorbida y más interacciones adversas con la flora bacteriana pueden producirse. Las características físico-químicas de las sustancias influyen: la solubilidad en agua determinará qué proporción está efectivamente en solución y en contacto con el epitelio intestinal. A su vez el tamaño de partícula influye sobre la cinética de la disolución. Debido a esto el mercurio metálico tiene baja toxicidad oral y el óxido de As⁺³ varía su toxicidad de acuerdo con el tamaño de la partícula.

La velocidad de vaciamiento gástrico y la velocidad de tránsito intestinal también afectan la velocidad de absorción; si el xenobiótico pasa con rapidez por el intestino, no alcanza a entrar en contacto con la mucosa y sale intacto del tubo digestivo.

Luego de la absorción de un xenobiótico por vía oral, éste llega a la circulación general que depende de la cantidad absorbida por las células intestinales y de la biotransformación que ha sido realizada en dichas células, así como de la extracción hepática hacia la bilis. Este fenómeno de eliminación de las sustancias antes de su entrada a la circulación general se denomina **efecto del primer paso**. Es la inactivación que sufren en el hígado los xenobióticos antes de alcanzar el plasma.

Sistema respiratorio

El sitio de absorción son los alvéolos de los pulmones. La absorción se relaciona el área alveolar, el flujo sanguíneo y la proximidad de la sangre al aire alveolar. La absorción depende de la solubilidad del gas en sangre. La absorción de tóxicos gaseosos también aumenta en proporción a la diferencia de su presión parcial entre los alvéolos y la sangre venosa pulmonar.

En la Figura 3 se puede ver que cuando un tóxico gaseoso es inhalado, los tejidos toman el gas a partir de la sangre que los irriga. Los tejidos altamente vascularizados se saturarán rápidamente mientras que los poco vascularizados alcanzarán el equilibrio en mayor tiempo. La difusión de gas hacia la sangre ocurre hasta que las moléculas de gas en la sangre se equilíbren con las moléculas de gas en el espacio alveolar. Una vez alcanzado el equilibrio la concentración de xenobiótico en sangre y en fase gaseosa es constante. Esta proporción de solubilidad se denomina coeficiente de reparto entre la sangre y el gas y es una constante de cada gas.

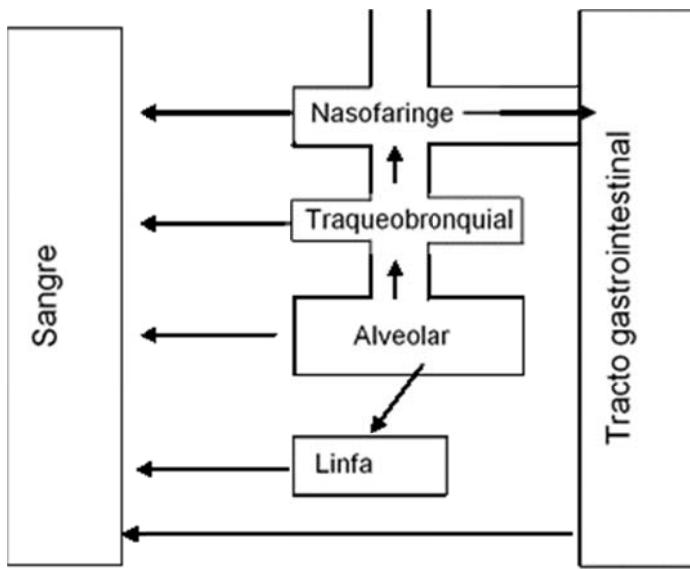


Figura 3: Esquema de la absorción y el transporte de sustancias químicas por el tracto respiratorio

Los factores ventilación, solubilidad, flujo sanguíneo pulmonar y diferencia de presión parcial alveolar sanguínea, pueden interaccionar entre sí. Si un gas es relativamente insoluble en sangre, la concentración alveolar iguala rápidamente la concentración inspirada y la absorción depende, principalmente del flujo sanguíneo a través del pulmón. Si un gas es muy soluble en sangre, la mayor parte del gas es retirado por la sangre hacia los tejidos y la absorción depende principalmente de la velocidad y profundidad de la respiración. Además, se absorben aerosoles (partículas sólidas o líquidas en fase gaseosa). Ej. Polvos, vapores, humos, pólenes y neblinas. El lugar de depósito de un aerosol en el tracto respiratorio es de gran importancia por combinación de fuerzas de absorción y mecanismos de remoción con la anatomía del tracto respiratorio.

Partículas entre 5 y 30 μ se depositan en la región nasofaríngea por impactación. Partículas entre 1 a 5 μ se depositan en la región traqueobronquial por sedimentación favorecido por la menor velocidad de la corriente aérea que permite la depositar por gravedad. Las partículas menores de 1 μ penetran en los alvéolos y se depositan por difusión. El movimiento browniano aumenta con la disminución del tamaño de partícula. La difusión es importante en los alvéolos.

La remoción alveolar se realiza por tres mecanismos:

- 1) Transporte hasta la capa mucociliada y de allí al sistema gastrointestinal
- 2) Fagocitosis por los macrófagos
- 3) Sistema linfático donde algunas partículas permanecen por períodos prolongados.

La eliminación de partículas de los alveolos es muy ineficiente, el primer día solo se elimina un 20% de las partículas y la porción que permanece más de 24 horas se elimina muy lentamente. La velocidad de depuración puede inferirse a partir de la solubilidad del compuesto en el líquido pulmonar, cuanto menor sea la solubilidad menor será la velocidad de eliminación.

Piel

La absorción percutánea ocurre a través de la piel (**epidermis** epitelio queratinizado estratificado escamoso, **dermis** capa fibroelástica rica en vasos y nervios e **hipodermis** tejido conectivo y adiposo). El espesor de la epidermis varía considerablemente dependiendo de su localización. La permeabilidad de la piel depende de la capacidad de difusión como del grosor del estrato corneo. Este es más grueso en la palma de las manos (entre 400-600 μ en zonas callosas) que, en brazos y espalda, piernas y abdomen (8-15 μ).

La piel es una barrera muy eficiente. Aparte de su función termorreguladora, protege al organismo de los microorganismos, la radiación ultravioleta y otros agentes nocivos, y también de la pérdida de agua excesiva.

El área de la epidermis representa un área de cien mil veces mayor que las otras vías de absorción. Los tóxicos difunden por la piel según sea su liposolubilidad. El tetracloruro de carbono y cloroformo penetran fácilmente por esta vía y pueden producir daño hepático severo. Los éteres glicólicos se absorben rápidamente por esta vía y producen toxicidad sistémica. Trabajadores que aplican pesticidas indican que la ruta dérmica gran potencial para la exposición ocupacional. Fosfatos orgánicos, paratión, malatión, insecticidas nicotínicos pueden ser absorbidos por la vía dérmica. Se ha informado efectos tóxicos en niños que han estado en contacto con contenedores vacíos de pesticidas tóxicos.

En 1980 en Argentina la absorción del derivado mercurial acetato de fenilmercurio por vía percutánea a través de pañales de tela que habían sido tratados en lavanderías con este compuesto provocaron una serie de reacciones en lactantes como ser sudoración, irritabilidad, alteraciones gastrointestinales, insomnio, mareos, anorexia y fotofobia.

Otras sustancias químicas que producen quemaduras por contacto por piel en bajas concentraciones son las mostazas nitrogenadas (β , β diclorodietil sulfuro o los análogos de lewisita clorovinil diclorarsina. Además, los gases nerviosos como Sarin se absorben por piel intacta.

El estrato córneo juega un rol crítico en la abrasión o remoción de esta capa provocando un aumento abrupto en la permeabilidad de la epidermis. El contenido de agua desempeña un papel importante en el proceso. El contenido normal (90 g agua/g tejido seco) aumenta la permeabilidad del estrato córneo.

La permeabilidad cutánea depende de la especie. La piel de la rata y conejo es más permeable que la del conejo. La del humano es similar al cobayo, mono y cerdo.

La absorción por piel incluye la difusión de sustancias a través de las capas inferiores de la epidermis (estrato granuloso, espinoso y germinativo) y de la dermis. Estas capas presentan un efecto barrera menor al del sustrato corneo y contiene un medio de difusión acuoso poroso y no selectivo. Los tóxicos cruzan esta zona mediante difusión y alcanzan la circulación general mediante los capilares venosos y linfáticos de la dermis.

Otras vías de absorción

Estas vías se utilizan en estudios de animales de laboratorio. Por la vía enteral, los tóxicos ingresan directamente en el aparato gastrointestinal. Los tóxicos administrados intraperitonealmente se absorben a través de la circulación portal y llegan primero al hígado antes de alcanzar los demás órganos y pueden incorporarse a la circulación general y distribuirse en otros órganos.

Distribución

Después que una sustancia química entra en la sangre, se distribuye rápidamente por todo el cuerpo. La velocidad de distribución en cada órgano está relacionada con el flujo sanguíneo a través del órgano, la facilidad con que el producto atraviesa la pared capilar local, la membrana celular y la afinidad de componentes del órgano con el xenobiótico.

Barreras

La **barrera hematoencefálica** está ubicada en la pared capilar. No es un obstáculo absoluto para el pasaje de tóxicos hacia el sistema nervioso central (SNC) pero es menor permeable que otras zonas del cuerpo. Las sustancias tienden a pasar por el endotelio capilar mismo. La acción de barrera hacia el pasaje de tóxicos es debido a razones tanto fisiológicas como anatómicas. Entre ellas podemos citar a la unión muy estrecha que presenta el epitelio capilar del SNC dejando pocos poros entre las células. Además, las células endoteliales de los capilares contienen proteínas mdr dependientes de ATP. La proteína mdr expulsa gran cantidad de sustancias fuera de la célula. Crea un flujo de expulsión de la célula dependiente de ATP con una amplia especificidad de sustrato. Existe como mecanismo de defensa contra sustancias xenobióticas.

Otra causa es que los capilares están rodeados por prolongaciones de células de la glía (astrocitos). Por último, las concentraciones de proteínas en el líquido intersticial son mucho menor que en otros líquidos del cuerpo que limita el movimiento de sustancias insolubles en agua mediante transporte paracelular. En medio fundamentalmente acuoso el transporte es posible cuando los compuestos están unidos a proteínas.

La baja concentración de proteínas del líquido intersticial del cerebro y el enlace a proteínas no sirve como mecanismo para la transferencia de sustancias tóxicas de la sangre al cerebro. Por ello, la penetración de sustancias tóxicas en el cerebro depende de su liposolubilidad. El metil mercurio entra en el cerebro con facilidad y su toxicidad principal se manifiesta en el sistema nervioso central. En contraste, compuestos inorgánicos del mercurio insolubles en lípidos no entran al cerebro con facilidad ejerciendo su efecto tóxico en el riñón.

La barrera hematoencefálica está poco desarrollada en el niño al nacer por eso algunas sustancias químicas son más tóxicas en recién nacidos que en adultos. El plomo produce encefalopatías en ratas recién nacidas, pero en adultas debido al desarrollo de la barrera.

La **barrera placentaria** difiere anatómicamente entre diversas especies animales. El número de capas cambia a medida que progresan la gestación. Posee sistemas de transporte activo y enzimas de biotransformación que protegen al feto de ciertas sustancias. Las sustancias difunden desde la sangre de la madre al feto. La concentración de las sustancias en los diversos tejidos del feto dependerá cada tejido para concentrar el tóxico.

La concentración de metil mercurio puede ser mayor en ciertos órganos fetales como cerebro debido a que la barrera sanguínea fetal es menos efectiva que en el adulto.

El **eritrocito** desempeña un papel interesante en la distribución de ciertos tóxicos. Su membrana representa un obstáculo para el pasaje del mercurio inorgánico, pero no para el alquilmercurio. Existe afinidad en el citoplasma del eritrocito por alquilmercurio. Debido a ello, la concentración de compuestos inorgánicos de mercurio en los eritrocitos es solo casi la mitad que en el plasma mientras que la de metil mercurio en el eritrocito es casi 10 veces mayor que en el plasma.

Almacenamiento de sustancias tóxicas en tejidos

La unión de un compuesto químico a un tejido puede dar lugar a una mayor concentración en el tejido. Los tóxicos se concentran en un tejido específico que puede ser el lugar de acción tóxica o no. En la medida que los tóxicos son biotransformados o excretados se irán liberando desde los depósitos. Por ello, la vida media del tóxico puede ser muy larga.

Las proteínas del plasma unen constituyentes fisiológicos normales en el cuerpo, así como compuestos extraños. La mayoría de los xenobióticos se unen a la albúmina y por lo tanto no están disponibles de inmediato para su distribución al espacio extracelular.

La albúmina puede unir Ca, Cu, Zn, bilirrubina, ácido úrico, vitamina C, adenosina, tetraciclina, cloranfenicol, digoxina, ácidos grasos, suramina, penicilina, salicilato, colorantes ácidos, sulfamidas, estreptomicina, rojo fenol, histamina, tiroxina, barbitúricos, entre otros). Debido a la reversibilidad del enlace, la sustancia química enlazada puede ser separada de la albúmina. La

importancia toxicológica de esto se manifiesta con la posible inducción del estado de coma por la administración de fármacos de sulfonamida a pacientes que toman medicamentos antidiabéticos. Estos medicamentos se unen a las proteínas, pero pueden ser reemplazados por las sulfonamidas con mayor afinidad por las proteínas del plasma. Por lo tanto, los medicamentos antidiabéticos liberados pueden provocar un coma hipoglicémico.

El hígado y el riñón tienen una mayor capacidad de enlace de sustancias químicas. Esta característica se puede relacionar con sus funciones excretoras y metabólicas.

Ciertas proteínas se han identificado por sus propiedades de enlace específico por ejemplo las metalotioneínas que son importantes en el enlace cadmio en el hígado y riñón y en la posible transferencia del metal del hígado al riñón. La unión de una sustancia a una proteína de un órgano puede aumentar su concentración en un órgano con rapidez. El plomo luego de 30 minutos de administración se encuentra 50 veces más concentrado en hígado que en plasma.

El tejido adiposo es un importante depósito de almacenamiento de sustancias liposolubles como DDT, bifenilos policlorados (PCB). Las concentraciones en plasma de las sustancias almacenadas en grasas pueden aumentar marcadamente como resultado de la movilización de la grasa que sigue luego de un adelgazamiento brusco.

Los huesos es el sitio principal del almacenamiento de sustancias tóxicas como fluoruros, plomo y estroncio. El almacenamiento se realiza a través de una reacción de adsorción de intercambio entre los tóxicos alojados en el líquido intersticial y los cristales de hidroxiapatita del mineral óseo. En virtud de la similitud de tamaño y carga, los iones fluoruro reemplazan fácilmente al OH⁻ y el calcio puede ser reemplazado por el plomo o estroncio. Estas sustancias almacenadas pueden ser liberadas por el intercambio iónico y por disolución de cristales óseos a través de la actividad osteoclástica.

Excreción

Se excretan las sustancias químicas originales o sus metabolitos y/o como conjugados de ellas. La ruta principal de excreción es la orina, pero el hígado y los pulmones también son importantes.

Excreción urinaria se realiza por los mismos mecanismos que se utilizan en la eliminación de productos finales del metabolismo: filtración glomerular, difusión tubular y secreción tubular.

Los capilares glomerulares tienen poros grandes (40 Å), la mayoría de las sustancias se filtrarán en el glomérulo salvo aquellas que sean muy grandes 60000 de peso molecular o que estén ligadas a proteínas plasmáticas. Luego, será **reabsorbida** en forma pasiva por las células tubulares si tiene un alto coeficiente de partición lípido/agua o bien permanecerá en el lumen tubular y será excretada si se trata de un compuesto polar. El pH de la orina influye en la reabsorción de compuestos. En la Figura 4 se observa que el fenobarbital (barbitúrico de características ácidas) es más retenido en el organismo cuando la orina es acida. En cambio, si la orina es alcalina la depuración por el riñón aumenta considerablemente.

Un tóxico se puede excretar también a través de los túbulos hacia la orina por difusión pasiva. Como la orina normalmente es ácida, éste proceso desempeña un papel importante en la excreción de gases orgánicos. Los ácidos orgánicos tienen poca probabilidad de ser excretados por difusión pasiva a través de las células tubulares. No obstante, a menudo los ácidos débiles se metabolizan en ácidos más fuertes y aumentar las formas iónicas que no se reabsorben a través de las células tubulares y son excretadas.

Ciertas sustancias tóxicas pueden ser secretadas por las células de los túbulos proximales hacia la orina. Existen dos mecanismos distintos, uno para ácidos orgánicos (conjugados con ácido glucurónico y sulfato) y otro para bases orgánicas. Los tóxicos unidos a proteínas también pueden ser excretados por orina siempre que el enlace sea reversible. Además, xenobióticos de características químicas similares compiten por el mismo sistema de transporte. Ejemplo el promenecid aumenta el nivel sérico de la penicilina y prolonga su actividad bloqueando su excreción tubular.

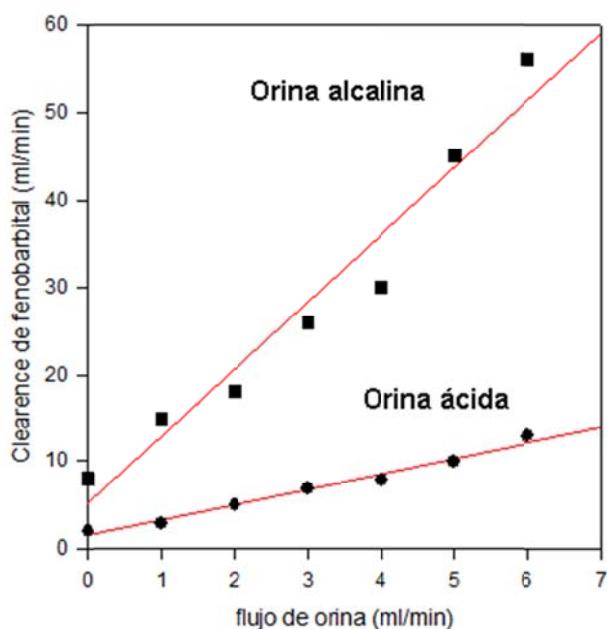


Figura 4: Eliminación por orina del fenobarbital en orina ácida y alcalina

Algunas sustancias se excretan por orina mediante secreción activa. La Fig. 5 muestra las diferentes familias de transportadores presentes en el riñón. Los transportadores oat, se sitúan en la membrana basolateral del túbulito proximal. La familia de oct capta determinados cationes. Una vez que los xenobióticos se encuentran en las células tubulares serán segregados hacia el lumen por las proteínas mdry mrp. El transportador de catión orgánico octn2 y el transportador de pépticos PEP2 reabsorben las sustancias químicas desde el lumen tubular. A diferencia de lo que ocurre en la filtración los tóxicos unidos a proteínas estos pueden acceder al transporte activo.

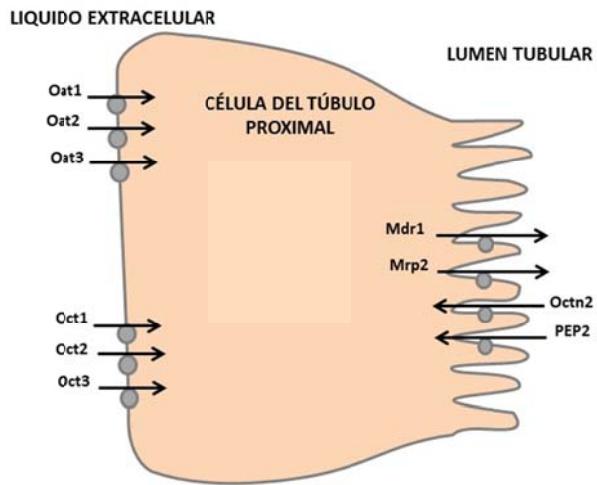


Figura 5: Modelo esquemático que muestra los sistemas de transporte en el túbulito proximal del riñón. Transportadores de aniones orgánicos (oat), Transportadores de cationes orgánicos (oct), proteína de multiresistencia (mdr) y transportadores de pépticos (PEP)

Muchas funciones de los riñones no están desarrolladas al nacer por ello algunos xenobióticos se eliminan más lentamente en los recién nacidos y puede resultar ser más tóxicos en ellos. Es posible estimular el desarrollo del transportador de ácidos orgánicos mediante la administración de sustancias que son excretadas por este transportador. En el túbulito proximal se reabsorben las proteínas plasmáticas que se han filtrado en el glomérulo. Por ello un tóxico unido a estas proteínas puede ser transportado al interior de la célula y causar efecto tóxico.

Excreción biliar

El hígado es otro órgano importante para la excreción de sustancias tóxicas, en especial para compuestos de alta polaridad (aniónicos y catiónicos) que se encuentran unidos a proteínas plasmáticas, así como para compuestos de pesos moleculares mayores de 300. Estos compuestos en la bilis no son reabsorbidos en la sangre y se excretan por materia fecal. Hay excepciones como los conjugados con glucurónido que se hidrolizan por la flora intestinal haciendo posible la reabsorción de sustancias tóxicas libres. Compuestos que se excretan por vía biliar son: digoxina, verde de indocianina, la oubaína y más notable el dietilestilbestrol (DES). En animales de laboratorio, es posible observar que si los conductos biliares se ligan la toxicidad puede aumentar 130 veces.

La Fig. 6 muestra los numerosos transportadores que contienen los hepatocitos que trasladan las sustancias extrañas desde el plasma al hígado y desde el hígado hasta la bilis.

Hígado

El péptido taurocolato dependiente de sodio (Ntcp), presente en la cara sinusoidal del hepatocito transporta los ácidos biliares como taurocolatos hacia el hígado, mientras que la proteína excretora de sales biliares (bsep) transporta los ácidos biliares afuera de los hepa-

tocitos hacia los canalículos biliares. En la membrana sinusoidal del hepatocito existen numerosos transportadores el oatp1 y 2, el transportador específico del hígado (1sp), los transportadores de cationes orgánicos (oct), que introducen los xenobióticos en el hígado. Luego el xenobiótico en el hepatocito es transportado hacia la sangre o bilis o bien ser biotransformado hasta convertirse en un compuesto hidrosoluble que será transportado hacia la bilis o nuevamente a la sangre.

Las proteínas de multiresistencia (mdr1) y (mpr2) transportan los xenobióticos hacia la bilis mientras que las mpr3 y mpr6 devuelven los xenobióticos hacia la sangre.

Una vez en la bilis alcanza el intestino y el compuesto puede reabsorberse o eliminarse por heces. Muchos compuestos orgánicos se conjugan antes de ser excretados por la bilis. Sin embargo, la flora intestinal puede hidrolizar los conjugados de glucurónico y sulfato proporcionándole lipofilia para ser reabsorbido y acceder al ciclo enterohepático.

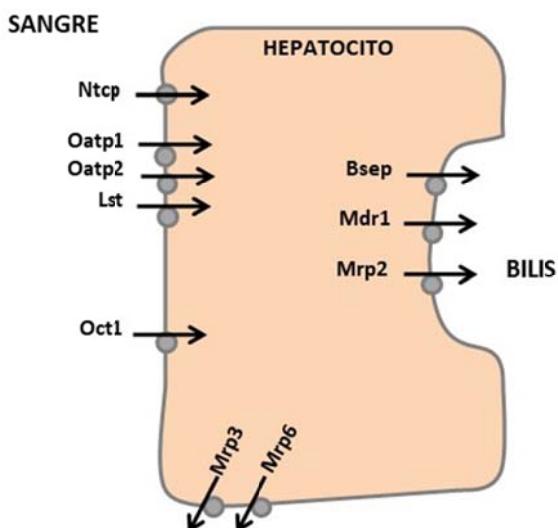


Figura 6: Modelo esquemático del sistema de transporte en el hígado. Péptido-taurocolato dependiente de sodio (Ntcp), Polipéptido transportadores de aniones orgánicos (oatp), Transportadores específicos del hígado (1sp), proteínas secretoras de sales biliares (bsep), Transportadores de cationes orgánicos (oct), proteína de multiresistencia (mdr) y (mpr).

Pulmones

Las sustancias que existen en fase gaseosa a la temperatura del cuerpo, se excretan por los pulmones. Los líquidos volátiles también se excretan en aire espirado. La excreción de sustancias tóxicas por los pulmones se realiza por difusión simple a través de las membranas celulares.

Otras vías de excreción

Leche: la excreción se realiza por difusión simple. Como la leche es ligeramente ácida, los compuestos básicos alcanzarán un nivel más elevado en la leche que en el plasma mientras que sucede lo contrario para los compuestos ácidos. Los compuestos lipofílicos (DDT, PCB) alcanzarán un nivel superior en leche que en plasma debido a su contenido graso. Otras vías son el sudor y la saliva

Niveles de sustancias tóxicas en el organismo

La naturaleza e intensidad de los efectos tóxicos de un producto químico depende de su concentración en el lugar de acción es decir la dosis efectiva que difiere de la dosis administrada. Como el nivel del tóxico en la sangre se determina con mayor facilidad, en especial en cierto intervalo de tiempo, es el parámetro que se emplea a menudo en estudios toxicocinéticos. La influencia en el nivel de excreción se visualiza en los ejemplos en los cuales la sacarina es excretada con rapidez por lo que su nivel en sangre disminuye rápidamente aún después de una administración repetida. Por otra parte, el metil mercurio se excreta muy lentamente y su acumulación gradual culmina en un nivel casi estable solo después de 270 días.

Biotransformación de tóxicos

Muchos productos químicos sufren biotransformaciones (transformación metabólica) mientras están en órganos y tejidos. La biotransformación se define como: *la suma de procesos por el cual los compuestos químicos extraños son sujetos a cambios químicos por los organismos vivos*. El sitio más importante para que ocurran las biotransformaciones es el **hígado**; otros órganos donde la biotransformación ocurre son pulmones, estómago, intestino, piel, riñones, glándulas adrenales, testículos, ovarios, placenta, etc. La capacidad hepática para biotransformar tóxicos, reside fundamentalmente en las células epiteliales.

Los organismos animales han desarrollado un número de procesos bioquímicos que convierten a los compuestos lipofílicos en metabolitos más hidrofílicos. Este aumento en la hidrosolubilidad reduce su partición en membranas biológicas y su distribución en tejidos, reduciendo así la reabsorción de compuestos en los túbulos renales e intestino y promueve la excreción de los mismos por la orina heces y bilis. Se sabe que no siempre las biotransformaciones de sustancias biológicamente activas en el organismo conducen a la inactivación. El proceso de biotransformación tiene importancia crucial en la manifestación tóxica de un xenobiotico. En la mayoría de los casos la biotransformación puede disminuir la toxicidad de los compuestos, pero en otros casos, puede aumentarla. Muchas veces el compuesto original no es tóxico, pero sí lo es su producto de biotransformación, ese es el caso del metanol o el etanol donde su biotransformación conduce a metabolitos tóxicos como formaldehido y acetaldehído respectivamente.

Muchas de las reacciones de biotransformación metabólica que culminan en la producción de metabolitos inactivos de compuestos endógenos, generan metabolitos biológicamente activos de compuestos exógenos. La biotransformación ocurre tanto sobre xenobióticos como en diversos compuestos endógenos como esteroides, vitaminas y ácidos grasos. El proceso de biotransformación se ha dividido en dos grandes grupos de actividad enzimática: reacciones de fase I y reacciones fase II, tal como se presenta en la Figura 7.

Luego, los metabolitos activados podrán reaccionar con macromoléculas como los ácidos nucleídos, las proteínas, los lípidos, interactuar con receptores, enzimas y producir los efectos

biológicos que conducirán a la sintomatología observada. Los productos de biotransformación, ya sea los metabolitos activos como los inactivos, así como el tóxico original pueden seguidamente ser eliminados mediante la excreción siendo la vía renal una de la más importante.

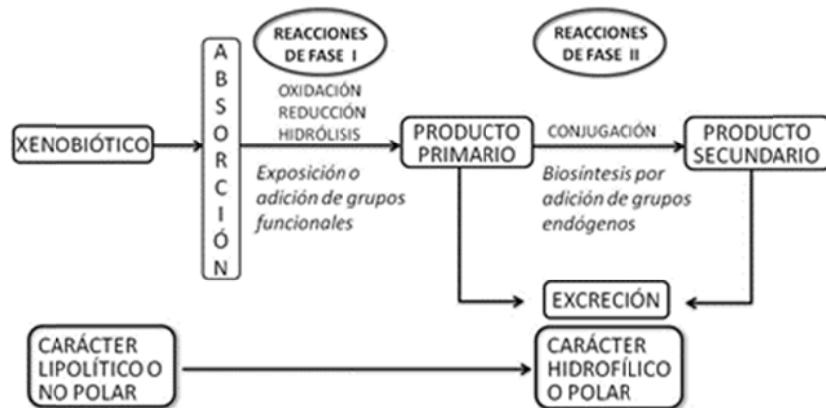


Figura 7: Integración del proceso de biotransformación de xenobióticos

En términos generales podemos decir que la biotransformación es la conversión de sustancias químicas endógenas y exógenas en compuestos más hidrofílicos. En la biotransformación participan un pequeño grupo de enzimas que presentan una amplia afinidad por el sustrato. Las reacciones bioquímicas llevadas a cabo por la biotransformación permiten variar los efectos biológicos de las sustancias. Algunas de las enzimas que participan en este proceso son inducibles, es decir se sintetizan en respuesta al xenobiótico, sin embargo, la mayoría de las enzimas son constitutivas, es decir, responsables de los procesos vitales fundamentales, y su síntesis se realiza en ausencia de un estímulo externo. La manera en la cual los compuestos se vuelven más hidrosolubles es mediante el proceso de biotransformación que introducen grupos polares en partes de la molécula de menor polaridad.

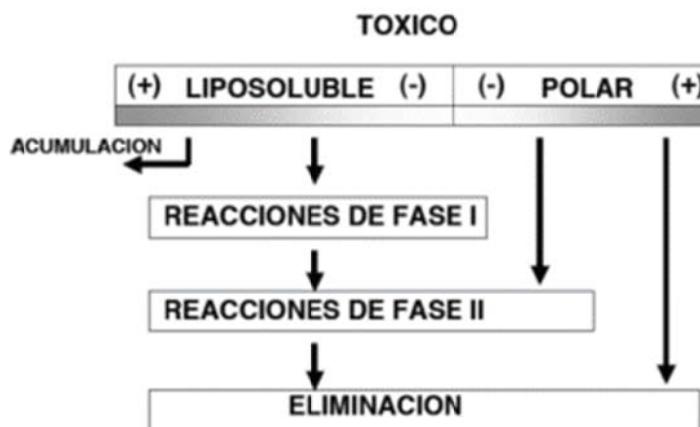


Figura 8: Fases de la biotransformación de tóxicos

Como se mencionó anteriormente, este proceso ocurre en dos etapas:

- En **fase I** cursan con transformación de determinados grupos funcionales en otros nuevos. Por ejemplo un alcohol se puede transformar en un aldehído, o un éster se hidroliza para dar un ácido y un alcohol, o un resto no polar de un hidrocarburo alifático o aromático se oxida para dar un alcohol o un fenol de naturaleza polar, etc.
- En la **fase II** ocurren reacciones de conjugación donde se combinan los xenobióticos o los metabolitos que resultan de la fase I, con moléculas endógenas de bajo peso molecular, como el sulfato, el ácido glucurónico, la glicina, el agua, grupos metilo, etc.

Es importante la existencia de estas dos etapas ya que, no siempre la biotransformación que ocurre en la etapa I, produce una pérdida de actividad biológica indeseable para el organismo o en el grado de hidrosolubilidad que permite la excreción rápida.

Las reacciones de biotransformación de los xenobióticos se clasifican según sean de funcionalización (fase I) o de biosíntesis (fase II).

Las reacciones de fase I exponen o introducen un grupo funcional (-OH, -NH₂, -SH₂, o COOH) al xenobiótico original y comprenden reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis. Estas reacciones pueden dar origen a un pequeño aumento de hidrofilia.

La biotransformación de fase II abarcan reacciones de glucuronización, sulfonación (sulfatación), acetilación, metilación, conjugación con glutatión (síntesis de ácidomercaptúrico), conjugación con aminoácidos como la glicina, taurina y el ácido glutámico. La mayoría de las reacciones provocan un importante aumento en la hidrofilia del xenobiótico y ello favorece la excreción. Los productos de estas reacciones de conjugación, son en general, más polares y de menor actividad biológica. Esta reacción de conjugación ocurre sobre un grupo funcional del xenobiótico o en sus metabolitos, por ejemplo, un alcohol, un fenol, un resto carboxilo de un ácido, un amino, etc.

Las reacciones de la etapa I se denominan reacciones de funcionalización donde a los xenobióticos se exponen los grupos funcionales. Estas reacciones son de oxidación, reducción o procesos de hidrólisis.

Las reacciones de la etapa II presentan reacciones de síntesis que conducen a la formación de glucurónidos, acetamidas, ácidos mercaptúricos, ácidos hipúricos, metil aminas, etc.

Dentro de la célula en particular, gran parte de la actividad metabolizante reside en el retículo endoplásmico y en el citosol, aunque también pueden efectuarse biotransformaciones en mitocondrias, cubierta nuclear y membrana plasmática. La mayor parte de las reacciones correspondientes a la etapa I, se producen en el retículo endoplásmico, tanto en su componente rugoso como en el liso. Una fracción menor de esos procesos pueden realizarse en la membrana externa de la envoltura nuclear.

Las enzimas que catalizan los procesos en la etapa II ocurren predominante en el citosol, como la *sulfotransferasa*, la *metil transferasa*, mientras que la enzima *glucuronil transferasa* y la *epóxidohidratasa* están ubicadas en el retículo endoplásmico. Las reacciones de acetilización ocurren fundamentalmente en las mitocondrias y en el citosol.

Biotransformaciones de fase I y fase II

Con la homogenización y la centrifugación diferencial de los tejidos, el retículo endoplasmático y los fragmentos de membrana, forman microvesículas llamadas microsomas. Los microsomas son artefactos del retículo endoplasmático formadas artificialmente a través ruptura de las células eucariotas. Se aíslan por centrifugación diferencial a 10000 g y 100000 g.

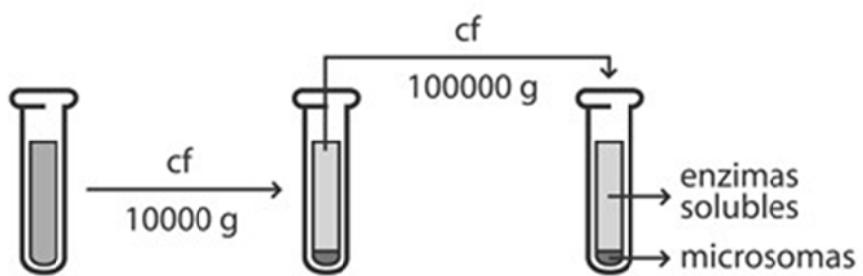


Figura 9: Separación de los microsomas

En el primer paso, las enzimas y los microsomas solubles permanecerán en el sobrenadante. En el segundo paso, solamente enzimas solubles permanecen en el sobrenadante y los microsomas sedimentan. Los microsomas son herramientas para el estudio de metabolismo *in vitro*.

Caracterización de enzimas microsomales de fase I

La Fig. 10 muestra las transformaciones que provocan los procesos de oxidación, reducción e hidrólisis, que productos se forman y se mencionan algunos ejemplos de compuestos que son procesados de ese modo. Se conocen los siguientes procesos: oxidación alifática, hidroxilación aromática, epoxidación, desaminación oxidante, N-desalquilación, O-desalquilación, S-desalquilación, N-oxidación, N-hidroxilación, P-oxidación, sulfoxidación, desulfuración. Las reducciones de sustancias tóxicas pueden llevarse a cabo por enzimas reductasas que llevan a cabo reacciones de nitroreducción, azoreducción.

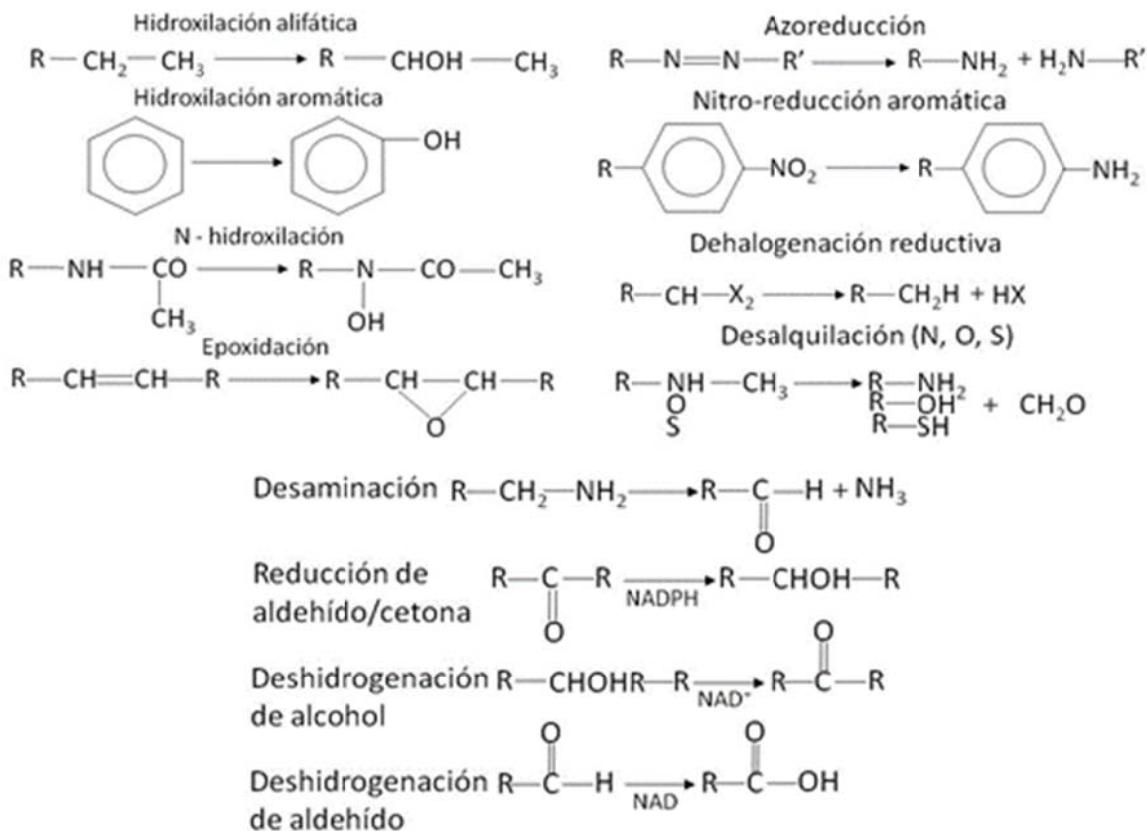


Figura 10: Reacciones de biotransformación

Oxidaciones

Existen una gran variedad de enzimas que realizan oxidaciones, se describirán solo las de mayor relevancia toxicológica. Entre ellas podemos nombrar: Alcohol deshidrogenada (ALD), aldehído deshidrogenada (ALDH), monoaminoxidasa (MAO), la cooxidación dependiente de peroxidasas y flavinmonoxigenas y el citocromo P-450.

Alcohol deshidrogenasa

El alcohol se metaboliza en el organismo fundamentalmente por dos enzimas hepáticas, la *alcohol deshidrogenasa* (ADH) y la *acetaldehído deshidrogenasa* (AIDH). La acumulación del primer metabolito de la degradación del alcohol, el acetaldehído, es el responsable de importantes efectos en la intoxicación tanto aguda como crónica (Fig. 11).

La enzima *alcohol deshidrogenasa* es una enzima citosólica presente en diversos tejidos como el hígado, riñones, pulmones, mucosa gástrica. Existen 4 clases de ADH, las de clase I (α -ADH, β -ADH y γ -ADH) son las responsables de oxidación del etanol y otros alcoholes alifáticos pequeños. La de clase II (δ -ADH) se expresa sobre todo en el hígado donde oxidan preferentemente alcoholes aromáticos y alifáticos mayores. La de clase III (ϵ -ADH) oxidad preferentemente alcoholes de cadena larga (pentanol y mayores) y alcoholes aromáticos. Las de clase IV (θ -ADH y μ -ADH) no se expresan en el hígado y son activas para la oxidación del retinol.

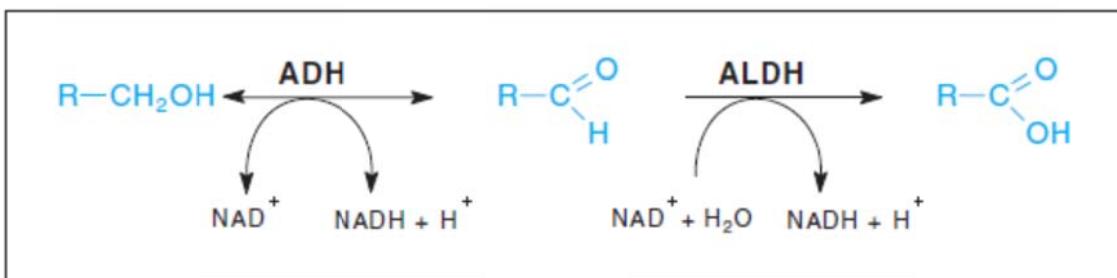


Figura 11: Oxidación de alcoholes a aldehídos y a ácidos carboxílicos por la *alcohol deshidrogenasa* (ADH) y *aldehído deshidrogenasa* (ALDH)

La enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) presenta diversas isoenzimas, codificadas por al menos, cinco genes diferentes. Se clasifican en tres clases de acuerdo con: su movilidad electroforética, sus propiedades inmunológicas, la especificidad de sustrato y su sensibilidad frente a inhibidores.

La enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) oxida los aldehídos para formar ácidos carboxílicos utilizando NAD⁺ como cofactor. Tienen también actividad estearasa.

Las distintas ALDH se distinguen por su secuencia primaria de aminoácidos y por su estructura cuaternaria. La ALDH es una enzima microsomal y gracias a su elevada afinidad por los aldehídos simples como el acetaldehído.

Está además ampliamente demostrado el carácter heredable del desarrollo de alcoholismo mediante estudios epidemiológicos realizados en gemelos di- y monocigóticos y en hijos de padres alcohólicos adoptados por familias no alcohólicas. No obstante, el establecimiento de un patrón genético de riesgo debe tomar en consideración el polimorfismo de la ADH, el de la ALDH, el del CYP-450IIE1 (responsable del MEOS) y quizás también los de la transferrina y la GGT (gamma glutamil transpeptidasa), ambas polimórficas y afectadas por la ingesta crónica de alcohol.

La ALDH2 es una enzima mitocondrial que, en virtud de su alta afinidad, es principalmente responsable de la oxidación de aldehídos simples, tales como acetaldehído (K_m para acetaldehído $<5 \mu M$ a pH 7,4). Un polimorfismo genético para ALDH2 se ha documentado en humanos. Un alto porcentaje (45 a 53 %) de la población japonesa, china, coreana, taiwanesa y vietnamita son deficientes en actividad de ALDH2 debido a una mutación puntual. Este alelo inactivo, la variante de ALDH2 se conoce como ALDH2*2, para distinguirla de la enzima activa, de tipo salvaje, ALDH2*1. Esta misma población (es decir, los asiáticos del Pacífico) también tiene una alta incidencia de la forma atípica de ADH (es decir, ADH2*2), lo que significa que rápidamente convierten el etanol en acetaldehído, pero solo convierten lentamente el acetaldehído en ácido acético. También tienen una prevalencia relativamente alta de una deficiencia de actividad de ADH clase IV, que afecta el metabolismo gástrico del etanol). Como resultado, muchos asiáticos experimentan un síndrome de rubefacción después del consumo de alcohol debido a una rápida acumulación de acetal-

dehído, que desencadena la dilatación de los vasos sanguíneos faciales a través de la liberación de catecolaminas. Los nativos americanos también experimentan un síndrome de rubor después de consumir alcohol, aparentemente porque expresan otra variante alélica de ALDH2 y / o porque la oxidación de acetaldehído en los eritrocitos de la sangre se ve afectada en estos individuos, posiblemente debido a la expresión de una forma variante de ALDH1. Las variantes genéticas funcionales de ADH que rápidamente convierten el etanol en acetaldehído (es decir, ADH2*2) y las variantes genéticas de ALDH que desintoxican lentamente acetaldehído, protegen contra el consumo excesivo y el alcoholismo.

La inhibición de ALDH por disulfiram (Antabuse) provoca una acumulación de acetaldehído en alcohólicos. El efecto desagradable (nauseas) del acetaldehído sirve para disuadir el consumo continuado de etanol. Sin embargo, es importante tener en cuenta que una predisposición hacia el alcoholismo no está simplemente determinada por factores que afectan la farmacocinética del etanol y sus metabolitos. Estudios en humanos y roedores implicados en el receptor de serotonina 1b, receptor de dopamina D2, triptófano hidroxilasa y neuropéptido han sido propuestas como dianas candidatas de susceptibilidad genética en la acción farmacodinámica de etanol. Las deficiencias genéticas en otras ALDH afectan el metabolismo de otros aldehídos, que es la base subyacente de ciertas enfermedades. Por ejemplo, deficiencia de ALDH4 perturba el metabolismo de la prolina y causa hiperprolinemia de tipo II, cuyos síntomas incluyen retraso mental y convulsiones. Una deficiencia de ALDH10, que desintoxica los aldehídos grasos, perturba el metabolismo de los lípidos de la membrana. Esta es la base subyacente del síndrome de Sjögren-Larson, cuyos síntomas incluyen ictiosis (retraso mental y hemiplejia o tetraplejia espástica progresiva).

Las consecuencias toxicológicas de una deficiencia heredada o adquirida de ALDH (inducida por fármacos) ilustran que los aldehídos son más citotóxicos que los alcoholes correspondientes. Esto es especialmente cierto para el alcohol alílico ($\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2\text{OH}$), que se convierte por ADH en la acroleína altamente aldehído hepatotóxica ($\text{CH}_2 = \text{CHCHO}$). La oxidación de etanol por ADH y ALDH conduce a la formación de ácido acético, que se oxida rápidamente a dióxido de carbono y agua. Sin embargo, en ciertos casos, los alcoholes se convierten en ácidos carboxílicos tóxicos, como en el caso de metanol y etilenglicol, que se convierten a través de intermedios de aldehído en ácido fórmico y en ácido oxálico, respectivamente. Los ácidos fórmico y oxálico son considerablemente más tóxicos que el ácido acético. Por esta razón, el envenenamiento con metanol y etilenglicol es comúnmente tratado con etanol, que inhibe competitivamente la oxidación de metanol y etilenglicol por ADH y ALDH. El potente inhibidor de ADH, el 4-metilpirazol (fomepizol) también se usa para tratar el envenenamiento por metanol y etilenglicol.

La monoaminoxidasa (MAO): interviene en la desaminación oxidativa de aminas primarias, secundarias y terciarias como las catecol aminas y de numerosos xenobióticos. La desaminación oxidativa de aminas primarias produce amoniaco más un aldehído mientras que la de una amina secundaria da lugar a una amina primaria y un aldehído. Los aldehí-

dos formados por la MAO suelen luego seguir oxidándose por otras enzimas para producir los ácidos carboxílicos correspondientes. La MAO se localiza en el cerebro y en la membrana externa de las mitocondrias en el hígado, los riñones, intestino y plaquetas. El sustrato es oxidado por la MAO la cual a su vez se reduce mediante FAD. El oxígeno incorporado procede del agua. El ciclo catalítico se completa mediante la reoxidación de la enzima reducida $\text{FADH}_2 \rightarrow \text{FAD}$ por el oxígeno lo que genera peróxido de hidrógeno.

Otros dos sistemas enzimáticos oxidativos son de importancia en la biotransformación de xenobióticos son el sistema flavinmonooxigenasa y el citP-450.

El sistema flavinmonooxigenasa se ubica en el hígado, riñones y pulmones y presenta una o más monooxigenasa que contienen FAD (flavinmonooxigenasa FMO o aminoxydasa) las cuales oxidan los heteroátomos nucleofílicos de nitrógeno, azufre y fosforo de diversos xenobióticos.

El grupo prostético flavin es característico de este tipo de enzima y es especialmente versátil en su funcionamiento como ciclo redox. El ciclo catalítico se muestra en la Fig. 12.

Este sistema microsomal cataliza el ataque oxidativo sobre grupo nucleofílicos (heteroátomos N y S) de varios xenobióticos. Las reacciones catalizadas por este sistema son oxidaciones de aminas alifáticas, aromáticas, así como amidas entre otras. La familia de genes de la FMO de los mamíferos consta de cinco enzimas microsómicas que requieren NADPH y O_2 siendo muchas de las reacciones catalizadas por FMO son también llevadas a cabo por el sistema citocromo P-450. Una vez que la molécula de FAD se reduce a FADH_2 mediante NADPH el cofactor NADP⁺ oxidado permanece unido a la enzima. El FADH_2 se une a continuación al oxígeno para formar un peróxido que es relativamente estable. Durante la oxidación de los xenobióticos se transfiere peróxidos $\text{X} \rightarrow \text{XO}$. El último paso del ciclo catalítico implica la reconversión del FAD a su estado oxidado y la liberación de NADP⁺. Este paso final es la etapa limitante de la velocidad y ocurre tras la oxidación del sustrato.

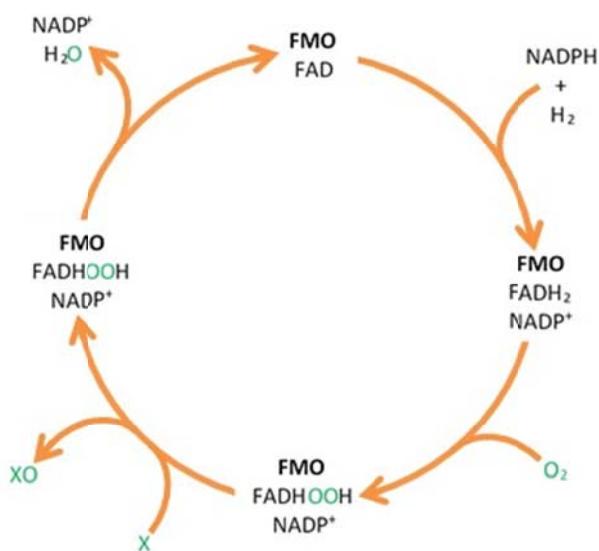


Figura 12: Ciclo catalítico de la flavinmonooxigenasa

Citocromo P-450

Entre las enzimas de biotransformación de fase I, el sistema del citocromo P-450 ocupa el primer lugar en términos de versatilidad catalítica y el gran número de xenobióticos desintoxica o activa a intermediarios reactivos. La actividad catalítica del sistema monooxigenasa es capaz de llevar a cabo una variedad de diferentes reacciones con un gran número de sustratos. Esta capacidad está basada en la presencia de una variedad de isoenzimas del citocromo P-450. La mayor concentración de enzimas P-450 involucradas en la biotransformación xenobiótica se encuentra en el retículo endoplásmico del hígado (microsomas), pero las enzimas P-450 están presentes en prácticamente todos los tejidos. En el hígado, las enzimas microsómicas P-450 juegan un papel muy importante en la determinación de la intensidad y la duración de la acción de los fármacos, y también juegan un papel clave en la desintoxicación de xenobióticos. Las enzimas P-450 en el hígado y los tejidos extrahepáticos desempeñan un papel importante en la activación de los xenobióticos a los metabolitos tóxicos y/o tumorigénicos.

Las enzimas mitocondriales del P-450 desempeñan un papel clave en la biosíntesis o el catabolismo de las hormonas esteroides, los ácidos biliares, las vitaminas liposolubles, los ácidos grasos y los eicosanoides, lo que indica la versatilidad catalítica del citocromo P-450.

Todas las enzimas P-450 son proteínas que contienen hemo. El hierro hemo en el citocromo P-450 está usualmente en el estado férrico (Fe^{3+}). Cuando se reduce al estado ferroso (Fe^{2+}), el citocromo P-450 puede unirse a ligandos como el O_2 y el monóxido de carbono (CO). El complejo entre el citocromo ferroso P-450 y el CO absorbe la luz al máximo a 450 nm, de la cual el citocromo P-450 deriva su nombre.

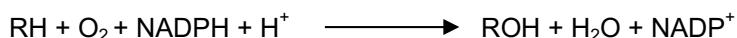
La familia de enzimas del citocromo P-450 constituye el principal catalizador de las reacciones de fase I. Las enzimas del citocromo P-450 son proteínas de membrana con grupo hemo. Dichas hemoproteínas están en estrecha relación con una segunda proteína de membrana, la NADPH-citocromo P-450 reductasa a una razón aproximada de diez moléculas de citocromo P-450 por una de reductasa. La flavoproteína reductasa contiene cantidades equimolares de flavina-adeninínadínucleótido (FAD) y es la fuente que provee uno o dos electrones, necesarios para la reacción de oxidación. La interacción entre las proteínas del citocromo P-450 y su reductasa se ve facilitada por la bicapa lipídica en la que están incluidas.

El citocromo P-450 y su reductasa, forman un acople multienzimático que presenta cierta movilidad en las membranas del retículo endoplásmico. El componente lipídico del sistema, es un fosfolípido, la fosfatidilcolina. Otros fosfolípidos y algunos detergentes no iónicos pueden reemplazar a este componente. La función de estos fosfolípidos parece ser que facilitan la transferencia de electrones al citocromo P-450. También se observó que el componente lipídico aumenta la afinidad de los sustratos y del citocromo P-450 *reductasa* por el citocromo P-450. El citocromo P-450 está ampliamente distribuido en la naturaleza, se lo ha encontrado en: bacterias, insectos, animales y en plantas. Participa activamente en el metabolismo de sustratos endógenos como, por ejemplo, ácidos grasos, prostaglandinas y esteroides (ej., colesterol,

hormonas esteroides, vitamina D, ácidos biliares). Básicamente, este sistema agrega grupos oxidrilos a los xenobióticos.

Ciclo catalítico del citocromo P-450 dependiente del Sistema monooxigenasa

La reacción catalizada por el citocromo P-450 es la monooxigenación donde se incorpora un átomo de oxígeno en un sustrato, designado RH, y el otro es reducido a agua con equivalentes reductores derivados de NADPH, de la siguiente manera:



Durante la catálisis, el citocromo P-450 se une directamente al sustrato y al oxígeno molecular, pero no interactúa directamente con NADPH o NADH. El mecanismo por el cual el citocromo P-450 recibe electrones de NAD(P)H depende de su localización subcelular. En el retículo endoplásmico, que es donde la mayoría de las enzimas P-450 involucradas en la biotransformación xenobiótica están localizadas, los electrones son transmitidos desde NADPH al citocromo P-450 a través de una flavoproteína llamada NADPH-citocromo P-450 reductasa. Dentro de esta flavoproteína, los electrones se transfieren del NADPH al citocromo P-450 a través de FMN y FAD.

Los fosfolípidos y el citocromo b_5 también desempeñan un papel importante en las reacciones del citocromo P-450. El citocromo P-450 y NADPH-citocromo P-450 reductasa se encuentran en la bicapa fosfolipídica del retículo endoplásmico, lo que facilita su interacción. El citocromo b_5 puede donar el segundo de los dos electrones requeridos por el citocromo P-450. El citocromo b_5 también puede aumentar la afinidad aparente con la cual ciertas enzimas P-450 se unen a sus sustratos; por lo tanto, el citocromo b_5 puede aumentar V_{max} y/o disminuir la K_m aparente de las reacciones del citocromo P-450. En ambos casos, el citocromo b_5 aumenta V_{max} / K_m , que es una medida de la eficiencia catalítica y aclaramiento intrínseco.

Los microsomas hepáticos contienen numerosas formas de citocromo P-450 pero solo una forma única de NADPH-citocromo P-450 reductasa y citocromo b_5 . Para cada molécula de NADPH-citocromo P-450 reductasa en microsomas de hígado de rata, hay de 5 a 10 moléculas de citocromo b_5 y de 10 a 20 moléculas de citocromo P-450.

La reductasa P-450 puede transferir electrones mucho más rápido que el citocromo P-450 puede usarlos, lo que explica la baja proporción de citocromo NADPH P-450 reductasa para el citocromo P-450 en microsomas hepáticos.

El ciclo catalítico del citocromo P-450 se muestra en la Fig. 13. La primera parte del ciclo implica la activación del oxígeno y la parte final involucra la oxidación del sustrato, lo que conlleva la abstracción de un átomo de hidrógeno o un electrón del sustrato seguido de rebote de oxígeno (radical recombinación). Después de la unión del sustrato a la enzima P-450, el hierro hemo se reduce del estado férrico (Fe^{3+}) al ferroso (Fe^{2+}) mediante la adición de un electrón único de NADPH-citocromo P-450 reductasa. La reducción del citocromo P-

450 se ve facilitada por la unión del sustrato. El oxígeno se une al citocromo P-450 en su estado ferroso, y el complejo Fe^{2+}O_2 se convierte en un complejo Fe^{2+}OOH mediante la adición de un protón (H^+) y un segundo electrón, que se deriva del NADPH-citocromo P-450 reductasa o citocromo b_5 . La introducción de un segundo protón divide el complejo Fe^{2+}OOH para producir agua y un complejo (FeO^{3+}), que transfiere su átomo de oxígeno al sustrato. La liberación del sustrato oxidado regenera el citocromo P-450 en su estado inicial. Si el ciclo catalítico se interrumpe (desacopla) luego de la introducción del primer electrón, el oxígeno se libera como anión superóxido (O_2^-).

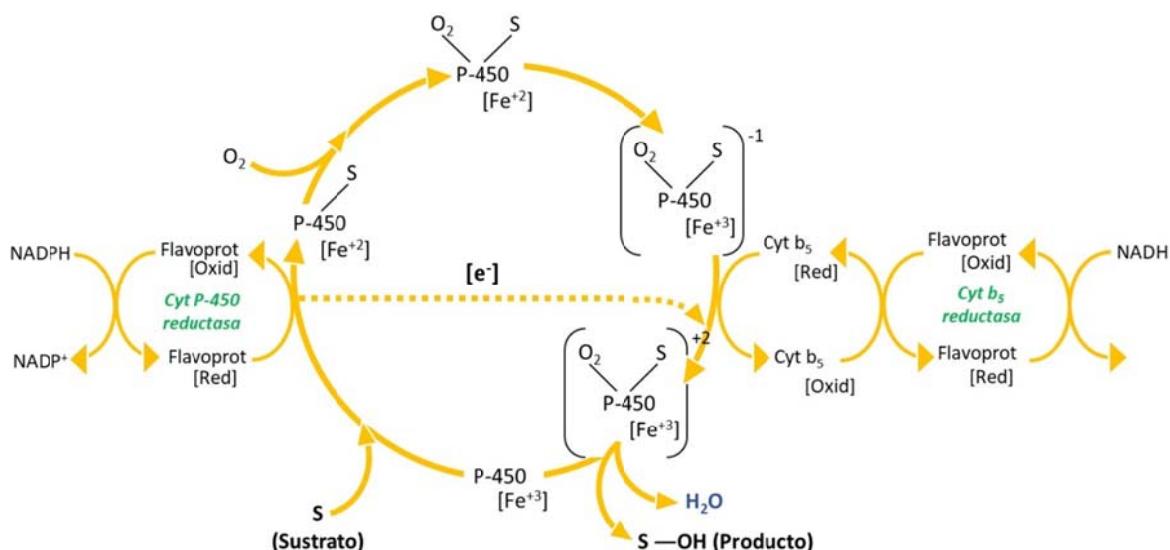


Figura 13: Ciclo catalítico en el cual se utiliza oxígeno y NADPH, produciéndose agua, NADP^+ y el sustrato es oxidado.

El citocromo P-450 cataliza varios tipos de reacciones de oxidación, que incluyen:

1. Hidroxilación de un carbono alifático o aromático.
2. Epoxidación de un doble enlace
3. Heteroátomo (S-, N- e I-) oxigenación y N-hidroxilación
4. Desalquilación de heteroátomo (O-, S-, N- y Si-)
5. Transferencia grupal oxidativa
6. Escisión de ésteres
7. Deshidrogenación

Las enzimas del citocromo CYP-450 involucradas en la oxidación de los pro-carcinógenos a formas carcinogénicas, está codificado por una superfamilia de genes. La expresión de estos genes, se encuentra regulada por factores ambientales, genéticos y a menudo, presentan grandes variaciones individuales.

Las enzimas constitutivas del sistema CYP-450 constituyen una gran superfamilia de proteínas hemo-tiolato involucradas en el metabolismo de una amplia variedad de compuestos endó-

genos y exógenos. Generalmente, actúan como oxidases terminales en la cadena de transferencia de electrones.

Los sistemas enzimáticos aislados, han sido usados para definir los roles de enzimas individuales en varios procesos metabólicos. La oxidación se puede llevar a cabo en diversas reacciones y con frecuencia se forma más de un metabolito.

La superfamilia de los CYP se divide en familias y subfamilias definidas en base de la homología de secuencia aminoacídica.

Existe una nomenclatura para las isoenzimas del citocromo CYP-4505. Las letras mayúsculas CYP indica que la isoenzima es de origen humano. Estas van seguidas de un número arábigo que indica la familia de la isoenzima o isoforma: CYP1. Las subfamilias se designan poniendo a continuación una letra mayúscula: CYP1A. El último número arábigo caracteriza la isoenzima individual: CYP1A1. En humanos se han identificado 12 familias y 20 subfamilias del gen del citocromo P-450, y a menudo en una sola célula existen diversas isoformas. La mayoría de los procesos de biotransformación es llevada a cabo por 3 familias de: CYP1, CYP2 y CYP3; dentro de estos la subfamilia CYP3A4 es la más abundante en humanos. La CYP3A4 es la principal isoforma metabolizadora de muchos de los medicamentos. Existe considerable variación entre individuos en cuanto al contenido de cada isoforma de CYP, habiéndose observado diferencias de hasta 6 veces para el CYP3A4, de hasta 10 veces para el CYP2A6 y de hasta 50 veces para el CYP2D6.

Este último polimorfismo divide a la población en fenotipos: metabolizadores rápidos y metabolizadores lentos. Entre el 5% y el 10% de la población caucásica y entre el 1% y el 2% de la asiática pertenece al segundo fenotipo. Algunos individuos son metabolizadores ultrarrápidos de la debrisoquina, lo cual correlaciona con el grado de amplificación del gen CYP2D6. En el caso del CYP2C19, la incidencia de metabolizadores lentos varía entre el 2% y el 6% en los caucásicos y entre el 18% y el 22% en los asiáticos.

Las enzimas CYP1A1, CYP2C, CYP2D6 y CYP2E1 son las enzimas polimórficas más importantes. Se describen a continuación las principales características de algunas de las enzimas de fase I.

CYP-4501A1 (actividad Arilhidrocarburo hidroxilasa, (AHH)

Son enzimas inducibles que interactúan con moléculas de estructura planar como TCDD, 3-metilcolantreno, benzo-a-pireno o naftoflavona. Se encuentran en placenta, piel, linfocitos y pulmón y parecen estar ausentes en el hígado. Su importancia radica en que ser las enzimas responsables de la activación metabólica de sustancias cancerígenas y teratógenas. Su actividad basal es baja y la presencia del xenobiótico induce su síntesis. Su actividad está regulada por el gen Ah que codifica la síntesis de un receptor citosólico AHR al que se une el xenobiótico. El complejo receptor-xenobiótico es transferido al núcleo, lo que induce la síntesis de CYP1A1. Existen dos alelos del locus Ah de forma que su expresión da lugar a individuos con actividad alta, intermedia y baja de la enzima. Los de actividad alta e intermedia son susceptibles al efecto carcinogénico por producir con facilidad

dad el metabolito reactivo (epóxido), mientras que los de actividad baja son resistentes. La mutación, que da lugar al incremento de la actividad, consiste en un cambio de adenina a guanina en la región 3' lo que origina un polimorfismo de restricción (RFLP) detectable con la restrictasa msp1.

Asociadas a estas enzimas, la **epóxido hidroxilasa (EH)**, catalizan la transformación de los epóxidos a metabolitos más polares, jugando un papel importante tanto en la inactivación como en la activación de xenobióticos, dependiendo de los casos. Así, por ejemplo, inactiva los epóxidos de los hidrocarburos policíclicos generados por el sistema citP-450 formando dioles, o dihidrodióles, pero en ocasiones estos dihidrodióles son metabolizados de nuevo por el citP-450 a diol epóxidos altamente reactivos. Se encuentran en todos los tejidos. Se han caracterizado en mamíferos cinco clases de EH, inmunológica y estructuralmente diferentes, de las cuales dos participan en el metabolismo de xenobióticos, una soluble citosólica y otra microsómica polimórfica (EHm), cuyo gen se ha localizado en el brazo largo del cromosoma 1. Se induce por diferentes sustancias, como el fenobarbital, el 2-acetilaminofluoreno o la aflatoxina B. El polimorfismo de la EHm es complejo, habiéndose detectado sustituciones de bases en la región codificante del gen, lo que determina distintos polimorfismos de restricción (RFLP) que afectan a la secuencia de aminoácidos de la enzima en dos lugares diferentes y otras, en la región flanqueante no codificante, que afectan a la regulación de la síntesis. La distribución de las frecuencias de los distintos polimorfismos, varía según las poblaciones.

CYP-4502C

Son enzimas responsables del metabolismo de numerosas sustancias entre ellas el diazepam, el omeprazol y el proguanil. El 2-3% de los individuos caucásicos y el 13 % de los no caucásicos son metabolizadores pobres, con un riesgo mayor a fallo terapéutico con la administración de estos medicamentos.

CYP-4502D6

Fue el primero de los polimorfismos oxidativos descrito al observar una eliminación lenta y un efecto farmacodinámico prolongado del fármaco hipertensivo debrisoquina. Este efecto aparece en aproximadamente un 8% de la población caucásica. Poco después se descubrió la oxidación defectuosa de la esparteína. Se demostró que tanto la 4-hidroxilación de la debrisoquina como la oxidación de la N-esparteína estaban determinadas por un mismo locus con dos variantes alélicas. La codeína, la mayoría de los fármacos antiarrítmicos de clase I, algunos antagonistas de los receptores b-adrenérgicos y del Ca²⁺ entre otros, se metabolizan por CYP2D6, siendo estas enzimas hepáticas las responsables de la mayoría de las reacciones adversas a medicamentos.

CYP-4502E1

En humanos este citocromo se encuentra en el hígado y en los linfocitos de sangre periférica. Forma el sistema oxidativo microsómico del etanol (MEOS) y está codificado por un gen que presenta varios polimorfismos de restricción detectables con las restrictasas Pst1 y Rsa1. Este sistema enzimático es responsable del metabolismo del etanol, de anestésicos volátiles como el halotano, y del relajante muscular cloroxazona, así como de la activación del acetaminofeno (paracetamol) a su metabolito arilado.

Todas estas enzimas comparten las siguientes características:

1. Poseen un grupo hemo;
2. Son enzimas de membrana unidas firmemente a la porción intracelular;
3. Utilizan para oxidar los sustratos al NADPH o al NADH y un átomo de oxígeno derivado del O₂ atmosférico y, los hidrogeniones se transfieren al citP-450 mediante una segunda enzima acoplada, la NADPH-citP-450 reductasa;
4. Están codificadas por una super familia de genes, dispersos por todo el genoma, que a su vez se agrupan en distintas familias, de las cuales, las más importantes son la I y la II.

Cooxidación de xenobióticos por prostaglandina H sintetasa

Otros caminos diferentes pueden ser involucrados en la oxidación de xenobióticos. La prostaglandina H sintasa (PHS) es la enzima responsable de la biosíntesis de prostaglandinas y es capaz de oxidar a benzopireno (BP) a quinonas. Dos actividades catalíticas copurificadas con la PHS (ácido graso ciclooxigenasa y prostaglandina peroxidasa).

La enzima ciclooxigenasa cataliza la oxidación de araquidónico a prostaglandina G2 (también llamado hidroxiendoperóxido) y la prostaglandina peroxidasa cataliza la reacción prostaglandina G2 correspondiente alcohol (prostaglandina H2). Prostaglandina sintasa es la mayor fuente de alquil hidroperóxidos producido durante el metabolismo normal.

La oxidación de xenobióticos mediante peroxidasa implica una transferencia directa del peróxido de hidrógeno al xenobiótico, como se muestra en la Fig. 14 para la conversión del sustrato X al producto XO. Durante la reducción de un hidroperóxido por las peroxidasa, los xenobióticos que pueden actuar como donantes de electrones como las aminas, y los fenoles también pueden oxidarse y formar radicales libres.

La mayoría de los tejidos que tienen actividad prostaglandina sintetasa son capaces de oxidar ciertos xenobióticos aún si los tejidos tienen bajo contenido de cit P-450. El acetaminofeno, el cual es activado a un intermediario reactivo por P-450 puede ser activado por prostaglandina sintasa en la medula del riñón. Este tejido es bajo en actividad cit P-450 pero en presencia de ácido araquidónico activa al acetaminofeno a un intermediario reactivo que se une a macromoléculas.

La vejiga posee alta actividad prostaglandina sintetasa. Se ha propuesto que varios carcinógenos de vejiga o de riñón son metabolizados activamente por prostaglandina sintasa.

Por. ej. el carcinógeno de vejiga 2-amino 4-5 nitrofuriltiazol puede ser activado por la prostaglandina sintasa por el mecanismo de cooxidación en el epitelio de la vejiga a metabolitos capaces de unirse al RNA o DNA. Alimentando a ratas con aspirina la lesión producida en la vejiga por el carcinógeno 5 nitrofuran es inhibida, lo que sugiere que prostaglandina sintasa está involucrada en la activación metabólica del 5 nitrofuran debido a que la aspirina inhibe la prostaglandina sintetasa.

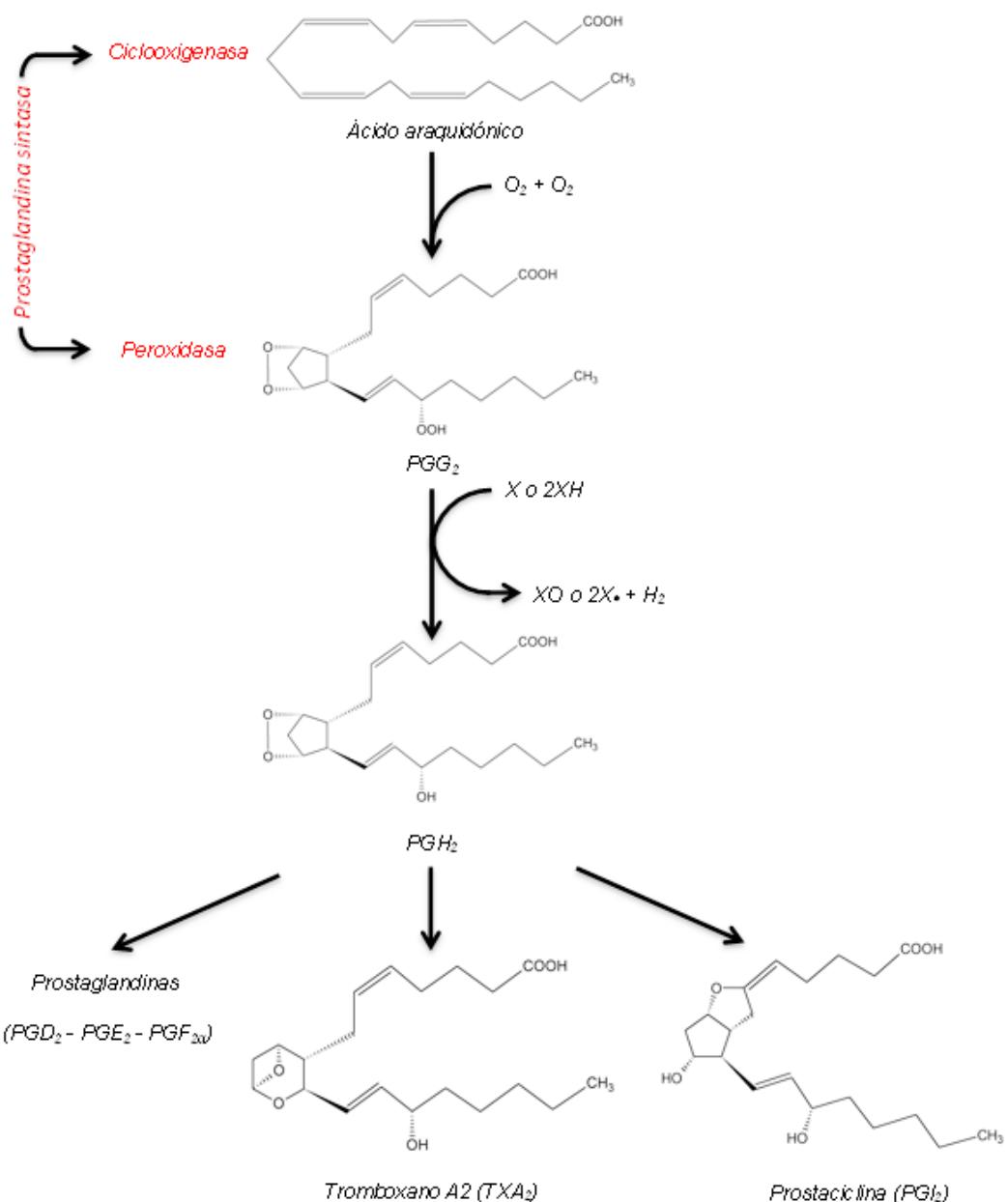


Figura 14:Co-oxidación de xenobióticos durante la conversión de ácidoaraquidónico a PGH₂ por la prostaglandina sintasa

Hidrólisis

La hidrólisis de esteres, amidas y tiesteres del ácido carboxílico están catalizadas por las carboxilesterasas y dos estearasas la acetilcolinesterasa de la membrana de los eritrocitos y

las pseudocolinesteras conocida también como butirilcolinesterasa encontradas en suero. Las estearasas son importantes en limitar la toxicidad de los organofosforados los cuales que inhiben la acetilcolinesterasa e impiden la acción del neurotransmisor acetilcolina.

Las carboxilestearasas son glicoproteínas presentes en suero y en la mayoría de los tejidos. Estas enzimas hidrolizan numerosos compuestos lipídicos endógenos y xenobióticos, esteres, amidas, y generan metabolitos activos. Además, pueden transformar a los xenobióticos en metabolitos tóxicos o carcinogénicos.

La enzima epóxido hidrolasa cataliza la adición de agua a epóxidos de alquenos o óxidos de arenos. La enzima se encuentra en todos los tejidos. En mamíferos existen 5 variedades microsómica, hidrolasa soluble, la epóxido hidrolasa del colesterol y la hepoxilina hidrolasa. Estas últimas tres parecen catalizar epóxidos endógenos. Es una enzima inducible de los microsomas hepáticos. Su indicación está asociada a la del P-450.

Reducción

Algunos metales y xenobióticos con grupos aldehído, cetona, disulfuro, sulfoxido, quinona, oxido, alqueno, azo, o nitro pueden sufrir reacciones de reducción.

La reducción de grupos azo y nitro esta catalizada por la flora gastrointestinal y dos enzimas hepáticas el citocromo P-450 y la NADPH-quinona óxido reductasa conocida como DTdiaforasa. Estas reacciones requieren NADPH y son inhibidas por oxígeno, por ello el ambiente anaerobio del tubo digestivo distal es adecuado para la reducción de grupos azo y nitro.

La reducción de grupos carbonilos como los aldehídos son reducidos a alcoholes primarios y las cetonas a alcoholes secundarios por la alcohol deshidrogenasa y una familia de carbonilo reductasa. Esta enzima depende de NADPH y se encuentra en sangre y otros tejidos. La hepática se encuentra en el citosol.

La reducción de grupos disulfuros a partir de glutatióón y esta catalizado por la glutatióón reductasa.

Reducción de grupos sulfoxidos y N-oxidos: la enzima tioredoxina se encuentra en el citosol de las células hepáticas y renales y reducen los grupos sulfoxidos formados por el P-450. Cuando la tensión de oxígeno es baja, la reducción dependiente de NADPH de los grupos N-oxido puede ser catalizada por el citocromo P-450 o por la NADPH citocromo P-450 reductasa en los microsomas.

La reducción de grupos quinonas se realiza por la NADPH quinonaoxidoreductasa (DT diaforasa) a hidroquinonas. Esta enzima es una flavoproteína citosólica y opera en ausencia de consumo de oxígeno. Esta vía no genera stress oxidativo. Una segunda vía de reducción de grupos quinona llevados a cabo por la NADPH citocromo P-450 reductasa produce la formación de radicales libres semiquinona. El estrés oxidativo que acompaña la autooxidación del radical libre genera anión superóxido, peróxido de hidrógeno, y otras especies reactivas de oxígeno que son citotóxicos.

Deshalogenación. Existen tres grandes mecanismos para deshalogenar: 1) deshalogenación reductiva en el que se sustituye el halógeno por hidrógeno, la deshalogenación oxidativa

donde se sustituye el halógeno por oxígeno, y deshalogenación doble donde se sustituye dos halógenos de carbonos adyacentes y formar un doble enlace.

Reacciones enzimáticas de fase II

Las reacciones biotransformación de fase II son reacciones de síntesis. Requieren energía y cofactores de alta energía.

Glucuronosiltransferasas

Representa una de las principales reacciones de fase II en la conversión de xenobióticos y compuestos endógenos apolar y compuestos solubles en agua. El resultante glucurónido es eliminado del cuerpo en la orina y en la bilis. Esta reacción ocurre con para un amplio rango de sustratos y en una gran variedad de especies. La enzima UDP glucuronosiltransferasa cataliza la reacción entre UDP-ácido glucurónico y el grupo funcional sobre la molécula aceptora (Fig. 15).

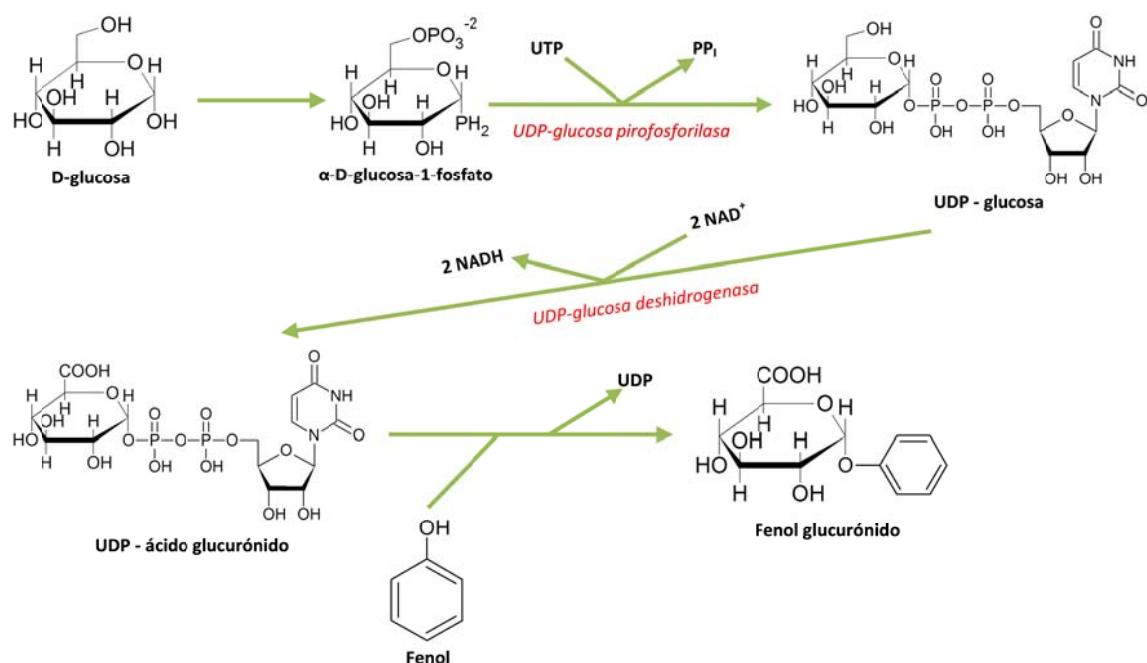


Figura 15:Glucuronizacion del fenol

La enzima está ubicada en el retículo endoplásmico de diversos tejidos. El hígado es cuantitativamente el tejido más importante que la contiene, pero la actividad está presente también en riñón, intestino, piel, cerebro.

Grupos funcionales que conjugan con el glucurónido son: alcoholes alifáticos, alcoholes aromáticos, ácidos carboxílicos, aminas alifáticas, aromáticas primarias y secundarias y grupos funcionales sulfhidrilos. Se forman O- N y S glucurónido.

Los conjugados son excretados por orina o bilis dependiendo del tamaño del aglicón (compuesto original o metabolito de fase I). Los conjugados glucuronidos pueden ser sustratos de la glucuronidasa presente en lisozomas de algunas células de mamíferos y en la flora intestinal. Así esta enzima puede liberar el aglucon que puede reabsorberse y entrar en el ciclo denominado circulación enterohepática. Compuestos en esta vía tienden a tener alta vida media y tener una biotransformación más intensa antes de ser eliminados.

Debido a su susceptibilidad a ser degradados fácilmente, los glucuronidos pueden servir como potencial transporte de compuestos activos del hígado hacia el órgano blanco. El ejemplo más citado es el N-glucuronido de N-hidroxilarilamina. Estos derivados han sido implicados en cáncer de vejiga producido por 2-naftil-amina, 4-aminofenilo y compuestos relacionados. El compuesto es primero hidroxilado en el hígado para luego subsecuentemente formarse el derivado N-glucuronido de la hidroxilarilamina. Este compuesto se acumula en la orina y es luego hidrolizado a pH ácido a N-hidroxylamina. Este compuesto espontáneamente se convierte en el electrofílico ión nitronio como se muestra en la siguiente reacción (Fig. 16).

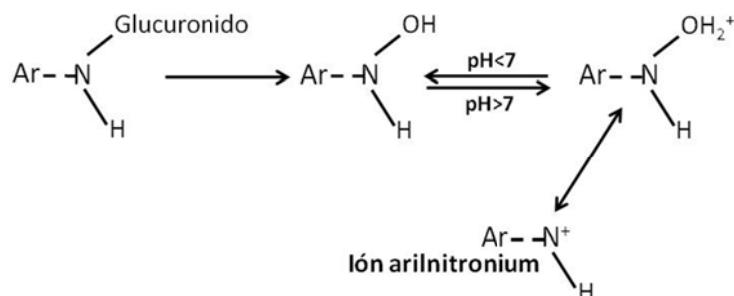


Figura 16: Activación metabólica de aminas aromáticas vía glucuronización.

Sulfotransferasa

En mamíferos la reacción de sulfatación se realiza sobre grupos hidroxílicos. La enzima se encuentra predominantemente en hígado, riñón, intestino, pulmón. Su función primaria es transferir sulfatos inorgánicos a los grupos hidroxilos presentes en fenoles y alcoholes alifáticos.

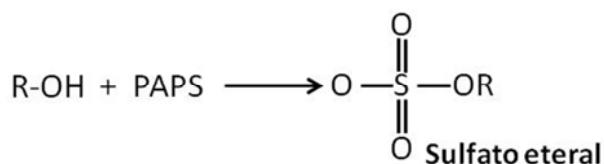


Figura 17: Transferencia de grupos sulfatos a grupos hidroxilos por sulfatación

PAPS (fosfoadenosinfosfato sulfato). Como detoxificación, la sulfatación es considerada de importante significado. Los productos de sulfatación son sulfatos orgánicos ionizados más fácilmente excretados que los compuestos originales. Numerosos compuestos de bajo peso molecular como catecolaminas, hidroxi esteroides y ácidos biliares son sulfatados (Fig. 17).

La actividad de estas enzimas varía con el sexo y la edad.

En estas reacciones el grupo SO_3^- del PAPS involucra un ataque nucleofílico del oxígeno fenólico o del nitrógeno amina sobre el átomo de S con el subsecuente desplazamiento de adenosin -3-5 difosfato (Fig. 18).

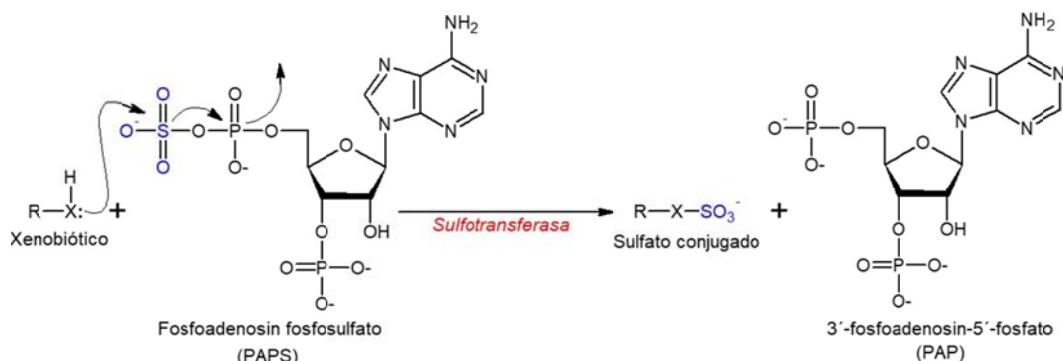


Figura 18: Síntesis de un sulfato conjugado por sulfotransferasa

La sulfonación tiene alta afinidad, pero baja capacidad para conjugar fenoles.

La principal reacción alternativa para fenoles es la glucuronización tiene baja afinidad, pero alta capacidad.

Tabla 1: Capacidad de biotransformacion llevada a cabo por enzimas de fase II

Capacidad	Reacción
Alta	Glucuronización
Media	Amino acido conjugación
Baja	Sulfato, glutatión conjugación
Variable	Acetilación

Luego de la administración de bajas dosis de fenol, el principal conjugado fenólico puede ser el éster sulfato (Fig. 19).

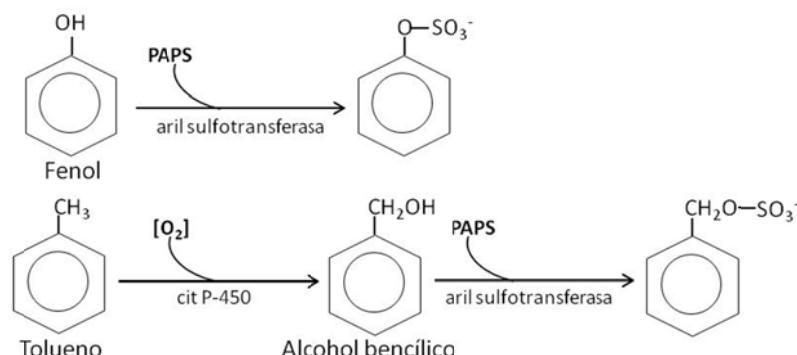


Figura 19: Catalización de la sulfatación del fenol por la enzima sulfotransferasa

Sin embargo a dosis de fenol mayores aparece un desproporcionado incremento en la cantidad de glucuronizado conjugado. La posible explicación del hecho es, una posible inhibición por substrato de la transferasa observado *in vitro* con preparaciones purificadas de acilsulfotransferasa. Debido a que la glucurónización es la vía principal de conjugación en la mayoría de las especies animales, la sulfonación es una vía de menor importancia para facilitar la excreción de alcoholes hidrofóbicos y fenoles. Sin embargo, la ruta preferencial puede ser influenciada por la dosis.

Existen ejemplos en que la sulfatación resulta en una intoxicación.

Ciertos compuestos sulfatos conjugados son químicamente inestables y se degradan a potentes especies electrofílicas. Ejemplo: N-O sulfato éster de N hidroxi- 2- acetilaminofluoreno (Fig. 20).

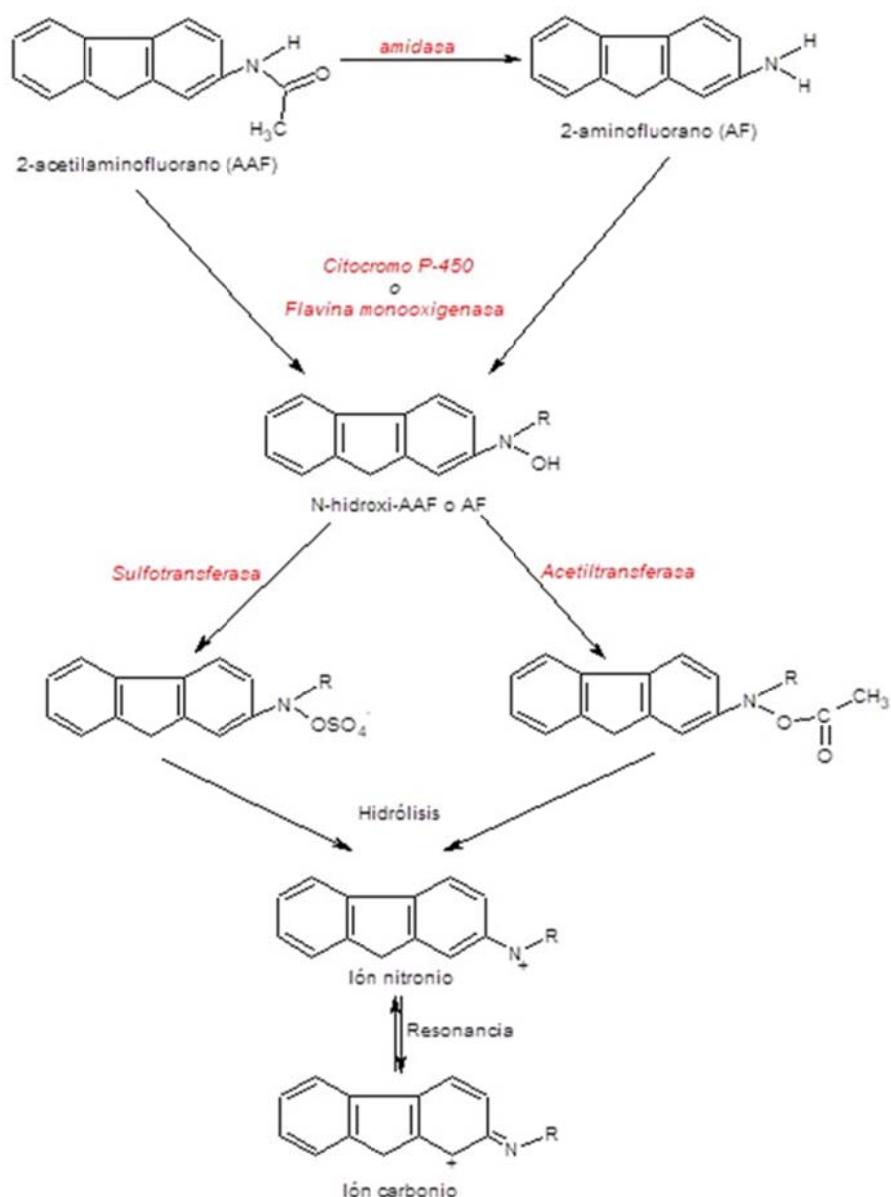


Figura 20: Activación metabólica del 2 acetilaminofluoreno a metabolitos reactivos capaces de unirse covalentemente a macromoléculas.

El sulfato conjugado es excretado por orina. Algunos de estos conjugados pueden ser degradados enzimáticamente por las arilsulfatasas presentes en la microflora, pero alguna actividad está asociada el retículo endoplásmico y lisosomas.

Conjugación Glutation S- transferasas

Glutatión S transferasa (GST) es una familia de enzimas que catalizan el paso inicial en la formación de N-acetil cisteína (ácido mercaptúrico). GST está ubicada en el citoplasma y en el retículo endoplasmático. Su concentración en el citosol es 4 a 40 veces mayor que en el retículo endoplasmático. Se halló actividad enzimática de GST en testículo, hígado, riñón y glándulas adrenales. La enzima presenta gran número de isoformas que presentan sobre solapamiento en la selectividad del substrato.

El cofactor para la reacción es el glutatión (GSH), compuesto por glicina, ácido glutámico y cisteína (Fig. 21).

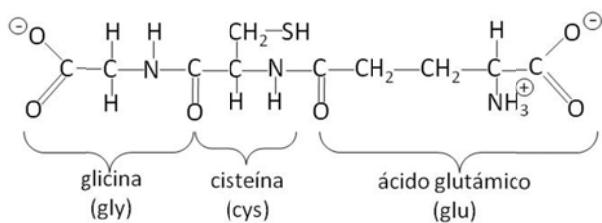


Figura 21:Estructura del glutatión reducido

La enzima cataliza la reacción del grupo nucleofílico sulfidrilo del GSH con compuestos conteniendo grupos de carbono electrofílicos (Fig. 22).

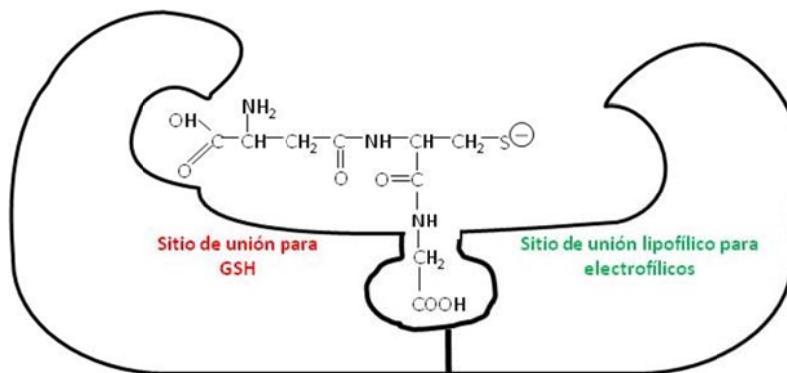


Figura 22: Ilustración del sitio activo de la enzima glutatión transferasa

El glutatión es sintetizado en el citosol en la mayoría de las células vía ciclo gamma glutamil. Los xenobióticos que actúan como sustratos para Glutatión S transferasa se han descripto en cuatro categorías:

- Reacción con: a) carbonos electrofílicos, b) nitrógeno, c) azufre y d) oxígeno (Fig. 23).

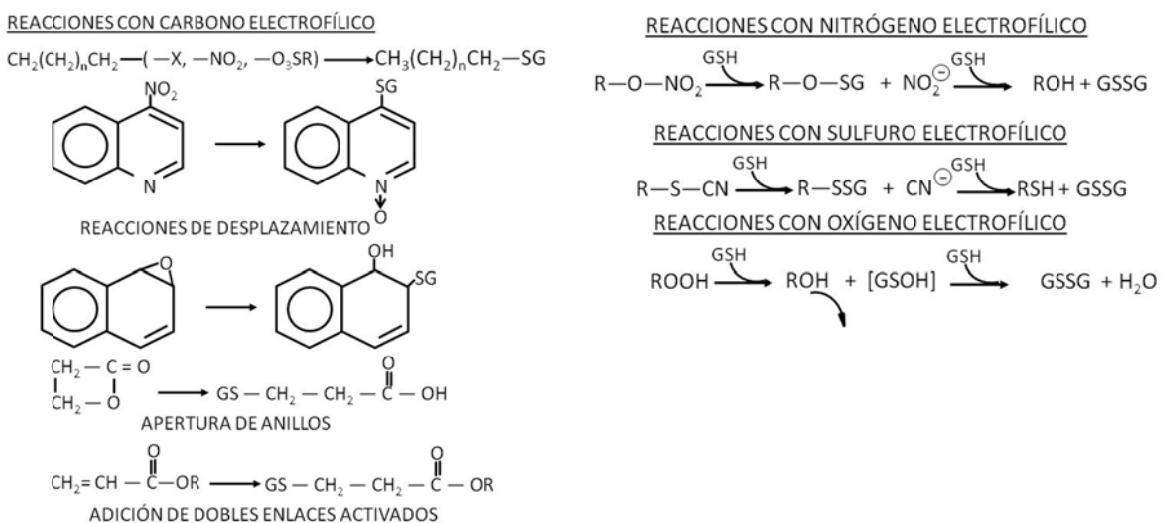


Figura 23: Ejemplos de reacciones catalizadas por la glutatión S-transferasa

Los compuestos sustratos de GST deben tener las siguientes características:

- Debe ser hidrofóbico en algún grado
- Contener algún carbono electrofílico
- Debe reaccionar no enzimáticamente con el GSH a una velocidad medible

Los conjugados GST son luego clivados a derivados cisteína por enzimas localizadas en el riñón. Estos derivados son luego acetilados para dar N-acetil cisteína conjugados (mercaptúrico) que son fácilmente excretados por orina.

Existe considerable evidencia indicando que la glutatión S-transferasa actúa para detoxificar intermediarios reactivos producidos por el sistema P-450. Por ejemplo: bromobenceno, cloroformo, y acetaminofeno son biotransformados por P-450 a productos altamente reactivos. Estos compuestos pueden interactuar con macromoléculas o unirse con GSH y prevenir la unión covalente de intermediarios reactivos vitales para la célula. Intermediarios reactivos pueden disminuir las reservas celulares del GSH. Mientras el GSH es el cofactor para glutatión peroxidasa, esta disminución puede promover la peroxidación de lípidos. La conjugación con glutatión, no siempre produce metabolitos inocuos y fácilmente excretables. En algunos casos, el tiempo de residencia del conjugado con glutatión en el cuerpo es prolongado. Esto puede resultar en la formación de metabolitos que son más tóxicos que los compuestos originales.

Metilación

Es reacción común para el metabolismo de compuestos endógenos, pero no es cuantitativamente importante en biotransformación de xenobióticos.

La metilación difiere de otros tipos de conjugación en que, se enmascaran grupos funcionales. Esto puede reducir la solubilidad en agua de los químicos y pueden participar en otras reacciones de conjugación. Los grupos funcionales involucrados en la metilación son aminas

aromáticas y alifáticas N-heterociclos, mono y polihidrofenoles, compuestos conteniendo sulfhidrico, metabolitos aromáticos y alifáticos.

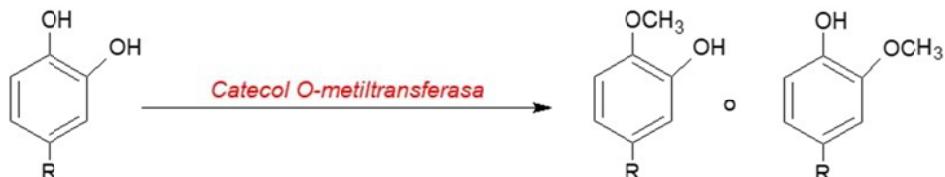
En reacción de metilación, el grupo metilo es transferido al xenobiotico con un enlace de alta energía. SAM (S-Adenosin metionina). El grupo metilo se une al ion sulfonio en SAM y presenta características de ióncarbonio, es transferido por un ataque nucleofílico del oxígeno del alcohol, el nitrógeno amino o el grupo sulfotiol al grupo metilo, dando S adenosihomocisteína y el sustrato metilado como producto.

La O- metilación es de primera importancia y es catalizada por la COMT (catecol orto metil transferasa). Esta enzima soluble está en hígado y riñón, cataliza la reacción solo con catecol y fenoles monohidrometilado.

Varias transferasas específicas han sido descriptas, las transferasas específicas (histamina e indol) y las transferasas no específicas (N metil transferasa). La transferasas no específicas N metil transferasa es capaz de reaccionar con una variedad de aminas exógenas y endógenas primarias, secundarias y terciarias como serotonina, benzilamina, anfetamina y piridina.

La S- Metil transferasas cataliza la reacción en la cual el SH₂ es metilado a metanotiol que es luego metilado a dimetil sulfuro. Una gran fuente de sustratos para S-metil transferasas parecen ser ahora el tioeter de glutatión conjugados, el glutatión es hidrolizado a cisteína y conjugados en el riñón previo acetilarse y excretarse.

O-metilación



S-metilación



Fig. 24: Reacciones de Metilacion

N- acetil transferasas

Es la principal ruta de biotransformación de las arilaminas. Los substratos de la enzima N-acetil transferasas incluyen: aminas aromáticas primarias, hidrazinas, hidrazidas, sulfonamidas y ciertas aminas alifáticas aromáticas.

Las enzimas que catalizan la acetilación de las aminas son designadas como acetil CoA: amina N-acetil transferasas. El cofactor en acetilCo A N-acetil transferasa es una enzima citosólica de numerosas especies. Se conocen muchas formas de las transferasas. El perro y otras especies relacionadas son deficientes N-acetil transferasas y son incapaces de acetilar un amplio número de substratos.

El polimorfismo de la acetilación ha sido informado en humanos, ratones, conejos, y algunos monos. El polimorfismo es de origen genético. Es la aparición simultánea en la población de genomas que muestran las distintas variantes alélicas de un mismo gen.

Estos individuos han sido clasificados como *acetiladores rápidos* (heterocigota y homozigota dominante) y *acetiladores lentos* (homozigota recesivos) basados en su capacidad para acetilar isoniazida (antituberculoso), hidrazina (antihipertensivo), procainimida (antiarrítmico), fenelzina (inhibidor de la Monoamino Oxidasa) y fenacetina (analgésico).

Se han identificado varias mutaciones que suponen un fallo en la expresión de la enzima. Existen grandes variaciones raciales en la distribución de los fenotipos. El alelo responsable de la acetilación lenta es máxima en oriente medio, llegando a 90% en algunas poblaciones árabes y mínima en esquimales y japoneses (5-10%). Además de los dos fenotipos descriptos se ha demostrado la existencia de un fenotipo con velocidad de acetilación intermedio.

La Fig. 25 presenta ejemplos de O acetilación de N-hidroxi-2AF acetoaminoflueno) y además sustratos de N acetiltransferasa NAT1 y NAT1.

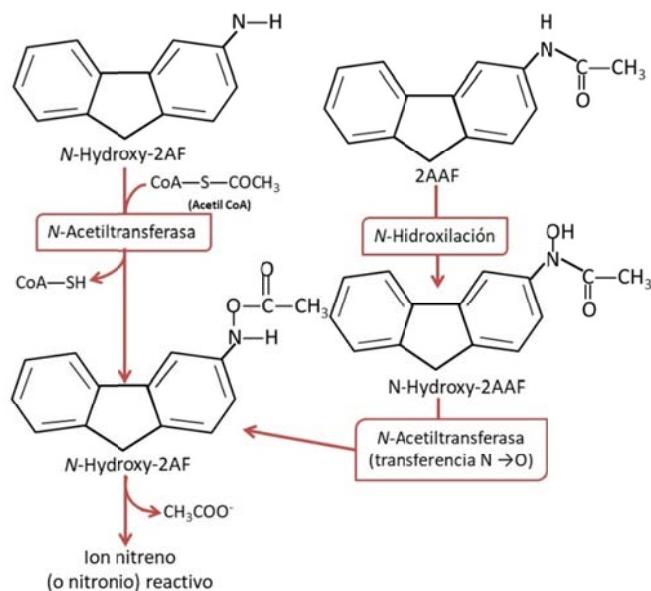


Figura 25: Reacción de la enzima N-acetiltransferasa en la O-acetilación del N-hidroxi-2aminofluoreno

La acetilación de las arilaminas ocurre en dos pasos secuenciales. Inicialmente el grupo acetilo de la Acetyl CoA es transferido N-acetiltransferasa a la forma acetil- N-acetil transferasa como un intermediario. El segundo paso es acetilación del grupo amino de la arilamina sustrato con regeneración de la enzima. La interacción entre el grupo amino y grupo acetilo resulta en la formación de una unión amida. La amida es relativamente estable a deacetilasas, amidasas. Así, la producción de N-acetil conjugado dependerá de la velocidad relativa de acetilación y deacetilación.

La acetilación es otro ejemplo de reacciones de conjugación que enmascara grupos funcionales. Algunos N- acetil derivados son menos solubles en agua que los compuestos originales. N-acetil derivados de ciertas sulfonamidas han sido informadas que precipitan en el túbulos del riñón pudiendo resultar en daño al riñón.

Rodanasa

Reacción de detoxificación del CNH esta catalizada por una enzima mitocondrial del hígado. El tiosulfato actúa como donor de azufre así el producto de reacción tiocianato es menos tóxico que CNH:



Conjugación con aminoácidos

Una importante reacción de xenobióticos con grupos carboxílicos es la conjugación con varios aminoácidos. Esta reacción resulta en la formación una amida (péptido) entre el ácido carboxílico del ácido y el grupo amino del aminoácido.

Substratos incluyen: ácidos orgánicos, arilacético, ácido aril sustituido acrílico.

La reacción más común involucra glicina, conjugación con glutamina (más predominante en humanos y ciertos monos) y conjugación con ornitina (reptiles y pájaros). La Taurina sirve como acil acceptor para la conjugación con ácidos biliares.

La reacción se realiza en dos pasos. El primer paso involucra la activación del ácido a tioester derivado de coenzima A. La energía de esta reacción esta como ATP. La enzima que cataliza esta reacción ATP dependientes la CoA ligasa. La coenzima A tioester es transferida al grupo amino del amino ácido acceptor. La ligasa de N acyltransferasa es una enzima soluble, pero es también activa con la matrix de hígado y mitocondrias. La conjugación con aminoácido es un sistema con alta afinidad y media a baja capacidad. Cuando la dosis se incrementa el sistema comienza a saturarse y predomina otra forma de eliminar (glucuronización). Los amino ácidos conjugados son eliminados primariamente por orina. La adición de aminoácidos a los endógenos puede facilitar la eliminación de xenobióticos porque incrementa su capacidad para interactuar con el sistema aniónico de transporte orgánico en el túbulos del riñón

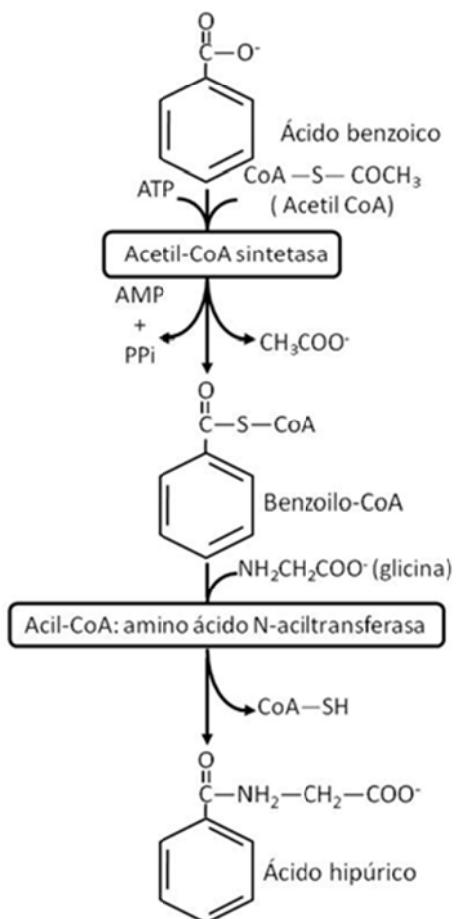


Figura 26: Conjugación de ácido carboxílico con aminoácidos

Biotransformación extrahepática

Los principales tejidos extra hepáticos donde ocurre la biotransformación, se encuentran involucrados en la absorción y excreción de químicos. Estos tejidos son: pulmón, riñón, piel y mucosa gastrointestinal. La velocidad de biotransformación puede no ser tan rápida como en el hígado y la capacidad total es generalmente baja. El hígado es una mezcla de células homogéneas con igual capacidad de biotransformación. En los tejidos extra hepáticos, las enzimas de la biotransformación son generalmente concentradas en una o dos células, que corresponden a un pequeño porcentaje del total de células en un órgano.

Tabla 2. Principales células de órganos involucradas en la biotransformación

Órgano	Células
Hígado	Hepatocito (células parenquima)
Riñón	Células del túbulo proximal (segmento S3)
Pulmón	Células Claras, tipo II, células nasales
Intestino	Mucosa
Piel	Células epiteliales
Testículos	Células Sertoli, túbulos seminíferos

Biotransformación por microflora intestinal

Las células microbianas presentan un potencial de biotransformación semejante al hígado. Más de 400 bacterias del intestino difieren como resultado de las dietas y daños que influyen en la modificación de los xenobióticos. Las biotransformaciones en el intestino generalmente producen metabolitos menos solubles en agua y debido al estado anaeróbico del intestino se producen reacciones de reducción. Además, la presencia de enzimas de conjugación (beta glucuronidasa y arilsulfatasa), las modificaciones producidas por el hígado hacen que se excreten en la bilis. Tal desconjugación promueve la recirculación enterohepática.

Factores que afectan la velocidad de biotransformación de Xenobioticos

Factores intrínsecos relacionados al químico. Un factor que controla la biotransformación de compuestos extraños al organismo es la concentración del compuesto en el centro activo de la enzima involucrada en la biotransformación. La concentración en el sitio activo depende de propiedades fisicoquímicas de los compuestos tanto como de la dosis. Entre los factores que afectan la concentración intracelular de xenobióticos se encuentra la lipofilicidad del xenobiótico que controla la absorción, la dosis, la unión a proteínas, así como la ruta de administración.

Un importante factor que controla la solubilidad en agua de compuestos extraños son los grupos ionizables en la molécula. Los compuestos que contienen amina, carboxilos, fosfatos, sulfatos, hidroxil fenólicos y otros compuestos que a pH fisiológico son generalmente más solubles en agua y menos fácilmente transportados a través de la membrana que, los compuestos que no contienen esos grupos.

Si el xenobiótico se encuentra unido a proteínas, la concentración de sustancia en el sitio activo será menor. La capacidad de unión resulta de la presencia en la proteína de regiones hidrofóbicas que unirán grupos lipofílicos capaz de formar uniones puente hidrógeno y de tipo electrostático. La albúmina tiene la capacidad de unir en forma no específica a xenobióticos. La unión resulta en una disminución en la biotransformación y produce un efecto definido en el clearance del xenobiótico por las enzimas de biotransformación.

Dosis o concentración de exposición

Ciertas enzimas tienen alta afinidad, pero baja capacidad para biotransformar compuestos xenobióticos. Estos caminos metabólicos rápidamente se saturan al incrementar la dosis. Así, el porcentaje de dosis para biotransformar por este camino puede decrecer.

Sin embargo, una baja capacidad y alta afinidad puede biotransformar un gran porcentaje de la dosis administrada. El acetaminofeno es un excelente ejemplo: a bajas dosis (15 mg/Kg) más del 90% de la dosis se excreta como sulfato. Altas dosis (300 mg/Kg) el 43% se excreta como sulfato, pero también se excreta como glucurónido o mercaptúrico en orina. Existen una gran variedad de factores que dependen del huésped, entre ellos mencionaremos:

Tabla 3.Variables del huésped que afectan la biotransformación de xenobióticos

Variables del huésped que afectan la biotransformación de xenobióticos	
Inhibidores	Embarazo
Inductores	Estrés
Especie	Hipofisección
Cepa	Adrenalectomía
Edad	Tiroidectomía
Sexo	Diabetes
Dieta	Hepatitis
Ayuno	Castración
Hora del día	Ictericia obstructiva, Cirrosis
Época del año	Hepatomas

Cualquier factor que modifique el contenido del P-450, la actividad de la P-450 reductasa o los niveles de NADPH, tendría efecto sobre la biotransformación de xenobióticos y por ello sobre la duración y la intensidad de sus acciones biológicas. Como consecuencia de la relativa baja especificidad, gran cantidad de compuestos pueden competir por los sitios activos y así alterar sus respectivas biotransformaciones.

Las diferencias individuales pueden ser muy grandes y fácilmente observables en el hombre. Ellas han sido verificadas para el metabolismo de anticoagulantes como la warfarina y el dicumarol, así como para fármacos como la fenilbutazona, la antipirina o la difenilhidantoína. Estas variaciones también se deben a factores cuantitativos.

El sexo es otra variable importante. La rata macho tiene mayor capacidad para la biotransformación y ello parece deberse a una mayor afinidad a los sustratos por el CYP-450.

La edad puede tener influencia en la biotransformación. El feto humano tiene más capacidad metabólica para xenobióticos que el equivalente de los animales, siendo el P-450 un 60-70 % y su P-450 reductasa un 30 % del de los adultos. Existe también un decaimiento en los contenidos de P-450 y P-450 reductasa en la vejez.

El desbalance hormonal influye profundamente sobre la biotransformación de xenobióticos. En animales adrenalectomizados, tiroideclomizados, hipofisectionados o con diabetes aloxánicas cursan con una biotransformación de muchos sustratos enlentecida. También el sexo influye en el proceso. Las hormonas modulan, ya sea el contenido de P-450 o la actividad de la P-450 reductasa o la afinidad del P-450 por el sustrato. Además, el ritmo circadiano modula los niveles de corticosterona y ello influye en la biotransformación durante el día.

La dieta influye en la biotransformación de xenobióticos; dietas pobres en proteínas y altas en hidratos de carbono y grasa disminuyen el proceso mientras que dietas ricas en proteínas la aumentan. Enfermedades hepáticas influyen en la biotransformación. En la ictericia obstructiva y en los cánceres hepáticos, también hay disminución de esta actividad.

Distintas especies pueden presentar diferencias en la biotransformación tanto cualitativas como cuantitativas. Las cualitativas son principalmente en las reacciones de fase II mientras que en los procesos de fase I existen diferencias cuantitativas en particular en el contenido de P-450 y de P-450 reductasa. Existen también variaciones entre las cepas de una misma especie. Estas diferencias pueden ser de dos a tres veces en ratas o ratones, mientras que puede presentarse diferencias de veinte veces en cepas de conejo.

Inducción de las enzimas de biotransformación

El sistema P-450 resulta ser fácilmente inducido. La inducción es una respuesta adaptativa que protege a las células de los xenobióticos tóxicos al aumentar la actividad de detoxificación. Entre los inductores encontramos fármacos (hipnóticos, sedantes, gases anestésicos, estimulantes del SNC, anticonvulsivantes, tranquilizantes, antipsicóticos, hipoglicémicos, alcaloides, hormonas, esteroides, etc.), contaminantes ambientales (plaguicidas, herbicidas, hidrocarburos policíclicos provenientes de procesos de combustión, aditivos alimentarios, etc.).

Los inductores aumentan el contenido de P-450 hepático y algunos también la actividad de la P-450 reductasa. Los citocromos CYP1A1, CYP2C9, CYP2E1 y CYP3A4 humanos son inducibles. Aunque en algunos casos la inducción es producida por el aumento en la transcripción del gen correspondiente. También se han descriptos mecanismos no transcripcionales. La troleandomicina, por ejemplo, no incrementa la síntesis de CYP3A4 sino que reduce su tasa de degradación. La inducción de CYP2E1 por etanol, acetona e isoniazida también es mediada por mecanismos no transcripcionales. La inducción de enzimas metabolizantes puede producir una reducción de la toxicidad al facilitar la eliminación del xenobiótico o puede llevar a un aumento de la misma al incrementar la formación de metabolitos reactivos.

El proceso de inducción involucra tanto un aumento de la síntesis como una disminución de la degradación proteica. La proporción en que cada uno de estos factores participa en la inducción varía con cada compuesto. Estos procesos suelen ir acompañados de efectos en el turnover del RNA y de los fosfolípidos y a su vez por proliferación del retículo endoplásmico liso de las células epiteliales hepáticas.

La inducción enzimática y requiere de síntesis de novo. Cientos de químicos han mostrado que inducen actividad monooxigenasa y se llaman agentes microsomal inductores. La magnitud, duración del incremento en la actividad monoaminoxidasa es conocida que varía con el agente inductor y la dosis y el substrato usado para evaluar la actividad de la enzima, la especie, la cepa, el sexo del animal, la duración de la exposición y el tejido en el cual la actividad enzimática es medida. Cuando la inducción ocurre en el hígado, el próximo efecto es un aumento en la excreción del químico del cuerpo.

La mayoría de los estudios incluyen al fenobarbital e hidrocarburos aromáticos policíclicos como inductores. Ellos inducen ciertas actividades de la monoaminoxidasa y producen diferentes efectos morfológicos y bioquímicos en el hígado.

También pueden ser inducidos otras enzimas microsómicas. Las enzimas microsómicas UDP glucuronil transferasa y la epóxido hidrolasa son inducidas por fenobarbital, 3 metilcolantreno y compuestos relacionados. Stilbeno oxido, acetilaminofluoreno y ciertos bifenilos policlorados son buenos inductores de epóxido hidrolasa. Antioxidantes como BHT butilhidroxi tolueno y BHA son potentes inductores de epóxido hidrolasa en ratones, pero no en ratas.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son efectivos en inducir enzimas extrahepáticas principalmente en pulmón, riñón, tracto intestinal y piel.

Entre las enzimas inducibles citosólicas la Glutation S- transferasa es inducible por metilcolantreno, fenobarbital y oxido de stilbeno. La inducción puede ser entre 2 a 3 veces.

BHA es el más efectivo inductor de transferasa citoplasmática en ratones y menos efectivo en ratas.

Inhibición de la biotransformación de enzimas

Existen inhibidores con alta afinidad por P-450, el mejor conocido es el difenilpropilacetato de dietilaminoetanol (SKF 525) que ha demostrado un 100% de inhibición de varias isoformas del CYP-450. También existen compuestos como el CCl₄, la alil-isopropilacetamida y otros que in vivo destruyen al P-450. Un efecto similar, puede ser logrado con inhibidores de la síntesis del hemo como el 3-amino-1,2,-4-triazol o el cloruro de cobalto. Es posible disminuir el proceso global de la hidroxilación de la P-450 reductasa con sustancias como la cistamina.

La inhibición del metabolismo ocurre cuando decrece la capacidad de una enzima o sistema enzimático de metabolizar compuestos exógenos. Esto incluye todos los posibles mecanismos inhibitorios tales como competición por sitios activos o cofactores de las enzimas, inhibición del transporte de componentes en sistemas multienzimáticos, disminución de la biosíntesis o incremento en la ruptura de enzimas o cofactores tanto como en cambios alostéricos en la conformación enzimática aun pérdida de la función tejido (necrosis hepática).

Agentes que afecten la síntesis de proteínas inhiben la biotransformación de enzimas tanto como las enzimas necesarias para la producción de cofactores.

Administración aguda de cloruro de cobalto, disminuye síntesis de CYP-450 por inhibición de síntesis de hemo tanto como su efecto inducible sobre hemo oxigenasa enzima que convierte hemoproteína en biliverdina. .

Existen muchas sustancias químicas que afectan los niveles de cofactores necesarios o especies conjugadas. Ej.: L metionina S.sulfoxine y butioninasulfoximina inhibe síntesis glutatión. Dietil maleato, glicidol, reduce los niveles de almacenamiento de GSH en tejidos.

La galactosamina inhibe la síntesis de UDP-glucuronido y disminuye los niveles hepáticos de uridina, mientras que el borneol y la salicilamina conjuga con ácido glucuronido. El efecto de estos químicos puede ser la reducción en la capacidad formar glucurónido o glutatión conjugados.

La inhibición enzimática, causada por macrólidos, antifúngicos azoles, bloqueadores de los canales de calcio, fármacos antivirales y el jugo de pomelo, produce una menor actividad de

CYP3A4, provocando un aumento en los niveles plasmáticos y toxicidad de los medicamentos metabolizados por este, como por ejemplo, la ciclosporina A.

El CO y el etilisocianide actúan como ligando del hemo reducido y compiten con el ligando endógeno oxígeno. CO es un potente inhibidor de reacciones oxidativas. El CO inhibe CYP-450 mediante reacción reductiva.

La inhibición competitiva de dos xenobioticos por la unión por unión al sitio del CYP50 es bastante frecuente. Esta competición resulta en una mutua inhibición del metabolismo. El grado de inhibición depende de la relativa afinidad de xenobioticos por el sitio de unión con drogas que contienen nitrógeno, tales como imidazoles, piridinas y quinolonas, los cuales no sólo pueden unirse al grupo hemo de los CYP, sino a las regiones lipofílicas de la proteína. La quinidina y la quinina son inhibidores reversibles de la hidroxilación de la debrisoquina catalizada por la subfamilia CYP2D. Varios agentes antimaláricos son inhibidores reversibles del CYP, pero no actúan a través de su anillo de quinolona sino por sus grupos amino sustituyentes. Muchas drogas, incluyendo alquilaminas, antibióticos macrólidos e hidrazinas, son metabolizadas por enzimas CYP para dar metabolitos que forman complejos estables con el grupo hemo de los CYP, inactivándolos.

Diferentes formas P-450 presentan diferentes sensibilidades a la acción inhibitoria de químicos. Algunos químicos actúan como inhibidores suicidas del P-450. Luego que el xenobiotico activa al CYP-450, el metabolito reactivo se une covalentemente al N pirrol del grupo hemo y produce la destrucción del hemo y pérdida de la actividad CYP-450. Varios halógenos alcanos (CCl_4), alquenos (cloruro de vinilo), el secobarbital inhiben reacciones catalizadas por CYP-450.

In vivo la evaluación resulta más complicada. Muchos químicos producen múltiples efectos, tales como inhibición de reacciones de fase I y II. La inhibición puede ser más pronunciada en algunas isoenzimas P-450 y variar en animales tratados con inductores respecto a los controles.

Bibliografía

- Lehman L. D. and MacKeeman Chapter 5, Absorption, distribution and excretion of toxicants.
en: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 6th edition by Curtis D. Klaassen (Editor) By McGraw-Hill Professional. 2001
- Parkinson A. and Ogilvie B. W. Chapter 6, Biotransformation of xenobiotic en: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 6th edition (2001): by Curtis D. Klaassen (Editor)
By McGraw-Hill Professional.2001.

CAPÍTULO 3

Toxicidad no-órgano específico

Autores: Leda Giannuzzi, Daniela Sedan y Cristian Oliver

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

En este capítulo se estudiará los diferentes mecanismos de toxicidad. Toxicidad y daño celular y tisular. Apoptosis, y necrosis. Metabolitos reactivos. Interacciones con macromoléculas. Estrés oxidativo. Formación de radicales libres y Toxicología del desarrollo.

Mecanismos de toxicidad

La Toxicología ha dejado de ser descriptiva para convertirse en mecanicista; trata de encontrar los mecanismos bioquímicos que expliquen la reacción entre un xenobiótico y las biomoléculas y el posterior proceso fisiopatológico. Luego de realizar los ensayos en animales es necesario interpretarlos. Existen gran cantidad de vías que pueden conducir al efecto tóxico. La interacción entre el toxico y el lugar de acción produce como resultado una disfunción que se manifiesta en el efecto tóxico. A veces el toxico no interactúa con el blanco específico sino que influye de manera desfavorable en el medio biológico produciendo la disfunción molecular, celular u orgánica celular que produce los efectos tóxicos. El proceso de toxicidad más complejo consta de varios pasos. En el primero paso, el toxico se distribuye hasta el lugar de acción (primer paso) donde interactúa con la molécula blanco endógena (paso 2) la cual altera ya sea la estructura o la función o ambas (paso 3). Esta alteración dispara los mecanismos moleculares, celulares y tisulares de reparación (cuarto paso). Cuando las alteraciones generadas por el toxico superan los mecanismos de reparación o cuando la reparación es incorrecta (Figura 1).

Primer paso: el toxico final

La interacción entre el tóxico y la molécula diana provoca alteraciones estructurales o funcionales que dan origen a la respuesta tóxica. La absorción, distribución hasta el lugar de acción, la reabsorción y la activación metabólica favorece la acumulación del xenobiótico en el lugar de acción. A estos procesos se contraponen la distribución hacia otros lugares diferentes del sitio de acción, la excreción y la inactivación los cuales dificultan la acumulación en la molé-

cula diana. El tóxico final es el resultado de todos estos procesos. Si la inactivación no ocurre eficientemente y si el tóxico fue biotransformado en el tóxico final, ocurrirá la interacción entre el tóxico final y la molécula diana.



Figura 1: Posibles etapas del proceso de toxicidad luego de la exposición a un xenobiótico

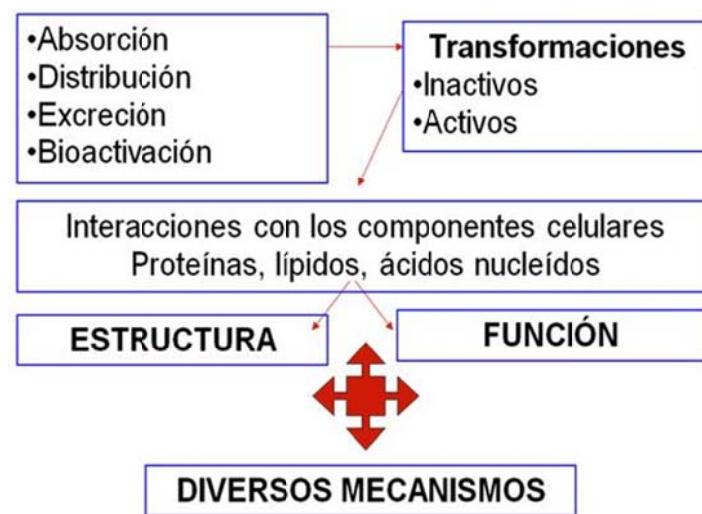


Figura 2: Proceso de administración de un xenobiótico en el primer paso del desarrollo de toxicidad

Segundo paso: interacción entre el toxico final y la molécula diana

Producto de la interacción, se generan una serie de procesos bioquímicos secundarios que dan lugar a un daño o disfunción que se evidencia en la célula, las organelas, los tejidos, órganos o en el organismo entero. Las moléculas blanco más importantes toxicológica son los ácidos nucleídos (ADN, ARN), las proteínas y las membranas.

La interacción entre el toxico y la molécula blanco puede ocurrir mediante diferentes tipos de unión. Estos pueden ser enlaces covalentes, no covalente, reacciones de sustracción de hidrógeno, transferencia de electrones y reacciones enzimáticas.

Las uniones covalentes son irreversibles y altera la molécula endógena de manera permanente. Las sustancias electrofílicas suelen formar enlace covalente con las moléculas endógenas mediante la formación de un aducto covalente. Se produce un ataque electrofílico por parte del xenobiótico sobre los centros nucleofílicos de las macromoléculas como las proteínas, ácidos nucleídos. Los radicales libres neutros como el hidroxilo, el dióxido de nitrógeno y el tricloroetileno también reaccionan con unión covalente con estas moléculas.

Las uniones no covalentes son reacciones de puente hidrogeno o iónicas así como o interacciones apolares que ocurren sobre los receptores de membrana, o intramoleculares. También en los canales iónicos y algunas enzimas. Estas uniones son reversibles con baja energía de enlace.

Las reacciones de sustracción de hidrógeno ocurre entre los radicales neutros que sustraen fácilmente átomos de hidrógeno de compuestos endógenos y los convierten en radicales. Los radicales también extraen átomos de hidrógeno de grupos etilo de residuos de aminoácidos y de las proteínas convirtiéndolos en carboxilos que pueden formar puentes con ADN y otras proteínas.

Transferencia de electrones: los xenobióticos pueden intercambiar electrones en los procesos de oxidación o reducción que pueden conducir a sustancias tóxicas. La oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina por el nitrito es un ejemplo de esto.

Reacciones enzimáticas: pocas toxinas actúan enzimáticamente sobre proteínas. La toxina diftérica bloquea el factor de elongación en la síntesis proteica, la toxina del cólera activa la proteína G.

Los efectos de tóxicos sobre las moléculas dianas pueden ser diversos nombraremos los más relevantes.

Disfunción de la molécula blanco. Esto ocurre cuando el xenobiótico activa algunas proteínas imitando al ligando endógeno. También pueden actuar inhibiendo a la molécula diana por bloqueo del receptor, del neurotransmisor, de canales iónicos o enzimas. Algunas sustancias tóxicas activan la molécula objetivo, imitando ligandos endógenos. Por ejemplo, la morfina activa los receptores opioides, el clofibrato es un agonista en el receptor activado por el proliferador de peroxisoma y los ésteres de forbol y el plomo estimulan la proteína quinasa C. Más comúnmente, los productos químicos inhiben la función del objetivo molecular. Varios xenobióticos, como atropina, curare bloquean el receptor de neurotransmisores. La estricnina se une a sitios de unión al ligando o interfi-

riendo con la función de los canales iónicos. La tetrodotoxina y la saxitoxina, inhiben la apertura de los canales de sodio activados por voltaje en la membrana neuronal, mientras que el DDT y los insecticidas piretroides inhiben su cierre.

Tabla 1: Ejemplos de sustancias electrofílicas y nucleofílicas

Electrófilos	Débiles	Nucleófilos
Carbono en dobles enlaces (quinonas, cetonas α , β -insaturadas)		Azufre en tioles (por ejemplo, residuos de cisteinil en proteínas y glutatión)
Carbono en epóxidos, lactonas de anillo tenso, haluros de arilo		Azufre en metionina
Iones de aril carbonium		Nitrógeno en grupos amino primarios y secundarios de proteínas
Iones carbonio de bencílicos		iones nitronio Nitrógeno en grupos amino en bases de purina en ácidos nucleídos
Iones de alquil carbonio	Fuertes	Oxígeno de purinas y pirimidinas en ácidos nucleídos. Oxígeno fosfato duro en ácidos nucleídos

Algunos tóxicos bloquean los transportadores de iones, otros inhiben el transporte de electrones en las mitocondrias y otros inhiben enzimas. Otros xenobióticos se unen a la tubulina (por ejemplo, vinblastina, colchicina, paclitaxel, el arsénico trivalente) o actina (p. ej., citocalasina B, faloidina) y afectan al ensamblaje (polimerización) y/o desmontaje (despolimerización) de estas proteínas del citoesqueleto. Por ello, la función de la proteína se deteriora cuando la conformación o estructura se altera por la interacción con el tóxico.

Los xenobióticos pueden modificar fracciones críticas (especialmente grupos tiol, que son esenciales para la actividad catalítica o el ensamblaje a macromoléculas complejas) de algunas proteínas que son esenciales para la actividad biológica y dar lugar a una transducción aberrante de la señal y deterioro de la homeostasis energética y metabólica de la célula.

También pueden dañar el DNA produciendo una replicación errada. Los xenobióticos pueden alterar la estructura primaria de las moléculas endógenas mediante la formación de puentes y fragmentación. Los puentes producen modificaciones que pueden afectar la estructura y el funcionamiento de las moléculas que unen. Las moléculas blanco son susceptibles al ataque de xenobióticos como los radicales peroxiclorometilo y el radical oxidrilo que desencadena la peroxidación de lípidos mediante la sustracción de electrones de los

dobles enlace de los ácidos grasos destruyendo los lípidos de membranas celulares generando además radicales libres y compuestos electrofilicos que atacan al DNA.

Otra acción que puede ocurrir es la interacción entre el xenobiótico y proteínas que puede provocar la formación de nuevos antígenos. El diclorobenceno, la penicilina, el níquel, se unen a las proteínas de manera espontánea y adquieren reactividad, otras lo hacen luego del proceso de autoxidación o biotransformación enzimática.

Algunos xenobióticos alteran el micro ambiente biológico y generan una respuesta tóxica. Entre estos encontramos sustancias químicas que alteran la concentración de hidrógeno, solventes y detergentes que alteran la composición físico química de la fase lipídica de las membranas y destruyen los gradientes en las membranas.

Tercer paso, alteración de la función celular

Las características de la disfunción celular primaria causada por tóxicos depende de la función diana afectada. Si la molécula dañada interviene en la regulación celular (señalización), podrá ser alterada la función genética, la función celular o ambas funciones. Si la molécula blanco forma parte de un proceso que involucra la conservación del medio interno de la célula la alteración de la función puede ser letal para la célula. La reacción de xenobióticos con moléculas diana que desempeñan funciones externas influirá en el funcionamiento de otras células y de los sistemas orgánicos que lo integra.

Los tóxicos pueden causar un daño en la regulación celular. Las células están reguladas por moléculas de señalización que activan receptores celulares específicos unidos a transductores de señales que las envían a las zonas reguladoras de los genes, proteínas funcionales o ambos. La activación de los receptores puede alterar la expresión de los genes y modificar algunas proteínas de la fosforilación o ambas.

Una desregulación de la expresión génica puede ocurrir en elementos que son directamente responsables de transcripción o en la vía de la transducción de señal intracelular, es decir, en la síntesis, almacenamiento o liberación de moléculas de señalización celular.

Desregulación de transcripción

La transcripción de información genética desde el ADN al ARNm se controla por la interacción entre factores de transcripción (FT) y la región reguladora o promotora de genes. El xenobiótico, al unirse a secuencias de nucleótidos en esta región, activa los FT que facilitan la formación del complejo de preiniciación, promoviendo la transcripción del gen adyacente. Los xenobióticos pueden interactuar con el FT (u otros componentes del complejo de preiniciación) y con la región promotora del gen.

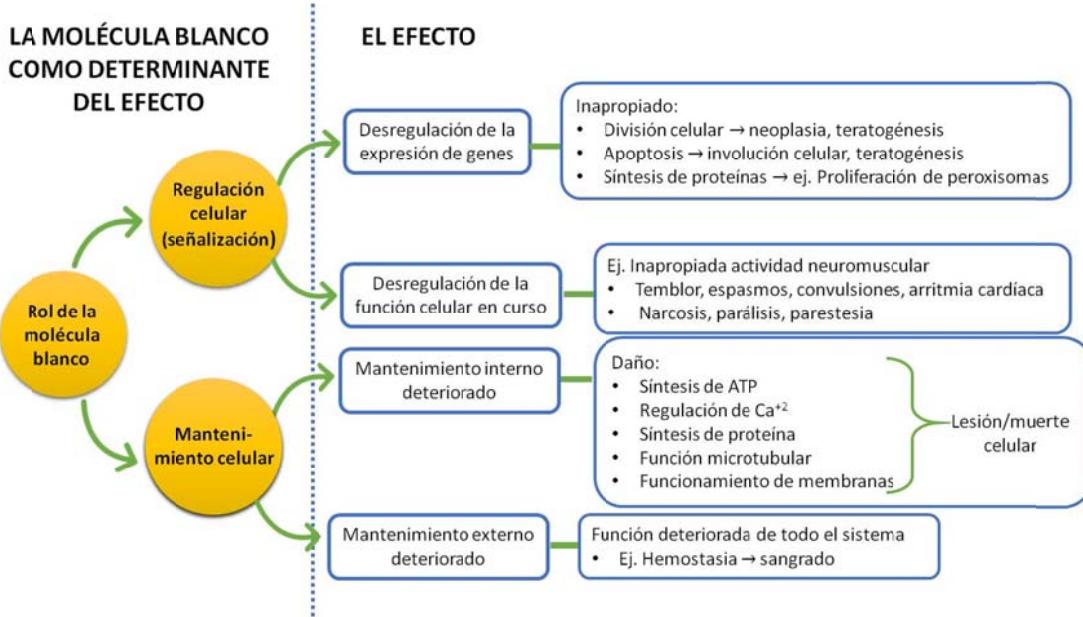


Figura 3: Tercer paso en el proceso de toxicidad

Desregulación de la transcripción por productos químicos que actúa a través de factores de transcripción activados por ligando

Muchos xenobióticos, como las hormonas (por ejemplo esteroides, hormonas tiroideas) y vitaminas (retinoides y vitamina D), influyen en la expresión de genes al unirse a los FT y los activan. Los xenobióticos pueden también imitar a los ligandos naturales. Por ejemplo, los ésteres de ftalatos sustituyen a los ácidos grasos poliinsaturados como ligandos del receptor proliferador de peroxisomas (PPAR) y xenoestrógenos como el dietilestilbestrol, DDT, metoxicloro sustituyen al estradiol.

Muchos compuestos naturales o xenobióticos al administrarse en dosis extremas o en períodos críticos durante la ontogénica influyen en la expresión génica.

Desregulación de la traducción de señales

Las moléculas extracelulares de señalización como los factores de crecimiento, las citocinas, las hormonas y los neurotransmisores pueden también activar los FT a través de los receptores de superficie celular y de los circuitos intracelulares de transducción de señales. Puede ocurrir que los transductores de señales se activen mediante la fosforilación catalizada por la proteína quinasa y se inactivan mediante la desfosforilación llevada a cabo por la proteína fosfatasa. Los xenobióticos pueden causar una transducción aberrante de la señal mediante una alteración de la fosforilación de las proteínas. Pueden interrumpir la interacción normal proteína- proteína formando interacciones anormales o alterando la síntesis o la degradación de las proteínas de degradación de las proteínas de señalización. Estas interacciones influyen en la progresión del ciclo celular. Puede ocurrir que los xenobióticos faciliten la fosforilación de los transductores de señales y promover la mitosis y la formación de tumores. Los esteroides del forbol y la fumoricina activan la proteína quinasa C (PKC) debido a su similitud con el diacilglicerol (DAG) que es activador fisiológico de PKC. El plomo imita a

otro activador fisiológico de la PKC, el calcio, que pone en marcha una cascada de señales de quinasas que estimulan la señalización mitógena y permite la unión de factores de transcripción al DNA. También la fosforilación aberrante de proteína puede disminuir la desfosforilación que llevan a cabo las fosfatasas. La inhibición de fosfatasas parece ser el mecanismo fundamental del efecto mitógeno de varias sustancias químicas involucradas en el stress oxidativo y la radiación UV. La protein fosfatasa A (PP2A) elimina un fosfato activador de una protein quinasa que desencadena la mitosis. Existen otras fosfatasas de unión que son inhibidoras y mantienen bajo control la transmisión de señales y pueden ser alteradas.

Regulación anómala de las células eléctricamente excitables

Las neuronas, los miocitos, las células del músculo esquelético, cardíaco y liso, son células excitables y pueden ser afectadas por xenobióticos. La liberación de neurotransmisores (NT) y la contracción muscular está regulada por transmisores y moduladores que sintetizan y liberan las neuronas. En la Tabla 2 se presentan algunos ejemplos de xenobióticos que interfieren en estos mecanismos. La perturbación de la actividad celular puede deberse a alteraciones en 1) la concentración del NT, 2) la función del receptor, 3) la transducción de señales intracelular y 4) procesos de finalización de la señal.

Alteración de la concentración del NT

Los xenobióticos pueden modificar la concentración del NT en la sinapsis al interferir en su síntesis, almacenamiento y liberación.

Interacción entre el xenobiótico y el Receptor del NT

Muchos xenobióticos interactúan con el receptor de los NT y actúan como agonistas los que se unen al receptor e imitan al ligando natural, 1) antagonistas, se unen al receptor en el sitio del ligando natural sin activar al receptor, 2) activadores, 3) inhibidores se unen a la zona del receptor no involucrada en la unión al ligando natural. Los agonistas y los activadores reproducen la respuesta mientras que los antagonistas y los inhibidores bloquean las respuestas fisiológicas de los ligandos naturales.

Interacción entre el xenobiótico y la transducción de señales

Muchos xenobióticos alteran la actividad neuronal o muscular mediante su acción sobre la traducción de las señales. Los canales de Na dependiente del voltaje aumentan las señales excitatorias generadas por los canales catiónicos los que son activados o inhibidos según diversos xenobióticos (Tabla 2).

Tabla 2: Sustancias que actúan sobre los neurotransmisores y alteración de la regulación de las células

Receptor/Canal/Bomba		Agonistas/activador		Antagonistas/inhibidores	
Nivel	Localización	Sustancia	Efecto	Sustancia	Efecto
Receptor Nicotínico Acetilcolina	Musculo esquelético	Nicotina, anatoxina	Fibrilación muscular luego parálisis	Tubocurarina α Bungarotoxina α Cobrotoxina Ind. Toxina botulínica	Parálisis muscular
	Neuronas		Activación neuronal	Pb, anestésicos	Inhibición muscular
Receptor muscarinico de Acetilcolina	Musculo cardiaco	Ind: inhibidores de ChE	Disminución de la frecuencia y contractibilidad cardiaca	Atropina, fármacos pseudotropínicos	Aumento de la frecuencia cardiaca
Receptor Muscarinico Acetilcolina	Musculo liso	Ind: inhibidores de ChE	Espasmos musculo liso, salivación, lagrimeo	Atropina, Fármacos pseudo Atropínicos Antidepresivos tricíclicos	Relajación musculo liso → parálisis intestinal, disminución salivación
Receptor Muscarinico Acetilcolina	Neuronas del SNC	Oxotremorina Ind: Inhibidores de ChE	Activación neuronal → convulsión		
Receptor 5HT	Musculo liso	Alcaloides ergotaminicos	Vasoconstricción isquemia → hipertensión arterial	ketanserina	Efectos antídotos de intoxicación por ergotaminicos
Receptor α adrenérgico	Musculo liso, muscular	Adrenalina, Noradrenalina, cocaína, tiramina, anfetamina, antidepresivos tricíclicos	Vasoconstricción isquemia → hipertensión arterial	prozosina	Efectos antídotos de intoxicación por agonistas receptor α
Receptor β adrenérgico	Musculo cardiaco	Adrenalina, Noradrenalina, cocaína, tiramina, anfetamina, antidepresivos tricíclicos	Aumento de la excitabilidad y la contractibilidad cardiaca	Atenolol, metropropol	Efectos antídotos de intoxicación por agonistas receptor β
Receptor de glutamato	Neuronas SNC	N metil aspartato Cainato, donato Quisqualato Ind: hipoxia, HCN Liberación Glutamato	Activación neuronal → convulsiones excitotoxicidad	Fenciclidina Ketamina Anestésicos generales	Inhibición neuronal, anestesia Protección contra la excitotoxicidad

Receptor GABA	Neuronas del SNC	Sedantes, barbitúricos, Benzodiacepinas, Anestésicos, alcohol (etanol)	Inhibición neuronal → sedación anestesia general, coma depresión de centros vitales	Picrotoxina, insecticidas ciclodienos, lindano. Ind: isoniazida	Activación neuronal → temblores, convulsiones
Receptor de Glicina	Neuronal SNC, moto neuronas	Anestésicos generales	Inhibición de neuronas motoras	Estricnina Ind: toxina tetánica	Desinhibición de las neuronas motoras → convulsión tetánica
Receptor opiáceo	Neuronas del SNC y neuronas viscerales	Morfina y análogos	Inhibición neuronal → anestesia, depresión respiratoria, retención urinaria, estreñimiento	Naloxona	Efectos antídotos de la intoxicación por opiáceos
Canal de Na ⁺ dependiente del voltaje	Neuronas, células musculares	Aconitina, toxinas de escorpión, Batracotoxina, Ciguatoxina, DDT, piretroides	Activación neuronal → convulsión	Tetradotoxinasaxitoxina, anestésicos locales, fenitoína, quinidina	Inhibición neuronal → parálisis anestésica, acción anticonvulsiva
Canal Ca ⁺² dependiente del voltaje	Neuronas, células musculares	Atrotoxina ? Latrotoxina ?	Activación neuronal y muscular, lesión celular	Pb	Inhibición neuronal → parálisis
Canal de K ⁺ activado por voltaje	Neuronas, células musculares	Pb ⁺²	Inhibición neuronal	Ba, apanina (veneno de abeja)	Activación neuronal y muscular → espasmos, convulsiones

Ind: acción indirecta, es decir alterando el neurotransmisor; ChE: colinesterasa

Deterioro del mantenimiento del medio celular interno: mecanismos de muerte celular por tóxicos

Para sobrevivir las células deben 1) sintetizar moléculas endógenas 2) agrupar complejos macromoleculares 3) mantener el medio interno 4) producir energía para actual.

Las sustancias que alteran estas funciones ponen en peligro la vida de la célula. Se conocen tres alteraciones bioquímicas críticas que provocan la muerte de la célula que son: la disminución de ATP, el aumento del ion calcio y la hiper- producción de especies oxígeno reactivas (ROS) y especies nitrógeno reactivas (NOS).

Disminución de ATP

Son muchas e importantes las funciones que cumple el ATP en la célula. Es la fuente principal de energía. Se utiliza ATP en numerosas reacciones bioquímicas y se incorpora a los cofactores y a los ácidos nucleídos. Es utilizado en la contracción muscular, para polimeriza-

ción del cito esqueleto, el mantenimiento de la motilidad celular, la división celular, el transporte vesicular y la morfología de las células. También el ATP impulsa los transportadores iónicos que conservan las condiciones esenciales para las diversas funciones celulares.

El ATP se forma en la mitocondria mediante la fosforilación oxidativa en un proceso de varios pasos, cada uno de los cuales puede ser inhibido por la acción de diversos xenobióticos como se presenta a continuación:

1. Inhibidores de la entrega de hidrógeno a la cadena de transporte de electrones que actúa sobre /como
 - 1.1. Glicólisis (crítica en neuronas): hipoglucemia; yodoacetato y NO^+ en GAPDH (gliceraldehido 3 fosfato deshidrogenasa)
 - 1.2. Gluconeogenesis (crítica en células tubulares renales): consumidores de coenzima
 - 1.3. Oxidación de ácidos grasos (crítica en el músculo cardíaco): hipoglicina, ácido 4-pentenoico
 - 1.4. Piruvato deshidrogenasa: arsenito, DCVC (dclorovinil cisteína), p-benzoquinona
 - 1.5. Ciclo de citrato
 - 1.5.1. Aconitasa: fluoroacetato, ONOO^-
 - 1.5.2. Isocitrato deshidrogenasa: DCVC
 - 1.5.3. Succinato deshidrogenasa: malonato, DCVC, PCBD-cys, 2-bromohidroquinona, ácido 3-nitropiónico, cis-crotonalide, fungicidas
 - 1.6. Agotadores de TPP (inhiben Piruvato Deshidrogenasa y -cetoglutarato deshidrogenasa KGDH): etanol
 - 1.7. Consumidores de coenzima A: 4- (dimetilamino) fenol, p-benzoquinona
 - 1.8. Consumidores de NADH
 - 1.8.1. Activadores de poli (ADP-ribosa) polimerasa: agentes que causan daño en el ADN (por ejemplo, metil nitroso guanidina, peróxido de hidrógeno, ONOO^-)
2. Inhibidores del transporte de electrones que actúan sobre / como
 - 2.1. Inhibidores de complejos de transporte de electrones
 - 2.1.1. NADH-coenzima Q reductasa (complejo I): rotenona, amital, paraquat
 - 2.1.2. Citocromo Q-citocromo c reductasa (complejo III): antimicina-A, mixotiazol
 - 2.1.3. Citocromo oxidasa (complejo IV): cianuro, sulfuro de hidrógeno, azida, formiato, NO , fosfina (PH_3).
 - 2.1.4. Inhibidores múltiples: dinitroanilina y herbicidas difeniléter, ONOO^- .
 - 2.1.5. Aceptores de electrones: CCl_4 , doxorubicina, menadiona.
 3. Inhibidores del suministro de oxígeno a la cadena de transporte de electrones.
 - 3.1. Productos químicos que causan parálisis respiratoria: depresores del sistema nervioso central (por ejemplo, opiáceos), convulsivos.
 - 3.2. Productos químicos que alteran el intercambio gaseoso pulmonar: CO_2 , "irritantes pulmonares profundos" (NO_2 , fosfeno, perfluoroisobuteno).
 - 3.3. Productos químicos que inhiben la oxigenación de Hb: monóxido de carbono, sustancias químicas que forman metahemoglobina.

3. 4. Productos químicos causantes de isquemia: alcaloides ergot, cocaína.
4. Inhibidores de la fosforilación de ADP.
 - 4.1. ATP sintasa: oligomicina, citoxina, DDT, clordecona
 - 4.2. Translocador de nucleótidos de adenina: atractilósido, DDT, ácidos grasos libres, lisofosfolípidos.
 - 4.3. Transportador de fosfato: N-etilmaleimida, mersalil, p-benzoquinona.
 - 4.4. Productos químicos que disipan el potencial de la membrana mitocondrial (desacopladores).
 - 4.4.1. Cationóforos: herbicidas de pentaclorofenol, dinitrofenol, benzonitrilo, tiadiazol, salicilato, fármacos catiónicos, anfifílicos (amiodarona, perhexilina), valinomicina, gramicidina, calcimicina
 - 4.4.2. Productos químicos que permeabilizan la membrana interna mitocondrial: pentacloro butadieniel-cys, clordecona.
5. Productos químicos que causan daño en el ADN mitocondrial y/o alteración de la transcripción de proteínas mitocondriales claves.
 - 5.1. Medicamentos antivirales: zidovudina, zalcitabina, didanosina, fialuridina.
 - 5.2. Cloranfenicol (cuando se sobredosisifica).
 - 5.3. Etanol (cuando se consume crónicamente).

Aumento del ion calcio dentro de la célula

Existe una diferencia de 10,000 veces entre la concentración de Ca^{2+} extracelular y la citosólica la cual se mantiene por la impermeabilidad de la membrana plasmática a Ca^{2+} y por los mecanismos de transporte que eliminan el Ca^{2+} del citoplasma.

Resulta importante mantener la impermeabilidad de la membrana plasmática a los iones calcio así como los mecanismos de transportes que extraen calcio a efectos de mantener la regulación y mantenimiento de los niveles del ion. El calcio es bombeado afuera del citoplasma a través de la membrana plasmática y además quedar retenido en el retículo endoplasmático y en las mitocondrias (Figura 4).

Existen sustancias tóxicas que aumentan los niveles de calcio porque facilitan la entrada de calcio o inhiben la salida. La apertura de los canales de calcio y la alteración de la membrana plasmática hace que el calcio se desplace hacia el exterior en contra de un gradiente desde el líquido extracelular al citoplasma. Otros tóxicos pueden causar la fuga del calcio del retículo endoplasmático o de las mitocondrias y aumentar la concentración intracelular. También pueden ser inhibidos los transportadores o el consumo de fuerza impulsora. Un aumento de calcio intracelular es nocivo para la célula porque puede dar lugar a 1) agotamiento de las reservas energéticas secundario a la inhibición de ATPasa que participa en la fosforilación oxidativa 2) disfunción de los microfilamentos 3) activación de enzimas hidrolíticas 4) formación de ROS NOS.

Hay al menos tres mecanismos por los cuales las concentraciones elevadas y sostenidas en Ca^{2+} intracelular influyen desfavorablemente equilibrio de la energía celular.

- Primero, las altas concentraciones citoplásmicas de Ca^{2+} provocan un aumento de la captación mitocondrial de Ca^{2+} por parte del transportador de difusión facilitada de Ca^{2+} que utiliza como fuerza impulsora el potencial de membrana negativo del interior mitocondrial. En consecuencia, la captación mitocondrial de Ca^{2+} disipa el potencial de membrana y se inhibe la síntesis de ATP. Además, los productos químicos que oxidan el NADH mitocondrial activan un transportador que extrae Ca^{2+} desde la matriz. La consiguiente incorporación y exportación continua de Ca^{2+} (Ca^{2+} ciclismo") por las mitocondrias compromete aún más la fosforilación oxidativa.
- En segundo lugar, el Ca^{2+} también puede alterar la síntesis de ATP causando daño oxidativo a la membrana interna por mecanismos.
- En tercer lugar, un aumento sostenido de Ca^{2+} citoplásmico no solo perjudica la síntesis de ATP, también aumenta el consumo de ATP por la Ca^{2+} -ATPasa que continua trabajando para eliminar el exceso de Ca^{2+} .

Un segundo mecanismo por el cual un aumento descontrolado de Ca^{2+} en el citoplasma causa lesión celular es la disociación microfilamental. Los filamentos de actina mantienen la morfología celular mediante la unión de los filamentos a proteínas de unión de actina en la membrana plasmática.

Un aumento de Ca^{2+} citoplásmico provoca la disociación de los filamentos de actina, - actinina y fodrina, dos proteínas que promueven el anclaje del filamento a la membrana plasmática. Esto representa un mecanismo que conduce a la formación de ampollas en la membrana plasmática, una condición que predispone la membrana a la ruptura.

Un tercer evento por el cual las altas concentraciones de Ca^{2+} son perjudiciales para las células es la activación de las enzimas hidrolíticas que degradan las proteínas, fosfolípidos y ácidos nucleídos. Muchas proteínas de membrana son el objetivo de proteasas neutras activadas con Ca^{2+} o calpaínas. La hidrólisis mediada por calpaína de las proteínas de unión a actina también puede causar formación de ampollas en la membrana. La activación indiscriminada de fosfolipasas por Ca^{2+} causa la ruptura de la membrana en forma directa o por la formación de detergentes. La activación de endonucleasa dependientes de Ca^{2+} y Mg^{2+} causa la fragmentación de la cromatina.

Niveles elevados de Ca^{2+} puede bloquear la topoisomerasa II en una forma que escinde al DNA. En resumen, la hipercalcemia intracelular se activa por varios procesos que interfieren con la capacidad de las células para mantener su integridad estructural y funcional.

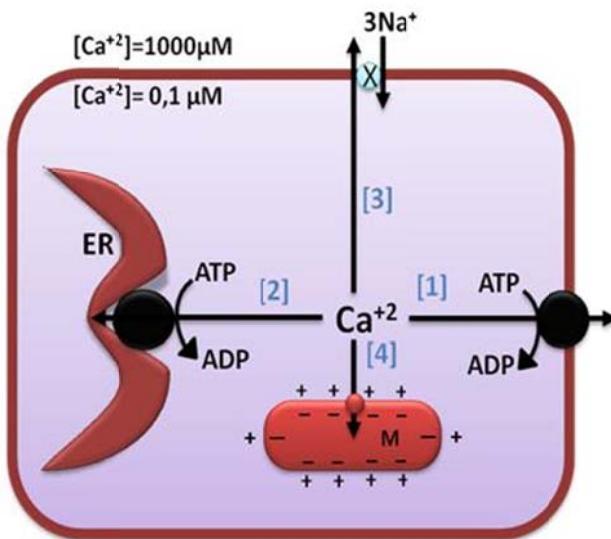


Figura 4: Mecanismos para la eliminación de Ca^{2+} del citoplasma: 1) El bombeo mediado por Ca^{2+} -ATPasa hacia el espacio extracelular, 2) incorporación al retículo endoplásmico (ER) impulsado por un gradiente iónico, 3) expulsar al espacio extracelular por el intercambiador de $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ y 4) ingreso a las mitocondrias (M, por un transportador de Ca^{2+}).

Sustancias que inducen la entrada de Ca^{2+} en el citoplasma

1. A través de canales activados por ligando en neuronas:
 - 1.1. Agonistas del receptor de glutamato ("excitotoxinas"): glutamato, kainato, domoato
 - 1.2. Agonistas de receptores de capsaicina: resiniferatoxina
2. A través de canales de voltaje activado: maitotoxin (?), HO ·
3. A través de "poros recién formados": maitotoxina, anfotericina B, clordecona, metilmercurio, alquilatinas
4. A través de la membrana celular alterada:
 - 4.1. Detergentes: detergentes exógenos, lisofosfolípidos, ácidos grasos libres.
 - 4.2. Enzimas hidrolíticas: fosfolipasas en venenos de serpiente, fosfolipasa A2 endógena.
 - 4.3. Peroxidantes de lípidos: tetracloruro de carbono.
 - 4.4. Toxinas citoesqueléticas (al inducir la formación de ampollas en la membrana): cito-calasinas, faloidina.
5. Desde las mitocondrias:
 - 5.1. Oxidantes de NADH mitocondrial: alloxan, t-BHP, NAPBQI, divicina, hidroperóxidos de ácidos grasos, menadiona,
 - 5.2. Otros: óxido de fenilarsina, gliotoxina, • NO, ONOO-
6. Desde el retículo endoplásmico:
 - 6.1. Activadores del receptor IP3: γ-HCH (lindan), IP3 formado durante la "excitotoxicidad"
 - 6.2. Activadores del receptor de Ryanodine: -HCH

Sustancias químicas que inhiben la exportación de Ca²⁺ del citoplasma (inhibidores de Ca²⁺-ATPasa en la membrana celular y/o retículo endoplásmico)

1. Aglutinantes covalentes: acetaminofeno, bromobenceno, CCl₄, cloroformo, 1,2 dicloroetileno
2. Oxidantes tiol: cistamina (formación de disulfuro mixto), diamida, t-BHP, O^{•-}
- 2 y generadores HOOH (por ejemplo, menadiona, diquat)
3. Otros: vanadate, Cd²⁺
4. Productos químicos que alteran la síntesis de ATP mitocondrial

Hiperproducción de ROS y NOS

Muchos xenobióticos como los metales de transición pueden formar ROS y NOS. La hipercalemia intracelular puede causar la hiperproducción de ROS y NOS debido a que el calcio ayuda a generar una o ambas especies mediante la activación de las deshidrogenasas del ciclo del ácido cítrico y de la sintasa de NO.

La interacción entre los trastornos metabólicos anuncia un desastre celular. Los principales procesos bioquímicos descriptos anteriormente pueden interactuar entre sí y aumentarse de diversas formas:

1. Al agotarse las reservas de ATP priva de energía a las bombas de calcio de la membrana plasmática produciendo la elevación de los niveles de calcio en el citoplasma. El flujo de calcio hacia el citoplasma hace que el potencial de membrana de la mitocondria disminuya e impide la acción de la ATP sintasa.
2. La hipercalcemia intracelular facilita la formación de ROS y NOS, inactivan oxidativamente la bomba Ca²⁺, mediante oxidación que a su vez, agrava la hipercalcemia.
3. Los ROS y NOS también pueden agotar las reservas de ATP. El radical NO[•] es un inhibidor reversible de la citocromo oxidasa, el catión NO⁺ (nitrosonio) inactiva gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, alterando la glucólisis, mientras que el radical ONOO irreversiblemente la cadena respiratoria. Por lo tanto, NO[•] y ONOO[•] inhiben síntesis celular de ATP.
4. Además, ONOO[•] puede inducir roturas monocatenarias de ADN, que activan la polimerasa (PARP). Como parte de la estrategia de reparación, la PARP activada transfiere numerosos fragmentos de ADP-ribosa desde el NAD⁺ a proteínas nucleares y a la propia PARP. El consumo de NAD⁺ compromete severamente la síntesis de ATP mientras que la re-síntesis de NAD⁺ consume ATP, una de las consecuencias de la alteración al daño del ADN por ONOO[•] es el déficit de energía celular.

Transición de permeabilidad mitocondrial (MPT) y el peor resultado: Necrosis

La captación mitocondrial de Ca²⁺, la disminución del potencial de membrana mitocondrial, la formación de ROS y NOS, el agotamiento del ATP y las consecuencias de los trastornos metabólicos primarios (p. ej., acumulación de compuestos inorgánicos fosfato, ácidos grasos

libres y lisofosfátidos) son factores que causan un aumento abrupto en la permeabilidad de la membrana interna mitocondrial denominada MPT.

Esto se cree que es causado por proteínas mal plegadas de la membrana interna y externa, que se agregan y abren un poro proteináceo ("megacanal") que abarca ambas membranas mitocondriales. Como este poro es permeable a solutos de tamaño 1500 Da, su apertura permite la libre afluencia en el espacio de matriz de protones, causando la disipación rápida y completa del potencial de membrana, detiene la síntesis de ATP, así como la afluencia osmótica de agua, lo que resulta en la hinchazón mitocondrial. El Ca^{2+} que se acumuló en el espacio de la matriz fluye a través del poro, inundando el citoplasma.

Tales mitocondrias no solo son incapaces de sintetizar ATP sino que incluso perder los recursos restantes porque la despolarización de la membrana interna fuerza a la ATP sintasa a operar en el reverso, como una ATPasa, hidrolizando ATP a ADP. En este escenario, incluso la glucólisis puede verse comprometida por el suministro insuficiente de ATP a las enzimas glucolíticas (hexoquinasa, fosfofructoquinasa). Una completa catástrofe bioenergética se produce en el metabolismo de la célula por los trastornos provocados por la sustancia tóxica (Figura -7) que es tan extenso que la mayoría o todas las mitocondrias en la célula se someten a MPT, causando el agotamiento del ATP celular. Los procesos de degradación ya delineados (p. Ej., Oxidativo y la degradación hidrolítica de macromoléculas y membranas, así como la desintegración del soluto intracelular y la homeostasis volumétrica) se completarán, causando una falla completa en el mantenimiento de la estructura celular y funciones que culminan en la lisis celular o **necrosis**

El término oncosis (del griego *onkos*, hinchazón) se ha propuesto, en sustitución al de necrosis, para situaciones patológicas en que la principal característica de la célula enferma es su inflamación o balonamiento, seguido de formación de vesículas y estallido.

La **oncosis o necrosis** es un fenómeno pasivo; no está programado genéticamente.

Se inicia por la acción de un tóxico que altera las estructuras o funciones celulares un aumento de la permeabilidad de la membrana celular, que se traduce en entrada de agua e iones acompañada de disminución de la capacidad para bombear iones, lo que lleva a hinchazón y posibilidad de rotura. Ello lleva a un incremento de la concentración citosólica de calcio, el cual activa las fosfolipasas que, a su vez, degradan a los fosfolípidos y se produce rotura de membranas y fragmentación de orgánulos, con hinchazón y estallido celular, cuyo contenido (enzimas lisosómicas) afecta a las células vecinas lo que induce una respuesta inflamatoria en el tejido.

La necrosis celular es un proceso desordenado e independiente de energía, presenta cambios irreversibles en el núcleo celular (cariólisis) y pérdida de la estructura citoplasmática, además hay una clara disfunción en la mitocondria y aumento en el volumen celular, desencadenando citólisis y posteriormente liberando todo el material citoplasmático hacia el exterior de la célula, produciendo procesos inflamatorios y necróticos en los tejidos afectados.

Una consecuencia alternativa de la TMP: la apoptosis

Las sustancias químicas que afectan desfavorablemente el metabolismo energético celular a la homeostasis del calcio y el estado óxido reducción que finalmente producen la necrosis también pueden provocar apoptosis.

El término **apoptosis** se aplica a la muerte que acontece en el recambio celular fisiológico, que elimina las células dañadas, precancerosas o en número excesivo (como un antónimo de mitosis); pero se ha visto que la apoptosis también puede inducirse por xenobióticos. Es un fenómeno biológico básico de cinética de la renovación celular; aunque supone una forma de muerte y eliminación de células, se conserva la arquitectura del tejido. Participa ampliamente en la organogénesis, en la resolución de los procesos inflamatorios, en el control del crecimiento de los tumores, en los procesos inmunitarios, la defensa ante los virus, etc.

La forma de muerte celular reconocida como apoptosis fue intuida por el patólogo alemán Virchow (1821-1902), y se confirmó posteriormente por los hallazgos ultra estructurales con microscopía electrónica que indujeron a denominarla "necrosis por encogimiento o contracción". La célula afectada muere pero, a diferencia de la necrosis no se lesionan los tejidos vecinos y no hay respuesta inflamatoria.

La apoptosis es la muerte celular por un proceso activo, controlado genéticamente, que elimina células no necesarias o dañadas. Se origina por lesión o modificación del ADN nuclear, la cual lleva a cambios en la estructura que conducen a la fragmentación celular sin respuesta inflamatoria.

Apoptosis es un proceso coordinado, dependiente de energía, que involucra la activación de un grupo de cisteína proteasas denominadas *caspasas* (en inglés: cysteinyl aspartate-specific proteases) y una compleja cascada de eventos que unen el estímulo inicial con la desaparición definitiva de la célula.

La apoptosis es un mecanismo de respuesta biológica cuando la célula percibe un conflicto entre las señales que recibe, procedentes del interior o del exterior. Por ello, no es correcto interpretar la apoptosis exclusivamente como "muerte celular programada", ya que también es inducida por agentes externos.

La apoptosis es un fenómeno activo que supone la activación de determinados genes ("genes de muerte") cuya expresión da lugar a la síntesis de varias proteínas que pueden actuar bien como reguladores de la transcripción y frenando la proliferación celular o bien como activadores de enzimas proteolíticas (endonucleasas, caspasas, topoisomerasas, transglutaminasas, etc.), que alteran o fragmentan proteínas y ADN. Se han descubierto también genes que frenan la apoptosis actuando sobre aquellos, pero que, a su vez, pueden ser inhibidos, con lo que quedan libres de actuar los apoptósicos.

El primer cambio bioquímico en la apoptosis es la modificación del potencial de membrana mitocondrial, con liberación de citocromo c. La presencia de éste en el citosol activa a distintas enzimas proteasas como las caspasas y las endonucleasas.

Las caspasas son proteasas, enzimas que participan en la apoptosis; otras proteasas diferentes que también participan en la apoptosis son las calpaínas (que fueron las primeras enzimas reconocidas como implicadas), catepsinas, granzimas, serina-proteasas, proteasosomas, etc. Las caspasas son aspartasas C-cisteína; es decir, cortan a las proteínas por el ácido aspártico, y tienen cisteína en el centro activo de la enzima. Se sintetizan en forma inactiva, como procaspasas que han de ser activadas por las caspasas inductoras, para iniciar lo que se conoce como **cascada proteolítica**, en la que participan también otras proteínas como la p-53, las Apf (factor activador de proteasa apoptótica), las FAS, las Bax, etc., que son proapoptóticas, y las Bcl (expresadas por protooncogenes del cromosoma 18), que son antiapoptóticas. Se conocen actualmente casi 15 caspasas que se dividen, según su intervención en la cascada proteolítica, en tres grupos: inductoras, ejecutoras e inductoras-ejecutoras. Una vez activadas, las caspasas ejecutoras fragmentan el citoesqueleto y el núcleo; en esto último colabora una **endonucleasa** (ADNasa) activada.

Otra enzima que participa en estos procesos es la **topoisomerasa**, capaz de cortar una o dos hebras del ADN, lo que permite un giro o relajación transitoria de la doble hélice que favorece el acceso a la información genética; ello da lugar a una sobreexpresión de las caspasas y otras proteínas con inducción de la apoptosis.

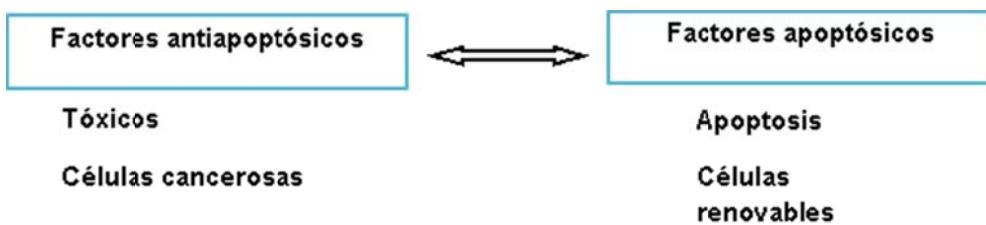
Se ha clasificado los métodos de detección de apoptosis en: 1) alteraciones citomorfológicas; 2) fragmentación de ADN; 3) detección de caspasas, fragmentación de sustratos, reguladores e inhibidores; 4) alteraciones de membrana; y 5) ensayos mitocondriales. Todos y cada uno de ellos tienen ventajas y desventajas tanto técnico-científica

La detección de la aparición de apoptosis en un órgano por estudio histológico es difícil, porque no se produce inflamación y los cuerpos apoptóticos son rápidamente fagocitados. Puede realizarse mediante citometría de flujo para el recuento de células apoptóticas y por cuantificación inmunoquímica de fragmentos nucleosómicos.

Una técnica de cuantificación histoquímica denominada T.U.N.E.L. (en inglés: Terminal dUTP Nick End-Labeling) consistente en marcar células que han sufrido daño al DNA por acción de endonucleasas. Estas células se pueden marcar y visualizándolas en microscopio de luz, de fluorescencia o citómetro de flujo.

La apoptosis también puede ser revelada a partir de una cuantificación de la actividad enzimática de caspasas, informada como un marcador eficiente, por ejemplo, si se aplica el sustrato de reconocimiento a la caspasa-3 (efectora) siendo esta actividad determinada por varias técnicas como Western blot, Inmunoprecipitación e Inmunohistoquímica

Puede decirse que en situación de normalidad existe un equilibrio entre distintos factores que favorecen la apoptosis y los que se oponen a ella, equilibrio que puede ser alterado por intervención de un tóxico:



En las células perecederas o renovables prevalecen los genes proapoptóticos, mientras que en las células cancerosas los antiapoptóticos. Cuando los genes de uno u otro signo experimentan mutaciones o cambios cuantitativos en su expresión, tienen lugar distintas patologías como cánceres, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades degenerativas, etc.

Cuando se inicia la apoptosis se observa al microscopio óptico y al electrónico una condensación de la cromatina, adoptando el núcleo forma de media luna creciente, lo que presagia la aparición de vesículas y fragmentación; el citoplasma se retrae, el agua pasa al retículo endoplasmico, cuyas cisternas se dilatan y se abren poros en la membrana que sirven de canales para la salida del agua. Los orgánulos se aproximan, pero las mitocondrias no presentan las alteraciones propias de la oncosis. Finalmente, la célula lesionada es fagocitada por macrófagos o por las células vecinas.

Tóxicos como el metilmercurio incrementa la fragmentación del ADN en regiones del sistema nervioso.

Aunque por su trascendencia fisiopatológica son importantes las afectaciones de las células nobles o parenquimatosas de los principales órganos (hepatocito, neumocito, neurona, nefrona), también presenta especial interés la alteración de las células que forman las paredes de los vasos sanguíneos, concretamente, del endotelio, por el extenso territorio anatómico que abarca.

Tabla 3. Diferencias entre apoptosis y oncosis

Variables	Apoptosis	Oncosis
Origen	Programación genética	Accidental
Especificidad celular	Si	No
Proceso	Activo, consumo de energía	Pasivo
Tamaño celular	Disminuye, condensación del núcleo	Aumento
Membrana plasmática	Se conservan	Se desintegran
Orgánulos	Se conservan	Se desintegran
Cromatina	Se agregan a la membrana	Floccula
ADN	Fragmentación a nucleosomas	Roturas al azar
Cuerpos apoptóticos	Se forman	No, lisis total

¿Qué determina la forma de muerte celular? Muchos xenobióticos pueden causar tanto apoptosis como necrosis. Xenobióticos, como el hepatotóxico 1,1-dicloroetileno, tioacetamida y el cadmio y la ocratoxina nefrotóxica pueden causar tanto apoptosis como necrosis.

La disponibilidad de ATP determina la forma de la muerte celular

Hay algunas características comunes en el proceso de apoptosis y necrosis. Sin embargo, los tóxicos tienden a inducir apoptosis a niveles de exposición bajos o a niveles altos de xenobióticos pero a cortos tiempos de exposición, mientras que causan necrosis más tardíos a niveles de exposición altos. Esto indica que la gravedad de la agresión determina el modo de muerte celular. Con base en la evidencia experimental, parece que los daños tóxicos más grandes causan la muerte celular necrótica en lugar de la apoptosis porque incapacita a la célula para sufrir apoptosis. Esta incapacitación puede ser el resultado de tres eventos celulares relacionados causativamente, es decir, un número creciente de mitocondrias sometidas a TPM, agotamiento de ATP y activación fallida o inactivación de caspasas. Se propuso un modelo en el que el número de mitocondrias sometidas a TPM (que probablemente depende del grado de exposición química) determina el destino de la célula. Según este modelo, cuando solo unas pocas mitocondrias desarrollan TPM, se eliminan mediante autofagia lisosómica y la célula sobrevive. Cuando más mitocondrias sufren TPM, el mecanismo autofágico se abruma, y los factores proapoptóticos liberados (por ejemplo, cyt c, Smac, AIF) inician la activación de la caspasa y apoptosis (Fig. 5). Cuando TPM involucra prácticamente a todos mitocondrias, ocurre necrosis.

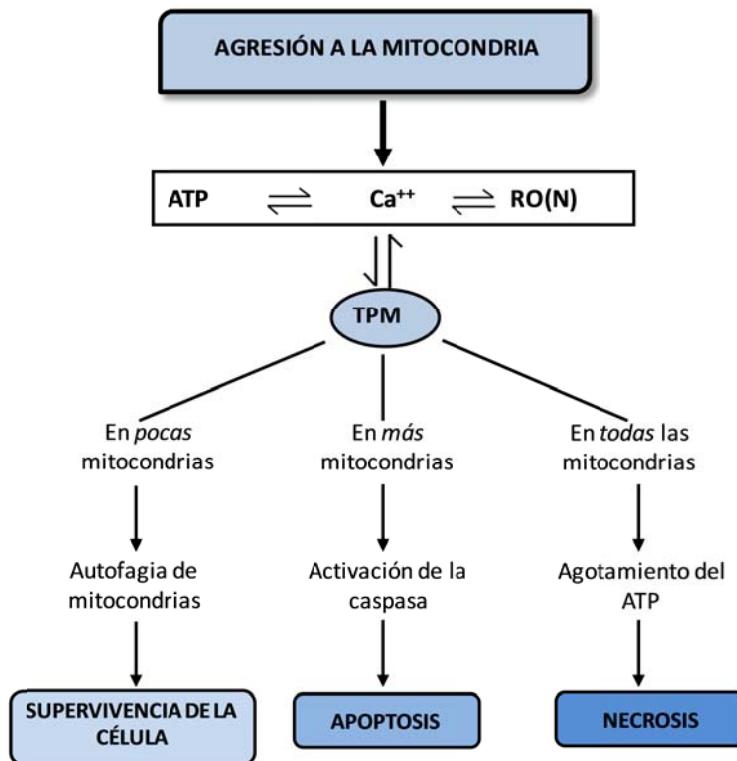


Figura 5: Árbol de decisiones sobre el destino de la célula lesionada. TPM transición de permeabilidad mitocondrial

Cuarto paso, reparación o reparación anómala

El cuarto paso en el desarrollo de la toxicidad es una reparación inadecuada. Los xenobióticos al alterar una macromolécula pueden no ser reparadas y producir daños en el organismo que influye en la progresión de la toxicidad.

Reparación molecular

La molécula dañada puede ser reparada por diferentes vías. La reparación como la oxidación de grupos tioles de las proteínas o de los metilos del DNA puede revertir el daño original. En el caso de DNA alterado químicamente o los lípidos peroxidados es posible eliminar las unidades dañadas de las moléculas mediante una hidrólisis y se introducen unidades neosintetizadas. En esas situaciones se procede a la degradación completa de la molécula alterada que se sintetiza de nuevo.

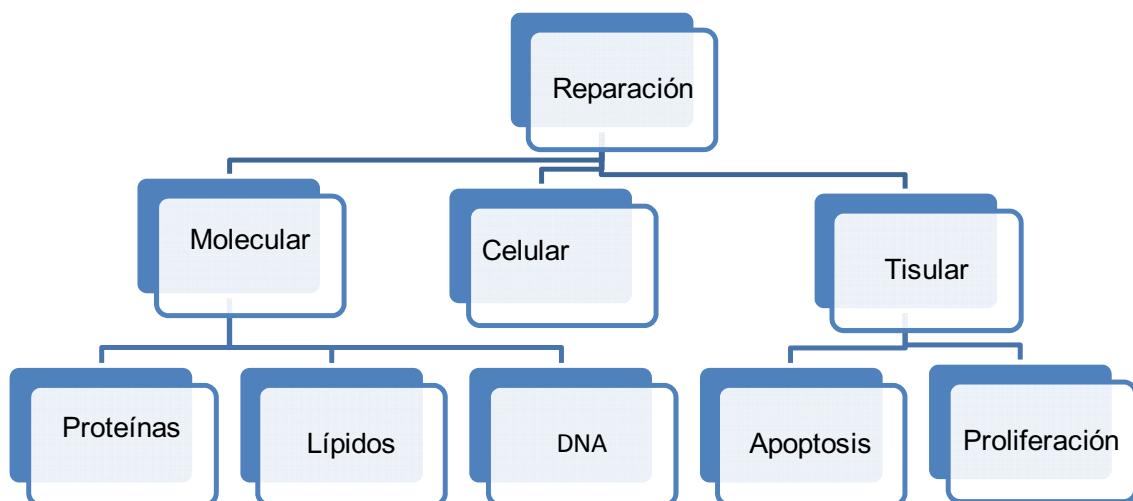


Figura 6: Mecanismo de reparación

Reparación de proteínas

Los grupos tioles son esenciales para las proteínas. La oxidación de estos grupos se revierte mediante una reducción enzimática catalizada por la tioredoxina. Una vez oxidados los grupos catalíticos de las tiol proteínas se reciclan nuevamente empleando NADPH.

La reparación de la hemoglobina oxidada (metahemoglobina) se logra mediante una transferencia de electrones desde el citocromo b5 el cual se regenera a continuación a través de citocromo b5 reductasa dependiente de NADH.

Las chaperonas moleculares como las proteínas de choque térmico pueden rescatar proteínas desnaturalizadas por desagregación y replegamiento dependiente de ATP, o mediante la participación de la ubiquitina ligasa dependiente de chaperonas que ayudan en su degradación por los proteasomas. Los proteasomas son grandes complejos de proteasa que consumen ATP en el citosol que no solo controla el nivel de proteínas reguladoras (por ejemplo, p53, IκB, Nrf2,

ciclinas), sino también tienen un papel predominante eliminando proteínas intracelulares oxidadas y mal plegada o dañadas de otro modo.

Reparación de lípidos

Los lípidos peroxidados se reparan mediante un complejo proceso que opera en conjunto con una serie de reductores, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa. Los fosfolípidos que contienen hidroperóxidos de ácidos grasos se hidrolizan preferencialmente por fosfolipasa A2, y son reemplazados por ácidos grasos normales. Nuevamente, NADPH es necesario para "reparar" los reductores que se oxidan en el proceso.

Reparación de ADN

A pesar de su alta reactividad con electrófilos y radicales libres, el ADN nuclear es notablemente estable, en parte porque está empaquetado en cromatina y debido a varios mecanismos de reparación disponibles para corregir alteraciones. El ADN mitocondrial, sin embargo, carece de histonas y mecanismos de reparación eficientes y por lo tanto es más propenso al daño. Se corrigen diferentes tipos de daños por mecanismos especializados, cada uno empleando un conjunto diferente de proteínas de reparación.

Reparación directa

Ciertas modificaciones de ADN covalente son directamente revertidas por enzimas como la ADN fotoliasa, que escinde pirimidinas adyacentes dimerizadas por luz UV. Esta enzima está equipada con cromóforos y funciona solamente en las células expuestas a la luz. Los aductos menores, como grupos metilo, unidos a bases de ADN por agentes alquilantes (por ejemplo, sulfonato de metilmetano) pueden eliminarse por enzimas especiales. Tales grupos unido a la posición O6 de la guanina son eliminados por O6-metilguanine-DNA-metiltransferasa (MGMT). Mientras repara el ADN, esta alquiltransferasa se sacrifica a sí misma, transfiriendo el aducto en uno de sus residuos de cisteína. Esto resulta en su inactivación, ubiquitinación y degradación proteosomal. Por lo tanto, como el glutatión, que se agota durante la desintoxicación de electrófilos, MGMT se consume durante la reparación del ADN. Los grupos de metilo adjuntos a N1 de adenina y guanina, y N3 de timina y citosina se eliminan por desmetilación oxidativa catalizada por ADN dioxigenasas (ABH2 y ABH3).

Escisión de reparación de escisión de base y escisión de nucleótidos

Son dos mecanismos para eliminar las bases dañadas del ADN. Lesiones que no causan una gran distorsión de la hélice se eliminan mediante escisión de base, en la cual la base alterada es reconocida por una DNA-glicosilasa relativamente específica de sustrato que hidroliza el enlace N-glicosídico, liberando la base modificada y la creación de un sitio apurínico o apirimídico (AP) en el ADN. El sitio AP es reconocido por la AP endonucleasa, que hidroliza el enlace fosfodiéster adyacente al sitio abásico. Despues de su eliminación, el azúcar abásico es reemplazado con el nucleótido correcto por una ADN polimerasa y está sellado en lugar por

una ligasa de ADN. Curiosamente, AP endonucleasa es una proteína bifuncional y también se llama factor-1 redox. Lesiones más importantes como los aductos producidos por aflatoxinas o los derivados de aminofluoreno y los dímeros causados por la radiación UV son eliminados por reparación de escisión de nucleótidos, que emplea aproximadamente 30 proteínas. Involucra proteínas que reconocen la doble hélice distorsionada en la lesión, desenrollan el ADN, extirpan una cantidad de nucleótidos intactos en ambos lados de la lesión junto con el que contiene el aducto. La sección extirpada de la cadena se restaura mediante la inserción de nucleótidos en la cadena de la ADN polimerasa y la ligasa, usando la cadena complementaria como modelo.

La poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) parece ser importante en la reparación de la reparación por escisión.

Cuando se produce una alteración de una base o una rotura monocatenaria la PARP se une al ADN lesionado y se activa. El PARP activo escinde NAD⁺ y utiliza el fragmento ADP-ribosa de este cofactor para insertar cadenas largas de ADP-ribosa polimérica a las proteínas nucleares, tales como histonas. Una unidad ADP-ribosa contiene dos cargas negativas, las proteínas poli (ADPribose) acumulan negatividad y la fuerza electro repulsiva resultante entre las proteínas cargadas negativamente y el ADN provocan la descondensación de la estructura de la cromatina. Se ha presentado la hipótesis que la fluidez de la cromatina terciada por PARP permite el acceso de las enzimas reparadoras del DNA.

Reparación celular

Una estrategia de reparación de células dañadas es ampliamente utilizada en las neuronas periféricas para superar las lesiones celulares. En la mayoría de los tejidos, las células lesionadas mueren y los sobrevivientes se dividen para reemplazar las células perdidas. Una excepción notable es el tejido nervioso, porque las neuronas maduras han perdido su capacidad de multiplicarse. En las neuronas periféricas con daño axonal, la reparación se produce y requiere macrófagos y células de Schwann. Los macrófagos eliminan los desechos por fagocitosis y producen citocinas y factores de crecimiento, que activan las células de Schwann para que proliferen y se diferencien del modo de operación de mielinización en un modo de crecimiento-soporte. Las células de Schwann juegan un papel indispensable en la promoción de regeneración axonal al aumentar la síntesis de moléculas de adhesión celular, elaborando proteínas de matriz extracelular para la construcción de la membrana, y mediante la producción de una matriz (por ejemplo, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento derivado de la línea de células gliales).

En el sistema nervioso central de los mamíferos, la regeneración axonal es prevenida por glucoproteínas inhibidoras del crecimiento y proteoglicanos sulfato de condroitina producidos por los oligodendrocitos y por la cicatriz producida por los astrocitos. Por lo tanto, el daño a las neuronas centrales es irreversible, pero se compensa en parte por el gran número de células nerviosas de reserva que pueden asumir las funciones de neuronas perdidas. Por ejemplo, en

la enfermedad de Parkinson, los síntomas no se observan hasta que haya al menos una pérdida del 80% de las neuronas de la zona nigroestriatal.

Reparación de tejidos

En los tejidos cuyas células son capaces de multiplicarse, el daño se invierte mediante la eliminación de las células lesionadas y la regeneración del tejido por proliferación. Las celdas dañadas son eliminadas por apoptosis o necrosis.

Apoptosis: una eliminación activa de células dañadas iniciada por la apoptosis por lesión celular se puede considerar como reparación de tejido por dos razones, el primero de ellos es que puede interceptar el proceso que conduce a la necrosis.

La necrosis es más dañina que la apoptosis para el tejido en el que reside la célula lesionada.

Con la apoptosis, se eliminan las células muertas sin inflamación En segundo lugar, la apoptosis puede interceptar el proceso que conduce a la neoplasia mediante la eliminación de las células con potencial mutagénico con daño en el ADN.

Debe enfatizarse, sin embargo, que la apoptosis de daño las células tienen un valor total como proceso de reparación de tejidos solo para los tejidos que se componen de células que se renuevan constantemente (por ejemplo, la médula ósea, el epitelio respiratorio y gástrico-intestinal, y la epidermis de la piel), o de células que se dividen de manera condicional (por ejemplo, hepática y renal células parenquimatosas), porque en estos tejidos las células apoptóticas son reemplazados fácilmente El valor de la apoptosis como estrategia de reparación tisular disminuye notablemente en órganos que contienen células no reemplazables, como las neuronas, las células del músculo cardíaco y células germinales femeninas, porque la eliminación de tales células, si es extensa, puede causar un déficit en la función del órgano

La proliferación es la regeneración de los tejidos que se compone de varias células y la matriz extracelular. La reparación de los tejidos lesionados abarca tanto la regeneración de las células perdidas y de la matriz extracelular como la reintegración de los elementos recién formados en los tejidos y órganos.

Cuando la reparación y la adaptación fallan

Cuando la reparación falla aunque los mecanismos de reparación operan a nivel molecular, niveles celular, y de tejido, por varias razones a menudo fallan para proporcionar protección contra las lesiones. Primero, la fidelidad de los mecanismos de reparación no son absolutos, lo cual hace posible que algunas lesiones sean pasadas por alto. Sin embargo, la reparación falla generalmente cuando el daño supera los mecanismos de reparación. En otros casos, la capacidad de reparación puede agotarse cuando las enzimas necesarias o cofactores son consumidos. Por ejemplo, la alquilación de ADN puede conducir al consumo de O6-metiguana-DNA-metiltransferasa, y la peroxidación lipídica puede agotar alfa-tocoferol. A veces la lesión inducida por el tóxico afecta adversamente el proceso de reparación.

Por ejemplo, el etanol genera ROS vía CYP2E1 que deteriora la eliminación proteosomal de proteínas dañadas. Después de la exposición a sustancias químicas necrogénicas, la mitosis

de las células supervivientes puede bloquearse y resulta imposible la restauración del tejido. Finalmente, algunos tipos de lesiones tóxicas no se pueden reparar de manera efectiva. Esto ocurre cuando los xenobióticos se unen covalentemente a las proteínas. Por lo tanto, la toxicidad se manifiesta cuando falla la reparación de la lesión inicial porque los mecanismos de reparación se ven abrumados, agotados o deteriorados o son genuinamente inefficientes.

También es posible que la reparación contribuya a la toxicidad. Esto puede ocurrir de manera pasiva, por ejemplo, si cantidades excesivas de NAD⁺ son generados por PARP durante la participación de esta enzima en la reparación de las cadenas de ADN dañados, o cuando se consume demasiado NAD(P)H en la reparación de proteínas oxidadas y reductoras endógenas. Cualquiera de estas dos situaciones puede comprometer la fosforilación oxidativa, que también es dependiente en el suministro de cofactores reducidos, por lo tanto causar o agravar la depleción de ATP que contribuye a la lesión celular.

Además, la reparación puede participar de manera activa en la toxicidad. Esto sucede después de un daño tisular crónico cuando el proceso de reparación se desvía y desencadena una proliferación incontrolada en lugar de la remodelación del tejido. La consecuencia de dicha proliferación celular puede ser la neoplasia, mientras que la sobreproducción de matriz celular da origen a la fibrosis. Estos cambios celulares se verán detalladamente en la fibrosis respiratoria y hepática en el capítulo 5.

Metabolitos reactivos

Características y producción de metabolitos reactivos

Como hemos comentado en el Capítulo 2, una vez que un xenobiótico ingresa en el organismo sufre frecuentemente una serie de reacciones enzimáticas que hemos definido como procesos de *biotransformación* o *metabolización*. En general estas reacciones, dirigidas a aumentar la hidrofilicidad de la sustancia que ingresa al organismo para poder ser eliminada con mayor facilidad, dan como resultado metabolitos que no tienen actividad tóxica en el organismo. Sin embargo, esto no siempre es así y en muchas ocasiones se generan *metabolitos reactivos*, es decir compuestos nuevos que derivan del xenobiótico que ingresó al organismo producto de las reacciones de biotransformación y que además presentan toxicidad, en algunos casos incluso mayor que el tóxico del cual derivan. En general las vías involucradas en la activación de un tóxico (aquellas que generan metabolitos reactivos) se dan en menor proporción respecto a aquellas que conducen a metabolitos no tóxicos y fácilmente eliminables en orina (detoxicificación); sin embargo existen ciertas situaciones donde las vías de activación pueden adquirir relevancia y derivar en procesos tóxicos debidos a la exposición a una sustancia en particular.

Los procesos por los cuales los metabolitos reactivos pueden generar efectos tóxicos o daño en el organismo son variados y dependen fundamentalmente de las características fisico-

químicas del metabolito reactivo que indicará que procesos o estructuras afecta. Así, en algunos casos, la activación metabólica le confiere al metabolito resultante ciertas características que alteran procesos o estructuras ya que perturban el microambiente en el cual se desarrollan. Tal es el caso del etilenglicol que genera en el organismo ácido oxálico quien es el responsable de acidosis, hipocalcemia y obstrucción renal debido a la formación de cálculos de oxalato de calcio que afectan la función renal. En otras situaciones los cambios generados durante los procesos de activación generan grupos químicos que le confieren al metabolito mayor reactividad debido a que presentan una selectividad mayor por ciertas enzimas o receptores celulares. Como ejemplo de esto podemos citar el caso del paratión, un pesticida organofosforado, quien sufre una modificación metabólica del enlace P=S a P=O generando paraoxón. El paratión es un pobre inhibidor de la acetilcolinesterasa, mientras que el paraoxón inhibe esa enzima mucho más fuertemente y es el principal responsable de los efectos tóxicos vinculados a intoxicaciones con este pesticida. Una posibilidad, mucho más frecuente que las anteriores, es que los metabolitos resultantes de la activación presenten en su molécula ciertas características que los hagan particularmente reactivos, de manera que reaccionen rápidamente con macromoléculas que contengan grupos funcionales susceptibles. Dentro de esta situación encontramos sustancias electrofílicas, nucleofílicas, radicales libres o activadores de procesos redox. A continuación describiremos los mecanismos involucrados en la formación de cada uno de estos metabolitos con actividad incrementada.

Metabolitos electrofílicos:

Las sustancias electrofílicas son aquellas que presentan un átomo deficiente en electrones, por lo tanto reaccionará rápidamente con aquellas moléculas que tengan en su estructura un centro rico en electrones, es decir, un compuesto nucleofílico. Estos pueden ser no iónicos o catiónicos.

Ejemplos de este tipo de metabolitos son *aldehídos*, *cetonas*, *epóxidos*, *sulfóxidos*, *nitroso compuestos* y *fosfonatos* entre otros. Las características electrofílicas de estos compuestos surgen durante la formación de los mismos, donde usualmente el átomo de oxígeno insertado retira los electrones del átomo al cual se está uniendo, convirtiéndolo en un centro electrofílico. Otros compuestos de estas características son *aldehídos* y *cetonas α-β insaturados*, *quinonas* y *quinonimidas*. En este tipo de compuestos se forman dobles enlaces conjugados donde un oxígeno presente atrae con mayor fuerza los electrones y polariza la unión, haciendo a uno de los carbonos del doble enlace conjugado deficiente en electrones y por lo tanto electrofílico. La mayoría de estos metabolitos electrofílicos no iónicos son generados por reacciones catalizadas por citocromo P450.

Los compuestos electrofílicos catiónicos se generan por ruptura de enlaces heterolítica. Un ejemplo de este tipo de reacciones es la que sufre el carcinógeno más potente presente en el humo del tabaco, la nitrosamina cetona derivada de nicotina (NNK) quien origina el catión metil carbonio ($^+CH_3$) o el catión piridiloxobutil carbonio dependiendo del sitio de C-hidroxilación donde se inicia la reacción.

Metabolitos radicalarios:

Los radicales libres son moléculas que presentan un electrón desapareado. Este tipo de compuestos pueden surgir de reacciones donde el compuesto acepta un electrón, pierde un electrón o donde se producen rupturas homolíticas de un enlace.

Para que un compuesto pueda aceptar un electrón debe tener características electrofílicas. En estos procesos juegan un papel importante las reductoras, quienes transfieren un electrón a la molécula generando un radical libre. Luego ese electrón extra es transferido a una molécula de oxígeno dando el radical superóxido (O_2^-) y regenerando el compuesto xenobiótico original. Uno de los tóxicos que sufren este tipo de procesos es el paraquat.

Este conjunto de reacciones constituyen lo que se conoce como “ciclo redox” ya que a la vez que se genera un potente compuesto radicalario como el radical superóxido el tóxico está nuevamente en condiciones de aceptar un nuevo electrón y generar más especies radicalarias.

La importancia del radical superóxido radica en que es el compuesto involucrado en reacciones que dan origen a otros radicales libres. Tanto el radical superóxido generado en el proceso descripto anteriormente como el proveniente de fuentes endógenas (estallido respiratorio de macrófagos y granulocitos activados, cadena respiratoria mitocondrial principalmente a nivel del complejo I y III) interviene en dos vías fundamentales. En una de ellas se genera peróxido de hidrógeno (HOOH) como compuesto intermediario que luego da origen al radical hidroxilo (HO[·]) mediante una reacción catalizada por metales (Fe(II), Cu(I), Cr(V), Ni(II), Mn(II)) conocida como la reacción de Fenton. La otra vía dará peroxinitrito (ONOO[·]) por reacción del superóxido con el óxido nítrico (NO) generado por la óxido nítrico sintasa (NOS) que se expresa constitutivamente en ciertas células (por ejemplo neuronas y endotelio) y puede inducirse en otras. Este compuesto se combina con CO₂ para producir nitrosoperoxcarbonato (ONOOCO₂[·]) que finalmente origina espontáneamente óxido nítrico (NO₂[·]), un compuesto con gran capacidad oxidante y de nitración, y radical carbonato (CO₃^{·-}). Por lo tanto, una vez generado el radical superóxido se producen concomitantemente diversos radicales libres.

Esta no es la única vía de producción de radicales libres ante la presencia de un tóxico. Cuando la sustancia tóxica tiene características nucleofílicas es capaz de perder un electrón generando una especie radicalaria. Estas reacciones son catalizadas frecuentemente por peroxidases o por el citocromo P450. Una de las sustancias que sufren este tipo de procesos es el benzo[a]pireno generando radicales catiónicos que podrían ser los responsables de la carcinogenicidad de este compuesto.

Una tercera vía de generación de radicales libres es por ruptura homolítica de enlaces, en la cual se transfiere un electrón a la molécula. El tóxico modelo de este tipo de reacciones es el CCl₄, quien por transferencia de un electrón mediada por el citocromo P450 genera el radical triclorometilo (CCl₃[·]). A partir de éste, por reacción con O₂, se forma el radical triclorometilperóxido (Cl₃COO[·]) quien es mucho más reactivo que el anterior.

Interacciones de los metabolitos reactivos con componentes celulares

Los metabolitos reactivos serán los responsables de la toxicidad en última instancia debida a un determinado xenobiótico. Los efectos tóxicos serán el resultado de interacciones que ocurren entre las especies reactivas y las moléculas o estructuras blanco presentes en las células, y la intensidad de los mismos dependerá, entre otras cosas, de las características de las moléculas blanco, de las reacciones que se producen y de los efectos que generan estas interacciones sobre las moléculas o estructuras. Cuanto más importantes sean las funciones que esas moléculas blanco desempeñan en la fisiología celular y mayores sean las alteraciones generadas sobre ellas mayores serán los efectos tóxicos. Por ello las moléculas blanco más interesantes desde el punto de vista toxicológico son las macromoléculas (ADN y proteínas) y los lípidos de membrana.

Para que estas moléculas sean susceptibles de ser afectadas por los metabolitos reactivos deben tener ciertas características como presentar centros con adecuada reactividad y configuración estérica así como estar accesibles a concentraciones altas de los metabolitos reactivos.

Unión a macromoléculas

Este importante mecanismo por el cual ciertos tóxicos generan sus efectos puede darse básicamente por dos tipos de unión: *no covalente* o *covalente*.

Las interacciones no covalentes se encuentran gobernadas por interacciones de tipo hidrofóbico, puentes de hidrógeno y uniones iónicas. Este tipo de uniones se dan usualmente en los casos de interacciones de tóxicos con canales celulares y receptores intracelulares o de membrana. Un ejemplo de este tipo de interacciones es la que ocurre entre saxitoxina y los canales de sodio voltaje operado o la interacción entre el ADN y el amarillo de acridina quien se intercala en la estructura de doble hélice.

Las interacciones no covalentes son comparativamente débiles, por lo cual usualmente son reversibles. Para que puedan darse es necesario que exista un arreglo estérico en la molécula del tóxico que sea complementario con algún sitio de la macromolécula, de modo que encastren como una llave en una cerradura.

Las uniones covalentes son mucho más fuertes que las no covalentes, por lo tanto en general este tipo de interacciones entre el tóxico y las macromoléculas resultan irreversibles. Este tipo de reacciones pueden darse entre metabolitos reactivos de características radicalarias o electrofílicas y centros nucleofílicos de las macromoléculas. Tal es el caso de las reacciones que se producen sobre el grupo tiol de ciertas proteínas o la oxidación de hemoglobina a metahemoglobina.

Toxicología del Desarrollo

Esta rama de la toxicología se encarga del estudio de las sustancias que alteran las distintas etapas del desarrollo de un organismo vivo en crecimiento. Las alteraciones observadas

incluyen malformaciones, alteraciones en la función, crecimiento y/o muerte del organismo. Esta variante de la toxicología se encuentra precedida históricamente por la teratología, la rama de la medicina que estudia los defectos en el momento del nacimiento.

En épocas tempranas de la teratología los primeros estudios de causa y efecto, muchos de ellos llevados a cabo en embriones de aves y huevos de anfibios por su sencillez lograron establecer una relación entre la exposición a agentes físicos (como el calor) o sustancias químicas y la aparición de defectos en el desarrollo de los embriones. La conclusión más importante fue que el tiempo en que se aplicó el daño era más importante que el tipo e intensidad del mismo, sugiriéndose que la afectación de la secuencia del desarrollo era responsable de los defectos observados.

Las condiciones ambientales tales como la presencia de toxinas microbianas, cambios en la temperatura de incubación y drogas también son capaces de alterar el desarrollo de peces, reptiles, anfibios y aves. Debido a que estos géneros animales presentaban embriones dentro de huevos muy expuestos al ambiente, se creyó que los mamíferos con su reproducción interno eran resistentes a la inducción de malformaciones. Entre las influencias externas halladas figuran las deficiencias nutricionales e infecciones uterinas. La atención a estos problemas alcanzó a los medios de comunicación cuando se presentó evidencia concluyente entre la asociación entre la talidomida (1961) y las malformaciones en recién nacidos.

Alteraciones del desarrollo en humanos

Si bien no son datos manejados por el gran público la gestación exitosa en la especie humana es un evento relativamente raro. Las estimaciones de resultados adversos en la gestaciones establecen un 30 % de pérdidas del embarazo post implantación, defectos mayores 2 al 3 % al nacimiento alcanzando un 6 – 7 % al llegar al año de nacimiento, defectos menores 14 %, bajo peso inicial 7 %, mortalidad antes del año 1,4 % y función neurológica anormal 16 a 17 %. Con estos guarismos en consideración aproximadamente un 50 % de las concepciones humanas resultan en el nacimiento de un niño completamente normal.

Las razones atribuibles según los diversos autores varían entre un 15 al 25% de defectos de origen genético, 4 % por condiciones maternales, 3 % por infecciones maternales, 1 – 2 % por deformaciones (amputaciones de miembros por problemas mecánicos en el cordón umbilical) y aproximadamente un 1 % por químicos e influencias ambientales y un 65 % con etiología desconocida.

Principios básicos de la teratología

La susceptibilidad al desarrollo anormal depende del genotipo y de la manera en que este interactúa con el ambiente.

Se ha observado desde los primeros estudios experimentales que el *background* genético de los animales de experimentación influenciaba el grado de respuesta ante la exposición a varios agentes químicos.

No se sabe exactamente como la genética y la exposición a un agente físico o químico interactúan entre sí, pero es claro que sólo una porción de individuos animales o humanos muestran un resultado adverso en el desarrollo ante una exposición comparable.

Los agentes que causan desarrollo anormal causan diferente efecto según la etapa del desarrollo y el tiempo de exposición.

El desarrollo de un embrión implica un cambio constante en el tamaño, número y posición de células así como su grado de diferenciación. Existen eventos críticos requeridos para una maduración correcta. El balance de esta cascada de eventos que conduce al crecimiento de un organismo normal puede ser sumamente susceptible a alteraciones mediadas por agentes químicos y físicos.

Por cuestiones de facilidad en su observación directa, la mayoría de los datos experimentales proviene de las alteraciones producidas durante la etapa de la organogénesis macroscópica, por ejemplo en el caso de la rata o ratones entre los 6 y 15 días mientras que en los humanos es entre los 7 y 58 días.

En el caso de algunos sistemas que son sensibles en períodos fetales y postnatales, como el nervioso, riñón, huesos y sistema reproductivo también se ha podido obtener información. En la actualidad, se cree que el embrión en desarrollo es más sensible a la inducción de malformaciones, retardos en el crecimiento y muerte durante el período de mayor organogénesis teniendo en cuenta que requieren dosis menores para producir efecto.

La exposición de cualquiera de los padres antes de la concepción también puede ayudar a producir alteraciones. Existen varios estudios mostrando la inducción de alteraciones cuando el padre ha sido expuesto a quimioterapia o mutágenos, ya que estos producen daños en el ADN de las células germinales. Los cambios observados en el embrión abarcan muerte, malformaciones, retardo en el crecimiento, déficit funcional y cáncer en la descendencia.

En la embriogénesis temprana, antes de que se implante el embrión (cigoto a blastocisto) las células se están multiplicando rápidamente y son poco diferenciadas. En esta etapa, cuando son expuestas a agentes físicos o químicos se puede producir la muerte o bien la producción de nuevas células compensa las que mueren y el desarrollo continúa con normalidad, obteniéndose como resultado final retardo en el crecimiento o malformaciones.

La formación de órganos requiere de células y estructuras más diferenciadas, aunque debe recordarse que no todos los órganos se desarrollan al mismo tiempo. La exposición durante esta etapa produce defectos estructurales significativos, retardos en la maduración, muerte y cambios funcionales después del nacimiento.

Una vez que la estructura macroscópica de un órgano se completa, continúa a nivel histológico y bioquímico. En la mayoría de los mamíferos esto ocurre en grados diversos durante el crecimiento pre y post natal. La exposición durante este período produce alteraciones histopatológicas, retardo en el crecimiento y/o cambios funcionales. Por ejemplo, la exposición a agen-

tes quimioterápicos en etapas tardías de la gestación induce defectos morfológicos en el desarrollo del cerebro. Estos cambios se traducen en alteraciones del comportamiento bien diferenciadas según el momento de la exposición.

Un agente típico que produce alteraciones en el desarrollo son las radiaciones ionizantes. Una exposición hasta 100 rads en la rata durante la etapa de pre implantación produce efectos letales sobre el embrión, pero no otros efectos. La exposición durante la organogénesis temprana (es decir días 8 a 10 en la rata) produce letalidad, retardo en el crecimiento persistente, malformaciones groseras, cataratas, neuropatología y desórdenes en el comportamiento. Si la exposición es durante el período fetal (días 13 a 22 en la rata) se produce una menor letalidad, esterilidad, cataratas, neuropatologías y anomalías citogenéticas.

Cuando se evalúan desórdenes funcionales el momento de la evaluación resulta fundamental debido a que un desorden motor en un animal joven no será aparente hasta que este comience a moverse sólo. Los efectos cognitivos son observados más fácilmente en niños cuando alcanzan la edad escolar y pueden leer, escribir y ser capaces de razonamiento complejo.

Los agentes teratogénicos actúan con mecanismos específicos sobre células y tejidos en desarrollo para iniciar embriogénesis anormales.

Con el objeto de alterar el desarrollo existen dos tipos generales de mecanismos a considerar en el caso de drogas y otros agentes. Existen mecanismos bioquímicos por los cuales se altera un sitio blanco y se altera el desarrollo, así como hay mecanismos por los cuales las células, tejidos o moléculas blanco reaccionan a la interacción inicial produciendo finalmente la patogénesis.

La lista de agentes específicos en su receptor se incrementa cada día más. Por ejemplo, el caso del dietilestilbestrol (DEB) el cual actúa como un potente agonista sintético para el receptor del estrógeno. Se demostró que afecta el desarrollo del sistema reproductivo de los hijos e hijas de mujeres tratadas con DEB para evitar partos prematuros en los 1950. En algunos casos se produce una forma rara de adenocarcinoma vaginal que se observa en las hijas de mujeres tratadas con DEB en la adolescencia tardía o al comienzo de la segunda década de vida.

Las manifestaciones finales del desarrollo anormal son la muerte, malformación, retardo madurativo y los desórdenes funcionales.

Estas cuatro manifestaciones mayores son consideradas efectos adversos mayores.

El acceso de influencias ambientales nocivas a los tejidos en desarrollo depende de la naturaleza de las influencias.

La naturaleza fisicoquímica de un agente condiciona fundamentalmente el acceso a un tejido en desarrollo. Complementariamente, el organismo de la madre con sus mecanismos homeostáticos, físicos, bioquímicos y fisiológicos determina también como y cuánto del tóxico alcanza al embrión.

Los agentes físicos tales como la radiación ionizante o el stress térmico pueden alterar directamente al embrión y modificar el desarrollo. Cuando la madre es expuesta en forma externa, la cantidad que puede alcanzar el embrión o el feto depende de los tejidos de la madre sirviendo de escudo, pero el efecto dañino sobre el feto no se ve alterado, sólo su intensidad.

El metabolismo materno puede aumentar o reducir la cantidad de los agentes químicos que alcanzan al feto. Los cambios fisiológicos de la madre durante la preñez también pueden influenciar el acceso de un químico a través de la placenta. Si bien las diferentes estructuras de las placentas existentes harían suponer que juegan un rol significativo en las diferencias de toxicidad esto no se ha visto corroborado experimentalmente. Durante la evolución de la preñez la placenta cambia su flujo de sangre y su permeabilidad a muchas sustancias. El grado de ionización, solubilidad, unión a proteínas y peso molecular de una sustancia son determinantes para cruzar la placenta.

Cualquier compuesto administrado a la madre en forma externa atravesará la placenta, convirtiendo al concepto de “barrera placentaria” en algo sin bases reales. La capacidad del feto o del embrión de metabolizar una sustancia también influye significativamente en su acumulación / excreción. Por ejemplo, si el feto es capaz de glucuronizar una sustancia está tendrá menos tendencia a cruzar la barrera placentaria hacia la circulación materna acumulándose en el compartimento fetal.

Las manifestaciones de la alteración en el desarrollo se incrementan cuando la dosis se incrementa hasta la letalidad.

Uno de los principios básicos de la toxicología es determinar si para una sustancia existe una curva dosis-respuesta. Wilson (1973) describió las relaciones dosis-respuesta entre malformaciones, muerte embrionaria y toxicidad maternal. Así, en el caso de una sustancia que causa malformaciones, cuando la dosis se incrementa se espera que la severidad de las mismas aumente hasta alcanzar la letalidad.

Extrapolación de hallazgos en animales a humanos

Se ha asumido que el hallazgo de efectos adversos en animales implica un riesgo potencial inaceptable en humanos. Los autores que han realizado una revisión sobre el tema han concluido que aunque los datos son en realidad limitados, esta suposición es generalmente correcta. También resulta claro que un efecto determinado sobre un blanco específico no se observa entre diferentes especies. La conclusión es la misma aún si se observa efecto sobre una estructura anatómica que no existe en los humanos.

Sustancias Tipo

Talidomida

En 1960 se comenzó a registrar un aumento anormal y continuo en la aparición de malformaciones de los miembros en Alemania del Oeste. El defecto consistía en amelia (ausencia de miembros) o focomelia (alteraciones en la longitud de los miembros, especialmente los brazos). También se registraron casos de enfermedad cardíaca, intestinal y renal. En 1961, Lenz y

McBride, trabajando en forma independiente lograron identificar al sedante talidomida como sustancia responsable.

La talidomida se introdujo en 1956 como un sedante suave y un anti náuseoso durante el embarazo. Una vez establecido su rol en las malformaciones se retiró del mercado en 1961 y los casos dejaron de aparecer a fines de 1962.

La catástrofe de la talidomida provocó que las agencias regulatorias de muchos países comienzan a desarrollar pruebas en animales como requisito previo para aprobar productos de uso humano. Las pruebas realizadas en diversos laboratorios demostraron como una sustancia puede ser totalmente inocua en algunos animales de experimentación como el hámster o la mayoría de las especies de ratones. La sensibilidad humana fue estimada en el orden de 1 mg/kg.

Los estudios establecieron que la talidomida induce malformaciones cuando la mujer ingiere la sustancia entre los 20 y 36 días después de la fertilización. Cuando se estudian los defectos según el tiempo de ingestión en ese período se observa que con la ingestión más temprana el defecto más común fue la anotia (sin oídos), seguido por la falta de pulgares, extremidades superiores, inferiores y pulgar con tres falanges (en vez de dos).

Se dedicaron intensos esfuerzos a comprender la relación estructura – especie, y si bien se encontró que la presencia de un grupo ftalimida o ftalimidina era un requisito absoluto no se logró consensuar ningún mecanismo particular para un especie. Las hipótesis más recientes involucran a una alteración en la angiogénesis, es decir en el desarrollo de los vasos sanguíneos de la extremidad del miembro en crecimiento.

La diferencia inter especies mejor comprendida es aquella observada entre conejo (sensible) y rata (insensible). El mecanismo propuesto es que la talidomida produce generación de radicales libre en la especie sensible, como puede observarse en la disminución de glutatión en la madre y el embrión.

Se demostró que el cambio en el potencial redox reduce la unión a un factor de transcripción NF- κ B a sus sitios de unión en el ADN. Esta unión es necesaria para activar la expresión de los genes twist y FGF-10 en el mesénquima del miembro en desarrollo. La implicación del daño oxidativo al ADN se refuerza por el hecho de que la administración de PBN (alfa – fenil – N – t -butilnitrona), un conocido scavenger de radicales libres prácticamente evita la aparición de efectos tóxicos y teratogénicos.

Etano

La historia del etanol en la toxicología es tan antigua como la descripción de sus efectos en las obras escritas de las antiguas civilizaciones. En lo que respecta a su influencia en el desarrollo fetal se aceptó oficialmente su importancia en 1973 cuando el Síndrome Fetal Alcohólico (S.F.A) fue reconocido como una entidad. El S.F.A produce dimorfismo cráneo-facial, retardo en el crecimiento intrauterino y post natal y otras anomalías inespecíficas. Se ha observado una notoria disminución en el C.I (alrededor de 68) sin cambios a lo largo de su vida.

Las alteraciones craneofaciales pueden ser en parte debido a interferencias con el metabolismo del retinol en el embrión temprano. La oxidación del retinol a ácido retinoico lo transforma

en una molécula señaladora el cual es esencial para el desarrollo del embrión. La estimación de la cantidad de etanol consumido por la madre para que se observen las principales características del S.F.A es de 100 a 120 cm³, siendo más significativa la cantidad de veces que la madre ingiere en una sesión de bebida que la cantidad total en sí.

Humo del Tabaco

A pesar de los programas de difusión sobre los efectos de fumar durante el embarazo un número importante de mujeres persiste en el hábito. Las consecuencias están bien demostradas e incluyen muerte fetal, bajo peso al nacer, riesgo alto de muerte súbita, desórdenes de atención y comportamiento.

El hábito de fumar durante el embarazo se ha correlacionado con la aparición de labio leporino. Las madres fumadoras portadoras de los alelos N053, ICAM1 y/o NPPA pueden tener un alto riesgo de tener descendencia con gastroquisis (defecto de la pared abdominal en el cual los intestinos y otros órganos se desarrollan fuera del abdomen del feto a través de una apertura de la pared abdominal, casi siempre a la derecha del cordón umbilical).

Un componente del humo del tabaco, la nicotina, es un neuroteratógeno en animales de laboratorio y puede producir por sí misma muchos de los efectos adversos del humo del tabaco. La inhalación pasiva es equivalente en dosis a un fumador leve y la madre no fumadora debe evitarlo.

Uso de sistemas in vitro en Teratología

El término “in vitro” se utiliza a cualquier sistema de estudio que no sea el animal grávido. Un ejemplo lo constituyen los embriones enteros de mamíferos o no-mamíferos en cultivo, incluyendo células, tejidos y órganos en cultivo. Estos sistemas permiten aislar al embrión de la influencia materna, seguir órganos o grupos de células específicas o bien alterarlas.

Los sistemas in vitro se han utilizado para dos grandes grupos de aplicaciones en teratología y toxicología del desarrollo: 1) el screening de compuestos tóxicos y 2) el estudio de los mecanismos de las alteraciones.

Aunque el uso de sistemas in vitro para estudios mecanísticos es ventajoso su uso en el screening de agentes teratogénicos es extremadamente limitado. Esto se debe a deficiencias en el sistema de prueba: el aislamiento del embrión sólo es viable durante algunos pocos días y aislarlo de la madre implica que los efectos protectores o de toxicidad sobre la madre no están presentes. Esto implica que deben testearse las sustancias investigadas sobre embriones en cada etapa de diferenciación. Un ensayo típico es el ensayo sobre huevos de pollo fértiles.

El ensayo del embrión de pocos días es un bioensayo de corto tiempo (menos de 5 días) utilizado para el análisis de efectos teratogénicos. El ensayo consiste en exponer los huevos al contaminante desde el inicio de la incubación, ya sea vía exposición maternal o por inyección dentro de la clara o el saco de aire.

Luego de un plazo estandarizado de incubación, los embriones son evaluados para anomalías sobre el crecimiento como anomalías groseras (falta de miembros). Los tiempos de recolección están basados en la experiencia que muestra que los efectos son más notables en el crecimiento en etapas incipientes.

Para el 2, 3, 7, 8-tetreclorodibenzo-p-dioxina y bifenilos policlorados los tiempos óptimos de incubación son 48, 72 y 96 hs. Al interrumpirse la incubación, el embrión es sacrificado por fijación con formalina al 10 %. El embrión es evaluado mediante el sistema de scoring de Hamburger y Hamilton y comparándolo con los controles.

Bibliografía

- Ballantyne B. and Marrs T. (1999). General and Applied Toxicology, 3 ed., Syversen. Groves Dictionaries INC.
- Gregous, Z. and Klaasen, C. Chapter 3. (2001). Mechanisms of Toxicity en: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 6th edition (2001) by Curtis D. Klaassen (Editor) By McGraw-Hill Professional.
- Kavlock, R. (2001). Chapter 10. Developmental Toxicology en: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 6th edition by Curtis D. Klaassen (Editor) By McGraw-Hill Professional.

CAPÍTULO 4

Toxicidad órgano específico

Autores: Darío Andrinolo, Daniela Sedan y Cristian Oliver

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

En este capítulo se estudiará la respuesta tóxica de diferentes sistemas como ser el sistema hematopoyético, del hígado, del riñón, del sistema respiratorio, del corazón y el sistema cardiovascular, de la piel, del sistema reproductor, del sistema endocrino. En cada caso se estudiarán los agentes reconocidos como tóxicos de ese órgano o sistema, lesiones y mecanismos implicados en la toxicidad órgano específica, los efectos tóxicos y /o alteraciones encontradas.

Respuesta tóxica del Sistema Hematopoyético

La *Hematotoxicología* es el estudio de los efectos adversos de drogas, sustancias químicas no terapéuticas u otros agentes del ambiente sobre la sangre y los tejidos involucrados en la generación de las células sanguíneas. El sistema hematopoyético es uno de los principales órganos blanco debido a las funciones vitales que desarrollan las células sanguíneas junto con la alta susceptibilidad a intoxicaciones de este tejido altamente proliferativo. Por ello, junto con el hígado y el riñón, es uno de los más importantes sistemas a tener en cuenta durante la evaluación de riesgos de poblaciones expuestas a tóxicos en el ambiente y lugares de trabajo.

La entrega de O₂ a los tejidos, la mantención de la integridad vascular y la provisión de los efectores de la inmunidad requieren una gran capacidad proliferativa y regenerativa.

Las células sanguíneas se producen a una velocidad aproximada de 1 a 3 millones/seg en un adulto sano y pueden incluso aumentar en ciertas condiciones donde la demanda es mayor.

Por ello este tejido es particularmente sensible a los efectos de ciertas sustancias que intervienen en la división celular (como las utilizadas en el tratamiento del cáncer) y a efectos secundarios como aquellos que generan una deficiencia en nutrientes necesarios para una correcta maduración de estas células (por ej. el Fe), o en factores estimulantes de estos procesos (como eritropoyetina y CSF-G factor estimulante de colonia granulocítica).

Las alteraciones generadas por tóxicos en sangre pueden afectar el número y/o función de las células sanguíneas. Los estudios hematológicos son útiles para detectar, monito-

rear y comprender los procesos tóxicos. Además estos estudios permiten algunas ventajas sobre los clásicos estudios histopatológicos, como la posibilidad de detectar los efectos específicos sobre el sistema hematopoyético, aportar a la identificación de los mecanismos tóxicos o alteraciones metabólicas generadas y la capacidad de tomar muestras seriadas entre otras.

Generalidades del tejido Hematopoyético

La principal función del tejido hematopoyético es la producción de células sanguíneas maduras y funcionales, mediante un proceso denominado *hematopoyesis*.

Varios órganos intervienen en el proceso de hematopoyesis, algunos con funciones más centrales que otros:

La *médula ósea* produce las células sanguíneas (glóbulos blancos, rojos y plaquetas) y participa en el almacenamiento de hierro.

El *Timo* interviene en el manejo de Linfocitos T.

Los *nódulos linfáticos* se especializan en respuestas donde intervienen los Linfocitos B y la síntesis de anticuerpos.

El *Bazo* comparte las funciones de los nódulos linfáticos e interviene en el recambio de eritrocitos senescentes y hemoglobina; y en el almacenamiento de hierro. Además tiene capacidad de retomar funciones hematopoyéticas de ser necesario.

El *Hígado* almacena hierro, folato y vitamina B₁₂, produce la mayor cantidad de proteínas plasmáticas y algunos factores como eritropoyetina. También tiene la capacidad de retomar funciones hematopoyéticas en ciertas condiciones.

El *Riñón* es el principal productor de eritropoyetina y trombopoyetina, y también interviene en la degradación de hemoglobina.

La hematopoyesis es una secuencia de eventos altamente regulados en la cual una serie de precursores proliferan y se diferencian para dar origen a células capaces de satisfacer las necesidades de transporte de oxígeno, defensa del huésped y hemostasia entre otras funciones vitales.

La médula ósea es el principal sitio donde se lleva a cabo la hematopoyesis en humanos y animales.

El bazo tiene una pequeña participación en la producción de células sanguíneas, siendo su rol crítico la eliminación de las células defectuosas o senescentes y su intervención en las defensas del huésped.

En el feto la hematopoyesis se lleva a cabo en el hígado, bazo, médula ósea, timo y nódulos linfáticos. La médula ósea es el órgano donde predominantemente se produce la hematopoyesis durante la segunda mitad de la gestación y el único productor de células sanguíneas al momento del nacimiento. En este momento toda la médula es activa conocida como médula roja.

Durante la primera infancia la hematopoyesis se lleva a cabo en la médula ósea de todos los huesos y luego en los adultos queda confinada a huesos planos como esternón, costillas, huesos de la pelvis y vértebras.

La médula ósea de los huesos largos se convierte en una médula inactiva, denominada médula “amarilla” o “grasa”.

Bajo condiciones de una demanda extrema en la hematopoyesis, como en algunas enfermedades, es posible que ciertas zonas de la médula grasa se reactiven como sitios de hematopoyesis en respuesta a ese estrés hematopoyético.

Si bien la función central de la médula ósea es la hemato y linfopoyesis, también es uno de los sitios donde se encuentra el Sistema Mononuclear Fagocítico (MPS) y contribuye a la diferenciación de monocitos en distintas variedades de células del MPS localizadas en hígado (células de Kupffer), bazo, nódulos linfáticos y otros tejidos.

Un corte histológico convencional de una médula ósea revela una compleja combinación de distintos tipos de células como son los precursores eritroides, granulocíticos, megacariocíticos, del MPS y linfoides en diferentes estadios de maduración; junto con células estromales y vasculares rodeadas por hueso.

La hematopoyesis es un proceso continuo, pero puede separarse en dos fases. En la primera una célula pluripotente (stemcell o hemocitoblasto) presenta dos funciones principales: 1) mantener su número mediante procesos de auto-perpetuación y 2) dar origen a los distintos elementos formes de la sangre (eritrocitos, granulocitos, linfocitos, monocitos y plaquetas)

De acuerdo a los requerimientos, el microambiente en la médula y los factores de crecimiento influencian a la stemcell para diferenciarse a células comprometidas hacia la serie mieloide o linfoide, que inician la segunda etapa del proceso. La serie linfoide dará como resultado Linfocitos pre-B y pre-T, mientras que las células comprometidas hacia la serie mieloide son multipotentes y pueden originar precursores de granulocitos, eritrocitos y megacariocitos.

A partir de estos precursores por acción de factores humorales (ej. eritropoyetina, interleuquinas, factores estimulantes de colonia, etc) se produce la diferenciación y maduración de las células sanguíneas.

Células Sanguíneas

Eritrocitos

Estas células constituyen el 40 al 45% del volumen de sangre circulante. Su principal función es el transporte de O₂ de los pulmones al resto de los tejidos y de CO₂ de los tejidos periféricos a los pulmones para su eliminación.

La producción de eritrocitos se da extravascularmente en el parénquima de la médula ósea. La concentración de Hemoglobina (Hb) determina el grado de oxigenación de los tejidos. Los principales estímulos para la eritropoyesis son la hipoxia en los tejidos y aquellos factores que afecten a la oxigenación de los tejidos como función pulmonar, presión de oxígeno en el aire inspirado (PO_2), alteraciones en la curva de saturación de la Hb, perfusión de los tejidos y potencia cardíaca.

Bajo la influencia de la eritropoyetina los precursores de la serie eritroide comienzan a diferenciarse y madurar. A medida que estos precursores maduran y se dividen se van haciendo más pequeños, los núcleos se contraen y condensan, cesa la división celular y se presenta una adecuada cantidad de Hb en el citoplasma. Finalmente el núcleo se expulsa de la célula generando el Reticulocito, el estadío previo al eritrocito maduro, el cual contiene agregados de ARN en el citoplasma. El proceso desde la estimulación de la stemcell hasta la generación de reticulocitos lleva aproximadamente 5 días.

Los eritrocitos maduros y reticulocitos migran a los senos venosos de la médula ósea e ingresan en circulación. Los reticulocitos que alcanzan circulación periférica maduran en el bazo para convertirse en eritrocitos maduros, proceso que demanda 2 a 3 días.

La vida media de los eritrocitos en el hombre es de 120 días, y esto puede variar en las distintas especies.

En los mamíferos los eritrocitos son células anucleadas (Figura 1) con forma de disco bicónvexo, lo cual les permite obtener la mayor relación área/volumen para maximizar el intercambio gaseoso y les da la capacidad de deformarse para cumplir con los requerimientos de la circulación.

Los eritrocitos están altamente especializados en producir, transportar y proteger a la Hb encargada del transporte de oxígeno entre los pulmones y los tejidos. La Hb constituye aproximadamente el 95% de las proteínas del eritrocito.

Esto reporta importantes beneficios como una disminución en el recambio de Hb, ya que su vida media libre es de unas pocas horas, mantener a la Hb en un ambiente metabólico adecuado para mantener su funcionalidad (Fe^{+2}) y elimina el efecto osmótico que generaría la Hb en el plasma.

Leucocitos

Cinco tipos de células integran este grupo de células: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos; que pueden agruparse en dos grandes grupos, los granulocitos integrados por los tres primeros, y los agranulocitos (Figura 1).

Los granulocitos comparten un origen común y se diferencian y maduran a partir de esa célula común desarrollando características en su núcleo y gránulos específicos de cada tipo de granulocito. Una vez maduros son volcados a circulación. Así mismo existe en médula un reservorio de neutrófilos listos para volcarse a circulación cuando sea necesario. Una vez que los neutrófilos abandonan la circulación para ingresar en un tejido ya no retornan.

Los granulocitos son células que presentan núcleos segmentados y gránulos citoplasmáticos. La clasificación de éstos en neutrófilos, basófilos y eosinófilos obedece al aspecto que toman los gránulos primarios de estas células en determinadas tinciones.

Estos gránulos son importantes porque les confieren actividades específicas a las células en los procesos inflamatorios y respuestas alérgicas:

Basófilos: intervienen en la respuesta inflamatoria y en las respuestas alérgicas de hipersensibilidad inmediata. En sus gránulos contienen varios efectores de estas respuestas como heparina e histamina, entre otros.

Eosinófilos: atacan fundamentalmente las parasitosis e intervienen regulando las reacciones de hipersensibilidad. Para ello contienen enzimas como proteína básica mayor, proteína catiónica del eosinófilo, peroxidasa del eosinófilo, histaminasa, etc.

Neutrófilos: se especializan en la búsqueda, fagocitosis y destrucción de patógenos bacterianos, además de participar en procesos inflamatorios. En sus gránulos específicos contienen lisozimas, activadores de complemento, colagenasas, etc.

Dentro de los agranulocitos encontramos a los monocitos y los linfocitos que presentan características y funciones particulares.

Monocitos: son células más grandes que las otras, con un núcleo grande e irregular. Los monocitos circulan en sangre aproximadamente 3 días y luego migran a los tejidos, donde se convierten en macrófagos y tienen una vida media de unos 3 meses.

Tienen dos funciones principales, fagocitosis y presentación de antígenos. Presentan una respuesta quimiotáctica más débil que los neutrófilos, pero son importantes en el ataque contra distintos microorganismos y en la remoción de restos de tejidos. Como presentadoras de antígenos son importantes en la activación de la respuesta de linfocitos T, los cuales a su vez activan a los linfocitos B para producir anticuerpos contra ese antígeno particular.

Además producen factores como interferón (INF), factor de necrosis tumoral (TNF), interleuquina 1 (IL-1) que tienen importancia en gran cantidad de procesos.

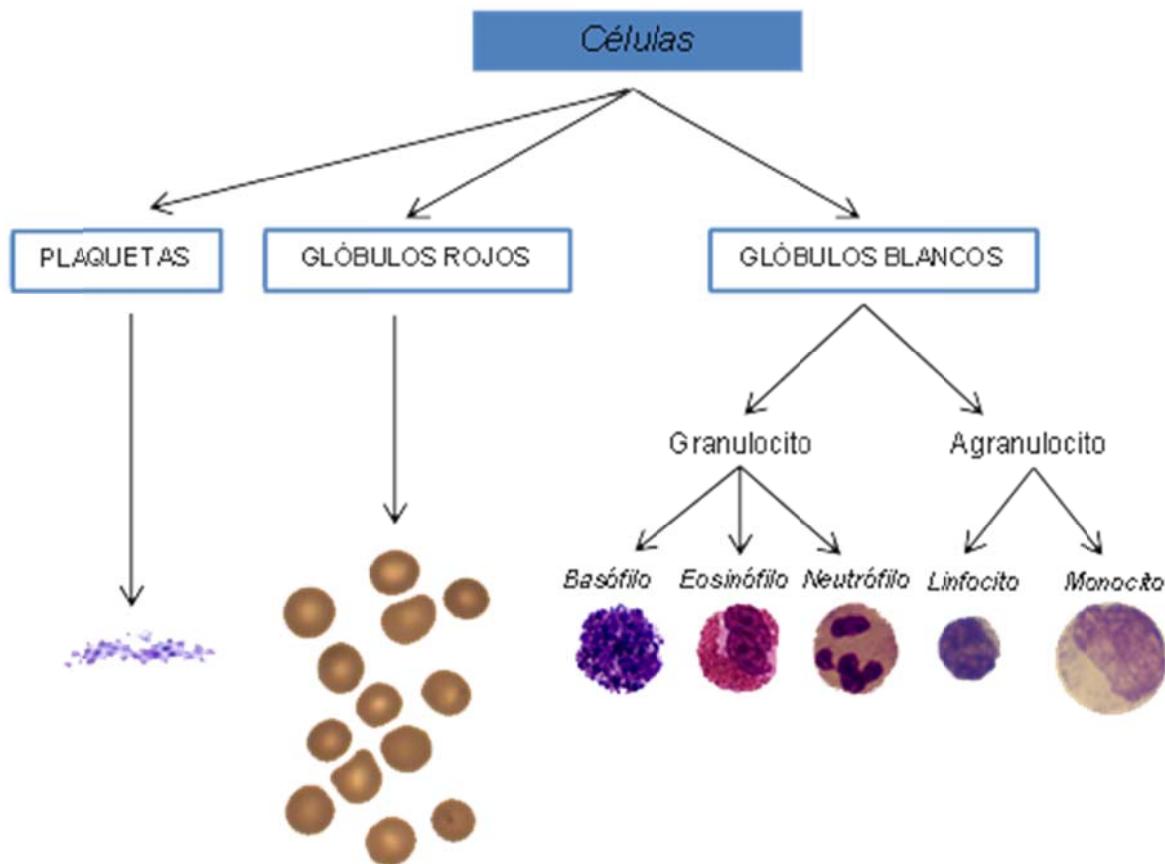


Figura. 1: Representación de las células sanguíneas. Glóbulos rojos, blancos y plaquetas

Linfocitos: los linfocitos B completan su maduración en los órganos linfoideos (nódulos linfáticos y bazo), mientras que los linfocitos T lo hacen en el timo (educación tímica). Los linfocitos T y B son morfológicamente indistinguibles en sangre periférica. Estas células tienen un núcleo redondo y denso y un escaso anillo de citoplasma. Los linfocitos tienen la habilidad de recircular entre los tejidos. Aproximadamente el 70% de los linfocitos circulantes son células T. Estas, se diferencian en diversos tipos celulares como células T citotóxicas (CD8) que actúan contra patógenos intracelulares como los virus y células T helper (CD 4) que median las reacciones de hipersensibilidad retardada. Cuando se activan los linfocitos B se transforman en células plasmáticas encargadas de la producción de anticuerpos importantes en la inmunidad humoral.

Plaquetas

La síntesis de plaquetas difiere de la de eritrocitos y granulocitos en que se lleva a cabo por endocitosis (división nuclear sin división citoplasmática). En el megacariocito maduro

se generan divisiones con membrana en el citoplasma que darán origen a las plaquetas cuando estos megacariocitos emitan pseudópodos hacia el sistema venoso de la médula ósea. En ese momento se produce la fragmentación del citoplasma de estas células por las líneas de demarcación generadas por las membranas, dando origen así a las plaquetas.

Por esto, las plaquetas son células anucleadas y son las más pequeñas entre los elementos formes de la sangre (Figura 1). Su principal función es mantener la homeostasis, formando el tapón plaquetario en un sitio donde haya una herida e interviniendo en la coagulación (factor plaquetario 3, factores de coagulación y retracción del coágulo). También producen mediadores de inflamación (quimoquinas, sustancias vasoactivas y proteínas catiónicas) e intervienen en la fagocitosis de pequeñas partículas y bacterias.

Hematotoxicología

Los daños producidos por un tóxico sobre el tejido hematopoyético pueden producirse sobre los eritrocitos o leucocitos generando distintas patologías como anemias o leucemias.

Toxicología del eritrocito

Hace tiempo se han comenzado a estudiar los efectos tóxicos que pueden tener diversos xenobióticos sobre los eritrocitos y el rol de los mismos como transportadores y reservorio de estas sustancias; teniendo en cuenta que constituyen un tejido de fácil acceso y que tiene importantes funciones como la oxigenación de los tejidos.

Los eritrocitos pueden verse afectados por tóxicos en su producción, función y/o supervivencia. Como resultado de estas alteraciones se producirán cambios en la cantidad de células, dando lugar frecuentemente a anemias (disminución de eritrocitos) o menos comúnmente eritrocitosis (aumento de eritrocitos).

Las anemias pueden resultar de dos procesos fundamentales: una disminución en la producción de eritrocitos o un aumento en la eliminación de los mismos.

Estas alteraciones se evalúan mediante análisis de sangre donde se incluyen parámetros como estudio de morfología eritrocitaria, recuento de eritrocitos, Hemoglobina (Hb), Hematocrito (Hto), Volumen corpuscular medio (VCM) y recuento de reticulocitos entre otros.

Frecuentemente cuando la anemia se produce por una destrucción aumentada de eritrocitos se observa un aumento de reticulocitos en circulación. Esto resulta de un mecanismo compensatorio que hace que la médula libere reticulocitos, es decir eritrocitos inmaduros que contienen ARN residual, a circulación para suplir el faltante de eritrocitos.

Alteración en la producción de glóbulos rojos

La producción de eritrocitos es un proceso continuo que involucra división celular y una alta síntesis de hemoglobina. En el adulto el componente mayoritario del citoplasma del eritrocito es la hemoglobina A, formada por dos cadenas de α -globina y dos de β -globina conteniendo cada una un grupo hemo.

El primer paso en la biosíntesis del hemo (Figura 2) se da en la mitocondria e involucra la condensación de 1 glicina y 1 succinilCoA a través de la enzima ácido δ -aminolevulínicosintasa (ALAS), que utiliza piridoxal fosfato como cofactor, para producir el ácido δ -aminolevulínico (ALA). Esta reacción limita la velocidad de la biosíntesis del hemo y por ello es la reacción más regulada.

Luego el ALA es transportado al citosol donde la ALA dehidratasa (también conocida como porfobilinógenosintasa) dimeriza a 2 moléculas de ALA para producir un compuesto pirrolíco, el porfobilinógeno. El siguiente paso en la vía involucra una condensación cabeza-cola de cuatro moléculas de porfobilinógeno dando el tetrapirrolhidroximetilbilano, a través de la porfobilinógenodeaminasa (PBG deaminasa).

El hidroximetilbilano puede convertirse enzimáticamente, por la acción de la uroporfirinógenosintasa y la uroporfirinógeno III co-sintasa, en uroporfirinógeno III o puede transformarse en el uroporfirinógeno I a través de una reacción no enzimática.

En el citosol, el uroporfirinógeno III o uroporfirinógeno I son descarboxilados por uroporfirinógenodecarboxilasa. Los coproporfirinógenos resultantes tienen grupos metilo en lugar de acetato. El coproporfirinógeno III es el intermediario más importante del ciclo.

El coproporfirinógeno III es transportado al interior de la mitocondria donde 2 residuos de propionato son descarboxilados, produciendo 2 anillos pirrolícos con sustituyentes

vinilo, el protoporfirinógeno IX. Éste es luego transformado en protoporfirina IX por la protoporfirinógeno IX oxidasa. La reacción llevada a cabo por la oxidasa requiere oxígeno molecular y resulta en la pérdida de 6 protones y 6 electrones, lo cual produce un sistema de anillo completamente conjugado y es responsable del color rojo tan característico de los hemos. Finalmente en la mitocondria a través de la ferroquelatasa se inserta un átomo de hierro en el anillo para generar el grupo hemo. Luego el grupo hemo es transportado al citoplasma y se acopla con las cadenas de globina para formar la hemoglobina.

Como vimos la síntesis de hemoglobina requiere la incorporación de Fe^{+2} en el anillo porfirínico, por lo tanto una deficiencia de hierro, usualmente de origen dietario o por pérdidas importantes de sangre, generan importantes anemias.

Por ello, cualquier droga que contribuya o genere pérdidas de sangre, como los antiinflamatorios no esteroideos debido al alto riesgo de ulceración gastrointestinal y sangrado que presentan, pueden potenciar el riesgo de desarrollar una anemia del tipo ferropénica.

Por otro lado, defectos en la síntesis del grupo hemo pueden generar una anemia sideroblástica, con la característica acumulación de hierro en los eritroblastos en médula ósea, en los cuales se produce la precipitación de hierro en un complejo con la ferritina mitocon-

drial generando los sideroblastos en anillo. Varias sustancias pueden interferir con uno o varios pasos de la síntesis del hemo y generar este tipo de anemias.

El ejemplo más característico de las sustancias que afectan la síntesis del hemo es la intoxicación con plomo, ya que este metal se fija en médula ósea alcanzando concentraciones superiores a las circulantes. En esta situación inhibe tres enzimas de la síntesis del hemo:

-ALA-deshidratasa (citosólica): La consecuencia es un aumento de su sustrato, el ALA, primero en suero y después en orina.

coproporfirinógeno III-descarboxilasa (mitocondrial) o coproporfirinógeno III oxidasa (co-progenasa): la inhibición de esta enzima genera un aumento de coproporfirinógeno en sangre y de coproporfirina III en orina y heces. También pueden aumentar uroporfirina y porobilinógeno en orina.

hemosintetasa o ferroquelatasa (mitocondrial): La consecuencia es que se produce una acumulación de protoporfirina IX en el eritroblasto, el Fe no utilizado se acumula en el hematíe y aumenta en suero (ligera hipersideremia), y la protoporfirina IX quela al Zn, formando una nueva molécula Zn-protoporfirina (Zn-PP) que, por su tamaño, no puede salir del hematíe.

Esto genera las alteraciones hematológicas vistas en la intoxicación por plomo, llegando en casos de alta exposición al plomo a la anemia saturnina.

Otra alteración que podemos encontrar es la denominada anemia aplásica. Este trastorno se caracteriza por pancitopenia (disminución de todos los tipos celulares) en sangre periférica, con celularidad hematopoyética disminuida o ausente en la MO, que es reemplazada por células grasas. Uno de los tóxicos que característicamente están relacionados al desarrollo de la anemia aplásica es el benceno

Alteración en el recambio de glóbulos rojos

Normalmente se produce un recambio de eritrocitos en el cual interviene el bazo eliminando los glóbulos rojos senescentes. Ante ciertas circunstancias se produce un aumento de la eliminación o lisis de eritrocitos que generan las llamadas *anemias hemolíticas*. Esta situación puede producirse por lisis intravascular de eritrocitos, reacciones de tipo autoinmune o derivadas de procesos infecciosos. Además de estas situaciones existen ciertos xenobióticos que generan un estrés oxidativo que supera los mecanismos antioxidantes que tiene el eritrocito. Entre estos tóxicos encontramos a la hidroxilamina, sulfanilamida, acetanilida, naftaleno, nitrobenceno, ácido aminosalicílico y fenol entre otros.

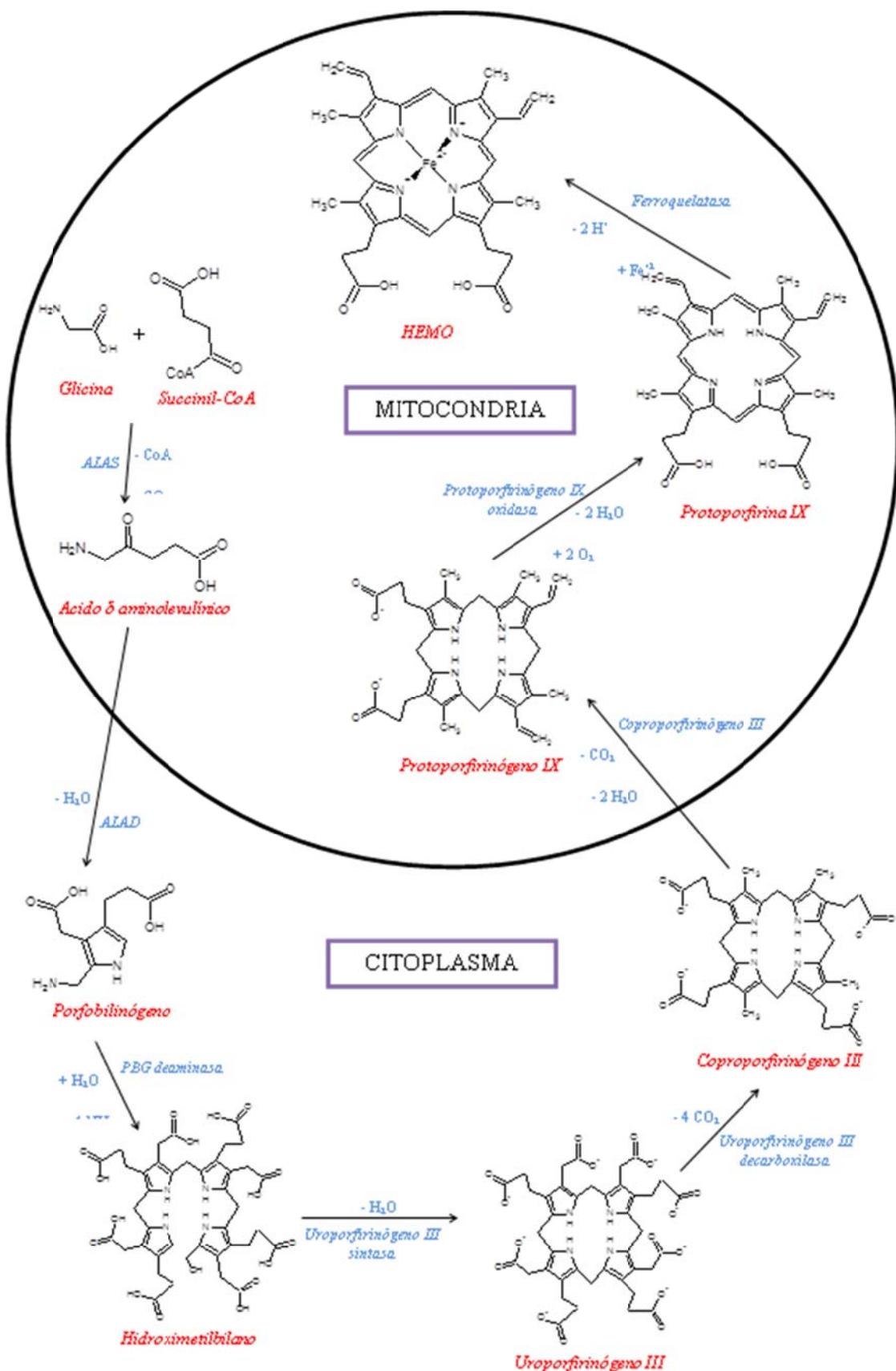


Figura 2. Biosíntesis del grupo Hemo. Notar que algunas de las reacciones se llevan a cabo en la mitocondria y otras en el citoplasma

La acción de estos compuestos sobre la hemoglobina genera radicales libres que finalmente afectan no solo a la hemoglobina sino también a otras macromoléculas y estructuras del eritrocito como enzimas y la membrana celular.

Las alteraciones producidas en la hemoglobina, que incluyen la generación de un derivado de la hemoglobina de naturaleza radicalaria, derivan en la desnaturalización de esta molécula y una consecuente disminución de la solubilidad de la misma. La hemoglobina desnaturalizada forma agregados con la membrana celular conocidos como cuerpos de Heinze, los cuales son indicativos de eritrocitos sometidos a un estrés oxidativo. El bazo es muy eficiente en eliminar los eritrocitos que contienen estos cuerpos de Heinze, por lo cual difícilmente se observen en circulación.

Por otro lado la desnaturalización oxidativa a la que está sometida la hemoglobina en estas situaciones, genera una disminución de la afinidad de las cadenas de globina por el grupo hemo. Los grupos hemos libres a su vez generan más radicales libres y también puede derivar en un compuesto hidrofóbico llamado hemina que se intercala en la membrana plasmática del eritrocito.

Si bien, la hemina puede removese de la membrana por medio de la albúmina, cuando la producción de hemina supera la tasa de eliminación mediante albúmina, la acumulación de hemina en la membrana altera la estructura de la misma y favorece la lisis de los eritrocitos.

Además, el estrés oxidativo generado puede peroxidar los lípidos de membrana afectando la capacidad de deformarse del eritrocito. El estrés oxidativo también altera la permeabilidad al potasio y el metabolismo energético de la célula causando una depleción de ATP en la misma.

Alteración en la función respiratoria de la Hemoglobina

La hemoglobina es necesaria para un efectivo transporte de O₂ y CO₂ entre pulmones y tejidos, para lo cual se da un delicado balance entre las formas oxigenadas y desoxigenadas de la hemoglobina.

La cadena de globina cuando no está unida a O₂ se mantiene en una conformación denominada "tensa" (T), caracterizada por una relativa baja afinidad por el O₂. La unión del O₂ produce un cambio conformacional llevándola a un estado "relajado" (R) asociado con un aumento de afinidad por el O₂ de unas 500 veces. Así se genera un efecto cooperativo entre las cadenas de globina que aumentan la afinidad de la molécula por el O₂ cada vez que une O₂, generando las conocidas curvas sigmoidales de saturación de la hemoglobina.

La capacidad de la hemoglobina para realizar correctamente su papel en el transporte de oxígeno depende de factores intrínsecos (homotrópicos) y extrínsecos (heterotrópicos) que pueden afectar este balance.

Efectos Homotrópicos

Una de las propiedades homotrópicas de la oxihemoglobina es la lenta pero consistente oxidación del Fe⁺²hemínico al Fe⁺³ de la metahemoglobina, la cual no es capaz de unir ni transportar O₂. Además la presencia de metahemoglobina tiene efectos allostéricos sobre el tetrá-

mero de hemoglobina aumentando la afinidad por el O₂ de la oxihemoglobina, lo cual resulta en un desplazamiento hacia la izquierda de la curva de saturación de hemoglobina.

La combinación de estos dos efectos dificulta el transporte de O₂ a los tejidos cuando la cantidad de metahemoglobina supera un cierto valor crítico.

Como es de esperar el eritrocito cuenta con vías metabólicas, mediadas por la NADH-diaforasa y la NADPH-diaforasa, para reducir el Fe⁺³ con las cuales mantiene la concentración de Metahemoglobina (MetHb) en menos del 1% de la Hb total.

La principal causa de metahemoglobinemia es la exposición a xenobióticos oxidantes que superan la capacidad del sistema de diaforasas, como lidocaína, benzocaína, óxido nítrico, nitrato de plata, nitritos, nitratos, nitrobenceno, aditivos de naftas, orto- y para- toluidina.

Estas sustancias pueden dividirse en:

Oxidantes directos: pueden generar MetHb cuando se exponen a los eritrocitos in vivo e in vitro (ej. Nitritos, nitratos)

Oxidantes indirectos: no inducen MetHb en exposición in vitro, pero si in vivo luego de la metabolización (nitrobenceno, o- y p-toluidina).

La mayoría de los pacientes toleran sin sintomatología niveles relativamente bajos de MetHb (menores al 10%), aunque en ciertos casos puede presentarse cianosis cuando la concentración de MetHb supera el 5-10%.

Generalmente cuando los niveles de MetHb superan el 20% se experimentan síntomas relacionados a hipoxemia tisular. La severidad de estos síntomas se incrementa cuando se alcanzan niveles del 30% de MetHb y niveles del 70% o mayores suelen ser mortales.

Para revertir los efectos de estas drogas metahemoglobinizantes puede utilizarse administración intravenosa de 1-2 mg/Kg de azul de metileno el cual activa el sistema NADPH-diaforasa, teniendo en cuenta que también se debe contar con un adecuado suministro de NADPH.

Efectos heterotrópicos

Existen tres efectores heterotrópicos principales: pH, 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) y temperatura.

La disminución de pH (ej, ácido láctico, CO₂) disminuye la afinidad de la Hb por el O₂ con lo cual se produce un desplazamiento hacia la derecha de la curva de saturación de la Hb, lo cual facilita la liberación de O₂ en los tejidos. Debido al equilibrio entre bicarbonato y CO₂ que se da en el pulmón, se produce una disminución de los niveles de H⁺, con lo cual se incrementa la afinidad de la Hb por el O₂ y se facilita su captación a nivel pulmonar; así la capacidad buffer de la Hb hace óptima la captación y transporte de O₂.

La unión de 2,3-DPG en un sitio especial de la Hb estabiliza su conformación "T" y reduce su afinidad por el O₂, desplazando la curva hacia la derecha. Existen ciertas condiciones que pueden aumentar o disminuir las concentraciones de 2,3 DPG y también sustancias que pueden actuar como análogos del mismo, generando efectos similares.

Cuando la temperatura corporal aumenta, la afinidad de la Hb por el O₂ disminuye; esto facilita la entrega de O₂ a los tejidos. Este efecto debe tenerse en cuenta durante las cirugías en las cuales se induce una hipotermia importante.

La función respiratoria de la Hb se afecta seriamente con ciertas sustancias que se unen a los sitios de unión específicos, siendo la más característica el CO.

El CO tiene una tasa de unión relativamente baja a la Hb, pero una vez que se ha unido su afinidad es muy grande, siendo unas 200 veces mayor que la del O₂. Esa unión estabiliza la conformación de alta afinidad "R", con lo cual la curva se desplaza a la izquierda y se compromete la liberación de O₂ en los tejidos.

A modo de resumen de esta sección se presenta un cuadro comparativo de las diversas alteraciones que pueden ocasionar los xenobióticos a los glóbulos rojos (Figura 3).

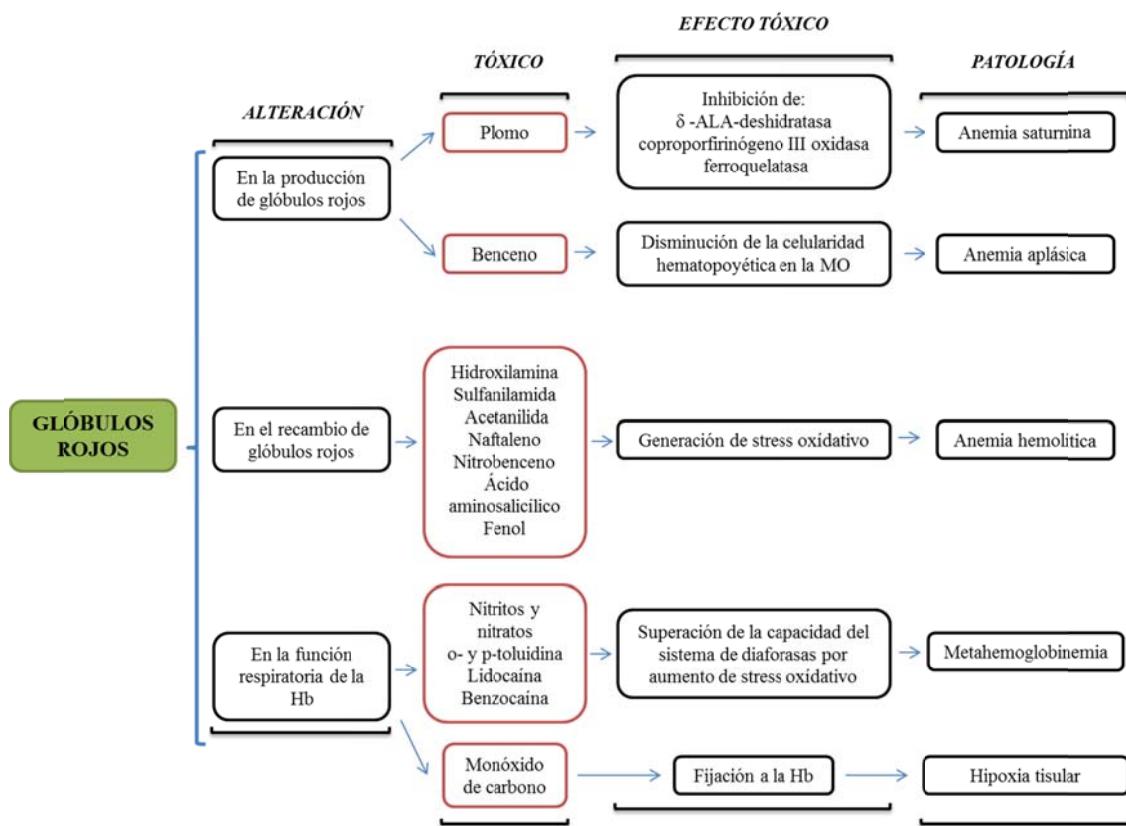


Figura. 3: Toxicología del eritrón: ejemplos de alteraciones y patologías ocasionadas por la acción de tóxicos sobre los glóbulos rojos

Toxicología de leucocitos

Las leucemias son desórdenes proliferativos del tejido hematopoyético. Se clasifican como mieloides o linfoides según cuál sea la serie que prolifera descontroladamente. De acuerdo a si las células que se observan en estos procesos son poco diferenciadas o bien diferenciadas se clasifican en agudas o crónicas. Así dependiendo de estas características y otras morfológicas pueden presentarse distintos tipos de leucemias como leucemia linfocítica crónica (LLC), leu-

cemia mieloide crónica (LMC), leucemia linfocítica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), síndrome mielodisplásicos (SMD) cada una con varios subtipos.

Existe importante evidencia de que el origen de estas patologías es multifactorial, donde los mismos factores que regulan la hematopoyesis están involucrados en las transformaciones neoplásicas que tienen lugar, entre ellos se pueden contar a los factores de crecimiento (citoquinas), protooncogenes y otros genes promotores de crecimiento, junto con factores ambientales.

La leucemia mieloide aguda (LMA) es la principal leucemia asociada a exposición a tóxicos o sustancias químicas seguida por los síndromes mielodisplásicos (SMD).

Los estudios realizados sobre la hematotoxicidad del benceno indicaron que se produce bioactivación de metabolitos reactivos, formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y activación del receptor de aril-hidrocarburos y del oncogen C-Myb, aneuploidías frecuentes en el cromosoma 7.

Otros agentes inductores de LMA o SMD son los agentes alquilantes utilizados en el tratamiento del cáncer, como ciclofosfamida, busulfuram, nitrosourea entre otros. La incidencia de SMD/LMA en estos pacientes es de 0,6 al 17% con un aumento del riesgo en unas 100 veces respecto de un paciente no expuesto a estas sustancias.

Lo mismo ocurre con los inhibidores de la topoisomerasa II. En este caso se presentan características distintivas en el desarrollo de la LMA: ausencia de una fase preleucémica, un corto período de latencia, ciertas aberraciones cromosómicas producidas principalmente en los cromosomas 11 y 21.

También pueden desarrollarse distintos tipos de leucemias por exposición a altos niveles de radiaciones ionizantes como rayos x y γ , mientras que aún no han sido debidamente probados los efectos de radiaciones no ionizantes (electromagnéticas, microondas)

A modo de resumen de esta sección se presenta un cuadro comparativo de las diversas alteraciones que pueden ocasionar los xenobióticos a los glóbulos blancos (Figura 4).

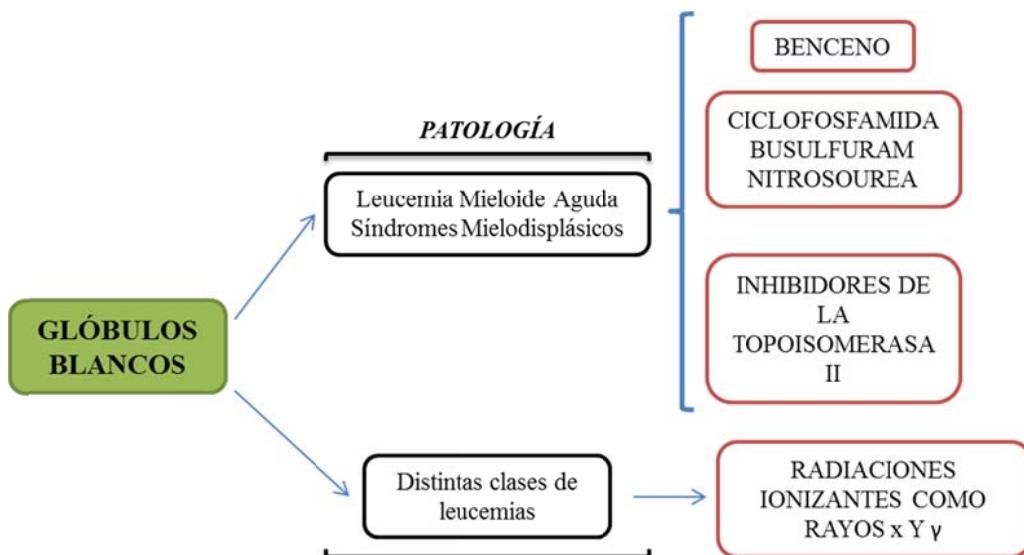


Figura 4: Toxicología de leucocitos: ejemplos de patologías ocasionadas por la acción de tóxicos sobre los glóbulos blancos

Respuesta tóxica del hígado

El hígado es el segundo órgano más grande del cuerpo humano después de la piel, y es el mayor órgano interno. En los adultos pesa alrededor de 2 kg. Se encuentra en el borde inferior derecho, bajo la caja torácica. De consistencia esponjosa cuando está sano. El hígado, localizado bajo el diafragma y las costillas, se extiende a través del lado izquierdo del cuerpo por encima del borde superior del estómago. La verdosa vesícula biliar y sus vías están debajo del lado derecho del hígado. El suministro de sangre del hígado es exclusivo, proviene tanto del corazón (25%) como del tracto digestivo (75%) en forma directa a través de un gran vaso sanguíneo llamado la vena porta.

Cada uno de los dos lóbulos principales contiene unidades más pequeñas llamadas lobulillos. La mayoría de los hígados tienen de 50.000 a 100.000 lobulillos que constan de una vena rodeada por minúsculas células hepáticas llamadas hepatocitos. Estas células purifican la sangre, eliminan los desechos y toxinas y almacenan nutrientes saludables para que el cuerpo los utilice cuando sea necesario.

Las tareas del hígado son numerosas: Convierte el azúcar glucosa en glicógeno y la almacena hasta que el organismo la necesita. También almacena vitaminas, hierro y minerales, hasta que el cuerpo los necesite.

Las células hepáticas producen proteínas y lípidos o sustancias grasas que son los triglicéridos, el colesterol y las lipoproteínas.

El hígado produce ácidos biliares que descomponen la grasa de los alimentos. Estos ácidos biliares se necesitan para que el organismo absorba las vitaminas A, D y E, todas las cuales se encuentran en la grasa.

Elimina químicos, alcohol, toxinas y medicamentos del torrente sanguíneo y los envía a los riñones como urea para ser excretados como orina o a los intestinos para ser eliminados como defecación.

Aclaramiento hepático

El aclaramiento hepático cuantifica la pérdida de fármaco durante su paso a través del hígado. Resulta del accionar del metabolismo hepático y la excreción biliar. También está condicionado por el flujo sanguíneo hepático, la unión de fármaco en plasma de proteína y la actividad de las enzimas hepáticas y transportadores. Variación de uno o varios de estos parámetros puede ser más o menos influir en el aclaramiento hepático de un xenobiótico.

El Aclaramiento o “Clearance” HepaticoIntrínseco (Clint) se ve afectado por la actividad enzimática fundamentalmente de las enzimas de fase 1 y 2. Esta es una de las causas de la variabilidad de la respuesta hepática a tóxicos.

La biodisponibilidad de drogas entonces está profundamente relacionada con el Clint. Especialmente la biodisponibilidad de aquellas drogas o tóxicos que ingresan vía oral ya que tienen que antes de alcanzar el torrente sanguíneo deben pasar la barrera del epitelio intestinal y luego pasar

por el hígado. Al resultado de este camino que deben sortear las drogas ingresadas por vía oral se denomina efecto del primer paso del inglés First pass effect

Metabolismo

El hígado es, por excelencia, el principal lugar de depuración de sustancias químicas endógenas (como el colesterol, esteroides, ácidos grasos y proteínas) así como exógenas como los fármacos y tóxicos. El papel central del hígado en la depuración y transformación de sustancias químicas hace que sea un órgano muy susceptible a intoxicaciones.

El metabolismo de los fármacos suele ser dividida en dos fases. La fase 1 incluye un conjunto de reacciones químicas que preparan a la droga para entrar a la fase 2. Estas reacciones incluyen reducción-oxidación, hidrólisis, hidratación y muchas otras menos frecuentes. Estos procesos aumentan la solubilidad de la droga en el agua y puede generar metabolitos que son químicamente activos y potencialmente tóxicos. La mayoría de las reacciones químicas de la fase 2 ocurren en el citoplasma e incluyen principalmente la conjugación con compuestos endógenos por medio de enzimas transferasas. (ver capítulo 2)

El término hepatopatía se aplica a muchas enfermedades y trastornos que provocan que el hígado funcione inadecuadamente o que deje de funcionar. El dolor abdominal, el color amarillo de la piel o los ojos (ictericia) o los resultados anormales de las pruebas de la función hepática sugieren una hepatopatía. Entre las enfermedades hepáticas más corrientes encontramos: Hepatitis autoinmunitaria, Cálculos biliares, Cirrosis, Hepatitis A, B y C, Carcinoma hepatocelular, Hepatotoxicidad, Colestasis inducida por medicamentos, Hepatotoxicosiscianobacteriana, Hepatopatía alcohólica, otras.

Hepatotoxicidad

La hepatotoxicidad, llamada enfermedad hepática tóxica inducida por drogas implica daño —sea funcional o anatómico— del hígado inducido por ingestión de compuestos químicos u orgánicos. El hígado está especialmente expuesto a toxicidad por razón de su función en la biotransformación, metabolismo y eliminación de agentes potencialmente tóxicos. Ciertos productos medicinales, al tomarse en dosis elevadas o por un largo periodo de tiempo causan daños celulares, aunque la hepatotoxicidad es por lo general independiente de la concentración del fármaco, es decir, algunas drogas pueden causar daño hepático aún en dosis terapéuticas. La hepatotoxicidad puede ser causada por elementos naturales, remedios caseros o industriales, entre otros. Todo producto causante de daño al hígado se conoce como hepatoxina o hepatotóxico.

Existen más de 900 drogas que se han implicado en el daño hepático y es la razón más frecuente para retirar un medicamento del mercado. Muchos elementos químicos causan daño subclínico, es decir, que no se manifiesta con alguna sintomatología y que se presentan solo con resultados anormales de las enzimas hepáticas. La hepatotoxicidad es responsable de un 5% de todos los ingresos hospitalarios y un 50% de todas las causas de insuficiencia hepática aguda.

Mecanismo de daño hepático

Debido a su metabolismo peculiar y a su cercana relación con el tracto gastrointestinal, el hígado es tremadamente susceptible a las injurias tóxicas. Cerca de un 75% de la sangre que llega al hígado viene directamente de los órganos gastrointestinales y el bazo por medio de la vena porta, el cual trae drogas y xenobióticos de forma concentrada. Son varios los mecanismos responsables bien sea de la inducción del daño hepático o de empeorar un proceso dañino.

Muchos compuestos dañan a la mitocondria, un orgánulo intracelular que produce energía. Su disfunción libera una excesiva cantidad de oxidantes que, a su vez, causan daño a la célula hepática. La activación de algunas enzimas en el sistema citocromo P450, tales como el CYP2E1 también conllevan a estrés oxidativo. Las lesiones a los hepatocitos y a las células del conducto biliar producen acumulación de bilis dentro del hígado. Ello promueve la aparición de daño adicional hepático.

Las células que no pertenecen al parénquima hepático, como las células de Kupffer, células almacenadoras de grasa o células de Ito y leucocitos pueden tener un papel en estos mecanismos tóxicos.

Injuria Colestásica: (función de proteínas transportadoras alteradas)

Injuria Citotóxica: necrosis, apoptosis Stress oxidativo disfunción mitocondrial, Esteatosis, Fosfolipidosis.

Modificación de las funciones hepática (Modulacioncit P450)

Daño en distintas partes del hígado dependiendo de la tensión de oxígeno o efecto directo de drogas o de los metabolitos de estas.

Por ejemplo el Alcohol Alílico (AA) causa necrosis periportal dado que ahí se hallan las enzimas que lo metabolizan.

El tetracloruro de carbono causa necrosis centrolobulillar, endotelial debido a la activación de cit-P450 en zona 3.

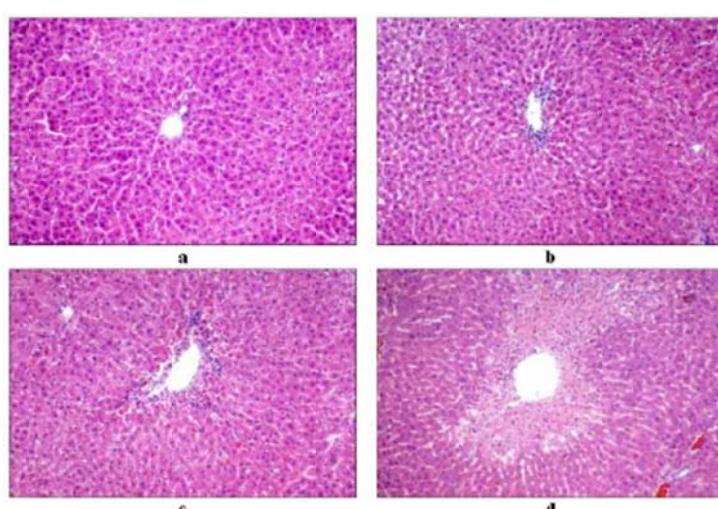


Figura 5. Cortes histológicos de hígado de rata que muestra el efecto del acetaminofeno, a = grado 1 necrosis centrilobular mínima, b = grado 2 necrosis extensiva confinada al espacio centrilobular y 3 = necrosis extendida a la zona intermedia. Tomado de MalineeWongnawa y cols 2006

Patrones de lesiones y marcadores de daño hepático

Existe una amplia variedad de daño hepático clínico y patológico producido por compuestos químicos. Los marcadores bioquímicos como la alaninatransferasa, fosfatasa alcalina y la bilirrubina, se usan con frecuencia para detectar daño hepático, definido como un aumento en la concentración de ALT más de tres veces por encima del límite normal máximo, un aumento del ALP más del doble del nivel máximo o la concentración de bilirrubina aumentado al doble por encima del nivel normal máximo asociado a niveles de ALT o ALP aumentados. El daño hepático se caracteriza también en hepatocelular (elevación inicial predominantemente de ALT) y colestásico, que es un aumento inicial de ALP. Sin embargo, éstos dos tipos no son mutuamente exclusivos, de modo que se pueden encontrar momentos en los que hay daños por tipos mixtos.

Las siguientes son algunas de las enzimas hepáticas, componentes de coagulación y derivados de la bilis, que los médicos evalúan para conocer el estado del hígado de una persona.

Alanina-Aminotransferasa (ALT)

Las células hepáticas producen la enzima ALT. Las concentraciones de ALT aumentan cuando las células hepáticas están dañadas o se están muriendo. A concentraciones de ALT más elevadas, mayor muerte celular o inflamación del hígado está ocurriendo.

Las concentraciones de ALT pueden permanecer bajas aún si el hígado está inflamado o se está formando tejido cicatricial.

Aspartato-Aminotransferasa (AST)

Tal como la enzima ALT, la AST es una enzima producida por las células hepáticas, pero los músculos también producen AST y puede estar elevada por enfermedades diferentes a la enfermedad hepática. Por ejemplo, a menudo la AST es alta durante un infarto del miocardio (ataque al corazón).

En muchos casos de inflamación del hígado, las ALT y AST también están altas. En algunas enfermedades, como la hepatitis alcohólica, las concentraciones de AST pueden ser más altas que las de ALT. Las concentraciones de AST pueden ser normales, y de todas maneras se puede estar presentando daño hepático. Esta prueba agrega tan sólo otro punto de vista más sobre la enfermedad hepática.

Fosfatasa alcalina

La fosfatasa alcalina es una enzima producida en las vías biliares, intestinos, riñones, placenta y huesos. Esta enzima se mide para ayudar a los médicos a determinar si una enfermedad está concentrada en las vías biliares o en el hígado. Cuando la concentración de esta enzima está alta y las concentraciones de ALT y AST bastante normales, puede haber un problema en las vías biliares, como una obstrucción. Algunos trastornos óseos también pueden ser causa de un alza en la concentración de la fosfatasa alcalina.

Gammaglutamiltranspeptidasa (GGT)

Esta enzima, como la fosfatasa alcalina, es producida en las vías biliares y se puede subir cuando hay un trastorno de las vías biliares. Las alzas en GGT y fosfatasa alcalina, por lo general sugieren enfermedad de las vías biliares. La medición de GGT es una prueba muy sensible, puede aparecer alta con cualquier otra enfermedad hepática. Las concentraciones altas de GGT también son causadas por medicamentos (aun cuando se hayan tomado según la prescripción médica), y a menudo son elevadas en personas que beben demasiado, aun cuando no haya enfermedad hepática.

Bilirrubina

Los médicos también miden la bilirrubina, el pigmento amarillo rojizo formado por la descomposición de la hemoglobina de los glóbulos rojos viejos. Normalmente, el hígado conjuga la bilirrubina, que es excretada en la bilis y pasa por el duodeno para ser eliminada.

Las concentraciones de bilirrubina en la sangre pueden subir debido a sobreproducción, disminución de la absorción por parte del hígado, disminución de la conjugación, disminución de la secreción del hígado o bloqueo de las vías biliares.

En caso de aumento de producción, disminución de absorción del hígado o disminución de la conjugación, la bilirrubina no conjugada, denominada bilirrubina indirecta, estará básicamente elevada. En casos de disminución de secreción del hígado u obstrucción de las vías biliares, la bilirrubina conjugada o bilirrubina indirecta, estará básicamente elevada. Muchas enfermedades hepáticas diferentes pueden causar altas concentraciones de bilirrubina.

En caso de enfermedad hepática crónica, por lo general las concentraciones de bilirrubina son estables hasta que haya ocurrido daño hepático considerable y la cirrosis esté presente. En la enfermedad hepática aguda, por lo general la bilirrubina aumenta en relación con la gravedad del proceso agudo.

En la obstrucción o enfermedad de las vías biliares, las concentraciones de fosfatasa alcalina y GGT a menudo aumentan con la de bilirrubina.

Albúmina

La albúmina es la principal proteína sintetizada por el hígado y que este luego libera en la sangre. La baja concentración de albúmina indica deficiencia de la función hepática. Las concentraciones de albúmina por lo general son normales en las enfermedades hepáticas crónicas hasta que se presenta la cirrosis y daño hepático considerable. Las concentraciones de albúmina son bajas cuando hay desnutrición y van acompañadas por gran adelgazamiento con enfermedad gastrointestinal y renal.

Tiempo de protrombina (PT)

La protrombina es una proteína que participa en la coagulación de la sangre. En una hemorragia, la protrombina se convierte trombina que es insoluble. Cuando la función hepática tiene anomalías graves, disminuyen la síntesis y secreción de las proteínas de coagulación en la

sangre. El tiempo de protrombina es una prueba del tipo de coagulación de la sangre, que se realiza en laboratorios y es "prolongado" cuando la concentración de alguno de los factores de coagulación producidos por el hígado, está baja en la sangre.

En las enfermedades hepáticas crónicas no colestásicas, por lo general el tiempo de protrombina no es alto hasta que se presentan cirrosis y daño hepático considerable. En la enfermedad hepática colestásica los pacientes tienen una capacidad reducida de absorción de la vitamina K. Esta deficiencia de vitamina K puede llevar a un tiempo de protrombina prolongado.

Las concentraciones más altas de AST y ALT se encuentran cuando mueren numerosas células hepáticas. En la hepatitis B vírica, el pronunciado daño hepático infligido por las toxinas, en una sobredosis de paracetamol (acetaminofeno) o en un prolongado síncope del sistema circulatorio con la consecuente privación de oxígeno y nutrientes las concentraciones plasmáticas de AST y ALT superan de 10 a 100 veces los límites normales

Muchos medicamentos también pueden causar concentraciones anómalas de enzimas hepáticas, como:

Los medicamentos anticonvulsivantes como fenitoína, ácido valproico, carbamacepina y fenobarbital.

El paracetamol, también denominado acetaminofeno

Antibióticos como tetraciclinas, sulfonamidas, isoniacida (INH), sulfametoxazol, trimetoprima, nitrofurantoína, etc.

Los medicamentos para reducir el colesterol como las "estatinas" y la niacina.

Medicamentos cardiovasculares como la amiodarona.

Medicamentos antidepresivos de tipo tricíclico.

Tabla 1 Patrones de lesiones hepáticas

Tipo de daño	Hepatocelular	Colestásico	Mixtos
ALT	≥ Doble incremento	Normal	≥ Doble incremento
ALP	Normal	≥ Doble incremento	≥ Doble incremento
Relación ALT: ALP	Alto, ≥5	Bajo, ≤2	2-5
Ejemplos	Acetaminofeno Alopurinol Amiodarona Terapia antirretroviral altamente supresiva AINES	Andrógenos anabólicos Clorpromazina Clopidogrel Eritromicina Contracepción hormonal	Amitriptilina Enalapril Carbamazepina Sulfonamida Fenitoína

Necrosis celular

Lo más común es encontrar necrosis de células hepáticas confinadas a una zona en particular del lóbulo hepático. Se manifiesta con altos niveles sanguíneos de ALT y disfunciones hepá-

ticas severas que con el tiempo conlleva a insuficiencia hepática aguda. Las causas más frecuentes son las intoxicaciones por acetaminofeno y tetracloruro de carbono.

La necrosis hepatocelular puede ser

- 1.- Centrolobulillar, que es una región con baja tensión de oxígeno y altos niveles de producida por intoxicaciones con tetracloruro de carbono.
- 2.- Periportal, producida por aflatoxinas y alcohol alílico en una zona caracterizada por alta tensión de Oxígeno y mayor concentración del tóxico
- 3.- Midzonal, producida por berilio e inhibidores de las MAO
- 4.- Al azar,
- 5.- Masiva

Hepatitis

Esta es otra forma de necrosis hepatocelular, pero está asociada a infiltración de células inflamatorias. Se conocen tres tipos de hepatitis inducida por drogas:

- 1) Hepatitis tipo viral, la más frecuente, en el que los elementos histológicos se parecen a la hepatitis viral aguda. Es el caso de la hepatotoxicidad por Halotano, Isoniazida y Fenitoína.
- 2) Hepatitis focal o no-específica, se presencia hepatitis en focos esparcidos que acompañan al infiltrado linfocítico. Un ejemplo de este tipo de injuria es la intoxicación por aspirina.
- 3) Hepatitis crónica, un cuadro clínico, serológico e histológico muy similar a la hepatitis auto-inmune. Actúan de este modo las intoxicaciones por Metildopa, Diclofenac.

Colestásis

El daño hepático produce un trastorno en el flujo biliar, en el que el cuadro clínico predominan la picazón e ictericia. Histológicamente se puede presenciar inflamación (hepatitis colestásica) o puede aparecer sin inflamación parenquimatosa. En pocos casos se producen características similares a la cirrosis biliar primaria debido a la destrucción progresiva de los pequeños conductos biliares (síndrome del ducto desaparecido). Lo causan:

Simple: los anticonceptivos, los anabolizantes los androgénicos esteroideos y andrógenos.

Inflamatorio: Alopurinol, Co-amoxiclav, Carbamazepina

Ductal: Clorpromazina, Flucloxacilina

Esteatosis

La esteatosis hepática, también conocida como *hígado graso* (o *FLD* en inglés), es la forma más frecuente de esteatosis, no siempre se acompaña de lesión hepática debido a la gran capacidad funcional del hígado.

Se produce hepatomegalia y el hígado adopta un aspecto moteado y blando. Al microscopio óptico se observa como los hepatocitos muestran gotas lipídicas que pueden ser de gran tamaño y existir pocas (célula en anillo de sello, más característico de situaciones crónicas) o ser pequeñas y abundantes (célula espumosa, más típico de situaciones agudas). La acumulación de triacilglicéridos en unas u otras zonas del lobulillo hepático dependerá de la causa: en la congestión hepática (que genera isquemia) los triglicéridos se acumulan preferentemente en el centro del lobulillo (esteatosis centrolobulillar) tal como ocurre en la insuficiencia cardíaca, alcoholismo, etc. La esteatosis perilobulillar es producida tras períodos prolongados de ayuno. Si estos procesos se acompañan de hepatitis (esteatohepatitis) se acaba produciendo necrosis que desembocará en fibrosis hepática. El hígado graso suele aparecer a causa de la toma de grandes cantidades de alcohol, azúcares o grasas que generan la esteatosis alcohólica.

La hepatotoxicidad puede manifestarse como una acumulación de triglicéridos lo que conlleva a un hígado graso micro o macrovesicular.

Otro tipo de esteatosis se produce por acumulación de fosfolípidos y produce un patrón similar a las enfermedades con defectos congénitos del metabolismo lipídico, como la enfermedad de Tay-Sachs.

Hígado graso no alcohólico

El hígado graso puede tener causas distintas al alcohol y cuando esto sucede se denomina síndrome metabólico (diabetes, hipertensión, obesidad y dislipidemia), además puede deberse a drogas y toxinas.

Metabólico: Abetalipoproteinemia, enfermedad por almacenamiento de glucógeno, enfermedad de Weber-Christian, hígado graso agudo del embarazo, lipodistrofia nutricional, desnutrición, nutrición parenteral total, pérdida de peso grave, síndrome de realimentación, bypass yeyuno-ileal, bypass gástrico, diverticulosis yeyunal con sobre crecimiento bacteriano.

Drogas y toxinas: la amiodarona, metotrexato, diltiazem, tetraciclina expirada, terapia anti-retroviral altamente activa, glucocorticoides, tamoxifeno, hepatotoxinas medioambientales (por ejemplo, fósforo, toxinas de hongos)

Presenta diferentes causas:

Microvesicular: Aspirina (síndrome de Reye), Ketoprofen, Tetraciclina.

Macrovesicular: Acetamienofeno, metotrexato. Microcistina

Fosfolipidosis: Amiodarona, nutrición parenteral absoluta. Lesiones vasculares

Son lesiones que resultan en daño al endotelio vascular, por agentes quimioterapéuticos o esteroides anabolizantes.

Trombosis venosa hepática, por agentes quimioterapéuticos.

Neoplasmas

Los neoplasmas se han descrito por exposición prolongada a ciertas drogas y toxinas, causantes de carcinoma hepatocelular, angiosarcoma y adenomas hepáticos. Algunas de las drogas implicadas en estos tumores son el cloruro de vinilo, las pastillas anticonceptivas, esteroides anabólicos, arsénico y otros.

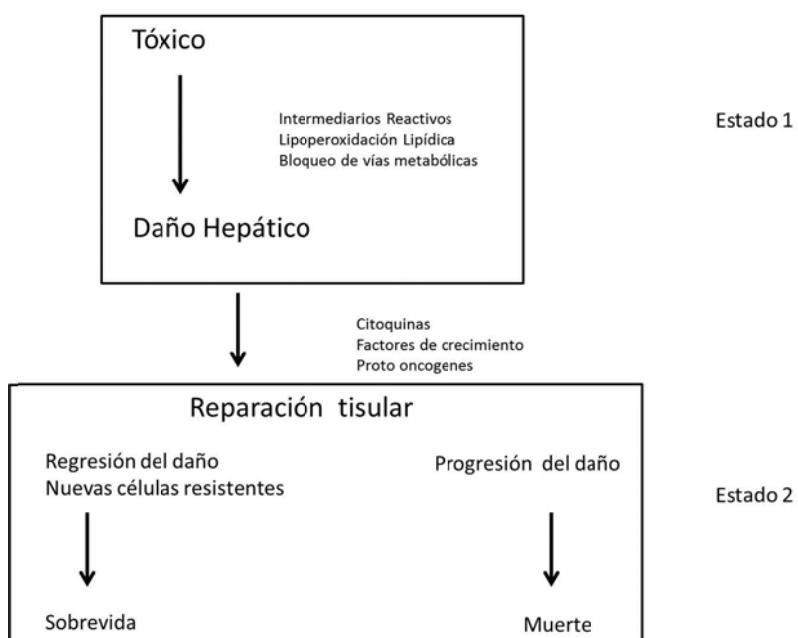


Figura 5 Esquema básico de la respuesta de un tejido a un tóxico

En la mayoría de los casos, la función hepática regresará a sus valores normales si se suspende con tiempo la administración del medicamento. Sin embargo ciertas hepatotoxicidades, como la intoxicación por acetaminofeno pueden resultar fatales. En casi todos los casos se requerirá terapia de soporte al individuo como medida básica. En los casos de insuficiencia hepática fulminante por una hepatotoxicidad inducida por drogas, se hará necesario un trasplante de hígado. Una elevación de los niveles de bilirrubina en sangre mayor al doble de su valor normal asociada con un incremento en la concentración de transaminasas es un signo de hepatotoxicidad severa y tiende a causar la muerte en un 10-15% de los pacientes, en especial si no se detiene la administración de la droga en cuestión. La razón es que se requiere un daño significativo al hígado para causar trastornos en la excreción de bilirrubina. Otros predictores de un mal pronóstico incluyen la edad del paciente, el sexo femenino y valores elevados de la AST.

La reparación del daño hepático puede darse por dos caminos, la cicatrización y la regeneración (Figura 6).

Fibrosis hepática

La fibrosis es el resultado de la respuesta biológica hepática a una agresión crónica con el siguiente remodelado de la estructura del hígado. Así, en los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) el hígado responde al daño producido por este agente externo, desarrollando una respuesta inflamatoria con aparición de fibrogénesis. Inicialmente, la fibrogénesis es un proceso dinámico que trata de reparar el daño originado por una agresión externa y que se caracteriza por la síntesis de moléculas de la matriz extracelular, proteínas (colágeno y elastina), glicoproteínas (fibronectina y laminina) y proteoglicanos organizados e interconectados. Esta síntesis está compensada por los mecanismos de fibrinólisis que destruyen esta matriz.

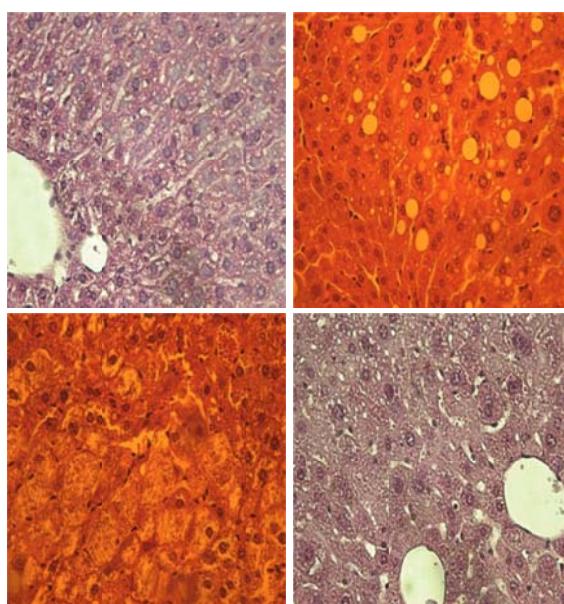


Figura 6: Cortes representativos H&E- 400 x de hígado de ratones tratados con una hepatotoxina (microcistinas) A) Control normal, B) animales tratados con una hepatotoxina (microcistina) cada dos días durante un mes, C) uno mes después de finalizada la administración del tóxico y D) dos meses después de finalizada la administración del tóxico mostrando un importante recuperación de las estructuras hepáticas. Tomado de Andrinolo y col. 2008

Estos mecanismos no órgano-específicos, tienen como objetivo detener el daño producido por las agresiones externas, sin embargo, cuando se perpetúan en el tiempo, tienen como resultado un desbalance entre la fibrogénesis y la fibrinólisis a favor de la fibrogénesis, y en consecuencia una acumulación de matriz extracelular que origina una destrucción de la arquitectura hepática.

En resumen, la fibrogénesis, inicialmente desarrollada por el organismo como un proceso beneficioso, puede llegar a ser perjudicial para éste, si persiste la agresión externa. La fibrogénesis está directamente relacionada con la activación de las células estrelladas hepáticas. Varios factores se han implicado en la fibrogénesis hepática: citoquinas, quimioquinas, receptores de matriz extracelular, moléculas de adhesión, endotelina, norepinefrina, inhibidores de metaproteínas y factores de crecimiento. El TGF- β (transforming growth factor) y citoquinas como la Interleuquina (IL) 10, la IL-13 y la angiotensina II, juegan un papel relevante en la activación de las células estrelladas.

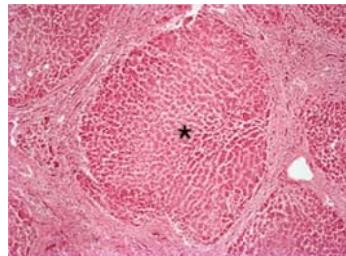


Figura 7: Cirrosis. En la figura se aprecia un corte histológico con la estructura del lóbulo hepático totalmente alterada. Se observan nódulos regenerativos (*) característicos. Las venas centrales son desplazadas del centro o desaparecen por completo. El tejido conectivo se incrementa alrededor de los nódulos regenerativos. HE-staining 40 X. Tomado de http://www.solunetti.fi/en/patologia/maksakirroosi_40x

Cirrosis

La cirrosis es el conjunto de cicatrices en el hígado. El tejido cicatricial se forma por lesiones o enfermedades prolongadas. El tejido escamoso no puede hacer lo que hace el tejido hepático sano: producir proteínas, ayudar a combatir las infecciones, limpiar la sangre, ayudar a digerir los alimentos y almacenar energía. La cirrosis puede conducir a diversos procesos como son ocurrencia de hematomas o hemorragias con facilidad o sangrado nasal, hinchazón del abdomen o las piernas, sensibilidad adicional a los medicamentos, aumento de la presión en la vena que penetra en el hígado, venas dilatadas en el esófago y el estómago. La cirrosis puede tener muchas causas siendo las más comunes el alcoholismo crónico y la hepatitis. Nada hará desaparecer el tejido escamoso, pero tratar la causa puede evitar que empeore la enfermedad.

Respuestas tóxicas del riñón

Insuficiencia Renal Aguda (FRA)

Una de las manifestaciones más comunes de daño nefrotóxico es la falla renal aguda, caracterizada por una abrupta declinación de la velocidad de filtración glomerular (VFG) con la resultante azoemia (aumento del nitrógeno plasmático). Si una sustancia química causa daño tubular directamente, entonces los restos celulares pueden causar obstrucción tubular, presión tubular aumentada y una VFG disminuida. El daño tubular puede resultar en pérdida o muerte de las células epiteliales, provocando un flujo invertido del filtrado glomerular y disminución del VFG. Si una sustancia química causa alteraciones hemodinámicas intrarenales que conduce a vasoconstricción, la hipoxia medular resultante puede causar daño tubular y/o disminución de la presión de perfusión, presión hidrostática glomerular y VFG. Finalmente, una sustancia química puede actuar como disruptor de la función glomerular, resultando en una ultrafiltración glomerular disminuida. La tabla siguiente muestra sustancias que se sabe producen falla renal aguda. En la mayoría de las sustan-

cias la FRA es consecuencia de daño tubular y/o resistencia vascular aumentada. El mantenimiento de la integridad tubular es dependiente de la adhesión célula a matriz y célula a célula, estas interacciones son mediadas por integrinas y moléculas de adhesión celular. Se ha hipotetizado que después de una lesión química o hipóxica, la adhesión de las células a la membrana basal está comprometida produciendo su liberación al espacio del lumen. Morfológicamente, tales eventos conducirían a discontinuidades (“gaps”) en el recubrimiento celular epitelial, potencialmente produciendo oclusión y edematización. Estas células desprendidas pueden agregarse dentro del lumen tubular (adhesión célula a célula) y/o re adherirse a las células epiteliales corriente abajo, resultando en obstrucción tubular.

Después de la exposición a los nefrotóxicos, uno o más mecanismos pueden contribuir a la reducción en el VFG. Estas incluyen vasoconstricción renal resultan en azoemia pre-renal y obstrucción debido a la precipitación de drogas o compuestos endógenos dentro del riñón. Los factores intrarenales incluyen obstrucción tubular directa y disfunción resultando en infiltración de líquido por presión tubular aumentada.

Además, la pérdida de expresión de integrinas de la membrana basolateral puede ser responsable por la exfoliación de las células tubulares, y la redistribución de integrinas desde la membrana basolateral hacia la membrana apical facilita la adhesión de células desprendidas *in situ*. Otros estudios han indicado que las moléculas de adhesión leucocitaria juegan a un rol crítica en la falla renal aguda, posiblemente debido a la habilidad de los leucocitos activados de liberar citoquinas y especies reactivas de oxígeno (ROS), resultando en daño o fugas en los capilares, los cuales pueden conducir a la congestión vascular a menudo observada en la FRA. Estos cambios resultan en la pérdida de la polaridad celular, integridad de las uniones estrechas y adhesión celular a su sustrato físico. Las células dañadas en forma letal sufren oncosis o apoptosis, y ambas células muertas y viables pueden liberarse hacia el lumen tubular. La adhesión de las células liberadas a otras células liberadas o a la membrana basal puede resultar en obstrucción tubular.

Adaptación del riñón a las lesiones por sustancias tóxicas

Afortunadamente, el riñón posee una notable habilidad para compensar la pérdida de masa renal funcional. El balance glomerular se mantiene incrementando el VFG y la reabsorción de agua y solutos. Consecuentemente, los cambios inducidos químicamente pueden no ser detectados por pruebas clínicas estándar hasta que el daño sea significativo.

Existe un número de respuestas celulares y moleculares a un daño nefrotóxico. Después de que una población de células renales son expuestas a un tóxico, una fracción de estas será severamente dañada o sufrirá muerte celular por apoptosis u oncosis. Aquellas células que son lesionadas en forma no letal sufrirán reparación celular y/o adaptación, las cuales contribuirán a la recuperación estructural o funcional de la nefrona. En adición, hay

una población de células sin daño que pueden sufrir hipertrofia compensatoria, adaptación celular y proliferación.

La proliferación celular y la hipertrofia contribuyen a la recuperación estructural y funcional de la nefrona. Dos de las más notables adaptaciones celulares son la inducción de metalotioneínas (ver: Cadmio) y la inducción de proteínas de stress. Las proteínas de stress térmico (Heat Shock Proteins, HSPs) y las proteínas reguladas por glucosa (Grps) son dos ejemplos de proteínas de stress que son inducidas por una serie de estados fisiopatológicos tales como el shock térmico, stress oxidativo, tóxicos, exposición a metales pesados y trauma físico a los tejidos.

La distribución de las proteínas de stress individuales varía entre diferentes tipos de células en el riñón y dentro de los compartimentos subcelulares. Estas proteínas se creen que juegan un papel importante en el mantenimiento de la estructura espacial normal de las proteínas y en la degradación de proteínas dañadas, proveyendo así de un mecanismo de defensa contra la toxicidad facilitando la reparación y recuperación. La inducción en el tejido renal de HSPs ha sido demostrada luego de la isquemia renal y el tratamiento con nefrotóxicos como la gentamicina, conjugados de cisteína y alquil-halogenados y cloruro mercuríco. Las HSPs del túbulos proximal han sido identificadas como los blancos moleculares de los metabolitos reactivos de los conjugados de cisteína y tetrafluoroetilo (TFEC), un efecto que provocaría la disrupción de los efectos protectores de las HSPs y contribuir a exacerbar la toxicidad del TFEC. Grp78 es una proteína de stress del retículo endoplásmico, y reciente evidencia muestra que es inducida luego de un stress celular. Si Grp78 es inducida antes de la exposición a TFEC, la célula se hace tolerante a esta sustancia. Estos hallazgos sugieren que la adaptación celular es una respuesta de importancia a la muerte y al daño celular renal.

Falla renal crónica

El deterioro progresivo de la función renal puede ocurrir con una exposición de largo término a una variedad de químicos (ej: analgésicos, litio, ciclosporina). Se cree que generalmente la progresión a la etapa final de falla renal no es función de la lesión inicial *per se* sino más bien está relacionada con procesos fisiopatológicos disparados por el daño inicial.

La progresión de la enfermedad renal crónica, por ejemplo, ha sido postulada por Brenner (1982) como una consecuencia de la respuesta hemodinámica glomerular a la lesión renal. Esto quiere decir que después de la pérdida de la nefrona, se produce una respuesta adaptativa en la presión glomerular con el consecuente aumento de la VFG de cada nefrona o de las nefronas viables remanentes. Aunque estos mecanismos compensatorios sirven para mantener el VFG del riñón entero, se sugiere que, con el tiempo, estas alteraciones son dañinas y ayudan a la progresión de la falla renal.

Mecanismos bioquímicos y mediadores de daño celular renal

En muchos casos, el daño celular renal puede culminar en la muerte celular. En general la muerte celular se cree que ocurre a través de oncosis o apoptosis. Las características morfológicas y bioquímicas de la necrosis y la apoptosis son muy diferentes. La apoptosis es un proceso estrechamente controlado y organizado que afecta usualmente células individuales. Las organelas retienen su integridad mientras que el volumen celular disminuye.

Mediadores de Toxicidad

Una sustancia química puede iniciar el daño celular por una variedad de mecanismos. En algunos casos la sustancia química resulta tóxica debido a su reactividad específica con las macromoléculas específicas. Por ejemplo, anfotericina B reacciona con los esteroles de la membrana plasmática, incrementando la permeabilidad; la fumonisina B1 inhibe a la esfingonina N-aciltransferasa (esfingosina) y el Hg(II) se une a los grupos sulfhidrilos de las proteínas celulares. En contraste, algunos químicos no son tóxicos hasta que son biotransformados a un intermediario reactivo. Por ejemplo, el cloroformo y el acetaminofeno son metabolizados en el riñón del ratón por el citocromo P450 a sus intermediarios reactivos, *N*-acetil-p-benzoquinonimina y fosgeno. La unión covalente de los intermediarios reactivos a macromoléculas críticas se cree que interfiere con la actividad biológica normal de la macromolécula iniciando el daño celular. En otras instancias, la biotransformación extra renal puede ser requerida antes de la llegada de la penúltima especie nefrotóxica al túbulo proximal, donde se metaboliza al intermediario reactivo. Se cree que el stress oxidativo podría contribuir al menos en parte a la nefrotoxicidad asociada a las lesiones por isquemia, gentamicina, cíclitosporina, cisplatino y los conjugados de cisteína y alcanos halogenados.

Sustancias Tipo

Gentamicina

Los antibióticos aminoglucósidos son responsables de falla renal en humanos. La estructura química de los aminoglucósidos consiste en un carbohidrato con enlaces glicosídicos a cadenas laterales conteniendo varios tipos de grupos aminos.

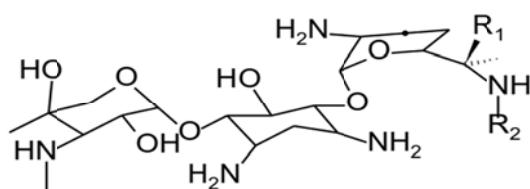


Figura 8: Aminoglucósidos: estructura de la gentamicina (R1 y R2 son H).

La gentamicina por ejemplo posee cinco grupos aminos, siendo a pH celular sustancias cationicas. Su toxicidad està relacionada al nùmero de grupos ionizables. Los aminoglucósidos se excretan por filtración vía glomerular, aunque se produce la reabsorción a través de un sistema de recaptura vía un sistema transportador de alta capacidad y baja afinidad. Estas sustancias permanecen en el riñón más tiempo que en otros tejidos tal como el hígado. En el caso particular de la gentamicina se acumula en los tejidos después de varias dosis repetidas y alcanza una concentración en la corteza renal de dos a cinco veces de la sangre.

Se cree que los aminoglucósidos catiònicos se unen a fosfolípidos aniónicos, especialmente los fosfoinositidos localizados en el borde en cepillo del túbulo proximal. Los aminoglucósidos también inducen disfunción lisosomal siguiendo a la tubular reabsorción de los aminoglucósidos y acumulación en lisosomas. El tamaño y número de lisosomas se incrementan y estructuras multilamelares (densas a los electrones) denominados cuerpos mieloides empiezan a ser observables. Los cuerpos mieloides contienen fosfolípidos sin degradar y se cree que producen por la inhibición de las hidrolasas lisosomales y las fosfolipasas.

La unión depende del nùmero y posición de los grupos cargados en la molécula del aminoglucósidos. El resultado es la alteración de la composición de los fosfolípidos de membrana y la alteración del transporte de como la ATPasaNa/K, adenilatociclasa y de los iones Na, K y Ca. La alteración fosforilación oxidativa también disminuye, con la consecuente disminución en la actividad de los sistemas de transporte vitales para el riñón.

Algunos aminoglucósidos como la gentamicina causan daño al oído, en especial el aparato coclear.

Compuestos Halogenados

Varios alkanos y alquenos halogenados como el hexaclorobutadieno (HCBD), clorotrifluoroetíleno y tricloroetíleno son nefrotóxicos. Todos ellos requieren activación metabólica para ser tóxicos, aunque no requieren del citocromo P-450. El HCBD es una potente nefrotoxina en una amplia variedad de especies de mamíferos, dañando la parte del asa recta del túbulo proximal con pérdida del borde en cepillo. El resultado es la falla renal con glucosuria, proteinuria y pérdida de la capacidad de concentrar y diluir la orina.

El mecanismo parece involucrar primero en la formación de un conjugado de glutatión en el hígado a través de una glutatión S- transferasa microsomal. El metabolito hepático se secreta en la bilis y toma contacto con la flora intestinal. En este lugar la porción glutamilo es escindida mediante una γ -glutamiltransferasa seguido por el clivaje del conjugado de cisteinil glicina por una dipeptidasa. El conjugado con cisteína puede ser absorbido desde el tracto gastrointestinal y transportado a la circulación sanguínea donde alcanza al riñón, donde puede sufrir acetilación y ser excretado como ácido mercaptúrico. También puede ser metabolizado por la enzima cisteína-conjugado β -liasa (C-S liasa) a un tiol reactivo. Los otros productos secundarios son un

cetoácido y amoníaco. La β -liasa está presente en el hígado y en el riñón. En este último órgano existe en el citosol, en la mitocondria y en los bordes en cepillo en el asa recta.

El fragmento reactivo es alquilante y se une a proteínas, ADN y al glutatión. La sensibilidad del riñón puede deberse a su capacidad para concentrar esta sustancia. El tricloroetileno se metaboliza en forma similar y se produce diclorodivinil cisteína.

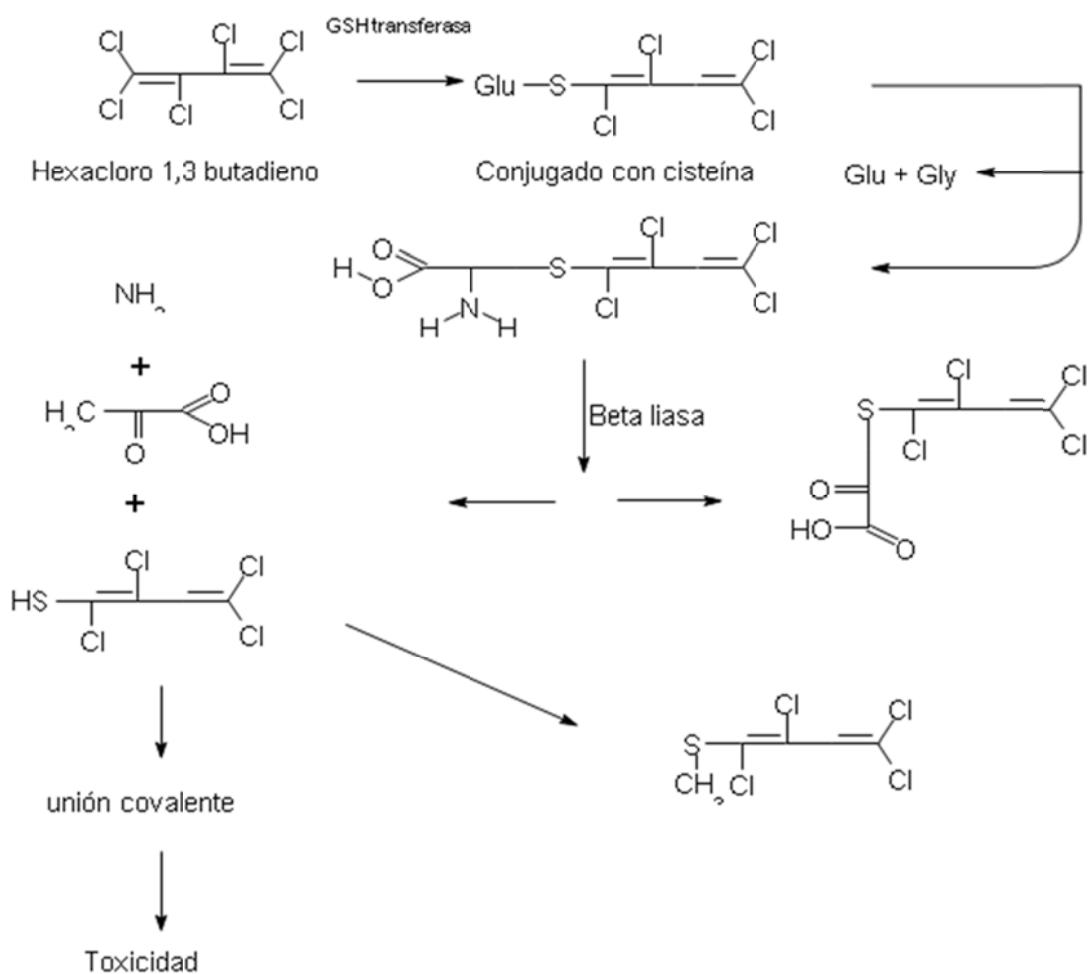


Figura 9: Metabolismo del Hexacloro-1,3 butadieno: activación metabólica en hígado.

Etilen Glicol (EG)

Esta sustancia se utiliza como anticongelante, en pinturas y cosméticos. Su sabor dulce y su fácil obtención ha sido utilizado como el alcohol de los pobres, pero también puede utilizarse con fines suicidas y homicidas. Fue utilizado alguna vez como disolvente de medicamentos como la sulfanilamida provocando 76 muertes. La dosis letal mínima es aproximadamente de 100 ml y la muerte ocurre dentro de las 24 hs por daño al SNC o en forma más lenta (8 a 12 días) debido a falla renal.

Existen tres etapas clínicas reconocibles:

1) dentro de los 30 minutos y durante unas 12 hs se produce una intoxicación similar a la alcohólica con vómitos, náuseas, coma, convulsiones, papiloedema, reflejos deprimidos, convulsiones mioclónicas y contracciones tetánicas. Puede producirse atrofia óptica.

2) Entre las 12 y 24 hs se observa taquipnea, taquicardia, hipertensión, edema pulmonar y falla cardíaca congestiva.

3) Entre las 24 y 72 hs los riñones se lesionan con dolor costal y necrosis tubular aguda.

Los hallazgos bioquímicos reflejan los efectos fisiológicos. Se observa una reducción en el calcio y el bicarbonato plasmático. En la orina pueden observarse sangre, proteína y cristales de oxalato de calcio y baja densidad. El mecanismo de toxicidad del EG depende de su metabolismo pero no involucra bioactivación.

El EG se metaboliza mediante varias etapas de oxidación que producen finalmente ácido oxálico. La primera enzima de esta serie de reacciones es la alcohol deshidrogenasa y es clave en el tratamiento de la intoxicación. La secuencia produce gran cantidad de NADPH, requiriendo de oxidación de NAD y formando lactato. El resultado es un incremento del nivel de lactato y acidosis metabólica. Los intermediarios metabólicos del EG producen además la inhibición de la fosforilación oxidativa, glucólisis, ciclo del Krebs, síntesis del ARN y ADN.

Los hallazgos patológicos incluyen edema cerebral, hemorragia y depósito de oxalato de calcio en pulmones y riñón. El tratamiento es similar al de la intoxicación con metanol: administración de bicarbonato de sodio para combatir la acidosis metabólica y de etanol para saturar la alcohol deshidrogenasa. También se administra gluconato de calcio y la diálisis es efectiva para remover el EG.

Respuesta Tóxica del pulmón

Esta rama de la toxicología tiene sus antecedentes históricos bajo la forma de una enfermedad ocupacional en mineros en 1713. El médico italiano Bernardino Ramazzini (1633 – 1714) dejó una descripción detallada de los síntomas de los afectados, tales como alteraciones de los pulmones y el cerebro, señalando que los pulmones estaban expuestos a los minerales que explotaban. Una cita de sus observaciones ilustra su comprensión del origen del problema: “los trabajadores (fundidores, forjadores) están menos expuestos pues realizan su trabajo a cielo abierto”. Estas simples observaciones muestran que la inhalación de tóxicos respiratorios puede tener dos efectos: en los pulmones y en órganos alejados de ellos. Así podemos definir a la toxicología inhalatoria como aquella que se ocupa de las vías de exposición, mientras que la toxicología del tracto respiratorio se refiere a la toxicidad sobre los órganos. En este capítulo se relacionará la anatomía y fisiología del pulmón con los mecanismos más usuales de toxicidad pulmonar, resultante de la exposición a las toxinas industriales y ambientales más usuales.

Anatomía y Fisiología del pulmón

El pulmón y el resto del sistema respiratorio proveen a todas las células del organismo la capacidad de intercambiar oxígeno y dióxido de carbono. El mismo sistema también provee a muchas sustancias nocivas industriales de una vía de entrada (o de salida) del cuerpo. Esencialmente, el sistema respiratorio es una bomba de aire, tal como el corazón lo es de sangre. Los cambios en la anatomía y fisiología del pulmón debido a exposición a sustancias tóxicas puede resultar a menudo en serias consecuencias para el individuo expuesto. La comprensión de la estructura y función del tracto respiratorio es esencial para comprender por qué tantos individuos sufren los efectos de la exposición a tóxicos en ambientes laborales.

Mecanismos de defensa del pulmón

Las diferentes clases de químicos con capacidad reconocida de dañar el pulmón. Existen mecanismos básicos por los cuales los químicos industriales ejercen su acción tóxica sobre el pulmón. Cuando se considera la toxicología y el pulmón, es importante observar que el pulmón es tanto un órgano blanco para muchas toxinas y un punto mayor de entrada al cuerpo, brindando a las toxinas la oportunidad de ejercer su efecto tóxico sobre otros órganos.

Vías aéreas superiores

El pulmón y la porción del sistema respiratorio debajo de la vía aérea superior es un sistema muy húmedo y muy sensible a la humedad o a la falta de ella. El aire inhalado es, por lo tanto, altamente humidificado durante su pasaje desde las narinas hacia el pulmón, y lavado de las partículas más grandes. La cubierta de la pared nasal se conoce como mucosa y se halla muy capilarizada. Por lo tanto, el aire inhalado a través de la nariz entra en contacto inmediatamente con las superficies con mucosas, las cuales son la única separación entre el aire y los capilares sanguíneos. El depósito de químicos tóxicos en el sistema respiratorio superior puede resultar tanto en toxicidad al tejido de la mucosa como en la absorción del agente hacia la circulación sistémica mediante estos capilares.

Senos Nasales

Dado que los senos están conectados a las vías nasofaríngeas a través de un número de pequeñas aberturas, el aire inhalado también entra a los senos nasales. La sinusitis aguda puede producirse cuando toxinas transportadas por la vía aérea irritan la mucosa de la superfi-

cie de los senos nasales. Al igual que ocurre con otras partes del sistema respiratorio, la irritación de la cobertura mucosa conduce a una respuesta inflamatoria en estos tejidos.

Como resultado de la inflamación, se produce una acumulación de moco, y el pobre drenaje de los senos conduce al crecimiento de bacterias. Algunos individuos los cuales sufren sinusitis padecen un severo dolor de cabeza mientras que otros padecen solo un continuo drenaje de líquido o moco. Muchos factores pueden contribuir a la sinusitis en adición o en conjunción con tóxicos inhalados tales como hipersensibilidad alérgica, características individuales de cada persona y condiciones climáticas.

Sistema Pulmonar e Intercambio Gaseoso

Las estructuras pulmonares, en alveolos y bronquiolos terminales facilitan el intercambio gaseoso. El dióxido de carbono y el oxígeno fácilmente atraviesan estas membranas por difusión simple. Muchas sustancias químicas de origen industrial también cruzan fácilmente esta membrana y pasan al torrente sanguíneo (hexano). Estas potenciales sustancias tóxicas entran de esta manera al sistema circulatorio en forma análoga a recibir una inyección.

El daño mediado por tóxicos al pulmón así como varias enfermedades pueden resultar en una alteración funcional de este sistema de membranas. La exposición a algunos químicos pueden resultar en un incremento en la cantidad de fluido en el espacio intersticial. Si se acumula suficiente fluido, una condición conocida como edema pulmonar, el intercambio gaseoso puede ser alterado lo suficiente como para dificultar severamente la respiración y producir, como consecuencia final, la muerte por asfixia (paraquat). El daño a la membrana en sí misma puede resultar en lesiones, las cuales al repararse por depósito de colágeno puede aumentar el espesor de la membrana o disminuir la elasticidad del pulmón, o ambas. Un incremento en el espesor puede alterar significativamente el intercambio gaseoso. Las alteraciones en la elasticidad conducen a una mayor dificultad en el trabajo respiratorio, lo cual puede disminuir el volumen de aire respirado, con lo cual el individuo se cansa fácilmente.

Asimismo, cuando el intercambio gaseoso disminuye, la presión parcial de oxígeno también disminuye, lo cual puede comprometer el funcionamiento de órganos vitales. La inhalación de un químico también resulta en una mayor toxicidad si se compara con la ingestión del mismo. Esto se debe a que un químico ingerido primero va al hígado, el cual es el principal órgano metabolizante del cuerpo. El hígado tiene la oportunidad de eliminar o disminuir la toxicidad del compuesto. Esto se denomina efecto de primer paso. Cuando el químico es inhalado esta vía se evita y la toxina puede alcanzar su órgano blanco directamente sin pasar por el hígado.

Las sustancias que se diseminan por la vía aérea entran en contacto con las células que recubren el tracto respiratorio desde las narinas hasta los bronquiolos. Los sitios de interacción, su tamaño e importancia según la especie determinarán el riesgo final. Por ejemplo, las ratas tienen una gran superficie nasal con respecto a los humanos. La medición de

proteínas unidas a ADN en la región nasal de la rata expuesta a vapores de formaldehido ha demostrado un aumento de las mismas si se compara por ejemplo, con los monos. El metabolismo también modifica la exposición ya que animales con metabolismo más alto, con mayor frecuencia respiratoria serán más afectados por tóxicos presentes en el aire. De la misma forma la hora del día en que se desarrolla la actividad trae aparejado cambios en la exposición a sustancias nocivas. Durante las horas del día la atmósfera de una zona urbana tiene una composición gaseosa y de material particulado muy diferente (más contaminada con particulados carbonosos y silíceos, monóxido de carbono y óxidos nitrosos) que en horas de madrugada.

Algunos gases o vapores estimulan el nervio trigémino en la nariz, produciendo una alteración en los ritmos respiratorios con el objeto de evitar o reducir la exposición. Si no se puede evitar la exposición, muchos agentes corrosivos comienzan a necrosar la pared alveolar. El daño no es necesariamente inmediato y los efectos se pueden ver horas después, tales como HCl, NO₂ y el NH₃.

La insuficiencia respiratoria aguda

La insuficiencia respiratoria aguda (IRA) es un cuadro funcional que puede ser consecuencia de diversos procesos patológicos. La evaluación clínica se basa en el análisis de los gases arteriales. La IRA puede ser aguda o crónica, ventilatoria primaria o insuficiencia primaria de la oxigenación. La forma más común es la insuficiencia mixta, ventilatoria y de oxigenación. La insuficiencia ventilatoria puede aparecer en individuos con pulmones normales (mala función muscular o anomalías del sistema de control respiratorio) o en pacientes con obstrucción de la vía aérea. En la insuficiencia de la oxigenación existen cuatro mecanismos básicos: alteración de la ventilación/perfusión (V/Q), corto circuito, anomalías de la perfusión e hipoventilación. Los gases arteriales pueden revelar hipoxemia ($pO_2 < 80$ mm Hg) e hipo o hiperventilación. Administración de oxígeno al 100 por ciento ayuda a definir el mecanismo de la insuficiencia de oxigenación. Las pruebas de función pulmonar, el electrocardiograma y la radiografía de tórax completarán la evaluación del paciente y ayudarán a sugerir la causa primaria de la IRA. El pronóstico depende del diagnóstico y tratamiento de la causa precipitante. Se debe de ofrecer apoyo cardiopulmonar

Principios generales en la patogénesis del daño pulmonar causado por sustancias químicas

El pulmón es un órgano particularmente expuesto a tóxicos debido a su permanente contacto con el medio ambiente, aunque no debe olvidarse que cualquier sustancia disuelta en la sangre también puede alcanzarlo a través de su extensa irrigación. Debe recordarse

que el pulmón es irrigado por la totalidad del corazón derecho y la totalidad de la sangre lo alcanzará eventualmente.

Considerando que el área superficial del pulmón es aproximadamente de 70 m² en los humanos y que la distancia del espacio intersticial entre el capilar pulmonar y la pared del bronquíolo es 0,2 a 0,7 μm el pasaje es sumamente rápido para cualquier molécula pequeña. Las partículas requieren de un proceso de captura por parte de los macrófagos alveolares.

La unidad anatómica del pulmón es el acino, consistente de un bronquíolo respiratorio, los conductos alveolares, alvéolos y vasos sanguíneos. El sistema respiratorio posee varios mecanismos defensivos como capas de moco, células ciliadas, trampas de calentamiento y humectación del aire inspirado en los senos nasales. Si las sustancias ingresaron al tejido pulmonar vía aérea o por los capilares alveolares, debe considerarse la posibilidad de que ocurra activación metabólica de un xenobiótico (caso paraquat).

En el aire pueden encontrarse muchas sustancias irritantes tales como gases y vapores (formaldehído, amoníaco, óxidos de nitrógeno y del azufre), material particulado contenido n úcleos minerales (silicatos, óxidos metálicos) o de carbono (grafitos, hidrocarburos aromáticos polinucleares – en inglés se los conoce como PAH), solventes y radicales libres.

Los gases irritantes como el ozono, el dióxido de azufre y de nitrógeno producen daño agudo y directo al tejido pulmonar, mientras que otros como carbonilo de níquel producen tumores pulmonares. Las secciones siguientes tratarán de los distintos tipos de respuesta tóxica.

Stress Oxidativo

Un importante tipo de daño al pulmón es el causado por la acción oxidativa, como la mediada por radicales libres, tales como aquellos generados por ozono, NO₂, humo del tabaco y las células de defensa del pulmón. La evidencia del rol de los radicales libres en el pulmón incluye una amplia variedad de observaciones. Numerosas estudios han reportado un incremento en la actividad de los enzimas que inactivan radicales libres en los pulmones de animales expuestos a ozono, dióxido de nitrógeno y otros tóxicos, los cuales apoyan indirectamente esta hipótesis. El tratamiento con varios agentes de captura de radicales libres pueden proteger a las ratas del edema pulmonar inducido por altas dosis de tiourea o dosis elevadas de radiación gama.

Las teorías de la toxicidad oxidativa en el pulmón se relaciona a la formación de radicales libres reactivos e inestables, con las subsecuentes reacciones en cadena que conducen a una oxidación destructiva sin control. Trabajos recientes han enfatizado el rol central del superóxido, óxido nítrico, peroxinitrato, radicales hidroxilo, y quizás especies de oxígeno singlete en la destrucción del tejido. La reducción del oxígeno a metabolitos activos ocurre normalmente como un subproducto del metabolismo celular durante las reacciones de transferencia de electrones microsómicas y mitocondriales: cantidades considerables de

anión superóxido son generadas por las reacciones de la reductasa NADPH cit-P450. Debido a que estas especies son potencialmente citotóxicas, pueden mediar o promover la acciones de varios neumotóxicos. Tales mecanismos han sido propuestos para explicar el daño pulmonar inducido por el paraquat y la nitrofurantoína. Cuando el daño celular de cualquier tipo ocurre, la liberación de constituyentes intracelulares tales como microsomas y flavoproteínas al espacio extracelular pueden conducir a la generación de especies reactivas de oxígeno.

Entre las células de mamíferos, los neutrófilos, monocitos y macrófagos parecen particularmente adeptos a convertir oxígeno molecular en metabolitos de oxígeno reactivo debido a su rol en la fagocitosis y actividades antimicrobianas.

Estas especies tóxicas son liberadas (posiblemente por el plasmalema) a los tejidos adyacentes. La mayoría de las formas tóxicas de los edemas pulmonares se acompañan de acumulación de fagocitos en la microcirculación pulmonar (leucostasis pulmonar) y en el parénquima, por lo que el daño oxidativo puede representar un componente significativo en todos los tipos de lesión neumotóxica acompañada por un componente inflamatorio mediado por los fagocitos.

Los procesos de activación quimiotáctica o fagocítica resultan en un sustancial incremento en la liberación de potentes oxidantes por los fagocitos: estos radicales causan daño oxidativo a los tejidos circundantes. El peróxido de hidrogeno posee un rol clave como mediador del mecanismo citotóxico extracelular mediado por fagocitos activados. Los fenómenos existentes en la superficie del fagocito, tales como aquellos que pueden ocurrir en los fagocitos endógenos del pulmón después de una exposición a polvos o gases tóxicos, o en fagocitos circulantes antes de su acumulación en el pulmón o después de su unión al endotelio pulmonar intacto o dañado parecen ser claves en determinar el grado de actividad oxidativa. Los fagocitos también pueden liberar enzimas lisosomales y dañar el tejido.

El hecho que los procesos oxidativos son complejos está sugerido por el hallazgo de la producción fagocítica de especies de oxígeno activo causan inactivación de los inhibidores de las proteínas con desgranulación de los mastocitos. La producción de radicales de oxígeno aumenta no sólo por interacciones de las superficies de las membranas celulares con los estímulos apropiados sino por la hiperoxia. Las plaquetas (y los microtrombos de plaquetas) también tienen la habilidad de generar especies reactivas de oxígeno.

El pulmón puede responder con mecanismos específicos de defensa que pueden ser adquiridos con el paso del tiempo y ser estimulada por la exposición constante a numerosas especies de microorganismos diseminados por vía aérea así como por una variedad de materiales antigenicos de bajo y alto peso molecular. El sistema inmune puede montar respuestas humorales o celulares a estos antígenos inhalados. Los efectos inmunológicos directos se producen cuando el material extraño inhalado sensibiliza el sistema respiratorio a una nueva exposición al mismo material. El pulmón del mamífero tiene un bien desarrollado sistema inmune. Los linfocitos residen en los nódulos linfáticos o como células aisladas en las vías aéreas. La enfermedad pulmonar crónica y la broncoconstricción pueden resultar

de la inhalación de materiales que parecen actuar total o parcialmente a través de una respuesta alérgica. En algunas instancias, estas reacciones son causadas por esporas de mohos o contaminantes bacterianas.

Frecuentemente, los componentes químicos de los polvos o gases sensibilizantes son responsables por la respuesta alérgica. Los efectos indirectos ocurren cuando la exposición a los contaminantes aéreos suprime o aumenta la respuesta inmune a estos materiales. El dióxido de azufre y el ozono pueden potenciar la respuesta del sistema respiratorio al material extraño, al menos en animales de experimentación (cobayos). No se conoce si estos efectos ocurren en humanos, pero ellos forman las bases de la preocupación por la creciente susceptibilidad de los individuos asmáticos a contaminantes como el ozono o el dióxido de azufre.

El pulmón contiene la mayoría de las enzimas responsables de las reacciones de fase I y II. Estas enzimas están muy concentradas en líneas celulares específicas del tracto respiratorio y algunas isoenzimas del citocromo P-450 pueden estar muy elevadas respecto al hígado. Por ejemplo, el P-450 1A1 está presente en bajas proporciones en el pulmón de la rata y el conejo, pero es altamente inducible por Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAH) y Bifelinos Policlorados (PCBs).

El pulmón humano contiene además citocromos P-4502F1, 4B1 Y 3A4, así como NADPH citocromo P-450 reductasa, epóxido-hidrolasa y flavin-monoxigenasas. Otras dos importantes enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos son la glutatión-S-transferasa y la glutatióperoxidasa. Trabajos recientes señalan la importancia de la producción del superóxido, óxido nítrico, peroxinitrato, radicales hidroxilo, peróxido de nitrógeno e incluso oxígeno singlete derivados de la actividad de estas enzimas.

Se sabe que estas moléculas son particularmente citotóxicas y algunas como los metabolitos de oxígeno son producidos por macrófagos, neutrófilos y monocitos como parte de su rol antibacteriano se las suele involucrar como mediadores importantes de toxicidad.

Material Particulado

Muchos químicos y radionúclidos se depositan en el tracto respiratorio en la forma de partículas sólidas o gotas, también referidas como aerosoles, los cuales están formados por una población de partículas que permanecen suspendidas en el aire sin depositarse.

Otros términos utilizados para describir los particulados de la atmósfera son los humos, polvos, nieblas y el smog. Los polvos resultan usualmente de procesos industriales tales como moliendas y acarreo de materiales sólidos, y son considerados idénticos a los compuestos de los cuales se originan en sus propiedades.

Los humos usualmente resultan de un cambio químico tales como soldaduras, en la cual se produce sublimación o combustión. También se denomina humo al producto de la combustión de material orgánico. Las nieblas son aerosoles compuestos formados por agua

condensada sobre otras partículas, mientras que el smog es un conglomerado de partículas y gases que prevalecen en ciertos ambientes tales como valles encerrados por montañas, con clima muy soleado (*smog fotoquímico tipo Los Angeles*) y con inversiones de temperatura periódicas (Figura 10).

La toxicidad de los particulados inhalados ha sido conocida desde hace un largo tiempo, especialmente en relación a la exposición ocupacional. Tan temprano como 1493-1541 el famoso toxicólogo Paracelsus describe la relación entre la toxicidad pulmonar y el trabajo en las minas en el siglo XVI.

La materia particulada presente en la atmósfera, varía ampliamente en su composición química y física en función de la fuente emisora y del tamaño de la partícula emitida. El material particulado presente en la atmósfera se clasifica en fracciones que tienen que ver con el tamaño de cada una de las partículas que lo constituyen.

Tres son los grupos de clasificación más habituales. Material con tamaño de partícula superior a 10 micras, material con tamaño inferior o igual a 10 micras conocido como PM10, y material con tamaño de partícula inferior a 2,5 micras conocido como PM 2,5; estas últimas son las que más importancia tienen en la contaminación urbana ya que pueden penetrar profundamente en los pulmones y poseen riesgos potencialmente significativos para la salud. Las partículas de tamaño comprendido entre las 2,5 y las 10 micras, no son realmente inhaladas hasta las vías profundas y se expulsan de manera relativamente eficaz a través de las mucosidades o de la tos, o sedimentan directamente sin llegar a penetrar en el árbol respiratorio.

El material particulado, se clasifica como primario si es emitido directamente a la atmósfera o secundario si se forma a partir de reacciones entre contaminantes dentro de la atmósfera, o se modifica por condensación y crecimiento.

La principal fuente de partículas primarias son los procesos de combustión, en particular de la combustión del carbón. Estas partículas son transportadas por gases calientes a lo largo de un tubo o chimenea donde pueden aparecer nucleaciones espontáneas de partículas de carbón con posterioridad a la emisión.

Importancia del Tamaño de las Partículas Inhaladas

El tamaño de las partículas inspiradas es el factor determinante de donde se impactarán, depositarán y ejercerán el daño. El tipo de material particulado también está en dependencia de su tamaño: polvos hasta 100 μm , humos de 10 Å a 0,1 μm , humos de combustión menos de 0,5 μm . El perfil del flujo de aire dentro del sistema respiratorio y las características anatómicas del individuo expuesto también son importantes. La mayoría de las partículas inhaladas no son esféricas, sino de formas altamente irregulares. Obviamente, el tamaño de las partículas puede cambiar durante el curso de su viaje a través del tracto respiratorio.

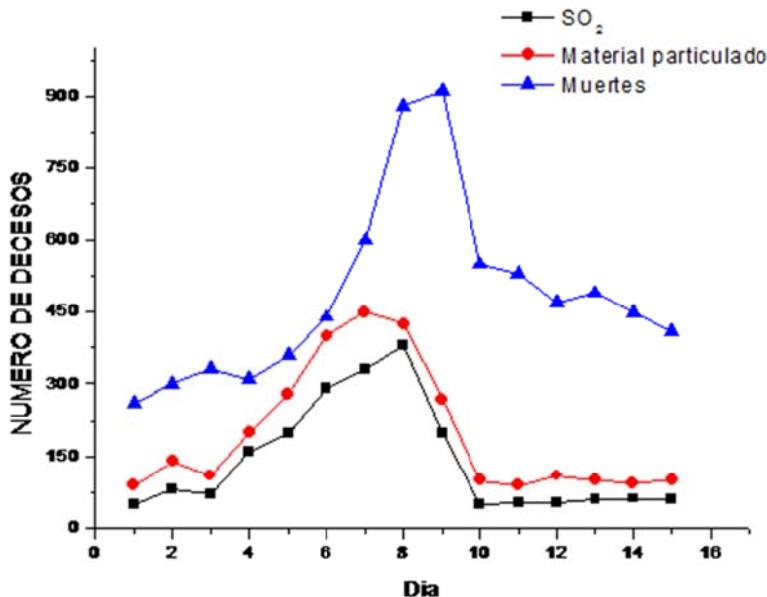


Figura 10: Fenómeno de smog fotoquímico en Londres durante 1952. Modificado de ET Wilkins - Journal of the Royal Sanitary Institute, 1954 - journals.sagepub.com

Debido a que el tracto respiratorio está sumamente humedecido, las partículas tienden a absorber agua lo cual puede producir reacciones químicas, unirse entre sí e incrementar su tamaño al descender. La colisión contra las bifurcaciones del tracto respiratorio también ayuda a eliminar partículas. Este mecanismo de impacto resulta de la tendencia aerodinámica de las partículas de viajar en una dirección lineal, aún cuando el sistema respiratorio cambie de dirección y ramificarse. Un mecanismo relacionado es la intercepción, el cual es factor prevalente en la deposición de particulados en forma de fibras.

En la región traqueobronquiolar, el flujo aéreo es menor, lo que permite además una sedimentación gravitacional de partículas grandes entre 1-5 μm . Este mecanismo es prevalente en la zona baja del árbol bronquiolar. La zona alveolar también puede tener sedimentación, fundamentalmente de partículas en el rango de 1 μm .

Agentes aéreos que producen daño pulmonar en humanos

Asbestos

El término asbestos describe minerales de silicato en forma fibrosa. La exposición a las fibras de asbestos se produce en operaciones de minería de las industrias de la construcción y navieras, donde los asbestos fueron ampliamente utilizados por sus características de aislante térmico y a prueba de fuegos.

Los asbestos causan tres formas de enfermedad pulmonar en humanos: asbestosis, cáncer pulmonar y mesotelioma maligno. La asbestosis se caracteriza por un incremento difuso del colágeno en las paredes alveolares (fibrosis) y la presencia de fibras de asbestos, libres o cubiertas con material proteináceo (cuerpos de asbestos). Los mesoteliomas malignos (un tumor de las células que cubren la superficie de la pleura visceral y parietal) son tumores extremadamente raros en la población en general, pero están inequívocamente relacionados con la exposición a los asbestos.

Los peligros asociados con la exposición a los asbestos dependen de la longitud de la fibra. Las fibras de 2 mm de longitud pueden producir asbestosis, el mesotelioma está asociado con fibras de 5 mm y el cáncer de pulmón con fibras mayores de 10 mm. El diámetro de la fibra es otra característica fundamental. Las fibras con diámetro mayor a aproximadamente 3 mm no penetran fácilmente en la periferia del parénquima pulmonar. Para el desarrollo del mesotelioma, el diámetro de la fibra debe ser menor a 0,5 mm, dado que las fibras más finas pueden translocarse desde el sitio de deposición vía los linfáticos a otros órganos, incluyendo la superficie pleural.

Una vez que las fibras de asbestos se han depositado en el pulmón, ellas pueden ser fagocitados por los macrófagos alveolares. Las fibras más cortas son completamente ingeridas y subsecuentemente removidas a través del sistema de remoción mucociliar. Las fibras más largas son ingeridas en forma incompleta, y los macrófagos son incapaces de dejar el alvéolo. Activados por las fibras, los macrófagos liberan mediadores tales como linfoquinas y factores de crecimiento, los cuales a su vez atraen células inmunocompetentes o estimulan la producción de colágeno. La enfermedad pulmonar relacionada a asbestos así puede mediar el disparo de una secuencia inflamatoria que eventualmente, puede conducir a la liberación de metabolitos reactivos de oxígeno y dañar al ADN.

Las propiedades de superficie de la fibra de asbestos parecen ser un elemento mecánístico importante. La protección provista por la superóxido dismutasa o por capturadores de radicales libres en células libres de daño por asbestos sugiere que la generación de especies activa de oxígeno y la concomitante peroxidación lipídica son mecanismos importantes en la toxicidad del asbesto.

Sílicosis

La silicosis en humanos puede ser aguda o crónica, la distinción es importante conceptualmente debido a que las consecuencias patológicas se manifiestan en forma muy diferente. La silicosis humana se produce sólo en sujetos expuestos a un nivel muy elevado de aerosoles con partículas lo suficientemente pequeñas para ser respirables (usualmente menores de 5 mm) sobre un período de tiempo relativamente largo, generalmente unos pocos meses o años. Estos pacientes tienen una disnea que va empeorando progresivamente, fiebre, tos y pérdida de peso. Se observa una rápida progresión de la falla respiratoria, usualmente ocasionando la muerte al cabo de un año o dos. No existe tratamiento que cambie el curso de las silicosis.

La silicosis crónica tiene un largo período de latencia, usualmente de más de 10 años. La silicosis sin complicaciones es casi enteramente asintomática, se observa pocas alteraciones en los test de rutina de la mecánica pulmonar aún después de que la enfermedad sea demostrable por rayos X.

Los nodos linfáticos hiliares presentan calcificaciones periféricas conocidas como calcificaciones de cáscara de huevo. Una silicosis simple puede progresar en una forma complicada, la cual se define por la presencia de nódulos conglomerados mayores de 1 cm de diámetro. Estos nódulos usualmente existen en las zonas superiores y media del pulmón. En una etapa avanzada se encuentran rodeadas por zonas enfisematosas. Asimismo, la silicosis crónica se asocia con una mayor incidencia de tuberculosis.

La sílica cristalina es un componente mayoritario de la corteza de la Tierra. Como mineral puro, el silicio existe primariamente como dióxido de silicio, con tres formas cristalinas principales: cuarzo, trimidita y cristobalita. La estructura tetraédrica está ligada a su potencial fibrogénico. La estishovita, una variante cristalina sin la conformación tetraédrica es biológicamente inerte.

La sílica amorfa como el kieselghur y los vidrios tienen un bajo potencial fibrogénico. La presencia ubicua de la sílica la convierte en un peligro ocupacional desde que los humanos hicieron herramientas con piedra y la silicosis sigue siendo un problema en ocupaciones como minería y construcción. Los factores principales que afectan la patogenicidad de la sílice tanto *in vivo* e *in vitro*, en adición a su estructura, es el tamaño de la partícula y la concentración. En estudios con humanos, el tamaño de partícula mínimo que produce fibrosis es cerca de 1 mm (rango 0,5 a 3 mm).

Las bases fisiopatológicas de la fibrosis pulmonar en la silicosis crónica es probablemente mejor comprendida que su etiología. El rol de los macrófagos pulmonares en la ingestión de la sílice como evento iniciador es un hecho comprobado. Aparentemente, como parte de la respuesta citotóxica de un macrófago a la ingestión de la sílice, el macrófago libera citoquinas y otros sustancias que causan que los fibroblastos aumentan la biosíntesis de colágeno. El rol de otras células inflamatorias aparte de las alveolares es desconocido.

Gases y Vapores

Ciertos daños al pulmón y a órganos distantes son provocados luego de la exposición a gases y vapores, especialmente en el lugar de trabajo. En un sentido farmacocinético, los gases y vapores inhalados son inyectados dentro de la sangre de la misma forma que un paciente recibe una droga mediante una inyección intravenosa. Una vez que los químicos gaseosos entran a los espacios alveolares dentro del pulmón, pueden cruzar el conjunto relativamente permeable de las membranas alvéolo-capilares y alcanzar la circulación pulmonar.

La activación post incorporación es típica de moléculas altamente reactivas como el ozono. Debido a su elevada reactividad, es poco probable que el ozono alcance una distancia

cia mayor al espesor de la capa de fluido que cubre las células alveolares. En lugar de un daño directo a las células, se produce una cascada de reacciones químicas e intermediarios reactivos como radicales libres de oxígeno, aldehídos e hidroperóxidos producto del ataque del ozono sobre los ácidos grasos del fluido pulmonar. Otras sustancias tienen un efecto retrasado – ej: fosgeno, fosfina – al principio producen poco daño aparente hasta que se alcanza un daño crítico, es allí cuando las células del epitelio pulmonar empiezan a eliminar líquido y se produce un edema mortal.

Respuestas agudas del sistema pulmonar a la injuria

El sistema respiratorio cuenta en cada una de sus partes con sistemas de respuesta a la injuria producida por distintos agentes como tóxicos, partículas, gases irritantes y calor.

Podemos ver entonces respuestas típicas del sistema respiratorio como la reactividad y el edema pulmonar.

La reactividad, que no es más que responder a la injuria con contracciones espasmódicas de la capa muscular circular denominada comúnmente tos, así como variaciones en el tono muscular que impiden el ingreso de aire en los pulmones evitando o disminuyendo la exposición a tóxicos presentes en el aire inspirado. En estas respuestas tiene un rol fundamental los receptores de acetilcolina y es muy clara en casos de inspiración de gases irritantes como H_2S .

Edema Pulmonar

El edema pulmonar de origen tóxico constituye un episodio agudo que produce un engrosamiento del espesor normal de la barrera alveolar/capilar a costa del líquido inflamatorio. El fluido del edema altera la difusibilidad del CO_2 y O_2 aún si la estructura del acino es normal. Debe destacarse que un edema pulmonar tóxico suele dejar secuelas permanentes. En el caso de exposición a sustancias (ej: alloxan) que erosionan la superficie alvéolo/capilar la recuperación es improbable, mientras que tras episodios leves (producción de histamina) la recuperación es completa.

Entre estos dos extremos existen edemas acompañados de respuesta inflamatoria o de cicatrización exageradas. En estas formas severas la inflamación culmina en la producción de colágeno, lo cual aumenta el espesor de la barrera alvéolo capilar.

Respuesta crónica a la injuria

Las respuestas fundamentales del sistema respiratorio a la exposición crónica a tóxicos y/o partículas injuriantes son Fibrosis, Enfisema, Asma y Cáncer.

Fibrosis pulmonar

Clínicamente, la fibrosis pulmonar se refiere al tipo de fibrosis intersticial que se observa en las últimas etapas de la fibrosis pulmonar idiopática. Los pulmones fibróticos de humanos con fibrosis pulmonar crónica contienen cantidades aumentadas de colágeno desde el punto de vista bioquímico e histológico.

En los pulmones dañados por tóxicos, la respuesta es una fibrosis crónica intersticial. El exceso de colágeno pulmonar se observa no sólo en el intersticio del alvéolo sino también en la región centroacinar, incluyendo los ductos alveolares y bronquíolos respiratorios.

Existen al menos 19 tipos distintos de colágenos presentes en todos los mamíferos. Dos tipos predominan en el pulmón, representando el 90% del total del colágeno pulmonar. Los colágenos de tipo I y III son componentes intersticiales mayoritarios y se encuentran en los pulmones normales de todos los mamíferos en una relación de 2:1 aproximadamente. El colágeno tipo I es el material que histológicamente se tiñe como "colágeno", mientras que el colágeno tipo III se aprecia histológicamente como "reticulina". Algunos tipos de fibrosis pulmonar inducida, incluyendo aquellas inducidas por el ozono, involucra anomalías en el tipo de colágeno sintetizado. Por ejemplo, existe un incremento del colágeno tipo I relativo al colágeno tipo III en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática. Se han demostrado cambios similares en los pulmones de adultos o infantes con síndrome de distrés respiratorio agudo.

El colágeno tipo III es mucho más flexible que el tipo I, así un aumento en la proporción de tipo I relativo al tipo III puede resultar en un pulmón rígido, tal como se observa en la fibrosis pulmonar. Los cambios en el entrecruzamiento del colágeno en pulmones fibróticos también pueden contribuir a un incremento de la rigidez.

Se ha observado un aumento en las relaciones de colágeno tipo I a III en el colágeno recién sintetizado en varios modelos animales con fibrosis pulmonar aguda. Aunque el mecanismo para este cambio en los tipos de colágeno es desconocido, existen varias explicaciones posibles. Por ejemplo, las alteraciones en la matriz extracelular resultantes de mediadores de inflamación secretados por varias células efectoras podrían causar un cambio del tipo de colágeno sintetizado. El colágeno asociado con fibrosis también puede ser anormal con respecto al entrecruzamiento. Se han descripto alteraciones del entrecruzamiento en la silicosis experimental y en la fibrosis inducida por bleomicina.

Enfisema

En muchas maneras el enfisema puede ser descripta como el opuesto a la fibrosis en términos de la respuesta de los pulmones al daño: los pulmones se hacen grandes y demasiado laxos en vez de volverse más pequeños y rígidos. La destrucción de las superficies que intercambian gases en un pulmón resultan en un órgano de volumen aumentado y distendido que no intercambian efectivamente oxígeno y dióxido de carbono debido a la pérdida de tejido y al estancamiento del aire (Figura 11).

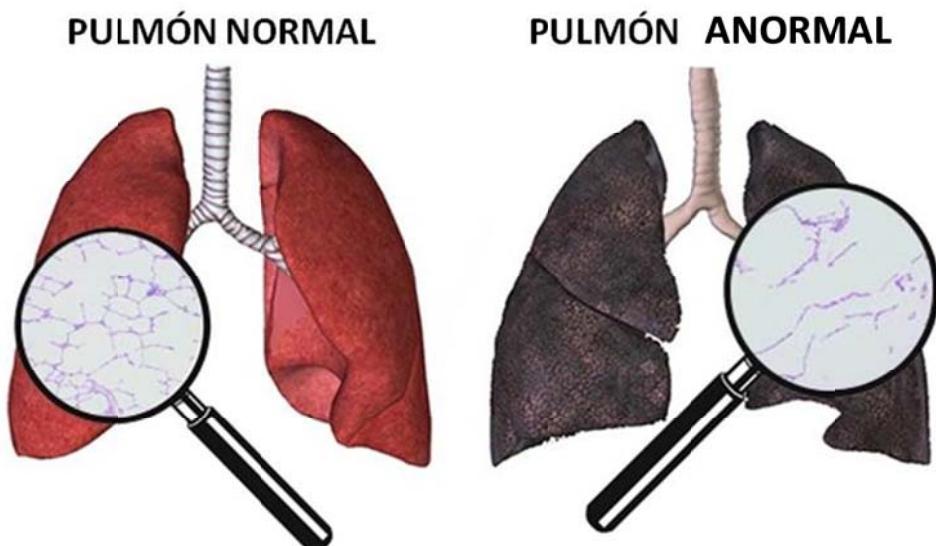


Figura 11: Representación anatómica de un pulmón normal (izquierda) y un pulmón con enfisema avanzado (derecha). Las lupa muestran en su interior una representación de la histología de dichos pulmones

La definición corrientemente aceptada del enfisema es “una condición del pulmón caracterizada por el aumento anormal de los espacios aéreos distales del bronquiolo terminal, acompañada por la destrucción de las paredes sin fibrosis”. La causa mayor del enfisema humano es por lejos el humo del cigarrillo, aunque otros tóxicos también pueden producir esta respuesta. Una característica del enfisema inducida por tóxicos es una inflamación recurrente y severa, especialmente una alveolitis con liberación de enzimas proteolíticas por los leucocitos que intervienen.

Las investigaciones clínicas tempranas sobre fenotipos de proteínas sanguíneas identificaron una mutación rara que produce una deficiencia hereditaria en la globulina-1 antritripsina sérica. De esta forma, la alfa 1 antritripsina (ahora denominada alfa-1-antiproteasa) es una de las principales defensas contra una digestión proteolítica incontrolable por esta clase de enzimas, las cuales incluyen a la elastasa.

Existe una asociación clínica entre la carencia genética de este importante inhibidor de la elastasa y el desarrollo del enfisema a una edad extraordinariamente temprana. Los estudios tardíos en fumadores conducen a la hipótesis que la elastasa de los neutrófilos (y quizás los macrófagos pulmonares) puede degradar la elastina pulmonar y causar enfisema; estas elastinas usualmente son mantenidas inactivadas por la antiproteasa que difunde hacia el pulmón desde la sangre.

Mientras el individuo crece, la acumulación de eventos elastolíticos aleatorios pueden causar los cambios enfisematosos en los pulmones asociados normalmente con el envejecimiento. Los tóxicos que pueden causar un influjo de células inflamatorias y así incrementar la cantidad de elastasa sintetizada por ellos puede acelerar este proceso. En acuerdo a esta hipótesis existe un gran número de estudios experimentales en animales que fueron instilados a través de la nariz con elastasa pancreática o de neutrófilo (u otras enzimas proteolíticas capaces de degradar elastina) en donde se observó algunas de las características

ticas del enfisema, incluyendo la destrucción de las paredes alveolares y aumento en los espacios aéreos del parénquima pulmonar.

Asma

El asma se está convirtiendo progresivamente en una enfermedad ampliamente diseminada en el mundo, especialmente en áreas urbanas densamente pobladas. Esta enfermedad está caracterizada clínicamente por ataques con disminución del aire expirado, los cuales pueden ser leves o severos. Está causado por el estrechamiento de las vías aéreas mayores (bronquios) ya sea por la inhalación de agentes provocadores o causas idopáticas. Existen relaciones bien establecidas entre la exposición ocupacional y ambiental a antígenos o a químicos que pueden actuar como haptenos en la patogénesis del asma. También existen componentes histopatológicos que son comunes entre el asma y la fibrosis pulmonar, pero en este caso la enfermedad está centrada en y alrededor de las vías aéreas mayores más que en la región centroacinar del parénquima pulmonar.

Pueden existir mecanismos comunes, especialmente con respecto al rol de las células inflamatorias y a las citoquinas y factores de crecimiento que estas secretan. La clínica del asma depende de una reactividad exacerbada en las vías aéreas: esto causa que el músculo liso se contraiga en respuesta a los irritantes.

Cáncer de Pulmón

El cáncer de pulmón, una enfermedad extremadamente rara en el inicio del siglo XX, es ahora la principal causa de muerte entre hombres y mujeres. En forma retrospectiva, y en forma más concluyente según la epidemiología, se observa una asociación entre fumar tabaco y cáncer de pulmón. Se ha estimado que aproximadamente de un 80 a 90 % de los cánceres de pulmón (así como otros tales como el de vejiga, esófago, boca y páncreas) son causados por el cigarrillo. Los fumadores promedio tienen de un 10 a 20 % de riesgo de desarrollar cáncer pulmonar comparado con no fumadores. Dejar de fumar reduce dicho riesgo.

La inhalación de fibra de asbestos y humos o polvo de residuos metálicos – como arsénico, berilio, cadmio, cromo y níquel utilizados en fundiciones y siderúrgicas – se han asociado con cáncer del tracto respiratorio. Los trabajadores que manufacturan cloro metil éter o gas mostaza también tienen un riesgo aumentado de desarrollar cáncer de pulmón, así como los trabajadores expuestos a los efluentes gaseosos de hornos de coque. El gas radón y el formaldehido son carcinógenos humanos conocidos.

La sílice, las fibras hechas por humanos, los humos de fundición son carcinógenos probables. Los fumadores que inhalan radón o fibras de asbesto incrementan su riesgo de desarrollar cáncer de pulmón varias veces, sugiriendo una interacción sinérgica entre carcinógenos. En qué extensión los contaminantes comunes del aire como ozono, dióxido de nitrógeno y azufre, humos de plantas de energía, petroquímicas y camiones o autos con motor diésel contribuyen al desarrollo del cáncer de pulmón es una pregunta abierta. Alguna evidencia sugiere que el material particulado es un factor de riesgo. La contaminación del aire puertas adentro de las

casas y edificios, incluyendo el humo de tabaco ambiental, incrementa el riesgo de cáncer pulmonar en no fumadores.

Los cánceres humanos pueden tener un período de latencia de 20 a 40 años, haciendo difícil de establecer la relación a exposiciones específicas. Muchos cánceres de pulmón en humanos se originan en las células que rodean a las vías aéreas (cáncer de pulmón que se origina en tales sitios se denominan a menudo como carcinoma broncogénico), pero durante las últimas dos décadas se ha observado un significativo aumento en los adenocarcinomas periféricos. Comparado con el cáncer en el pulmón, el cáncer en el tracto respiratorio superior es menos común. Las lesiones malignas de los conductos nasales, los cuales son vistos comúnmente en animales de experimentación, son comparativamente raros en humanos. Suelen estar asociados con ciertas ocupaciones tales como trabajo con cromato, níquel, gas mostaza, alcohol isopropílico, manufactura de muebles de madera, botas y artefactos de cuero. Entre los posibles carcinógenos se incluyen los compuestos de cromo hexavalente, níquel metálico y subsulfuro de níquel, óxido de níquel, formaldehido y ciertos polvos de madera y cuero.

Los mecanismos potenciales de la carcinogénesis han sido estudiados extensamente mediante el análisis de material de tumores y en estudios de células humanas bronquiales mantenidas en cultivo. El daño al ADN se cree que es el mecanismo clave. Un carcinógeno activado o su producto metabólico, tal como iones alquildiazonio derivados de N-nitrosaminas, pueden interactuar con el ADN. La persistencia de O-alquil-deoxiguanosina parece correlacionarse con la carcinogenicidad. Sin embargo, los tumores no siempre se desarrollan cuando están presentes los aductos, y la formación del aducto puede ser una condición necesaria pero no suficiente para la carcinogénesis.

El daño al ADN causado por especies reactivas de oxígeno es otro mecanismo potencialmente importante. La radiación ionizante conduce a la formación de superóxidos, el cual es convertido por la acción del la enzima superóxido dismutasa en peróxido de hidrógeno. En presencia de hierro y otros metales de transición, los radicales hidroxilo pueden formarse los cuales causan la ruptura de las hebras del ADN. El humo del cigarrillo contiene elevadas cantidades de especies de oxígeno reactivo y otros radicales libres. El estrés oxidativo adicional puede existir en el tejido pulmonar de los fumadores mediante la liberación de aniones superóxido y peróxido de hidrógeno de macrófagos activados, metabolismo de carcinógenos, y peroxidación lipídica causada por aldehídos reactivos. Las nitrosaminas metilantes producen mutaciones consistentes con la formación de O^6 -metilguanina y las nitrosaminas etilantes mutaciones consistentes con la formación de O^4 -etil-timidina.

Respuesta tóxica del sistema cardiovascular

La toxicología cardiovascular es el resultado de los efectos adversos generados sobre el corazón y/o el sistema vascular por diversos compuestos. Estas exposiciones resultan en alteraciones de vías bioquímicas, defectos en la estructura y función celular; siendo

estas las bases de la patogénesis de la afección del sistema cardiovascular. Las principales manifestaciones de la afección tóxica del corazón son arritmias cardíacas, hipertrofia y fallo cardíaco; en tanto que las respuestas del sistema vascular incluyen principalmente alteraciones en la presión sanguínea y lesiones en los vasos como aterosclerosis, hemorragia y edemas.

Sistema Cardiovascular: aspectos básicos

El sistema cardiovascular está compuesto por el corazón y los vasos sanguíneos: arterias y venas.

Corazón

El corazón es un órgano que presenta 4 cavidades: 2 aurículas (izquierda y derecha) y 2 ventrículos (izquierdo y derecho). Las cavidades de un mismo lado se comunican entre sí por medio de válvulas, que se cierran y se abren de manera coordinada para permitir que la sangre pase de las aurículas a los ventrículos.

El corazón se encarga de bombear la sangre a través del sistema circulatorio compuesto por una *circulación mayor*, que lleva sangre oxigenada desde el corazón a los tejidos, y una *circulación pulmonar o menor* que lleva la sangre desoxigenada a los pulmones para realizar el intercambio gaseoso. Por ello el corazón funciona como dos bombas acopladas que trabajan de manera sincronizada por contracción (sístole) y relajación (diástole) alternadas.

A la aurícula derecha llegan las venas cava superior e inferior que traen la sangre desoxigenada del organismo. Luego, la sangre pasa a través de la válvula tricúspide al ventrículo derecho. Esta sangre desoxigenada es bombeada a la arteria pulmonar, ubicada en el ventrículo derecho, que la llevará a los pulmones para oxigenarse.

La sangre oxigenada llega por la vena pulmonar a la aurícula izquierda, atraviesa la válvula mitral y fluye al ventrículo izquierdo desde donde es bombeada a la arteria aorta, atravesando la válvula aórtica, para ser distribuida por todo el organismo.

La irrigación del corazón en sí mismo está dada por la *circulación coronaria*, en la cual las arterias coronarias salen de la aorta y abastecen al músculo cardíaco.

Las paredes del corazón están formadas por músculo cardíaco, cuya unidad es el *miocito*. Estas células presentan uniones especiales denominadas uniones intercalares que aseguran una buena conducción entre una y otra célula. Estas células tienen sarcómeros, unidades contráctiles especializadas, formadas por filamentos. En el tejido miocárdico también encontramos otro tipo de células especializadas en la conducción del impulso eléctrico, fundamental para un correcto funcionamiento del corazón. Estas células constituyen el sistema de conducción de corazón y se agrupan en el *nodo sinusal*, también lla-

mado marcapasos natural del corazón, el *nodo aurículo-ventricular*, el *Haz de Hiz* y las *fibras de Purkinje*.

El nodo sinusal está ubicado en la aurícula derecha, cerca de la vena cava superior, y es el responsable del automatismo del corazón generando los impulsos coordinados que llevan a la contracción adecuada del corazón.

Estos impulsos se transmiten hasta el nodo aurículo-ventricular y luego al Haz de Hiz y las fibras de Purkinje que llevan el impulso a las paredes de los ventrículos.

La frecuencia cardíaca deriva de estos impulsos coordinados, siendo un valor normal para un adulto en reposo unos 70 latidos por minuto. Esta frecuencia puede variar debido a ciertas situaciones como la administración de sustancias, la actividad física o algunas patologías.

El estímulo de estas células genera un cambio de potencial en función del tiempo, denominado *potencial de acción*. Los cambios que llevan al potencial de acción se deben a variaciones en la difusión de iones Na, K, Ca y Cl a través de la membrana. La células del corazón se pueden dividir en dos grupos dependiendo de si presentan potenciales de acción rápidos (células miocárdicas, Haz de Hiz y fibras de Purkinje) o lentos (nodo sinusal y nodo aurículo-ventricular).

El electrocardiograma es una representación gráfica de la actividad eléctrica del corazón que precede inmediatamente a la contracción del mismo. Por lo tanto, este estudio nos permite obtener información sobre el estado del miocardio y la función del mismo.

Vasos sanguíneos

Los vasos sanguíneos, arterias y venas, presentan en la constitución de su pared tres capas distinguibles: la más interna denominada *túnica íntima* constituida por el endotelio y una lámina basal, una *túnica media* compuesta principalmente por fibras musculares lisas y una capa más externa de tejido conectivo conocida como *túnica adventicia*.

Dependiendo del espesor de las paredes del vaso, dado fundamentalmente por la túnica media podemos encontrar vasos denominados arterias, arteriolas y capilares arteriales a medida que disminuyen su espesor. Lo mismo ocurre para las venas, vérulas y capilares venosos.

Así mismo, dependiendo de la composición de la túnica media podemos clasificar a las arterias en arterias musculares cuya túnica media está compuesta fundamentalmente por fibras musculares lisas y arterias elásticas, como la aorta, quienes presentan en esta capa células musculares lisas, tejido conectivo y gran cantidad de material elástico.

Las paredes de las venas, si bien tienen una constitución similar, son menos elásticas, más delgadas y flexibles. Las venas ubicadas en las extremidades inferiores presentan válvulas cuya función es impedir o disminuir el reflujo de sangre.

Respuesta cardíaca a los tóxicos

Los tóxicos pueden generar alteraciones en distintas vías bioquímicas, en el metabolismo energético, estructura y fisiología del corazón que deriva en una disminución de la potencia cardíaca, dando como resultado la hipoperfusión de los tejidos. Estos fenómenos se conocen como cardiomiopatía tóxica, la cual está mediada fundamentalmente por la muerte de los miocitos y la remodelación de la matriz extracelular.

Los procesos que se llevan a cabo en este contexto, en los cuales tiene un papel importante la apoptosis, derivan frecuentemente en la hipertrofia y el fallo cardíaco.

Las patologías cardíacas son reconocidas como enfermedades de etiología multifactorial. Es decir que pueden resultar de la interacción de factores ambientales, susceptibilidad genética, estrés intrínseco y extrínseco.

Algunos autores proponen para la toxicidad cardíaca un modelo triangular que involucra una compleja relación entre el estrés ambiental sobre el corazón y el balance entre los efectos protectores del miocardio y los efectos deletéreos dependientes de la dosis y el tiempo.

Usualmente los efectos tóxicos a largo plazo resultan en hipertrofias cardíacas, debidas a procesos adaptativos defectuosos, que derivan en arritmias, muerte súbita o falla cardíaca. Sin embargo, algunas sustancias pueden generar fallo cardíaco sin hipertrofia del miocardio. Además pueden inducir la activación de respuestas tanto protectivas como destrutivas en el miocardio.

Estos cambios reflejan, por un lado alteraciones funcionales del miocardio generadas por el tóxico, que resultan en la toxicidad cardíaca aguda y crónica.; y por otro respuestas compensatorias que hoy se reconocen como una mala adaptación en respuesta al tóxico. Por esto es importante distinguir entre las respuestas compensatorias fisiológicas y la mal adaptación.

Respuestas adaptativas, regeneración y degeneración miocárdica

Los procesos adaptativos del miocardio se refieren en general a cambios estructurales y funcionales de los ventrículos, proceso conocido también como *remodelación*. Durante el crecimiento, la remodelación del miocardio es una respuesta adaptativa frente a la creciente demanda. La característica principal de la remodelación cardíaca es el incremento de la masa miocárdica asociada a menudo con cambios en la forma del ventrículo. A nivel celular el aumento en la masa miocárdica se debe a una *hipertrofia* de los miocitos caracterizada por aumento de síntesis de proteínas, una mayor organización del sarcómero y un eventual aumento de tamaño. Funcionalmente, el aumento de masa está asociado con un aumento de contractilidad y de potencia cardíaca.

La mayoría de las medicinas y terapias cardíacas se han centrado en el concepto de que el corazón era un órgano formado por células completamente diferenciadas y que eran

incapaces de proliferar, con lo cual la muerte celular dejaría al corazón con una pérdida permanente de miocitos.

Sin embargo, recientemente se ha cuestionado esta visión ya que se han identificado *células progenitoras cardíacas* que serían las responsables de generar nuevos miocitos y estructuras vasculares. Estas células tienen las características de las stemcell, es decir células capaces de diferenciarse en otras específicas dependiendo de los estímulos que reciben de su entorno.

La vascularización miocárdica, conocida también como *angiogénesis*, es requerida para la regeneración del miocardio.

Durante la *regeneración*, se forman arteriolas coronarias y estructuras capilares con el fin de puentear el tejido muerto y llevar nutrientes para la supervivencia de los miocitos regenerados. Existe una relación entre los miocitos y la red capilar para que la regeneración sea lo más eficiente posible.

Las principales respuestas *degenerativas* del corazón son la muerte de miocitos, la fibrosis (formación de tejido cicatricial) y la disfunción contráctil que pueden resultar en arritmias, hipertrofia y fallo cardíaco.

La muerte celular es la forma más común de degeneración miocárdica, mediada por procesos de apoptosis y necrosis. La muerte de las células miocárdicas se acompaña de una hipertrofia de los cardiomiocitos remanentes lo cual genera una hipertrofia del corazón, ya que aunque el número de células es menor el tamaño de cada una de ellas es mayor. La remodelación que se lleva a cabo luego de la muerte celular no sólo ocurre por un aumento del tamaño de los miocitos, sino que también ocurre fibrosis cardíaca, la cual resulta de un exceso de acumulación de matriz extracelular compuesta principalmente de fibras colágenas. La fibrosis ocurre debido a un aumento en la síntesis de matriz extracelular o a una disminución en la degradación de la misma o a ambos procesos.

Efectos tóxicos sobre la regeneración miocárdica

Los efectos de los xenobióticos sobre las células progenitoras cardíacas no han sido estudiados aún. Una hipótesis es que cuando el daño cardíaco afecta severamente a estas células la capacidad de recuperación se ve limitada.

Por otro lado, varios tóxicos afectan la capacidad de angiogénesis en el miocardio, dejando al tejido más susceptible a la isquemia. La combinación de isquemia cardíaca y del daño tóxico directo sobre el miocito actúan de forma sinérgica sobre el corazón.

Además, la proporción entre miocitos y la red capilar puede alterarse bajo condiciones tóxicas, ya sea por una hipertrofia tóxica o una disminución de la formación de capilares, lo cual llevará a hipoperfusión de los miocitos en el miocardio.

Frente a una exposición a tóxicos ambientales la remodelación se presenta como un proceso adaptativo a corto plazo, sin embargo a largo plazo esta misma respuesta resulta perjudicial ya que puede derivar en un mal funcionamiento cardíaco.

Aunque la hipertrofia inducida por tóxicos puede normalizar la fuerza en la pared del corazón, es un factor de riesgo de muerte súbita y tiene una gran probabilidad de progresar hacia la insuficiencia cardíaca.

Un claro ejemplo de este tipo de casos es la Cardiomiopatía alcohólica (ACM), que afecta a más del 40% de los pacientes que padecen de cardiomiopatía dilatada no isquémica. La ACM se caracteriza por un aumento en la masa miocárdica, dilatación del ventrículo, adelgazamiento de las paredes, disfunción ventricular y fallo cardíaco. Esta patología está muy relacionada con un consumo fuerte de alcohol (al menos 80 g/día) durante mucho tiempo como un factor crítico de su desarrollo. En general, los pacientes con ACM asintomáticos, con cambios estructurales y funcionales en el corazón tienen un historial de consumo de más de 90 g/día de alcohol por más de 5 años, mientras que para aquellos que presentan sintomatología los datos muestran más de 10 años de consumo abusivo de alcohol lo cual produce una insuficiencia cardíaca congestiva.

La patogénesis de la insuficiencia cardíaca comienza con un evento inicial de daño en el músculo cardíaco inducido por el alcohol que conlleva una disminución inicial de la capacidad de bombeo del corazón. Luego de este evento inicial se activan una serie de mecanismos compensatorios que incluyen al sistema adrenérgico, al sistema renina-angiotensina y al sistema de citoquinas.

La activación de estos sistemas pueden generar un daño secundario en el órgano generando una remodelación acelerada del ventrículo izquierdo y la consecuente descompensación cardíaca que lleva de un estado asintomático a uno sintomático y a la insuficiencia cardíaca.

Se ha propuesto que un metabolito del alcohol, el acetaldehído, es el responsable de varios de los daños cardíacos producidos por el etanol. La enzima encargada de metabolizar al etanol hacia el acetaldehído es la alcohol deshidrogenasa, la cual está ausente en los miocitos. Varios estudios han determinado que la función hepática dañada de los alcohólicos puede generar cantidades de acetaldehído que alcanzan el corazón vía circulación. Los efectos directos del acetaldehído sobre el corazón incluyen inhibición de la síntesis proteica, inhibición del secuestro de Ca²⁺ por el retículo sarcoplásmico, alteraciones en la respiración mitocondrial y disturbios en la asociación de actina y miosina.

También se ha sugerido que en la patogenia de ACM se combinan múltiples factores como malnutrición, hábito de fumar, hipertensión en asociación con el consumo de alcohol.

Además la generación de ROS durante la biotransformación del etanol ha sido sugerida como una gran contribución a la ACM, ya que estos metabolitos generan peroxidación lipídica en los miocitos y la oxidación de tioles de proteínas del citosol y la membrana de los miocitos.

Tóxicos cardiovasculares

La toxicidad cardiovascular aguda está dada por la respuesta cardíaca a una sola exposición a altas dosis de tóxicos. Generalmente se manifiesta como arritmias cardíacas, fallo car-

díaco y muerte súbita. La toxicidad crónica es la respuesta cardíaca a la exposición a largo plazo a ciertas sustancias y se manifiesta frecuentemente como hipertrofia cardíaca, fallo cardíaco y procesos ateroscleróticos. Es importante notar que un tóxico puede generar fallo cardíaco directamente (en una intoxicación aguda) o indirectamente, derivado de un proceso hipertrófico (en una intoxicación crónica).

Tóxicos que afectan al corazón

Muchas sustancias pueden causar toxicidad sobre el corazón ya sea directa o indirectamente. Consideraremos tóxicos cardíacos a aquellas sustancias que actúan directamente sobre el corazón. Clínicamente la cardiomiopatía tóxica más reconocida es la cardiomiopatía alcohólica, aunque también existen otras sustancias de tratamiento terapéutico o presentes en el ambiente que son considerados tóxicos cardíacos.

Durante los últimos años se han llevado a cabo estudios epidemiológicos y experimentales que asocian la polución ambiental, más específicamente el material particulado en suspensión en el aire, con la toxicidad cardíaca.

Los solventes industriales pueden generar efectos directos o indirectos sobre el corazón en ambos casos relacionados con su lipofilicidad. Los solventes pueden afectar la función cardíaca en cuanto a contracción y producción de energía a través de su dispersión en la membrana lipídica. Sin embargo los efectos de los solventes sobre el corazón pueden derivar de sus acciones sobre el sistema de regulación neuro-hormonal de la función cardíaca, ya que estas sustancias pueden alterar el control simpático y parasimpático del corazón así como la liberación de catecolaminas, vasopresina y serotonina afectando la función cardíaca.

Metales y metaloides

Los metales pesados más comúnmente relacionados con cardiotoxicidad son *cadmio*, *plomo* y *cobalto*. Estos metales generan disminución en la fuerza de contracción (efecto inotrópico negativo) y en la velocidad de conducción (efecto dromotrópico negativo) del corazón, así como también producen cambios estructurales en el corazón.

Se ha reportado casos de hipertrofia cardíaca en exposiciones crónicas al cadmio, mientras que el plomo genera importantes arritmias y cambios degenerativos en el corazón.

Se han registrado epidemias de miocardiopatía en bebedores de cerveza en 1990 en Manchester (Inglaterra) contabilizándose más de 6.000 casos que se atribuyeron a contaminación de la cerveza con arsénico; y en la década de los sesenta en Omaha y Minneapolis (EE.UU.), en Quebec (Canadá) y Leuven (Bélgica) donde se había utilizado cobalto como antiespumante de esta bebida alcohólica.

Estos efectos tóxicos de los metales pesados son atribuibles a la habilidad de formar complejos con macromoléculas intracelulares y a su habilidad de antagonizar el Ca²⁺ intracelular.

Otros metales como el manganeso, níquel y lantano se han relacionado con alteraciones en la función cardíaca. El mecanismo de acción parece ser un bloqueo de los canales de Ca²⁺, sin embargo se requieren concentraciones altas, del orden del mg, para que esto se produzca.

El arsénico es un metaloide que ha sido relacionado con cardiotoxicidad directa. El As tiene una alta afinidad por los sulfhidrilos de las proteínas que están involucradas en múltiples funciones celulares y metabólicas.

Además de la exposición ambiental a As, otra vía de exposición es la administración de trióxido de As en el tratamiento de leucemias promielocíticas agudas (ALP). Reportes clínicos indican que a dosis terapéuticas de trióxido de As, pacientes con ALP desarrollan una seria taquicardia ventricular.

Polución ambiental

Las partículas inhaladas en el aire ambiental, dependiendo de su tamaño, pueden alcanzar distintos puntos del árbol respiratorio e incluso la circulación general y el corazón.

Las partículas de mayor tamaño inducen la formación de ROS en las vías aéreas y en los alvéolos pulmonares lo cual estimula las reacciones inflamatorias locales. Los ROS y los factores pro-inflamatorios liberados en el torrente sanguíneo pueden afectar el control autonómico cardíaco (ritmo y contractilidad cardíaca), la presión arterial, el tono vascular y la reactividad y coagulabilidad de la sangre así como la progresión a aterosclerosis.

Las partículas ultrafinas pueden traslocarse y acceder a circulación e inducir estrés oxidativo y cambios pro-inflamatorios directamente en el músculo cardíaco y en la vasculatura, generando disminución del flujo sanguíneo coronario, hipertensión, inflamación del miocardio y alteración en la contractilidad.

Los efectos fisiopatológicos directos o indirectos (vía inflamación pulmonar) exacerbaban la isquemia miocárdica y aumentan la mortalidad por causas cardiovasculares.

Tóxicos que afectan a los vasos sanguíneos

Los tóxicos pueden afectar a los vasos sanguíneos actuando sobre la presión sanguínea, sobre la estructura de los vasos o sobre ambos. Esto generará fundamentalmente dificultades en la provisión de sangre a los tejidos ya que se verán alterados la presión arterial media y el volumen minuto.

Cambios en la presión sanguínea

Existen sustancias cuyos efectos pueden generar una disminución de la presión (hipotensión) o un aumento de la presión (hipertensión). Tanto uno como otro efecto genera alteraciones.

Intoxicaciones agudas con agentes antihipertensivos o con sedantes (que actúan sobre el sistema nervioso central) puede conducir a hipotensión.

En ciertos casos de envenenamiento se producen vómitos y diarreas frecuentes que llevan a una disminución de la volemia, por una gran pérdida de líquidos, y por lo tanto a un descenso del volumen minuto. Si esta situación se profundiza puede sobrevenir el shock por insuficiencia circulatoria. En este escenario se produce una deficiencia en el llenado del lecho capilar, hipoxia tisular, acidosis y finalmente muerte celular.

Esta misma situación puede ocurrir derivada de cardiomiyopatías y arritmias graves.

Entre las sustancias que pueden provocar hipertensión podemos encontrar a los mineralocorticoides, anticonceptivos orales, estrógenos y cocaína entre otros. Los principales mecanismos involucrados en estos casos son los efectos favorecedores de retención de sodio, estimulantes de síntesis de angiotensinógeno, efectos simpático-miméticos y anticolinérgicos que pueden presentar las sustancias antes mencionadas.

Además ciertas sustancias pueden provocar cambios en la contracción de arterias (ej: ergotamina alcaloide del cornezuelo del centeno) o venas que incluso pueden llevar al bloqueo completo del vaso.

Cambios estructurales

La ergotamina se emplea en el tratamiento de migrañas severas y que no responden a analgésicos no opiáceos. Cuando se produce una intoxicación con ergotamina la constricción arterial se prolonga en el tiempo generando daños en las paredes de los vasos. Por lo tanto en esta intoxicación se produce una alteración de la pared del vaso de manera indirecta.

Otros tóxicos, como la alilamina principalmente a través del metabolito acroleína, provocan daño directo sobre el endotelio de los vasos. Al lesionarse el endotelio queda expuesto el tejido subyacente y se dispara el fenómeno de coagulación para intentar reparar el daño. Esto puede llevar a una oclusión parcial del vaso (trombosis) por la generación de un trombo o a la oclusión completa (embolia) si se desprenden fragmentos de ese trombo y obstruyen vasos más pequeños.

Otra alteración que puede producirse a nivel vascular es la formación de placas ateromatosas, una colección de lípidos oxidados, carbohidratos complejos, sangre, fibras colágenas y depósitos de calcio debajo de la túnica íntima. Este proceso denominado atherosclerosis puede generar también oclusión y pérdida de elasticidad de las arterias. Estos fenómenos resultan particularmente importantes cuando se producen en las coronarias y en las arterias del cerebro debido a que pueden reducir sensiblemente el riego sanguíneo de estos órganos. Entre otros los tóxicos que pueden producir estas lesiones encontramos al monóxido de carbono, disulfuro de carbono, cadmio y ciertos agentes psicotrópicos como clorprimazina. En este sentido, el ejemplo más contundente, lo constituye el arsénico ya que se asocia una ingesta prolongada de altos niveles de arsénico en agua con la enfermedad del pie negro, una forma severa de arteriosclerosis. Esta es una enfermedad vascular periférica oclusiva, en la cual los vasos de las extremidades inferiores particularmente de los pies se tapan, se produce la isquemia y necrosis del tejido. Esto se atribuye a un daño directo generado por el arsénico sobre el endotelio.

Toxicidad de digitálicos

Los digitálicos o glicósidos cardíacos tiene una estructura común esteroideal, unida a una lactona y a un azúcar. Se han aislado muchos glicósidos cardíacos, todos ellos con propiedades farmacológicas similares. Se administran a pacientes con insuficiencia cardíaca o que padecen de fibrilación o flutter auricular. Los más utilizados son la digitoxina (obtenida de la Digitalis purpurea) y la digoxina (de la Digitalis Lanata).

Mecanismo de acción de los digitálicos

Desde las primeras publicaciones quedó establecido que los digitálicos producían dos efectos principales: eran *inótopos positivos* y se acompañaban de una disminución de la frecuencia cardíaca, en particular en los pacientes con fibrilación auricular.

Estos efectos se han podido demostrar en diferentes situaciones experimentales, en donde se observa un aumento de la relación fuerza velocidad, tanto en corazones normales como hipertróficos y con insuficiencia cardíaca. Desde el punto de vista electrofisiológico produce prolongación del período refractario del nódulo A-V, especialmente por aumento del tono vagal.

A nivel celular, el efecto principal de los digitálicos es la inhibición de la "bomba de Na⁺" (Na⁺-K⁺ ATPasa), lo que produce una menor salida activa de Na⁺ durante el diástole y un aumento de su concentración intracelular. Esto produce un mayor intercambio Na⁺-Ca⁺⁺, lo que se acompaña de un aumento de la disponibilidad de Ca⁺⁺ en la unión actino-miosina y secundariamente, de la fuerza contráctil.

Adicionalmente, el aumento del Na⁺ intracelular puede producir cambios en el potencial de reposo, en la excitabilidad y en la velocidad de conducción de las fibras cardíacas, fenómenos que explican los efectos benéficos y tóxicos de estas drogas.

Farmacocinética

La mayoría de los digitálicos se absorbe bien por vía oral, con una biodisponibilidad que varía entre el 65% y 100%. La mayor parte de la droga se une a los tejidos, en concentraciones muy superiores a las del plasma (relación tejido: plasma para la digoxina = 30:1 y para la digitoxina = 7:1).

La Digoxina tiene una vida media de 1,6 días, es filtrada por los glomérulos y eliminada por los túbulos renales. En condiciones de función renal normal, el 85% es excretada por la orina y un 15% por la vía biliar. Alcanza una concentración estable después de 5 días de administrar la misma dosis. En presencia de una filtración glomerular disminuida se reduce la eliminación de la digoxina y se puede alcanzar *niveles tóxicos* con dosis habituales.

La Digitoxina tiene una vida media de aproximadamente 5 días; se metaboliza de preferencia en el hígado y sólo un 15% se elimina por el riñón. Para alcanzar un nivel estable, se requieren de tres a cuatro semanas de dosis de mantención.

El Cedilanid es un digitálico de acción rápida, de pobre absorción intestinal, por lo que sólo se utiliza por vía endo-venosa. Su efecto se inicia a los pocos minutos de su administración y alcanza su máximo a los 20-30 minutos. En otros aspectos es muy similar a la Digoxina.

Intoxicación digitalica

Uno de los problemas en el uso de los digitálicos es la cercanía entre las dosis clínicamente útiles y las dosis tóxicas y los numerosos factores que acentúan sus efectos indeseables, como por ejemplo: hipopotasemia, isquemia miocárdica, edad avanzada, hipotiroidismo, etc. El uso combinado con otras drogas antiarrítmicas, tales como Quinidina, Amiodarona o Verapamil, también facilitan la intoxicación digitalica.

Lo anterior explica que cerca del 20% de los pacientes que reciben digitálicos tengan alguna manifestación de toxicidad.

Los efectos tóxicos de los digitálicos resultan de una sobrecarga de Ca²⁺, una potencial reducción en el potencial de membrana de reposo (menos negativo), un retraso en la post despolarización y una contracción prematura ventricular o latidos ectópicos.

Los síntomas de intoxicación digitalica incluyen manifestaciones generales, (decaimiento, anorexia, náuseas y vómitos, etc.) y una gran variedad de arritmias. Los síntomas generales son secundarios a efectos neurológicos centrales y las arritmias debidas a los cambios sobre el potencial de acción. La arritmia más frecuente es la extrasistolia ventricular, simple o compleja. También se pueden observar bloqueos A-V y bloqueos sino-auriculares. La arritmia más característica de intoxicación digitalica es la taquicardia paroxística auricular con bloqueo A-V.

Los niveles plasmáticos de digitálicos sirven para confirmar o descartar una intoxicación cuando están definitivamente bajos o altos, pero no resuelven el problema en los casos intermedios, porque se puede presentar intoxicación en presencia de niveles clínicamente aceptables.

El tratamiento de la intoxicación digitalica consiste principalmente en suspender la droga y normalizar los niveles de potasio plasmático.

Los digitálicos habitualmente producen un ligero desnivel negativo del segmento ST en el ECG, lo que se ha llamado signo de "acción digitalica" o "cubeta digitalica". Este hallazgo no corresponde a intoxicación digitalica y debe diferenciarse de fenómenos isquémicos o de sobrecarga del ventrículo izquierdo.

Efectos de los tóxicos sobre el sistema reproductor y endocrino

Existe una lista de agentes tóxicos que se saben afectan al hombre, a los seres vivos y a sus ecosistemas, haciendo blanco en especial en el sistema reproductor y endocrino.

La evidencia que surge a través de diferentes estudios epidemiológicos realizados en áreas laborales donde los trabajadores corren riesgo potencial de exposición a tóxicos, es una serie de alteraciones del desarrollo fetal y de la fertilidad.

Las mujeres nacen con todos sus óvulos y los hombres producen células espermáticas en forma continua, pero la exposición continua a tóxicos durante la formación de óvulos, ovarios fetales y la espermatogénesis, repercuten en las generaciones posteriores.

Los efectos observados por acción tóxica en seres vivos sobre el sistema reproductor y endocrino van desde:

- Alteración del comportamiento sexual y del inicio sexual, disminución del deseo e impotencia.
- Ciclos menstruales alterados
- Fertilidad disminuida hasta infertilidad
- Alteración de la cantidad y calidad del esperma por alteraciones genéticas(mutaciones ó anomalías cromosómicas) en gametas
- Abortos espontáneos
- Malformaciones congénitas
- Bajo peso al nacer
- Partos pretermino por alteración del tiempo de gestación
- Mortalidad perinatal e infantil
- Alteraciones funcionales y desorden del comportamiento en niños de padres expuestos
- Cáncer y tumores malignos

Sólo una pequeña parte de los agentes químicos han sido valorados adecuadamente en cuanto a su toxicidad sobre el sistema reproductor, hormonal y desarrollo fetal. En este sentido, los estudios realizados de los cuales surgen las hipótesis y se intentan establecer las relaciones causa efecto son la experimentación con modelos animales, estudios *in vitro* y estudios epidemiológicos descriptivos y estudios epidemiológicos de tipo analítico en función de ciertos casos testigos y posteriores a determinados desastres ó catástrofes que involucran determinados agentes tóxicos sobre los sistemas anteriormente mencionados.

El problema con los estudios epidemiológicos es que si bien muestran asociaciones entre los agentes tóxicos involucrados, como los disruptores endocrinos, y los efectos adversos observados a nivel reproductivo y hormonal para la salud humana, hacen falta muchos más estudios epidemiológicos y mecanicistas que permitan finalmente afirmar que existe una relación causa y efecto.

Las sustancias tóxicas involucradas pueden tener diferentes mecanismos de acción, podemos mencionar sustancias mutagénicas, que ocasionan cambios permanentes en el material genético heredado, sustancias cancerígenas generadoras de cáncer en el sistema reproductor y/o en el sistema hormonal, sustancias tóxicas con mecanismo de acción no hereditario que

afectan directamente la fertilidad y por ende la reproducción, el embrión, el feto después del nacimiento la lactancia, y las sustancias denominadas disruptores endocrinos con acción sobre el equilibrio hormonal y la maduración sexual.

Los disruptores endocrinos, mencionados anteriormente son un grupo de sustancias con acción estrogenica capaces de alterar al ser humano por su exposición intrauterina y luego por su exposición ambiental como consecuencia de la alteración endocrina.

En este sentido podemos mencionar sustancias tales como el 2,3,7,8-TCDD, los PCB y bifenilospolicloradosdibenzofuranos (PCDF), el metilmercurio, alquilfenoles, esteroles vegetales, hongos estrógenos, andrógenos, etc.

Se estima a través de estudios epidemiológicos que la exposición intrauterina a un medio ambiente con presencia de disruptores endocrinos o productos químicos como los ftalatos o 2,3,7,8-TCDD podrían disminuir el recuento de esperma y el aumento de casos de criptorquidea, cáncer testicular e hipospadias.

Los disruptores endocrinos pueden alterar el desarrollo humano a través de diferentes mecanismos como: interacción con el receptor de estrógeno (ER) unión al receptor AR, receptor de ácido retinoico (RAR, RXR), e inhibición de las enzimas esteroidogénicas o la síntesis de hormonas tiroideas.

Además de estos xenobióticos, se conocen una serie de fármacos que tomados durante el embarazo pueden alterar el desarrollo humano y producir efectos sobre la diferenciación sexual humana, un ejemplo es el pseudohermafroditismo debido a la exposición a tales productos químicos hormonalmente activos.

Está documentado en el caso del dietilestilbestrol que la exposición del feto femenino a este agente ha causado a la mujer, adenocarcinoma de células claras de la vagina, así como anomalías estructurales del tubo de cuello uterino, útero y trompas de Falopio. También se conoce que la exposición al dietilestilbestrol del feto masculino ha causado en el hombre por inhibición hormonal, subdesarrollo o ausencia del conducto deferente, epidídimos y vesículas seminales, quistes de epidídimos, testículos, hipotróficos e infertilidad.

La exposición en lugares de trabajo a sustancias toxicas como ciertos pesticidas con acción disruptora también pueden producir infertilidad en el hombre.

Sustancias tales como dinitrotolueno, plomo y carbaryl alteran la cantidad y calidad del semen: volumen, concentración, número, motilidad y morfología.

El plomo también está involucrado en casos de abortos espontáneos y retraso mental infantil.

Otro metal pesado con acción sobre el sistema reproductor y el desarrollo fetal es el mercurio con acción sobre el sistema nervioso del feto en desarrollo por acción mimética del calcio y efectos sobre el sistema reproductor masculino donde se observó en modelos animales muerte celular por inducción de respuesta autoinmune en el testículo, cadmio y manganeso han demostrado en animales jóvenes expuestos durante la preñez alteraciones en el sistema nervioso y problemas de comportamiento y aprendizaje y alteraciones en el desarrollo óseo.

Efectos de los tóxicos sobre la piel

La piel humana constituye una importante puerta de entrada ante potenciales exposiciones. En un individuo adulto, posee un área promedio de aproximadamente 2 metros cuadrados y cumple la función de ser la primer defensa contra las agresiones ambientales, actúa como barrera física y a través de mecanismos de defensa presentes en la misma, además cumple la función de regular la perdida corporal de agua a través de la transpiración. Por cuestiones estructurales, la piel no posee la misma sensibilidad y permeabilidad en toda su extensión, existen áreas donde el estrato corneo resulta más permeable que en otras.

Diferentes tipos de sustancias tóxicas, desde compuestos químicos hasta radiaciones de diferentes longitudes de ondas pueden impactar sobre la piel humana y provocar una variedad de efectos tóxicos (enfermedades y alteraciones cutáneas) de los cuales se describe desde un leve enrojecimiento de la epidermis hasta la muerte del individuo expuesto.

La exposición a agentes tóxicos de la población en general suele ocurrir en forma accidental o doméstica, por desconocimiento de los riesgos que conlleva la exposición a determinados agentes tóxicos al realizar actividades al aire libre o baño en aguas contaminadas, actividades de trabajadores en toda clase de ambientes laborales debido al incumplimiento de normas establecidas y vigentes sobre el uso de equipos de protección personal, la falta de limpieza y el mantenimiento de las áreas de trabajo.

El nivel de peligro, el tipo de lesiones, las alteraciones y los efectos que pueden provocar los tóxicos a nivel de la piel dependen de muchos factores tales como: su concentración ambiental, sus características fisicoquímicas (carácter hidrofóbico, acidez, basicidad, peso, volumen molecular, velocidad de difusión y coeficiente de partición), sus mecanismos de acción y de la presencia de vehículos que faciliten la penetración de estas sustancias a través de los estratos de la piel.

El daño producido por el agente puede ser de tipo agudo o crónico, ello dependerá de la duración de la exposición, la capacidad de absorción y penetración. La injuria podrá manifestarse de diferentes formas según el área corporal afectada, edad, estado de salud, la condición inicial de la piel (intacta ó con algún grado de lesión) y los factores ambientales involucrados.

A nivel tópico, diferentes xenobioticos (medicamentos, productos de limpieza, pesticidas y polutantes) pueden actuar como irritantes y alérgenos. Las moléculas de pequeño tamaño mediante el mecanismo de absorción percutánea y una elevada hidrofobicidad pueden atravesar el estrato corneo, hasta llegar a circulación sanguínea, evitando el pasaje hepático, por ende su metabolización y biotransformación, para luego alcanzar diferentes órganos y producir intoxicaciones agudas o crónicas según el grado y tiempo de exposición; un ejemplo de ello son los compuestos organofosforados (pesticidas) que en contacto con la piel del hombre y animales resultan neurotóxicos.

La piel a nivel de la epidermis y glándulas pilosebaceas, cuenta con un sistema de biotransformación mínimo, en comparación con el hígado, los sistemas enzimáticos involucrados son el sistema Citocromo P450 y actividades enzimáticas de tipo metabólico y catabólico (sulfatasas,

β -glucuronidasas, N-acetil transferasas, esterasas, reductasas, proteasas, lipasas, glicosidasas y fosfatasas) presentes en los keratinocitos de la piel.

A continuación se describen lesiones y enfermedades que más frecuentemente afectan la piel, producidas por los agentes tóxicos más importantes:

Dermatitis de contacto

Es una de las enfermedades más frecuentes en el ámbito laboral en industrias químicas y su gravedad dependerá de la concentración del agente, del tiempo de exposición así como de las propiedades fisicoquímicas del mismo.

La dermatitis se caracteriza por la aparición de una erupción inicial irritativa denominada eczema. La irritación local, se produce por la aplicación directa sobre la piel. El proceso inflamatorio que se genera a continuación afecta la epidermis y la dermis superior con aparición según el grado de compromiso de enrojecimiento, endurecimiento, descamación y ampollas en las zonas de contacto. En los casos de exposición aguda puede ocurrir desde una simple irritación hasta una quemadura química. Los casos de exposición crónica son más frecuentes en el ámbito laboral y pueden ser producidas por sustancias irritantes leves, pero la exposición prolongada puede generar abrasiones en la piel y si las sustancias logran una mayor penetración pueden provocar en el tiempo una respuesta alérgica.

Los tóxicos que con mayor frecuencia pueden producir dermatitis de contacto son: Cromo, níquel, formaldehido, caucho, aceites de corte, jabones, detergentes tensioactivos, solventes orgánicos, el roce con ciertas plantas con tricomasó pelos con sustancias irritantes y el contacto con la savia de ciertas especies vegetales. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos presentes en el ambiente ó en el ámbito laboral como el alquitrán de hulla y el hollín, provocan procesos irritativos pudiendo desencadenar cáncer de piel. La dermatitis de contacto de origen alérgico puede ser producida por cientos de sustancias químicas como medicamentos como antibióticos, antisépticos, conservantes presentes en productos para la higiene personal, pegamentos, metales, cemento, etc.; se produce gracias a la capacidad de ciertas sustancias químicas denominadas haptenos de atravesar la barrera de la piel y llegar a circulación o por la existencia de una puerta de entrada provocada por abrasión o herida de la piel, iniciar un proceso inmunológico (una reacción de hipersensibilidad tipo 4 mediada por células) y sensibilización del organismo. Una vez establecida dicha sensibilización una segunda exposición a pequeñas cantidades de la sustancia puede producir una reacción severa de dermatitis alérgica de contacto.

Quemaduras químicas

Son pocos frecuentes pero cuando suceden pueden ser muy graves. Pueden ocurrir en la industria y en el hogar debido al manejo de sustancias químicas tóxicas irritantes, corrosivas, inflamables y explosivas.

En general la quemadura química produce primero una coagulación celular seguida de necrosis, luego ulceración y desprendimiento de la piel sin fase inflamatoria previa. La gravedad del daño producido y posible acceso a nivel sistémico, depende de varios factores tales como el mecanismo de acción del xenobiotico, su concentración, la duración de la exposición y la resistencia del tejido a la penetración.

Las sustancias capaces de producir quemaduras químicas son ácidos orgánicos e inorgánicos, álcalis, sustancias inorgánicas y solventes orgánicos. Algunos ejemplos que podemos citar son: el amoniaco que produce lesiones corrosivas, el oxido de calcio que produce una reacción fuertemente exotérmica al contacto con el agua ocasionando quemaduras en la piel expuesta, cloro fumante que ocasiona quemaduras y ulceraciones, el acido clorhídrico que produce quemaduras y formación de escaras, el acido fluorhídrico que causa heridas en forma tardía a baja concentración y quemaduras graves a elevada concentración, si alcanza a penetrar a nivel sistémico puede causar la muerte, el peróxido de hidrogeno concentrado produce quemaduras importantes, acido acético fumante, acido fórmico, hidróxido de sodio que provocan quemaduras profundas por desnaturalización rápida de la queratina, fosforo, fenol muy corrosivos aún en bajas concentraciones, si penetran a nivel sistémico dan lugar a arritmias cardiacas, fallo renal y muerte, etc..

Otras sustancias que no tienen uso industrial ni doméstico y se han utilizado como armas de guerra química son las sustancias vesicantes denominadas gas mostaza (bis(2-cloroetil)sulfano), fosgeno (COCl₂), lewisita (2-cloroetenildicloroarsina), son productoras de ampollas y quemaduras graves de lenta curación, que pueden alcanzar el nivel sistémico por su volatilidad y capacidad de penetración a través de la piel pues una vez absorbidas se transforman en sustancias altamente reactivas al unirse rápidamente a moléculas como ADN, enzimas y proteínas involucradas en la división celular de los queratinocitos y su muerte.

Enfermedad granulomatosa de la piel

Puede producirse por el ingreso de material extraño o microorganismos al interior de la piel por laceración, abrasión o inyección. Aparece la zona inflamada con induraciones denominadas granulomas. Los agentes etiológicos productores no infecciosos pueden ser partículas de talco, sílice, astillas de madera, polvo de almidón y elementos como el berilio. En cuanto a los agentes etiológicos infecciosos esta descripto en la bibliografía la producción de granulomas por bacterias, hongos, virus o parásitos en ámbitos laborales.

Fototoxicidad

La piel cuenta con una serie de cromóforos que la protegen del daño que pueden provocar las radiaciones electromagnéticas, el cromóforo más importante es el pigmento melanina sintetizada en los melanocitos que absorbe la luz UV en el rango de espectro visible. Otros cromóforos presentes en piel son aminoácidos como triptófano y tirosina. El ADN de las células blanco susceptibles a las radiaciones electromagnéticas, también es una molécula cromófoba y puede sufrir daños permanentes en su estructura.-

Los agentes causales de fototoxicidad (lesiones en la piel) pueden ser externos o internos. Como factores externos podemos mencionar a la radiación ultravioleta (Luz UV) y los rayos ionizantes (rayos x).

La población humana que trabaja especialmente al aire libre está expuesta a la radiación ultravioleta y sus efectos serán más graves cuanto mayor sea la exposición; la radiación ionizante puede estar presente en ciertos ámbitos laborales y afectar al trabajador, por ejemplo a los radiólogos quedan expuestos a los rayos x si no toman las precauciones y no utilizan el correspondiente equipo de protección personal.

La exposición aguda a la luz UV (UVB más que las UVA) producen un eritema con enrojecimiento de la piel ó quemadura solar, de gravedad variable entre personas, debida a la vasodilatación y liberación de mediadores de la inflamación por parte de los queratinocitos dañados, acompañados de fiebre, malestar general y escalofríos.

La exposición crónica a la luz UV genera el bronceado de la piel por inducir incremento de la síntesis de melanina, pero puede provocar daños al ADN y pérdidas de células de Langerhans (inmunitariamente importantes para evitar malignizaciones) y en consecuencia se desarrollan carcinomas y melanomas malignos especialmente en pieles de raza blanca. Esta es la razón por la cual se desaconseja el bronceado en camas solares.-

Las radiaciones ionizantes pueden producir una gama de enfermedades en la piel dependiendo de la cantidad de radiación y el tiempo de exposición.

En el caso de una exposición aguda, se observa enrojecimiento de la piel hasta quemaduras con hinchazón y ulceración dolorosa.

En caso de una exposición subcrónica, se observa adelgazamiento de la epidermis con aparición de pecas y telangiectasias.

La exposición a rayos X puede derivar en carcinomas de células escamosas.

Fotosensibilización de la piel

Puede producirse por la presencia de sustancias sobre la piel o presentes a nivel sistémico que ocasionan lesiones de diferente grado ante la exposición a la luz ultravioleta, generando según el mecanismo de acción del agente involucrado fototoxicidad ó fotoalergia.

Existen sustancias fototóxicas cuyo mecanismo de acción se inicia al absorber la luz ultravioleta en el intervalo de 320-400 nm (UVA), llevando a la molécula del agente tóxico a un estado de mayor excitación triplete o bien transferir un electrón a otra molécula y reducirla para formar radicales libres altamente reactivos. En presencia de oxígeno, la molécula excitada le transfiere su energía volviendo a su estado fundamental convirtiendo al oxígeno en singlete altamente reactivo. La interacción de estas sustancias reactivas con macromoléculas presentes en las células provocan daños severos e incluso hasta la muerte celular con liberación de una serie de mediadores de inflamación en los queratinocitos que producen enrojecimiento y aparición de ampollas al poco tiempo luego de la exposición a la luz UV. Como ejemplos de sustancias fototóxicas podemos mencionar a los hidrocarburos aromáticos policíclicos como antracenos y fenantreno, medicamentos como los antibióticos tetraclinas y sulfonamidas y colorantes como la eosina.

Existen sustancias fototóxicas como los psoralenos presentes en plantas comestibles como limón y apio, en cuyo mecanismo de acción no intervienen los radicales libres de oxígeno, sino que, una vez que ingresan en las células y son activadas por la luz UV, se intercalan con el ADN formando aductos covalentes y enlaces cruzados que inhiben la síntesis y reparación del ADN, produciendo las lesiones, en especial en personas que manipulan constantemente este tipo de alimentos.

Las sustancias fotoalérgicas producen una dermatitis similar a la dermatitis de contacto alérgica con eccemas, eritema y prurito, que persiste mientras la sustancia se retenga en la epidermis produciendo una reacción de hipersensibilización retardada tipo IV, la diferencia con las radicales es que para facilitar la formación del alérgeno (unión del agente a proteína para su presentación antigenica) es necesaria la activación previa del agente con luz UV.

Algunos ejemplos son ciertas fragancias y conservantes presentes en cosméticos y productos relacionados con la higiene personal.

Acné

El acné normalmente se produce por estimulación androgénica durante la pubertad por la obstrucción del conducto ya ampliación de la glándula sebácea en el tramo que va desde la glándula al folículo del pelo, por el sebo producido en exceso y cornificación de las células del ducto, favoreciendo la proliferación bacteriana y la inflamación típica, dando lugar al típico grano denominado comedón.

Pero existen formas de acné generadas a partir de sustancias que pueden favorecer la obstrucción de los conductos en forma mecánica como algunos cosméticos, la estratificación excesiva de las células ductales ó por estimulación de la producción de sebo.

Una forma muy agresiva de acné denominado cloracné, se produce como manifestación cutánea secundaria a la intoxicación sistémica producida por la exposición ambiental ó laboral a hidrocarburos aromáticos halogenados tales como bifenilos policlorados, naftalenos,

dibenzofuranospoliclorados y dioxinas, estos últimos formados durante la síntesis de plaguicidas clorados o fenólicos ó en accidentes por combustión de precursores en incendios y explosiones en desastres industriales.

Las lesiones se localizan frecuentemente en rostro en la zona de las mejillas, detrás de la orejas, las axilas y en la ingle. La piel puede volverse más gruesa, escamarse y pelar, aparecen granos, espinillas, nódulos y quistes no inflamados (los queratinocitos se conservan y se acumulan debido a su mayor cohesión, dando esto lugar a un tapón de queratina y la formación de un comedón no inflamatorio).

Exposiciones frecuentes ó agudas producen degeneración progresiva de unidades sebáceas con queratinización de las células de las glándulas sebáceas e hiperqueratosis folicular en el canal folicular.

Hidroarsenicismo crónico regional endémico (HACRE)

El cáncer de piel producido por la exposición crónica a arsénico a través del consumo de aguas con alto contenido de este agente, se caracteriza por afectar zonas expuestas como palmas de la mano, pies, y tronco. El cáncer de piel se subdivide en distintos tipos de padecimientos como lo son: carcinoma intraepidérmico, carcinomas de las células basales y carcinoma de las células escamosas. Todas empiezan de la misma forma pero su desarrollo da lugar a diferentes niveles de gravedad.

Inicia con cambios característicos en la piel a nivel del epitelio, produciendo desde hiperpigmentación a hiperqueratosis. Los primeros efectos de hiperpigmentación cutánea pueden aparecer dentro de los seis meses a tres años de ingestión crónica de concentraciones de aproximadamente 0.4 mg/kg/día. A la hiperpigmentación, le sigue la hiperqueratosis palmar-plantar. Actualmente se conocen dos tipos celulares que inducen cáncer a nivel de piel por arsénico, las células basales y las células escamosas, las basales son localmente invasivas pero las escamosas pueden provocar metástasis.

El mecanismo de acción de cáncer de piel por exposición a arsénico no ha sido establecido, sin embargo se sabe que los compuestos inorgánicos del arsénico y sus metabolitos pueden inducir a nivel ADN delesiones, mutaciones y aberraciones cromosómicas pero no mutaciones puntuales; esta capacidad de ejercer su genotoxicidad causando mutaciones cromosómicas, ha sugerido que actúa más como un progresor que como un promotor o un iniciador.

Bibliografía

Bloom J.C. and Brandt, J.T. Chap. 11. Toxic Responses of the Blood. En: Casarett and Doull's, *Toxicology. The basic science of Poisons.* 7th Ed. USA: Curtis D. Klaassen. 2008.

- Peña, C. E. y col. Toxicología Ambiental: *Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental*.
Arizona: Southwest Hazardous Waste Program The University of Arizona. 2001.
- Witschi, H. R. and Last, J. A. Chapter 15. Toxic responses of the respiratory system. En Casarett and Doull's, *Toxicology: the basic science of poisons*, 5th ed. (335-354). USA: Curtis D. Klaassen. 1995.

CAPÍTULO 5

Agentes tóxicos particulares

Autores: Darío Andrinolo, Daniela Sedan

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Tóxicos gaseosos

Se considera un gas no irritante a aquel que actúa sin provocar lesiones a nivel local, difundiéndose hacia la sangre y ejerciendo su efecto a nivel sistémico. Los representantes más importantes de este grupo son los cianuros y el monóxido de carbono. Los gases irritantes, son aquellos que se caracterizan por ejercer su efecto lesionando la vía aérea. Su acción irritante no solo se efectúan a nivel del árbol respiratorio sino que también actúan sobre el resto de mucosas con las que entran en contacto provocando de esta manera: ojo rojo, lagrimeo, estornudos, entre otros síntomas.

Monóxido de Carbono

El monóxido de carbono, (CO), es un gas que no emite olor, no presenta sabor y no es irritante, por lo que su exposición puede pasar completamente desapercibida. Se origina en la combustión incompleta de los combustibles orgánicos. Debido a que presenta una escasa diferencia de densidad (0.97) con respecto a la del aire (1), difunde con gran facilidad en la atmósfera de los ambientes cerrados, y por este motivo es causal de un gran número de intoxicaciones accidentales, ya que la víctima no da cuenta del peligro que la amenaza. Asimismo, por su pequeña diferencia de densidad con el aire es que se acumula en las zonas altas, y de ahí la conveniencia de circular agachados cuando se produce un incendio.

Denominaciones: N°CAS: 630-08-0.

Nombre registrado: monóxido de carbono.

Nombre químico: monóxido de carbono.

Sinónimos, nombres comerciales: óxido de carbono, monóxido de carbono, óxido de carbono (II) carbónico.

Aspecto general: gas incoloro e inodoro.

Datos físicos-químicos básicos:

Fórmula empírica: CO.

Masa molecular relativa: 28.01 g.

Densidad: 1.25 g/l a 0°C.

Densidad relativa del gas respecto al aire (=1): 0.97.

Umbral de olor: ninguno.

Solvólisis: en agua, 33 ml/l (a 0°C) y 23 ml/l (a 20°C); soluble en acetato de etilo, cloroformo, ácido acético glacial y otros solventes orgánicos.

Factores de conversión: 1 ppm = 1.164 mg/m³ -1 mg/m³ = 0.859 ppm.

Desde el punto de vista toxicológico interesan tres fuentes de producción de monóxido de carbono:

- *Combustión incompleta*: a partir de la combustión de la materia orgánica se produce la formación de anhídrido carbónico, gracias a la oxidación del carbono:



En algunos casos, el aporte de oxígeno es insuficiente para oxidar por completo el carbono (combustión incompleta), con lo que se forma monóxido de carbono:



- *Reducción de CO₂*: se produce la reducción del anhídrido carbónico procedente de la combustión completa del carbono, perdiendo un átomo de oxígeno. Ésto ocurre cuando los gases de la combustión inciden sobre una superficie amplia y fría, o cuando entra en combustión una gruesa capa de combustible, de modo que los gases desprendidos en la capa inferior pasan a las capas superiores calientes, pero no entran en combustión.

Los principales materiales carbonosos, que dan origen al monóxido de carbono cuando arden con un aporte insuficiente de oxígeno, son los siguientes:

- 1) *Combustión sólidos*: carbón mineral y vegetal, madera, leña, aserrín, etc.
- 2) *Combustibles líquidos*: hidrocarburos derivados del petróleo como, gasolina, fuel-oil, gas natural, gases licuados (propano o butano), etc.
- 3) *Explosivos*.
- 4) *Tabaco*: aunque la combustión del tabaco no contribuye de forma apreciable a aumentar la concentración de CO en la atmósfera, los grandes fumadores están gravemente expuestos a los efectos tóxicos de dicho gas. Se calcula que quien fuma dos paquetes de cigarrillos por día, tiene un nivel promedio de carboxihemoglobina (COHb) de 5.9%. Un cigarrillo produce entre 40-100 ml de monóxido de carbono, por lo que varios paquetes pueden elevar esta cifra hasta 1-2 litros.

El cuerpo humano produce de forma continua pequeñas cantidades de CO como uno de los productos finales del catabolismo de la hemoglobina y otros grupos hemo. De esta manera, es normal que en un individuo sano exista una saturación de COHb del 0.4-0.7%, o que en situación de anemia hemolítica aumente la producción endógena de CO, llegando a una saturación de COHb del 4- 6%. Sin embargo, es raro que esta producción endógena pueda provocar síntomas de intoxicación en un sujeto normal.

De forma exógena, el CO se produce por la combustión de materiales con carbono en ambientes pobres en oxígeno. *El fuego* continúa siendo una de las causas más frecuentes de muerte por intoxicación con monóxido de carbono. Durante un incendio se produce gran cantidad de sustancias tóxicas debido a la combustión de los materiales de construcción, por ello, las causas de morbilidad en este caso se ven incrementadas, sin olvidar que, además, se produce una falta de oxígeno por el consumo de éste para la combustión.

La exposición humana incluye la inhalación de humo en los incendios, humo de los automóviles, escasa ventilación al contacto con carbono, kerosene o gas de estufas, hornos o calderas y el hábito del cigarrillo.

¿Quiénes se ven más afectados ante una intoxicación por CO?

El grupo de mayor riesgo frente a una exposición a monóxido de carbono se encuentra conformado por pacientes con afecciones cardíacas y respiratorias, pacientes anémicos, de edad avanzada, recién operados o que sufren arteriosclerosis cerebrovascular, el feto y los niños.

Una especial consideración merece la intoxicación por CO en mujeres embarazadas. El monóxido de carbono en la sangre materna atraviesa la placenta hacia el feto por un mecanismo de difusión simple, tardando más tiempo en alcanzar el pico máximo de COHb en el feto, y lo mismo ocurre para su eliminación. La hemoglobina fetal tiene mayor afinidad por el CO que la hemoglobina materna, por lo que los niveles de COHb pueden ser mayores en el feto que en la madre. Asimismo, en condiciones normales la hemoglobina fetal tiene una curva de disociación desviada hacia la izquierda con respecto a la de un adulto, por lo que la liberación de oxígeno a los tejidos se produce a niveles más bajos de presión parcial de oxígeno que en el adulto. Si a ello se suma la presencia de CO, la curva de disociación de la hemoglobina se desvía más hacia la izquierda, lo que hace que se produzca una hipoxia importante al disminuir la liberación de oxígeno de la madre al feto y de la hemoglobina fetal a los tejidos. Todo ello hace que la intoxicación por monóxido de carbono sea muy grave en una mujer embarazada, sobre todo para el feto.

Exposición

La incidencia de las intoxicaciones por monóxido de carbono de carácter voluntario, con fines suicidas, ha disminuido considerablemente. En la década de los años 50 era la principal causa de intoxicación con carácter voluntario, sobre todo por uso del gas ciudad que contenía hasta un 20% de monóxido de carbono. Este gas ha sido sustituido por gas natural, el cual no contiene CO, por lo que no existe riesgo de intoxicación por exposición a este compuesto. Dicho cambio y la modificación de las fuentes de calor en el medio urbano (braseros), han sido determinantes en el descenso de intoxicados por CO, aunque esporádicamente suele aparecer algún caso debido al mal funcionamiento de calentadores y/o calefactores. A partir de la década de los 60 se comprueba un descenso significativo en tentativas suicidas con gas, el cual es sustituido por el uso de analgésicos y psicofármacos.

Los envenenamientos criminales por monóxido de carbono son muy poco frecuentes, tan solo se conocen algunos casos bajo la forma de suicidios colectivos, en los que el criminal induce a una o varias personas a provocar la muerte en grupo. Durante la Segunda Guerra Mundial fue utilizado en algunos campos de concentración nazis como medio de exterminio. Las fuentes de producción de CO a las cuales se recurre se enumeran a continuación:

Suicida: la intoxicación suicida por este gas ha sido, y sigue siendo, muy frecuente. Se recurre a cualquiera de las fuentes de producción del óxido de carbono:

- 1) Los braseros encendidos incompletamente y dejados dentro de la habitación.
- 2) El gas del alumbrado cuya espita se deja abierta por la noche.
- 3) Los motores de explosión, lo más habitual es poner en marcha el motor del automóvil dentro del recinto cerrado, en que suele guardarse (cabinas), aunque hay algún caso en que se ha llevado a cabo al aire libre, acostándose bajo el coche y respirando directamente los gases del tubo de escape.

Accidental: muerte producidas por mal funcionamiento de calefones y de estufas. Caso Cromañón.

Tipo de intoxicaciones

Podemos encontrar dos formas de intoxicación dependiendo del tiempo de exposición y de las concentraciones de CO a las que estuvo expuesto el paciente; cada una de las cuales presentará características distintivas.

Intoxicación Aguda: en algunos casos, poco frecuentes, puede presentarse una forma súbita o fulminante. En general este tipo de cuadros se dan cuando ocurre una aspiración masiva del gas por ejemplo por rotura de depósitos o en mecánicos que aspiran violentamente del tubo de gas para eliminar obstrucciones. En estos casos el cuadro se desarrolla rápidamente, la víctima cae al suelo, sufre convulsiones y muere inmediatamente, sin que sea posible asistirlo. Se cree que en este tipo de intoxicaciones se pone en marcha un mecanismo inhibitorio por estímulo de las terminales laringeas del vago. Más comúnmente se producen intoxicaciones de tipo agudo en las que se pueden distinguir tres períodos:

Período pre-comatoso: caracterizado por fenómenos irritativos corticales donde predominan cefaleas, náuseas, calor, malestar, vómitos. También suelen presentarse debilidad o parálisis en las extremidades inferiores que impiden al intoxicado salir de la habitación, junto con somnolencia e insensibilidad que se va acentuando como paso previo al coma.

Período comatoso: el paciente evoluciona a un estado de coma profundo con abolición de los reflejos, respiración débil y pausada. Se pueden presentar convulsiones y midriasis marcada. Es característica la aparición de manchas rosadas sobre la piel. Se observan alteraciones en el electrocardiograma ECG como taquicardia sinusal, que se atribuye a lesiones específicas del miocardio o a pequeñas hemorragias y focos de necrosis en el mismo debido a lesiones capilares. También se observa un electroencefalograma EEG alterado, el cual refleja el sufrimiento al que es sometido el encéfalo. El coma dura entre 2 y 3 días, si se extiende por más tiempo el pronóstico empeora produciendo la muerte, aun-

que exista un período en el que el paciente recupera la conciencia. Son de pronóstico adverso los comas hipertérmicos. La muerte se produce por el agotamiento gradual que se genera, y debido a un aumento paulatino de los trastornos respiratorios y circulatorios, siendo la parálisis respiratoria la primera en ocurrir.

Período post-comatoso: en dicho período el paciente se va recuperando poco a poco, aunque aún quedan resabios de la intoxicación como cefaleas, confusión mental, amnesia, debilidad muscular, fatiga, etc. Existen secuelas que pueden ser o no permanentes, dependiendo de la magnitud de la intoxicación sufrida. Dentro de éstas se encuentran edemas de piel duros y dolorosos de color rojo, alteraciones tróficas, congestión en la base de los pulmones, neumonías, edema agudo, aparición de hipertiroidismo, diabetes, neuritis periférica, parálisis de las paredes craneales, hemiplejias, parkinson, alteraciones cerebelosas y secuelas psiquiátricas como psicosis endógena y delirios.

Intoxicación crónica: no debemos confundir los síntomas remanentes luego de una intoxicación aguda con los de una verdadera intoxicación crónica, ya que en este último caso los efectos tóxicos se deben, además de la inhibición ya mencionada de la Hb, a que el CO interfiere con los procesos metabólicos celulares normales al unirse a los citocromos celulares como los presentes en las enzimas involucradas en la respiración celular y la mioglobina. Este tipo de intoxicación se da cuando el paciente se somete a la inhalación por un tiempo prolongado de cantidades reducidas de CO, por lo cual siempre está asociada a la etiología profesional. La intoxicación crónica se caracteriza por la tríada cefaleas, vértigo y astenia (cansancio muscular, letargo), aunque también puede presentarse poliglobulia.

Pueden existir errores de diagnóstico, dado que los síntomas iniciales son muy inespecíficos y confundiéndose con otros cuadros que presentan síntomas similares:

- Intoxicaciones Alimentarias
- Gastroenteritis
- Síndromes Gripales
- Trastornos Nerviosos
- Enfermedades Neurológicas
- Hipertensión Arterial
- Hipotensión Arterial
- Infarto Agudo de Miocardio

No podemos hablar de dosis tóxica absoluta, ya que cuando se inhala un gas que se encuentra mezclado con el aire que se está respirando, los efectos tóxicos dependen fundamentalmente de dos factores:

- La concentración de CO en la atmósfera en la que se encuentra el paciente.
- El tiempo en el que el paciente respira en dicha atmósfera.

Además se debe tener en cuenta si la persona se encuentra realizando algún tipo de actividad física o si está en reposo, dado que en el primero de los casos aumentan las necesidades de oxígeno, lo cual lleva a un aumento en el volumen de aire inspirado por minuto y en la frecuencia respiratoria. Lo cual conlleva a un aumento en el CO inhalado y a un mayor grado de

intoxicación. Henderson propuso una expresión, mediante la cual se puede estimar la dosis tóxica o la peligrosidad de una atmósfera:

$$P = t \cdot C$$

Donde: **P**: peligrosidad de la atmósfera.

t: tiempo (hs).

C: concentración de CO (partes CO/ 10000).

De acuerdo al valor obtenido con la ecuación anterior se presentarán diferentes situaciones. Así si el resultado es inferior a 3, no se producirán efectos apreciables; cuando alcance un valor de 6, se producirán efectos como la cefalea y laxitud; si llega a 9, generará vómitos; mientras que resultados mayores o iguales a 15 indicarán peligro para la vida y en general la intoxicación será mortal.

Asimismo, existen ciertas condiciones del paciente que pueden ser factores predisponentes para sufrir una intoxicación con CO, entre ellos encontramos senilidad, estados de agotamiento, enfermedades de base como algunas patologías sanguíneas, circulatorias o pulmonares, abuso de drogas, embriaguez, etc.

Como valor límite umbral aceptado de concentración de CO se considera el valor de 50 ppm.

Tabla 1. Concentración de CO y síntomas asociados

Concentración de CO	Tiempo de exposición	% de saturación de Hb	Signos y síntomas
0.01%	Indefinido	10	Ausentes
0.02%	Indefinido	Hasta 20	Tensión en la frente, leve cefalea, dilatación de vasos cutáneos
Hasta 0.03%	5 y 6 h	Hasta 30	Cefalea y latidos en la sien
Hasta 0.06%	4 y 5 h	Hasta 40	Cefalea severa, visión borrosa, náuseas y vómitos
Hasta 0.10%	3 y 4 h	Hasta 50	Se intensifica lo anterior
Hasta 0.15%	1.5 y 3 h	Hasta 60	Frecuencia cardíaca y respiratoria, tendencia al colapso, convulsión
Hasta 0.30%	1 y 1.30 h	Hasta 70	Depresión de la función cardíaca y respiratoria
Hasta 1%	1 y 2 min	Hasta 80	Fallo respiratorio y muerte

La concentración máxima permitida, en los sitios de trabajo, para el monóxido de carbono debe ser de 25 ppm con un tiempo de trabajo promedio de 8 horas. Esto se encuentra basado en la ventilación alveolar de 6 l/min y en una capacidad de difusión del CO de 30 ml/min/Kg. Con estos niveles se alcanza una concentración de COHb de 5%. La concentración máxima a la que un trabajador puede estar momentáneamente expuesto es de 200 ppm.

Los niveles considerados como inmediatamente dañinos son de 1200 ppm en adelante. Varios minutos de exposición a 1.000 ppm (0.1%) pueden resultar en un 50% de saturación de la COHb.

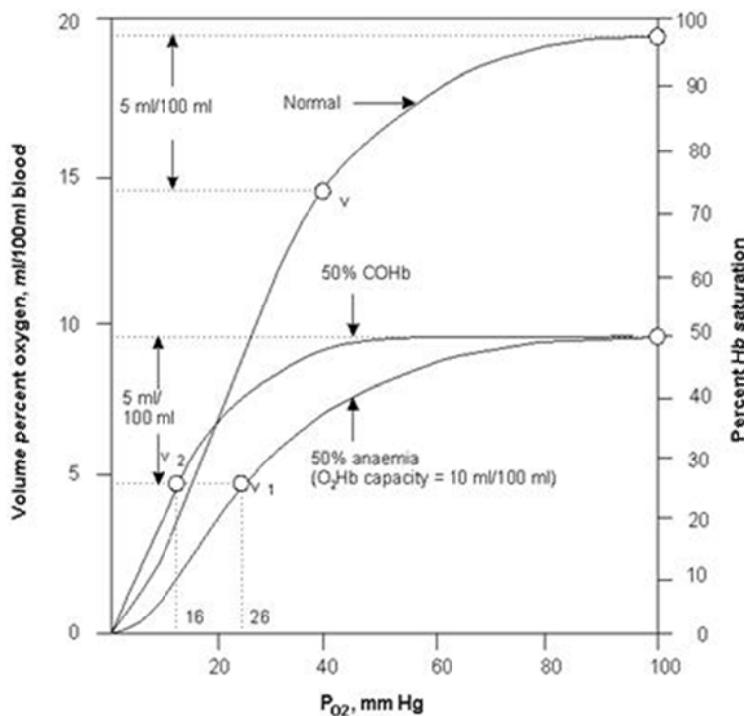


Figura 1: Curva de saturación del monóxido de carbono. www.dartmouth.edu. * Cada 1 gramo de Hb se fija 1,34 ml de CO; se considera este valor como el máximo que puede fijar la Hb; 100% de saturación de COHb

Análisis de sangre de un intoxicado con monóxido de carbono

Aparece leucocitosis y acidosis metabólica.

PO₂ (presión de oxígeno) normal con saturación disminuida de oxígeno.

Aparición de niveles elevados de enzimas musculares.

Toxicidad y mecanismo de acción

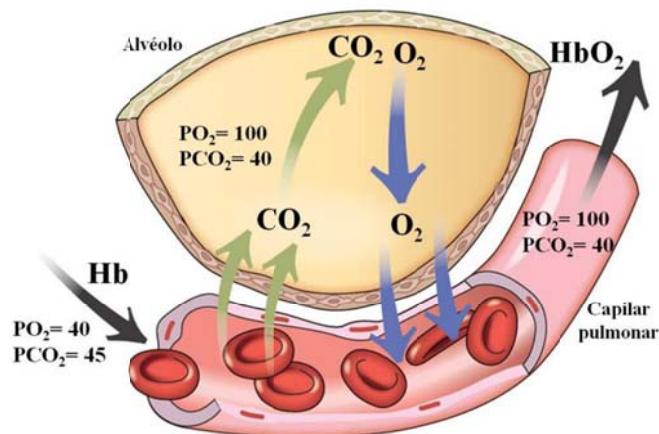


Figura 2. Presión parcial y difusión en la membrana respiratoria.

El CO actúa como un veneno sanguíneo ya que se combina con la hemoglobina (Hb) para generar un compuesto estable, la (**COHb**), que no es apta para la función respiratoria. La Hb en presencia de CO queda bloqueada por éste siendo incapaz de transportar O₂ desde los alvéolos pulmonares a los distintos tejidos. El monóxido de carbono es absorbido rápidamente por los alvéolos, pasando a la sangre donde se une a la hemoglobina (la afinidad del CO a la hemoglobina es 210-270 veces superior a la del oxígeno); siendo esta última la que posee la función de trasladar el oxígeno desde el pulmón a los tejidos. La absorción pulmonar es directamente proporcional a la concentración de CO en el ambiente, al tiempo de exposición, y así como también a la velocidad de ventilación alveolar, que a su vez depende del ejercicio realizado durante el tiempo de exposición. Por ejemplo, en un incendio un bombero, dada la alta concentración de monóxido respirado y la frecuencia respiratoria secundaria al ejercicio alcanza niveles tóxicos de COHb, la cual no puede transportar el oxígeno porque la COHb y el O₂ compiten por el mismo grupo funcional de la hemoglobina. Esta afinidad viene definida por la “ecuación de Haldane”, que fue aplicada por primera vez al monóxido de carbono en 1912 por Douglas:

$$M \cdot (PCO/PO_2) = COHb/O_2Hb$$

Donde M es la constante de afinidad, PCO y PO₂ son las presiones parciales de oxígeno y monóxido a los que se expone la molécula de hemoglobina, COHb es la concentración de COHb y O₂Hb es la concentración de oxihemoglobina. Según esta ecuación los niveles de COHb son directamente proporcionales a la concentración de CO en el aire respirado e inversamente proporcional a la concentración de oxígeno.

En 1965, el grupo de Coburn relaciona a través de un modelo matemático la “concentración de carboxihemoglobina con la tasa de producción endógena de CO; el volumen sanguíneo; la PO₂ arterial; la concentración de oxihemoglobina; la afinidad del O₂ y CO por la hemoglobina; la tasa de difusión de monóxido de carbono a través de los pulmones; la frecuencia ventilatoria y la concentración de CO en el ambiente respirado”. Todo ello queda resumido en la siguiente ecuación, para individuos normales, que respiran en condiciones basales:

$$\% \text{ COHb} = 0.16 \text{ CO}$$

el resultado de la unión del CO a la hemoglobina es el desplazamiento de la unión del oxígeno con ésta. En condiciones normales la cantidad de oxígeno que transporta la sangre es de 20 ml/100 ml de sangre completa, de los cuales 18 % va unido a hemoglobina y el resto va disuelto en el plasma.

El monóxido de carbono unido a la hemoglobina provoca una desviación hacia la izquierda de la curva de disociación de la hemoglobina, con respecto al oxígeno que permanece unido a esta molécula. Por lo tanto, para que este oxígeno sea cedido la cantidad de éste en tejido ha de ser mucho menor que en condiciones normales. Así, en una persona

normal la PO_2 necesaria para liberar 5% de O_2 es de 40 mmHg, mientras que cuando existen niveles de carboxihemoglobina del 50%, para que se libere la misma cantidad de oxígeno es necesario una PO_2 de 14 mmHg.

En resumen, una vez en contacto con el CO, éste es absorbido hacia la sangre y se une con la hemoglobina desplazando al oxígeno; y, además, el escaso oxígeno transportado es difícilmente cedido a los tejidos para su utilización provocando todo ello, **hipoxia**.

Debido a que el CO unido a la Hb hace que ésta pierda su funcionalidad en cuanto a la capacidad de transportar O_2 , la situación fisiológica es semejante a la que ocurre cuando hay una disminución de Hb. De este modo el tipo de hipoxia reinante es una **hipoxia anémica**, ya que se instaura una situación de falsa anemia, quedando los tejidos privados de la cantidad de O_2 necesaria para satisfacer sus necesidades metabólicas. Igualmente el CO presente nunca llega a saturar completamente a la Hb, sino que una fracción de la misma se encuentra como $\text{Hb}.\text{Fe.CO}$ mientras que el resto continúa combinándose con O_2 y lo transporta a los tejidos. *La relación entre $\text{Hb}.\text{Fe.O}_2$ y $\text{Hb}.\text{Fe.CO}$ determinará la gravedad de la intoxicación.*

El primer sistema en el que impactan los efectos de la intoxicación con CO es el sistema nervioso, ya que presenta grandes requerimientos de O_2 ; siendo además el que sufre las consecuencias de la misma, las cuales pueden ser reversibles o irreversibles dependiendo de la gravedad de cada caso.

El CO no solo ejerce su acción a nivel de la hemoglobina, sino que también es capaz de ligarse a otras hemoproteínas localizadas a nivel tisular como son la mioglobina, la citocromo oxidasa, el citocromo P450 y la hidroperoxidasa. Entre un 15 - 20% del CO se une a dichas proteínas.

Dado que la mioglobina constituye un depósito de oxígeno, su unión con el CO provoca, al igual que a nivel sanguíneo, una disminución del oxígeno acumulado a nivel muscular, así como de su liberación de la mioglobina.

El monóxido de carbono tiene una afinidad del **30 al 40 % por las mioglobinas, uniéndose al músculo específicamente y solo se libera con la contracción muscular**. Por esta razón los sujetos que presentan intoxicaciones crónicas, o múltiples exposiciones, exhiben rebotes de los niveles de COHb en su evolución, al movilizar este gas unido al músculo, siendo responsable de diversos síntomas vagos como cefalea, compromiso del estado general y sensación de fatigabilidad o decaimiento. Si se monitorizaran las concentraciones de CO se encontrarían niveles poco despreciables.

El CO tiene una afinidad especial por el músculo cardíaco. Así, al producirse intoxicación por CO, cuando los niveles de oxígeno sanguíneo vuelven a la normalidad, el monóxido de carbono se libera del miocardio pasando nuevamente a la sangre. Esto explicaría la sintomatología cardiaca como las arritmias, dilatación ventricular, insuficiencia cardíaca.

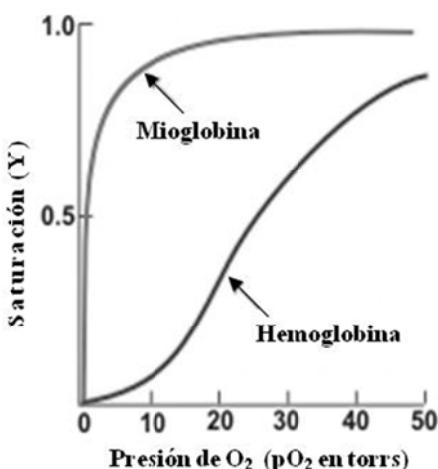


Figura 3. Comparación de las curvas de saturación de la Hemoglobina y la Mioglobina Modificado de www.dartmouth.edu

Las proteínas con grupos hemo, citocromo oxidasa y citocromo P450, también se unen con el monóxido de carbono de forma competitiva frente al oxígeno, atribuyéndosele a esta asociación la mayor parte de la sintomatología. Una vez en la sangre, el CO en parte se ligaría a la hemoglobina y el resto permanecería disuelto en el plasma, siendo esta fracción la que pasaría al interior de los tejidos y, por tanto, la responsable de los síntomas, a través de su unión con estas enzimas pertenecientes al mecanismo de respiración celular. Goldbaum en sus estudios con perros comparó los efectos del monóxido de carbono inhalado y de la transfusión de hematíes conteniendo CO, observando que los perros que inhalaron el CO fallecieron, mientras que los que fueron transfundidos sobrevivieron y estuvieron asintomáticos. Coburn y otros autores dudaron de la importancia de la asociación de los citocromos al CO en la fisiopatología de esta intoxicación, ya que la afinidad de los citocromos por el monóxido de carbono es similar a la del oxígeno, por lo que los niveles de CO que llegan in vivo a los citocromos no son suficientes para afectar su función. Además, los resultados de los experimentos de Goldbaum podrían explicarse por la unión del CO a la mioglobina, y por otro lado no se puede ignorar el efecto sobre el transporte de oxígeno por parte de la hemoglobina unida al CO.

La eliminación del CO es respiratoria y tan solo el 1% se metaboliza a nivel hepático a dióxido de carbono. La vida media en personas sanas que respiran aire ambiente oscila entre 3 - 5 horas, disminuyendo conforme aumenta la presión parcial de oxígeno en el aire inspirado. Sin embargo, la vida media varía mucho de una persona a otra, así como en función de los niveles de carboxihemoglobina y el tiempo de exposición al tóxico. Nicloux, quien ha estudiado el fenómeno exhaustivamente, ha elaborado tres leyes, fundamentales para el conocimiento de los fenómenos que caracterizan a esta intoxicación, así como para su terapéutica:

1. El óxido de carbono desplaza el oxígeno de la oxihemoglobina.
2. El oxígeno desplaza el óxido de carbono de la carboxihemoglobina.

3. Cuando la sangre está en contacto con una mezcla de ambos gases, la concentración respectiva que alcanzan ambos derivados hemoglobínicos es función de las presiones parciales que los dos gases tienen en la mezcla.

Anatomía patológica

En el *examen externo* del cadáver, llama la atención la coloración rosada de la piel dando un aspecto "como de vida". Las livideces, que son muy extensas, tienen igualmente una coloración más viva, rojo cereza. En ciertas ocasiones, se comprueban livideces paradójicas, que asientan en partes no declives.

Las lesiones presentes en el *examen interno* de los cadáveres de sujetos fallecidos por una intoxicación aguda son las generales a todas las asfixias, a las que se añaden algunos rasgos más peculiares:

- La sangre aparece con una fluidez, superior a la normal y, sobre todo, con una coloración rojo carmín, muy viva. Dicha coloración es debida a la carboxihemoglobina y, por consiguiente, es tanto más acusada cuanto mayor sea la proporción de ésta.
- Debido a esta coloración sanguínea, todos los órganos presentan un tinte rojizo acarminado, que le da al cadáver un aspecto muy característico.

Dicho carácter cromático se aprecia en las mucosas ocular y bucal, y en las mucosas digestivas una vez abierto el cadáver, así como en los más diversos tejidos, y tanto más cuanto más vascular sea el órgano. En tejido muscular suele ser muy llamativo y también en meninges, hígado, riñones, etc.

En los pulmones puede observarse la expresión anatómica de las complicaciones citadas dentro de un cuadro clínico. Lacassagne llamó la atención sobre un signo que denominó edema acarminado y que, en realidad, es un edema de pulmón por un fracaso circulatorio agudo, ya que si se escinde un fragmento de tejido pulmonar y se exprime entre los dedos, o si se secciona el parénquima y se comprime, se ve manar una espuma sanguinolenta, cuyo color es rojo carmín por la sangre carboxihemoglobínica que contiene.

Por último, en el sistema nervioso central se pueden observar hemorragias puntiformes, unas veces visibles microscópicamente y otras de dimensiones macroscópicas. Su localización es variable, a veces tienen forma anular rodeando un vaso. También se observa focos de reblandecimiento. La localización de estas lesiones explica, cuando la muerte es tardía, y los síntomas neurológicos. Si la muerte es rápida, el cuadro anatopatológico queda reducido a una cogestión notable de meninges y encéfalo, y a un edema cerebral, más o menos acusado.

Diagnóstico de vida en el foco del incendio del individuo

Se basa en la posibilidad de la prueba de respiración y circulación; así se encuentra:

- En vías respiratorias superiores; presencia de negro de humo de cenizas y quemaduras de epliglotitis y laringe,

- En boca y faringe: presencia de negro de humo, de cenizas y quemaduras, en especial en base de lengua.
- COHb en la sangre de punción cardiaca. En la muerte durante el incendio el CO en sangre es del 15 % o más, pero si murió antes no pasa el 5 %.

¿Qué se encuentra en los análisis de sangre?

Aparece leucocitosis y acidosis metabólica.

PO₂ (presión de oxígeno) normal con saturación disminuida de oxígeno.

Aparición de niveles elevados de enzimas musculares.

¿Cómo se valoran los niveles de COHb?

En individuos normales, la COHb es del 1.5% y puede alcanzar hasta el 2.5% en áreas urbanas contaminadas, y estas cifras pueden elevarse hasta el 7-8%, encontrándose dentro del rango de normalidad.

Una COHb alta establece el diagnóstico.

En cambio, una cifra normal de COHb no descarta la intoxicación, ya que la vida media de la COHb va disminuyendo conforme pasa el tiempo hasta que se toma la muestra de sangre.

Varones entre 13.5 a 17.5 g Hb/1000 ml de sangre.

Mujeres entre 11.5 a 15 g Hb / 1000 ml de sangre.

Chicos entre 19.5 a 21.5 g Hb / 1000 ml de sangre.

El envenenamiento por CO continúa siendo un problema muy serio, ya que se encuentra asociado a una incidencia muy alta de morbilidad.

La historia de exposición al CO, y la presencia de niveles de COHb deberán poner en alerta al médico sobre su diagnóstico agudo. En ausencia de historia de exposición, debe considerarse su diagnóstico cuando hay dos o más pacientes enfermos simultáneamente.

El diagnóstico deberá excluirse mediante historia y examen físico directo. Si persisten las sospechas deberán hallarse los niveles de COHb. Si se confirma el envenenamiento por CO, debe identificarse la fuente y hacer las recomendaciones pertinentes para evitar mayores daños

Métodos para la determinación de monóxido de carbono

Investigaciones toxicológicas utilizadas en los laboratorios para determinar la presencia de COHb en sangre

Toma de muestra: la recolección de la muestra de sangre debe ser obtenida por punción venosa con anticoagulante (heparina) evitando la formación de burbujas o la entrada de aire a la jeringa. Se recomienda obtener sangre del corazón o de las venas gruesas como la femoral. El recipiente a utilizar para la conservación de la muestra debe estar escrupulosamente limpio, seco y cerrado en forma hermética.

Ensayos cualitativos: son ensayos rápidos y prácticos para la determinación de COHb, pero no arrojan valores de saturación o concentración de CO en las muestras. Dentro de éstos podemos citar:

Ensayo de dilución: consiste en preparar soluciones sanguíneas al 1% en agua destilada de muestra a analizar y de sangre normal. Se observan simultáneamente ambos tubos de ensayo con luz natural difusa. La sangre normal presenta color rojo amarillento, mientras la muestra, si contiene COHb, presenta color carminado neto. Este ensayo es seguro y práctico.

Ensayo alcalino: se basa en la mayor estabilidad de la COHb con respecto a la hemoglobina en similares condiciones alcalinas. En un tubo de ensayo colocar de 3 a 4 gotas de la sangre a analizar y en otro tubo similar colocar igual número de gotas de sangre normal, agregar 15 ml de agua destilada y mezclar bien. Agregar a cada tubo 5 gotas de solución de hidróxido de sodio al 10% y mezclar. La sangre normal adquiere un color castaño a castaño verdoso (hematina alcalina), mientras que la sangre oxicarbonada permanece inalterada (color carminado durante cierto tiempo). El ensayo ofrece un claro contraste y resulta positivo cuando la concentración de COHb es superior al 10%. La sangre fetal interfiere en este ensayo dado que última produce una transformación retardada frente al hidróxido de sodio.

Ensayos cuantitativos: determinación cuantitativa de COHb por el método espectrofotométrico: algunos métodos espectrofotométricos emplean el sistema oxihemoglobina- carboxihemoglobina, El cual se basa en las diferentes formas de hemoglobina de la sangre, la reducida, la forma oxidada, y pequeña cantidades de metahemoglobina. Cuando un agente reductor como el ditionito de sodio es agregado a la sangre, la forma oxigenada y la metahemoglobina son cuantitativamente convertidas a la forma reducida que presenta un espectro como se presenta en la Fig.4. Debe recordarse, que en caso de que la persona haya estado expuesta a sustancias metahemoglobinizantes esta determinación es poco recomendada.

El monóxido de carbono presenta mayor afinidad por la hemoglobina que el oxígeno, mientras que la COHb no es reducida por el ditionito de sodio. Así, la carboxihemoglobina permanece sin modificarse como se muestra en la curva A del espectro (Fig.4) aún cuando se ha realizado un tratamiento con ditionito de sodio. En la Fig. 4 también se puede observar que la máxima diferencia de absorbancia para los espectros de COHb (A) y hemoglobina reducida (B) se presenta a 540 nm, mientras que a 579 nm, la primera presenta la misma absorbancia (punto isosbético). El porcentaje de saturación de monóxido de carbono en una muestra de sangre puede calcularse a partir de la medida de la absorbancia a esa longitud de onda de la muestra saturada con monóxido de carbono (A), la muestra libre de monóxido de carbono (B) y la muestra sin tratar (C), luego de la reducción con ditionito de sodio.

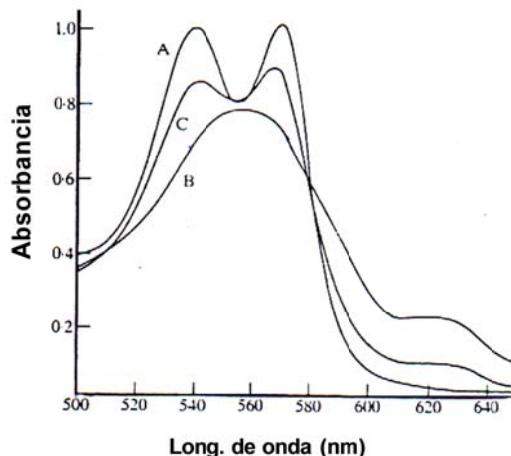


Figura 4. Espectros de absorción de (A) carboxihemoglobina, (B) hemoglobina reducida y (C) muestra de sangre de paciente intoxicado con monóxido de carbono. Modificado de The absorption spectra of hemoglobin and its derivatives in the visible and near infra-red regions. Horecker Division of Industrial Hygiene, National Institute of Health, Bethesda, Maryland.1942. <http://www.jbc.org/>

Reactivos: solución 0.1% de hidróxido de amonio.

Equipo:espectrofotómetro UV-visible.

Procedimiento: diluir 0.2 ml de la muestra de sangre homogenizada con 25 ml de solución 0.1% de hidróxido de amonio y dividir la solución resultante en tres parte iguales A, B, y C. Saturar la solución A con monóxido de carbono mediante el burbujeo de gas a una velocidad que minimice la formación de espuma. Unos pocos minutos de burbujeo resultan suficientes. Por otra parte, la solución B se trata con oxígeno puro durante 10 minutos a los efectos de desplazar completamente el monóxido de carbono unido a la muestra.

Agregar una pequeña cantidad de ditionito a cada una de las soluciones A, B y C; y también a 10 ml de la solución de amonio 0.1% y mezclar bien. Medir la absorbancia de cada solución a 540 y a 579 nm para cada solución A, B, y C. Se calcula la de relación de absorbancias a 540 a 579 para cada solución.

El porcentaje de saturación de carboxihemoglobina se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Saturación} = \frac{(A_{540}/A_{579})_C - (A_{540}/A_{579})_B}{(A_{540}/A_{579})_A - (A_{540}/A_{579})_B} 100$$

Los valores normales, aproximados, para la relación de absorbancia son: carboxihemoglobina saturada 1.5 y hemoglobina reducida 1.1%. Considerando que el contenido de hemoglobina en sangre puede variar, el volumen de diluyente también debe ser modificado. La dilución que arroje un valor máximo de absorbancia cercano a 1 es la ideal.

Determinación cuantitativa de COHb mediante su separación física de las otras hemoglobinas

El método se basa en la alta resistencia relativa de la COHb al calor, mientras que las otras formas de hemoglobina sufren coagulación. Esta técnica es simple de realizar y permite ser aplicada con resultados reproducibles si se mantienen estrictamente las condiciones indicadas: calentamiento a $55 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos y pH 5.05 ± 0.05 .

Reactivos:

Buffer acetato: mezclar 1 volumen de **solución1**, (300 ml de ácido acético glacial en 1 litro de agua destilada), con 3 volúmenes de **solución 2** (408 gr de acetato de sodio trihidratado disuelto en 1 litro de agua). El pH no debe variar de 5.05 ± 0.05 .

Antiespumante: mezclar el antiespumante con agua para lograr una solución al 1% y agitar vigorosamente con perlas de vidrio.

Equipos: baño termostático de agua a $55 \pm 0.05^{\circ}\text{C}$, centrífuga a 5000 rpm, 4 o más tubos de 10-15 ml de capacidad y espectrofotómetro UV-visible.

Procedimiento:

- 1) 5 ml de sangre a analizar, previamente homogenizada, se mezclan por inversión con 15 ml de agua destilada y 1 ml de antiespumante. La mitad de esta solución es separada en un tubo, rotulada y guardada en oscuridad. La otra mitad es saturada con CO durante 30 minutos asegurándose que el volumen de la solución sanguínea no cambie.
- 2) De las soluciones, sin tratar y la tratada con CO, se toman dos alícuotas de 1.0 ml y se colocan en 4 tubos de centrífuga conteniendo 4.0 ml de buffer acetato.
- 3) Despues de mezclar por inmersión dos veces cada tubo, éstos se ubican en un baño termostático de agua a $55.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ exactamente por 5 minutos.
- 4) Luego los tubos se enfrian en agua fría durante otros 5 minutos y son centrifugados a 5000 rpm durante 5 minutos.
- 5) 2,0 ml de cada uno de los cuatro sobrenadantes se diluyen con 10,0 ml de agua destilada y se mezclan 2 ó 3 veces por inmersión en el tubo.
- 6) Para la lectura se requieren tres cubetas: la cubeta 1 con agua destilada (blanco), la cubeta 2 es llenada con la solución de sangre sin tratar y la cubeta 3 con solución de sangre saturada con CO. La absorbancia de las dos soluciones se leen contra agua a 570 nm y 630 nm. Luego de la lectura, la cubeta 2 es vaciada y llenada con el duplicado de la solución de sangre sin tratar. También, la cubeta 3 luego de la lectura es vaciada y llenada con el duplicado de la solución de sangre saturada con CO. Se repite la lectura a 570 y 630 nm. Los cálculos se realizan mediante la siguiente relación:

$$\% \text{COHb} = \frac{(A_{570}/A_{630})_{\text{solución sin tratar}}}{(A_{570}/A_{630})_{\text{solución con CO}}} \times 100$$

- 7) Los valores duplicados no deben variar más de un 2 a 3 % de saturación de COHb. Con valores de saturación de COHb menores a 20% pueden presentarse dos tipos de dificultades: primero, la lectura en el espectrofotómetro de muestra sin tratar es baja e incierta. Segundo, la coprecipitación de COHb con el precipitado de los derivados de hemoglobina puede ser un factor importante que tiende a disminuir la cantidad residual de COHb en el sobrenadante. El método arroja resultados reproducibles cuando la saturación de COHb es superior al 20%. Asimismo, el método es moderadamente sensible a los cambios que ocurren en la sangre luego del proceso postmortem.

Determinación cuantitativa de COHb por el método de cromatografía gaseosa (CG)

La cromatografía gaseosa (CG), se considera una metodología universal para la determinación de compuestos con una presión de vapor lo suficientemente alta, por lo cual, se considera adecuada para tóxicos volátiles y gaseosos. Sin embargo, la determinación de monóxido de carbono por CG presenta diversos inconvenientes que es necesario tener en cuenta al momento de optar, o no, por la utilización de esta metodología.

Por un lado, la elevada presión de vapor del monóxido de carbono requiere de columnas y/o programas que sean capaces de separar al analito de los gases utilizados como carrier, generalmente helio o nitrógeno, de otros gases que pudiesen coexistir con el monóxido de carbono como, el dióxido de carbono. Dicho inconveniente se subsana utilizando columnas capilares y programas de corrida cromatográfica que trabajan comenzando a temperaturas subambiente, generalmente a -20°C. Los equipos requeridos para estas condiciones cromatográficas son muy poco frecuentes en laboratorios de toxicología. Por otro lado, la detección de la señal del monóxido de carbono a la salida de la columna CG se realiza mediante dos metodologías posibles. Una forma, es la utilización de una post-columna con un catalizador y condiciones de hidrogenación adecuadas para transformar al monóxido de carbono cuantitativamente en metano, luego de lo cual se mide con un detector común iónico de llama (FID). El segundo método consiste en la utilización de un detector de conductividad térmica. Ni el detector de conductividad térmica, ni el catalizador post-columna son elementos comunes en un laboratorio dedicado a la toxicología.

Finalmente, se ha informado que la cromatografía gaseosa de monóxido de carbono tiene una adecuada respuesta, señal vs concentración, sólo para niveles de monóxido por encima del 20% en sangre, de manera que no es adecuado para medidas en individuos con intoxicaciones subclínicas o para comparar individuos con niveles normales de CO en sangre.

Determinación cuantitativa de COHb por el método de espectrofotometría infrarroja

En la determinación de monóxido de carbono en sangre y aire espirado, la espectrofotometría infrarroja confiere adecuada especificidad, condición que no presentan otros recursos analíticos depurados tales como cromatografía gaseosa. El procedimiento comienza con una extracción de los gases totales físicamente disueltos o combinados con la hemoglobina. El monóxido de carbono

presenta al infrarrojo dos picos de absorción, uno a 2120 y otro a 2170 cm⁻¹ (4.6 – 4.7m) y no presenta otra absorción en el rango comprendido entre 700 - 4000 cm⁻¹.

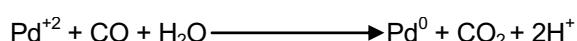
Los gases que absorben en esta región del espectro y que por lo tanto interfieren, son el diazometano, cloruro de nitrosilo y propano que muy difícilmente pueden hallarse en muestras de sangre. El dióxido de carbono puede mostrar interferencias cuantitativas, por su elevada concentración relativa, aún si su absorción máxima difiere de la del monóxido de carbono. Estas interferencias quedan excluidas con la adopción de sistemas de compensación o filtros adecuados. Los equipos permiten determinar monóxido de carbono en un rango de 0 a 1000 ppm.

En el análisis de sangre, la espectrofotometría infrarroja utiliza un volumen total de 1 a 5 ml. El mismo se trata con ferricianuro ácido y los gases liberados se analizan en el espectrofotómetro infrarrojo.

Para establecer el porcentaje de saturación, o el coeficiente de intoxicación, debe saturarse otra fracción de la muestra con monóxido de carbono y analizarse en la misma forma, efectuando la pertinente corrección por el monóxido de carbono físicamente disuelto. Con adecuadas modificaciones, la espectrofotometría infrarroja posibilita el registro continuo de monóxido de carbono en aire (detectores o registradores continuos).

Por otra parte, los ensayos en aire espirado permitieron revelar su presencia en forma inmediata así como después de 30 minutos de haber fumado un cigarrillo.

Determinación de monóxido de carbono en sangre por métodos químicos: los métodos químicos emplean la propiedad que presenta el monóxido de carbono de reducir diversas sales metálicas. Uno de los elementos metálicos de mayor aceptación es el paladio (II). La capacidad reducтора del monóxido de carbono se observa en la siguiente reacción:



este principio se emplea de diversas formas, una de ellas es el método de Gettler y Freimuth; y mediante la microdifusión en cámaras de Conway.

Método de Gettler y Freimuth:el monóxido de carbono liberado de la carboxihemoglobina por el ferrocianuro de potasio, es arrastrado por aireación y pasado a través de un disco de papel embebido con Cl₂Pd. El CO produce una mancha oscura sobre el papel de filtro debido a la reacción del paladio que se reduce a Pd⁰. Por comparación de la intensidad de la mancha con muestras patrones, se puede obtener una concentración aproximada a la cantidad de CO presente en la muestra.

Reactivos:

Solución de cloruro de paladio (0,5 g de cloruro de paladio, 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado que se llevan a 50 ml con agua destilada).

Solución de ferricianuro de potasio-saponina: ferricianuro de potasio 32 g, saponina 0,8 g , agua bidestilada c.s.p 100 ml.

Solución de ácido láctico (D:1.20) y llevar a 100 ml.

Solución de acetato de plomo al 10%.

Alcohol caprílico.

Solución de cloruro cuproso amoniacial.

Equipo: el dispositivo empleado en la determinación de monóxido de carbono en sangre (Fig. 6) consta de tres tubos de vidrio grueso con borde de 2 cm diámetro y de 13 a 15 cm de largo, flange (dos discos de vidrio enfrentados para retención de papel de filtro), trampa de vacío, o bomba de extracción de 1/4 HP, pinzas de Hoffman y perlas de vidrio.

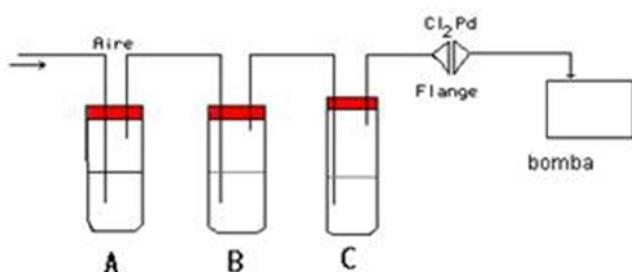


Figura 5. Equipo para la determinación de CO

Procedimiento: el dispositivo se presenta en la Figura 5. El tubo A contiene 5 ml de solución de cloruro cuproso amoniacial para retener el monóxido de carbono del aire e interferencias del medio del laboratorio. El tubo B contiene 2,0 ml de sangre, se añaden 4 ml de ferricianuro-saponina y 2 ml de solución de ácido láctico junto con 2 gotas de alcohol caprílico. El tubo C contiene perlas de vidrio en cantidad que alcancen 4 cm de altura y 5 ml de acetato de plomo. Entre los discos del flange se coloca un disco de papel de filtro Whatman N°3 cortado en forma circular humectado con la solución de cloruro de paladio y sujetado de forma segura mediante un pinza metálica para lograr el cierre hermético.

Se hace burbujeante aire a través del dispositivo A aflojando la llave del frasco de Mariotte. La velocidad de flujo de aire debe ser de 26 ml/minuto. Después de 15 minutos, se detiene el burbujeo y se retira el papel reactivo, se lava con agua destilada para eliminar el exceso de solución de cloruro de paladio y la mancha obtenida. Finalmente se compara con la escala obteniéndose el grado de saturación de la sangre con respecto al monóxido de carbono.

La preparación de la escala se realiza saturando 10 ml de sangre oxalatada con un contenido de COHb de 80% - 90% con monóxido de carbono puro, el cual se obtiene por descomposición del ácido fórmico por acción del ácido sulfúrico concentrado. Se hace burbujeante el gas en la muestra de sangre durante 15 minutos.

Mezclando volúmenes iguales de la muestra saturada con sangre normal, se obtiene un grado de saturación equivalente al 50%, el cual se utiliza para la preparación de la escala mezclando diferentes volúmenes de sangre normal y sangre saturada con monóxido de carbono (Tabla 4.1) Cada muestra diluida en la forma expresada se somete al procedimiento señalado a fin de obtener las manchas testigo. La preparación de manchas

para grados de saturación mayores al 50% no es necesaria en la práctica debido a que nunca se alcanzan valores superiores al 50% de saturación.

Dado que la capacidad de saturación de la sangre para el monóxido de carbono reside en el contenido de hemoglobina, debe aplicarse el factor de corrección correspondiente para cada caso, debiendo valorarse el contenido de hemoglobina total del mismo.

Tabla 2: Preparación de la escala de saturación de monóxido de carbono

Volumen de sangre con 50% saturación CO (ml)	Volumen de sangre normal (ml)	Porcentaje de saturación obtenido
4	1	40%
3	2	30%
2	3	20%
1	4	10%
1	5	5%

Método de Microdifusión: se basa en el poder reductor del monóxido de carbono, que al actuar sobre una solución de Cl_2Pd lo transforma en Pd^0 . La reacción se realiza en cámaras de Conway que poseen en el compartimiento externo la muestra de sangre y el agente liberador (ácido sulfúrico) y en el interno el agente atrapante (Cl_2Pd). En este caso, se produce la captación y la oxidación del monóxido de carbono forzándose la remoción completa del mismo al cabo de un tiempo y temperatura determinada. El exceso de Cl_2Pd se valora espectrofotométricamente con IK en presencia de goma arábiga.

Reactivos:

Solución de cloruro de paladio: disolver 0.222 g de cloruro de paladio en 25 ml de ácido clorhídrico 0.01N y llevar a 250 ml con ácido clorhídrico. Se prepara en el momento.

Ácido sulfúrico 10% (p/v).

Goma arábiga al 0.1%.

Solución de ioduro de potasio al 15% (p/v).

Equipos: centrífuga a 5000 rpm y especrofotómetro UV-visible.

Procedimiento: en el centro de la cámara de Conway colocar 0,5 ml de Cl_2Pd (0,01N), en la periferia y separados, se colocan 0.25 ml de H_2SO_4 y 0.25 ml de la muestra (sangre entera). Cubrir con la tapa sellando con grasa siliconada para evitar posibles pérdidas.

Mezclar la sangre con el ácido sulfúrico mediante un suave movimiento de balanceo. Dejar difundir 1 hora a temperatura ambiente. La existencia de monóxido de carbono se evidencia en forma indirecta a través de la aparición de una pátina platina de paladio metálico en el compartimento interno. Con una pipeta capilar se extrae la totalidad de la solución del compartimento interno (Pd^0 y exceso de cloruro de paladio).

Luego se centrifuga con el fin de separar el precipitado de Pd, y se transfiere 0.1 ml del sobrenadante a un matraz de 10ml. En otro matraz de 10 ml, se coloca 0.1 ml de solución de Pd (blanco). A cada matraz se agrega 1.0 ml de solución de goma arábiga al 0.1% y 1.0 ml de IK al 15 %, se mezcla bien y se lleva a volumen. Se realiza la determinación de la densidad óptica a 500 nm lle-

vando a cero con agua destilada. El exceso de sal de Pd origina con el ion ioduro, el complejo I_4Pd^- ². En forma paralela se trabaja con una solución de Cl_2Pd no difundida de manera de tener un punto de referencia de absorbancia. Luego se lee la absorbancia a 500 nm.

Expresión de resultados: con el punto de referencia se calcula la concentración de CO en la muestra inicial.

$$mg\ CO\% = \frac{DO_t - DO_D}{DO_t} 0,05335 * 520$$

Donde DO_t y DO_D representan la densidad óptica del testigo y la muestra desconocida, respectivamente. El valor 0.053 corresponde a 0.1 ml de la solución de paladio 0.01N con peso equivalente de $106.7/2 = 53.35$. El factor 520 corresponde al factor de conversión (CO/Pd) provenientes de 0,1 ml solución expresados en los 2.0 ml de muestra de sangre analizada y multiplicada por 100 para expresar el resultado en porcentaje mg CO% ($28/106.7$). $(2/0.1).100=520$.

El resultado puede expresarse en ml% aplicando el factor 0,8. Para expresar el resultado en porcentaje (saturación de la hemoglobina), es necesario conocer la concentración de la misma y teniendo en cuenta que 1g de hemoglobina fija 1.34 ml de CO, se puede calcular el valor correspondiente de saturación.

Interpretación de resultados: el monóxido de carbono es el producto endógeno del catabolismo del hemo con un valor de saturación de COHb entre 0.4 – 0.7%. El valor promedio de COHb en sangre de individuos no fumadores que habitan zonas urbanas es del 1 - 2%. Dicho valor llega a 5 - 6% en individuos fumadores.

El valor Limite Umbral (TWA) es de 25 y 30 ppm dado por American Conference of Governmental Industrial Hygienist (ACGIH) y Maximun Concentration in the Workplace (DFG, 1996) (MAK) con un valor máximo de 6% de HbCO para una persona que trabaja 8 h en condiciones de actividad física normal. El Occupational Safety and Health Administration (OSHA) recomienda un valor de 50 ppm y el National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) de 35 ppm con un valor de (Short exposición) referido a 15 minutos de exposición (STEL) de 200 ppm. Estos valores deben ser menores para personas de mayor riesgo como son mujeres embarazadas cuyo valor de COHb no debe exceder 2,7%.

Los casos de envenenamiento fatales representan valores superiores a 50% de saturación. En víctimas de incendios se han registrado niveles de COHb entre 25 - 55% con un valor medio de 40%. Sin embargo, también se ha informado que la COHb en víctimas de incendio puede no ser significativamente alta, en especial si el cuerpo está parcialmente carbonizado y la hemoglobina total es baja.

Ácido cianhídrico

Denominaciones: N°CAS: 74-90-8.

Sinónimos, nombres comerciales: ácido prúsico, nitrilo fórmico.

Aspecto general: bajo la forma de gas es incoloro.

Datos físicos-químicos básicos:

Formas: HCN, sales del ion cianuro CN^- ($\text{C} \equiv \text{N}$), gas cianógeno C_2N_2 ($\text{N} = \text{C} - \text{C} \Rightarrow \text{N}$)

Masa molecular relativa: 27,0253 g/mol.

Densidad: 0.687g/l.

Densidad relativa del gas respecto al aire (=1): 0.94.

Umbral de olor: característico.

Solvólisis: en agua,miscible.

Punto de ebullición: 26°C.

Fuentes naturales: Vitamina B12, Alimentos y plantas (glucósido cianogenéticos) como: sorgo, almendras amargas, huesos de cerezas, durazno, ciruelas, hortensia, laurel, lino y Yuca amarga.

Fuentes antropogénicas: humo, tabaco, productos industriales como: poliuretano, poliacrilonitrilo, acetonitrilo, nitrocelulosa, espuma de poliuretano, y seda.

También se encuentra en ciertos medicamentos en su formula molecular:

Cocaína CuCN.9 (CHON.HCN).7HCN

Novocaína CuCN.9 (CHON.HCN).HCN

Codeína CuCN.4 (CHON.HCN).3HCN

Nicotina CuCN.2 (CHN.HCN).1.5HCN

Morfina CuCN.9 (CHON.HCN).7HCN

Cafeína 4CuCN. (CHON.HCN)

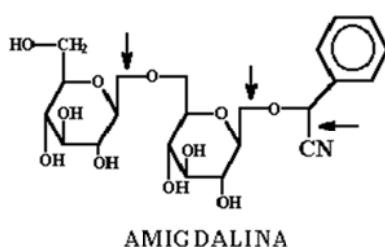


Figura 6. Estructura de la amigdalina.

Fármacos: Laetrile (amigdalina) y Nipride (nitrosil pentacianoferrato sódico).

Usos: rodenticidas, fungicidas, fertilizantes, metalurgia, procesos fotográficos, fabricación de caucho sintético.

La oxidación moderada origina ácido ciánico, 75 g de HCN en un m^3 de aire origina explosión, y es retenido por el carbón activado.

El cianuro es un grupo químico que consiste en un átomo de carbono conectado a un átomo de nitrógeno por tres enlaces ($\text{C} \equiv \text{N}$). Los compuestos cianurados, que contienen el grupo cianuro (típicamente expresado como CN), pueden ser de origen natural o manufacturado; la mayoría son venenos potentes y de acción rápida. El ácido cianhídrico (HCN) es un líquido altamente volátil, con una gran capacidad de difundir, ya que presenta una elevada tensión de vapor.

vapor. Es incoloro, límpido y presenta un olor característico a almendras amargas. Tiene una alta solubilidad en agua y alcohol. Existen varias fuentes que pueden generar intoxicaciones con HCN o compuestos cianurados. Entre éstas encontramos:

Vapores de HCN: la intoxicación se produce por inhalación del gas durante su obtención. Ejemplos de ésto son intoxicaciones de personas dedicadas a desinfecciones, desratizaciones, obtención en el laboratorio, cámaras de gas, etc. Personas que han respirado HCN en concentraciones de 546 ppm han muerto después de 10 minutos de exposición, mientras que 110 ppm fueron un riesgo cierto de muerte después de una hora de exposición.

Sales cianuradas: el CNK y el CNNa son sales blancas, solubles, de reacción alcalina, que al ser tratadas con ácidos producen HCN. Son utilizadas en fotografía, procesos de dorado y a partir de ellas se genera HCN utilizado para desinfecciones de locales y vehículos. El PA del Na es de 22,98 y el del K es de 39,09, ésta diferencia de PA entre los dos cationes hace que a igual peso de la sal, el CNNa desprenda una mayor cantidad de HCN; por lo cual es más tóxico que el CNK. La dosis mortal es de 15 a 20 cg. de CNK puro. Dentro de éstas también se encuentran el cianuro de mercurio y el oxicianuro de mercurio, que pueden actuar por dos mecanismos; ya sea como sal cianurada que puede liberar HCN o como sal mercurial.

Algunas bacterias, hongos y algas pueden producir cianuro. El cianuro se encuentra también en numerosos alimentos y plantas, existiendo en forma natural como parte de azúcares o de otros compuestos naturales, por ejemplo almendras, brotes de mijos, algunos tipos de porotos, soja, espinaca, vástagos de bambú y raíces de mandioca (las cuales son una fuente importante de alimentación en países tropicales). Sin embargo, la parte comestible de las plantas que se consumen en los Estados Unidos, incluso tapioca, que es preparado a partir de raíces de mandioca, contienen cantidades relativamente bajas de cianuro. Los glucósidos cianogenéticos, están presentes en almendras amargas, semillas de melocotón, albaricoque, cereza, nísperos, ciruela, laurel cerezo, etc. Cuando estos compuestos entran en contacto con ciertas enzimas líticas, contenidas a menudo en el mismo vegetal, se hidrolizan dando como productos de la reacción glucosa, HCN y aldehído benzoico. En general éstos compuestos se hallan en compartimientos distintos y no entran en contacto normalmente con las enzimas que los degradan, es por ello que la simple trituración mecánica de éstos vegetales puede desencadenar la reacción. Ejemplos de éstos compuestos son prulaurasina (laurel cerezo) y la amigdalina (contenido en almendras amargas, carozos de duraznos, cerezas, nísperos) cuyo fermento específico es la emulsina, quien la descompone liberando una molécula de HCN. La dosis tóxica en este caso depende de la cantidad de glucósido contenida en el fruto, pero se calcula que 60 almendras amargas pueden matar a un adulto, mientras que para los niños solo 7 a 10 son suficientes para generar el mismo efecto.

Muchos de los cianuros en el suelo o el agua provienen de procesos industriales. Las fuentes principales en el agua son las descargas de algunos procesos de minado de minerales, industrias de sustancias químicas orgánicas, plantas o manufactura de hierro o acero. Otras fuentes de cianuro son el tubo de escape de vehículos, la incineración de basura municipal y el uso de plaguicidas que contienen cianuro.

El cianuro de hidrógeno también se ha usado para ejecuciones en cámara de gas y como arma química en guerras. La cloración de agua contaminada con cianuro produce el compuesto cloruro de cianógeno. Se sabe de cuatro incidentes causados por disposición de basura que contenía cianuro en vertederos y el uso en las carreteras de sales que contenían cianuro.

Los tiocianatos son un grupo de compuestos formados por una combinación de azufre, carbono y nitrógeno (SCN^-). Se encuentran en varios alimentos y plantas; son producidos principalmente por la reacción de cianuro libre con azufre. Esta reacción ocurre en el ambiente (por ejemplo, en arroyos de desechos industriales que contienen cianuro) y en el cuerpo humano después de que el cianuro es ingerido o absorbido. El tiocianato es el principal producto que el cuerpo forma con el cianuro que ingresa al cuerpo, y es la manera en la que éste se deshace del cianuro. Aunque los tiocianatos son menos dañinos que el cianuro en seres humanos, se sabe que afectan la glándula tiroides, reduciendo la habilidad de la glándula para producir hormonas que son necesarias para el funcionamiento normal del cuerpo.

El tiocianato de amonio se usa en preparaciones de antibióticos, plaguicidas, combustibles líquidos para cohetes, pegamentos y cerillas. También se usa en procesos fotográficos, para aumentar la resistencia de sedas y como herbicida.

Los tiocianatos también se encuentran en el agua principalmente, debido a descargas generadas por el procesamiento de carbón, la extracción de oro y plata; y la minería. En el suelo provienen de la aplicación directa de herbicidas, plaguicidas y rodenticidas y de la disposición de subproductos generados en procesos industriales. Fuentes de menor importancia incluyen el tejido dañado o en descomposición de algunas plantas como por ejemplo mostaza, bretones y repollo.

Cianuro en el medio ambiente

El cianuro entra al aire, al agua y al suelo como consecuencia de procesos naturales y de actividades industriales. En el aire, generalmente se encuentra en niveles mucho menores que los que pueden ser peligrosos, estando presente principalmente como cianuro de hidrógeno gaseoso, y una pequeña proporción, como pequeñas partículas de polvo que eventualmente se deposita sobre el suelo y el agua. La lluvia y la nieve ayudan a remover las partículas de cianuro del aire, mientras que el cianuro de hidrógeno gaseoso es difícil de remover. La vida media (el tiempo necesario para remover la mitad del material) del cianuro de hidrógeno en la atmósfera es alrededor de 1 a 3 años. La mayor parte del cianuro en el agua superficial formará cianuro de hidrógeno y se evaporará. Sin embargo, la cantidad de cianuro de hidrógeno que se forma generalmente no es suficiente como para afectar la salud de seres humanos. Una porción del cianuro en el agua será transformada por microorganismos (plantas y animales de tamaño muy pequeño) a sustancias químicas menos dañinas, o formará complejos con metales, como por ejemplo con el hierro. La vida media del cianuro en el agua no es conocida y no se acumula en el cuerpo de los peces. Los cianuros son relativamente móviles en el suelo. Una vez allí, éste puede ser removido a través de varios procesos. Algunos compuestos de cianuro en el suelo pueden formar cianuro de hidrógeno y evaporarse, mientras que otros serán transformados a otras sustancias químicas por los microorganismos del suelo. Consecuentemente, los cianuros generalmente no se filtran hacia el agua subterránea, sin embar-

go, se han detectado ciertos niveles en unos pocos vertederos y en sitios para disposición de residuos industriales, siendo tóxicos para los microorganismos del suelo. Debido a que estos microorganismos ya no pueden transformar el cianuro a otras formas químicas, el cianuro puede pasar a través del suelo hacia el agua subterránea.

Hay menos información acerca de lo que le sucede al tiocianato cuando entra al ambiente. En el suelo y el agua, el tiocianato es transformado a otras formas químicas por los microorganismos. Esto ocurre en el suelo a temperaturas de hasta 86 °F (30 °C). A estas temperaturas, el tiocianato en el suelo no se evapora ni se adhiere al suelo.

Exposición al cianuro

Se puede estar expuesto a los cianuros al respirar aire y tomar agua, tocar tierra o agua que contienen cianuro, o al ingerir alimentos que lo contienen. La concentración de cianuro de hidrógeno en aire sin contaminación es menor a 0.2 partes de cianuro de hidrógeno por millón (ppm; 1 ppm es equivalente a una unidad de volumen de cianuro de hidrógeno en un millón de unidades de volumen de aire). La concentración de cianuro en el agua potable varía entre 0.001 y 0.011 ppm (1 ppm es equivalente a una unidad de peso de cianuro en un millón de unidades de peso de agua) en los Estados Unidos y en Canadá. El cloruro de cianógeno, se ha encontrado en concentraciones que varían entre 0.00045 y 0.0008 ppm en el agua potable de 35 ciudades de los Estados Unidos. No se sabe cuánta gente de la población general de los Estados Unidos está expuesta a cantidades significativas de cianuro a través del consumo de alimentos. Fumar es probablemente una de las principales fuentes de exposición al cianuro para personas que no trabajan en industrias relacionadas con éste. La inhalación de aire cargado con humo en incendios, puede constituir una fuente importante de exposición al cianuro. Las personas que viven cerca de sitios de desechos peligrosos que contienen cianuro pueden estar expuestas a cantidades de cianuro más altas que la población general.

El Sondeo Nacional de Exposición Ocupacional (NOES) ha estimado el número de trabajadores potencialmente expuestos a los siguientes cianuros: 4.005 al cianuro de hidrógeno; 66.493 al cianuro de sodio; 64.244 al cianuro de potasio; 3.215 al cianuro de potasio y plata; 3.606 al cianuro de calcio; 22.339 al cianuro cuproso; y 1.393 al cloruro de cianógeno. No hay ninguna información acerca de las concentraciones de tiocianato en aire o agua potable libre de contaminación.

El Sondeo Nacional de Exposición Ocupacional estima que 90.599 trabajadores están potencialmente expuestos a tiocianato de amonio.

Etiologías médico legales de la intoxicación por CNH

Existen distintas etiologías para ésta intoxicación, algunas más frecuentes que otras. Entre ellas encontramos:

Suicida: es la más frecuente debido al fácil acceso, y el conocimiento de sus rápidos efectos. En general se recurre a cianuro de potasio o sodio ya que se consiguen relativamente fáciles.

Accidental: también es muy frecuente, dentro de ésta podemos encontrar:

Profesionales: son muy importantes. Las personas expuestas a éste tipo de intoxicación son los trabajadores de empresas de cianhidrización dedicadas a la desinfección de locales, transportes públicos, etc. Así mismo son susceptibles aquellas personas que se dedican a la síntesis de compuestos cianurados, industria del caucho, fotografía, extracción de metales preciosos, dorado y plateado galvánico. El tratamiento con ácidos de aguas ricas en CN⁻ puede liberar HCN.

Alimenticias: debido a consumo de vegetales que contienen glucósidos cianogenéticos o lícores obtenidos por destilación de los mismos, ej. Kisch, Pérsico, Marrasquino, etc.

Casuales: en general ocurren durante o luego de las desinfecciones de viviendas, ya que se absorbe en grandes proporciones en ropas, colchones y elementos en las paredes aún cuando exista ventilación de la habitación. Para evitar intoxicaciones posteriores se le adiciona al HCN un compuesto lacrimógeno (bromato de bencilo) como indicador.

Además la *combustión incompleta de compuestos que tienen N* puede derivar en desprendimiento de HCN, como suele ocurrir en incendios donde se queman telas plásticas.

Bélica: se usó como arma en la primera guerra mundial.

Suplicio: utilizado en la ejecución en cámara de gas en USA, además de campos de exterminio de la segunda guerra mundial.

Farmacocinética del Acido cianhídrico

De acuerdo al estado físico en el que se presente el compuesto cianurado, la absorción será diferente. En el caso de HCN en estado gaseoso, se absorbe por vía respiratoria y es capaz de pasar muy rápidamente a la circulación. Una vez allí la distribución en todo el organismo es sumamente rápida.

Por otro lado, las sales cianuradas se absorben por vía digestiva. Cuando las sales de cianuro llegan al estómago son atacadas por el HCl que se encuentra en él y se desprende HCN naciente, el cual es muy reactivo y se absorbe rápidamente a través de la mucosa gástrica, llegando así a todo el organismo vía sanguínea en un lapso muy breve.

El caso de los glucósidos cianogenéticos es ligeramente distinto, ya que éstos generan HCN por tratamiento enzimático. Durante la masticación y la digestión se libera el fermento enzimático (emulsina) y así entra en contacto con la amigdalina. De esta reacción surge el HCN que produce la intoxicación. Es importante tener en cuenta que esta reacción sólo ocurre si ambos compuestos entran directamente en contacto, ya que si por ejemplo se administra emulsina por vía digestiva y amigdalina por vía parenteral, la reacción no tendrá lugar debido a que el pH gástrico inactiva a la emulsina.

Como vemos en el esquema anterior (Fig. 8), una porción del HCN se elimina vía respiratoria sin modificarse. El resto se metaboliza principalmente a SCN⁻, al combinarse con el hiposulfito endógeno en una reacción catalizada por la rodanasa, una transferasa sulfúrica de los tejidos. Los SCN⁻ se distribuyen por los tejidos corporales sin modificarse y permanecen en el compartimiento extracelular, para luego eliminarse mayoritariamente vía renal. Esta transformación está condicionada por las reservas endógenas de hiposulfito, lo cual explica las diferencias que se observan en la forma en que reaccionan distintas personas ante el HCN.

Además en presencia del aminoácido azufrado cisteína, el HCN genera un compuesto cíclico, el ácido 2-imino tiazolidín-4-carboxílico que se elimina en orina y saliva.

Metabolismo y excreción

El HCN actúa como un *tóxico anoxiante*, su acción se ejerce directamente sobre las células produciendo la muerte de éstas sin desorganizarlas, inhibiendo funcionalmente su metabolismo, actuando especialmente sobre la respiración celular.

El HCN se combina con los elementos metálicos de los fermentos catalizadores, fundamentalmente citocromos C (cit_c) y los inhibe, interfiriendo de esta forma con la respiración celular. Así quedan privados de utilizar O_2 los distintos elementos celulares y las células mueren por anoxia, aún cuando los tejidos estén correctamente irrigados y reciban cantidades suficientes de O_2 .

Su acción es selectiva ya que no ataca a las enzimas y componentes que participan en la respiración anaeróbica, pero anula completamente el metabolismo aeróbico debido a que inhibe el sistema de la citocromo oxidasa.

El bloqueo se da por la formación de un complejo cianhídrico con el Fe^{+3} orgánico presente en la enzima (hemina). De esta forma el sistema es capaz de activar y captar O_2 , pero no de cederlo al citocromo reducido. Al ocurrir esto, los aportes siguientes de O_2 no pueden abandonar la sangre por estar inhibido el sistema de la citocromo oxidasa, lo cual produce la arterialización de la sangre venosa.

Esta inhibición produce anoxia aguda en los tejidos con la consecuente disminución del potencial redox en la célula. Debido a esto se produce la muerte celular en todos los tejidos, presentándose este daño en forma más precoz en aquellos órganos que tienen un mayor requerimiento de O_2 como son órganos del SNC y corazón.

Como la fase anaerobia de la respiración no se encuentra afectada, los tejidos pueden conservar cierta actividad respiratoria. Esta respiración residual está relacionada con la cantidad de Vit B₂ del individuo, lo cual explica la reversión de ciertos comas cianurados.

Asimismo, cuando esta vía funciona en reemplazo de la vía aerobia se generan grandes cantidades de ácido láctico, el cual se metaboliza hasta un cierto punto y luego comienza a acumularse generando una acidosis metabólica.

Síntomas Clínicos

Se pueden presentar varios tipos de lesiones y síntomas dependiendo del estado en que se ingiere el tóxico. Cuando se ponen en contacto compuestos cianurados con la piel se observan lesiones irritativas en la zona de contacto. Asimismo, si se ingieren sales cianuradas se producen lesiones a nivel de la mucosa estomacal debido a la acción cáustica de los álcalis con los que viene impurificada la sal.

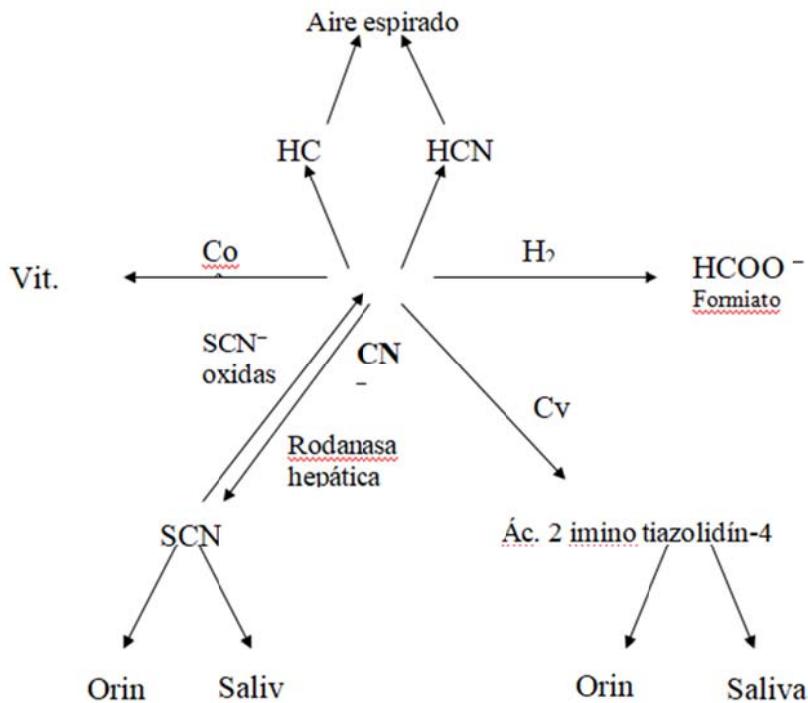


Figura 7. Esquema del metabolismo y excreción del HCN.

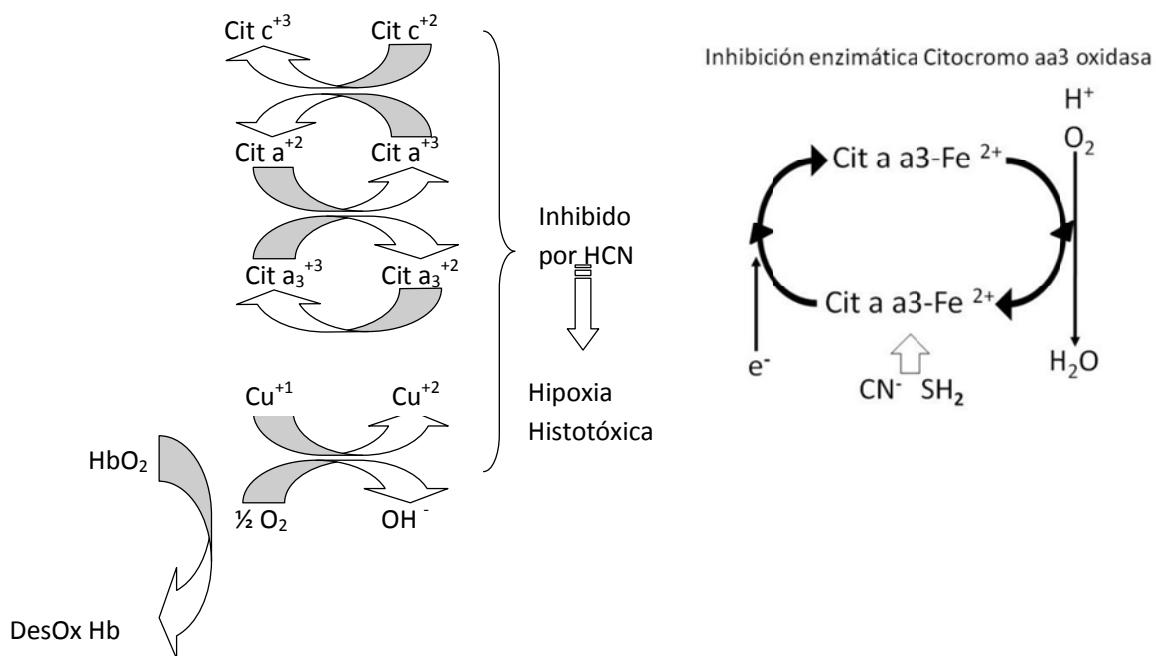


Figura 8. Mecanismo de acción propuesto para el HCN.

En el caso de la inhalación de HCN el cuadro se da con mayor rapidez, presentando síntomas similares a los que se producen por la ingestión de cianuros alcalinos o glucósidos cianogenéticos. Se distinguen tres formas clínicas en los casos agudos de acuerdo a la dosis absorbida:

Forma sobreaguda o fulminante: el paciente presenta un grave malestar, pierde el conocimiento y cae bruscamente. El intoxicado queda rígido, con respiración dificultada, dilatación

pupilar y exoftalmia; pudiendo sufrir crisis convulsivas, pulso irregular y muerte por paro respiratorio en 2 o 3 minutos desde la ingesta o inhalación del tóxico.

Forma aguda: en éste caso la evolución de los síntomas es más lenta. Comienza con cefalea, pesadez, vómitos. Luego se produce la sensación de constrictión de la garganta y palpaciones; al final de éste primer período puede producirse pérdida de conocimiento. Seguidamente se instaura una fase dominada por disnea, con ritmo respiratorio lento y pausas intercaladas, espiraciones largas, profundas y convulsivas seguidas por pausas espasmódicas. Si la pérdida de conciencia no se dio antes, se produce en éste momento de manera similar a lo que ocurre en la forma fulminante. A continuación se producen convulsiones, que varían en intensidad de un caso a otro, el paciente suele presentar espuma en la boca y midriasis intensa. Finalmente se presenta una fase terminal caracterizada por un coma flácido, respiración lenta y superficial, enfriamiento progresivo del cuerpo, pulso lento que se acelera un poco antes de la muerte. El deceso del paciente se produce por paro respiratorio entre 30 y 50 minutos después del comienzo del cuadro clínico. Si el sujeto sobrevive puede presentar secuelas neurológicas como parkinson o parálisis. El intoxicado presenta una coloración rosada debida a la gran cantidad de HbO₂ en sangre.

Forma leve: presenta los mismos síntomas que el caso anterior pero más atenuados. Cefaleas, vértigo, sensación de debilidad, respiración dificultada, convulsiones. Pueden existir secuelas neurológicas. Un indicio para el diagnóstico es el olor a almendras amargas en el aliento del intoxicado.

También existe una *intoxicación crónica* entre los trabajadores que manejan cianuro, dominada por cefaleas, faringitis, salivación abundante, vértigo, trastornos de la marcha, daños en la glándula tiroidea, alteraciones cutáneas como dermatitis, eccemas, acné. Así mismo se presentan vómitos, pérdida del apetito y alteraciones digestivas que producen el descenso de peso del intoxicado.

La exposición a cantidades pequeñas de cianuro puede ser fatal, la gravedad de los efectos depende, en parte, de la forma de cianuro, por ejemplo cianuro de hidrógeno gaseoso, o sales de cianuro. La exposición a niveles altos durante un período breve, daña el cerebro y el corazón pudiendo producir coma y la muerte. El cianuro produce efectos tóxicos a niveles de 0.05 miligramos de cianuro por decilitro de sangre (mg/dl) o mayores, y casos fatales han ocurrido a niveles de 0.3 mg/dl o mayores. Algunas personas que respiraron 546 ppm de cianuro de hidrógeno murieron después de 10 minutos de exposición y 110 ppm pusieron en peligro la vida después de 1 hora de exposición.

Individuos que ingieren pequeñas cantidades de compuestos de cianuro en un tiempo breve pueden morir, a menos que reciban tratamiento médico rápidamente.

Las primeras indicaciones de intoxicación con cianuro son, la respiración rápida y profunda con falta de aliento, seguido de convulsiones y pérdida del conocimiento. Estos síntomas pueden manifestarse rápidamente, dependiendo de la cantidad de cianuro ingerida. Los efectos de cantidades de cianuro más altas son similares, ya sea que lo coma, beba o respire. La entrada de cianuro al cuerpo a través de la piel es más lenta produciendo irritación y llagas. Algunos

trabajadores que respiraron cantidades de cianuro de hidrógeno tan bajas como 6 a 10 ppm durante años sufrieron dificultades para respirar, dolor del pecho, vómitos, alteraciones de la sangre, dolores de cabeza y dilatación de la glándula tiroides.

El uso de raíces de mandioca como alimento principal ha producido niveles altos de cianuro en la sangre en algunas personas en países tropicales, algunas de las cuales sufrieron efectos en el sistema nervioso como: debilidad en los dedos de las manos y los pies, dificultad para caminar, visión con penumbras y sordera, pero puede que otras sustancias químicas también hayan contribuido a estos efectos. La exposición al cianuro a través del consumo de mandioca se asoció a una disminución de la función de la glándula tiroides y a dilatación de la misma, debido a que el tiocianato, que forma cuerpo a partir del cianuro, la ataca. No hay evidencia de que el cianuro afecte directamente la reproducción en seres humanos, pero en ratas y ratones que tomaron agua con cianuro de sodio se observaron alteraciones del sistema reproductivo. Otros efectos que se observaron en estudios en animales fueron similares a los observados en seres humanos. No hay evidencia de que el cianuro produzca cáncer en seres humanos o en animales. La EPA (Environmental Protection Agency) ha determinado que el cianuro no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.

La vitamina B12, una sustancia química que contiene cianuro, es beneficiosa para el organismo porque previene la anemia (sangre deficiente en hierro). El cianuro al estar unido a la vitamina no representa una fuente de exposición y no puede hacer daño.

Anatomía patológica

El cadáver presenta una coloración rojo claro en la piel dándole aspecto como de vida. Se observan livideces paradójicas así como rigidez precoz e intensa. Durante la autopsia, al realizar la disección, se percibe un olor a almendras amargas. Las vísceras, tejidos y sangre presentan un color rosado muy llamativo. Si la intoxicación se produjo por ingesta de sales se observan lesiones cáusticas en estómago y esófago, las cuales pueden presentarse también en la mucosa oral y vías respiratorias superiores producidas por aspiración del vómito. También se observa congestión visceral generalizada.

Tratamiento de la intoxicación

Existen distintos tratamientos que pueden aplicarse dependiendo en qué etapa del cuadro clínico se encuentre el paciente. Así tendremos un:

Tratamiento profiláctico: es aplicable sólo cuando la intoxicación se debe a la ingesta de sales cianuradas o glucósidos cianogenéticos, y debe iniciarse inmediatamente después de la ingestión. El objetivo de este tratamiento es impedir la liberación de HCN. Si el paciente ingirió sales cianuradas se le administrarán soluciones alcalinas en cantidad suficiente como para neutralizar el HCN, mientras que si la intoxicación se debe a la ingesta de glucósidos cianogenéticos se administrarán limonadas ácidas (clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, láctico, cítrico y acético diluidos) con el fin de aumentar la inactivación generada por el jugo gástrico sobre la emulsina.

Tratamiento evacuante: si el paciente inhaló vapores de HCN se debe extraer inmediatamente al individuo del ambiente contaminado. Si la intoxicación se debe a la ingestión de compuestos cianurados se debe provocar el vómito utilizando por ejemplo tartrato emético, o realizar lavado gástrico con sustancias oxidantes (MnO_4K 1:2000). Si se retrasa la administración de este tratamiento, debido a la rapidez con que progresá el cuadro, se debe aplicar directamente el tratamiento antidótico.

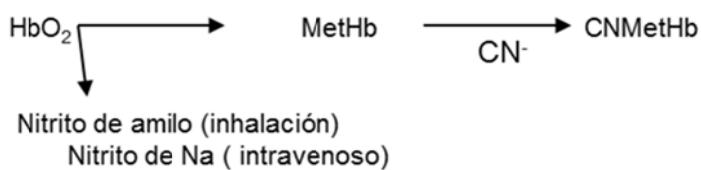
Tratamiento neutralizante: se encuentran varias sustancias que neutralizan el HCN no absorbido, pero debemos tener en cuenta la salvedad con respecto a la rapidez en la aplicación hecha anteriormente; caso contrario se realizará tratamiento antidótico directamente. Dentro de estas sustancias neutralizantes encontramos: hiposulfito y sangre (debido a su contenido de catalasas y oxidasa) convertirán CN^- en SCN^- , pudiendo utilizarse para lavado gástrico o por vía oral; H_2O_2 genera oxamida con el HCN; MnO_4K y $NaHCO_3$ en H_2O dan cianatos, SO_4Fe en solución alcalina débil formará cianuro de Fe; hidrato de óxido de Fe coloidal generará azul de Prusia.

Tratamiento antidótico: existen varios tratamientos a aplicar:

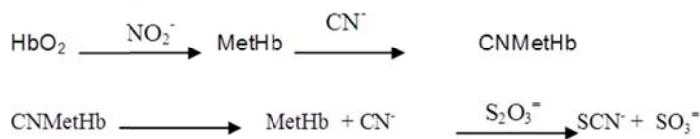
Glucosa o derivados: reaccionan con los CN^- en medio ácido dando una heptosa y desapareciendo la molécula ciánica en la reacción.

Azufre y sustancias azufradas: transforman CN^- en SCN^- que es considerablemente menos tóxico. Los principales compuestos utilizados con éste fin son hiposulfito sódico y tetrasulfonato sódico.

Metahemoglobinizantes: forman pequeñas cantidades de metahemoglobina que presenta una gran afinidad por el CN^- , y al combinarse con éste genera cianmetahemoglobina que no presenta toxicidad. Sin embargo, debe tenerse cuidado porque un exceso de CNMetHb puede desencadenar un estado de shock.



Asociación de tratamiento con metahemoglobinizantes e hiposulfito: se producirá fijación del HCN y descomposición – eliminación.



EDTA-Co: reacciona con el CN^- y forma cobaltocianuro, que se excreta por orina en 24 horas.

Tratamiento sintomático: se cuenta con una variedad de tratamientos que mejorarán el estado general del paciente; entre ellos: infusión de la Hormona adrenocorticotropica (ACTH) transfusiones sanguíneas si hay signos de shock, estimulación de la función circulatoria (ej. con cafeína), vitamina B₂ (lactoflavina) por su papel en la respiración anaerobia celular, respiración artificial con el fin de estimular la función circulatoria y mantenimiento de la función respiratoria.

¿Cómo se evalúa el grado de exposición a compuestos cianurados?

Se puede medir el tiocianato potásico plasmático, que es un marcador de la cantidad de desintoxicación endógena de cianuro; niveles superiores a 20 mg/dl se consideran peligrosos, y por encima de 100 mg/dl son letales. También se pueden medir los niveles de cianuro y tiocianato en la sangre y orina, pero siempre se detectan cantidades pequeñas de estos compuestos como resultado de procesos naturales. Después de una intoxicación con cianuro, los niveles de éste y tiocianato en la sangre aumentan. Asimismo, si se sospecha de una intoxicación, se pueden medir los niveles de cianuro en los tejidos, pero, tanto el cianuro como el tiocianato son eliminados del cuerpo rápidamente en la orina o el aliento. Por lo tanto, los niveles en la sangre sólo indican exposición reciente. Un olor amargo, similar a almendra, en el aliento puede alertar a un doctor de que una persona se expuso a cianuro, pero éste no es siempre el caso. En general, si se sospecha exposición a cianuro, el tratamiento debe iniciarse inmediatamente sin esperar los resultados de las mediciones de cianuro en la sangre. Si bien el tiocianato es siete veces menos tóxico que el cianuro, en concentraciones altas provenientes de una exposición crónica al cianuro puede afectar la glándula tiroides.

Tabla.3: Niveles de cianuro en sangre según exposición

Tiocianato en suero	No expuestos	3 mg/L
	No fumadores	
Índice de exposición biológica		20.0 mg/L
Tiocianato en orina	No expuestos	Hasta 5.0 mg/g creatinina
	No fumadores	
Índice de exposición biológica		20.0 mg/g de creatinina

Análisis toxicológico del ácido cianhídrico

La investigación de ácido cianhídrico puede realizarse con diferentes tipos de muestra: vísceras (que necesitarán de una previa homogenización), líquidos biológicos, sangre u orina, alimentos (productos vegetales o animales) y medicamentos. Se debe prestar especial cuidado en casos de suicidio con cianuro al realizar la autopsia, en especial al retirar o manipular el contenido gástrico, dado que por su pH puede liberar cantidades peligrosas de cianuro.

hídrico. Cualquier envase obtenido del lugar del hecho debe ser analizado bajo campana de extracción de gases.

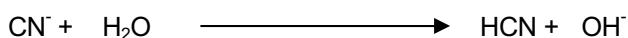
El recipiente que contiene la muestra debe estar escrupulosamente limpio, seco y cerrado herméticamente para evitar pérdidas. Si el material son vísceras, no deben conservarse en formol porque este reacciona con el ácido cianhídrico formando cianhidrinas de las que no se puede liberar HCN. Las muestras deben conservarse en frío para evitar la acción enzimática y bacteriana sin agregado de conservantes.

Existen tres tipos de determinaciones del ácido cianhídrico: los ensayos inmediatos o preliminares, los ensayos mediados y los ensayos cuantitativos.

Ensayos cualitativos o inmediatos

La identificación directa del HCN en el recipiente que contiene el material es posible gracias a su elevada presión de vapor a temperatura ambiente y procesos hidrolíticos que ocurren con cierta rapidez por las condiciones del medio, pH, temperatura, etc. En la atmósfera del recipiente se libera CNH que puede deberse a dos tipos de procesos: **hidrolíticos y putrefactivos**.

Hidrolíticos

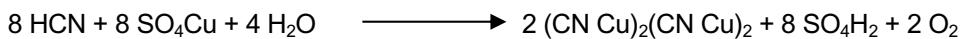


El equilibrio se desplaza hacia la derecha. En vísceras en estado **putrefactivo** se libera CNH de acuerdo con:



Los ensayos inmediatos son técnicas que se realizan en la atmósfera del recipiente que contiene la muestra mediante el empleo de los llamados papeles sensibles. Se utilizan papeles impregnados en diferentes reactivos:

Utilización de papel de guayaco: el ensayo se fundamenta en el aumento del potencial de oxidación de las sales cúpricas al pasar a sales cuprosas insolubles o poco disociadas. El sistema Cu(II)-cianuro se acopla a un compuesto reductor (resina de guayaco) que por oxidación origina un derivado coloreado (de color castaño vira al azul). En el momento de su uso, se embebe una franja de papel de filtro en una solución de SO_4Cu al 0,2 % dejando escurrir el exceso. Luego se embebe en una solución alcohólica de resina de guayaco al 10% de reciente preparación. El reactivo del papel de guayaco colocado en la boca del recipiente que contiene el material a analizar y el O_2 producido en la reacción forman un compuesto de color azul en forma inmediata.

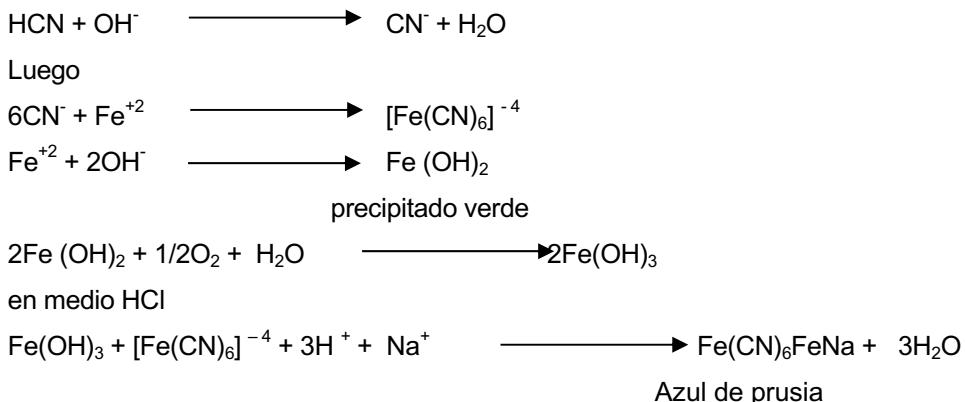


Un ensayo negativo permite descartar la presencia de HCN dada su sensibilidad. Un ensayo positivo no entrega mayores datos y requiere confirmación con ensayos específicos. El ensayo presenta interferencias de tipo oxidantes directos de la resina de guayaco y reductores que actúan de la misma forma que el cianuro sobre las sales de cobre. Es un ensayo clásico, sensible pero inespecífico, pudiendo detectarse hasta 0,25 μg de ácido cianhídrico.

Ensayo con o-toluidina: presenta igual fundamento que la reacción anterior pero la visualización se realiza con o-toluidina. También se puede usar bencidina, fenoftaleína o cualquier sustancia que al oxidarse forme un complejo coloreado. Esta reacción es altamente sensible pero inespecífica. El ensayo es similar al anterior. En presencia de ácido cianhídrico se observa en forma inmediata color azul verdoso que rápidamente vira al azul neto. Presenta mayor sensibilidad que el ensayo guayaco cúprico.

Ensayo de Grignard: el ensayo se fundamenta en que el ácido pícrico en presencia del HCN, liberado de la muestra ácida, forma isopurpurato alcalino, de color rojo al rojo naranja en el transcurso de cinco minutos. Para realizar el ensayo, se embeben tiras de papel de filtro con solución acuosa de ácido pícrico y se escurre el exceso. Si el papel se prepara en el momento, el ensayo presenta su máxima sensibilidad. El reactivo dura indefinidamente. El papel se coloca en la boca del recipiente que contiene la muestra a analizar. Un color rojo naranja indica resultado positivo.

Ensayo de Magnin: se basa en la formación de azul de Prusia.



Se impregna una tira de papel con hidróxido de sodio al 2% y se expone en el interior del recipiente unos minutos. Se retira y se extiende sobre una cápsula de porcelana. Se distribuyen sobre la superficie expuesta 4 gotas de solución de sulfato ferroso 2%. Se observa un precipitado verdoso que luego pasa a castaño (hidróxido férrico). Finalmente por agregado de unas gotas de ácido clorhídrico concentrado se observa color azul por formación azul de Prusia. Es una reacción poco sensible pero muy específica. Siempre se efectúan por lo menos dos reacciones: una muy sensible y otra muy específica. Si las dos reacciones arrojan resultados positivos se realiza el aislamiento.

Ensayos mediatos

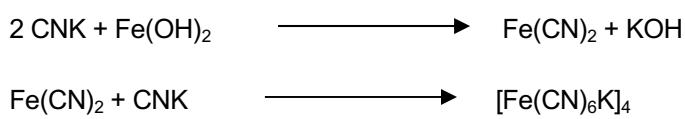
Para este tipo de determinaciones es muy importante realizar un correcto aislamiento del HCN contenido en la muestra a procesar.

Aislamiento: cuando se sospecha la presencia de ácido cianhídrico mediante los ensayos antes especificados, se procede al aislamiento y posterior identificación. Para la realización de los ensayos mediatos, se requiere de una separación previa del HCN de la muestra. Son adecuadas una

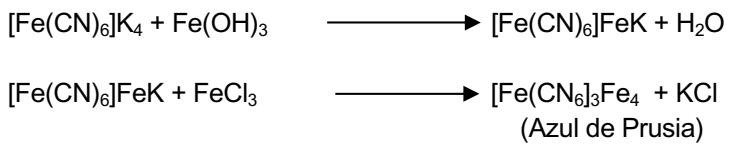
destilación simple o una microdifusión. En la destilación simple se agrega al material ácido tartárico. El destilado se recoge en hidróxido de sodio para evitar pérdidas del ácido cianhídrico liberado. En el caso de muestras en estado de putrefacción se debe agregar al material a destilar acetato básico de plomo para retener el ácido sulfídrico.

Para realizar el aislamiento por destilación se coloca una porción del material biológico en un matraz de destilación y se cubre con agua. Luego se agrega ácido tartárico al 10% y destilar recogiendo sobre NaOH 10%. Se calienta al principio suavemente para evitar la formación de espuma y una vez alcanzado el punto de ebullición se eleva lentamente la temperatura. Es importante que la extremidad del tubo de desprendimiento conectado al extremo del refrigerante tome contacto con la solución alcalina. Suspender la destilación cuando hayan pasado alrededor de 1/3 del volumen inicial. Medir el volumen destilado para realizar posteriormente determinaciones cuantitativas.

Técnica del Azul de Prusia modificada o técnica de Chellen Klassen: el ensayo se fundamenta en la formación de un precipitado azul por formación de azul de prusia (ferricianuro férrico) a partir del destilado, efectuando un ajuste previo del pH a un valor de 8 para favorecer la precipitación. Las reacciones correspondientes son las siguientes:



Se agrega HCl y se agita:

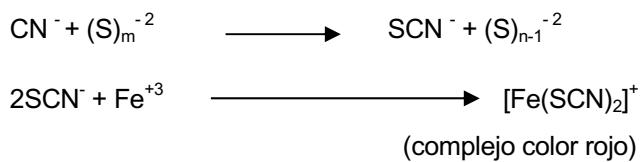


Se intensifica con H_3PO_4 o Cl_2Ba , ya que forman sales insolubles de SO_4Ba que sedimentan arrastrando el Azul de Prusia al fondo del tubo, donde se observará un botón blanco azulado. La sensibilidad de la reacción es de hasta 10 μg de ión cianuro. Con el agregado de cloruro de bario se puede revelar hasta 5 μg de ión cianuro.

Reacción sulfocianúrica o de Von Liebig: el método consiste en el agregado de un exceso de polisulfuro al destilado y posterior calentamiento para formar sulfocianuro. Luego se acidifica la solución formándose ácido sulfocianhídrico que con cloruro férrico aparece color rojo. Para realizar la determinación se colocan unos ml de destilado en una cápsula de porcelana y se agregan unas gotas de polisulfuro de amonio (amarillo).

Se procede calentando suavemente durante 5 minutos sobre tela metálica, agitando el líquido con varilla y agregando sulfurente a medida que la solución se decolora. Cuando el contenido se haya concentrado y se observe persistencia de color amarillo se considera prácticamente realizada la transferencia en sulfocianuro. Se deja enfriar y se acidifica con solución concentrada de HCl hasta reacción ácida frente al rojo congo. El compuesto puede aislarse por tratamiento con éter etílico realizando tres extracciones con 20, 10 y 10 ml de éter cada una. Los extractos etéreos se evaporan en cápsula de porcelana y dejar evaporar el éter

a temperatura ambiente. Luego se trata el residuo con 2 o 3 gotas de cloruro férrico al 0.5% y aparece color rojo de intensidad variable (50 µg de HCN transformado en SCN- el color aparece rápidamente).



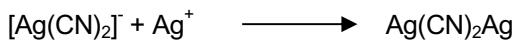
El ensayo es altamente sensible y específico. Algunos autores estiman que es posible revelar ión cianuro en la proporción de 100 µg/L.

Ensayos cuantitativos

Método de Denigés: constituye una valoración en donde se forma una sal estable de AgCN y el exceso de Ag⁺ en el punto final forma un compuesto de color amarillo con el ión ioduro de acuerdo con las siguientes reacciones. Este procedimiento es apto para concentraciones elevadas.

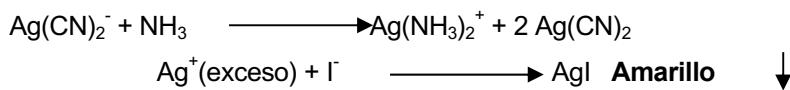


(complejo soluble)



(se forma antes del punto final)

Se corrige con NH₃



Se toman unos ml de destilado y se agrega amoníaco concentrado y KI al 10%. Luego se titula con solución de nitrato de plata 0.01N hasta aparición de turbiedad permanente.

Cálculos = 1ml de NO₃Ag (0.01 N) = 5.4 10⁻⁴ gr HCN = 0.54 mgr de HCN.

Determinación de cianuro en alimentos, sangre e hígado

Método de formación de manchas de azul de Prusia: el método se fundamenta en que el cianuro de la muestra es liberado por acción del ácido sulfúrico o ácido tricloroacético y aspirado a través de un disco de papel impregnado en sulfato ferroso dentro de un flange y se forma ion férrico visualizado como manchas de ferrocianuro férrico (azul de Prusia). El disco es luego sumergido en ácido clorhídrico hasta que toda la porción sin reaccionar sea eliminada. La intensidad de la mancha es proporcional a la cantidad de cianuro presente en la muestra.

Método de microdifusión de Feldstein-Klendshoj: en la cápsula de Conway el ácido cianhídrico difunde del compartimiento externo al interno siendo fijado como cianuro en la solución alcalina. Se toma una alícuota del compartimiento interno y se agrega cloramina T, formándose cloruro de cianógeno. Luego por el agregado de piridina se forma cloruro de

cianopiridina. La acción hidrolítica determina la apertura del anillo piridínico, para dar lugar a la formación del ácido glutacónico. Si este derivado se hace reaccionar con ácido barbitúrico se forma un complejo rojo que se lee a 580 nm.

Ácido Sulfídrico

Denominaciones: N°CAS: 7783-06-4.

Sinónimos, nombres comerciales: hidruro de azufre, hidrógeno sulfurado.

Datos físicos-químicos básicos:

Formula: H₂S (gas).

Masa molecular relativa: 34.1 g/mol.

Densidad relativa del gas respecto al aire (=1): 1.19.

Umbral de olor: olor característico a huevos podridos. Se puede oler a bajos niveles. Por encima de 50 ppm en el aire respirado se produce una afección del nervio olfatorio que conduce a perdida del olfato.

Solvólisis: en agua, 0.5 g/100ml a 20°C.

Punto de ebullición: -60°C.

Punto de inflamación: gas inflamable.

Fuentes naturales: se produce en forma natural por la descomposición y putrefacción de materia orgánica, en el petróleo crudo, gas natural, gases Volcánicos y termas.

Fuentes antropogénicas: se origina de actividades industriales como procesamiento de alimentos, hornos de carbón, molinos que producen papel de alta resistencia, curtidurías y refinerías de petróleo.

Alta toxicidad (semejante al cianuro).

Fuentes de intoxicación: Limpieza de pozos, cisternas y fosas sépticas, evacuación de estiércol animal, excavación de zanjas y pozos, tratamiento de la lana y pieles de carnero, industria del papel (pasta de papel), refinerías de petróleo, minas, túneles y fumarolas volcánicas

El ácido sulfídrico es liberado principalmente en forma de gas y se dispersa en el aire. Cuando se libera, forma anhídrido sulfúrico y ácido sulfúrico en la atmósfera. El anhídrido sulfúrico puede descomponerse aun más y es uno de los principales componentes de la lluvia ácida permaneciendo en la atmósfera cerca de 18 horas. En ciertos casos, puede ser liberado en el desecho líquido de una planta industrial.

Exposición al ácido sulfídrico

Ocurre principalmente a través del petróleo crudo, gas natural, gases volcánicos y termas. La exposición laboral se produce en refinerías de petróleo, industria petroquímica o de gas natural; procesamiento de alimentos; tratamiento de aguas servidas; plantas de hornos de coque; curtidurías; molinos de pulpa o papel; vertederos; o haciendas con tanques de almacenaje manuales.

Una pequeña cantidad de ácido sulfídrico es producida por bacterias en la boca y en el tubo digestivo y por enzimas en el cerebro y los músculos.

Es un gas tóxico responsable de más muertes en explotaciones animales que ningún otro gas. Éste se forma constantemente durante la descomposición anaerobia de los excrementos, siendo más denso que el aire y tiene olor a huevos podridos a bajas concentraciones (< 50 ppm) y a concentraciones más elevadas es inodoro. El sistema de ventilación podría no ser suficientemente eficiente para extraer el sulfuro de hidrógeno por el hecho de que el gas es más pesado que el aire ambiental. Cuando se agitan los desperdicios o se extraen de los fosos, se libera rápidamente el sulfuro de hidrógeno que puede alcanzar concentraciones de 50 ppm o más. El mayor riesgo de concentración elevada de gas está asociado con los fosos profundos y el reciclado de residuos. Puesto que no se puede oler a concentraciones más altas, el personal podría llegar a la conclusión de que ha pasado el peligro. En el peor de los casos, tanto los animales como las personas llegan a perder el conocimiento y mueren en un período de tiempo relativamente corto después de la exposición a concentraciones elevadas.

Tabla 4. Relación entre la exposición a ácido sulfídrico y sus efectos

Concentración de ácido sulfídrico, ppm	Reacción humana
0.025-0.1	Detección del olor
1	Olor débil
3-5	Olor repugnante
10	Concentración higiénica máxima para un día de trabajo
30	Olor repugnante muy fuerte
50-100	Pérdida de visión y dificultad para respirar Tos y dificultad para tragar
100-200	Sensación de olor inhibido después de 2-15 minutos Mareos después de 15-30 minutos
350-450	Inconsciencia y muerte después de 1 hora de exposición
500-600	Inconsciencia y muerte después de 0,5 horas de exposición
600-700	Inconsciencia y muerte después de 2-15 minutos de exposición
700-2000	Inconsciencia y muerte después de 1 minuto de exposición

Mecanismo de acción

Hipoxia histotóxica: bloquea la citocromo oxidasa celular bloqueando la cadena transportadora de electrones (reducción del oxígeno molecular del agua). También se une a Hb de la sangre formando sulfometahemoglobina (para algunos autores es el principal mecanismo de acción)

Farmacocinética: absorción por vía inhalatoria

Metabolización: sulfatos y tiosulfatos

Transforma la MetaHb es Sulfometahb con una vida media de 2 horas a 24°C

Eliminación: en parte como sulfídrico por vía respiratoria

El organismo posee gran capacidad de detoxificación

El ácido sulfídrico es considerado un veneno de amplio espectro, lo que significa que puede afectar a varios sistemas diferentes en el cuerpo. Unos pocos minutos inhalando aire con niveles muy altos de ácido sulfídrico pueden causar la muerte. Despues varias inhalaciones se pueden perder el conocimiento. La exposición a concentraciones más bajas puede producir irritación a los ojos, dolor de garganta y tos, falta de aliento y líquido en los pulmones. Estos síntomas generalmente desaparecen dentro de unas semanas. La exposición a bajos niveles por largo tiempo puede producir fatiga, pérdida del apetito, dolores de cabeza, irritabilidad, pérdida de la memoria y mareo.

Este gas tiene un doble efecto tóxico. A dosis bajas posee un efecto local, irritante sobre mucosas. Tiene un efecto sistémico similar al del cianuro y el CO, ya que es capaz de unirse con la citocromooxidasa, bloqueando la cadena de transporte de electrones para la respiración celular (de forma más potente que el cianuro) y además se une a la hemoglobina formando el complejo sulfohemoglobina no apta para el transporte de oxígeno.

Se le ha descrito acción directa sobre el cuerpo carotideo, lo cual conduce a una intensa taquipnea, pero también es capaz de actuar sobre el tronco del encéfalo inhibiendo el centro respiratorio lo cual se traduciría en apnea.

El SH₂ se absorbe muy rápido por vía inhalatoria casi de forma exclusiva, produciendo un efecto irritante, incluso a concentraciones bajas. La absorción por vía cutánea es mínima, aunque se han publicado casos de intoxicación por aplicación de preparados dermatológicos.

Su metabolización sigue varias vías en el organismo teniendo éste gran capacidad para ello, por lo que su toxicidad no depende tanto del tiempo de exposición como de la intensidad:

La oxidación es la vía de metabolización más importante. Se produce tanto de forma espontánea como mediada por mecanismos enzimáticos, consumiendo O₂ por ambas vías. El tiosulfato y otros sulfatos son los productos finales y no son tóxicos. Esta reacción tiene lugar fundamentalmente en hígado, pero también se produce en pulmones, riñones y en el plasma.

La metilación: es la vía utilizada por el SH₂ producido de forma endógena por bacterias anaerobias a nivel intestinal. Esta reacción tiene lugar de forma secuencial en los propios enterocitos.

La unión con proteínas con grupos sulfhidrilo: constituye su mecanismo de acción más importante, pero en el caso de ciertas proteínas que contenido glutatión, también es una forma de detoxificación a tener en cuenta a la hora del tratamiento.

La excreción se realiza en forma de metabolitos no tóxicos oxidados por los riñones. Tan solo una mínima parte del SH₂ es eliminado por los pulmones sin metabolizar.

No se ha demostrado que el ácido sulfídrico produzca cáncer en seres humanos, y su habilidad para producir cáncer en animales no se ha estudiado completamente. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS), la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y la EPA no han clasificado al ácido sulfídrico en cuanto a su carcinogenicidad. Por ser más pesado que el aire, el ácido sulfídrico tiende a permanecer cerca del suelo, por lo que los niños, siendo de menos estatura que los adultos, pueden exponerse a mayores cantidades que los adultos en la misma situación. No se sabe si el ácido sulfídrico puede producir defec-

tos de nacimiento en seres humanos. Algunos estudios en animales han observado problemas de desarrollo a consecuencia de la exposición al ácido sulfídrico.

¿Cómo se demuestra la exposición al ácido sulfídrico en personas y en ambiente?

En casos de peligro de muerte a raíz de envenenamiento con ácido sulfídrico, la detección de sulfuro en sangre o de tiosulfato en orina pueden usarse para confirmar la exposición. Sin embargo, las muestras deben tomarse dentro de 2 horas de la exposición para que sean de utilidad.

Existen tiras de papel de acetato capaces de detectar el SH₂ en el aire. Embebidas en soluciones que contienen sales de plomo, hierro o bismuto forman sulfuros de estos metales.

El monitoreo atmosférico puede realizarse mediante equipos analizadores que utilizan distintos principios de detección; por ejemplo, el que se basa en producción de fluorescencia. El aparato es un analizador controlado por un microprocesador que determina la concentración de ácido sulfídrico en una muestra de gas corrida a través del instrumento, estableciendo un flujo constante de gas a través de la cámara de muestra donde el SH₂ es convertido en SO₂ el cual es expuesto a la luz ultravioleta haciendo que el SO₂ sea excitado. Cuando esas moléculas excitadas de SO₂ dejan de estarlo, fluorescen. El instrumento mide la cantidad de fluorescencia para determinar la cantidad de SO₂ presente en la cámara de muestra, y mediante inferencia determinar la cantidad de S H₂ presente en la muestra de gas.

Valores guías que se recomiendan para proteger la salud pública

La EPA ha establecido que el ácido sulfídrico es una sustancia tóxica reglamentada y es una sustancia peligrosa bajo la definición de la Ley Federal de Control de Contaminación del Agua. La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) ha establecido una concentración máxima aceptable de 20 ppm en el trabajo con un nivel máximo de 50 ppm permitido por 10 minutos, si no hay otras exposiciones detectables. El Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH) recomienda un nivel de exposición máxima de 10 ppm.

Signos y síntomas característicos de la intoxicación con SH₂

Dadas las características del tóxico la clínica es doble, por un lado irritativo local en exposiciones a bajas concentraciones prolongadas y por otro, sistémica, con efectos muy graves que aparecen rápidamente con dosis elevadas.

En función de la concentración del SH₂ en el ambiente, la clínica presenta un abanico de posibilidades: 0-25 ppm intenso olor nauseabundo; 100-150 ppm irritación mucosa ocular y nasal; 250-500 ppm tos, queratoconjuntivitis, dolor torácico, edema pulmonar; 500-100ppm cefalea, desorientación, cianosis, coma y convulsiones; la dosis letal es 1000 ppm.

Las manifestaciones neurológicas más frecuentes son sincope, coma, focalización, cefalea, agitación, somnolencia, convulsiones, opistotónos, mareo. El síntoma más frecuente es la disminución transitoria del nivel de conciencia, que aparece en el 75 % de los casos, de forma

brusca y que se suele acompañar de recuperación espontánea, sobre todo si se retira rápidamente al intoxicado de la fuente de exposición.

Por efecto directo sobre el centro respiratorio se puede producir apnea, la cual no se recupera espontáneamente aunque sea apartado del foco de intoxicación, por lo que hay riesgo de paro cardíaco y muerte. La cianosis se produce por la insuficiencia respiratoria secundaria al edema pulmonar, la hipoperfusión secundaria a la hipoxia y por la unión del SH₂ a la Hb lo que forma sulfohemoglobina.

Por efecto irritativo sobre la mucosa respiratoria hay tos, disnea, hemoptisis, dolor torácico, edema pulmonar. Secundariamente a la hipoxia pueden aparecer alteraciones cardiovasculares tales como arritmias, isquemia miocárdica, hipotensión.

Otros síntomas son náuseas y vómitos por efecto irritativo sobre la mucosa gástrica; queratoconjuntivitis, fotofobia, alteraciones de la visión. A nivel cutáneo además de cianosis pueden aparecer áreas eritematosas.



Martes 26 de Agosto de 2008

SEIS PETROLEROS INTOXICADOS CON ÁCIDO SULFHÍDRICO

Fue en un yacimiento a 60 km de Rincón. Los operarios están internados.



Rincón de los Sauces (ARS). Seis operarios petroleros de la empresa OPS que trabajaban ayer tarde en el yacimiento Lomitas resultaron intoxicados por una concentrada nube de ácido sulfídrico.

Cuatro de los trabajadores se hallaban fuera de peligro aunque con evidentes signos de contaminación, mientras que los dos restantes presentaban un cuadro más fuerte por la inhalación. Todos quedaron internados en la Clínica Rincón.

Según delegados del Sindicato de Petroleros Privados, que participaron del plan de contingencia, "el incidente fue aislado ya que se trató de una nube que transportó el viento desde pozos cercanos hasta donde estaban los seis compañeros", informaron.

Según se supo, los monitores de ácido sulfídrico (SH₂) detectaron inmediatamente el gas mortal y comenzaron a dar la alarma sonora. El plan de contingencia indica que las personas rápidamente deben trasladarse en dirección contraria al viento lo más lejos posible del lugar de detección.

La toxicidad del sulfídrico es tan letal, que solo unos segundos de inhalación pueden matar a una persona.

Los mismos operarios dieron la alarma y presentaban los signos evidentes de contaminación como mareos, temblores y descompostura, por lo que fueron rápidamente trasladados

hasta la clínica mencionada. Desde el centro de salud, informaron que los pacientes estaban estables pero dos de los seis presentaban mayor exposición al tóxico.

Un compañero de las personas intoxicadas, dijo a "Río Negro", que "cuando suena la alarma si hay camionetas hay que alzar a los compañeros que no puedan caminar para subirse al vehículo y alejarse lo más rápidamente posible y si las camionetas están lejos hay que correr para impedir que el organismo esté expuesto mayor tiempo al gas... se debe buscar rápidamente aire puro", señaló.

A pesar del plan de contingencia de OPS y la productora responsable del área, YPF, ningún organismo de emergencia de Rincón de los Sauces fue avisado de la situación.

Se sabe que las nubes de gas sulfídrico pueden viajar kilómetros transportadas por el viento sin que éste sea intenso. La nube puede disiparse al tratarse de emanaciones pequeñas o amplificarse al reunirse con otras bolsas de aire tóxico.

Desde YPF se informó que no hubo ni hay peligro alguno para la población de Rincón.

Los detectores de ácido sulfídrico suenan cuando este elemento natural, que emana de pozos petroleros, supera las 10 partes por millón (10 ppm).

A proporciones menores de 10 ppm, el (H_2S) tiene un característico olor a huevo podrido. Pero superando esa marca, el ácido ataca el sistema nervioso inhibiendo el olfato, por lo que es totalmente indetectable cuando se torna peligroso.

Es por ello que todos los operarios tienen la obligación de portar detectores además de monitores sonoros colocados de manera fija en diferentes locaciones petroleras. No es la primera vez que operarios son alcanzados por nubes del sulfídrico en los yacimientos de Rincón. En ocasiones es común encontrar animales muertos sin motivo aparente en zonas de fuerte emanaciones de este mortal gas.

Etol, Metanol, Glicoles

El alcohol etílico es un líquido aromático, incoloro y combustible con un punto de ebullición de 79°C, punto de fusión de -117°C, una densidad de 0,8 g/cm³, su presión de vapor a 20°C es de 5,8 KPa y es miscible en agua. Esta sustancia procede de la fermentación de sustancias azucaradas tales como el almidón y celulosa, constituyendo el principio activo de las bebidas alcohólicas. Su ingesta excesiva puede dar lugar a intoxicaciones, agudas o crónicas, de distintas etiologías:

Ingesta abusiva: se ingieren bebidas alcohólicas en cantidades variables. Si la ingesta es esporádica dará lugar a una intoxicación aguda, dentro de las que podemos encontrar formas leves (de gran importancia médico-legal) y formas graves que pueden llegar al coma alcohólico y muerte. Si la ingesta se realiza en forma habitual generará una intoxicación crónica que presentan síntomas diferentes a la intoxicación aguda.

Intoxicación profesional: se debe a la inhalación de vapores de alcohol en los ambientes de trabajo, tal es el caso de trabajadores de refinerías, bodegas, fábricas de sombreros de fieltro, de seda artificial, de pólvora, etc.

El alcoholismo es un caso típico de toxicomanía, ya que registra las tres características que definen a la misma:

- Dependencia psíquica: la persona tiene el deseo de consumir cierta sustancia (en este caso el alcohol) buscando obtener los efectos placenteros generados por la ingesta de esta sustancia; pudiendo llegar a consumir compulsivamente esta sustancia.
- Dependencia física: se genera un cambio metabólico en el organismo de la persona, que ocasiona este tipo de dependencia.
- Tolerancia: luego de cierto tiempo de consumo, las cantidades ingeridas ya no generan el mismo efecto, por lo tanto la persona tiende a aumentar la ingesta para poder alcanzar los efectos buscados. Asimismo si se suspende la ingesta generalmente se presenta el síndrome de abstinencia.

Fuentes de intoxicación alcohólica

Las fuentes de esta intoxicación están representadas por las bebidas alcohólicas, las que pueden dividirse en tres grupos dependiendo de la cantidad de alcohol que presenten:

Las dosis tóxicas son variables dependiendo de la tolerancia de cada individuo. En términos generales la ingestión de 1,20 o 1,50 g/K de peso produce embriaguez, si la cantidad ingerida es 5 a 6 g/K de peso la intoxicación puede ser mortal.

Absorción, distribución y excreción del alcohol

Absorción por vía Gástrica: ocurre en un 20 a 30% en el estómago y el resto en el duodeno. Todo el alcohol que se ingiere se absorbe y no se encuentra en heces. La absorción se realiza por difusión pasiva, pasa a sangre (vía porta), luego llega a corazón derecho y se incorpora a la circulación. Todo el alcohol ingerido llega a la sangre entre 30 y 60 min después de la ingesta. Existen dos tipos de factores que condicionan la velocidad de absorción:

Modificadores de la evacuación gástrica

Los procesos que aceleran la evacuación gástrica favorecen la absorción, por ejemplo gasrectomías. Cuando el estómago está vacío, la absorción es mayor, ya que aumenta la superficie de la mucosa gástrica disponible; mientras que la presencia de alimentos, en especial de proteínas, retrasa la absorción. El grado alcohólico favorece la absorción, así las bebidas fuertemente alcohólicas se absorben más rápidamente que las débiles, salvo en aquellos casos donde el gran contenido alcohólico genera espasmos pilóricos y retrasan la evacuación gástrica. La máxima velocidad de difusión se da con bebidas con un 20% de alcohol.

Tabla 5: Contenido de etanol en bebidas

Tipo de bebida	% de alcohol	Origen	Ejemplo
Débilmente alcohólicas	1% - 8%	Fermentación de jugos vegetales que tienen almidones o azúcares poco fermentables	Cerveza Sidra
Medianamente alcohólicas	10% - 20%	Fermentación de mostos de uva que contienen un alto contenido de glucosa que los hace fácilmente fermentables	Vino de mesa Jerez Oporto Vermuth
Fuertemente alcohólicas	40% - 50%	Fermentación de distintos jugos vegetales, seguido de la destilación del producto obtenido	Cognac Anis Whisky Vodka Ron

Modificadores de la velocidad de difusión

La velocidad de difusión es inversamente proporcional al grosor de la membrana, de este modo una gastritis hipertrófica puede retrasar la absorción y una atrofia de la mucosa la acelerará. La forma de ingerir la bebida también influye, ya que si se ingiere una cierta cantidad en una sola vez generará una alcoholemia mayor que la originada si se ingiere la misma cantidad pero en varias liberaciones separadas en el tiempo.

Mediante la vía pulmonar, el alcohol penetra fácilmente y atraviesa por difusión la membrana alvéolo-capilar. La presente vía de entrada es de interés en los casos de intoxicación profesional.

La intoxicación etílica por vía cutánea puede darse por friegas con alcohol sobre grandes superficies como pecho y espalda fundamentalmente en los niños.

Distribución: Una vez que el alcohol llega a la circulación general y se distribuye por todo el organismo se da un proceso de difusión hística, a través del cual, el alcohol se distribuye en los distintos tejidos del cuerpo en función de la riqueza en agua que presenten los líquidos extracelulares y intracelulares de cada tejido.

Excreción:

Eliminación urinaria: el alcohol se filtra en el glomérulo, pero no sufre reabsorción tubular. La concentración de alcohol en orina dependerá de la alcoholemia, pero como la concentración en sangre cambia en el tiempo y la de la orina no, la relación alcoholemia/alcoholuria será menor que 1.

Eliminación pulmonar: el alcohol puede eliminarse por esta vía gracias a su volatilidad y para ello sigue el mecanismo inverso al de absorción. Aunque no es la principal vía de eliminación (sólo el 2 a 3% del alcohol se elimina por este medio), es de interés desde el punto de vista analítico y judicial, ya que los métodos incruentos de análisis se basan en la detección de alcohol en aire espirado.

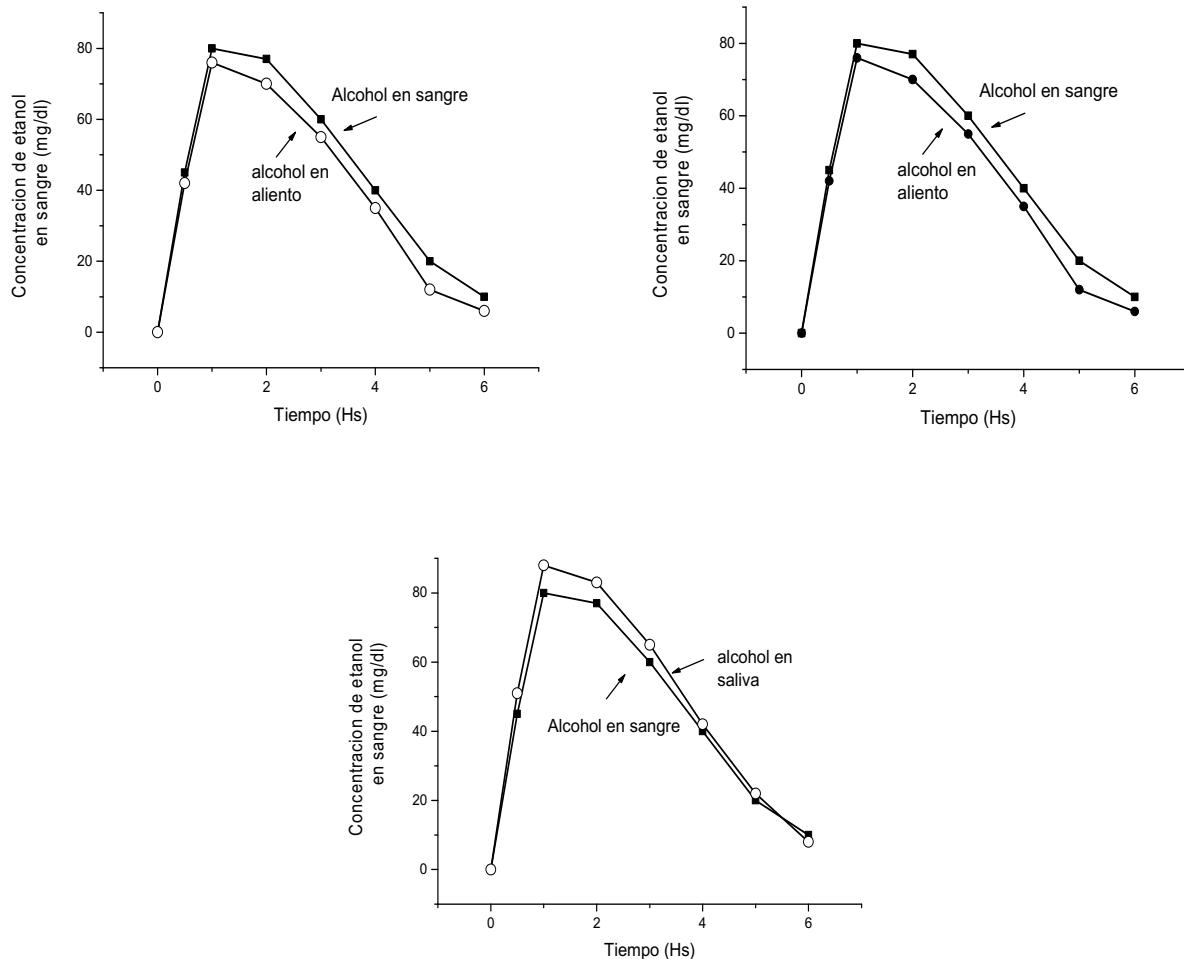


Figura 9. Comparación de las curvas de biodisponibilidad de etanol en distintos fluidos biológicos

Otras vías de eliminación

El alcohol se elimina en saliva, aunque en una cantidad mucho menor y también en leche materna, por lo que debe ser tenido en cuenta en las mujeres que están amamantando.

Metabolismo del alcohol

En el esquema siguiente presentamos las rutas del catabolismo oxidativo del etanol. Todas ellas conducen al acetaldehído, el cual es transformado en una reacción posterior en acetato, e ingresa de esta forma en diversas vías metabólicas.

Podemos dividir el metabolismo del etanol en varias etapas:

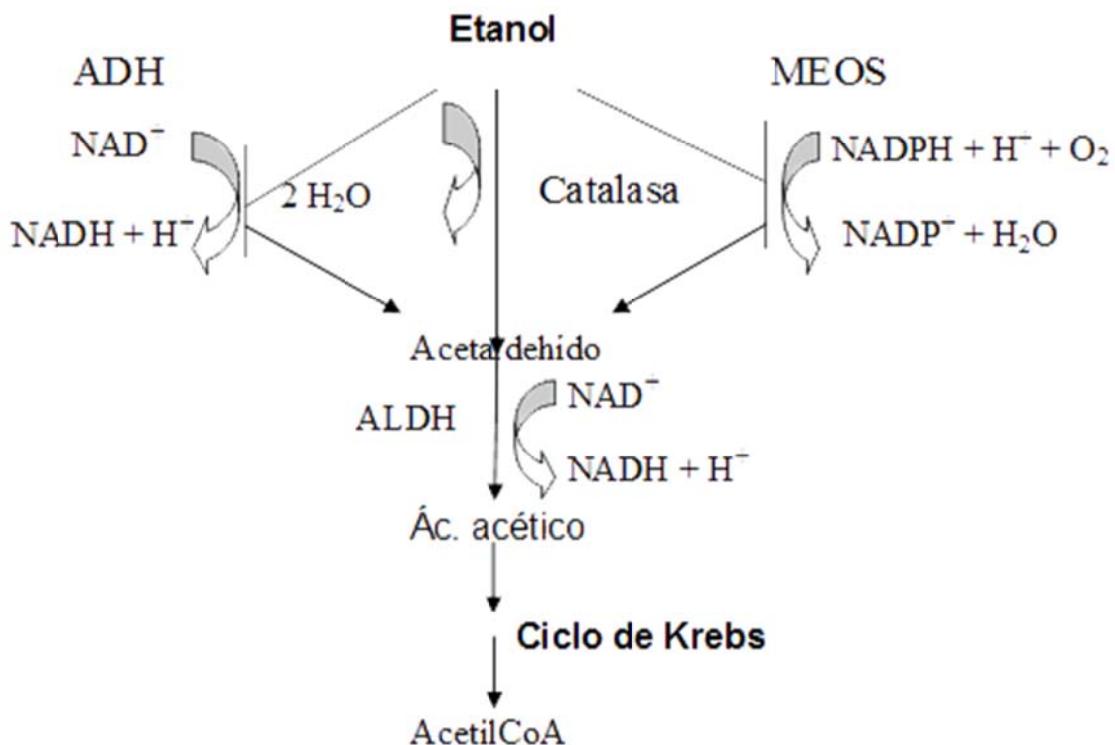


Figura 10. Esquema de las vías de metabolización del etanol

Primera Etapa: Comprende la formación de acetaldehído que puede llevarse a cabo por tres vías diferentes:

Vía de la Alcohol deshidrogenasa (ADH)

La ADH es una enzima que está presente en varios tejidos, como pulmón y riñón, pero su ubicación preponderante es en el hígado; más precisamente en el citoplasma de los hepatocitos. Cataliza la oxidación de etanol a acetaldehído, al mismo tiempo que genera poder reductor en la célula pasando NAD⁺ a NADH.

Existen tres tipos de estas enzimas y cada una de ellas presenta isoenzimas. La ADH¹ (tipo 1), es la más abundante en las personas de raza blanca, mientras que la ADH² abunda en los japoneses. Esta última es una enzima inespecífica que puede oxidar distintos alcoholes de cadena corta e incluso vitamina A y esteroides.

En los orientales esta reacción es bastante rápida, lo que genera una acumulación de acetaldehído en los tejidos que el organismo no es capaz de metabolizar con la misma rapidez. Por esto, no es raro que se presente intolerancia al alcohol en personas de raza oriental, debido al tipo de enzima (ADH²) que presentan mayoritariamente. Esta vía es la que actúa fundamentalmente en los bebedores ocasionales.

Además la ADH también metaboliza metanol que frecuentemente acompaña al etanol en las bebidas alcohólicas, ya sea como producto de la misma fermentación que da origen al etanol o como adulterante. Esta enzima produce la oxidación de metanol a ácido fórmico,

que es el compuesto responsable del daño al nervio óptico característico de las intoxicaciones con metanol.

Como la afinidad de la ADH por el etanol es mayor que por el metanol, cuando ambos están presentes se metabolizará principalmente el etanol, mientras que el metanol no será degradado. Este principio se utiliza para el tratamiento de las intoxicaciones con metanol y etilénglico, ya que al realizar un tratamiento con etanol, se desvía esta ruta metabólica hacia la formación de acetaldehído a partir del etanol y se impide que se generen los metabolitos fuertemente tóxicos que resultan de la oxidación del metanol o etilénglico.

Sistema Microsomal de Oxidación del Etanol (MEOS)

Es un sistema que se pone en marcha cuando se produce un consumo reiterado de alcohol. A diferencia del sistema anterior, tiene una K_m muy alta, de modo que solo funciona cuando existen concentraciones muy elevadas de sustrato. Esta vía actuará principalmente en alcohólicos crónicos.

Vía de las Catalasas

La catalasa es una enzima presente en la mayoría de los tejidos, encontrándose sobre todo en los microsomas hepáticos. El H_2O_2 necesaria puede provenir de la Hipoxantina. No es una vía específica, ya que como es sabido, las catalasas intervienen en muchas reacciones, por esto tiene un papel poco importante en el metabolismo del etanol en la práctica.



Segunda Etapa: Desviaciones producidas por el exceso de NADH.

Comprende el destino del acetaldehído formado en la etapa anterior. A partir de éste se genera ácido acético, que al pH fisiológico se encuentra como acetato, mediante una reacción de oxidación catalizada por la aldehído deshidrogenas (ALDH). La ALDH se encuentra en el citoplasma y en las mitocondrias. Esta reacción se produce rápidamente, de modo que el acetaldehído permanece muy poco tiempo en sangre; además no es una reacción específica, pudiendo atacar a otros aldehídos.

La reacción consume NAD^+ y genera H^+ , estos protones generados penetran en la mitocondria y reemplazan a los que normalmente se producen en el ciclo de Krebs a partir de los ácidos grasos (AG), de modo que la mitocondria adquiere un estado redox más reducido y se inhibe la producción de protones a partir de AG, con lo cual se favorecen los depósitos grasos.

Tercera y Cuarta Etapa: Comprenden la síntesis de acetil CoA a partir de acetato y coenzima A (CoA); y la entrada de este intermediario fundamental del metabolismo generado a partir de precursores provenientes de las primeras etapas del metabolismo del etanol en las distintas rutas metabólicas en las que toma parte como son el ciclo de Krebs, la síntesis de AG, la síntesis de Colesterol y la síntesis de porfirinas. El exceso en la ingesta de etanol genera alteraciones en el metabolismo normal principalmente de glúcidos y lípidos.

En el caso del metabolismo de los glúcidos se producen desajustes o alteraciones en la gluconeogénesis debidas a la variación que se produce en el cociente NADH/NAD⁺, la cual acarrea variaciones en los cocientes Lactato/Piruvato y Malato/Oxalacetato. En las reacciones se consume NAD⁺, el cual debe regenerarse a expensas del pasaje de piruvato a lactato y de malato a oxalacetato; con el consecuente descenso de piruvato y lactato que son los principales puntos de partida de la gluconeogénesis. Además se produce un exceso de NADH que es inhibidor de ciertas reacciones involucradas en la gluconeogénesis. Estos dos fenómenos generan en conjunto una cierta inhibición de la gluconeogénesis que se manifiesta con hipoglucemia.

La hipoglucemia puede ser precedida por una hiperglucemia transitoria, ya que en respuesta a la inhibición de la gluconeogénesis se genera una activación de la glucogenólisis. De esta forma las reservas de glucógeno del hígado se degradarán a glucosa que pasará a sangre e intentará elevar la glucemia, pero estas reservas no llegan a compensar completamente la hipoglucemia.

También se ve inhibido el ciclo de Krebs principalmente por la falta de un precursor fundamental del ciclo como el oxalacetato y a la inhibición de ciertas enzimas del ciclo como la isocitrato-deshidrogenasa y la citrato sintetasa.

En cuanto a las alteraciones en el metabolismo lipídico, se observa principalmente un aumento en la síntesis de AG ya que el Acetil-CoA se desvía fundamentalmente a esa reacción debido a la inhibición del ciclo de Krebs; un aumento en la síntesis de triglicéridos (TG) y disminución de la oxidación de AG libres. Como corolario de estas alteraciones se generan depósitos de grasa principalmente en hígado y corazón.

Mecanismo de Acción

El alcohol actúa por mecanismos mixtos. Entre ellos encontramos:

Alteración de la composición y fluidez de la membrana: En este aspecto tiene un efecto bífásico, ya que en un primer momento aumenta la fluidez al, aumentar la concentración de fosfolípidos (FL), y luego la disminuye debido al aumento de la concentración de colesterol. Además, el alcohol produce una inhibición en la ATPasa y altera los receptores de membrana.

Hipoxia: El metabolismo oxidativo que sufre el etanol requiere un mayor aporte de O₂. Este requerimiento acentúa la hipoxia en la zona centrolobulillar del hígado. Además, los depósitos de grasa y proteína generan engrosamiento de los hepatocitos, que llevan a un estrangulamiento progresivo de los sinusoides y a una vascularización cada vez más dificultada, Estos mecanismos que aumentan más la hipoxia generan los daños observados en los hepatocitos.

Déficit en metabolitos precursores e inhibición de enzimas mencionadas previamente

Generación de intermediarios reactivos: en los alcohólicos los niveles de acetaldehído generalmente están aumentados, debido presumiblemente a la inhibición de la ALDH. Éste se une covalentemente a distintas proteínas, entre ellas a la tubulina, y disminuye la formación de mictitúbulos y la excreción de proteínas, que quedan almacenadas en el hepatocito, aumen-

tando el poder osmótico con lo que se produce retención de agua y el hepatocito se hincha aumentando su volumen de 2 a 3 veces.

Afección del funcionamiento de receptores gabaérgicos en el sistema Nervioso central. El receptor gabaérgico presenta sitios de unión para etanol y también para benzodiacepinas y barbitúricos.

Clínica del estado de embriaguez

El alcohol es un depresor descendente e inespecífico del SNC. Si se consume junto con benzodiacepinas produce una potenciación en los efectos (sinergismo). Los signos clínicos y síntomas van apareciendo a medida que se van afectando los distintos centros nerviosos. Los primeros que sufren el impacto del alcohol son los centros superiores, vinculados con la conducta, el juicio y la autocrítica. Le siguen los centros de origen evolutivo más primitivo, luego los centros motores medulares y finalmente los centros vitales ubicados en la protuberancia.

Podemos diferenciar cuatro fases o períodos en el desarrollo del estado de embriaguez:

Período I (50 – 150 mg/ 100 cm³ de sangre) : Alteraciones en la corteza cerebral, que se manifiestan en un estado de excitación y euforia que generalmente llevan al individuo a cometer imprudencias, indiferencia ante las consecuencias de las propias acciones, pérdida de control, enlentecimiento en la respuesta ante estímulos sensoriales, alteración en la percepción correcta de distancias y velocidades, defecto en acomodar la visión ante cambios de luz (fenómeno de deslumbramiento). Por esto, en este período aumenta mucho el riesgo de accidentes y delitos de tránsito.

Período II (150 – 250 mg/ 100 cm³ de sangre): aparecen alteraciones a nivel del cerebelo. Como los centros superiores se encuentran anulados, ya no pueden ejercer sus efectos inhibitorios y el individuo obedece a sus emociones y deseos inconscientes. Se liberan impulsos primitivos, se producen trastornos de la afectividad, irritabilidad, excitabilidad y exaltación del erotismo. Según la personalidad del individuo se volverá malhumorado, irritable, agresivo, somnoliento, etc. El tiempo de reacción se encuentra alterado, también se observan alteraciones en la motricidad fina y en la articulación de palabras. En dicho período se cometan principalmente delitos contra las personas, principalmente aquellos que atentan contra el pudor.

Período III (250 – 350 mg/ 100 cm³ de sangre): Alteraciones en los centros espinales, manifestados por una gran afección en las funciones sensitivas y motoras. El individuo presenta sus percepciones muy alteradas, así como grandes trastornos en la marcha que lo hacen tambalear y caerse. EL habla también se ve muy afectada, haciéndose farfullante o incomprensible. También da una gran somnolencia que deriva generalmente en un sueño profundo. En éste período predominan los escándalos, la desobediencia y el abandono de obligaciones.

Período IV (350 – 400 mg/ 100 cm³ de sangre): El alcohol afecta a todo el SNC y el individuo entra en coma con graves alteraciones en la respiración, lo cual es fiel reflejo de la afección generada sobre el centro respiratorio bulbar. Si el paciente evoluciona favorablemente, del coma pasa lentamente a un sueño profundo del que despierta luego de 8 a 10 h, presentando

irritación gastrointestinal, náuseas, vómitos y cefaleas. Si el coma prevalece por más de 10 h, el pronóstico es muy adverso, pudiendo llegar a la muerte del individuo.

Entre los tratamientos de deshabituación al consumo de etanol se encuentra el tratamiento con Disulfiran. Cuando se inicia el tratamiento ante una nueva ingesta de alcohol se producirán náuseas, vómitos, taquicardia, palpitaciones, de modo que el individuo no obtiene efectos placenteros con la ingesta de alcohol sino que por el contrario le provoca malestar, con lo cual interrumpe la ingesta.

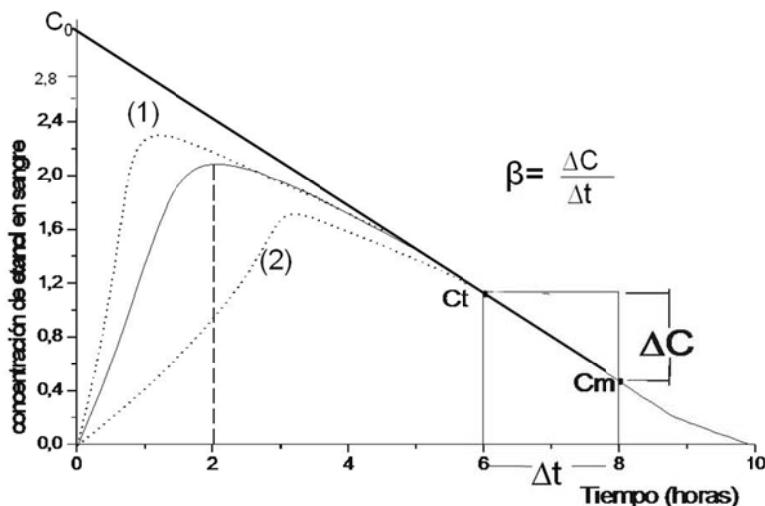


Figura 11. Curva de alcoholemia

En la curva se puede ver una fase inicial (recta de pendiente positiva) que corresponde a la etapa de absorción, aumentando el alcohol en sangre a medida que pasa el tiempo. La forma de esta parte de la curva dependerá de varios factores que afectan la velocidad de difusión, principalmente el número de liberaciones y el contenido estomacal al momento de la ingesta. Así, si la absorción es rápida (como ocurre con las bebidas de alta graduación alcohólica o con las liberaciones con el estómago vacío) ésta porción de la curva es más vertical (curva 1), mientras que en casos de absorción más lenta presenta menor pendiente (curva 2) (Figura 11)

Luego se observa una zona de meseta en la curva, la cual se atribuye a que se alcanza un equilibrio en la difusión. De esta forma el alcohol pasa de la sangre a los tejidos y es inmediatamente metabolizado en los mismos. La difusión del alcohol hacia los tejidos hace que baje la concentración de etanol en sangre. Asimismo, la disminución del etanol en los tejidos, luego del catabolismo del mismo, se repone mediante una nueva situación de equilibrio de difusión sangre-tejidos, que trae aparejado un nuevo descenso de los niveles de alcohol en sangre. Por último encontramos una zona de pendiente negativa que representa la eliminación del etanol y refleja los sucesivos descensos de la concentración de etanol en sangre (Fig11).

La curva de alcoholemia tiene un gran interés médico-legal, ya que proporciona una representación gráfica de la evolución de la concentración sanguínea de alcohol en un período de tiempo que abarca desde la ingestión hasta su metabolización completa.

El valor legal de alcoholemia en Argentina para la conducción de vehículos es de 0,5 g/L.

Esta curva es de gran importancia y utilidad ya que en base a ella se pueden realizar cálculos retrospectivos y estimaciones de la concentración de alcohol en sangre a tiempos anteriores a la toma de muestra, lo cual es fundamental en el ámbito legal para determinar el estado de un individuo, por ejemplo, en el momento en que cometió un ilícito; obviamente anterior a la toma de muestra.

Para realizar estos cálculos contamos con las siguientes ecuaciones:

$$C = A / (r \cdot P)$$

donde C: concentración de alcohol en sangre (g/Kg), A: dosis de alcohol ingerido (g), P: peso del individuo (Kg), r: coeficiente de reparto que relaciona el alcohol en los tejidos y la alcoholemia. Toma los valores de 0,68 para el hombre y 0,55 para la mujer.

$$C_0 = C_t + \beta \cdot t$$

donde: C_0 =: concentración de alcohol en sangre al momento de la comisión de los hechos C_t = alcoholemia al momento de la extracción, t = tiempo en min. transcurrido entre la comisión del hecho y la toma de muestra, β = coeficiente de etiloxidación (g/Kg min), expresa la cantidad de alcohol oxidado por minuto y Kg de peso. Este coeficiente es individual y puede variar de una persona a otra, pero se toma regla general el valor de 0,0025 para el hombre y 0,0026 para la mujer.

Combinando estas dos ecuaciones se realizar el cálculo retrospectivo de la alcoholemia, así como determinar la cantidad de alcohol presente en el organismo al momento de la toma de muestra o en un momento anterior.

Se debe tener en cuenta ciertos aspectos al momento de determinar y analizar los datos de alcoholemia para un individuo, de modo que las conclusiones obtenidas sean aplicables.

Los aspectos más importantes a considerar son: sexo, contextura física, variaciones en el coeficiente de etiloxidación, la clínica que presenta el individuo, una alcoholemia de partida mayor de 0,5 (lo cual indica una ingesta real de bebidas alcohólicas), obtención de la muestra cuando ya se ha concluido la etapa absortiva, (3h. después de la última liberación con el estómago lleno o 1h. si el estómago estaba vacío) para evitar errores por defecto.

Métodos de determinación de etanol en fluidos biológicos

Los principales métodos utilizados para la determinación de alcohol se dividen en métodos de screening, a ser utilizados en la vía pública, o en laboratorio y requiere que sean ensayos simples, rápidos y de bajo costo.

Sin embargo, estos métodos deben ser confirmados con metodologías mas robustas que en el caso de volátiles es la Cromatografía Gaseosa.

Microdifusión en Cámaras de Conway: este método es ampliamente utilizado. La técnica de microdifusión en cámaras de Conway, presenta un compartimento externo y uno interno

unidos a través del compartimento gaseoso que se sella a través de una tapa común. Este diseño saca provecho de la volatilidad del etanol en presencia de un reactivo liberador, el carbonato de potasio. El alcohol liberado reacciona con el dicromato de potasio del compartimento central, generando cromo trivalente (Cr^{+3}). Finalmente, la concentración de alcohol en la muestra se lee por medio de un espectrofotómetro utilizando una curva de calibración.

La muestra puede ser sangre, orina, humor vítreo e incluso homogenato de tejido. Es un método sencillo, requiere relativamente poca inversión y posee una sensibilidad adecuada para un screening. La principal desventaja de este método son las interferencias, las cuales se magnifican con el tiempo de almacenamiento de la muestra. Entre éstas se encuentran el metanol, la acetona y el isopropanol, que son determinados conjuntamente con el etanol si éste se haya o no presente. En general, todo compuesto volátil en medio alcalino y susceptible de ser oxidado es medido como etanol, por tal motivo, se informa usualmente como “sustancias volátiles reductoras”.

Métodos enzimáticos, alcohol deshidrogenasa: los métodos enzimáticos se basan en la oxidación del etanol en presencia de una enzima, la alcohol deshidrogenasa. Esta enzima brinda mayor especificidad cuando se la compara con el método de Conway, aunque requiere equipamiento más costoso para su aplicación, como por ejemplo termostatización de la muestra y control de las condiciones de reacción.

Este método puede aplicarse a muestras de sangre, orina y saliva. En el caso del test Q.E.D, la determinación se basa en la oxidación enzimática del etanol (alcohol etílico) a acetaldehído y nicotinamida-adenina-dinucleótido reducido, posteriormente, este último reacciona en presencia de una segunda enzima para formar un producto coloreado. La intensidad del color es proporcional a la concentración de etanol en la muestra. También basados en esta enzima se encuentran equipos para la medición de etanol en saliva. Es un método sencillo, que se correlaciona bien con los métodos tradicionales, no requiere equipamiento debido a que el kit contiene todos los elementos necesarios y no es invasivo.

Medición de alcohol en aliento y saliva

Los métodos no invasivos como la medición del alcohol en saliva y aliento son ampliamente utilizados como método de screening no cruento lo que produce menos resistencia en el individuo.

Saliva: la detección de etanol en saliva se basa en que dicho fluido es formado a partir de la sangre, por lo que contiene también etanol. El kit Q.E.D utiliza un hisopo para barrer la mucosa bucal, utilizándose la saliva recolectada para embeber un taco de reactivos químicos necesarios para la actividad enzimática situado en un dispositivo tipo termómetro donde el contenido de alcohol se lee en una escala graduada.

Aliento: la mayoría de los equipos disponibles utilizan la absorción infrarroja para medir el contenido de alcohol en aliento. Los equipos más avanzados miden la absorción a 3 longitudes de onda para eliminar interferencias comunes como la acetona, el metanol o el isopropanol.

Los equipos basados en la oxidación electroquímica son considerados como los mejores. El funcionamiento de estos se basa en una pequeña celda de combustible, donde la oxidación del etanol con el oxígeno del aire sobre la superficie de un catalizador de platino produce una corriente eléctrica proporcional a la concentración de etanol en el aliento expirado. Los detectores químicos sólo producen resultados orientativos con respecto al límite máximo admisible, obteniéndose equipos para 0,5 y 0,8 g/L (según el país). Resultan bastante económicos por unidad, son sumamente higiénicos (el cartucho contiene su propia boquilla) pero son descartables.

El laboratorio de toxicología

Una vez que la muestra ha ingresado en el laboratorio toxicológico, puede utilizarse el método de microdifusión o el enzimático como método de screening. Si el resultado es positivo, es aconsejable utilizar un segundo método basado en un principio químico o físico distinto, como la cromatografía gaseosa, a los fines de validar el resultado.

La separación del etanol en una muestra de sangre, orina u otro fluido biológico por cromatografía gaseosa requiere de una metodología conocida como "head-space". Esta técnica permite separar un componente gaseoso a partir de una muestra líquida, e injectar la fase gaseosa en el cromatógrafo. De esta forma se pueden separar y cuantificar, además del alcohol etílico, la acetona, el isopropanol y el metanol. El método es cuantitativo adicionando un estandar interno como un alcohol que no se halla presente en la muestra como el n-butanol.

Metanol

El metanol (CH_3OH) también se denomina como alcohol metílico o alcohol de madera es ampliamente utilizado en productos industriales o comerciales. Éste se encuentra como componente en varios removedores de pintura, barnices, lavacristales y anticongelantes y se obtiene como producto secundario de la destilación de la madera. El envenenamiento se produce con la ingestión de bebidas destiladas contaminadas, ingestión accidental por alcoholismo e intento de suicidio. La toxicidad del metanol se debe a la formación de los metabolitos tóxicos: formaldehído y ácido fórmico.

Toxicidad

El metanol es un líquido incoloro, volátil y con olor distintivo. Es completamente absorbido dentro del gastrointestinal y alcanza su máxima concentración plasmática en el rango de 30 a 90 minutos. La vida media en suero alcanza de 14 a 20 horas. El volumen de distribución alcanza valores de 0,6 a 0,7 L/kg. La principal vía de eliminación del metanol es la hepática, aunque un pequeño porcentaje lo hace por la vía renal.

Metabolismo

En mamíferos el metanol es metabolizado a formaldehído en el hígado por la ADH, y por pasos oxidativos subsecuentes, a través de una vía dependiente del tetrahidrofolato (THF) se forman ácido fórmico y dióxido de carbono, el cual inhibe la citocromo oxidasa, interfiriendo directamente con el transporte de electrones en la cadena respiratoria. Existe evidencia de que el ácido fórmico inhibe la función mitocondrial en la retina y aumenta el estrés oxidativo.

El envenenamiento por metanol y su asociación con toxicidad severa sobre el sistema nervioso central y ocular, constituyen un problema de salud en todo el mundo. Las características clínicas de la intoxicación aguda por metanol han sido minuciosamente detalladas, e incluyen acidemia fórmica, acidosis metabólica, toxicidad visual, coma y, en casos extremos, la muerte. No obstante, el efecto de la exposición crónica a bajas dosis de metanol ha sido poco estudiado.

La síntesis de formaldehído y ácido fórmico mediante la acción de la enzima alcohol deshidrogenasa, son los responsables de la toxicidad del metanol, mientras que la aparición de los síntomas se debe a la formación de formaldehído. Éste puede afectar la retina produciendo papilitis y edema. Por otro lado, el formiato inhibe la respiración mitocondrial provocando la formación de lactato e hipoxia.

Usualmente 30 ml de una solución de metanol al 40 % se considera una dosis letal.

Características Clínicas

Los síntomas iniciales pueden desarrollarse desde los 40 minutos a las 72 horas después de la ingesta de metanol. El período latente normalmente es de 12 a 18 horas.

Los síntomas y signos incluyen:

- SNC: Dolor de cabeza, vértigo, letargia, confusión, coma y temblores. Los síntomas iniciales pueden simular una intoxicación con etanol.
- Oculares: "Visión a través de la nieve", visión borrosa, agudeza visual disminuida, diplopía y fotofobia.
- Gastrointestinales: Nauseas, vómitos, dolor abdominal y pancreatitis.
- Cardíacos: Hipotensión y bradicardia son hallazgos tardíos y sugieren una pobre pronóstico.
- Laboratorio: acidosis metabólica secundaria a la producción de ácido fórmico, gap osmolar elevado y gap aniónico elevado.

Tratamiento

Proveer al paciente con apoyo a las funciones vitales. En caso de que se pierda la conciencia proteger la vía respiratoria, utilizar el lavado gástrico si la intoxicación es reciente. Monitorear gases en la sangre arterial y los electrolitos. Utilizar bicarbonato de sodio para corregir la acidosis hasta pH 7,2. El fomepizol actúa como inhibidor de la enzima alcohol deshidrogenasa y puede administrarse como antídoto.

En caso de que llegue a la guardia un paciente con una intoxicación aguda por metanol, debe proveérsele de apoyo de las funciones vitales; si la intoxicación fue reciente se procede a realizar un lavado gástrico; y si presentara pérdida de conciencia se debe proteger la vía respi-

ratoria. Asimismo, debe realizarse un monitoreo de gases en la sangre arterial y del nivel de electrolitos. En el caso de que hubiera acidosis se corrige el pH a 7,2 utilizando bicarbonato de sodio. El fomepizol puede ser administrado como antídoto, ya que actúa como inhibidor de la enzima alcohol deshidrogenasa.

La terapia con etanol puede utilizarse en ausencia de terapia con fomepizol. El objetivo es mantener el nivel de etanol entre 1 y 1,5 g/L. La hemodiálisis es otro método general para el tratamiento de cualquier tóxico en sangre, incluyendo el metanol.

Glicoles

El etilenglicol es el dihidroxialcohol derivado de los hidrocarburos alifáticos y se halla a menudo en varias soluciones anticongelantes, enfriadores y líquidos de freno hidráulico. También se incorpora en solventes, humectantes industrial, limpiavidrios y cosméticos. Aproximadamente una bocanada de una solución 99% de etilenglicol, puede producir síntomas en un niño o adulto.

La intoxicación con etilenglicol al inicio, produce síntomas compatibles con una intoxicación etanólica. La solución de etilenglicol es un líquido claro, incoloro y de sabor dulce, que se absorbe completamente alcanzando picos de concentración en 1 a 4 horas. Posee una vida media de entre 2,5 a 4,5 horas (el cual puede extenderse a 17 horas en presencia de etanol con niveles de 1 a 2 g/L).

La vida media del etilenglicol, cuando la persona es tratada con fomepizol, es de 11 a 15 horas. Esta sustancia no es tóxica, pero es metabolizado por la alcohol deshidrogenasa, presente en los hepatocitos, en cuatro productos: glicoaldehido, glicolato, ácido glicólico y glioxitato. Estos productos metabólicos son responsables de la destrucción de los tejidos y la toxicidad metabólica (elevado gap aniónico, acidosis metabólica, acidosis láctica e hipocalcemia).

El etilenglicol tiene un volumen de distribución de 0.54-0.8 L/g, similar al del agua total del cuerpo. Es filtrado por el glomérulo renal y reabsorbido pasivamente, excretándose aproximadamente el 20% en orina. La dosis letal en adultos es de 1-1,5 ml/Kg.

Presentación Clínica

Fase 1 (Minutos - 12 h): predomina la toxicidad del SNC con ebriedad pero sin olor a EtOH, coma, nistagmo, parálisis y temblores. También pueden producirse nauseas, vómitos y edema papilar. En esta fase se observa claramente un gap osmolar; como así también se pueden encontrar cristales de oxalato de calcio.

Fase 2 (12 - 24 h): se destacan en esta fase síntomas cardiopulmonares con taquicardia e hipertensión. Otros efectos incluyen: gap aniónico, acidosis metabólica (posiblemente severa) con hiperventilación compensatoria, hipoxia.

Fase 3 (> 24 h): esta fase renal se caracteriza por necrosis tubular aguda y falla renal. Siendo comunes la oliguria, anuria, hematuria y proteinuria.

Debe realizarse un análisis de orina en todos los pacientes sintomáticos. Cristales típicos de oxalato de calcio (octaedríticos) se observan cuando existen altas concentraciones de calcio. Debe procederse al reemplazo de calcio en pacientes con hipocalcemia debido a la prolongación del intervalo QTc. Muchos anticongelantes contienen fluorosceína, por lo que no es inusual que la orina exhiba fluorescencia bajo la luz ultravioleta.

Tratamiento

La descontaminación generalmente es de poco valor, pero puede ser de ayuda un lavado de estómago si se lleva a cabo dentro de los 60 minutos luego de la ingestión. La terapia antídota se basa en bloquear ADH para que no metabolice el etilenglicol en productos tóxicos. El etanol puede inhibir en forma competitiva a la alcohol deshidrogenasa pero debe monitorearse frecuentemente, causa hipoglucemias en niños, puede exacerbar los efectos de depresores del SNC que pueden presentarse en suicidios.

El fomepizol bloquea la ADH produciendo pocos efectos colaterales y se considera la droga de elección, ya sea para etilenglicol o metanol.

En aquellos pacientes sintomáticos debería considerarse la hemodiálisis. Ésta remueve en forma eficiente el etilenglicol y productos secundarios, corrigiendo incluso la acidosis. Si se está administrando fomepizol y /o etanol estos también serán dializados y la dosis deberá ajustarse para compensar la pérdida.

Análisis Toxicológico

Determinar las concentraciones de etilenglicol, metanol y etanol en sangre y orina; y si es posible comprobar el envase original donde se encontraba la sustancia. Cualquier recipiente intermedio (vasos, jeringas, botellas) también deben ser comprobados para determinar si además no existen otras sustancias.

En etapas tardías (aquella donde se observa acidosis metabólica severa), todo el etilenglicol puede estar metabolizado y no será detectado en suero.

Efectos tóxicos de Sustancias Volátiles

Los principales responsables de las intoxicaciones por sustancias volátiles son los solventes. Éstos son compuestos orgánicos líquidos que se caracterizan por presentar una lipofiliaidad y volatilidad relativamente altas. En general cuanto mayor sea el número de carbonos o de átomos halogenados menor será la hidrofilicidad y volatilidad del compuesto. Usualmente los solventes son empleados en la disolución de compuestos insolubles en agua, por lo tanto son componentes de tintas, barnices, pinturas, lacas, aerosoles y pegamentos. Además los solventes

tes son utilizados en síntesis química y dado que se obtienen principalmente de la refinación del petróleo están presentes en los combustibles como naftas.

Las características químicas como número de carbonos, configuración, presencia de insaturaciones y/o grupos funcionales en estos compuestos influyen fuertemente en la toxicidad de los mismos. Esto se refleja en algunas generalizaciones que pueden hacerse sobre los efectos de estas sustancias, por ejemplo los compuestos más lipofílicos son depresores del sistema nervioso central (SNC) más fuertes, los hidrocarburos y algunos derivados halogenados pueden presentar características mutagénicas/carcinogénicas debido a que son extensamente metabolizados. Sin embargo dentro de un mismo grupo la toxicidad puede variar fuertemente entre las distintas sustancias que lo conforman.

La exposición a solventes se produce frecuentemente en ámbitos laborales donde se emplean estas sustancias como en imprentas, laboratorios de síntesis química, estaciones de servicio, transporte de combustible, petroquímicas, etc. Sin embargo, todos podemos estar expuestos a los solventes en mayor o menor medida de acuerdo a las actividades diarias que realizamos (Fig. 12). Por ejemplo, una mujer luego de trabajar durante 8 hs diarias en un laboratorio de biología molecular (exposición a fenol, cloroformo) vuelve a casa en su auto. Antes de llegar carga nafta en una estación de servicio (exposición a benceno,tolueno), luego va al hipermercado y deja un vestido en la tintorería de lavado en seco (exposición a tetracloroetileno) para retirarlo al finalizar sus compras. Una vez en casa, mientras revisa sus mails fuma varios cigarrillos (exposición a benceno y estireno) y antes de cenar dedica unas horas a realizar manualidades en las que emplea pegamento de contacto y pinturas en aerosol (exposición a tolueno, metilcetonas, xileno).



Figura 12. Distintas fuentes de contacto con solventes en relación con las actividades realizadas en el día

Es claro que los efectos que produzcan los solventes sobre la salud van a depender fuertemente del tipo de solvente al que se está expuesto y del tiempo y nivel de exposición.

En este sentido las exposiciones ocupacionales son las más importantes, siendo principalmente por vía inhalatoria y en forma secundaria por *vía dérmica*. Usualmente las intoxicaciones por solventes se producen cuando se emplean estas sustancias en lugares de trabajo confinados o mal ventilados donde se ven superados los límites establecidos como permitidos por diferentes organismos para los distintos solventes.

Toxicocinética

Absorción

Una vez que los solventes ingresan por vía inhalatoria la absorción se produce mayoritariamente a nivel alveolar. Las propiedades de liposolubilidad y volatilidad de estas sustancias influyen en la absorción de las mismas. Los solventes debido a estas características, fundamentalmente su lipofilicidad, atraviesan fácilmente membranas por difusión pasiva a favor de su gradiente de concentración. Debido a esto el pasaje a sangre desde el alvéolo se producirá prácticamente en forma inmediata.

Otro factor que influye en la absorción de solventes es el coeficiente de partición sangre: aire; así aquellos solventes de características más hidrofílicas presentarán un coeficiente más alto, ya que la sangre está compuesta principalmente por agua, lo cual favorecerá la absorción del solvente.

Así mismo un aumento en la frecuencia respiratoria y cardíaca, por ejemplo durante una actividad física, aumentan la absorción.

Inicialmente el porcentaje de captación del solvente es alto, pero a medida que se produce la acumulación en los tejidos baja este porcentaje de captación al tiempo que los niveles en sangre van aumentando debido a un menor pasaje del solvente a los tejidos. Esto ocurre hasta que se alcanza un equilibrio donde no existen grandes diferencias de concentración que favorezcan el pasaje del aire a la sangre. Este equilibrio se alcanza más lentamente en el caso de los solventes más hidrofílicos debido a la distribución en el agua corporal.

Otra vía por la que puede absorberse solventes es la dérmica. En este caso los solventes atraviesan por difusión pasiva el estrato corneo de la piel. Este proceso está influído por concentración de la sustancia, superficie expuesta, tiempo de contacto e integridad de la piel.

Una vía de ingreso mucho menos frecuente que las anteriores es la oral. Los solventes se absorben en el tracto gastrointestinal siendo este proceso influído por la ingesta de alimento, lo cual usualmente retrasa la absorción.

Distribución, metabolización y eliminación

El transporte y distribución de los solventes variará dependiendo de la vía de entrada de los mismos. Así, si la vía de ingreso es la inhalatoria los solventes ingresarán directamente a circulación arterial y desde allí se distribuirán a todos los tejidos del organismo; mientras que si la exposición se

da por vía oral estos tóxicos ingresarán a través del tracto gastrointestinal a la circulación portal que lleva sangre al hígado antes de pasar por el resto del organismo. En este último caso la captación por el hígado dependerá del solvente y de la tasa de irrigación del órgano. Teniendo en cuenta la capacidad metabólica de este órgano, la alta irrigación y contenido graso del mismo se cree que el hígado es capaz de remover de la circulación la totalidad de los solventes que ingresan siempre y cuando no se vean superados los sistemas metabólicos.

Estas diferencias en la distribución inicial explican los diferentes efectos que producen los solventes dependiendo de la vía de ingreso, ya que los órganos recibirán mayores concentraciones cuando la exposición es por vía inhalatoria debido a que no se produce una captación inicial en el hígado, todo el gasto cardíaco pasa por la circulación pulmonar en comparación al 20% que ingresa al sistema gastrointestinal y además que la superficie de absorción alveolar es unas 20 veces mayor que la del tracto gastrointestinal.

Luego de estas etapas iniciales puede producirse una eliminación vía pulmonar de los solventes que retornan a la circulación pulmonar en la sangre venosa.

En sangre, debido a su alto contenido acuoso, los solventes se solubilizan en distintas proporciones dependiendo de su hidrofilicidad. Sin embargo, un 50% del contenido que ingresa es transportado por los eritrocitos. En general se asocian con las porciones hidrofóbicas de proteínas como la hemoglobina, con fosfolípidos, lipoproteínas y colesterol para ser transportados.

Una vez en circulación los solventes se distribuirán en los órganos dependiendo del contenido graso que tengan y de la irrigación de los mismos. Un ejemplo de un órgano altamente irrigado y con un contenido graso relativamente alto es el cerebro. Por ello cuando los solventes ingresan por vía inhalatoria se produce una captación relativamente alta en el cerebro y eso explica los efectos narcóticos de los solventes sobre el sistema nervioso central (SNC).

Luego de la primera etapa de distribución se produce una re-distribución, donde los solventes vuelven a circulación y se captan principalmente por órganos involucrados en la metabolización y el almacenamiento: el hígado y el tejido adiposo.

En el hígado los solventes serán metabolizados por las enzimas pertenecientes a la familia del citocromo P450. Las distintas isoenzimas presentarán diferente afinidad y selectividad por los diversos solventes. De estas reacciones derivarán productos más hidrofílicos que los xenobióticos originales y serán por lo tanto eliminados en orina o bilis. Estos metabolitos pueden presentar menor o mayor actividad que los compuestos de origen. Estos compuestos derivados del metabolismo serán en muchos casos responsables de los efectos tóxicos que se producen en una exposición a solventes y en el caso de los que se eliminan en orina podrán ser empleados como biomarcadores de exposición a un solvente determinado.

Efectos de intoxicaciones agudas con solventes

Estos compuestos actúan fundamentalmente como depresores del SNC cuando una persona está expuesta a altas concentraciones de solventes. Dependiendo de cada solvente los efectos depresores del SNC se producirán a diferentes niveles de concentración y tendrán con-

secuencias más o menos graves. Usualmente se produce una etapa inicial de excitación que rápidamente pasa a una fase de depresión caracterizada por taquicardia, somnolencia, aletargamiento, dolores de cabeza, temblores, confusión, dificultad para articular palabras y pérdida de conciencia. Esta sintomatología es similar a la que produce el etanol ingerido en exceso, lo que se conoce comúnmente como una borrachera; sin embargo se diferencia de ella en el fuerte olor a solvente que presenta el paciente (aliento, ropas). Si la concentración es lo suficientemente alta en el ambiente, el cuadro anterior puede devenir en coma y muerte del paciente. En los casos menos graves, generalmente es suficiente remover al paciente del ambiente en el que está expuesto a solventes para que se recupere de los síntomas que expresa.

Además de los efectos descritos sobre el SNC, también se puede producir efectos agudos sobre los pulmones. Estas sustancias pueden generar neumonía química debido a la inflamación del tejido pulmonar producida por el contacto del solvente con este tejido y a alteraciones que pueden producir en la cantidad y calidad del surfactante. Los principales síntomas de la neumonía química son tos, disnea, dificultad para respirar y ardor o dolor en el pecho. Usualmente toma unas 2 a 4 semanas de recuperación, dependiendo del solvente y del nivel al que se estuvo expuesto, luego de eliminada la exposición al solvente.

Benceno

El benceno es un líquido incoloro de olor dulce, encontrado en el ambiente proveniente de actividades humanas y fuentes naturales. Fue aislado por primera vez del alquitrán de hulla en 1800. En la actualidad proviene casi en su totalidad del petróleo. Existen varias industrias que lo utilizan en gran escala como la fabricación de estireno, cumeno (para varias resinas) y ciclohexano (para nylon y fibras sintéticas). El benceno también se utiliza para la fabricación de gomas, lubricantes, pigmentos, detergentes, drogas y pesticidas; es parte del petróleo crudo, de las naftas y del humo del cigarrillo.

Tipos de exposición

Se hallan expuestos a benceno los trabajadores de petroquímicas, estaciones de servicio, estacionamientos subterráneos, talleres mecánicos y los fumadores. Debido a que es un contaminante ambiental la población en general puede estar expuesta a bajas concentraciones de benceno, siendo los más afectados los residentes de zonas cercanas a fuentes de emisión como las citadas anteriormente y zonas con mucho tráfico.

Los trabajadores están expuestos a niveles de benceno en aire mucho mayores a los de la población en general, aunque en la actualidad, el uso de equipos protectores disminuyó notablemente los casos laborales.

Efectos de la exposición crónica al Benceno

El órgano blanco del benceno ante una *exposición crónica* es la *médula ósea*.

Los efectos de este tipo de exposición pueden tener diversas características y se conoce como *bencenismo* o *benzolismo*. Las principales patologías involucradas en este tipo de intoxicación son anemia, leucemia, trastornos hemorrágicos, alteraciones en el ciclo menstrual y en la inmunidad.

La International Agency for Cancer Research (IARC) y la EPA han determinado que el benceno es carcinogénico para los humanos. La clase de cáncer que se produce es la leucemia mieloide aguda.

La *anemia aplásica* es una de las formas más severa del bencenismo y se produce cuando la médula cesa en su función y las células madre nunca alcanzan la madurez. A medida que la enfermedad progresó, la médula se convierte en un tejido necrosado e invadido por tejido graso.

Una serie de estudios conducidos sobre trabajadores de Turquía expuestos a adhesivos que contenían benceno mostró que la severidad de los efectos se incrementaba con el aumento de los niveles y tiempo de exposición. Los hallazgos más comunes fueron leucopenia, trombocitopenia, pancitopenia y eosinofilia. El examen de la médula ósea mostró disrupción en su función, mostrando casos de médula normoblastica, hipoplásica y acelular. El monitoreo constante mostró que la eritropoyesis ineficiente o la hemólisis pueden haber sido responsables de la reticulocitosis, hiperbilirrubinemia, eritroblastemia y aumento de la fragilidad celular.

Otra de las formas severas del bencenismo incluye la *leucemia mieloide aguda* que se caracteriza por un aumento en médula de células precursoras de la línea mieloide anormales que por un lado impiden el normal desarrollo de las demás líneas celulares (eritrocitos y plaquetas) y por otro lado generan una gran cantidad de elementos de la serie blanca inmaduros y no funcionales. En sangre periférica, por lo tanto, se presenta disminución del número de eritrocitos y plaquetas así como generalmente un aumento de glóbulos blancos inmaduros y no funcionales (blastos) que en muchos casos presentan bastones de Auer (condensación de gránulos azurófilos) en el citoplasma de los mismos.

Distribución y metabolismo del Benceno

El benceno sigue las reglas básicas de distribución comentadas para los solventes en general. Los metabolitos del benceno incluyen el *fenol*, el *catecol* y la *hidroquinona*, los cuales pueden ser detectados en sangre y la médula ósea.

El benceno es excretado en su forma original a través de los pulmones y como metabolitos en la orina. La velocidad y porcentaje de excreción por vía pulmonar depende principalmente de la dosis. El benceno es metabolizado, fundamentalmente en el hígado y la médula ósea, por el citocromo P450 que inicialmente conduce a la formación del *epóxido del benceno*. Luego, se producen dos rutas distintas, una que involucra cambios en los grupos funcionales del anillo bencénico y otra que produce la apertura del anillo. Ambas vías resultan en la formación de metabolitos tóxicos. A partir del epóxido generado inicialmente se produce fenol mediante un re-arreglo no enzimático y dihidrodiol benceno por la hidroxilación en el anillo (epóxido hidrolasa). Desde allí el fenol puede derivar mediante hidroxilaciones en catecol o hidroquinona quien a su vez se oxida a p-benzoquinona o puede hidroxilarse para dar 1,2,4 trihidroxibenceno. Por su parte el dihidrodiol benceno se metaboliza en catecol siguiendo una reacción mediada por la dihidrodiol deshidrogenasas. El catecol forma-

do por cualquiera de las vías mencionadas anteriormente puede oxidarse para dar o-benzoquinona, o se hidroxila derivando en 1,2,4 trihidroxibenceno.

La segunda ruta involucra la apertura del anillo que conduce a la formación de *ácido mucónico* vía el t,t-muconaldehído que es una reconocida hematotoxina.

Otra ruta, conduce a la formación de *ácido S-fenilmercaptúrico*, compuesto que se eliminará en orina, y comienza con la conjugación del epóxido con glutatión (reacción mediada por Glutation-S-Epóxido Transferasa) seguida por la metabolización de este aducto en ácido pre-fenilmercaptúrico mediante la pérdida del residuo glutamil, de glicina y la acción de la acetil-CoA. El ácido S-fenilmercaptúrico se forma por la pérdida de una molécula de agua. Otros metabolitos que pueden encontrarse en orina son el fenol y sus conjugados con glutatión o sulfatos.

Mecanismos de acción

Los mecanismos de acción del benceno que derivan en la afección del tejido hematopoyético ante una exposición crónica son complejos y resultan de la combinación de los daños producidos por varios de los metabolitos derivados del benceno.

Dichos metabolitos son capaces de unirse covalentemente a glutatión, proteínas, ADN y ARN. Por lo tanto esto impacta en el estado redox de las células afectadas y en la estructura de las macromoléculas de las mismas. Esto genera alteraciones funcionales en el microambiente de las células involucradas en la hematopoyesis generando consecuencias tan graves como la inhibición de enzimas, destrucción de ciertas poblaciones celulares y alteraciones en el desarrollo y crecimiento de otras líneas celulares.

Se ha demostrado que las hidroquinonas pueden unirse a las fibras de los husos mitóticos (microtúbulos) lo cual genera alteraciones en la replicación celular. Aún cuando se ha demostrado también que varios de los metabolitos del benceno pueden formar aductos con ADN y que estos son dosis dependiente, el nivel de aductos es bajo incluso a dosis relativamente altas lo cual indica que si bien este mecanismo contribuye a los procesos que derivan en las patologías inducidas por exposición prolongada a benceno no son los únicos responsables.

Teniendo en cuenta que la médula ósea es rica en peroxidasa como la mieloperoxidasa, es posible que los derivados fenólicos del benceno se conviertan en hidroquinonas en la médula. Estos compuestos son altamente reactivos y generan un estrés oxidativo con un aumento de ROS mediado por semiquinonas radicalarias. Además la hematina cataliza in vivo la autoxidación de las hidroquinonas y estimula aún más la generación de ROS. Los ROS reaccionan con el ADN y pueden generar fragmentaciones que deriven en mutaciones o activación de procesos apoptóticos. Por otro lado las quinonas también pueden inhibir proteasas involucradas en los procesos de apoptosis, por lo tanto esta desregulación de la apoptosis puede generar una hematopoyesis ineficaz y el avance hacia las patologías descriptas. A esto se debe agregar que los metabolitos parecen inhibir a las enzimas involucradas en la reparación del ADN, específicamente las topoisomerasas.

Un monitoreo adecuado de la exposición al benceno depende del uso de biomarcadores y una buena correlación de resultados. Un test inespecífico es la excreción de sulfato urinario, debido a un incremento en la excreción de metabolitos conjugados con sulfato.

La estimación se realiza comparando la relación de sulfatos inorgánicos a orgánicos en la orina. Los niveles de sulfato inorgánico de un 80 al 95 % del total se consideran normales. Un 70 a 80 % indican exposición a bajos niveles de solventes como benceno o tolueno y valores menores de 60 a 70 % indican exposiciones a mayores concentraciones de estos compuestos. Este test es muy inespecífico y los niveles de sulfato urinario son extremadamente variables.

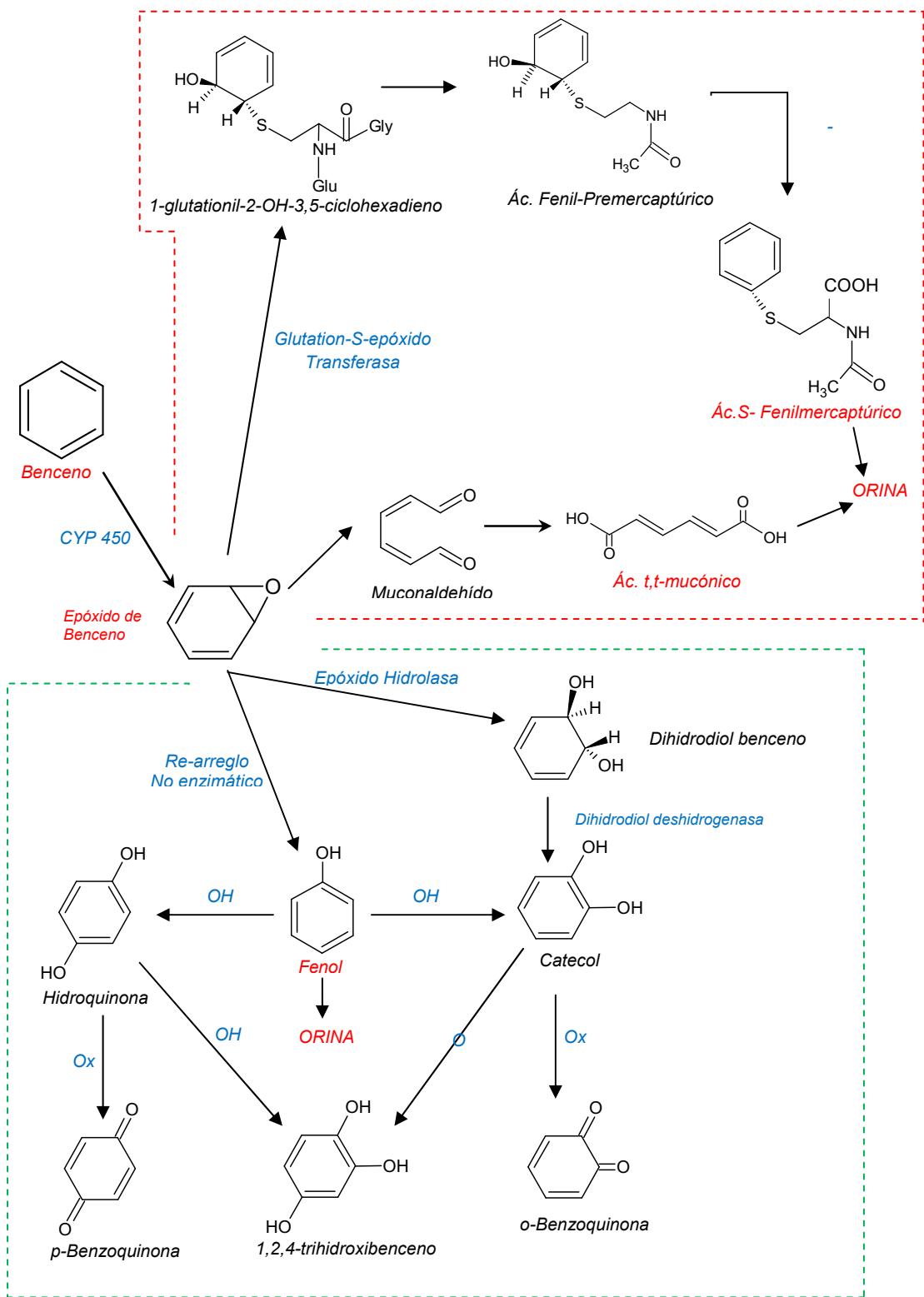


Figura 13. Metabolismo de Benceno. Ruta que involucra apertura del anillo (—) o cambios en grupos funcionales (---). OH: Hidroxilación, Ox: Oxidación.

Diagnóstico: Biomarcadores

El contenido de fenol urinario se ha utilizado en forma rutinaria para monitorear la exposición ocupacional al benceno, teniendo en cuenta que aproximadamente el 40% del benceno absorbido se biotransforma a compuestos fenólicos siendo el fenol el mayoritario entre estos compuestos. Sin embargo la correlación entre fenol urinario y exposición a benceno es pobre debido a que existe un nivel basal de fenol sumamente variable debido a la ingesta de vegetales, exposición a otros compuestos aromáticos o inhalación de humo de cigarrillos.

El benceno en sangre, orina o aire exhalado sería el mejor bioindicador de exposición. Sin embargo la determinación de este compuesto no es la utilizada con preferencia debido a que la validación de las concentraciones detectadas en estas muestras es muy compleja ya que se ve influida por múltiples factores dependientes de la muestra, de la fisiología del individuo y de los métodos de detección necesarios. Así por ejemplo, los niveles de benceno en aire exhalado dependen de la exposición, de la ventilación pulmonar de cada individuo y de la actividad física realizada antes de la toma de muestra. En sangre y orina, además de la complejidad y heterogeneidad propia de estas muestras, se debe tener en cuenta que debido a que el porcentaje de benceno presente es mucho menor que en el aire exhalado se necesitan métodos analíticos muy sensibles y una toma y manipulación de muestra muy minuciosa para evitar pérdidas o contaminaciones. Todas estas características hacen que, aún cuando podría pensarse que el benceno determinado en alguna de estas matrices sea el mejor biomarcador de exposición, no sea el empleado habitualmente en el control biológico de exposición.

Un indicador de exposición más sensible especialmente para exposiciones ocupacionales es el ácido t,t-mucónico. Se ha reportado una relación lineal entre concentración del metabolito y exposición que tiene validez para exposiciones a más de 0,25 ppm de benceno en el ambiente. Sin embargo este metabolito no es específico del benceno, ya que también deriva de la biotransformación del ácido sórbico empleado como conservante en varios alimentos. Si bien los niveles de ácido t,t-mucónico derivados del ácido sórbico ingerido no son una interferencia importante para determinar poblaciones expuestas laboralmente, si pueden influir en la detección de poblaciones expuestas ambientalmente a bajas concentraciones de benceno. Por ello cuando se realizan estudios ambientales es necesario tener en cuenta para la interpretación de los resultados los hábitos alimentarios de la población estudiada. Los métodos analíticos de detección que existen en la actualidad involucran cromatografía líquida con detector UV (HPLC-UV) o cromatografía gaseosa acoplada a detector de masas (CG-MS) o de ionización de llama (CG-FID). Ambos métodos presentan límites de detección y sensibilidades similares, sin embargo debemos considerar que la detección por HPLC-UV es más simple ya que no requiere procesamientos previos de la muestra como extracción del analito a determinar y derivatización del mismo necesarios para la determinación por cromatografía gaseosa.

Otro metabolito utilizado en el control biológico ante exposiciones laborales al benceno es el ácido S-fenilmercaptúrico. Este metabolito es específico del benceno, pero debemos tener en cuenta que sólo el 0,11% del benceno que ingresa al organismo es biotransformado en ácido

S-fenilmercaptúrico y que requiere numerosos procesos de extracción y derivatización para poder ser detectado HPLC-UV o CG-MS, lo cual hace que muchas veces haya sido desalentado el uso de este biomarcador y que para un mismo nivel de exposición se hayan detectado diferentes concentraciones de este compuesto en orina. Sin embargo, debido a su especificidad la ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) adopta como indicador biológico de exposición laboral al ácido S-fenilmercaptúrico fijando un valor límite de 25 µg/g de creatinina en orina al final de una jornada laboral.

Para completar el monitoreo biológico de la exposición se emplean también marcadores de efecto como es el hemograma mensual donde se puede determinar el impacto de la posible exposición prolongada al benceno sobre el tejido hematopoyético del trabajador.

n-Hexano

El n-hexano es un hidrocarburo de cadena lineal, saturado, obtenido a partir de ciertas fracciones del petróleo luego de varias etapas de cracking. El hexano comercial consiste de una proporción de entre el 20 al 85 % de n-hexano mientras que el resto está formado por varios isómeros del hexano, como por ejemplo 2-metilpentano, 3-metilpentano, 2,3-dimetilbutano, ciclopentano, ciclohexano y pequeñas cantidades de pentano y heptano, acetona y metil-etil-cetona. Es posible encontrar trazas de benceno (0,05%).

Entre sus usos principales se encuentra el de disolvente industrial, siendo utilizado en adhesivos y plásticos, en la extracción de aceite vegetal (aceite de soja, lino, etc.) y en la industria farmacéutica. También es de uso común en la limpieza de textiles, muebles y productos de cuero.

Tipos de exposición

Las personas principalmente afectadas por intoxicaciones con n-hexano son los trabajadores de las industrias donde se emplea este solvente y los adolescentes y niños que practican la inhalación de pegamento. Por lo tanto, si bien la vía de exposición principal es la inhalatoria, en ciertas circunstancias la vía dérmica puede adquirir relevancia.

Efectos de la exposición crónica al n-hexano

El órgano o tejido blanco del n-hexano en una *exposición crónica* es el *sistema nervioso periférico (SNP)*.

La afección típica de este tipo de intoxicaciones es la *polineuropatía sensoria-motriz ascendente*. Antes de que comiencen a manifestarse los síntomas neurológicos, en general la persona presenta pérdida de peso, nerviosismo, anemia y dolor de cabeza y de piernas; a los cuales se agrega sintomatología relacionada con el SNC que incluye disartria, incoordinación motora y dificultades visuales, las cuales pueden ser enmascaradas por una polineuritis. La neuropatía periférica se observa después de una inhalación prolongada y repetida del hexano. Los prime-

ros síntomas constan de un adormecimiento simétrico y parestesias en la parte distal de las extremidades, sobre todo en los pies y manos (síndrome de guante-media). Los síntomas mejoran después de que la exposición cesa y los casos leves pueden recuperarse totalmente mientras que en los casos más graves la recuperación es sólo parcial.

La afección se debe a que se produce una axonopatía distal. Los daños en los nervios detectados inicialmente indican alteraciones multifocales que consisten en inflamaciones axonales debidas a acumulación de neurofilamentos de unos 10 nm de longitud y numerosas mitocondrias con varios grados de degeneración, microtúbulos y retículo endoplasmático liso, que se producen en los axones más largos y de mayor diámetro que van a los músculos tibiales.

No sólo los axones de mayor diámetro resultan afectados, también sufren las consecuencias de la exposición crónica al hexano los axones de menor diámetro cuyo daño es el que se relaciona con la pérdida de sensibilidad posicional.

Estas alteraciones se producen en zonas cercanas a los nódulos de Ranvier más distales y puede darse en nódulos vecinos o alternos.

Cuando la patología progresiva se producen adelgazamientos de la vaina de mielina, la cual se retrae y puede llegar a desintegrarse completamente y luego producirse la ruptura de la fibra nerviosa. La misma inflamación puede producirse en la zona internodal así como en otras zonas alejadas de los sitios de inflamación se pueden presentar estrangulamiento y pérdida de vaina de mielina. Como respuesta pueden producirse excesos de células de Schwann donde se ha perdido la vaina de mielina para generar procesos de remielinización que da origen a segmentos cortos alternados.

Además se produce un efecto panal donde las células de Schwann emiten prolongaciones que ingresan al citoplasma del axón generando una deformación mayor aún.

A medida que avanza la exposición, estas alteraciones se extienden a lo largo de los nervios afectados y se producen afecciones en otros nervios.

Distribución y Metabolismo

Luego de seguir la ruta general de absorción y distribución compartida por los solventes tratados en este capítulo, entre el 15 y el 17% del hexano inhalado llega al hígado y es metabolizado por las oxidases de función mixta CYP 450 formando alcoholes que son conjugados con ácido glucurónico o convertidos a dióxido de carbono. El 1-hexanol y el 3-hexanol son los metabolitos menos tóxicos, siendo el primero oxidado a ácido hexanóico el cual entra al metabolismo de los ácidos grasos y se oxida completamente.

El 2-hexanoles el metabolito más importante, ya que da origen a la 2,5-hexanodionala cual es responsable del daño neurológico, siendo posible identificarla en la orina. Los otros metabolitos finales principalmente encontrados en orina son γ-Valerolactona y 2,5-dimetil-furano.

Mecanismo de acción

Se ha postulado que la acción del hexano, en particular del metabolito implicado en su acción neurotóxica, la 2,5-hexanodiona, no sólo se produce sobre el axón sino también

sobre las células de Schwann debido a su liposolubilidad, basados en que tanto los axones inflamados como los normales sufren desmielinización y en que las células de Schwann también sufren procesos inflamatorios además de verse superada su elasticidad en las zonas inflamadas de los axones.

Son varios los mecanismos de acción propuestos por los cuales la 2,5-hexanodiona media los daños en los nervios. Entre ellos podemos incluir la inhibición de la glucólisis axonal ya que inhibe selectivamente una isoenzima neuronal de la enolasa, importante enzima de la vía de degradación de glucosa. La inhibición resultante de la glucólisis implica una disminución del aporte energético lo cual deriva en una alteración del transporte axonal especialmente en los sectores con mayor requerimiento energético como los nodos de Ranvier.

Además de este efecto inhibitorio de vías metabólicas se han postulado alteraciones fisico-químicas de los neurofilamentos debidas a uniones covalentes entre la 2,5-hexanodiona y los grupos -amina de las lisinas de los neurofilamentos o de las proteínas del citoesqueleto axonal dando compuestos pirrolicos.

Si bien el número de aductos pirrolicos que se forman por proteína es bajo (1-2 aductos por molécula), dada la baja solubilidad de las proteínas presentes en los neurofilamentos y la concentración relativa que tienen estas proteínas y los aductos formados en los neurofilamentos es probable que aumente aún más su hidrofobicidad generando la agregación de los mismos en las zonas afectadas. Sumado a esta hipótesis se cree que los residuos -amina que reaccionan con la 2,5-hexanodiona están involucrados en reacciones importantes en los procesos de transporte de neurofilamentos lo cual afecta al citoesqueleto del axón. Estas interacciones alteran las cargas naturales de las proteínas involucradas lo cual resulta en alteraciones en procesos de fosforilación y en la interacción de los neurofilamentos con los microtúbulos y con otros componentes del citoesqueleto.

Otros mecanismos que se asocian a los anteriores indican que la 2,5-hexanodiona produce alteraciones en la bicapa lipídica y el balance iónico a través de la misma lo cual influye en la degeneración de la capa de mielina y en los cambios axonales. Así mismo, se cree que este compuesto inhibe proteasas involucradas en la degradación de los neurofilamentos con lo cual el recambio de los mismos se ve alterado y se favorece la acumulación de neurofilamentos.

Diagnóstico: Biomarcadores

El biomarcador de exposición empleado para la vigilancia de la salud en trabajadores expuestos a n-hexano es la 2,5-hexanodiona. Se determina en muestras de orina emitidas 30 min. Después de la exposición, es decir al final de la jornada laboral. Si no se puede procesar en el momento se debe refrigerar la muestra hasta su determinación. Es necesario realizar una hidrólisis ácida previa en la muestra para liberar la 2,5-hexanodiona que se elimina conjugada. Este proceso permite incrementar en 3 a 6 veces el nivel de 2,5-hexanodiona que puede detectarse respecto a la determinación en la muestra sin hidrólisis previa. La detección se realiza mediante técnicas de HPLC-UV, siendo el valor normal menor o igual a 5 mg/g creatinina.

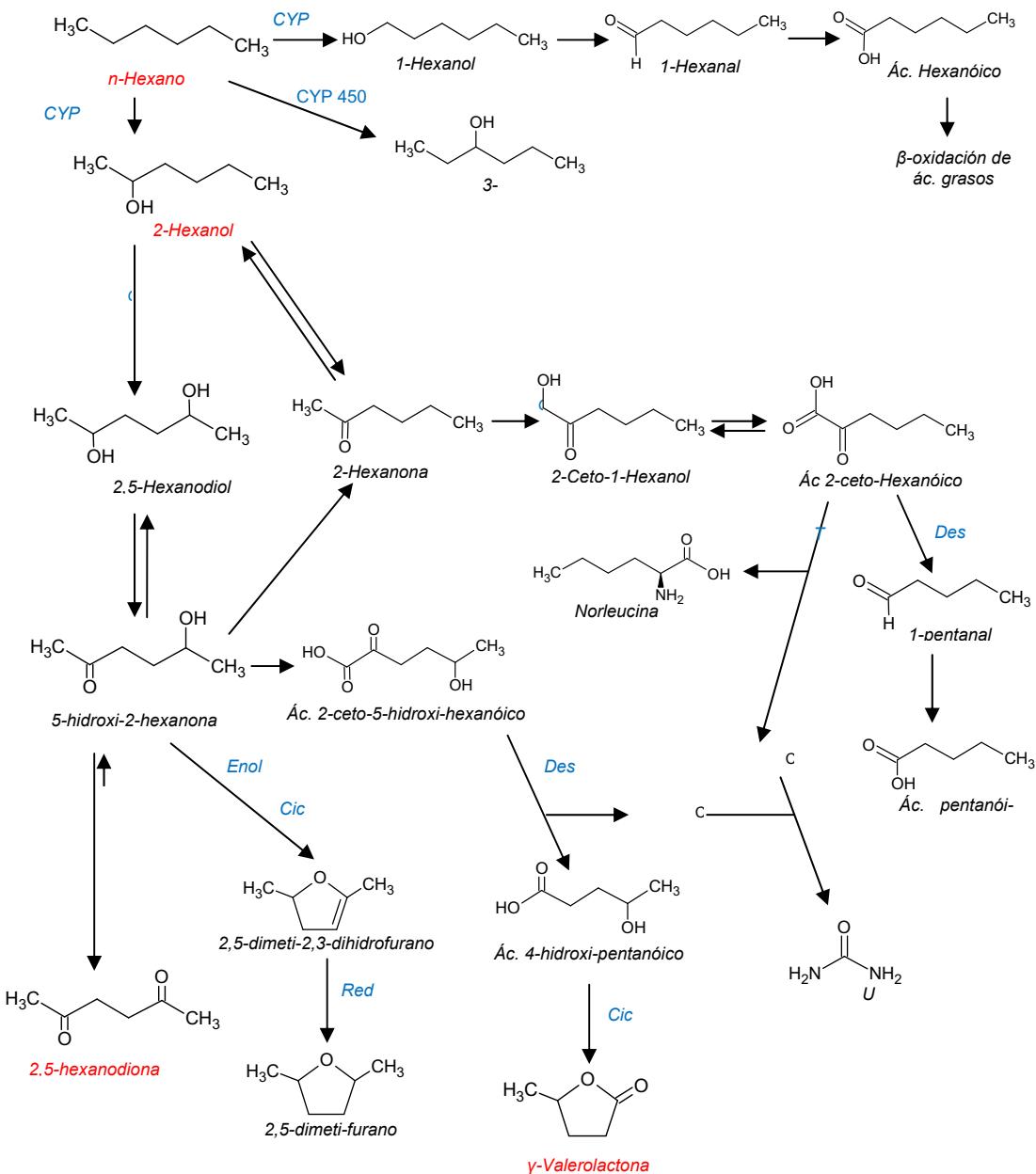


Figura 14. Biotransformación del n-Hexano. Se resaltan en rojo los compuestos más importantes del metabolismo por ser los responsables de la toxicidad del mismo, dar origen a esos compuestos o ser los metabolitos eliminados en orina y empleados como biomarcadores de exposición. CYP 450: citocromo P450, Ox: oxidación, OH: hidroxilación, TrA: transaminación, DesC: descarboxilación, Enol: enolización, Cic: ciclación, Red: reducción

Tolueno

El tolueno ($C_6H_5CH_3$) es un líquido no corrosivo, volátil y con olor aromático. Se produce a partir de las siguientes fuentes principales: la conversión catalítica del petróleo, la aromatización de los hidrocarburos alifáticos y como subproducto de la industria en los hornos de coque. La mayoría de la producción se realiza en la forma de una mezcla de benceno, tolueno y xileno que es utilizada como antidetonante en las naftas para aumentar el índice de octanos. El tolueno crudo puede contener aproximadamente un 24 % de benceno. Tiene además un número

de usos industriales: solvente, disolventes de pinturas, gomas, impresión, cosméticos, industrias de los adhesivos y resinas, como material de síntesis para otros químicos y combustibles.

Considerando la elevada volatilidad del tolueno y su baja solubilidad en agua, la mayoría del tolueno que alcance o esté presente en cuerpos de agua naturales será liberado hacia la atmósfera.

Tipos de exposición

Las poblaciones expuestas laboralmente son las involucradas en la producción del tolueno o en su uso. Este solvente es el principal solvente utilizado como droga de abuso ya que se encuentra presente en pegamentos. La inhalación es la ruta predominante de exposición en ambos casos.

Efectos de la exposición crónica a tolueno

El tolueno genera efectos principalmente sobre el sistema nervio central (SNC) tanto en la exposición aguda como en la crónica.

En la exposición aguda se produce un síndrome narcótico como el descripto para los solventes en general.

La intoxicación crónica conduce a encefalopatías que se presentan como un síndrome psico-orgánico debido a un envejecimiento precoz de funciones corticales, disfunción cerebelosa, daño en los nervios craneales, atrofia cortical y encefalopatía. Estas alteraciones derivan en sintomatología como alteraciones en la memoria, la concentración, aspectos cognitivos, pérdida de interés, apatía y falta de iniciativa, fatiga anormal, irritabilidad, cambios de humor y demencia.

También se han presentado patologías renales asociadas con el consumo crónico de tolueno, como acidosis tubular renal, cálculos renales, glomerulonefritis e insuficiencia renal, así como daños hepáticos que llevan a hepatitis tóxica e insuficiencia hepática.

Usualmente este síndrome se asocia con náuseas, vómitos, alteraciones en la motricidad fina, en la vista y en los movimientos oculares.

El discontinuar la exposición crónica al tolueno produce el mejoramiento de algunos efectos, sin embargo se observa en muchos individuos, que han aspirado pegamento por períodos prolongados, que aún cuando se ha interrumpido el consumo existen alteraciones neurológicas irreversibles.

El tolueno atraviesa la placenta y produce efectos teratogénicos. Estudios en mujeres embarazadas expuestas han indicado que los principales efectos producidos son muerte perinatal, anormalidades cráneo-faciales, retardo en crecimiento fetal, nacimiento prematuro y bajo peso al nacer. Luego del nacimiento se han registrado retrasos en el desarrollo y crecimiento así como trastornos cognitivos, del lenguaje y de las habilidades motoras.

Distribución y Metabolismo

Al igual que los solventes que hemos estudiado en este capítulo, luego de ingresar en el organismo se distribuye en los tejidos dependiendo del contenido graso de los mismos y la irriga-

ción. Por ello alcanza inicialmente el sistema nervioso central y luego otros tejidos grasos (hígado, tejido adiposo, etc.).

El 20% del tolueno es eliminado por vía pulmonar sin cambios (aire exhalado) y el resto del tolueno se metaboliza principalmente en el hígado.

La ruta metabólica del tolueno involucra la oxidación de la cadena lateral por la acción secundaria del citocromo P450, la alcohol deshidrogenasa y la aldehído deshidrogenasa que conducen a la producción de ácido benzoico. Este compuesto se transforma en ácido hipúrico, principal metabolito eliminado en orina, a través de dos reacciones secuenciales: inicialmente se genera benzoíl-CoA catalizado por la enzima benzoíl-CoA sintasa y una segunda reacción que genera el ácido hipúrico por conjugación del intermediario (Benzoíl-CoA) glicina (Gly) catalizada por la Gly-N-Benzoíltransferasa.

Se producen otros metabolitos menores como el *o-cresol* y el *p-cresol*. Un metabolito menor pero que es específico para la exposición al tolueno es el *S-bencil-N-acetil-L-cisteína*. El metabolismo del tolueno está mediado por varias isoenzimas que varían en su expresión de acuerdo a la dieta, especies, edad, raza, sexo y la co-exposición a otros compuestos que emplean las mismas isoformas del CYP 450 en su metabolismo. Así, por ejemplo, la co-exposición a benceno y tolueno disminuiría el riesgo de desarrollar leucopenia en los trabajadores expuestos a la combinación de estos solventes respecto de la exposición al benceno solamente. Esta combinación, por otra parte, disminuye la eliminación de ácido hipúrico. Lo mismo ocurre con una disminución en las neuropatías desarrolladas en una exposición a n-hexano y tolueno, respecto de la exposición a n-hexano.

Mecanismo de acción

El tolueno actúa sobre el sistema dopaminérgico involucrado en los efectos gratificantes inducidos por esta y otras sustancias. Se ha probado, en estudios realizados en ratas, que la inhalación de tolueno durante varias horas en niveles de 1000 a 2000 ppm genera en el tejido estrial un aumento de dopamina.

El tolueno actúa sobre varios receptores en el sistema nervioso, estos efectos en conjunto generan la inhibición que da origen a los efectos observados.

El tolueno actúa como agonista (aumenta la actividad) de los receptores de glicina, serotonina (5HT₃) y GABA_A. Estos receptores son canales iónicos que al ser estimulados conducen a la despolarización de la célula y a la inhibición.

Además de esos efectos, el tolueno presenta efectos antagonistas (disminución de la actividad) sobre los receptores nicotínicos y receptores de glutamato (NMDA, N-metil-D-aspartato). Estos canales a diferencia de los anteriores son de carácter excitatorio, por lo cual la inhibición de la activación de los mismos generará respuestas de carácter inhibitorio.

El tolueno funciona de manera similar al etanol sobre los receptores comentados, sólo que el tolueno es más potente ya que para obtener el mismo efecto que provoca el tolueno son necesarias concentraciones 10 a 100 veces superiores de etanol.

El tolueno además de ser antagonista de los receptores NMDA, en una exposición prolongada produce un aumento del nivel de estos receptores. También se produce una sensibilización de los receptores NMDA, lo cual está relacionado con los estados de hiper-excitabilidad de los receptores glutamatérgicos una vez que ha cesado la exposición.

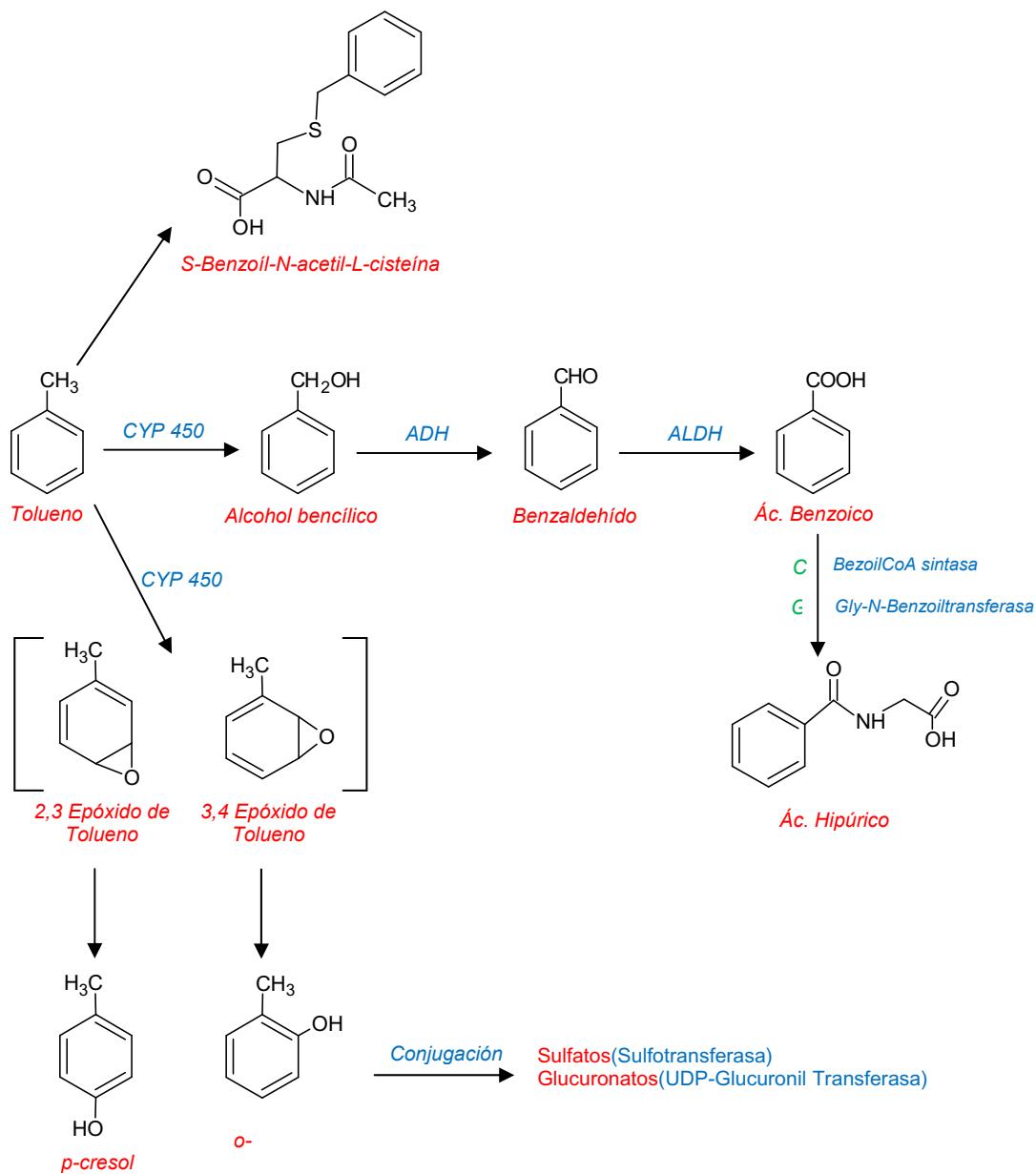


Figura 15: Botransformacion del tolueno

Debemos tener en cuenta que si bien el tolueno, a altas y bajas concentraciones, actúa sobre los mismos blancos moleculares básicos; a bajas concentraciones (0,17 mM) los efectos se producen por cambios en la actividad del receptor por interacción del tolueno con los mismos, mientras que a altas concentraciones (mayores a 20 mM) las alteraciones resultan de interacciones no específicas debidas a variaciones en la permeabilidad de la membrana.

Así mismo se ha demostrado que el tolueno altera la actividad de canales iónicos voltaje operados, ATP asas, acoplados a proteínas G y el sistema de señalización de calcio.

Por lo tanto el tolueno actúa sobre varios blancos moleculares con diferente eficacia dependiendo de la duración de la exposición y la concentración a la que se está expuesto.

Diagnóstico: Biomarcadores

El tolueno en sangre venosa es el biomarcador de exposición más, específico y sensible especialmente cuando la exposición se produce a bajas concentraciones (<1 ppm tolueno en el aire). Sin embargo se requieren para determinarlo equipamiento costoso (GC-FID) y procedimientos cuidadosos de recolección de muestra al principio del último día laboral de la semana. Además debemos tener en cuenta que la estabilidad del tolueno en la muestra, ya que se ha demostrado que las muestras almacenadas a 24°C o menos durante una semana pierden el 25% de tolueno inicial. Estas razones económicas y de procesamiento hacen que no sea el biomarcador utilizado habitualmente.

El tolueno también puede ser determinado en el aire exhalado, sin embargo se requiere una recolección de la muestra muy cuidadosa para evitar pérdidas de analito y en casos de exposición a bajas concentraciones procedimientos de concentración costosos para poder detectarlo. Por esto tampoco es empleado usualmente como biomarcador.

El ácido hipúrico urinario es el metabolito mayoritario del tolueno, más del 75% del tolueno inhalado es metabolizado en ácido hipúrico y excretado en orina 12 hs después de la exposición. Por ello ha sido considerado desde hace tiempo un biomarcador de exposición. Puede determinarse por técnicas espectrofotométricas o por HPLC con detección UV. Sin embargo, su confiabilidad es limitada a bajos niveles de exposición, así como dependiente de las condiciones de la exposición y de genotipos específicos para la aldehído deshidrogenasa.

La excreción del ácido hipúrico ha sido correlacionada con la concentración promedio en el tiempo (TWA) de tolueno durante el turno de trabajo, por lo cual las muestras de orina deben tomarse al final de la jornada laboral.

El ácido hipúrico presenta una limitada especificidad especialmente en exposiciones a bajas concentraciones de tolueno debido a que los niveles pueden estar influenciados por la dieta, ya que este compuesto deriva del ácido benzoico, utilizado como conservante en una gran cantidad de productos, y por el consumo de algunos fármacos como el ácido acetilsalicílico.

El o-cresol es un metabolito menor del tolueno (menos del 1% del tolueno se metaboliza en o-cresol) que también ha sido considerado como marcador de exposición. Sin embargo, tampoco es específico, los niveles de o-cresol están influenciados por el tabaquismo, diferencias entre sexos, consumo de alcohol y actividad física. Además su medición es más complicada que para el ácido hipúrico, ya que involucra derivatización de la muestra y determinación por CG.

Cloroformo

El cloroformo, triclorometano o tricloruro de metilo, es un compuesto químico de fórmula CHCl_3 . Puede obtenerse por cloración como derivado del metano o del alcohol etílico o,

más habitualmente en la industria farmacéutica, utilizando hierro y ácido sobre tetracloruro de carbono.

A temperatura ambiente, es un líquido volátil, no inflamable, incoloro, de olor característico a frutas y sabor dulce y ardiente. Aunque no es inflamable, por acción del calor pueden explotar los recipientes que lo contienen.

El cloroformo en trazas puede generarse de manera natural y se forma también al clorar el agua potable o las aguas residuales.

Inicialmente se lo utilizó como anestésico, hasta 1940 donde fue reemplazado por otros de mayor seguridad. También se lo utilizaba ampliamente para sintetizar compuestos como el cloro-difluorometano empleado como refrigerante. Actualmente se emplea como materia prima en la industria química (fabricación de resinas, plásticos, etc.), como desengrasante de metales, como disolvente en procesos industriales y en el laboratorio. Es también utilizado en biología molecular para varios procesos, como la extracción de ADN de lisados celulares. Asimismo, es usado en el proceso de fijación de muestras histológicas post mortem.

La principal situación de exposición a este solvente es la relacionada con los ámbitos laborales por inhalación de sus vapores fundamentalmente.

La EPA (Environmental Protection Agency) fija normas sobre la cantidad permitida de numerosas sustancias que pueden resultar nocivas en el ambiente. Para el agua potable, la EPA establece un límite en el total de trihalometanos, dentro de los cuales se incluye al cloroformo, de 100 ppb. Además, la EPA requiere que los derrames de cloroformo al medio ambiente de 10 libras o más se notifiquen al Centro Nacional de Respuesta (National Response Center). La OSHA (Occupational Safety and Health Administration) establece los niveles de cloroformo permitidos en el aire de los lugares de trabajo en Estados Unidos. El límite de exposición permisible en el trabajo es de 50 ppm ó 240 mg/m³ (valor techo) en el aire durante una jornada laboral de 8 horas y una semana de trabajo de 40 horas. Como vemos los valores propuestos por las distintas agencias varían debido a que se toman diferentes criterios de vías y tiempos de exposición para establecerlos.

Distribución y Metabolismo

El cloroformo sigue los mismos mecanismos de absorción y distribución de los solventes en general, y es conducido en sangre al hígado, los riñones y el tejido graso principalmente. En el hígado se produce su metabolización. El principal metabolito del cloroformo es el fosgeno que se produce por una reacción mediada por el sistema CYP450 (Fig. 5).

Cuando se combina con agua genera HCl y CO₂. Esto puede ocurrir a nivel pulmonar donde el CO₂ es exhalado y el HCl puede ser uno de los responsables de la neumonía por inhalación que se produce en estas intoxicaciones.

El principal daño en las intoxicaciones con cloroformo es debido a la unión covalente del fosgeno formado durante la biotransformación, el cual es el principal responsable de la toxicidad de este compuesto ya que se une covalentemente a sulfhidrilos de macromoléculas generando los daños observados en estas intoxicaciones.

Una parte del cloroformo se elimina por exhalación y sólo una pequeña cantidad de productos de degradación sale del cuerpo en la orina y las heces.

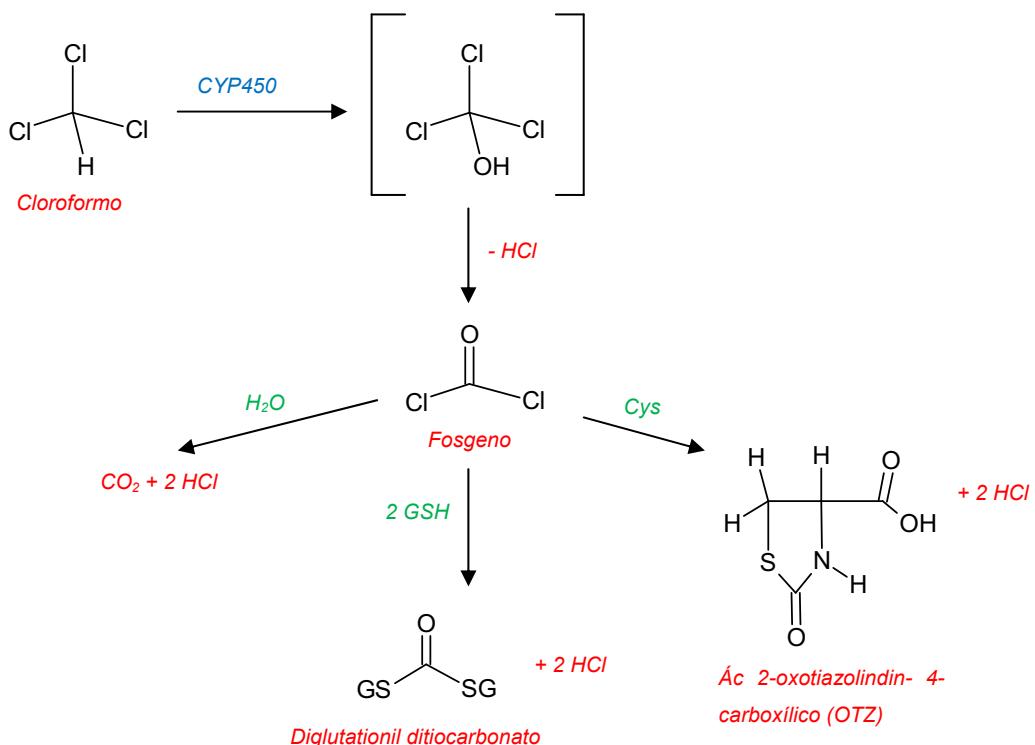


Figura 16. Biotransformación del Cloroformo. Se resaltan en rojo los metabolitos, en azul las enzimas que catalizan la reacción y en verde los co-factores de reacción.

Efectos de la exposición crónica a cloroformo

Los órganos blanco del cloroformo en una exposición crónica son el hígado y los riñones. Estos efectos pueden estar potenciados por otros compuestos como alcoholes alifáticos o cetonas.

Es importante tener en cuenta que se han demostrado tolerancia o adaptación a los efectos hepato-renales del cloroformo en algunas líneas de ratones. Se han observado respuestas regenerativas que protegen a los órganos del daño provocado por cloroformo o daños menores cuando los animales se exponen a dosis repetitivas de cloroformo frente a los observados con una única dosis. Esto se debe principalmente a la inhibición del sistema P450 para evitar la biotransformación del compuesto y a un aumento de la eliminación del cloroformo en el aire exhalado.

Sin embargo, se ha probado el poder carcinogénico del cloroformo en roedores. La generación de tumores en hígado y/o riñón depende de la especie, el sexo, la ruta de exposición y el medio en el que es administrado. En este sentido los machos generalmente presentan necrosis en el riñón debidas a la exposición a cloroformo, mientras que las hembras no; esto se debe a diferencias en la actividad de CYP renal mediadas por testosterona.

EPA clasifica al cloroformo dentro del grupo B2 como potencial carcinógeno en humanos, lo cual indica que hay suficiente evidencia de carcinogenicidad en animales y poca o inadecuada evidencia en humanos.

Mecanismo de acción

Su principal metabolito, el *fosgeno*, es el principal responsable de la toxicidad hepática y renal. Inicialmente el fosgeno es conjugado con GSH para eliminarlo, lo cual deriva en la depleción del GSH. Cuando esto ocurre, el fosgeno puede unirse covalentemente a proteínas y lípidos en hígado y riñón, lo cual genera alteraciones en las membranas y otras estructuras celulares que derivan en la necrosis del tejido y en una respuesta proliferativa para intentar repararlo. En este contexto se producen también la promoción de tumores por la expansión clonal de células que presentan alteraciones espontáneas en el ADN, y por la alteración en la expresión de ciertos genes como myc y fos.

Así mismo, el cloroformo forma aductos con dos fosfatidil etanolaminas generando fosfatidil etanolamina modificadas principalmente en la membrana mitocondrial lo que genera alteraciones ultraestructurales en esas membranas y por lo tanto en la función de la organela; en especial en la captación y liberación del calcio.

No hay evidencias de que el cloroformo o sus metabolitos se unan al ADN, sin embargo, parece que la unión de los mismos a las histonas juega un papel central en el control de la expresión génica y en la carcinogenicidad de este compuesto. Otra hipótesis es que el estrés oxidativo y la depleción de GSH inducida por el cloroformo generan genotoxicidad indirecta que contribuye a la carcinotoxicidad.

Diagnóstico: Biomarcadores

Pese a que se puede medir la cantidad de cloroformo en el aire exhalado, en la sangre, en la orina y en los tejidos del cuerpo, no contamos con pruebas fiables que determinen cuanta exposición de cloroformo ha habido, o si se experimentará efectos nocivos en la salud. La medición del cloroformo en los líquidos y los tejidos del organismo puede ayudar a determinar si se ha estado en contacto con grandes cantidades de cloroformo.

Sin embargo, estas pruebas solo son de utilidad si se realizan poco después de que ha habido exposición, debido a que el cloroformo sale rápidamente del cuerpo. Además, el cloroformo puede derivar de otras sustancias químicas (hidrocarbonos clorados) por lo tanto el cloroformo que está en el cuerpo puede también indicar que se estuvo en contacto con otras sustancias. Como estudios anexos en este tipo de intoxicaciones pueden determinarse los niveles de las enzimas marcadoras de daño hepático (fosfatasa alcalina FAL, alanino transaminasa ALT y aspartato transaminasa AST). Estos niveles indicarán el estado del hígado (biomarcadores de efecto) pero no nos permiten determinar si esas alteraciones son producidas por el cloroformo, es decir no son biomarcadores de exposición.

Tetracloruro de Carbono

El tetracloruro de carbono (CCl_4) es un líquido incoloro, no inflamable y de olor dulzón. Se obtiene haciendo pasar cloro por sulfuro de carbono, en presencia de pentasulfuro de antimonio, y separando el tetracloruro de carbono del monocloruro de azufre formado (p.eb. 135,6°C) por destilación fraccionada.

El tetracloruro de carbono (CCl_4) fue utilizado ampliamente como solvente, limpiador en seco, extinguidor de fuego, intermediario de síntesis, fumigante de granos y antihelmíntico para humanos. Su uso ha disminuido en forma constante desde 1970, debido a su toxicidad hepatorenal, carcinogenicidad y contribución a la disminución en la capa de ozono. A pesar de esto, parece ser una sustancia ubicua en el aire ambiental y es todavía encontrado en aguas subterráneas de pozos cercanos a rellenos sanitarios. El tetracloruro es una clásica hepatotoxina, aunque en humanos el daño renal es a menudo más severo.

La exposición más alta al tetracloruro de carbono es probable que ocurra en personas que trabajan con este compuesto.

La EPA ha establecido un límite para el tetracloruro de carbono en el agua potable de 5 ppb. La OSHA ha establecido un límite de 10 ppm en el aire del trabajo durante una jornada diaria de 8 horas, 40 horas a la semana.

Efectos de la exposición crónica al tetracloruro de carbono

El principal órgano blanco de este tipo de exposiciones es el hígado. El daño hepático incluye disociación de los polisomas y ribosomas del retículo endoplásmico rugoso, desarreglo del retículo endoplasmático liso, inhibición de síntesis proteica y acumulación de triglicéridos. El CCl_4 ingerido alcanza el hígado, sufre activación metabólica, produce lipoperoxidación, se une covalentemente e inhibe la actividad de la ATPasa mitocondrial en minutos. Otro factor que está involucrado en la esteatosis que se produce en esta intoxicación es la hipometilación del ARN ya que contribuye a la inhibición de la síntesis de lipoproteínas. Resulta evidente la necrosis de células individuales a las 5 o 6 hs después de la ingesta, progresando a necrosis centrolobular máxima dentro de las 24 a 48 hs. La mayoría de las enzimas microsómicas están significativamente deprimidas. La actividad de las enzimas marcadoras de daño hepático aumenta en el suero generalmente en forma paralela a la extensión de la necrosis del hígado. La regeneración celular, evidenciada por una síntesis aumentada de ADN y progresión del ciclo celular alcanza su máximo de 36 a 48 hs.

Distribución y Metabolización

Luego de la absorción se distribuye por los tejidos al igual que los otros solventes. El tetracloruro de carbono sufre procesos de biotransformación en el hígado mediados por el sistema CYP450 que conducen a la formación del radical triclorometilo por la eliminación de un cloruro de la molécula (deshalogenación reductora).

Este radical reacciona rápidamente con otras moléculas que sirvan de dadores de protones (principalmente lípidos celulares) y genera cloroformo que se transformará a su vez en fosgено por reacciones enzimáticas mediadas por el sistema CYP450 (Fig 5).

Estos dos metabolitos son particularmente importantes ya que están fuertemente involucrados en la acción tóxica del tetracloruro de carbono: el fosgeno producido puede unirse covalentemente a sulfhidrilos presentes en la biomoléculas de la célula y el radical triclorometilo es el principal responsable de la peroxidación lipídica que es una de las bases del daño tisular resultante.

La mayor parte del tetracloruro de carbono es eliminado del cuerpo inalterado, pero cierta cantidad puede transformarse a otras sustancias (por ejemplo, cloroformo, hexacloroetano y anhídrido carbónico) antes de ser eliminado del cuerpo.

Los estudios en animales han demostrado que bajo una variedad de condiciones, 34% al 75% se excreta en el aliento, 20% al 62% se excreta en las heces, y sólo pequeñas cantidades se excretan en la orina.

Mecanismo de acción

El mecanismo de daño hepático ha recibido más atención que ningún otro tóxico, aunque todavía existe considerable debate acerca de la importancia relativa de las distintas actividades del CCl_4 especialmente la unión covalente y la peroxidación lipídica.

El CCl_4 sufre inicialmente una activación metabólica que lo convierte el radical triclorometilo ($\text{CCl}_3\cdot$). Este radical extrae protones de los ácidos grasos insaturados generando cloroformo y un radical ácido graso.

Esta extracción de protones de los ácidos grasos poliinsaturados genera radicales orgánicos altamente inestables que sufren una serie de reacciones entre las cuales podemos encontrar re-arreglos de los dobles enlaces para generar dienos conjugados.

Además este radical puede unirse covalentemente a los ácidos nucléicos iniciando de esta forma cáncer hepático.

Estos radicales lipídicos también reaccionan rápidamente con O_2 para formar peróxidos lipídicos, los cuales generan importantes daños a la membrana plasmática y enzimas celulares.

Este proceso altera a los lípidos de membrana, fundamentalmente asociados a fosfolípidos, lo cual deriva en alteraciones en la permeabilidad de las organelas y en la homeostasis del calcio. Se produce un aumento de calcio intracelular debido a un mayor flujo desde el espacio extracelular debido al daño producido en la membrana plasmática y a un menor secuestro intracelular. Este aumento de calcio intracelular activa la fosfolipasa A2, lo cual aumenta el daño a la membrana. Además se producen desregulaciones en las actividades de ciertas enzimas como calmodulina, fosforilasa y proteinquinasa C que están involucradas en cascadas de señalización que llevan a la muerte celular por apoptosis o necrosis.

Por otra parte las alteraciones en la homeostasis del calcio generan liberación de citoquinas y eicosanoides en células de Kupffer, generando así infiltración de neutrófilos y daño hepatocelular.

La generación inicial del radical $\text{CCl}_3\cdot$ también resulta en una unión covalente al CYP, lo cual genera su inactivación. Por ello en ciertos casos una exposición inicial a dosis subletales de tetracloruro de carbono puede tener ciertos efectos protectores frente a subsiguientes exposiciones ya que el sistema que interviene en su activación metabólica se encuentra inhibido. Por otro lado el cloroformo sufre una segunda etapa de reacciones oxidativas mediadas por el sistema CYP450 para generar fosgeno, el cual es capaz de unirse covalentemente a sulfhidrilos presentes en proteínas y ácidos nucléicos generando importantes alteraciones en la célula.

Diagnóstico: Biomarcadores

La manera más conveniente es simplemente medir tetracloruro de carbono en el aliento. El tetracloruro de carbono se puede medir también en la sangre, el tejido graso y en otros tejidos. Aunque estos exámenes pueden demostrar que una persona ha estado expuesta al tetracloruro de carbono, los resultados no pueden usarse para predecir con certeza si ocurrirán efectos adversos. Debido a que el tetracloruro de carbono abandona el cuerpo relativamente rápido, los exámenes son solamente de utilidad para detectar exposiciones recientes (durante 3 a 4 días antes del examen).

Los efectos de los solventes se resumen en el siguiente esquema Figura 17 en donde se detallan las características de los tóxicos estudiados haciendo énfasis en los aspectos que los vinculan entre sí y aquellos que los diferencian.

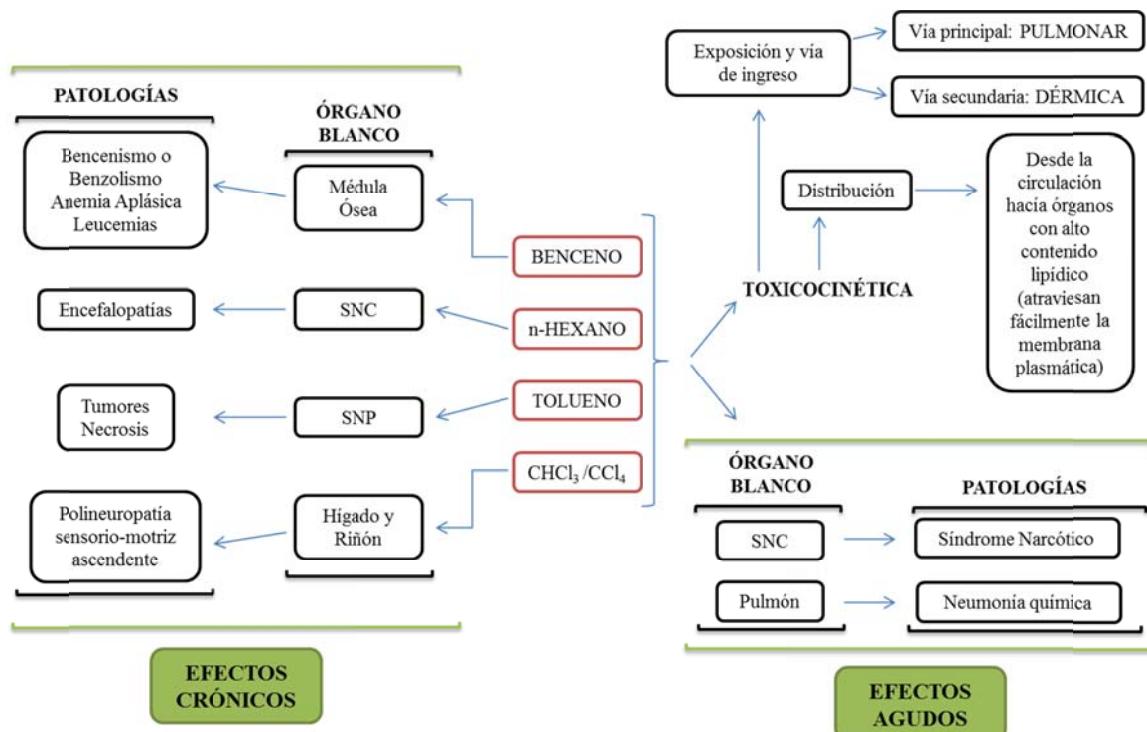


Figura 17. Cuadro comparativo de la toxicocinética, efectos agudos/crónicos y órgano blanco del benceno, n-hexano, tolueno y CHCl₃/CCl₄.

Bibliografía

- Bloom J. C.; Schade, A. E.; Brandt, J. T. Chapter 11. Toxic responses of the blood. En C.D. Klaassen, Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 5th ed. (pp. 335-354). New York: McGraw-Hill, Health Professions Division. 1996.
- Bruckner J. V., Anand, S. S. and Warren, D. A. Chap. 24. Toxic Effects of Solvents and Vapors. En: Casarett, Louis J; Klaassen, Curtis D, Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of Poisons. 7th Ed. New York: McGraw-Hill Medical. 2008.
- Fishbein J. C. Advances in Molecular Toxicology. Vol. 4, 5. Elsevier. 2011
- Flanagan, R.J.Braithwaite, R.A.; Brown, S.S.; Widdop, B. and Wolf, F.A. (. International Programme on Chemical Safety. Basic Analytical Toxicology. Geneva: World Health Organization. 1995.
http://www.who.int/ipcs/publications/training_poisons/analytical_toxicology.pdf
- Hodgson, E. A. Textbook of modern toxicology, Third Edition. USA: John Wiley & Sons, Inc. 2004.
- Klaassen, C. D. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 5th ed. New York : McGraw-Hill, Health Professions Division. 1996.
- Menendez, M. y Teresa Soriano M. Cap 13. Neurotoxicidad de los solventes Hidrocarbonados. En: Toxicología Avanzada. Manuel Repetto. Madrid. España: Diaz Santos S.A. 1995.
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Toxicological Profile for Carbon Monoxide. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK153687/# S35. 2012.>

CAPÍTULO 6

Toxicidad de los metales

María Alejandra Rasile

La denominación “metales tóxicos o metales pesados” desde el punto de vista toxicológico es general e incluye a un grupo de metales y no metales o metaloides como el selenio y el arsénico.

Resulta bien conocido que dentro de este grupo de elementos existen metales que a niveles traza son nutrientes esenciales para el organismo humano mientras que, en función de su dosis, otros pueden resultar extremadamente tóxicos.

Entre los metales considerados oligoelementos podemos mencionar:

- * con funciones esenciales: hierro, zinc y magnesio.
- * con funciones metabólicas importantes: cobalto, cobre, manganeso, magnesio, molibdeno, calcio, cromo, sodio, potasio, níquel, zinc y selenio. A esta lista podrían incorporarse el estaño y el silicio.

En cuanto al grupo de metales sin función biológica y con mayor toxicidad conocida podemos listar los siguientes: aluminio, arsénico, berilio, cadmio, cromo, mercurio y plomo.

El estudio de la toxicología de los metales pesados incluye la búsqueda de información y indagar en cuanto a:

- origen del tóxico,
- fuentes de exposición,
- dosis tóxicas en el hombre,
- forma química (orgánica o inorgánica) en la cual son introducidos en el organismo y el estado de oxidación, que puede determinar el carácter tóxico de un metal y su distribución en el ambiente (especiación),
- absorción, distribución, posibilidad de depósitos en tejidos (hombre, animales y plantas) y excreción,
- entendimiento del metabolismo y mecanismo de acción biológico de los metales, particularmente a nivel de tejido y célula donde pueden ocurrir efectos específicos,
- posibles biomarcadores de efecto, de exposición o de susceptibilidad,
- tipo de exposición (aguda o crónica),
- cuanti-cuantificación analítica de las especies tóxicas en diferentes matrices, para diagnóstico de intoxicación, monitoreo biológico y ambiental,

- posibles tratamientos de las intoxicaciones (generalmente quelantes) que son de interés para el médico toxicólogo,
- legislación vigente. En Argentina no existen líneas base de metales pesados en suelos urbanos o agrícolas, lo que obstaculiza el control de la contaminación de distinto origen.

Siendo los Tóxicos metálicos una importante fuente de riesgo para la salud y el medio ambiente, la actividad antropogénica es una causa frecuente de exposición pues actúa concentrando los metales y produciendo en muchas ocasiones exposición ambiental, laboral y domiciliaria a través de los alimentos, aire, agua contaminados.

Los metales se redistribuyen en el medio ambiente mediante ciclos geoquímicos, ciclos biológicos y una combinación de estos, los ciclos biogeoquímicos.

En los ciclos geoquímicos, las lluvias disuelven rocas y minerales transportando físicamente material hacia los cursos de agua como arroyos y ríos, estos los depositan y distribuyen hacia los suelos adyacentes y, eventualmente luego pueden ser arrastrados hacia el océano, precipitados ó ser tomados nuevamente por las lluvias y ser reubicados en cualquier parte del planeta.

Durante los ciclos biológicos se produce la bioconcentración de metales en plantas y animales, en consecuencia los mismos se incorporan a la cadena alimenticia con la posibilidad de bioacumularse en los organismos participantes e incluso biomagnificarse y llegar al hombre en concentraciones tóxicas.

La actividad industrial también contribuye a la redistribución de los metales en el medio ambiente, removiendo metales de sus minerales, generando nuevos compuestos y aumentando la descarga de metales hacia la tierra, el agua y la atmósfera.

En particular el ciclo biogeoquímico, es una representación de la circulación de un elemento ó compuesto químico a través de los diferentes compartimentos medioambientales de la tierra: litosfera (corteza terrestre), hidrosfera, atmósfera y biosfera mediante una serie de procesos.

La circulación de los elementos es el resultado de diversas interacciones entre la materia y la energía, y esta impulsado por la radiación solar, energías mecánicas y químicas, y por la energía terrestre. Los metales pesados circulan a través de todos los compartimentos con diferente tiempo de residencia, pero los correspondientes a suelos y sedimentos varían entre cientos y millones de años, por lo que pueden considerarse como reservorios temporales. Los metales vuelven a ser re movilizados de estos depósitos dependiendo de varios factores como especie química, pH del suelo o curso de agua, condiciones naturales o condiciones generadas por el hombre, etc.

En sistemas biológicos y a dosis elevadas, muchos metales pueden afectar múltiples sistemas orgánicos; pero a bajas dosis, cada metal tiende a afectar un tejido u órgano específico, por lo que es importante el estudio de las lesiones producidas por los tóxicos sobre diferentes sistemas.

Resulta de gran importancia el estudio del tóxico en particular sobre cada uno de los sistemas o aparatos que afecta. En este sentido se buscan biomarcadores de exposición, toxicidad y susceptibilidad.

Los biomarcadores de exposición, también denominados monitores biológicos, tienen un amplio uso por ejemplo en monitoreos del personal expuesto a nivel laboral, usando como muestras para el análisis de la presencia de metales sangre y orina. El advenimiento de la biología molecular expande las posibilidades de uso de estos tres biomarcadores como por ejemplo proveer valores guía para la prevención de la exposición ó para la intervención terapéutica. El objetivo buscado es relacionar los síntomas o los niveles detectados de metales en muestras biológicas o ambientales con una intoxicación aguda ó crónica según el tipo de exposición.

A los efectos de realizar los monitoreos biológicos y desarrollar un criterio para la selección de muestras, resulta útil conocer la forma de exposición (aguda o crónica), las vías de entrada y el o los mecanismos de depósito y eliminación de los metales en el hombre.

En una exposición aguda las manifestaciones clínicas aparecen rápidamente después de la exposición y contacto con el tóxico. La dosis del tóxico que produce un cuadro agudo varía según el tipo de metal involucrado, su forma y especie química, etc.

En general, luego de una exposición crónica a metales las manifestaciones clínicas suelen aparecer luego de 3 a 6 meses e incluso años después de la exposición. La dosis involucrada es pequeña, continua y muchas veces con efecto acumulativo. En un alto porcentaje presentan secuelas a largo plazo.

En general se conocen como posibles vías de ingreso de metales al organismo a las siguientes: inhalatoria, dérmica, oral (agua, alimentos contaminados, prótesis metálicas) y la transferencia vertical madre-hijo a través de la placenta o por la leche materna. La vía inhalatoria en personal expuesto en industrias (ambientes fabriles o talleres metalúrgicos) se considera una de la más importantes y habituales, la forma de exposición es a través de material particulado, vapores o gases, siendo estos últimos generalmente compuestos organometálicos (carbonilos de níquel, cobalto por ejemplo); estas combinaciones son mucho más tóxicas que las formas elementales de los metales. Por lo anteriormente expuesto, se observa en la mayoría de las legislaciones laborales, una especial preocupación por la protección de los empleados mediante el uso obligatorio de equipos de protección personal (EPP) y el continuo monitoreo del ambiente de trabajo realizando mediciones ambientales de metales a través de diferentes muestreos.

Otra ruta de exposición importante en ambientes industriales es la vía dérmica; los metales en forma elemental, polvos o gases, pueden provocar dermatitis, alergias y distintos tipos de cáncer.

La toxicidad de un metal está definida por la vía de entrada, por la especie química involucrada y su estado de oxidación. Uno de los mejores ejemplos lo constituye el mercurio (Hg), que al ser ingerido en su forma elemental resulta prácticamente atóxica, mientras que una sal de mercurio soluble produce daño a nivel renal (riñón) y la forma orgánica de mercurio el metilmercurio llega fácilmente e ingresa a nivel nervioso (SNC) produciendo daños neurológicos por

su lipofilicidad. El mismo metal vía inhalatoria, tanto el metil-Hg como el vapor de mercurio atómico se absorben un 80 %.

Resulta importante retomar un tema de inmensa complejidad, el de las especies químicas. El contenido total de un elemento presente en una muestra no es el factor principal para determinar su toxicidad, sino la proporción de las distintas especies químicas presentes una matriz determinada. Existen dos ejemplos clásicos que ilustran este concepto: el As (III) resulta mucho más tóxico que el As(V), pues sólo el arsénico trivalente puede unirse a los grupos tioles de las proteínas; el Cr(VI) resulta más tóxico que el Cr(III) pues es más soluble en agua que la especie trivalente y una vez que logra ingresar en el interior de la célula, pasa a varios estadios intermedios de reducción – Cr(V), Cr (IV) – todos ellos con la capacidad de unirse al ADN y provocar mutagénesis.

En cuanto al depósito de metales en el organismo, se sabe que la mayoría de ellos una vez absorbidos, circulan unidos a la fracción proteica del plasma, mediante la unión a grupos funcionales como sulfihidrilos, amino, fosfato, imidazol e hidroxilos por los cuales son muy afines en la mayoría de los casos. La distribución refleja la diferente capacidad que tiene cada especie metálica para atravesar membranas y para permanecer unidos a los diferentes componentes de los tejidos u órganos.

El proceso de eliminación de metales en una intoxicación, requiere de ciertos tratamientos, debido a que nuestro organismo no puede metabolizarlos de la misma forma que lo hace con las moléculas orgánicas, lo que define en algunos casos una larga permanencia de ciertos metales. A pesar de esto se conocen mecanismos especializados de quelación y oxidorreducción, que fundamentan los diferentes tratamientos de intoxicación utilizados que pueden modificar la excreción y la toxicidad. La vía principal de eliminación de los metales es a través de quelatos hidrosolubles por vía renal y gastrointestinal. La vía renal requiere previamente que los metales circulen en forma soluble unidos a proteínas endógenas como la albúmina o las metalotioneínas, siendo estas últimas las preferidas por su pequeño tamaño (5-6 kDa), el cual les permite atravesar libremente los glomérulos y llegar de esta forma a la orina. Otras rutas de eliminación de menor importancia que contribuyen a la detoxificación son el sudor, el aliento y las faneras (pelos y uñas), estas últimas matrices denominadas no tradicionales son de importancia toxicológica para la determinación de exposiciones crónicas (ej. Talio, Arsénico en pelo y uñas).

Los análisis pueden realizarse sobre distintos segmentos del cabello de modo tal que el contenido del metal del nuevo crecimiento puede compararse con exposiciones pasadas. Se debe tener la precaución de lavar el pelo previamente al análisis para remover el depósito de metal por la contaminación externa.

Las metalotioneínas (MTs) mencionadas anteriormente, constituyen una familia de proteínas ricas en cisteína, de bajo peso molecular (entre 5000 y 6000 Da), presentes en procariotes y eucariotes, con elevado contenido en cisteína (30-35 %) y con una marcada capacidad para combinarse con iones metálicos. Se encuentran en el aparato celular de Golgi. Poseen la capacidad de unirse a metales pesados, a través de los grupos tiol (-SH) presentes en sus restos

aminoacídicos ricos en cisteína. Las MTs son inducibles por metales esenciales como Cu y Zn y por metales no esenciales como Cd, Ag y Hg, tanto en vertebrados como en invertebrados. Por esta razón se consideran potenciales biomarcadores de exposición y 'señales de alerta temprana' para la presencia de estos contaminantes. Dentro del metabolismo celular, se le han asignado múltiples funciones, desde un papel central en la homeostasis celular de ciertos metales pesados esenciales ("pool" citosólico de Zn y/o Cu), la detoxificación de metales pesados no esenciales, hasta su participación en ciertos procesos inflamatorios y la inactivación de radicales libres.

La variación en el nivel de MT es indicador de exposición a xenobióticos, de situaciones ambientales adversas así como de situaciones de estrés fisiológico. Como tal, esta respuesta puede utilizarse tanto a nivel de la toxicología laboral, clínica y en estudios ecotoxicológicos. A este respecto, se encuentra en fase experimental su utilización con fines de diagnóstico ambiental.

Se conocen numerosos agentes inductores de MT, tales como Zn, Cu(II), Cd(II) y Hg(II), productos farmacéuticos, alcoholes, citoquinas, etc. La magnitud de la respuesta depende de la naturaleza del inductor, destacándose la respuesta cuantitativa a los metales pesados.

La función real de las MT sigue siendo motivo de debate, quedando aún sin precisar su función básica dentro del metabolismo celular. La gran variedad de situaciones que motivan su inducción parece justificar que estas sean proteínas polifuncionales. El principio clásico "una proteína, una función" ha convertido a las MT en un caso de gran interés. La antigüedad de la MT en términos evolutivos, su presencia en gran parte de las especies analizadas y su estructura altamente conservada parece evidenciar un rol crucial en el metabolismo celular.

El nivel basal de las MT es bastante elevado, aumentando notablemente en circunstancias de estrés fisiológico. Las MT constitutivas se hallan unidas a Zn y Cu casi en su totalidad.

La MT también participa en la inactivación de radicales libres constituyendo una línea de defensa celular contra reactivos electrofílicos mediante su alto contenido de grupos sulfhidrilo.

Además, son buenos indicadores de situaciones de estrés. Dado que la respuesta celular antecede al daño fisiológico observable, podrían actuar como indicadores moleculares para controlar precozmente la exposición a metales.

A efectos de establecer una relación dosis-respuesta, es necesario conocer tanto la concentración del metal como el tiempo de exposición. La definición más precisa de dosis es: la cantidad de metal dentro de las células del órgano que manifiesta efectos tóxicos. Sin embargo la cuantificación de metales dentro de los órganos no es posible en sujetos vivos. Se pueden hacer estimaciones indirectas a partir de modelos metabólicos derivados de las autopsias. Matrices tales como sangre, orina y pelos son los tejidos más accesibles para realizar las medidas. Los resultados de dichas determinaciones reflejan exposición reciente, pasada o de larga data, dependiendo del tiempo de retención y del tejido en particular.

En general las muestras de sangre y orina reflejan exposiciones recientes y se correlacionan muy bien con los efectos agudos. Una excepción es el Cd en orina, dado que su presencia en alta concentración implica un daño renal derivado de su acumulación crónica en el riñón.

Otro tipo importante de muestras para análisis de presencia de metales es el agua. Las aguas de bebidas libres de materia en suspensión pueden ser analizadas directamente, mientras que las que presentan materia orgánica requieren un procedimiento para solubilizar el material suspendido. Los barros, sedimentos y otros tipos de muestras sólidas pueden ser analizadas después de un tratamiento adecuado.

También muchas veces se presentan muestras ambientales o alimentos para el análisis en los que resulta de interés conocer el contenido de metales. Desde el punto de vista cuantitativo, las intoxicaciones por metales más frecuentes provienen de la ingestión de agua o alimentos contaminados, como ya se mencionó anteriormente.

Previo a la cuantificación de metales presentes en medios biológicos, es necesario efectuar un tratamiento de la muestra, dependiendo el mismo de varios factores:

- 1- Material biológico (orina, suero, sangre, vísceras)
- 2- Metal en cuestión (volatilidad y formas no disociables del metal en el organismo)
- 3- Procedimiento utilizado para la determinación final (colorimétrico, absorción atómica, activación neutrónica).

Los metales pesados se encuentran frecuentemente formando complejos con moléculas orgánicas y deben ser liberados de los mismos para poder determinarlos. Entre los métodos más utilizados para el tratamiento previo, pueden mencionarse:

- a) Destrucción oxidativa por vía húmeda de la materia orgánica (DMO) de microondas y empleando combinaciones de ácidos y oxidantes como: ácido nítrico, nítrico-agua oxigenada, nítrico-sulfúrico, nítrico-sulfúrico-perclórico, o bien permanganato de potasio-clorhídrico.
- b) Destrucción de materia orgánica por vía seca (calcinación). Muy utilizada en alimentos.
- c) Formación de quelatos y extracción con solventes.
- d) Precipitación de las proteínas y determinación de los metales en el sobrenadante.
- e) Técnicas de volatilización (arsénico como AsH₃, antimonio como SbH₃ y mercurio como vapor del elemento).

Los métodos de DMO pueden combinarse según el caso, de manera de obtener una muestra apropiada para posteriores determinaciones.

Por ejemplo, el método de destrucción de materia orgánica (DMO) por vía húmeda usando la mezcla sulfo-nitro-perclórica (SNP), se basa en la acción de dicha mezcla fuertemente oxidante sobre la muestra en cuestión a fin de romper la unión entre los metales y la materia orgánica, llevando estos a su máximo estado de oxidación, generalmente dióxido de carbono y agua. Puede ser aplicado para la determinación de As, Ta, Pb y otros metales de interés toxicológico en medios biológicos. La principal desventaja de la mezcla SNP es que generan durante el proceso vapores tóxicos e irritantes y pueden producir explosiones.

Especial atención requiere el proceso de destrucción de materia orgánica cuando el material analizado contiene mercurio, capaz de volatilizarse en el proceso, por tal motivo se utiliza un sistema cerrado para la DMO como el microondas y un dispositivo especial que incluye un

refrigerante a reflujo con dedo frío para evitar pérdidas del elemento por volatilización del mismo previo al análisis por Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA).

La DMO vía húmeda es útil y rápido si se manipula con cuidado, para analizar material orgánico con presencia de materia grasa, ya que permite romper las cadenas carbonadas, mientras que la DMO mediante calcinación por vía seca no resulta suficiente para tal fin.

La DMO por vía seca resulta de elección en el caso de muestras de alimentos que presenten una proporción de hidratos de carbono elevada. Esta técnica no es adecuada en el caso de matrices que presenten elevado contenido de proteínas o lípidos. Una forma de realizar la DMO es por calcinación de la muestra con una mezcla de nitrato de magnesio y óxido de magnesio que transforma a los metales cuantitativamente en compuestos derivados de magnesio. En estas condiciones los metales no son volátiles y la muestra está lista para el análisis cuantitativo mediante Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA).

Como se mencionó anteriormente para el análisis cualitativo y cuantitativo de metales las muestras biológicas de elección son sangre, orina y vísceras. La cantidad de muestra a tomar de sangre es alrededor de 5 a 10 ml de sangre entera; para orina se usan 50 ml y para vísceras se emplean 25 g vísceras desmenuzadas.

En el caso de análisis de muestras de agua para metales, antes de la recolección de la muestra debe tomarse la decisión de qué tipo de dato se desea obtener como ser: metales disueltos, suspendidos, totales o recuperables totales.

Los llamados metales disueltos son aquellos constituyentes metálicos que atraviesan una membrana filtrante de 0,45 m. Los metales suspendidos son los que quedan retenidos por una membrana de 0,45 m, los metales totales corresponden a la concentración determinada sobre una muestra sin filtrar seguida por una vigorosa digestión y los metales recuperables totales corresponden a la concentración de metales en una muestra sin filtrar seguida de un tratamiento con ácido mineral diluido caliente.

Debe tenerse en cuenta que cualquier análisis que requiera destruir la materia orgánica para liberar metales y cuantificarlos, el resultado estará referido a concentraciones totales del metal. Si lo que se desea es un análisis que incluya especiación de los metales presentes se deben utilizar otro tipo de procedimientos que no son materia de estudio del presente capítulo.

Plomo

Numerosos procesos de origen antropogénico movilizan al plomo mineral dentro de nuestro ambiente, generando vapores y polvos que, según la altura de la chimenea que los emite, los vientos de la zona, su peso y contenido de agua, permanecerán durante un cierto tiempo suspendidos en el aire dispersándose para finalmente, caer sobre el suelo, cursos de agua, la vegetación, la fauna y poblaciones de los alrededores. Esta es la forma fundamental de contaminación ambiental que se observa en la producción industrial tales como pulido y refinado de metales, pinturas con plomo, base de colorantes, antióxido, barnices y esmaltes para cerámicas.

cas. Debemos mencionar otras fuentes de emisión de plomo como ciertos insecticidas y naftas no ecológicas.

Las formas inorgánicas de plomo, como óxidos y sales son poco solubles, forman parte de pinturas anticorrosivas, material de alfarería e insecticidas.

Los derivados orgánicos son muy empleados en la industria y muy tóxicos dado su carácter lipofílico que facilita a estas sustancias atravesar membranas biológicas.

El plomo y sus derivados pueden ingresar al organismo por tres vías:

Vía respiratoria Es la más importante en el medio laboral; por ella se inhalan humos, vapores y polvos. Las partículas inhaladas suelen ser submicrónicas, de ahí que penetren fácilmente hasta el alvéolo y sean fagocitadas por los macrófagos alveolares. Se calcula que el 50 % de las partículas inhaladas son retenidas y de éstas se absorberá el 90%.

Vía digestiva: los compuestos de plomo que ingresan por esta vía (a excepción del acetato de plomo) son sustancias poco solubles y por lo tanto de absorción muy escasa, apenas un 5 a 10 % del total ingerido. En casos especiales niños y niños enfermos podría aumentar la absorción hasta el 25%. En sujetos adultos normales la cantidad de plomo eliminado por las heces puede alcanzar hasta el 95 % del total ingerido.

Vía cutánea Los derivados inorgánicos de plomo no se absorben por la piel salvo que existan lesiones como puerta de entrada del tóxico. Los derivados orgánicos, que son muy liposolubles, pueden absorberse casi de forma completa.

El plomo tiene gran afinidad por los grupos imidazol, sulfhidrilo, amino, carboxilo, y fosfato, y la distribución del mismo en el organismo se produce en tres compartimentos.

- a) Sangre: Inmediatamente luego de la absorción pasa a la sangre y se fija en los eritrocitos y en plasma en proteínas ricas en grupos sulfidrilos. La vida media biológica del plomo en sangre es de unos 35 días. El plomo presente en el plasma puede difundir hacia tejidos blandos y tejidos duros.
- b) Tejidos blandos: principalmente riñón e hígado, también en médula ósea, bazo y sistema nervioso (central y periférico). La vida media biológica del plomo en este compartimento es de 40 días.
- c) Hueso (principal depósito), y en menor cantidad puede almacenarse en otros tejidos duros como pelos, uñas y dientes. La vida media biológica del plomo en este compartimento oscila entre 10 y 28 años. El Pb por su similitud carga/masa con el calcio lo reemplaza en depósito y movilización fuera del hueso. Las zonas óseas donde el Pb se deposita con preferencia son las más activas metabólicamente, como las metáfisis y las epífisis. Este almacenamiento óseo es importante porque, en situaciones patológicas de acidosis, descalcificación, dieta, etc, puede movilizarse de sus sitios de almacenamiento en hueso tanto el calcio como el plomo y producir cuadros agudos de intoxicación.

El plomo se excreta principalmente por orina y en menor medida por heces, sudor, saliva y faneras. El plomo que se elimina por la saliva puede llegar a pigmentar el borde marginal de las encías y este fenómeno se conoce como Ribete de Barton. En personas expuestas, el plomo

que se acumula el hueso de forma progresiva al movilizarse de sus depósitos aumenta los valores de plumbemia y plumburia respecto de la población no expuesta. La vitamina D que influye sobre la absorción de calcio, puede modificar la absorción y, en consecuencia, la eliminación del plomo.

El plomo actúa en el organismo sobre diferentes blancos según los siguientes mecanismos de acción:

En médula ósea se fija y concentra provocando:

- A nivel de la pigmentación de los glóbulos rojos: alteración de la síntesis de hemoglobina a nivel de la síntesis del grupo prostético hemo (químicamente un tetrapirrol) sobre tres enzimas claves:
- d-ALA-deshidratasa (citosólica) que cataliza la unión de dos moléculas de ácido delta-amino levulínico (d-ALA) para formar porfobilinógeno (PBG) el primer precursor pirrolico. La consecuencia es un aumento de su sustrato, el d-ALA, primero en suero y después en orina.
- coproporfirinógeno III- oxidasa (mitocondrial) que cataliza el paso de coproporfirinógeno III a protoporfirinógeno. La consecuencia es un aumento de coproporfirinógeno en sangre y de coproporfirina III en orina y heces. La uroporfirina y el porfobilinógeno también pueden estar elevados en orina.
- ferroquelatasa (mitocondrial), que cataliza el paso de protoporfirina IX a hem, incorporando el Fe⁺² a su molécula. La consecuencia es que se produce una acumulación de protoporfirina IX y hierro no utilizado en el glóbulo rojo y aumenta en suero (ligera hipersideremia), seguidamente la protoporfirina IX quela al Zn, formando una nueva molécula Zn-protoporfirina (Zn-PP) que, por su tamaño, no puede salir del glóbulo rojo.
 - A nivel de las células precursoras de los glóbulos rojos: El plomo produce ciertas alteraciones morfológicas como megaloblastos, eritroblastos con punteados basófilos, que pueden ponerse en evidencia mediante un examen de punción de médula esternal.
 - A nivel de los glóbulos rojos circulantes: con exposición a concentraciones elevadas de plomo se produce anemia moderada, normo o hipocroma. En sangre periférica se observan glóbulos rojos con anomalías y un aumento de formas jóvenes denominadas reticulocitos. Esta anemia tiene diversos orígenes: un déficit de producción de globulos rojos y hemólisis debido a la inhibición de la bomba Na/K-ATPasa, modificando la permeabilidad de la membrana celular y salida de potasio de la célula.

En riñón: en condiciones de exposición aguda se concentra en este órgano una cantidad elevada de plomo dado que una quinta parte del total absorbido se localiza y distribuye en este órgano de filtración y luego dos tercios de lo absorbido se elimina por un mecanismo doble, de filtración glomerular y excreción tubular; existe también cierta reabsorción tubular.

Las alteraciones renales están relacionadas con disfunciones en la fosforilación oxidativa mitocondrial. Se observan cuerpos de inclusión nucleares formados por complejos plomo-

proteína. En estas condiciones disminuye la eliminación renal de ácido úrico produciendo la gota saturnina. Se originan cambios en la contractilidad del músculo liso vascular debido a una inhibición de la ATPasa Na-K y a un aumento de la bomba de intercambio Na-Ca, que en el caso de exposición crónica provoca además hipertensión en el adulto. Una alteración similar en la musculatura lisa intestinal produce el típico cuadro gastrointestinal y constipación.

En el sistema nervioso: frente a exposiciones agudas de plomo en sangre se producen encefalopatías. La similaridad química del plomo con el calcio, le permite interferir con diversas vías metabólicas a nivel mitocondrial y con el sistema de segundos mensajeros que regulan el metabolismo energético, en los canales de calcio voltaje dependientes que intervienen en la neurotransmisión sináptica, a los que inhibe, y en las proteínas cinasas dependientes de calcio, que activa. Esta interferencia con el calcio, en las células de los capilares cerebrales, es la base de la encefalopatía aguda, ya que produce una interrupción de la integridad de las uniones intercelulares fuertes que caracterizan la barrera hematoencefálica, dando lugar a un edema cerebral.

La impregnación prenatal y posnatal reduce la capacidad de aprendizaje. El plomo se concentra en la sustancia gris debido a que puede atravesar la placenta y la barrera hematoencefálica. Se genera en los niños una lesión cerebral, caracterizada por trastornos de la conducta espontánea, déficit de aprendizaje y alteraciones del electroencefalograma (EEG), que se agudiza cuanto más temprana es la exposición. Esto se correlaciona con la mayor permeabilidad al tóxico de los capilares inmaduros y las alteraciones en la neurotransmisión durante las fases de desarrollo del SNC. Interfiere en los sistemas de neurotransmisión regulados por catecolaminas, dopamina, acetilcolina, GABA y glutamato.

Los efectos del plomo sobre el SNC no son específicos. Se observa edema, multiplicación de las células endoteliales de los capilares, proliferación glial, degeneración neuronal y focos de necrosis en casos mortales. Es decir hay una combinación de mecanismos vasculares (anoxia) y lesiones directas, Inhibición de enzimas cerebrales, como la ALA-D y la adenilato ciclase, interferir en el transporte de ácido glutámico y el metabolismo cerebral al reducir el neurotransmisor GABA.

El plomo afecta también el SNP con producción de una neuropatía de predominio motor, más frecuente en los adultos que en los niños y en el hombre más que en la mujer, afectando los miembros superiores, comienza con una destrucción de las células de Schwann seguida de desmielinización y degeneración axonal.

No hay evidencia de carcinogenicidad en humanos, aunque en modelos animales se comporta como carcinogénico. La IARC lo clasifica en el grupo 2B, posible carcinógeno para humanos.

Intoxicación Aguda

Pueden aparecer tras la ingestión de una sal soluble (acetato de plomo) o de una cantidad importante de un alimento contaminado o como consecuencia de la "pica" en niños (La pica es

un patrón de ingestión de materiales no comestibles, como tierra, papel ó pintura. Este patrón de consumo debe durar al menos 1 mes para encajar dentro del diagnóstico de pica).

Produce tres tipos de síndromes:

- Síndrome digestivo: Dolores epigástricos y abdominales violentos, diarreas negruzcas y posteriormente estreñimiento. Presencia de ribete gingival de Burton, que son depósitos de sulfuro de plomo debajo de la mucosa gingival y yugal en forma de manchas características próximas al cuello de los dientes. El sulfuro de plomo se forma por la combinación del plomo, ubicado en la boca, con los sulfuros producidos por la putrefacción de los alimentos. Aparece en ausencia de higiene buco dental. Este signo no es específico del plomo, también se da con talio.
- Síndrome hepatorrenal: Hepatomegalia y subictericia. Insuficiencia renal aguda. Lesiones renales con oliguria, uremia, albuminuria, aminoaciduria (ALA, glicina) y cilindruria.
- Síndrome neurológico: Encefalopatía saturnina. En los adultos suele ser tardía y los síntomas predominantes son los correspondientes a un edema cerebral: cefaleas intensas, obnubilación convulsiones y evolución al coma. En los niños la encefalopatía es precoz y puede adoptar dos formas: pseudomeníngea o pseudotumoral, según predominen los síntomas de irritación y convulsiones, o los de la hipertensión. Puede llevar a la muerte a los 2 o 3 días posteriores a la intoxicación.

Estos síntomas no son patognomónicos de la intoxicación por plomo, son sólo orientadores ante la sospecha de saturnismo.

Intoxicación crónica

Se distinguen tres fases:

- Fase I: presaturnismo o de impregnación: de gran interés en Medicina laboral. En ella deben valorarse los siguientes criterios:
 - Clínica: El trabajador presenta plumbemia, cansancio, dispepsia, dolores abdominales y musculares, astralgias, insomnio y alteraciones del carácter, pérdida de fuerzas y adelgazamiento, también se puede apreciar un tinte terroso en la piel. En algunos casos podría verse el ribete gingival de Burton. Se observa mediante estudios un retraso en la velocidad de la conducción nerviosa a nivel de los nervios motores periféricos.
 - Laboratorio para demostrar exposición: El diagnóstico de la impregnación se realizará sobre la base del análisis de los marcadores toxicológicos: *plumbemia*, (*ALA-D*) *eritrocitaria*, *ZnPP* y *ALA-U*.

Plumbemia: Este parámetro indica la cantidad de plomo en sangre. La plumbemia es el indicador más fiel de la dosis interna de plomo, porque recoge no sólo el valor de plomo de procedencia inhalatoria, sino también el de otras vías. Sus cifras son un reflejo de la absorción y de la exposición. Tiene una buena correlación con el plomo ambiental. La plumbemia se determina

en sangre total, refleja la concentración de plomo circulante, del cual el 95 % va unido a hemáties y refiere un valor concentración de la media de un mes de exposición, aproximadamente. Se consideran plumbemias aceptables hasta 40 ug/dl (10ug/dl, en niños), valores entre 40 y 80 ug/dl indican presaturnismo o contaminación, y valores mayores a 80 ug/dl saturnismo.

El valor del Índice Biológico de Exposiciones a plomo es de hasta 300 ug/l de sangre.

Plumburia: Este parámetro indica la cantidad de plomo en orina. Es un parámetro más fidedigno para la vigilancia del enfermo y para la valoración de los resultados del tratamiento, ya que en orina las concentraciones son fijas, mientras que las concentraciones plasmáticas cambian fácilmente. Plumburias mayores a 80 mg de plomo en 24 hs, en pacientes sin tratamiento indica saturnismo.

Indicadores biológicos:

a) *Protoporfirina (PPF) libre en los hematíes*: Es uno de los parámetros de elección como indicador biológico de impregnación. Al inhibirse la ferroquelatasa, se produce un aumento de PPF en el hematíe y de Fe+2 en éste y en el suero. La PPF se une al Zn y a la globina formando un complejo (ZnPP) que ya no puede salir del hematíe, su alteración persiste durante toda la vida de éste, por lo que nos da una referencia de la impregnación de un período largo de tiempo, de 1 a 3 meses, por esta razón es el último parámetro en normalizarse.

El aumento de protoporfirina libre o ZnPP, se correlaciona con el aumento de la plumbemia. Se consideran valores normales de ZnPP hasta 40 ug/dl (o < 75 ug/100 ml, en Argentina). Índice Biológico de Exposición: hasta 300 ug/100 ml de sangre.

b) *Ácido d-amino-levulínico en orina (ALA-U)*: Parámetro ideal para el control de trabajadores expuestos debido a que posee una sensibilidad y especificidad adecuadas, dado que tiene una excelente correlación positiva y lineal con la plumbemia y la plumburia.

Hay porfirias que cursan con excreción excesiva de ALA en orina, pero con valores superiores a 20 mg/l de orina debe sospecharse de una intoxicación por plomo.

Se consideran normales valores de ALA-U de hasta 6 mg/l de orina. En porfirias los valores llegan hasta 15 mg/l de orina. Por encima de 20 mg /l representan una exposición elevada a plomo, y cifras mayores de 40mg/l corresponden a una franca intoxicación por este metal.

En el curso de los procesos agudos de la intoxicación se observan elevaciones importantes de ALA-U. Si referimos los valores a Creatinina para estandarizar, las cifras de normalidad se establecen en 4,5 mg/g de creatinina; cifras de 15 mg/g de creatinina representarían una exposición excesiva. Índice Biológico de Exposición: 10mg/g de Creatinina

c) *ALA-deshidratasa (ALA-D) eritrocitaria*: El plomo inhibe esta enzima de modo muy precoz y a bajas concentraciones. Pero no hay una correlación entre la inhibición enzimática y el aumento de su sustrato (ALA) en sangre y orina, lo que demuestra que en el organismo hay otras vías de síntesis de esta enzima, además de la eritrocitaria. Será necesario que la actividad de ALA-D caiga de forma drástica (80 %) para que se produzca un incremento en la excreción de ALA-U.

ALA-D es el único indicador biológico que puede medir efectos del plomo a bajas concentraciones. Por ello; se utiliza en el seguimiento de poblaciones expuestas a niveles ambientales altos, pero no en el de sujetos expuestos profesionalmente al plomo. Su valor queda restringido al control de poblaciones expuestas a contaminación ambiental.

d) *Coproporfirinas en orina*: Su excreción en orina y heces está muy aumentada ante un caso de intoxicación por plomo. Sin embargo se trata de un parámetro no específico, no precoz y menos sensible que el ALA.

El cociente ALA/COPRO puede ser útil en el diagnóstico diferencial de las porfirias con la intoxicación por plomo. En ésta se alteran ambos, mientras que en las porfirias la alteración de las coproporfirinas es mucho mayor, siendo el ALA prácticamente normal.

e) *Pirimidín- 5'- nucleotidasa eritrocitaria (P5N)*: El plomo inhibe esta enzima, interfiriendo así en la vía metabólica de los ácidos nucleicos.

- Fase II intoxicación franca: en general se acrecientan los síntomas de la Fase I de presaturnismo, se observa anorexia y adelgazamiento, dolores musculares, tono ceniza de la piel, labios pálidos y cansancio.

En sangre periférica se observan glóbulos rojos inmaduros con normo o hipocromía como resultado de una anemia moderada. Puede llegar a observarse en ciertos glóbulos rojos la presencia de punteado basófilo en el interior de las células pero no es patognomónico. En adultos se observa frecuentemente el denominado cólico saturnino, se presenta como un cuadro abdominal agudo, con dolores intensos, vómitos, estreñimiento y mal estado general, sin fiebre pero con hipertensión arterial. Es poco frecuente pero suele aparecer de modo progresivo en músculos la polineuritis, con afectación de los músculos de miembros superiores y compromiso de los músculos extensores observándose que la mano cuelga. El cuadro puede extenderse a miembros inferiores y observarse caída del pie, esto se explica por el reemplazo de plomo en lugar de calcio que cumple un rol activo en la contracción muscular y a nivel de los nervios.

En esta fase suelen observarse cuadros de encefalopatías. En adultos la misma se puede presentar durante un cuadro de exposición agudo o por movilización de plomo almacenado en depósitos como los huesos. Se desarrolla un síndrome de hipertensión endocraneal asociado a cefaleas insomnio, delirio, irritabilidad, alteración de la memoria y convulsiones. Se han descrito casos con afectación de la fertilidad como abortos espontáneos e incidencia a la esterilidad en mujeres expuestas al plomo, mientras que en los hombres se evidenciaron casos de impotencia y alteraciones en los espermogramas. En los niños este cuadro es más frecuente por ser más susceptibles al paso de plomo al encéfalo. La encefalopatía se observa asociada a otros síntomas poco específicos y la gravedad de los mismos aumenta aún a bajas concentraciones cuanto menor sea el desarrollo del individuo afectado. Podemos detectar anorexia, irritabilidad, insomnio, dolores abdominales, estreñimiento, anemia y alteraciones de la conducta. La encefalopatía puede dejar algunas secuelas: cuadros epileptiformes, disminución del rendimiento escolar y bajos coeficientes intelectuales, retraso mental, parálisis y neuritis óptica.

- Fase III impregnación antigua: Se caracteriza por evolución del individuo a una nefropatía plúmbica o nefritis con destrucción de las células tubulares y posteriormente

aparición de fibrosis que se asocia a la aparición de la gota saturnina que podría deberse a la inhibición de la actividad enzimática de la guanasa, aumentando las concentraciones de guanina insoluble que cristaliza en las articulaciones. Presenta cólicos saturninos, en estados avanzados provoca espasmos intestinales y dolor abdominal intenso estimulado por la rigidez de los músculos abdominales. A nivel SN se observa daños neurológicos irreversibles con desmineralización, atrofia y degeneración de los nervios periféricos, siendo el asta anterior de la médula la más afectada.

Diagnóstico

Debe realizarse el examen clínico general, con orientación neurológica y con orientación cardiovascular. En la mayoría de los casos la clínica muestra una sintomatología inespecífica que fácilmente se confunde y diagnostica otras patologías como reumatismo, neuritis, nefropatía, anemia, etc. Por ello es fundamental que el médico realice un interrogatorio lo más completo posible. El alerta durante la consulta puede ocurrir ante cuadros de abdomen agudo repetidos que semeja una pancreatitis, cuadros de polineuritis de miembros superiores, cuadros reumáticos, anemias y encefalitis en niños, bajo circunstancias de vulnerabilidad que hagan sospechar de exposición a plomo.

En casos de exposición profesional, el diagnóstico se atendrá a la exigencia de la ley en lo que se refiere a reconocimientos previos al ingreso, reconocimientos periódicos y estrategias de cambios de puestos de trabajo, bajas y altas laborales. En función de los niveles de exposición y de los indicadores biológicos, los exámenes periódicos se harán trimestrales, semestrales o anuales.

La toma de la muestra de sangre (anti coagulada) se realiza con jeringa descartable y se mantiene en la misma de ser necesario para su transporte, refrigerada a una temperatura de 4°C (se mantiene por tres semanas). A -18 a -20°C se conserva mayor cantidad de tiempo.

Luego de realizar la DMO, por alguno de los métodos mencionados anteriormente para liberar el metal de la matriz orgánica se procede a la detección y cuantificación mediante una técnica analítica adecuada. Las técnicas de absorción atómica son más rápidas y precisas.

En estos exámenes se determinará el perfil plúmbico. Incluye medida de la plumbemia (concentración de plomo en sangre), medición de la actividad de la delta -aminolevulínico dehidratasa en sangre, determinación de ácido delta-aminolevulínico y coproporfirinas en orina de 24 hs.

En el paciente intoxicado encontraremos probablemente:

- plumbemia (Parámetro de exposición) aumentada. El Valor normal: < a 30 mcg/100 ml de sangre. Actualmente se ha fijado el Índice Biológico de Exposición en 30 mcg/100 ml de sangre
- La Enzima delta-aminolevulínico dehidratasa inhibida

- El ácido delta amino levulinico urinario (ALA-U). Parámetro de efecto de primera elección aumentado- Valor normal: < a 4,5 mg/g de creatinina. Índice Biológico de Exposición: 10 mg/g de creatinina.
- Protoporfirina eritrocitaria (PPE). Parámetro de efecto de segunda elección. aumentado- Valor normal: < 75 mcg/100 ml de hematíes. Índice Biológico de Exposición: hasta 300 mcg/100 ml de hematíes.
- coproporfirinas aumentadas.
- Por otro lado se buscará también el punteado basófilo característico en frotis de sangre periférica.
- Los valores de porfobilinógeno (PBG) en plasma y orina si se miden se encontrarán normales o disminuidos.

Es aconsejable el análisis de la serie roja y el de la hemoglobina. Cuando un obrero haya sufrido un cuadro agudo, será muy conveniente el examen de la función renal: aclaramiento de la urea y creatina.

Mercurio

El mercurio es un elemento dentro del grupo denominado metales pesados, es el único metal que en condiciones normales de presión y temperatura permanece en estado líquido emitiendo vapores altamente tóxicos en un rango amplio de temperaturas. Por su elevada tensión superficial no moja los recipientes que lo contienen y produce un menisco convexo.

En la naturaleza se encuentra en forma más frecuente como sulfuro mercúrico (SHg). Las principales fuentes mercuriales contaminantes han sido la actividad minera (cinabrio), pinturas antifúngicas, fotografía, pirotecnia, baterías secas y pilas, industrias papeleras y laboratorios médico-veterinarios y dentales. Debido a la actividad antropogénica (industrial, combustión del fuel, gas natural y carbón que contienen mercurio) y a sus características fisicoquímicas que favorecen su movilidad en el ambiente, los compuestos de mercurio se hallan altamente distribuidos por todo el planeta, inclusive en los hielos polares es factible hallar mercurio. Puede establecerse un ciclo biogeoquímico donde la forma líquida, el mercurio elemental (Hg°) puede oxidarse a Hg^{+2} en ciertos compartimentos biológicos o ambientales, es metilado por bacterias anaerobias y transformado en dimetil-mercurio, mucho más tóxico por sus características de lipofilicidad. El mercurio metálico puede oxidarse a Hg^{+2} por acción del material orgánico presente en cuerpos de agua, éste a su vez puede ser reducido a en condiciones apropiadas, por ejemplo barros o bentos con microorganismos anaeróbicos. Esta reacción es importante dentro del ciclo y una fuente potencial de liberación de vapor de mercurio metálico a la atmósfera. También puede metilarse a dimetil mercurio por acción de las bacterias anaerobias y difundir a la atmósfera y regresar nuevamente a la superficie terrestre como metil mercurio junto con el agua de lluvia. Si esta forma orgánica es ingerida por los peces, ingresa a la cadena alimentaria; debido a la dificultad de los organismos en eliminar el mercurio, en cada paso de la cade-

na trófica se va incrementando su concentración (biomagnificación) y así llega al hombre, produciendo los cuadros de intoxicación característicos de la especie química involucrada.

El mercurio tiene la capacidad de actuar y producir cuadros tóxicos en estado metálico (Hg°), en forma de sales inorgánicas y como compuestos de tipo orgánico (antisépticos, conservantes de vacunas, fungicidas, diuréticos). Las fuentes de exposición son de lo más diversa dada la multiplicidad de productos y usos en los que interviene este metal. Ejemplos que podemos citar al respecto son: aparatos científicos de precisión (termómetros, barómetros, etc.), industria eléctrica con las lámparas de mercurio, preparación de amalgamas dentarias, destilación del mercurio, agricultura, productos farmacéuticos como los conservantes para vacunas, espumas de poliuretano y trabajos de joyería.

Toxicocinética

La dosis tóxica de los compuestos mercuriales depende de la solubilidad de la sustancia y de la vía de administración. También es función de la variabilidad individual y de un cierto grado de habituación.

La toxicidad en general de los compuestos inorgánicos mercuriales varía en función de la solubilidad y el estado de oxidación, biotransformación y distribución en tejidos de los mismos,

Las sales mercuriosas son insolubles, lo que las hace poco tóxicas. Las sales mercuriales son tóxicas cuanto mayor sea su solubilidad. Los compuestos orgánicos, (alquilo, fenilo, etc.) más tóxicos son los de cadena lineal (metil y etil mercurio) porque son más estables y liposolubles. Los derivados aromáticos (fenil mercurio) se escinden in vivo y su comportamiento se parece más al de los derivados inorgánicos. Se consideran más tóxicos los compuestos orgánicos respecto de los inorgánicos por su mayor capacidad de penetración en el SNC. La exposición al vapor de mercurio causa concentraciones cerebrales unas diez veces mayores que las debidas a una dosis equivalente de sales mercuriales inorgánicas.

Absorción:

La inhalación de los vapores de mercurio, presentes en los ambientes de trabajo da lugar a intoxicaciones agudas y crónicas por exposición a través de la vía respiratoria debido a la naturaleza monoatómica y a la liposolubilidad. Aproximadamente el 80 % de los vapores de mercurio inhalados a temperatura ambiente penetran a través de la membrana alvéolo-capilar.

Por esta vía también se absorben los derivados orgánicos del mercurio, sobre todo los derivados alquílicos, por su gran volatilidad. La tasa de absorción es también 80 %.

Por vía digestiva el mercurio metálico no se absorbe prácticamente porque es poco soluble y de esta forma resulta poco tóxico (menos del 0.01 %). Los derivados inorgánicos se absorben en un 7 %, (Cl_2Hg , 2-10 %, menor % $ClHg$). Los derivados orgánicos se absorben casi totalmente: la absorción de metil-Hg, incluso mezclado con alimentos es del 95 %. Esta vía resulta importante en casos de intoxicación por ingestión accidental o voluntaria de derivados mercuriales.

La penetración por vía cutánea de los compuestos inorgánicos es muy débil salvo que se vehiculice a través de cremas o jabones. Por esta vía es de importancia la absorción de derivados organomercuriales, por ej, jabones antisépticos a base de fenil-Hg.

Todas las formas de mercurio atraviesan la placenta y pasan a la circulación fetal. Existe un gradiente positivo feto-materno, tanto en glóbulos rojos maternos como en cerebro, especialmente después de la exposición a derivados orgánicos (alquil-mercúricos).

Distribución y metabolismo:

El mercurio metálico (Hg°) en forma de vapor inhalado en parte difunde en la sangre al interior de los glóbulos rojos, donde se transforma por oxidación enzimática a $Hg(II)$, en la que intervienen catalasas peroxisomales en un proceso reversible. Otra parte es transportada a tejidos distales, debido a que atraviesa las membranas más fácilmente que en forma cationica, es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y la placenta y luego se biotransforma por oxidación a $Hg(II)$. Además, se fija preferentemente en el SNC y en el riñón. En el cerebro se localiza en las células de Purkinje, núcleo de Louis (subtálamo) y sistema extrapiramidal. La distribución diferencial del Hg° se debe a la liposolubilidad, que permite una rápida transferencia de la sangre al cerebro.

Las sales inorgánicas de mercurio se distribuyen en la sangre por igual entre las proteínas plasmáticas y los glóbulos rojos. Se acumulan preferentemente en los riñones, donde el cation $Hg(II)$ se deposita en los lisosomas, mitocondrias y membranas epiteliales. Una parte importante del mercurio se fija sobre la metalotioneína, proteína de bajo peso molecular, que tendría un papel protector, ya que cuando se sobrepasa su capacidad de fijar $Hg(II)$, aparece entonces el daño renal. Tanto el mercurio como el cadmio inducen la síntesis de esta proteína. El $Hg(II)$, atraviesa con dificultad la barrera hematoencefálica y la placenta; de ahí que no tenga acción sobre el SNC.

Compuestos orgánicos de mercurio se fijan en los glóbulos rojos en concentraciones cinco veces mayores que en el plasma, principalmente sobre los grupos sulfidrilos de la hemoglobina. Los derivados alquil-mercúricos se acumulan en el sistema nervioso central (hipocampo, sustancia gris del cerebelo y cisura calcarina) también en tejido adiposo, hígado y riñones. Dan origen fundamentalmente a daños neurológicos. Una vez en el interior celular el metil-Hg, se biotransforma en forma progresiva liberando de mercurio inorgánico, que origina lesiones renales, las lesiones neuronales resulta de la persistencia de la molécula intacta en el tejido nervioso, ya que el clivaje del metil-Hg es muy lento, por lo que es imposible la liberación de mercurio en cantidad suficiente como para que éste origine las lesiones neurológicas. El fenil-Hg se comporta como el mercurio inorgánico, ya que el enlace C-Hg es rápidamente escindido in vivo dando benceno y $Hg(II)$, el benzol se transforma en fenol y éste se elimina en forma de conjugado. En los otros derivados orgánicos la rotura del enlace C-Hg se da en menor grado que en el caso del fenil Hg. El $Hg(II)$ derivado del fenil-mercurio se fija preferentemente en la placenta.

La metabolización de estos compuestos consiste en la rotura del enlace C-Hg, siendo muy lábil la unión fenil-Hg y muy estable la unión metil y etil-Hg.

Eliminación:

El mercurio metálico vapor se elimina por vía urinaria y digestiva en forma de ión mercúrico (Hg^{+2}) . También se produce una cierta eliminación pulmonar del mercurio vapor. Su vida media en el organismo es de 60 días.

El Hg inorgánico no absorbido se excreta por las heces, mientras que el absorbido lo hace por el colon, los riñones y la saliva. También puede ser importante la eliminación por piel (sudor y faneras).

El metil-Hg es excretado fundamentalmente por heces a través de la excreción biliar y por la exfoliación de las células epiteliales del intestino. Un 10 % se transforma en Hg(II) y se elimina como tal. La excreción urinaria de metil-Hg es débil. Los compuestos de alquil-Hg atraviesan la placenta y pueden ser excretados por la leche.

La vida media de los compuestos inorgánicos es de 30-60 días, mientras que la de los orgánicos es de alrededor de 70 días.

Efectos biológicos

SNC: Los iones Hg(II) y los derivados alquil-mercúricos atacan la integridad de la barrera hematoencefálica hecho que se manifiesta por la extravasación de proteínas plasmáticas en el tejido cerebral adyacente. Ambas formas de mercurio se distribuyen por todo el SNC, con diferencias cuantitativas y se localizan en las neuronas de las raíces dorsales de los ganglios raquídeos y fibras nerviosas. El mercurio inorgánico se localiza en menor proporción que el metil-Hg en las neuronas de la cisura calcarina. En general se afectan más las neuronas sensitivas. Las células de la glía proliferan en las zonas afectadas y actuarían como soporte estructural y metabólico de las neuronas dañadas.

El mecanismo patogénico del mercurio en el SNC es el resultado de la acción de la molécula de metil-Hg y/o sus productos de degradación (iones Hg(II) y radicales libre metilo), produciendo:

- Afectación de la barrera hematoencefálica que conduce a cambios en el metabolismo de las neuronas.
- Alteraciones anabólicas (cambio en la síntesis de RNA y en la de proteínas).
- Alteraciones enzimáticas (afectación de la glucólisis y de la respiración mitocondrial).
- Destrucción y desnaturalización in situ de proteínas celulares.
- Rotura (desintegración) de membranas biológicas.

El daño afecta al cuerpo y al axón de la neurona, degenerando el axoplasma y la vaina de mielina. Pueden darse uno o varios de estos factores en el SNC dependiendo de las condiciones de la intoxicación. Compromete el área del comportamiento y de la psicomotricidad

En el riñón: El cloruro mercúrico tiene propiedades cáusticas que causan graves lesiones en la mucosa digestiva en casos de ingestión. Exposiciones crónicas a bajas dosis pueden provocar una lesión directa de necrosis tubular y una glomerulonefritis membranosa como consecuencia de la liberación de un antígeno tubular en la circulación, provocando una respuesta

inmune con la formación de inmunocomplejos. Esta nefropatía tendría dos fases, una primera de afectación de la membrana glomerular y una segunda de afectación intersticial por el depósito de inmunocomplejos. Esta afectación es reversible si el trabajador deja de estar en contacto con el mercurio.

Cuadro clínico

Vapores de mercurio

- Intoxicación aguda: Es rara en la industria. Puede ocurrir sólo con la exposición a altas concentraciones de vapores de mercurio y puede ocasionar una irritación del parénquima pulmonar, neumonitis química, que conduce a un edema agudo de pulmón. Los síntomas iniciales son respiratorios con disnea, tos seca, dolor torácico, fiebre, escalofríos e insuficiencia respiratoria. Luego aparecen síntomas digestivos inespecíficos con náuseas, vómitos y diarrea, sabor metálico, salivación y disfagia. Puede haber alteraciones visuales. Luego pueden aparecer síntomas neurológicos, como temblor distal y facial, junto a una insuficiencia renal y gingivoestomatitis como expresión de la conversión tisular a ión mercúrico.

La muerte puede sobrevenir en 24 hs por shock e insuficiencia respiratoria.

- Intoxicación crónica (hidrarginismo): Se debe al contacto prolongado con vapores de mercurio por lo que es de importancia profesional. Se trata de un cuadro neurológico, de tipo extrapiramidal, debido a que el mercurio vapor se fija en el núcleo de Lys, manifestándose un temblor mercurial involuntario característico que comienza por los párpados, lengua y labios extendiéndose luego a las manos, y finalmente a los miembros inferiores, hasta hacerse continuo; el sujeto tiembla hasta cuando duerme. También aparecen alteraciones de la conducta, debidas a la acumulación de serotonina, ya que el mercurio inhibe a la monoaminoxidasa (MAO) que metaboliza la 5-hidroxitriptamina (5-HT) a 5-hidroxi-indol-acético (5-HIAA). Se observa irritabilidad, ansiedad, insomnio, etc.

Se producen lesiones de eliminación: estomatitis, colitis hemorrágicas y cuadro renal con albuminuria.

Compuestos inorgánicos

- Intoxicación aguda: muy difícil que se produzca en la industria si en forma accidental y en especial en niños o voluntariamente una exposición a altas concentraciones de vapor. La ingesta de una sal de mercurio, sobre todo mercúrica, puede ocasionar un cuadro de causticación con necrosis de la mucosa oral, esófago y estómago, que se caracteriza por una gastroenteritis aguda hemorrágica, estomatitis, colitis ulcero-hemorrágica y pérdida masiva de líquidos que puede producir la muerte por shock hipovolémico. En su fase de eliminación puede presentarse una afectación renal que puede llegar a la insuficiencia renal aguda como consecuencia de una necrosis tubular que afecta esencialmente a los túbulos proximales, y deja como secuela una insuficiencia renal crónica.

Se han descrito alteraciones cutáneas en forma de erupción morbiliforme.

- Intoxicación crónica: Tiene probabilidades de ocurrir a nivel laboral. Los casos más avanzados presentan lesiones de eliminación: nefritis, colitis y estomatitis. También suele cursar

con gingivitis, con salivación excesiva y dolor gingival, algunas veces se observa un rodete mercurial (pigmentación de las encías) y con frecuencia hay pérdida de piezas dentarias. Con el tiempo puede haber alteraciones neurológicas: temblores y neuritis sensoriales que afectan de forma selectiva las extremidades superiores.

Compuestos organomercuriales

Da lugar a un cuadro clínico que se caracteriza por un síndrome neurológico y encefalítico progresivo. Los componentes de este cuadro son:

- Alteraciones neurológicas: ataxia debida a la lesión cordonal posterior, de origen cerebeloso fundamentalmente.
- Trastornos psíquicos: irritabilidad emocional, ansiedad, inestabilidad, cefaleas. A veces conduce a la demencia.
- Trastornos sensoriales: reducción progresiva del campo visual, disminución de la agudeza auditiva, de origen central y periférico (por lesión coclear).
- Afectación renal: Proteinuria, degeneración grasa de células epiteliales, por la liberación progresiva de mercurio inorgánico.
- En los casos graves, el cuadro evoluciona a la confusión mental, seguida de coma y muerte.

La toxicidad con el fenil-Hg es semejante a la de los compuestos inorgánicos.

Los derivados mercuriales alquilo como el metil-Hg son potentes neurotóxicos centrales. Producen una encefalopatía grave que se desarrolla a lo largo de semanas o meses y comienza con parestesias peri-orales y distales, ataxia intensa que termina en parálisis, ceguera, sordera, coma y muerte.

Los primeros síntomas (ataxia, parestesias) sobrevienen cuando los individuos acumulan entre 25 y 40 mg de metil-Hg, lo que correspondería a una tasa de mercurio en sangre de 25 µg %.

Los fetos desarrollan lesiones neurológicas graves e irreversibles, probablemente porque el metil-Hg se acumula más en el cerebro del feto, en relación a la madre. Presentan un cuadro análogo a una parálisis cerebral grave, con un grave retraso del desarrollo, ceguera, sordera y espasticidad.

Diagnóstico

Las manifestaciones clínicas y la determinación de mercurio en líquidos biológicos son determinantes para la realizar el diagnóstico de una intoxicación con mercurio.

Concentraciones de mercurio en orina mayores de 150 µg/g de creatinina pueden ocasionar manifestaciones clínicas (concentración tóxica), y por encima de 300 µg/g creatinina pueden producir el temblor mercurial.

En cuanto a las determinaciones de laboratorio, para monitorear casos de intoxicación crónica por exposición laboral se debe realizar la vigilancia semestral y anual de los trabajadores.

Los análisis de relevancia constituyen el dosaje de mercurio en orina teniendo en cuenta un Índice Biológico de Exposición: 35 mcg/g de creatinina (ACGIH, 1993) y el dosaje de mercurio en sangre con un Índice Biológico de Exposición: 15 mcg/L (ACGIH, 1993) como valor de referencia.

Tener en cuenta para el dosaje de mercurio en orina que si bien la excreción de mercurio es variable en cada individuo, si la muestra a nivel laboral se recolecta siempre a la misma hora estas variaciones se reducen. Se toma 50 ml de orina emitida espontáneamente y refrigerada.

Se recomienda utilizar envases de polietileno o polipropileno tratados previamente con ácido nítrico para eliminar eventuales niveles de metales traza. Se debe recoger después de 16 horas de cesada la exposición o antes de iniciar el turno. Como en casos anteriores se requiere realizar la destrucción de materia orgánica (DMO) en sistemas cerrados para evitar perdida de analito mas aún tratándose de mercurio. Se sugiere el método de absorción atómica para medirlo y en este caso en particular debe contarse con un dispositivo de condensación denominado *dedo frío* dada la naturaleza del analito.

Para realizar el dosaje de mercurio en sangre se extrae 5 ml de sangre al finalizar el último turno de la semana laboral. La muestra debe ser obtenida en jeringa descartable y lejos del puesto de trabajo, la zona de la venopuntura debe ser higienizada, teniendo en cuenta no utilizar un desinfectante mercurial.

Se sugiere también realizar un análisis de orina completa con búsqueda de: proteinuria para descartar daño renal.

Arsénico

El arsénico es un elemento ampliamente distribuido en el medio ambiente natural. Químicamente se trata de un metaloide con propiedades intermedias entre metales y no metales pudiendo formar aleaciones con metales, pero también enlaces covalentes con el carbono, hidrógeno y oxígeno. Forma compuestos trivalentes inorgánicos (trióxido arsenioso, arsenito de Na), y orgánicos (arsenamina) y pentavalentes inorgánicos (pentóxido de arsénico, arseniato de plomo, ácido arsénico). La presencia de elevados niveles de arsénico en agua subterránea tiene su origen en la actividad volcánica en la Cordillera de los Andes, que tuvo como consecuencia la aparición de terrenos arseníferos.

En el agua se suele encontrar en forma de sales (arseniato o arsenito) muy hidrosolubles. Los alimentos marinos, ricos en arsénico, son una fuente de cierta importancia en la dieta. Las principales actividades antropogénicas que aportan arsénico en el aire son la combustión de carbón y la fundición de metales, otras fuentes que contaminan el ambiente son la minería y la fundición de metales ó el uso de arsénico en plaguicidas, raticidas y en conservantes de la

madera, taxidermismo, fabricación de vidrios, esmaltes, colorantes y cerámica, fabricación de fuegos artificiales y gases bélicos, entre otros.

El arsénico puede formar tanto compuestos inorgánicos como orgánicos, estos últimos obtenidos como productos de síntesis. Los compuestos del arsénico varían en su toxicidad para los mamíferos de acuerdo a su estado de valencia, la forma química (inorgánico u orgánico), el estado físico (gas, solución, o polvo) y factores como la solubilidad, tamaño de la partícula, velocidad de absorción y eliminación, y presencia de impurezas. La toxicidad del As (III) es varias veces mayor que la del As (V), debido a su mayor captación celular. En concentraciones intracelulares equivalentes, los compuestos de As (III) y As (V) son equipotentes. La arsina es considerada la forma más tóxica, seguida del arsenito, de los arseniatos y de los compuestos orgánicos de As. Diferentes compuestos han dado lugar tanto a intoxicaciones accidentales como criminales.

Las sales de arsénico fueron venenos muy utilizados a través de la historia, pues visualmente sus aspecto es similar al de algunas sustancias de uso culinario, como el azúcar, la harina; etc. que facilitan su administración mezclados en pequeñas proporciones a las bebidas y a los alimentos no les comunican ningún sabor especial, por lo que no se hacen sospechosos a las personas a quienes se les administra en forma criminal en forma discontinua a dosis subtóxicas dada la similitud de sus efectos con los debidos a afecciones espontáneas, de tipo gastrointestinal y las lesiones que produce inespecíficas y muy similares, a la de procesos patológicos espontáneos con los que se puede confundir clínicamente, creando así la impresión de una afección intestinal o intoxicación alimenticia, hasta administrar una dosis letal.

El arsénico ejerce efectos tóxicos deletéreos para toda la población expuesta sin embargo resultan más susceptibles aquellas personas que viven en situación de mayor pobreza y vulnerabilidad debido a la desnutrición presente en estos casos. En base a estos conceptos podemos dividir a la población en riesgo sanitario en diferentes grupos según el grado de susceptibilidad:

-Niños: Si comparamos la relación peso corporal respecto de la ingesta de líquidos y alimentos respecto de un adulto, en promedio son especialmente susceptibles debido a que la dosis de arsénico mayor que la de los adultos expuestos a concentraciones similares.

-Mujeres embarazadas y en lactancia: El grado de exposición del feto es extremadamente elevado a los efectos adversos del arsénico sobre el desarrollo, y a futuro pueden ser individuos con un menor desempeño neurológico comparado con un sujeto no expuesto.

-Sujetos con un pobre estado nutricional: su vulnerabilidad estará dada por una pobre capacidad para metabolizar el arsénico.

-Sujetos con enfermedades renales y hepáticas previas a la exposición: serían mas susceptibles por tratarse de órganos blanco de la acción tóxica del arsénico además de tener una función detoxificante depresionada bajo estas condiciones.

Mecanismo de acción del arsénico en el hombre

Los mecanismos de toxicidad del arsenito y el arseniato son diferentes. El arseniato compite con el fósforo inorgánico en la producción de ATP, desacoplando la fosforilación oxidativa al formar un éster inestable de arseniato, que se hidroliza espontáneamente (arsenolisis). El arsenito posee la capacidad de inter actuar con los grupos tiol, por lo que puede ser directamente tóxico al bloquear grupos sulfhidrilos esenciales de proteínas y enzimas. Este tipo de unión puede perturbar la función de enzimas del metabolismo de los hidratos de carbono, como las deshidrogenasas, y del metabolismo lipídico.

La unión a los grupos sulfhidrilos libres de las proteínas de membrana de la especie As(III) induce alteraciones en los mecanismos de transmisión de señales. Dentro de la célula, el arsenito altera la organización de los elementos del citoesqueleto; inhibe la glutatión reductasa y disminuye el nivel intracelular de glutatión reducido, alterando el equilibrio redox que protege a la célula del daño que producen las especies reactivas de oxígeno (ROS). Además del stress oxidativo por depleción de glutatión, el arsenito aumenta los niveles de peróxido de hidrógeno al activar la NADPH oxidasa en neuronas y células musculares lisas vasculares. A nivel cerebral, la exposición al arsenito induce cambios en los niveles y funciones de los neurotransmisores, lo que explicaría los desórdenes del comportamiento.

En algunas reacciones enzimáticas el arseniato puede unirse al fosfato de piridoxal e inhibir las reacciones que dependen de él, como la síntesis de dopamina y serotonina.

El daño al ADN y la apoptosis están relacionados a esta producción de peróxido de hidrógeno y a la inducción del óxido nítrico. Este daño al ADN estaría mediado por las especies metiladas MMA y DMA a través de la producción de radicales libres. El stress sostenido llevaría a las células a una respuesta que alteraría los patrones de expresión de genes, lo que parece modular la capacidad de las células para responder y producir agentes como las citokinas. Esta respuesta desordenada y caótica del estado redox, de la regulación de la transcripción, y de la capacidad de reparación del ADN, sería el mecanismo propuesto en la producción de tumores.

Todas las especies químicas de arsénico son capaces de inducir metalotioneínas y esto se correlaciona con la toxicidad intrínseca de sus especies (As(III) > As(V) > MMA > DMA).

Exposición aguda

Suele ocurrir ante una exposición accidental o suicida. En el caso de derivados inorgánicos y orgánicos, el cuadro sintomatológico es similar, solo varía la dosis efectiva en cuando la exposición es a derivados orgánicos por ser menos tóxicos que los inorgánicos. Clínicamente se observa aparición de un cuadro similar a una gastroenteritis grave con vómitos, dolor abdominal de tipo cólico y diarrea, sequedad y ardor en la boca y la gargan-

ta hasta producir un shock hipovolémico por deshidratación y vasodilatación generalizada, disminución de la contractilidad miocárdica y arritmias. Las manifestaciones neurológicas observadas son calambres musculares, depresión del SNC y coma. Finalmente se advierte fallo hepático y renal. El fallecimiento se produce por fallo multiorgánico. Si el paciente no fallece, aparecen secuelas como polineuropatías. Las manifestaciones clínicas de una intoxicación fulminante cursan con la aparición de síntomas cardiopulmonares: colapso circulatorio, respiración superficial, estupor y, ocasionalmente, convulsiones. La muerte se produce por colapso o depresión del SNC en pocas horas.

Intoxicación aguda por arsina

El gas arsina posee la capacidad de inhibir las catalasas en los glóbulos rojos y disminuir el nivel de glutation intracelular, importante para la integridad y deformabilidad de la membrana, lo que origina una situación de estrés oxidativo que finaliza con una hemólisis vascular generalizada. Los síntomas tempranos son dolor de cabeza, debilidad, disnea, dolor abdominal, hemoglobinuria e ictericia, más tarde aparece oliguria e insuficiencia renal provocando la muerte en los casos más graves.

Exposición crónica

El conocimiento de la presencia de elevadas concentraciones de arsénico en agua y sus efectos en la salud están bien documentados en Argentina desde principios del siglo XX. La exposición se ha limitado generalmente al agua de pozo, y como medidas mitigadoras se han construido acueductos desde ríos con bajos contenidos de arsénico, para reemplazar el agua no apta para consumo, y se instalaron plantas de tratamiento de agua con métodos de abatimiento de arsénico. En algunas pequeñas poblaciones, hasta el día de hoy, se continúa utilizando el agua subterránea, a veces combinada con el agua de la lluvia recogida en aljibes. El consumo de agua contaminada con arsénico por estos mecanismos ambientales naturales no produce casos de intoxicación aguda. Los efectos son crónicos derivados de la ingesta de pequeñas cantidades de arsénico en el agua y en otros alimentos contaminados por el agua durante largos períodos de tiempo.

Se pueden reconocer cuatro etapas en el desarrollo del HACRE:

- Período Prepatogénico: las poblaciones están expuestas a concentraciones elevadas de arsénico inorgánico en el agua de consumo diario.
- Periodo Preclínico: el paciente no muestra síntomas, pero el arsénico puede ser detectado en muestras de tejidos y de orina.
- Período Clínico: Aparecen las manifestaciones en la piel como lesiones cutáneas, hiperpigmentación e hiperqueratosis en forma de “gotas de lluvia”. La OMS estima que esta etapa requiere una exposición al arsénico de 5 a 10 años.

- Período de Complicaciones: síntomas clínicos más pronunciados y afectación de los órganos internos; desarrollo de tumores o cánceres que afectan la piel u otros órganos.

Obviamente las acciones de salud deben estar dirigidas a evitar o discontinuar la exposición. En los períodos preclínico y clínico, si el paciente reemplaza la fuente de agua de bebida por otra que esté libre de arsénico, su recuperación es casi completa. En el último período, las manifestaciones no cancerosas pueden ser reversibles, pero cuando aparecen las manifestaciones cancerosas, la única medida beneficiosa es el diagnóstico precoz y tratamiento oportuno para reducir las secuelas y mejorar la calidad de vida.

Aunque no existe una concentración de arsénico que se considere totalmente segura, por cuanto estamos ante la presencia de una sustancia que no tiene definido un valor de dosis umbral para el efecto cancerígeno, se ha establecido un nivel guía para la calidad del agua de bebida de 10 ppb en el agua de consumo diario (bebida y preparación de alimentos).

Enfermedad de Pie Negro o Black Foot disease: Esta patología aparece también a consecuencia de la exposición crónica a arsénico en condiciones de vulnerabilidad y desnutrición. Se caracteriza por aparición de escoriaciones oscuras en los pies que se incrementan con la dosis y la edad. A largo plazo se desarrolla un aumento en canceres fatales de órganos internos como hígado, piel, pulmón, riñón.

Remoción de arsénico en agua

En los últimos años se advierte una tendencia general en países industrializados a reducir los límites máximos permitidos de arsénico en agua de bebida, debido al riesgo carcinogénico del mismo para el ser humano en la piel y algunos órganos internos (pulmón, hígado, riñón y vejiga).

En América Latina ha podido apreciarse que a niveles similares de arsénico en diferentes condiciones (climatológicas, de nutrición y otros) el nivel de afectación es diferente.

A lo largo del tiempo se han ensayado diferentes técnicas para reducir el arsénico del agua, entre ellas la destilación solar, la osmosis inversa y el paso del agua arsenical por mantos filtrantes de propiedades adsorbentes, tales como alúmina activada, huesos de vacuno calcinados o virutas de hierro parcialmente oxidado. Se han probado métodos electroquímicos consistentes en la liberación de partículas coloidales de hidróxido de aluminio partiendo de la erosión de electrodos de cinc o de aluminio, y se obtuvieron rendimientos superiores al 99% en la remoción del arsénico, aunque se presentaron problemas de contaminación del agua por impurezas asociadas al material de los electrodos. Asimismo, se ha intentado tratar las aguas arsenicales por electrodialisis, pero no se han encontrado membranas con poros de tamaño adecuado para eliminar selectivamente el arsénico. Un método casero de eliminación de arsénico en agua se obtiene introduciendo un trozo de alambre de hierro en agua acidificada con jugo de limón dentro de una botella plástica y dejando reposar el sistema durante toda la noche, se produce la oxidación del hierro con

formación de óxido férrico que precipita arrastrando al arsénico, luego se procede al filtrado del agua con un paño limpio. El análisis de arsénico en este tipo de aguas indica una remoción de casi un 99% del arsénico presente originalmente previo al tratamiento.

Diagnóstico

La concentración de arsénico total en orina ha sido utilizada como un indicador de la exposición reciente a arsénico debido a que la orina es la principal vía de excreción para la mayoría de las especies arsenicales. La vida media del arsénico inorgánico en humanos es de alrededor 4 días.

Para determinar exposición al arsénico existen biomarcadores muy útiles tales como la determinación arsénico inorgánico, ácido monometilarsínico (MMA) y ácido dimetilarsínico (DMA) en orina, indicadores de exposición reciente a ingestión de agua o alimentos contaminados con arsénico. La exposición crónica se ha puesto en evidencia con el análisis de arsénico total en pelo y uñas. Las mediciones en sangre han sido útiles sólo como indicador de exposición aguda, estadísticamente no ha sido demostrado que la concentración de arsénico en sangre esté correlacionada con la exposición al arsénico en agua de bebida.

En los casos de exposición laboral generalmente por vía respiratoria a polvos y vapores exige un examen periódico. La vigilancia médica requiere realizar anualmente un examen clínico con orientación dermatológica, neurológica y hepatológica. Generalmente el médico solicita un hemograma con recuento de plaquetas, una espirometría para observar compromiso pulmonar y rayos X de tórax. Se realiza el dosaje de arsénico en orina teniendo como referencia un Índice Biológico de Exposición Hasta 35 mcg/g de creatinina.

Para este análisis se solicita una muestra de 100 ml de orina emitida espontáneamente. La muestra debe ser recolectada al finalizar la semana laboral. La recolección se hará alejada del puesto de trabajo, para evitar la contaminación y previa higiene personal. Se utiliza para la recolección envases de polietileno lavado previamente con ácido nítrico para eliminar posibles trazas de metales interferentes. Luego de recogida la muestra se debe refrigerar para remitir al laboratorio siempre y cuando la determinación no se pueda realizar en forma inmediata. A -20 °C es estable durante seis meses.

El método sugerido para la determinación es el de Absorción atómica u otro método como el Vasak Sedivek. La destrucción de materia orgánica es sencilla dado que la matriz de orina no es muy rica en material orgánico.

Los biomarcadores de susceptibilidad continúan en estudio a nivel genético como indicadores de la producción de cáncer por arsénico.

Cromo

El cromo es un elemento metálico de transición abundante en la corteza terrestre, en el agua, el suelo y las rocas y en el medio ambiente, proveniente de la actividad industrial (producción de cromados, refinamiento de minerales que lo contienen, manufactura del cemento, la combustión de combustible fósil, aguas residuales de curtidores), cultivos y suelos agrícolas. Es además, un ingrediente común en muchos suplementos vitamínicos y minerales. Al hombre llega a través de los alimentos o por exposición a toda fuente de cromo de origen antropogénico, en general de origen industrial, sea trabajadores o poblaciones cercanas a industrias que emiten material particulado o efluentes contaminados con este metal. El riesgo de exposición no solamente se debe a la presencia del cromo en el ambiente, sino a la valencia y la forma fisicoquímica en que se presenta. Se encuentra principalmente en tres estados de valencia, cromo elemental (0) que carece de toxicidad, cromo trivalente (III) y cromo hexavalente (VI) altamente tóxicos por ser formas biológicamente activas. La forma trivalente es la más común. El cromo trivalente es menos tóxico que el hexavalente. Los compuestos Cr(III) en general se encuentran formando complejos estables con ligandos orgánicos e inorgánicos, en cambio, los compuestos Cr(VI) forman óxidos con actividad oxidante de gran importancia industrial. El cromo particulado proveniente de la combustión del carbón y la contaminación industrial, precipita con las lluvias y junto con el cromo proveniente de efluentes de industrias no controladas, se deposita en la tierra y agua; los depósitos en tierra son llevados a cursos de agua por escorrentías y se depositan en sedimentos. En los sistemas acuáticos la toxicidad de los compuestos solubles de cromo varía según la Tº, pH y dureza del agua, y según las especies de organismos que los pueblan. Los compuestos de Cr(VI) se disuelven con facilidad, pero en condiciones naturales y en presencia de materia orgánica oxidable, se reducen rápidamente a compuestos de Cr(III), más estables y menos hidrosolubles. Los hidróxidos de Cr(III), una vez sedimentados y fijados en el sedimento acuático, difícilmente vuelven a movilizarse, dado que la oxidación de los compuestos de Cr(III) para formar compuestos de Cr(VI), prácticamente no ocurre en forma natural. El Cr(VI), aún en concentraciones relativamente bajas, ya resulta tóxico, siendo el pH del suelo un factor fundamental. El uso de abonos fosfatados incrementa su ingreso al suelo. La acidificación del suelo puede también influir en la captación de Cromo como Cr(III) por los cultivos. En las plantas se han observado lesiones en el sistema radicular, originadas principalmente por el Cr(VI). Los efectos tóxicos han sido descritos fundamentalmente, en base a ensayos vasculares. Aunque no se conoce que el Cr sea acumulado en peces, se sabe que, debido a la gran biodisponibilidad en aguas superficiales, altas concentraciones de Cr(VI) pueden dañar las agallas de los peces que permanecen cerca del punto de vertido. En animales la exposición a cromo puede causar problemas respiratorios y una baja disponibilidad del mismo puede dar lugar a enfermedades, defectos de nacimiento, infertilidad y formación de tumores.

Papel Biológico del Cromo

El Cr(III) es un elemento esencial para el hombre a niveles trazas. Participa en el metabolismo de aminoácidos, de colesterol (como protector arterial, ya que controla los niveles de colesterol en sangre e impide la formación de placas en las arterias coronarias) y de los hidratos de carbono (parece participar en la potenciación de la acción de la insulina al unirse al complejo receptor-insulina unido a un péptido específico) su carencia provoca por ejemplo intolerancia a la glucosa. En concentraciones extremadamente bajas puede causar problemas cardíacos.

Su deficiencia puede provocar:

- Problemas cardiocirculatorios que sobrevienen como consecuencia de los elevados niveles de colesterol en sangre con la consiguiente formación de placas ateromatosas.
- Aumento de los lípidos en la sangre.
- Alteración en el metabolismo de los aminoácidos y de los azúcares.

Causas que favorecen su deficiencia:

- Una dieta rica en azúcares refinados y alimentos procesados.
- Diabetes.
- Alcoholismo.
- Dietas de adelgazamiento muy prolongadas.

Fuentes de Cr(III): levadura de cerveza, algunas plantas medicinales como las hojas del nogal y eucaliptus, los berros, la melaza, el limón, el pomelo, los cereales integrales, el aceite de maíz, las carnes y los mariscos.

Sintomatología de la intoxicación con cromo

Intoxicación aguda

Las intoxicaciones agudas por ingesta o inhalación de cromo son poco frecuentes. Los compuestos de Cr(VI) son tóxicos si son ingeridos, siendo la dosis letal de unos pocos gramos. La ingesta de una sal de cromo (con fines suicidas) produce un cuadro gastrointestinal con vómitos, dolores abdominales, diarreas y hemorragias intestinales. Se han descrito casos de muerte, por colapso cardiocirculatorio. Si el paciente sobrevive, puede aparecer una insuficiencia renal aguda debido a necrosis tubular aguda. También puede ocasionar un fallo hepático, coagulopatía, o hemólisis intravascular. Las intoxicaciones agudas con compuestos de Cr(VI) se manifiestan como lesiones renales.

Intoxicación crónica

Son las más frecuentes en intoxicaciones profesionales. Derivan de la inhalación y contacto cutáneo-mucosa con polvos, vapores y nieblas que se desprenden en la fabricación de derivados de cromo y cromado de metales. El contacto cutáneo con compuestos de Cr(VI) puede

producir úlceras pequeñas, no dolorosas, a veces puriginosas, que suelen afectar al dorso de las manos y de los dedos y reciben el nombre de úlceras en “nido de paloma”. También puede ocasionar dermatitis de contacto (irritativas y alérgicas). La exposición a estos compuestos también se relaciona con cuadros de bronquitis y de asma, además de poder producir ulceraciones y perforaciones del tabique nasal. La mayoría de los compuestos de Cr(VI) irritan los ojos, la piel y las mucosas y la exposición crónica puede provocar daños permanentes en los ojos. Las crónicas en cambio, pueden producir mutaciones en el TGI, así como acumulaciones en el hígado, en el riñón, en la glándula tiroidea y en la médula ósea. A la exposición prolongada al polvo de cromo (industria), se la relaciona con una mayor incidencia de cáncer de senos paranasales y de pulmón a nivel bronquial por compuestos hexavalentes, fundamentalmente los menos solubles como los cromatos de calcio, de estroncio y de cinc.

Toxicocinetica

La toxicocinética de los compuestos de cromo depende como ya fue mencionado, del estado de valencia del átomo de cromo y de la naturaleza de sus ligandos. Los seres humanos incorporan a su organismo cantidades relativamente pequeñas de cromo por inhalación del aire ambiental, por ingestión de alimentos y del agua de bebida ó en aguas de recreación, exposición digestiva y dérmica, en caso que lo contengan.

Absorción: La absorción de los compuestos de cromo (VI) es mayor que la de los compuestos de cromo (III), cualquiera que sea la vía de exposición, pero a pH ácido del estómago dicha absorción es más baja debido a la reducción del cromo (VI) a cromo (III). La absorción de compuestos de cromo inhalados se produce en los pulmones, a través de la membrana plasmática. El cromo(VI) ingresa de forma facilitada a la célula como anión cromato a través de los canales aniónicos presentes en las membranas plasmáticas, en cambio los compuestos de cromo (III) podrán absorberse por difusión pasiva si se trata de compuestos orgánicos liofilices, las formas particuladas inorgánicas podrán absorberse por fagocitosis. Por lo expuesto, los compuestos de Cr(III) asimilados junto con los alimentos resultan relativamente inocuos.

Distribución: El cromo absorbido, pasa al torrente sanguíneo donde es reducido a la forma trivalente y luego se distribuye y deposita con esta valencia en varios órganos (sistema retículo endotelial, hígado, bazo y huesos).

Eliminación: La principal vía de eliminación es la renal (80 %), de manera muy lenta, con una semivida de eliminación de 15-41 hs. En menor cantidad puede eliminarse por heces.

Mecanismo de acción: Los compuestos de Cr(VI) penetran con facilidad en el interior de los eritrocitos, combinándose con la fracción globínica de la hemoglobina, reduciéndose posteriormente a Cr(II). En esta forma tiene gran afinidad por las proteínas plasmáticas, principalmente por la transferrina, a la que se fija formando compuestos muy estables. El Cr(III) y (VI) son agentes desnaturalizantes de proteínas y precipitantes de los ácidos nucleicos.

Carcinogenicidad

Los diversos compuestos de Cr(VI) representan la mayor amenaza, debido a sus efectos genéticos. Los compuestos del Cr (VI) resultan positivos en casi todos los sistemas de ensayos diseñados para determinar efectos mutagénicos. El hecho comprobado de que atraviesa la placenta significa un alto riesgo para los embriones y fetos. El efecto carcinógeno de sus compuestos no sólo ha sido demostrado experimentalmente con animales, sino también ha sido confirmado en estudios epidemiológicos realizados con grupos humanos expuestos laboralmente a esta sustancia. Se estima que el período de latencia oscila entre 10 y 27 años. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con estos compuestos, no fue posible demostrar de manera concluyente el efecto carcinógeno de los compuestos de cromo (III). La IARC clasifica que por inhalación los compuestos de Cr(VI) son carcinógenos humanos, sobre pulmón y senos paranasales (Grupo 1).

La exposición a cromo en particular en la industria de la producción de pigmentos a base de cromo y en la producción de cromo, se asocia a cáncer del tracto respiratorio. El mecanismo de carcinogenicidad del Cr(VI) en el pulmón se cree que se produce por su reducción a Cr(III) y, a la generación de reactivos intermediarios. Las sales de Cr(III) tienen poca o ninguna actividad mutagénica en bacterias. Como las células asimilan mejor el Cr(VI), pero es la forma trivalente la que es metabólicamente activa y la que se une a los ácidos nucleicos, se ha sugerido que, el agente mutágeno es el cromo trivalente unido al material genético, luego de la reducción de la forma hexavalente. La reducción intracelular de Cr(VI) involucra la oxidación tanto de pequeñas moléculas como ascorbato y glutatión como de macromoléculas como ADN y proteínas, y probablemente esto juegue un rol en el proceso de carcinogénesis.

De hecho el cromo provoca una variedad de efectos:

- * a nivel bioquímico, la interacción covalente de coordinación de Cr(VI) y Cr(III) con el ADN y con los complejos ADN-proteínas.
- * a nivel genómico, la inducción de expresión génica (de estrés oxidativo, de metalotio-neínas y de genes supresores de tumores), mutación génica, lesiones del ADN, inhibición de síntesis proteica y detención de la replicación de ADN.
- * a nivel celular, detención del ciclo celular, apoptosis y transformación neoplásica.

La detección de complejos ADN-proteínas pueden servir como marcadores de exposición y de potencial carcinogénesis por Cr.

Diagnóstico

El indicador más utilizado para evaluar la exposición a cromo es medir su concentración en muestras de orina, en trabajadores expuestos se realiza cada seis meses. La determinación de cromo en sangre no tiene indicación práctica para el monitoreo.

La industria está obligada a realizar un examen clínico anual con orientación:

a) Dermatológica: cuando la vía de exposición es la dérmica.

b) Respiratoria: cuando la vía de exposición es la inhalatoria.

En el caso de personal expuestos por vía inhalatoria se indica realizar: espirometria (se busca patrón obstructivo), rinoscopia (en búsqueda de atrofia de la mucosa nasal, ulceración y perforación del tabique nasal), rayos X de tórax (se busca indicios de cáncer broncopulmonar primitivo) y análisis de orina completa.

Para realizar el dosaje de cromo en orina, se realiza una toma de muestra de aproximadamente 50 ml de orina espontánea. Dicha toma debe hacerse al final del último turno de la semana laboral. Se debe utilizar envase de polietileno o polipropileno lavado previamente con ácido. Para preservar la muestra es conveniente acidificar (consultar con laboratorio). Se puede refrigerar y conservar por 14 días. Para realizar la determinación analítica, se sugiere medición por Absorción Atómica. Se considera un Índice Biológico de Exposición: Hasta 30 mcg/g de creatinina. Para tener un indicio de daño renal debe realizarse en la orina la determinación de proteinuria.

Investigación de cromo ambiental en muestras de aguas por el Método colorimétrico

Este procedimiento mide únicamente el Cr(VI), por tanto, para determinar el Cr total hay que convertir todo el cromo a Cr(VI), oxidando con permanganato potásico. El Cr(VI) se determina colorimétricamente por una reacción con difenilcarbazida en solución ácida. Se produce un color violeta de composición desconocida. La reacción es muy sensible a 540 nm. Para determinar el cromo total, se digiere la muestra con una mezcla ácida sulfúrico-nítrico y luego se oxida con permanganato potasio antes de la reacción con la difenilcarbazida. Las interferencias principales son las sales de molibdeno y mercurio. La reacción con la difenilcarbazida es prácticamente específica para el Cr. Las sales de Mo(VI) y de Hg reaccionarán para formar color con el reactivo pero las intensidades son mucho más bajas que para el cromo al pH especificado. Se puede tolerar concentraciones de hasta 200 mg Mo o Hg. El vanadio, interfiere fuertemente, pero las concentraciones hasta 10 veces las del cromo no causarán problemas. La interferencia potencial de permanganato se elimina por reducción previa con azida.

Cadmio

Es un elemento metálico dentro del grupo de elementos de transición. Se combina con otros elementos formando compuestos sólidos, estables, que no se evaporan y que pueden encontrarse en el material particulado. Puede encontrarse asociado a compuestos de Zn como la esfalerita (ZnS). Minerales propios son la blenda de cadmio (CdS), la otavita (CdCO₃), la monteponita (CdO). La actividad volcánica es la mayor fuente natural de eliminación a la atmósfera además de la actividad antropica. Los trabajadores se ven expuestos al respirar el aire contaminado (industria), al respirar el humo de cigarrillo (duplica la ingesta diaria), y al respirar cerca

de donde se queman combustibles fósiles o desechos municipales. Se absorbe entre el 30 y el 50 % del cadmio inhalado.

Ciclo del cadmio

El cadmio se caracteriza por poseer efectos adversos para el hombre y el medio ambiente, capacidad de bioacumular, posee elevada movilidad ambiental, se distribuye a grandes distancias de su punto de origen con el viento y los cursos de agua.

El cadmio es un tóxico persistente en el medio ambiente, en suelos permanece más de una centuria y casi en su totalidad permanece sin transformarse. El cadmio llega al suelo de los terrenos agrícolas por deposición aérea con los fertilizantes fosfatados (que contaminan los alimentos), por aplicación de abono de origen animal (estiércol) y por efluentes de plantas metalúrgicas de cadmio que contaminan suelos y cursos de agua.

Indirectamente, se puede ingerir a través de los alimentos, ya que el agua contaminada puede pasar a los vegetales o ingerirla los animales. Se fija a las plantas más rápidamente que el Pb, se bioacumula principalmente en hojas y en menor cantidad en los frutos y semillas. Esta cadena es frecuente en áreas mineras. La deposición atmosférica sobre las cosechas en lugares cercanos de emisión y el vertido de lodos contaminados sobre la tierra y el mar, es otra de las vías. Los sistemas acuáticos también son una cadena de bioacumulación a través de los crustáceos, moluscos, que ingieren plancton con cadmio, y lo acumulan en su organismo. Mujeres que amamantan pueden transmitirlo a través de la leche, convirtiéndose en la principal fuente de exposición en niños.

Toxicocinética

Absorción: La absorción de cadmio a partir de la vía inhalatoria, depende del tipo de compuesto inhalado, del tamaño de las partículas y de su retención en el pulmón. Ingresa al torrente sanguíneo por absorción en el estómago o en los intestinos, luego de la ingestión de comida o agua. La absorción en el ámbito intestinal se produce en dos etapas. En la primera, las células de la mucosa internalizan el metal presente en el lumen intestinal, y en la segunda etapa, una parte del mismo atraviesa la membrana vasolateral de los enterocitos, fijándose a la hemoglobina y a las metalotioneinas, para pasar a la circulación sanguínea.

Distribución: Las metalotioneinas son el medio de transporte del cadmio en el plasma sanguíneo. En condiciones normales, y a baja concentraciones, la mayor parte queda retenida en la mucosa intestinal, principalmente unido a la metalotioneinas y es eliminado posteriormente con la descamación de la pared. Cuando la dosis oral de cadmio es elevada, el metal libre atraviesa la mucosa para pasar a la circulación sanguínea, almacenándose en hígado, riñón e intestino, donde se une a metalotioneinas. Sólo en riñón e hígado se acu-

mula alrededor de un 50% del cadmio presente en el organismo. Pequeñas cantidades de complejo proteína-Cd pasan continuamente del hígado al torrente sanguíneo, para ser transportado a los riñones y filtrado a través de los glomérulos, para posteriormente ser reabsorbido y almacenado en las células tubulares del riñón. El complejo Cd-metalotioneína es más tóxico para los túbulos renales que el Cd por sí mismo. Se puede acumular además en pulmones, páncreas, glándula tiroides, testículos y glándulas salivales. Tiene la capacidad de atravesar la barrera placentaria fácilmente, induciendo allí la síntesis de metalotioneínas, formándose así el complejo metal-proteína que se acumula progresivamente en la placenta durante el embarazo, actuando como mecanismo protector frente al transporte al feto.

Eliminación: Su eliminación tiene lugar por las vías urinaria, intestinal, pelos y uñas. Hay un cierto grado de excreción por vía biliar, pero en el intestino vuelve a absorberse a través del ciclo entero-hepático. La eliminación es lenta, lo que favorece su acumulación. La vida media en el organismo puede superar los treinta años. Dependiendo del daño de la función renal inducida por este metal, la reabsorción del complejo disminuye, no se acumula en hígado e incrementa su excreción urinaria. Sólo entonces la concentración de cadmio en hígado excede la del nivel renal.

Mecanismo de acción: Su acción tóxica es, a la vez, irritante local y tóxica general. La acción irritante sería responsable de los incidentes agudos de la intoxicación que se ejercen sobre la mucosa nasal, el árbol respiratorio y el tubo digestivo. La acción tóxica general se manifiesta principalmente sobre la función renal y los tejidos pulmonar y óseo. Se cree que ésta resulta de la interferencia del Cd en el metabolismo de ciertos metales (Cu, Co, Zn) que están presentes en algunas enzimas. De hecho un suplemento de Zn y vitamina C contrarresta su acción tóxica. El cadmio inhibe la absorción intestinal del Ca e impide su depósito en el tejido óseo. Posee acción inhibidora de los grupos sulfidrilos de proteínas y enzimas, bloquea las fosforilaciones oxidativas a nivel de los macrófagos pulmonares. Tiene acción directa sobre la corteza cerebral y, de forma más acusada, sobre el riñón.

Exposición: En los individuos expuestos se observa una bioacumulación de cadmio, aumentando este con la edad. En los adultos la carga corporal puede llegar a 40 mg y el hábito de fumar la duplica. Su absorción aumenta si la dieta resulta deficiente en calcio, hierro o proteínas.

Las intoxicaciones industriales por cadmio resultan de la exposición a los polvos y los humos que se generan en las industrias que utilizan este metal u otros asociados al mismo que ingresan al hombre a través de la vía respiratoria o vía digestiva por la ingesta de los polvos o líquidos provenientes de cañerías que contienen cadmio en sus soldaduras ó agua contaminada por las fábricas que tiran sus desechos al río.

Intoxicación aguda

Si la absorción ha tenido lugar por vía digestiva, el cuadro clínico se manifiesta con un episodio violento de gastroenteritis, cólico, vómitos (a veces sanguinolentos), diarreas y dolor de cabeza. El dolor abdominal puede ser muy intenso, con síntomas de colapso. En cambio, si la absorción ha sido respiratoria, se produce un cuadro de gran irritación pulmonar con disnea, cianosis y tos. En algunas ocasiones pueden observarse signos de lesión hepatorrenal y en los casos más agudos, un edema agudo de pulmón mortal. La evolución es favorable, estableciéndose una curación completa sin secuelas.

Intoxicación crónica

En la exposición laboral prolongada se producen un conjunto de manifestaciones muy características. En general se observa una pérdida progresiva de peso con anorexia y anemia, los dientes presentan una pigmentación amarilla del esmalte en forma de bandas o anillos semi-concéntricos debidos a la formación de sulfuro de cadmio, denominados dientes cádmicos. A nivel renal, el daño provocado a nivel del tubo contoneado proximal provoca la aparición en la orina de proteínas de bajo peso molecular. La aparición de la proteinuria cádmica está generalmente asociada a cadmiurias que sobrepasan los 10 ug/g de creatinina en orina. No hay hematuria microscópica ni leucocitaria, disminuye la capacidad renal de concentración y acidificación de la orina. El daño renal puede avanzar hasta generar alteraciones glomerulares.

En pacientes expuestos a polvos y sin la protección laboral adecuada, se pueden observar trastornos respiratorios, rinitis irritativa, bronquitis y enfisema pulmonar. La función respiratoria se altera gradualmente y puede continuar incluso después de haber interrumpido la exposición. Dada la similitud del cadmio con el calcio se producen lesiones óseas que en casos avanzados pueden dar lugar a una osteomalacia que origina violentos dolores en la pelvis y extremidades inferiores por formación de fisuras óseas simétricas, preferentemente a nivel del cuello del fémur. La causa sería la pérdida de gran cantidad de fosfato cálcico por el riñón. Esto además origina una litiasis renal.

La evolución de los intoxicados es desfavorable, aún después de haber cesado su exposición al tóxico, tanto en los trastornos pulmonares como en los renales, como consecuencia de la lenta eliminación del tóxico. Sin embargo, cuando se trata de lesiones renales iniciales, el cese de la exposición suele detener su evolución.

Carcinogénesis

El cadmio produce cáncer sobre próstata y pulmón. Su clasificación IARC es grupo 1. Los mecanismo de acción involucrados para desencadenar carcinomas incluyen: inhibición

de la reparación del ADN con la subsecuente inestabilidad genética, depleción de las defensas antioxidantes causando estrés oxidativo, activación de señales celulares e inducción de proto-oncogenes, inhibición de la metilación del ADN produciendo desrepresión de genes, disrupción de la proteína E-cadherin que media la adhesión célula - célula, daño celular y apoptosis.

De acuerdo al modelo multi estadio de la carcinogénesis, el cadmio puede iniciar las transformaciones por el aumento del estrés oxidativo y la producción directa de un nivel bajo de mutaciones críticas ó por su propiedad de interferir con la reparación del ADN y amplificas así el nivel de producción de mutaciones espontáneas y de causa exógena. El cadmio puede promover el crecimiento de tumores a través de señales mitogénicas por la inducción inmediatamente temprana de genes y por la inhibición de la metilación. La posterior malignización del tumor puede ser dirigida por la interferencia del cadmio con la función de la E-cadherin y disrupción de la adhesión célula - célula. La inducción de la apoptosis celular por el cadmio puede disminuir el crecimiento de las células tumorales.

Diagnóstico

La prevención técnica comprende el control del Cd en el ambiente de trabajo, que no debe sobrepasar los límites ambientales recomendados. Si se encuentran valores superiores, se ajustarán las medidas destinadas a reducir el paso del tóxico al ambiente y/o a intensificar su depuración. Para situaciones extremas se usarán máscaras de suministro de aire bajo presión. La prevención médica tiene como fundamento el diagnóstico precoz de los efectos tóxicos del metal y la determinación de cadmio en sangre y, sobre todo, en orina. Si uno u otro análisis son positivos, el trabajador debe cesar durante el tiempo necesario su actividad laboral de riesgo hasta la normalización de estos parámetros.

En casos de intoxicación aguda el cuadro manifestado será debido a la inhalación de humos de óxido de cadmio en el lugar de trabajo, con aparición de un cuadro seudogripal seguido de tos, disnea y cianosis. En el caso de exposición crónica, los trabajadores expuestos al cadmio deben ser controlados clínicamente, buscando manifestaciones de tipo respiratoria, renal, trastornos óseos y muchas veces cuadros de hipertensión. Anualmente se realiza un examen clínico con orientación: Otorrinolaringológica, Neumonológica, Traumatológica y urológica, además de una espirometría, Rx de torax y Rx de huesos en especial cuello del fémur. Examen periódico se realiza semestralmente de vigilancia médica solicitando análisis de orina indicando determinación de proteínas totales, proteinuria, albumina y beta-2-microglobulina, todos indicadores de daño o destrucción de estructuras renales. En cuanto a los marcadores de exposición se determina la concentración de cadmio en orina y en forma alternativa la determinación de cadmio en sangre considerando un Índice Biológico de Exposición de 5 mcg/l sea de orina o de sangre.

La determinación de cadmio en orina, se realiza tomando una orina emitida espontáneamente, que puede ser recolectada en cualquier momento. La recolección debe hacerse fuera del puesto de trabajo, con previa higiene personal utilizando envase de polietileno de alta densidad lavado previamente con ácido. No debe utilizarse envases de plásticos coloreados o de goma por la posible contaminación con cadmio o metales intrferentes. El método sugerido es Absorción atómica por Atomización electrotérmica. El valor normal de Cd en orina, para individuos no expuesto es menor a 2 µg/g. de creatinina. El valor Índice Biológico de Exposición es igual o mayor a 5 µg/g. de creatinina. En el caso de necesitar realizar la determinación de cadmio en sangre como indicador de exposición reciente, se toma una muestra en cualquier momento, de sangre por venopunción, utilizando jeringas de plástico libre de cadmio y mantener la sangre en la misma. Se recomienda como en el caso de la muestra de orina recolectar la muestra en un ámbito fuera del puesto de trabajo, con previa higiene personal. Se considera como Índice Biológico de Exposición hasta 5 mcg/litro. Para investigar nivel de daño renal se realiza la determinación de proteinuria y se mide: Proteínas totales que en la intoxicación por cadmio no sobrepasan los 2 gramos en 24 horas, Albúmina (proteína de alto peso molecular), en individuos no expuestos debe ser menor a 20 mg/g de creatinina, Proteína de bajo peso molecular, la de primera elección es la Proteína Transportadora del Retinol (RBP), debe dar un valor menor a 300 µg/g de creatinina. La alternativa a esta es la determinación de otra proteína de bajo peso molecular la Beta-2-microglobulina, cuyo valor no debe superar los 300µg/g de creatinina.

Casos paradigmáticos

En Toyama, Japón, la ingesta de arroz que fue regado con agua contaminada con Cd, produjo una entrada al organismo de 300 ug diarios de cadmio, éste provenía de una explotación minera de las cercanías. La enfermedad se conoce como "Itai Itai" (ay ay) por los dolorosos síntomas de las fracturas múltiples producidas por la osteomalacia (reblandecimiento de los huesos).

En Suecia, en la década de 1940, durante la fabricación de baterías alcalinas de Ni-Cd, varias personas murieron por la acción tóxica del cadmio, cuya concentración en el aire era del orden de los mg/m³.

En Shipham, en una población cercana a una mina de zinc en Inglaterra, se observó que los habitantes tenían signos de toxicidad por cadmio, presentando en el hígado unos niveles de metal cinco veces superior a los encontrados en los habitantes de áreas no contaminadas. Las verduras cultivadas en el área contaminada contenían más de 7 mg/kg de peso seco de Cd, concentración muy superior al contenido de cadmio encontrado en la intoxicación de Japón.

Bibliografía

Albiano Nelson F. Toxicología Laboral: Criterios para la vigilancia de los trabajadores expuestos a sustancias químicas peligrosas. recuperado de internet:

<http://www.estrucplan.com.ar/Producciones/entrega.asp?IdEntre>

Cadmio- División de Toxicología -Agency for toxic substances and diseases registry (ATSDR)- junio 1999. Recuperado de internet <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/37/cadmio.pdf>

Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 6th edition: by Curtis D. Klaassen (Editor) By McGraw-Hill Professional, Chapter 23. Toxic Effects of Metals Robert A. Goyer and Thomas W. Clarkson pag 533 a 574. 2001

Defining the Science of Occupational and Environmental Health, (ACGIH) <http://www.acgih.org/>
Epidemiología del Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico en la República Argentina-

Estudio Colaborativo Multicéntrico Comisión Nacional de Programas de Investigación Sanitaria Unidad de Investigación y Desarrollo Ambiental-Comisión Nacional de Programas de Investigación Sanitaria del Ministerio de Salud de la Nación.2006. Recuperado de internet:
http://www.msal.gob.ar/determinantes/images/stories/descargas/recursos/2006_epidemiologia_del_hacre_en_argentina.pdf

CAPÍTULO 7

Efectos toxicos de los plaguicidas

Autor: Leda Giannuzzi

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

Introducción

La definición de pesticidas según Environmental Protection Agency (U.S. EPA) es “cualquier sustancia o mezcla de sustancias que tienden a prevenir, destruir, repeler o mitigar alguna peste”. Se entiende también por pesticidas a los agentes físicos, químicos o biológicos que pueden matar alguna peste de las plantas o animales indeseables. Los pesticidas constituyen un conjunto muy amplio y heterogéneo de compuestos. El término pesticida es el nombre genérico para una variedad de agentes que resultan ser más específicamente clasificados según el organismo al cual matan.

Los insecticidas que, en sentido estricto, sólo incluyen las sustancias destinadas a matar insectos, abarcan más organismos. Incluyen también los productos que matan especies vecinas como los ácaros (acaricidas), las pulgas (aficidas), las sustancias que perturban el desarrollo de especies impidiendo la eclosión de los huevos (ovicidas), de las larvas (larbicidas) así como la maduración sexual de los adultos. Los herbicidas son aquellos que destruyen o limitan el crecimiento de vegetales herbáceos o leñosos. Los fungicidas, constituyen compuestos que destruyen los hongos parásitos de los cultivos. Los nematicidas, son utilizados en el tratamiento de suelos para destruir gusanos parásitos en las partes subterráneas o en las partes aéreas de los vegetales. Los molusquicidas y los helicidas, son destinados a eliminar los caracoles y las babosas. Los rodenticidas (raticidas y miricidas) y los topocidas son aquellos que atacan a los roedores y otros lagomorfos. Los corvícidias y los corvífugos, destruyen o ahuyentan los pájaros, visitadores habituales u ocasionales de los cultivos. Los productos repulsivos son destinados ahuyentar mamíferos de talla importante como son los zorros, jabalíes, osos, etc.

Durante centurias el hombre ha desarrollado algunos métodos ingeniosos para controlar vertebrados, invertebrados, y microorganismos que constantemente amenazaban a la salud y su alimento. La historia de los plaguicidas se encuentra repleta de descripciones vinculadas a plantas dañinas y plagas de insectos, así como las medidas para controlarlas. El azufre ha sido usado como fumigante en China en el año 1000 AC. También en China se ha descripto la aplicación de moderadas cantidades de óxido de arsénico empleado como

insecticida. En los años 1690, se empleó extractos acuosos de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y de semillas de *Strychnos nux vómica* (estricnina) para matar roedores. En 1800 se empleó trióxido de arsénico para matar malezas, el ácido sulfúrico para destruir las dicotiledoneas. El arsenito de cobre fue usado para controlar el escarabajo de Colorado. En 1920 el uso de pesticidas arsenicales produjo considerables problemas de toxicidad debido que algunas frutas y vegetales tratadas presentaban residuos tóxicos. En 1930 comienza la era de los pesticidas sintéticos. Con el comienzo de la II Guerra mundial, se utilizaron numerosos pesticidas incluyendo díclorodifeniltricloroetano (DDT), el ácido dinitrocresol 1-4 cloro-2 metiloxiacético (MPCA) y 2,4 díclorofenoxiacético (2,4-D). La post guerra fue la época del rápido desarrollo de los agroquímicos con el auge de los insecticidas, funguicidas y herbicidas. En la actualidad, se han desarrollado los derivados de segunda y tercera generación de los pesticidas químicos los que poseen un inherente grado de toxicidad para algunos organismos vivos. Desafortunadamente, no existe un pesticida completamente seguro. Sin embargo, los pesticidas pueden ser usados en forma relativamente segura y presentar bajo nivel de riesgo a la salud humana al ser aplicado de acuerdo a las instrucciones descriptas en el envase.

De la producción mundial, aproximadamente el 70% se utiliza en la agricultura y el resto en otros ambientes, entre ellos el doméstico. Según datos de la OMS informados del total de los plaguicidas utilizados en la agricultura mundial, un 45% son herbicidas, un 32% insecticidas, un 18% fungicidas y un 5% corresponden a demás grupos de plaguicidas.

A pesar del amplio empleo de los plaguicidas, se admite que se pierde alrededor del 35% de las cosechas, pues se estima que menos del 0.1% de los productos aplicados alcanzan las plagas que se pretenden destruir. Como consecuencia, más del 99% de los plaguicidas se dispersan en el ambiente y presentan un riesgo potencial para los ecosistemas produciendo daños que suponen un enorme costo indeseable.

De acuerdo con la FAO, las pérdidas anuales producidas en las cosechas en los países en vías de desarrollo, como consecuencia de enfermedades, insectos y malas hierbas supera el 40%. Si a ello se le suma las pérdidas producidas después de la recolección se alcanza un volumen total de pérdidas superior a la mitad de la producción potencial. Esta cifra se reduce a solo el 25% en los países con agricultura desarrollada. Uno de los mejores instrumentos para aumentar los rendimientos consiste en el apropiado empleo de los plaguicidas. Antes de emplear un plaguicida es necesario hacer un balance entre los beneficios esperables y los posibles riegos o daños a la salud pública, así como el deterioro del medio ambiente.

Sin duda resulta muy difícil cuantificar la relación riesgo-beneficio derivado del empleo de los plaguicidas. Muchas veces es necesario destruir plagas que afectarían las cosechas de alimentos a pesar de un posible daño a algunos de los miembros de la población, como resultado de un número mayor de seres humanos cuya salud y bienestar se protege. Similarmente, cuando los vectores portadores de enfermedades representan un riesgo a la salud para gran-

des poblaciones humanas, el empleo de plaguicidas está indicado siempre que se conozca alguno adecuado.

El empleo de los plaguicidas ha producido efectos sobre la salud humana en particular asociado a exposiciones a largo plazo. Efectos carcinogénicos y manifestaciones tóxicas retardadas sobre el sistema nervioso y el sistema reproductivo en particular han sido descriptos alertando en forma directa a los organismos reguladores de algunos países.

Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas pueden clasificarse según diversos criterios como ser según el grado de peligrosidad, según su uso y según su estructura química de acuerdo a la **Tabla 1**.

Tabla 1: Clasificación de los plaguicidas según el grado de peligrosidad, su uso y estructura química

Grado de peligrosidad	Uso	Estructura química
Ia Extremadamente toxicos	Insecticidas	Inorgánicos
Ib Altamente peligrosos	Herbicidas	Orgánicos:
II Moderadamente peligrosos	Funguicidas	Organoclorados
III Ligeramente peligrosos	Nematicidas	Organofosforados
	Rodenticidas	Carbámicos
		Bencimidazoles
		Organohalogenados
		Metalorgánicos
		Ditiocarbamatos
		Dicarboximidas
		Fenoles
		Acidos orgánicos
		Bipiridilos
		Piretroides

La OMS (Organización Mundial de la Salud) clasifica a los plaguicidas según el grado de peligrosidad, en función de la DL50 en ratas, expresadas en mg/Kg de peso corporal según dos vías de entrada, la oral y la dérmica, según el estado físico del principio activo sea un sólido o un líquido (**Tabla 2**). Se ha planteado las ventajas y desventajas de considerar el grado de peligrosidad en función de las DL50 en ratas, así como la problemática que presentan algunos plaguicidas químicos tales como rodenticidas (de alto grado de toxicidad en ratas, pero no presenta el mismo efecto en humanos) y el paraquat (presenta baja toxicidad dérmica, pero resulta ser altamente peligroso por ingestión). Esta clasificación aporta información respecto al riesgo de intoxicación aguda, en el caso del principio activo por vía oral o dérmica, pero nada dice sobre la capacidad de producir intoxicación crónica a plazos prolongados.

En la **Tabla 3** se presentan algunos ejemplos de plaguicidas, según la clasificación de la OMS. Algunos de ellos se utilizan ampliamente en nuestro medio. La Organización Mundial de la Salud, OMS, clasifica los plaguicidas principalmente en base a su toxicidad aguda en estudios con animales. Los plaguicidas se clasifican en Clases: extremadamente peligrosos (Ia), altamente peligrosos (Ib), moderadamente peligrosos (II), poco peligrosos (III), normalmente no ofrecen peligro bajo uso normal (IV, a veces no clasificados).

El presente capítulo pretende enfocar el estudio de los plaguicidas según los efectos tóxicos que ellos producen, por ello se estudiarán los mismos considerando sus características químicas y sus mecanismos básicos de acción tóxica.

Tabla 2: Clasificación de los plaguicidas de acuerdo con el grado de peligrosidad según OMS 1988a (Organización Mundial de la Salud)

CLASE	DL50 (mg/Kg peso corporal) en ratas			
	Oral sólido	Oral líquida	Dermica sólida	Dermica líquido
Ia Extremadamente peligroso	<5	<20	<10	<40
Ib Altamente peligroso	5-10	20-200	20-100	40-100
II Moderadamente peligroso	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III Ligeramente peligroso	>500	>2000	>1000	>400
III Poco probable que presente riesgo a la salud	>2000	>3000	----	----

Tabla 3: Empleo de plaguicidas según las distintas clases de acuerdo con la clasificación de la OMS

Clase Ia	Clase Ib	Clase II	Clase III
Aldicarb	Aldrín	Carbaryl	Alachlor
Dieldrin	Metilazinphós	HCH	Aletrina
HCB	Etilazinphós	Clordano	Clorofacinona
HgCl2	Carbofenothión	Clorpiriphós	Cismetrina
Mevinphós	DDVP	2,4-D	Desmetrina
Parathión	Diclorvós	DDT	Malathión
Metilparathión	Endrin	Diazinón	Metilpirimiphós
TEPP	Metidatión	Dimetoato	Warfarina
	Monocrotophós	Diquat	
	Pentaclorofenol	Endosulfán	
	Etilpirimiphós	Fenitrothión	
	Cianuro de Na	Lindano	
		Heptacloro	

Insecticidas

En los últimos 60 años la literatura ha descripto en forma exhaustiva descripciones químicas, aspectos de la biotransformación y degradación, así como los efectos sobre el ambiente sobre las diferentes especies blanco y no blanco de varias clases de insecticidas. También se ha recopilado abundante información de las DL50 en animales e laboratorio. Todos los insecticidas en uso hoy en día son neurotóxicos y actúan atacando el sistema nervioso del organismo blanco. El desarrollo de los insecticidas se ha basado sobre las relaciones estructura química actividad biológica requiriendo una manipulación de las estructuras básicas para obtener la mejor configuración que actúe de forma específica en el sistema nervioso del organismo blanco. Dado que los insecticidas no son selectivos y afectan a especies no blanco no resulta sorprendente que actúen en el sistema nervioso de los insectos en forma similar en especies superiores de la cadena trófica. El sitio de acción o el mecanismo de acción puede resultar similar, solo la dosis o el nivel de exposición condiciona la intensidad del efecto biológico. Un esquema del sitio de acción de las distintas cla-

ses de insecticidas mostrando las interferencias en el transporte a través de la membrana a iones sodio, potasio, calcio, cloro así como la inhibición selectiva de actividades enzimáticas o la contribución en la liberación y/o persistencia de transmisores químicos en el axón y en la porción terminal del nervio se presentan en la Figura 1.

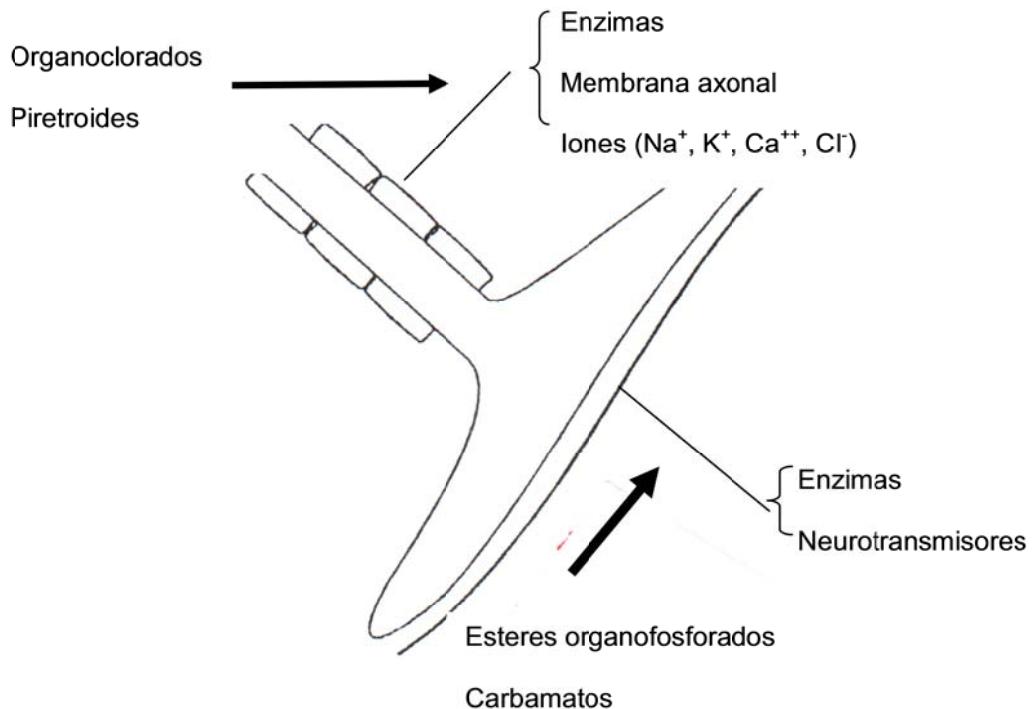


Figura 1: Potenciales sitios de acción de los insecticidas en el axón y en la terminal nerviosa del nervio.

Insecticidas organoclorados

Durante los años 1940-1960 se los utilizaron ampliamente en la agricultura, control de vectores, etc. Debido a su persistencia en el medio ambiente y a su tendencia a acumularse en los sistemas biológicos y no biológicos, comenzaron a ser menos usados. Rara vez ocurrieron intoxicaciones agudas, pero son responsables de intoxicaciones crónicas potenciales. Se presentan como un grupo de agentes diversos que pueden clasificarse en tres subgrupos incluyendo díclorodifeniletano, ciclodienos clorados y bencenos y ciclohexanos clorados como puede observarse en las estructuras químicas presentadas en la **Tabla 4**.

Tabla 4: Estructura y clasificación de los insecticidas organoclorados

Diclorodifeniletano		DDT, DDD Dicofol Pertame Metoxiclor Metolclor
Ciclodienos		Aldrin, Dieldrien Heptachlor Clordane Endosulfán
Benceno y ciclohexanos clorados		HCB HCH lindano o BHC hexa ciclohexano

DDT (1,1,1-tricloro-2,2 bis(clorofenil))etano

DDA 2,2-bis (4-clorofenol)ácido acético

DDE 1,1 dicloro-2,2-bis(4-clorofenil)etileno

DDD 1,1 dicloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano

lindano: isomero γ del HCH hexacloro ciclohexano

BHC hexacloro benceno

La Tabla 5 presenta los valores de DL50 para algunos insecticidas organoclorados y el valor de IDA Ingesta diaria admisible. Una compilación de datos de DL50 en ratas. Los hay extremadamente tóxicos como el aldrin, dieldrin y endrin y hasta ligeramente tóxicos como el metoxicloro. El valor de IDA se refiere a la cantidad de agente químico que puede ser ingerido por una persona durante toda su vida sin que le produzca efectos adversos a la salud. Los valores de IDA presentados en la tabla corresponden a los informados por OMS.

A pesar de sus variadas estructuras moleculares, presentan en común las siguientes características: son hidrocarburos cíclicos de origen sintético, resultan muy estables en los diversos ecosistemas, por su escasa biodegradación, debida a que el átomo de cloro sustituyente de la molécula es relativamente poco reactivo, pueden ser metabolizados a productos menos halogenados e hidroxilados. Presentan altos coeficientes de partición y por lo tanto baja solubilidad en agua. Son muy liposolubles y por lo tanto tienen a acumularse en ambientes hidrofóbicos, tales como materia orgánica de suelos o depósitos grasos de plantas, hombres y animales, sufren procesos de biomagnificación o concentración a través de las cadenas tróficas, por lo

cual, a lo largo de las mismas, se aumenta la toxicidad de los alimentos. Finalmente, son neu-rotóxicos para el hombre y demás vertebrados.

Tabla 5: Estructura química, DL50 vía oral y dérmica en mg/Kg de peso corporal /día para insecticidas organoclorados

Compuesto	Estructura	DL50 ratas oral (mg/Kg)	DL50 ratas dérmica (mg/Kg)
pp'-DDT		113	-
DDE		213	2510
Lindano		88	100
Metoxiclor		5000-7000	-
Aldrin		39	98
Dieldrin		46	90
Endrin		8	18

Intoxicaciones por insecticidas organoclorados

Signos y síntomas de la intoxicación

Dada la diversidad de las estructuras químicas no resulta sorprendente que presenten signos y síntomas diferentes según sea casos de intoxicación aguda y crónica.

La exposición humana y animal a altas dosis de DDT resulta en parestesia en lengua, labio y cara, hipersusceptibilidad a estímulos externos, vértigos temblores y convulsiones. Se ha estimado que una dosis de 10 mg/Kg de peso causan signos de intoxicación humana. Una exposición crónicas a concentraciones moderadas de DDT presenta síntomas como ser pérdida de peso, anorexia, anemia. Se ha observado cambios patológicos en el hígado y en órganos reproductores, así como un aumento en la incidencia de tumores hepáticos. Sin embargo, no se ha evidenciado epidemiológicamente carcinogenicidad en humanos. Los plaguicidas organoclorados pertenecientes al grupo del DDT son ejemplos de contaminantes medioambientales persistentes que son capaces de alterar al sistema endocrino. El DDT es capaz de provocar una pubertad precoz en ratas con aumento del peso del útero. En el caso de perros machos el DDT reduce la capacidad reproductora. Se ha demostrado que el principal metabolito del DDT, el p-p'-DDE, la vincozolina y la procimidona son capaces de unirse a los receptores de andrógenos de rata y del hombre, bloqueando la expresión de los genes regulados por andrógenos tanto *in vivo* como *in vitro*, retrasando la pubertad y alterando la diferenciación sexual en rata.

Los ciclodienos, son probablemente los insecticidas más tóxicos y persistentes en el ambiente conocidos, aún a bajas dosis inducen convulsiones con síntomas que comienzan con dolores de cabeza, náuseas, vértigo hiperexcitabilidad motora, e hiperreflexia.

Una importante diferencia entre el DDT y los ciclodienos clorados es que éstos últimos son eficientemente absorbidos a través de la piel presentando riesgo en una exposición ocupacional. Además de la conocida neurotoxicidad, el aldrin y el dieldrin interfieren con la reproducción, disminuyendo la vitalidad y viabilidad en ratas y perros. Un tratamiento con dieldrin durante la gestación causa reducción en la fertilidad e incremento en la mortalidad. Ratones en gestación tratados con dieldrin resultan en efectos teratogénicos como ser osificación demorada.

La exposición al lindano produce signos de intoxicación que se manifiestan en temblores, ataxia, convulsiones, respiración estimulada y postración. En casos agudos se observan violentas convulsiones y degenerativos cambios en el hígado y en los túbulos renales. Estudios realizados en ratones mostraron un incremento en tumores hepatocelulares (IARC, 1974). El efecto del lindano en el hombre produce discrasias sanguíneas y ha sido involucrado en casos de anemias hipoplásicas. En los últimos años se lo ha vinculado con 60 casos de anemia aplástica Nort Carolina. El lindano ha sido usado ampliamente como componente de champú para combatir la pediculosis. Se ha documentado casos de temblores en niños que habían usado el champó en forma repetida por más de una semana. Los síntomas desaparecieron rápidamente cuando el tratamiento finalizó.

Otros plaguicidas organoclorados que afectan directamente al sistema reproductor femenino son el clordecone, metoxiclor y mirex. Muchos de esos plaguicidas también alteran el sistema reproductor masculino. Estudios realizados en animales de laboratorio han demostrado que el clordecone induce feminización en rata y en hámster. Por otro lado, la exposición a niveles altos de clordecone produce oligospermia y reducción en el número de espermatozoides.

Mecanismo de acción

Pese a las diferencias estructurales entre las distintas familias químicas de OCL, parecen tener un mecanismo fisiopatológico común (hiperexcitación de la membrana celular, particularmente la neuronal). Si bien se sabe que actúan sobre el Sistema Nervioso Central (SNC), su mecanismo de acción permanece desconocido. Se admite que la gran liposolubilidad de los OCL favorece su tropismo hacia el Sistema nervioso (SN), alterando la estructura mielínica (dispersión de micelas y formación de vacuolas), lo que transforma la conducción del impulso nervioso. Los OCL en general, alteran la cinética de los iones Na^+ , K^+ y Ca^{+2} a través de la membrana del axón de la célula nerviosa, causándole descargas en el nervio, produciendo en el insecto temblores, parálisis, paro respiratorio y muerte.

Los insecticidas clorados del tipo ciclodienos, benceno y ciclohexano son diferentes del DDT en algunos aspectos en la intoxicación individual y posiblemente también en el mecanismo de acción que parece estar localizado predominantemente en el SNC más que en la parte sensorial del sistema nervioso periférico (SNP).

Existen varios mecanismos de acción propuestos para estos plaguicidas y es probable que actúan de forma simultánea. Los OCL inhiben a la enzima Mg^{+2} -ATPasa asociada a la fosforilación oxidativa y al mantenimiento de la concentración de Ca^{+2} intracelular. Ademas inhiben a la Na-K-ATPasa, asociada al transporte de Na^+ y K^+ a través de la membrana, que es la encargada de restaurar el potencial de membrana a lo largo del axón después de la transducción de una señal. Los OCL retrasan el cierre de dos canales de Na^+ interfiriendo la transmision a través del axón durante la repolarización. Ademas bloquean el canal del K^+ disminuyendo el transporte potasio a través de la membrane produciendo la llamada "corriente de cola".

El DDT también inhibe los procesos dependientes de Ca^{+2} -calmodulina, esenciales para la liberación de neurotransmisores.

Los ciclodíénicos inhiben la actividad de la enzima $\text{Ca}^{+2}\text{-Mg}^{+2}$ -ATPasa y conduce un aumento de calcio en la terminal neuronal, que promueve la liberación inducida por calcio de los neurotransmisores almacenados en vesículas y la propagación del estímulo por las neuronas vecinas. Se ha propuesto tres tipos de intoxicaciones por OCL.

Tipo I: Intoxicación convulsiva aguda por absorción masiva, producida por el endrín.

Tipo II: Intoxicación acumulativa por reiteración de pequeñas dosis producida por aldrín o dieldrín.

Se expresa por cefalea, mareo, somnolencia, irritabilidad, náuseas, vómitos, anorexia que puede progresar a medida que el toxicógeno ingresa al sistema nervioso y presentar contracciones musculares, espasmos y convulsiones. Aumenta la respuesta a estímulos, inquietud motora, temblores, fasciculaciones, agitación e incoordinación que progresa a convulsiones tónico-clónicas con posterior coma y muerte por paro respiratorio. Los ciclodienos son absorbidos de forma eficiente por la piel y por ello representan un peligro apreciable para los individuos expuestos de forma ocupacional.

Tipo III: Combinación de los dos tipos de intoxicación anteriores. Son intoxicaciones próximas al tipo II pero asintomáticas, que pasan al estado convulsivo tras una exposición que eleve significativamente las concentraciones hemáticas.

La exposición de animales y del hombre a dosis altas de DDT produce parestesia en la lengua, labios y cara, aprensión, hipersensibilidad a estímulos externos, irritabilidad, mareos, vértigos, tremor y convulsiones tónico-clónicas. Los síntomas aparecen entre las 6 y las 24 horas de la exposición.

La exposición al lindano produce tremor, ataxia, convulsiones, respiración estimulada y posturación. Los síntomas pueden agravarse los disolventes empleados como vehículo del plaguicida que suelen ser hidrocarburos que son depresores del S.N.C., irritantes gastrointestinales y pulmonares y agentes de la neumonía lípidica por aspiración. Puede observarse variaciones en los síntomas según sea la vía de absorción: alteraciones gastrointestinales, tos, edema pulmonar y dermatitis. El lindano ha sido clasificado como carcinógeno del grupo II de la IARC mostrando evidencias suficientes de linfoma no Hodgkin en humanos.

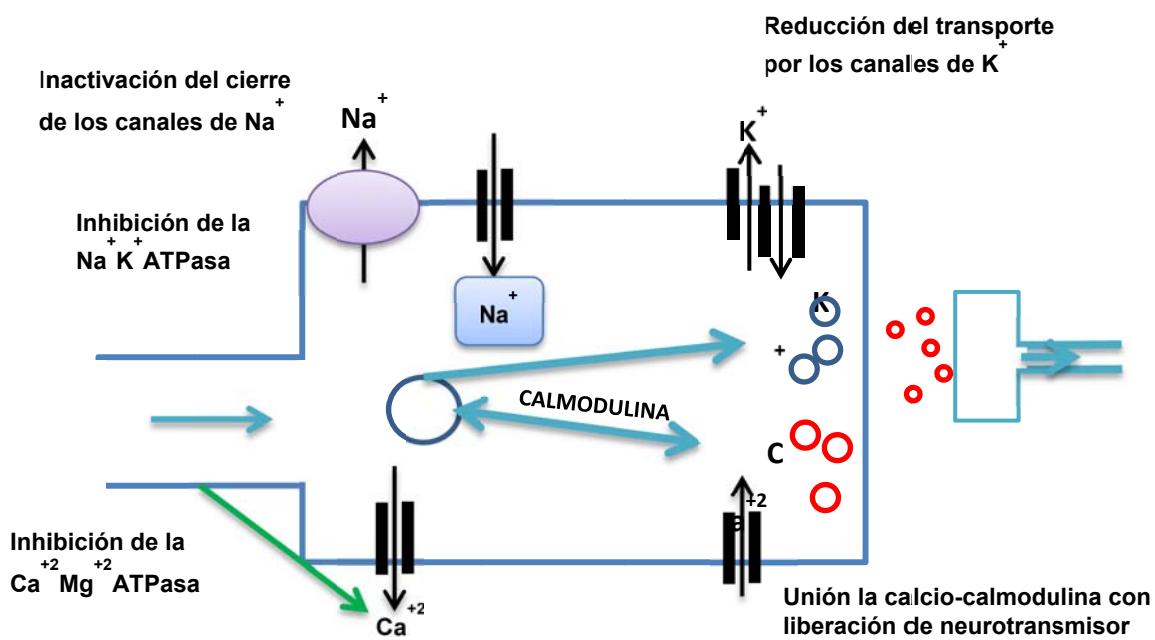


Figura 2: Sitios de acción del DDT sobre la neurona

Se han detectado efectos carcinogénicos con diversos OCL, en animales, en especial neoplasias sin metástasis, en hígado (hepatomas y hepatosarcomas) y tiroides. Presentan mayor riesgo los compuestos que forman epóxidos como ser el aldrin o heptacloro. También se han visto anormalidades cromosómicas.

El insecticida DDT fue clasificado como probable carcinógeno para los humanos, (2 A) basándose en las suficientes pruebas existentes de que el DDT causa cáncer en animales de experimentación y en pruebas limitadas de carcinogenicidad en humanos. Los estudios epidemiológicos encontraron asociaciones positivas entre la exposición al DDT y el Linfoma no Hodgkin, el cáncer testicular y cáncer de hígado. También hubo una fuerte evidencia experimental de que el DDT puede suprimir el sistema inmune y afectar a las hormonas sexuales.

Se ha descripto que un gran número de pesticidas OCL pueden presentar efectos estrogénicos. El o-p`DDE que puede encontrarse en niveles del 15% en el producto DDT de grado técnico, presenta propiedades estrogénicas, ya que puede actuar como un agonista en los receptores de estrógenos (ER) α y β . Un metabolito del DDT (p, p`-DDE) por el contrario, inhibe la unión a andrógenos a receptor de andrógenos. Metabolitos del análogo de DDT, metoxicloro, son activos como agonistas ER α , ER β antagonistas y son antiandrogénicos. La clordecona también presenta efectos estrogénicos.

Se denomina disruptor endocrino o hormonal a cualquier xenobiotico que interfiere con la síntesis, secreción, transporte, unión, acción o eliminación de hormonas naturales en el cuerpo, que son responsables del mantenimiento de la homeostasis, reproducción, desarrollo y comportamiento.

Otros OCL con actividad estrogénica débil son dieldrina, endosulfán, toxafeno, lindano y el isómero β del hexaclorociclohexano (β BHC). En todos los casos, la potencia de los insecticidas o sus metabolitos fueron varios órdenes de magnitud menores que los de las hormonas. Los estudios experimentales han demostrado que la administración de estos compuestos a los animales puede causar efectos adversos para la salud mediada por acción hormonal. Por ejemplo, p, p`-DDE presenta una clara actividad antiandrogénica cuando se administra a ratas macho fetales, puberales y adultas. Varios estudios han demostrado que el metoxicloro afecta el sistema reproductivo masculino.

La exposición al metoxicloro durante la gestación induce efectos transgeneracionales en la capacidad espermatozoidal y la viabilidad de los espermatozoides, es decir, estas anormalidades también se observaron en animales de generación F2. Todos estos hallazgos, fueron realizados con dosis que superan a las de exposición ambiental al emplearse buenas prácticas de agricultura. Se ha sugerido que los equivalentes de estrógeno de los fitoestrógenos presentes en alimentos y bebidas son varios órdenes de magnitud más alta que los equivalentes de estrógenos resultantes de estrogénicos contaminantes de insecticidas organoclorados en los alimentos. La posibilidad de que estos productos químicos, así como varios otros disruptores endocrinos, pueden contribuir a cánceres mediados por hormonas, así como efectos reproductivos y anormalidades del desarrollo, no debe ser subestimada.

Tratamiento del intoxicado por OCL

El tratamiento es sintomático y dirigido a controlar las convulsiones y mantener el oxígeno tisular. Las convulsiones pueden tratarse con diazepam, acompañado por fenobarbital no solo con este objetivo y el de mejorar el estado subjetivo sino también para activar el metabolismo de los OCL por inducción enzimática previniendo el riesgo por paro respiratorio debido a éstos compuestos.

Persistencia en ambiente y tejidos

Entre las principales propiedades físico química de los OCL destacamos la baja volatilidad, la estabilidad química, la solubilidad en lípidos, la lenta velocidad de biotransformación y degradación que conduce a su alta persistencia en el ambiente y se facilite su bioconcentración y biomagnificación en las cadenas alimentarias debido a la adquisición de cargas corporales biológicamente activas en niveles tróficos superiores.

La mayoría de los otros insecticidas organoclorados fueron prohibidos en diversos países en gran medida sobre la base de consideraciones ecológicas.

Su uso extensivo y su persistencia ambiental los convirtió en contaminantes generalizados.

La Tabla 6 presenta la tendencia acumularse en la cadena trófica.

Tabla 6: Concentración de DDT in el lago Michigan en la cadena trofica

	DDT (ppm)
Agua	0,000002
Plancton	0.014
Camarón	0.410
Salmón Coho, trucha de lago	3–6
Gaviota	99

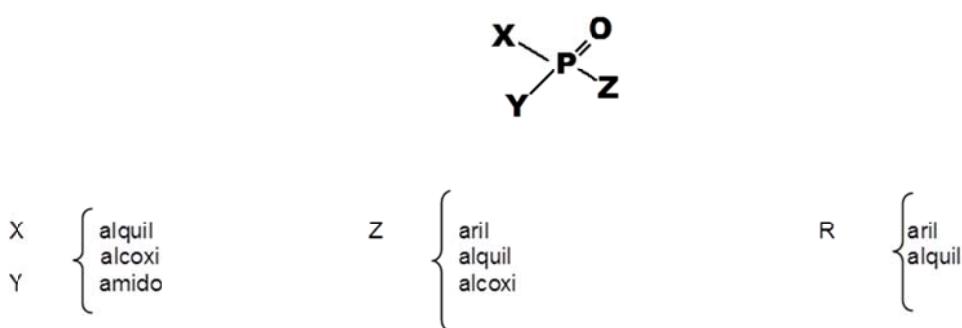
Efectos adversos en la reproducción de aves (por ejemplo, adelgazamiento en la cáscara de huevos) fueron los primeros efectos ecológicos identificados y denunciados y permitió la prohibición del DDT.

Debido a su estabilidad y alta lipofilia, los OCL están presentes en los tejidos adiposos de la mayoría de las personas. Por ejemplo, DDE, el producto de degradación del DDT en el medio ambiente y el resultado de su biotransformación, es un compuesto extremadamente estable (vida media = 7-11 años), que se acumula en la grasa y generalmente se encuentra en tejido humano en altas concentraciones. Estudios en poblaciones de diferentes países en la década de 1960 mostró que el tejido adiposo las muestras contenían DDT en concentraciones que oscilaban entre 5-20 mg/kg de DDE representando alrededor del 60% del total de DDT. Aunque las concentraciones de DDT en humanos muestran una tendencia decreciente, la concentración de DDE, que se ingiere con alimentos, particularmente la carne y pescado, permanecen más constantes o disminuyen solo ligeramente. Los insecticidas organoclorados también se excretan en la leche.

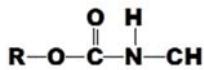
Insecticidas anticolinesterásicos

Estos agentes comprenden un grupo de compuestos que presentan un mecanismo de acción común, pero comprenden dos diferentes clases de compuestos químicos: ésteres del ácido fosfórico o fosforotioico y los ésteres del ácido carbámico. Estos compuestos comparten un mecanismo común, son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina. Este efecto inhibidor ocurre tanto *in vivo* como *in vitro*.

Esteres organofosforados



Esteres carbamatos



Esteres organofosforados y carbamatos

Los insecticidas ésteres organofosforados (OP) constituyen un grupo muy importante de sustancias empleadas en la producción agrícola y en el uso doméstico. En la actualidad constituyen los insecticidas que mayor número de intoxicaciones han generado. Debido a su elevada toxicidad para el hombre han sido utilizados como armas químicas tal es el caso del sarin y del tambun.

Las moléculas de los OP poseen un grupo activo responsable de la inhibición de las colinesterasas unido a radicales alquilo o arilo que actúan como vehículo del anterior. La sustitución de uno de los radicales oxígeno del átomo de fósforo, por un átomo de flúor que potenciam la acción anticolinesterasa y dificulta la regeneración de las enzimas envenenadas. La mayor parte de los compuestos OP, son solubles en disolventes orgánicos, y parcialmente solubles en agua. Se degradan fácilmente por oxidación, fotólisis y en ambiente húmedo. Puesto que su degradación es relativamente rápida, y por sus características de solubilidad no favorecen su distribución prioritaria en los tejidos grasos, no experimentan fenómenos de bioacumulación significativos en la cadena alimentaria. Muchos de ellos como el diclorvós dimetil 2,2-diclorovinilfosfato son extremadamente volátiles, lo que encuentran interesantes aplicaciones en su uso como plaguicidas, pero debe considerarse, también, los efectos de su toxicidad.

Durante las últimas décadas se han desarrollado nuevos insecticidas organofosforados, derivados del ácido fosfórico y del ácido fosforotioico para el uso en la agricultura. La sustitución del grupo tio (=S) por un grupo oxo (=O) incrementa la acción tóxica. Así, el paraoxón es más tóxico que el paratión, aún cuando ambos inhiben la colinesterasa y producen síntomas similares de intoxicación colinérgica.

Signos y síntomas de intoxicación

El mecanismo por el cual los insecticidas organofosforados y los carbamatos manifiestan su toxicidad es idéntico y está asociada con la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE) en el tejido nervioso, la enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina. Como consecuencia de ésta inhibición se acumula acetilcolina en el sitio receptor. La intoxicación aguda se manifiesta como síndrome colinérgico.

Los signos de la intoxicación aguda corresponden a los resultantes de una estimulación de los receptores muscarinos del sistema nervioso autónomo parasimpático que incluye aumento de secreción, broncoconstricción, miosis, diarrea, síndromes gastrointestinales y bradicardia. A nivel ganglionar la estimulación y el subsecuente bloqueo de los receptores nicotínicos en el sistema nervioso autónomo simpático y parasimpático en la unión neuromuscular incluyen síntomas como taquicardia, hipertensión, temblores, debilidad muscular y/o parálisis flácida. Los efectos resultantes sobre el sistema nervioso central incluyen ansiedad, ataxia, variaciones emocionales, letargia, confusión mental y convulsiones así como arritmias cardíacas con bradicardias, cianosis y coma. El diagnóstico de la intoxicación por organofosforados se confirma mediante la determinación de la actividad de las colinesterasas, disminuidas entre un 20 a 50%. En la mayor parte de los casos, el cuadro clínico es llamativo durante los primeros 4-6 días de evolución y a partir de las 2-3 semanas el paciente mejora.

Los signos y síntomas de una intoxicación aguda **por insecticidas carbámicos** son similares a los descriptos para los OF diferiendo solo en la duración y en la intensidad de la toxicidad. La principal razón para la relativa acción corta y la menor severidad en los síntomas es que los carbamatos se unen en forma reversible a la AChE en el tejido nervioso y además resultan ser rápidamente biotransformados in vivo.

Un segundo tipo de manifestación que ocurre luego de una exposición a OF es **el llamado síndrome intermedio**. El mismo se diferencia del anterior en que se desarrolla entre las 24 y 96 hs después de la absorción, cuando el paciente se ha recuperado de la fase predominante colinérgica pero mucho antes de la neuropatía retardada. Este síndrome, cursa con una parálisis muscular, que afecta principalmente a los músculos respiratorios, del cuello, y proximales de los miembros. Este síndrome no responde al tratamiento de atropina u oximas y generalmente desaparece espontáneamente en los días siguientes, pudiendo prolongarse su evolución hasta 21 días. Este cuadro es relativamente severo y es producido por algunos OP como el dimetoato, fentión, metamidofós y monocrotofós.

Tabla 7: Estructura química, DL50 vía oral y dérmica para insecticidas organofosforados

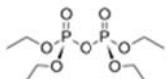
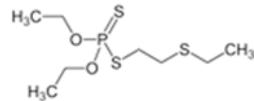
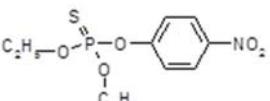
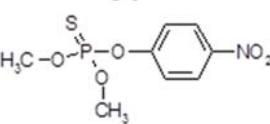
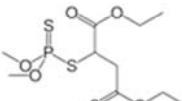
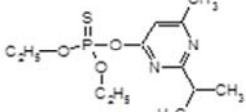
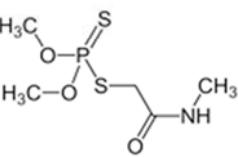
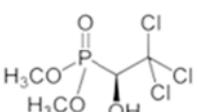
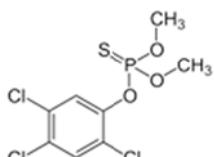
Compuesto	Estructura	DL50 ratas(mg/Kg)	
		oral	dérmica
TEPP		1.1	2.4
Disulfotón		6.8	15
Paratión		13	21
Metilparatión		14	67
Malation		1375	>4000
Diazinón		108	200
Dimetoato		215	260
Triclorfón		630	>2000
Ronnel		1250	>5000

Tabla 8: Signos y síntomas de intoxicación aguda con compuestos anticolinesterásicos

Sitio y receptor (M muscarínico), N (nicotínico)	Manifestaciones
Glándulas exocrinas (M)	Aumento de la salivación, lagrimo, sudoración
Ojos (M) Tracto gastrointestinal (M)	Miosis, visión borrosa Calambres abdominales, vómitos, diarrea
Tracto respiratorio (M)	Aumento de la secreción bronquial, broncoconstricción
Vejiga (M)	Frecuencia urinaria, incontinencia
Sistema cardiovascular (M) Músculos esqueléticos (N)	Taquicardia, hipertensión transitoria Fasciculaciones musculares, espasmos musculares, calambres, debilidad generalizada, parálisis flácida
Sistema nervioso central (M, N)	Mareos, letargo, fatiga, dolor de cabeza, confusión, depresión de los centros respiratorios, convulsiones, coma

Existe poca evidencia de neurotoxicidad demorada luego de una exposición humana a insecticidas **ésteres carbamatos**. Sin embargo, debe analizarse con cuidado dado que se ha registrado casos de polineuropatía crónica que incluyen signos de fotofobia, suave y persistente parestesia, pérdida de memoria, dolor muscular y fatiga. Los ésteres carbámicos no inhiben la NTE o inducen la neurotoxicidad retardada. Hay suficientes evidencias para indicar que los carbamatos pueden iniciar cambios neurológicos en el comportamiento a las dosis en que no hay efectos clínicos. Sin embargo, los problemas neurológicos parecen involucrar exposiciones agudas o exposiciones repetidas a estos compuestos en altas dosis.

El primer pesticida carbámico fue sintetizado en 1930 y fue vendido como fungicida. Este éster alifático posee poca actividad insecticida su interés aumentó en 1950 por su reducida toxicidad en los mamíferos por la síntesis de varios potentes aril carbamatos sintetizados como análogos de la fisostigmina. En los N-alquilcarbamatos (Alq-NH-COO-OAr), los radicales alquílicos son mono o dimetil, presentan una acción fundamentalmente insecticida, mientras que los N-arylcarbamatos (Ar-NH-COOAlq) suelen ser herbicidas. Del ácido tiocarbámico se han preparados derivados orgánicos e inorgánicos de amplia aplicación como fungicidas. Como ésteres orgánicos, los carbamatos sufren fácilmente hidrólisis alcalina y, en menor grado, ácida. Sobre animales superiores y el hombre, el efecto principal deriva de su acción anticolinesterasa que es menos intensa y más reversible que la de los OF. La toxicidad aguda queda manifestada por su alta dosis letal media (DL50 superior a 5g/Kg) (Tabla 9).

Tratamiento

La atropina antagoniza los efectos muscarínicos de la acetilcolina, pero no tiene acción marcada sobre los nicotínicos. La afección muscular no es antagonizada por la atropina, por el contrario, la bradicardia, hipersecreción bronquial y broncoconstricción con disnea, miosis, náuseas, dolores, colicos mejoran rápidamente con el tratamiento.

Las oxima ($R-CH=NOH$) son agentes nucleofílicos capaces de generar las acetilcolisterasas. Entre ellos resulta útiles en el tratamiento del intoxicado con OF es 2-PAM o pralidoxina. El proceso de regeneración consiste en la posición de la oxima mediante su nitrógeno cuaternario en el centro aniónico interaccionando con el átomo de fósforo sobre el que ejerce su ataque nucleofílico. A continuación, la enzima se desfosforila fosforilando a la oxima regenerando la enzima. La oxima fosforilada es un complejo hidrosoluble que se elimina rápidamente por orina.

Tabla 9: Estructura química y DL50 vía oral y dérmica para insecticidas carbámicos

Compuesto	Estructura	DL50 ratas(mg/Kg) Oral dérmica	
Baygon (Propoxur)		83	>2400
Carbaryl		850	>4000
Mobam		150	>2000
Temik (Aldicarb)		0.8	3.0
Zectran		37	1500-2500

Los organofosforados que se hidrolizan en el organismo para dar fosfatos de alquilo y fenoles, con frecuencia pueden detectarse en la orina durante la absorción del pesticida y hasta 48 horas después. En ocasiones, estos análisis resultan útiles para identificar con certeza el pesticida al cual han estado expuestos. Los análisis de fosfatos de alquilo y fenoles en la orina pueden demostrar la absorción de organofosfatos en dosificaciones menores a las requeridas para disminuir las actividades de la colinesterasa y mucho más bajas que las necesarias para causar

señales y síntomas. Sin embargo, su presencia podría simplemente ser el resultado de organofosfatos en la cadena alimenticia.

La degradación del fosforado ocurre principalmente por hidrólisis hepática variando el grado de hidrólisis de un compuesto a otro. En el caso de ciertos organofosfatos cuya degradación es relativamente lenta, puede ocurrir un almacenamiento temporal significativo en el tejido graso. Compuestos como el diazinón y el metilparatión poseen una solubilidad significativa en lípidos, lo cual permite el almacenamiento en tejidos grasos con una toxicidad retrasada debido a la liberación tardía. Este efecto tardío puede ocurrir atípicamente con otros organofosfatos, específicamente con la diclorofentiona y con la metildemetona. Muchos organofosfatos se convierten con facilidad de tiones ($P=S$) a oxones ($P=O$). La conversión ocurre en el ambiente bajo la influencia del oxígeno, la luz, y en el cuerpo, principalmente por la acción de los microsomas hepáticos. Los oxones son mucho más tóxicos que los tiones, pero se inactivan con más facilidad que éstos. Por último, tanto los tiones como los oxones se hidrolizan en la unión éster para producir fosfatos de alquilo y grupos salientes, los cuales son de relativa baja toxicidad. Estos se excretan o sufren una transformación posterior antes de que el cuerpo los elimine.

La naturaleza del sustituyente X, Y y Z juega un rol importante en la especificidad por la enzima, la fuerza de la unión al sitio activo y la velocidad con el cual la enzima fosforilada se disocia y produce la enzima libre. Algunos ésters OP (acetato, temephos, diclorvos, triclorfon) se unen con menor fuerza a la AChE, siendo la enzima fosforilada fácilmente y espontáneamente disociada.

En contraste, los ésteres carbámicos, atacan el sitio activo de la enzima AChE en dos pasos: en el primer paso se remueve el sustituyente X (grupo aril o alquil) con la formación con la enzima carbamilada, el segundo paso es la decarbamilación de la enzima inhibida con la generación de la enzima libre. Los ésteres carbámicos son solo sustratos débiles de enzimas tipo colinesterasa. Un número de OP (ésters de fosfatos, fosfonato y fosforamidatos) (Figura 3) así como los gases de guerra sarin, soman y tabun y otros pocos compuestos tales como nipafox y leptophos tienen la capacidad de unirse fuertemente al sitio activo de las enzimas AChE y NTE para producir una unión irreversible conocida como envejecimiento de la enzima.

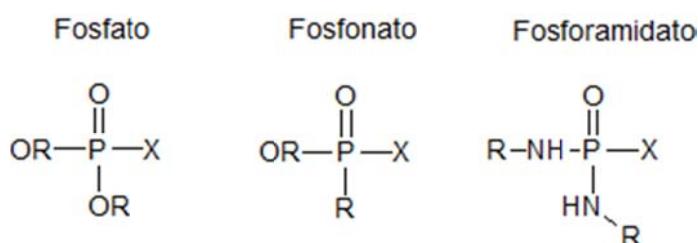


Figura 3: Estructuras básicas de OP que causan neurotoxicidad retardada.

El proceso de envejecimiento depende de la configuración del grupo sustituyente alquil (R). La potencia del éster aumenta en el orden dietil, dipropil, y dibutil. Se acepta que este proceso es debido a la dealquilación del intermediario enzimático dialquilfosforilado por uno de los pos-

bles mecanismos (Fig.5). El primero involucra la hidrólisis de la unión P-O seguido de un ataque nucleofílico sobre el átomo de fósforo. El segundo mecanismo involucra la hidrólisis de la unión O-C por una catálisis ácida resultando en la formación de un ión carbonio como grupo liberado. El proceso de envejecimiento permite fijar un cambio extra en la enzima causando una perturbación en el sitio activo y de ésta manera previene la desfosforilación. Johnson, 1982 propuso que en el caso de NTE, si uno o los dos de la unión P-R era P-O-C (como en el caso de los fosfatos y fosfonatos) el envejecimiento ocurre rápidamente, mientras que si la unión P-R era P-C (como en el caso de fosfinatos) el envejecimiento puede no ocurrir.

Biotransformación

Tanto los ésteres insecticidas OP como los carbámicos son sujetos a una extensa biotransformación por las diversas formas de vida, siendo el metabolismo específico y dependiente de los sustituyentes químicos que presentan las estructuras de los ésteres. Las enzimas involucradas en las reacciones se encuentran distribuidas en plantas y especies invertebradas y vertebradas y son en última instancia las responsables de algunos aspectos referidos a la sensibilidad o la resistencia natural o adquirida que pueden presentar las especies hacia algunos insecticidas. Entre las reacciones que pueden llevarse a cabo sobre los OF encontramos las de oxidación desulfuración que produce como resultado un compuesto más tóxico que el original. Otros mecanismos descriptos son las reacciones oxidativas de alquilación y dearilación. Otras reacciones descriptas utilizan glutation transferasa, carboxilestearasas, arilestearasas, fosforol-fosfatases, fosforilosfatasa y carboxiamidasas.

Tratamiento

La atropina antagoniza los efectos muscarínicos de la acetilcolina, pero no tiene acción marcada sobre los nicotínicos. La afección muscular no es antagonizada por la atropina, por el contrario, la bradicardia, hipersecreción bronquial y broncoconstricción con disnea, miosis, náuseas, dolores, cólicos mejoran rápidamente con el tratamiento.

Las oximas ($R-CH=NOH$) son agentes nucleofílicos capaces de generar las acetilcolisterasas. Entre ellos resulta útil en el tratamiento del intoxicado con OF es 2-PAM o pralidoxina. El proceso de regeneración consiste en la posición de la oxima mediante su nitrógeno cuaternario en el centro aniónico interaccionando con el átomo de fósforo sobre el que ejerce su ataque nucleofílico. A continuación, la enzima se desfosforila fosforilando a la oxima regenerando la enzima. La oxima fosforilada es un complejo hidrosoluble que se elimina rápidamente por orina. La reacción entre el 2-PAM con la enzima fosforilada se muestra en la Fig 4. El éxito del tratamiento depende con la rapidez con que se administra el fármaco luego de la intoxicación. Si el complejo enzima-plaguicida envejece, la oxima no puede liberar a la enzima. El 2-PAM no es un efectivo antídoto en la intoxicación con carbamatos debido a que no interactúa la AChE carbamilada de la misma forma que con la AChE fosforilada. Es importante notar que el tratamiento contra insecticidas anticolinesterásicos no protegen contra la neurotoxicidad retardada.

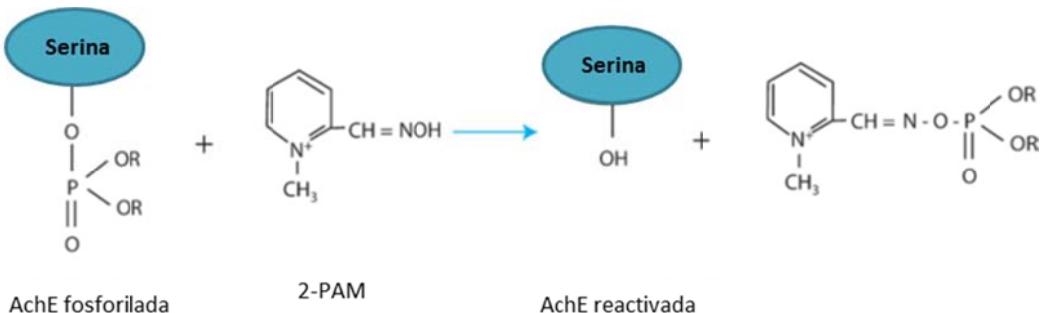


Figura 4: Esquema de la reacción del 2-PAM con la enzima fosforilada.

Indicadores bioquímicos

La más importante determinación bioquímica que caracteriza la intoxicación con pesticidas OP es la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE). Esta enzima se encuentra en la sinapsis neuronal y también en los glóbulos rojos. Por otra parte, la enzima butiril colinesterasa (BuChE), también conocida como pseudo-colinesterasa, se encuentra en el plasma. Las funciones fisiológicas de esta enzima aún no se conocen. Sin embargo, debido a que las actividades de ambas enzimas se inhiben al exponerse a OP, su medición se usa ampliamente como una indicación de exposición y/o efecto biológico de OP. La especificidad y la utilidad de las mediciones de AChE en globulos rojos y de la BuChE en plasma en caso de exposición OP se han debatido durante algún tiempo. Los principales problemas se pueden resumir de la siguiente manera: (1) Diferentes OP pueden inhibir AChE o BuChE en un grado diferente. Por ejemplo, los análogos malathion, diazinon y clorpirifos y diclorvos, son inhibidores más potentes de BuChE plasmática que de la AChE en globulos rojos. (2) Existe un alto grado de variabilidad de la actividad enzimática (particularmente de BuChE) entre los individuos, en parte debido a las diferencias genéticas. Esto requiere de establecer un valor de referencia para cada individuo, o en caso de no estar disponible, de mediciones repetidas posteriores a la exposición para determinar posibles cambios hacia los valores de referencia. (3) La actividad de AChE en globulos rojos se correlaciona mejor con el tejido objetivo (por ejemplo, cerebro, diafragma) que la actividad BuChE del plasma, tal como lo indican los estudios en animales. También existe una buena correlación entre la gravedad de los signos y síntomas de intoxicación y el grado de inhibición de AChE en globulos rojos, (4) Ninguna medición es específica para un OP específico, y de hecho, otros insecticidas, como los carbamatos inhiben ambas colinesterasas (AChE y BuChE). (5) Una disminución del 30% o más del BuChE del plasma plantea una señal de alerta, y requiere vigilancia de salud y la eliminación del trabajador de la exposición; sin embargo, la importancia toxicológica de tal disminución todavía está muy debatido.

A pesar de ello, las mediciones de BuChE plasmática y particularmente de AChE en globulos rojos siguen siendo una forma muy válida de determinar la exposición a OP y los primeros efectos biológicos de la exposición OP, que se utilizarán como confirmación del diagnóstico de envenenamiento por OP, o para monitorear exposiciones ocupacionales a trabajadores. Existen varios métodos para medir la actividad de estas dos enzimas. También se puede medir la

AChE en sangre total, considerando que solo alrededor del 10% de la actividad se debe a la enzima plasmática.

Varios métodos analíticos están disponibles para medir OPs y sus metabolitos en fluidos corporales; el compuesto original se mide en sangre, mientras que los metabolitos se miden en la orina. Estas mediciones rara vez se llevan a cabo en el entorno clínico, pero se utilizan ampliamente en estudios epidemiológicos; de hecho, la determinación de los niveles de metabolitos en la orina es el método más práctico para estimar la exposición a los OP. Tales metabolitos incluyen derivados de alquilfosfato, así como residuos químicos (el "grupo saliente") específicos para cada compuesto. Los alquilfosfatos o alquil-(di)-tiofosfatos son el resultado del metabolismo de compuestos originales o sus análogos de oxígeno por CYP o por esterasas. No son específicos para un determinado OP, pero son útiles para evaluar la exposición a varios OP. Otros metabolitos son específicos para ciertos compuestos OP; por ejemplo, el p-nitrofenol en la orina es un indicador de la exposición al paratión o al metilparatión, mientras que el 3,5,6-tricloropiridinol es útil para evaluar la exposición al clorpirifos o al metilclorpirifos. Si bien las mediciones de los metabolitos urinarios de OP se han utilizado ampliamente para evaluar la exposición a OP a fuentes ocupacionales, ambientales y dietéticas, se debe tener precaución al interpretar los resultados, ya que los dialquilfosfonatos y también los grupos salientes se pueden encontrar en el ambiente, incluidos los alimentos y bebidas, como resultado de la degradación de OP.

Insecticidas piretroides

Una nueva clase de insecticidas ingresa al mercado en los años 1980. Son los piretroides sintéticos que presentan en 1982 el 30% de los insecticidas usados en el mundo. Estos insecticidas surgen de insecticidas naturales utilizados desde la antiguedad. Por extracción de las flores pulverizadas del Chrysanthemum cinerariifolium o pelitre se separa una oleoresina con 6 ingredientes activos que son ésteres de dos ácidos (crisantémico y pirético) y tres cetonas, piretolona, cinerolona y jazmolona derivados de la ciclopentanona, con pequeñas diferencias en la cadena lateral. Los ésteres de la piretolona y del ácido crisantémico son conocidos como piretrina I, y los ésteres de la piretolona y del ácido pirético se conocen como piretrinas II. Piretrina I es más activa mientras que piretrina II posee propiedades que le permiten ser usadas en el hogar, en veterinaria, contra insectos y para el almacenamiento post-cosecha. Los compuestos preparados por síntesis se conocen genericamente como pieretroides. Los primeros piretroides aletrina y ciclotrin aparecieron en el año 1949. Tienen menor acción insecticida y fotoestabilidad que los naturales. Posteriormente se desarrollaron nuevas moléculas con mayor fotoestabilidad y más eficaces como la cipermetrina, permeterina, deltametrina y el fanvalerato (Figura 5).

Las piretrinas naturales y las sintéticas derivados del ácido crisantémico son más activas como insecticidas de contacto que por ingestión, mientras que los más modernos agentes sin-

téticos muestran particular potencia cuando son ingeridos y resultan ser menos susceptibles a la biotransformación por insectos y mamíferos. Diferente estructura molecular le confiere selectividad hacia ciertas especies de insectos y en ciertos casos toxicidad a humanos. La toxicidad oral aguda es relativamente baja, ya que la DL50 en ratas es de 340 mg/Kg en las piretrinas I y 600 mg/Kg en las piretrinas II. Entre los piretroides permétrina, cipermetrina, deltametrina, fenproponato, fenvaleato la toxicidad es baja a excepción de fenproponato y deltametrina (DL50 oral 52 mg/Kg). La toxicidad baja se debe a que son objeto de rápida hidrólisis por estearasas y transformadas por hidroxilasas a derivados hidrosolubles.

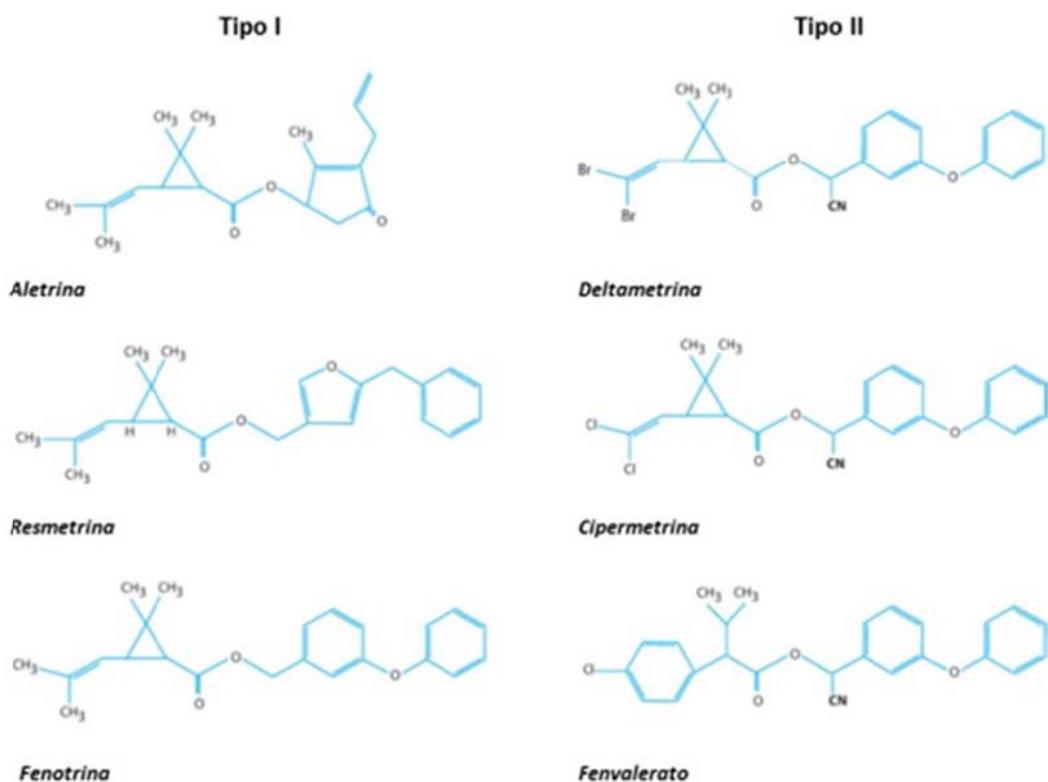


Figura 5: Estructuras básicas de los insecticidas ésteres piretroides

Signos y síntomas de la intoxicación

Estos insecticidas no pueden ser considerados altamente tóxicos a los mamíferos, y su empleo en los hogares en lugares poco ventilados puede traer aparejado signos y síntomas de toxicidad en humanos. La exposición a piretroides puede causar dermatitis por contacto y otros daños como ser erupciones severas de eritemas localizados. También se han descripto reacciones alérgicas como ataques tipo asma y reacciones anafilácticas con colapso vascular periférico. También se han descripto efectos tales como parestesia asociado con piretroides sintéticos en trabajadores que esparran ésteres conteniendo ciano sustituyentes. Los síntomas que se observan luego de una exposición ocupacional son vértigo, sensación de quemazón, prurito al ser absorbidos por piel. La ingestión de ésteres de piretroides causa

naúseas, vómitos, dolor de cabeza, anorexia, fatiga, parestesia, palpitaciones y disturbios mentales. Los signos y síntomas de intoxicación aguda parecen ser reversibles y no se han informado datos de toxicidad crónica.

Sitio y mecanismo de acción

La piretroides han sido investigados *in vivo* en axones de insectos y artrópodos. La investigación en mamíferos resulta compleja y no arroja resultados concluyentes. Los piretroides accionan en forma similar a los plaguicidas organoclorados. Afectan los canales de sodio en la membrana nerviosa causando repetidas descargas neuronales y un prolongado potencial post-sináptico negativo. Repetidas descargas ocurren en la región presináptica del SN y puede ser transmitida a la zona ganglioperiférica. Estos cambios no son acompañados por una gran despolarización de la membrana ya que no ocurre un bloqueo nervioso. Otros ésteres piretroides producen un mayor retardo en la inactivación produciendo una persistente despolarización de la membrana nerviosa sin repetidas descargas, una reducción en la amplitud en el potencial de acción, una eventual falla en la conducción y en el bloqueo del impulso nervioso. La acción despolarizante, puede tener un efecto dramático sobre el sistema sensorial y puede producir sensaciones de hormigueo y/o quemazón en la piel. Además, una suave despolarización de la membrana post-sináptica resulta en un incremento de la liberación del neurotransmisor produciendo serios disturbios en la transmisión sináptica. Otro sitio de acción ha sido descripto para varios ésteres piretroides (permetrina, cipermetrina, deltametrina) que inhiben el Ca^{+2} , Mg^{+2} -ATPasa, efecto por el cual puede resultar en un aumento en la liberación del neurotransmisor y despolarización post-sináptica. La permetrina y cipermetrina pueden inhibir la proteína calmodulina, responsable de la unión intracelular de los iones calcio para reducir espontáneamente la liberación del neurotransmisor. Hay una fuerte evidencia que ésteres piretroides se unen al receptor del complejo GABA - cloruro impidiendo el transporte del ión cloruro.

Biotransformación, distribución, almacenamiento y carcinogenicidad

Las evidencias sugieren que los piretroides presentan reducido efecto crónico ya sea en humanos o mamíferos. Los estudios de toxicidad crónica en animales sugieren poca acumulación en los tejidos así como buena eficiencia en los procesos de detoxificación. Estudios realizados en varias especies animales indican que los ésteres piretroides pueden ser susceptibles al ataque de enzimas hidrolíticas, posiblemente por carboxiestearasas no específicas asociadas con la fracción no microsomal en homogenatos de tejidos. La diferencia en la susceptibilidad de las diferentes especies a los ésteres piretroides puede ser altamente dependiente de la naturaleza de las estearasas, el nivel de actividad detectado, de la especificidad del sustrato y la velocidad de hidrólisis en las especies blanco y las no blanco.

Recientemente en el 2015 la Agencia sobre Investigaciones del Cáncer (IARC) ha clasificado a los insecticidas **diazinón y malatión** como "probablemente cancerígenos para los humanos" (2A). Los insecticidas **tetraclorvinfos y paratión** han sido designados como "posiblemente cancerígenos para el ser humano" debido a que existen "evidencias convincentes" de que esos

agentes causaron cáncer a animales de laboratorio (2 B). **El tetraclorvinfos** está prohibido en la Unión Europea, aunque en EEUU continúa usándose incluso en mascotas. El paratón está muy restringido desde los años 80.

El **insecticida malatió**n, por su parte, ingresó en el Grupo 2A por las "evidencias limitadas" de que produciría linfoma no-Hodgkin y cáncer de próstata en humanos, según estudios realizados en agricultores de Estados Unidos, Canadá y Suecia publicados desde 2001. **El diazinón** es "probablemente cancerígeno" al haber "evidencia limitada" de su relación con la aparición de linfoma no-Hodgkin y cáncer de pulmón en quienes se han visto expuestos a él, según estudios realizados en EEUU y Canadá. Además existe una "fuerte evidencia" que el diazinón induce daños sobre el ADN o sobre los cromosomas.

Se ha utilizado normalmente en agricultura y para el control de insectos caseros y de jardín, aunque su volumen de producción es relativamente bajo, especialmente después de las restricciones que entraron en vigor en 2006 en EEUU y la UE.

Herbicidas

Los herbicidas son sustancias capaces de matar o dañar severamente a plantas y pueden ser empleadas para matar plantas o partes de ellas. Han sido utilizadas ampliamente por más de una centuria sustancias tales como ácido sulfúrico, clorato de sodio, aceites de petróleo, sulfato de hierro, cobre, o borato de sodio que resultaron ser muy tóxicos y relativamente no específicos. Los herbicidas suelen resultar ser poco peligrosos para los mamíferos debido a las diferencias morfológicas entre las plantas y los vertebrados. Sin embargo una fuerte controversia se ha planteado con estas sustancias químicas donde se sospechado de mutagenicidad y/o carcinogenicidad asociado con éstas sustancias o con contaminantes y con productos de la elaboración encontrados en cantidades de trazas en herbicidas de grado técnico.

Debido a que la principal ruta de exposición a los herbicidas es la dérmica y como estas sustancias tienden a ser ácidos fuertes, aminas, ésteres y fenoles resultan ser irritantes de la piel, causando rashes y dermatitis por contacto aún en concentraciones diluidas. Asimismo, existen individuos que son hipersensibles al contacto dérmico con soluciones o aerosoles de herbicidas que han manifestado moderado a severos urticarias que puede persistir por 5 a 10 días. Ciertos individuos, particularmente los alérgicos mostraron severas dermatitis por contacto, ataques asmáticos y aún reacciones anafilácticas luego de un contacto dérmico o inhalatorio con formulaciones de herbicidas.

Entre los herbicidas, los fenoxiderivados resultan particular importancia por presentar características toxicológicas especiales. Dentro de este grupo se encuentran el 2,4-D ácido diclorofenoxiacético y el 2,4,5-T ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (Figura 6).

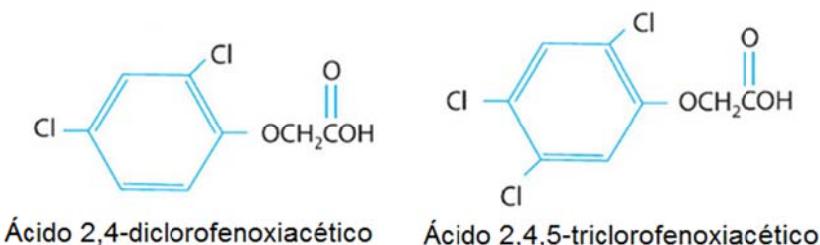


Figura 6: estructuras del 2,4D y 2,4,5T

Los fenoxideribados, llamados también herbicidas naturales por su similitud con las auxinas derivados del indolacético u hormonas del crecimiento vegetal que en pequeñas dosis estimulan el desarrollo de las plantas pero en altas dosis resultan ser tóxicas para las mismas. No son considerados muy tóxicos (DL50 oral en ratas 500 mg/Kg).

Se informaron casos de intoxicación accidental y/o ocupacional por estos herbicidas. Los pacientes mostraron dolor de cabeza, náuseas, diarreas, irritación en el tubo digestivo, piel y mucosas y trastorno muscular característico. Este trastorno es llamado miopatía primaria y se manifiesta con hipotonía, insuficiencia miocárdica, hipotensión, relajación de efínteres, movimientos pendulares en los ojos, parálisis y coma. Es reconocido que los trabajadores involucrados en la fabricación del 2,4,5-T presentaron un severo tipo de dermatitis por contacto llamado cloracné.

Un subproducto formado durante el proceso de síntesis del 2,4-T y del 2,4,5-T presente como impureza de la elaboración si la temperatura no resulta estar eficientemente controlada es el compuesto 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-paradioxina (dioxina TCDD) (Fig. 7). Esta dioxina ha sido encontrada ser extremadamente tóxica en un número de animales, carcinogénica, teratogénica así como ser una poderosa inductora enzimática. Niveles de dioxina en el orden de 30 a 50 µg han sido encontrados en los productos herbicidas 2,4,5-T y han mostrado efectos teratogénicos en ratones y anomalías renales en ratas. El conocido Agente naranja usado en forma extensa en Vietnam como agente desfoliente corresponde a una mezcla 50:50 de n-butil éster del 2,4D y 2,4,5-T conteniendo un máximo de 47 µg/g. Los estudios realizados en las poblaciones humanas expuestas como son los veteranos de Vietnam sugieren que el herbicida clorofenoxy contaminados con dioxina produce aumento de 5 veces en los sarcomas en tejidos blandos. Este compuesto presentó efecto espástico y mostró ser también teratogénico como se comprobó tras la guerra de Vietnam.

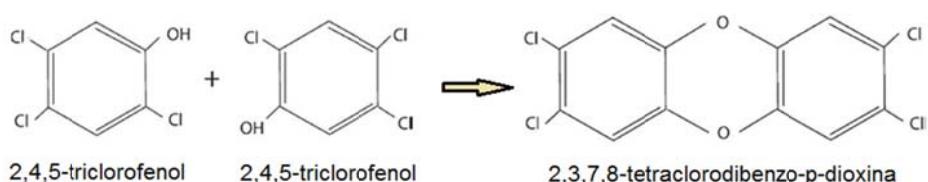


Figura 7: Formación de 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) en la síntesis de 2,4,5-T mostrando la reacción entre dos moléculas de 2,4,5-triclorofenol

Existen varios informes de casos que sugieren una asociación entre la exposición a 2,4-D y efectos neurológicos como la neuropatía periférica, desmielinización y degeneración ganglionar en el SNC, nervio reducido velocidad de conducción, mtonia y alteraciones del comportamiento.

La IARC ha clasificado al herbicida 2,4-D como ‘posible carcinógeno’ para los humanos (Grupo 2B), basado en evidencias insuficientes en seres humanos y en evidencia limitada en animales de experimentación. Los estudios epidemiológicos proporcionan una fuerte evidencia de que el 2,4-D induce estrés oxidativo, un mecanismo que puede operar en los seres humanos, y pruebas moderadas de que el 2,4-D provoca inmunosupresión, basados en estudios in vivo y in vitro. Sin embargo, los estudios epidemiológicos no encontraron un aumento importante o constante de riesgo de Linfoma No Hodking u otros tipos de cáncer en relación con la exposición del herbicida 2,4-D.

Otro grupo importante de compuestos químicos clasificados como herbicidas corresponden al grupo bipridilos específicamente paraquat (1,1'-dimetil 4-4'-bi-bipiridilum dicloruro, metil y el diquat (1,1'-etilen-2,2'-bipiridilum dibromuro) (Figura 8).

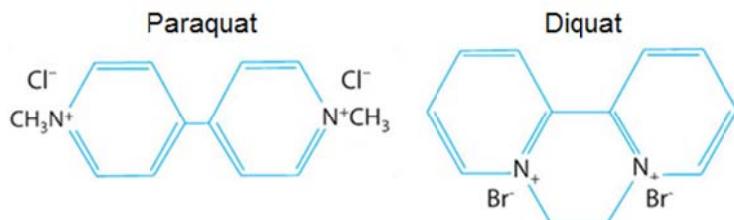


Figura 8: Estructuras químicas del paraquat y diquat

El paraquat es un herbicida de contacto no selectivo, es un tóxico pulmonar y ha sido ampliamente estudiado debido a la alarmante toxicidad observada en humanos.

El proceso fisiopatológico consiste en la formación de radicales libres que desencadenan la peroxidación de lípidos en la membrana y en las mitocondrias.

En animales, el paraquat muestra moderada toxicidad aguda, la DL50 en ratas es de 40 a 200 mg/Kg. Pese a ser un compuesto altamente polar y no resultar ser eficientemente absorbido por vía digestiva y por piel, se suelen producir lesiones en piel, uñas, irritación de la mucosa nasal, irritación de garganta, inflamación de córnea y conjutiva. Los casos más frecuentes de intoxicación aguda registrados fueron por ingestión. Luego de la absorción, la concentración de paraquat en pulmón aumenta progresivamente lo que indica que se acumula con el tiempo. También se observaron daños en riñón e hígado.

Los estudios realizados en ratas llevaron a considerar que el daño en el pulmón se realiza en dos fases. La primera, se destruyen las células epiteliales alveolares produciéndose una alveolitis asociado con edema de pulmón. La segunda fase ocurre como consecuencia de la anterior y consiste en una extensa fibrosis (proliferación de tejido fibroso) en el espacio interalveolar que destruye la arquitectura normal del alveolo reemplazandolo las células epiteliales alveolares por tejido fibroso que disminuye el intercambio gaseoso y lleva a la anoxia.

La acumulación del paraquat por el pulmón se realiza por un sistema que funciona acumulando compuestos endógenos con estructura de diamina por lo que el paraquat es captado y acumulado erroneamente por similitud química con las diaminas.

Se reconoce que el principal evento primario en el mecanismo de toxicidad del paraquat a nivel celular es su capacidad para aceptar un electrón y pasar de la forma catiónica a un radical libre que es estable en ausencia de oxígeno. Cuando el oxígeno está presente en el caso del pulmón el radical vuelve a la forma cationica con la concomitante formación de un anión superóxido (O_2^-). Se afirma que las especies reactivas del oxígeno interactúan con los lípidos de las membranas y se dispara el proceso de peroxidación de lípidos en las membranas que pueden causar a su vez disfunción celular y daño celular. Sin embargo, el mecanismo por el cual el ciclo redox que inicia el paraquat y produce daño en las células pulmonares no está completamente aclarado.

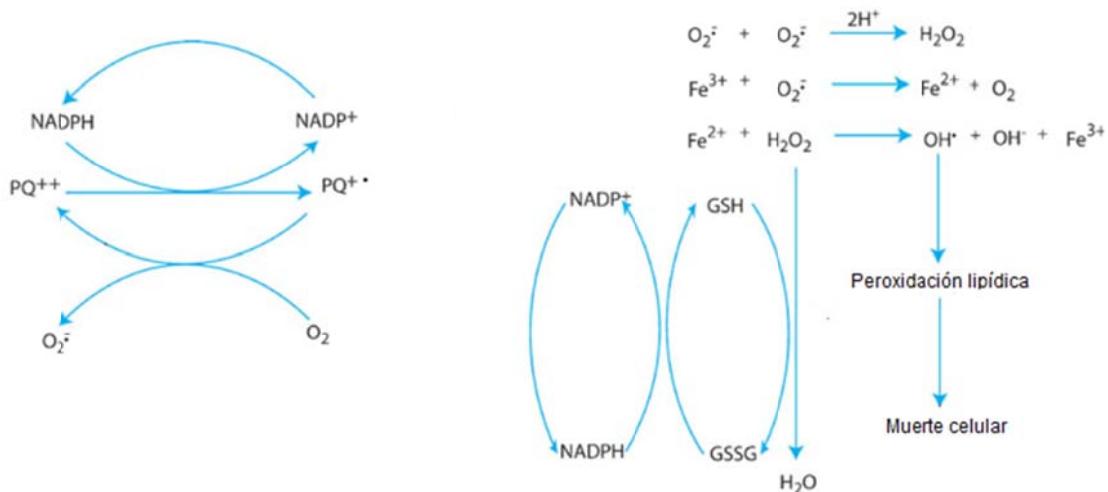


Figura 9: Mecanismo de toxicidad del paraquat

No se ha logrado ningún tratamiento realmente efectivo y puede reducirse las concentraciones de paraquat mediante hemoperfusión sobre resinas de intercambio, bentonitas o carbón activado. La administración de oxígeno al intoxicado agrava su estado, por favorecer el mecanismo de peroxidación.

El diquat es menos potente pero puede causar intoxicaciones agudas o crónicas severas siendo el órgano blanco el tracto gastrointestinal, el hígado y el riñón. La DL50 en animales es de 100 a 200 mg/Kg. Se considera que el diquat puede formar radicales libres y necrosis tisular asociado con el mismo mecanismo de peroxidación observado con el paraquat. Sin embargo, el diquat no presenta especial afinidad por el pulmón y no parece tener un mecanismo de concentración en el pulmón como lo hace el paraquat.

Fosfonometil aminoácidos

Los dos compuestos de esta clase son glifosato (N-fosfonometilglicina) y glufosinato (N-fosfonometil homoalanina).

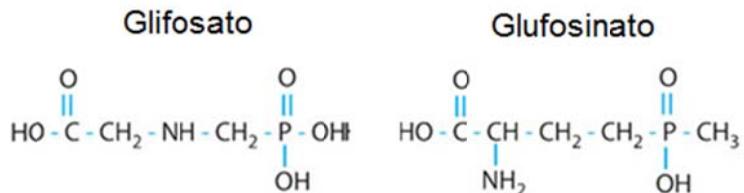


Figura 10. Estructuras de los fosfometil aminoácidos (glifosato y y glufosinato). Tener en cuenta que a pesar de tener un resto P = O como organofosforados, estos compuestos no son inhibidores de la acetilcolinesterasa.

Ambos son herbicidas sistémicos no selectivos de amplio espectro utilizados para el control postemergente de plantas anuales y perennes, y se comercializan principalmente como la sal de isopropilamina (glifosato) o la sal de amonio (glufosinato). Aunque ambos compuestos contienen un resto P = O no son organofosforados, sino organofosfonatos, y no inhiben AChE. El glifosato ejerce su acción herbicida mediante la inhibición de la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa, responsable para la síntesis de un intermediario en la biosíntesis de varios aminoácidos.

Aunque es importante en el crecimiento de las plantas, este metabolismo la ruta no está presente en los mamíferos. El perfil de toxicidad del glifosato de grado técnico no es notable. Las LD₅₀ orales y dérmicas son > 5000 mg / kg, y los estudios de toxicidad crónica muestran solo efectos inespecíficos, como la falta de aumento de peso.

El glifosato es uno de los herbicidas más ampliamente utilizados en todo el mundo y en nuestro país en el cultivo de transgénicos los cuales pueden tolerar el tratamiento con glifosato. Dado su uso generalizado, incluido el mercado doméstico y de jardinería, la exposición accidental o intencional al glifosato es inevitable. Por ejemplo, en el período 2001-2003, hubo más de 13,000 informes en el Sistema de Vigilancia de Exposición Tóxica de la Asociación Estadounidense de Control de Envenenamientos relacionados con la exposición al glifosato.

Numerosas especies de algas, invertebrados, peces, anfibios y reptiles de nuestra región serían sensibles a los niveles encontrados en los formulados comerciales con glifosato. Esta sensibilidad estaría demostrada en cambios en el desarrollo y la reproducción en las especies, las alteraciones en el metabolismo y en la genotoxicidad. Estos efectos tendrían la capacidad de provocar cambios en las estructuras tróficas de las comunidades, alterando los ciclos de la materia y el flujo de energía de los ecosistemas acuáticos continentales.

El glifosato ha sido recientemente clasificado como disruptor endocrino en bajas dosis.

Ademas de la acción del glifosato la atención se ha centrado en su formulación, que contiene surfactantes para ayudar a su penetración. El producto de glifosato más ampliamente usado es

Roundup® que está formulado como un concentrado que contiene agua, 41% de glifosato (como sal de isopropilamina) y 15% de polioxetilenoamina (POEA). Los estudios en animales sugieren que la toxicidad aguda de esta formulación de glifosato se debe al tensioactivo POEA (polioxetilamina), que tiene una DL oral en rata de 1200 mg/kg. La intoxicación leve produce principalmente síntomas gastrointestinales transitorios, mientras que la intoxicación moderada o grave se presenta con hemorragia gastrointestinal, hipotensión, disfunción pulmonar y daño renal.

El **herbicida glifosato** ha sido clasificado como "probablemente cancerígenos para los humanos" (2 A), indicando que hay "evidencia limitada en seres humanos" de producir linfoma no-Hodgkin, y hay pruebas "convincientes" de que puede causar cáncer en animales de laboratorio. La evidencia mecanicista (genotoxicidad y estrés oxidativo) proporcionó un soporte independiente de la clasificación 2A (probablemente carcinogénica para los humanos) basada en evidencia de carcinogenicidad en humanos y animales de experimentación.

El panel de IARC consideró cuatro estudios epidemiológicos como clave en las incidencias de leucemia no Hodgkin. La IARC también notó que el glifosato indujo una tendencia positiva para la incidencia de carcinoma de túbulo renal y hemangiosarcoma en ratones machos. El glifosato también aumentó el adenoma de las células de los islotes pancreáticos en ratas macho en dos estudios. Evidencia de carcinogenicidad en humanos fueron respaldados por un metaanálisis de exposición ocupacional a pesticidas agrícolas, que mostró una asociación positiva entre la exposición al glifosato y los subtipos de linfoma no Hodgkin.

De hecho, el glifosato también puede actuar como un promotor tumoral, debido al metabolismo potencial y sus efectos como disruptor endocrino. El cáncer puede surgir a partir de compuestos no genotóxicos y los tumores se observan frecuentemente después de la exposición a disruptores endocrinos que no son genotóxicos pero que puede tener efectos epigenéticos.

Referencia

Costa L Toxic effect of pesticides Cap. 22. En: Casarett and Doull's, Toxicology. The basic science of Poisons. 7th Ed. USA: Curtis D. Klaassen. 2008.

Basic Guide to Pesticides-Their Characteristics and Hazards-S. A, Briggs and the Staff of Rachel Carson Council-Taylor & Francis, 1992.

CAPÍTULO 8

Toxicidad presentada por medicamentos

Autor: Daniela Sedan, Guido Mastrantonio

Aportes de: Florencia Ortega y Ezequiel Ventosi

En el presente capítulo se describen los principios generales de la toxicología de las sustancias utilizadas con fines terapéuticos. En ellas vamos a encontrar una serie de singularidades respecto de los problemas toxicológicos, las que son necesarias de abordar en la práctica clínica y desde el laboratorio.

Inicialmente, para aprobar el uso de una sustancia con fines terapéuticos, se deben satisfacer dos condiciones independientes y complementarias: por un lado por supuesto se debe probar su **eficacia**, es decir, debe conocerse con cierta precisión cuales son los mecanismos de acción que justifican su actividad farmacológica y los parámetros asociados. La segunda condición es la comprobación de la **seguridad**, esto es la identificación y caracterización de posibles efectos no deseados (reacciones adversas a medicamentos, **RAM**) por la administración bajo condiciones terapéuticas y la toxicidad en condiciones supra terapéuticas. Es de interés conocer los mecanismos de acción asociados, las curvas dosis respuesta, los factores que aumenten el riesgo (como la dieta, las condiciones fisiológicas, la edad, entre los más relevantes), su interacción con otros fármacos y otros aspectos.

Ambas propiedades, **eficacia y seguridad**, se ponderan de manera de satisfacer un escenario razonable para la acción médica. Un fármaco ideal será sumamente eficaz y a la vez sumamente seguro, en cualquier condición. En Argentina, como en otros países, la incorporación obligatoria del prospecto junto con el medicamento, es una herramienta para que el mismo paciente y su entorno participen en la vigilancia terapéutica. En este prospecto se dispone de información que mantienen al paciente en actitud de alerta frente a la aparición de síntomas (manifestaciones subjetivas del paciente) o signos (manifestaciones objetivas identificables por el médico) adversos, que pudieran asociarse al tratamiento con una droga determinada.

Lejos de las condiciones ideales, en algunos casos se resigna **seguridad** por **eficacia**, como ocurre frecuentemente en los tratamientos de patologías de alta morbilidad, como en la medicación oncológica. Otro escenario alejado de la idealidad, es el que se da en los medicamentos destinados al tratamiento de las llamadas enfermedades olvidadas (“neglected diseases” es el término en inglés). En estos casos, hay un escaso desarrollo de las investigaciones tanto de la **eficacia** como de la **seguridad** de los tratamientos, de ma-

nera que la aprobación y administración de estos fármacos se da bajo condiciones de incertidumbre. Las causas de esta escasez de investigación, han sido relacionadas con la ausencia de interés por parte de las empresas farmacéuticas, en la medida que no está garantizado un “mercado” de pacientes que les garantice un adecuado retorno de la inversión en investigación clínica y desarrollos de nuevos fármacos. Esta situación se da por ejemplo en patologías que afectan a poblaciones con limitado poder adquisitivo o en enfermedades infrecuentes. Un caso típico de esta situación, es la de los fármacos para el tratamiento del Chagas, que presentan una elevada tasa de efectos tóxicos en los pacientes y una chance de curación en muchos casos incierta. Otro caso emblemático lo constituyen las llamadas “enfermedades raras” que de tomadas de manera individual son de bajísima incidencia, pero tomadas en conjunto pueden llegar a superar el 10% (dependiendo de cómo se releva el dato) de las causas de morbimortalidad de la población.

Otro escenario alejado de la idealidad lo constituyen las poblaciones huérfanas de tratamiento, es decir, aquellas que con una condición particular de vulnerabilidad (lactantes, niños, mujeres embarazadas, ancianos, comorbilidad, etc.), no cuentan con suficientes estudios que garanticen las condiciones que estuvieron previstas en el momento de los estudios de **eficacia** y **seguridad**, desarrollados sólo para población adulta sin condiciones fisiológicas o patológicas particulares. En estos casos, frente a la necesidad de tratamiento, muchas veces prevalece la actitud médica de prescribir fuera de prospecto (“off label” es el término en inglés), basada en información empírica, lo que implicará la necesidad de mayor vigilancia y la probabilidad de encontrarnos con RAMs o frecuencias de RAMs no previstos en los estudios originales de aprobación de la droga. La población pediátrica es la que más frecuentemente recibe prescripciones fuera de prospecto, requiriendo del pediatra especialista una actitud de mayor alerta respecto de estas cuestiones.

Finalmente, los pacientes polimedicados, es decir aquellos que por su condición terapéutica se encuentran bajo tratamiento con más de un fármaco a la vez, se encuentran frente a la posibilidad de una interacción medicamentosa. Una interacción medicamentosa se define como la alteración de la **eficacia** o la **seguridad** de un fármaco por causa de la acción de otro que se co-administra al mismo paciente. En la medida que aumenta la cantidad de fármacos coexistentes, las posibles interacciones se multiplican, por superposición de los mecanismos de acción sumada de cada uno de los fármacos administrados y las eventuales sinergias entre ellos. La modificación de la **eficacia** puede significar tanto un aumento como una disminución de la misma, requiriéndose menores o mayores dosis respectivamente para obtener el mismo efecto que en ausencia del fármaco que interacciona. Lo mismo sucede con la **seguridad**, que para un fármaco determinado puede verse aumentada o disminuida en presencia de otro fármaco. Entre las poblaciones típicamente involucrados en estos escenarios, se encuentran los ancianos y los pacientes inmunodeprimidos con infecciones (y riesgos de infección) concomitantes, que típicamente están sometidos a tratamientos variables, con múltiples drogas, que responden a cuadros complejos de manejo personalizado.

El segundo escenario de riesgo toxicológico es la sobredosificación por falla en la administración. En estos casos en general estamos hablando de medicamentos que presentan un estrecho margen terapéutico, es decir, aquellos en donde existe una estrecha relación entre su concentración máxima efectiva no tóxica y su concentración tóxica mínima. Este tipo de medicamentos necesitan un estricto seguimiento, tanto clínico como de laboratorio, mediante el monitoreo terapéutico de la droga (**MTD**).

El tercer escenario de aparición de efectos tóxicos lo constituye la sobredosificación accidental o criminal (homicida o suicida). La población más frecuentemente involucrada en la sobredosificación accidental la constituye la población pediátrica, seguida por los ancianos, e involucran a un amplio rango de medicamentos, que generalmente corresponden a sustancias libres de prescripción médica o de muy frecuente prescripción. Las drogas asociadas a hechos criminales constituyen un número mucho menor de sustancias, que en general poseen la capacidad de producir la muerte con cuadros agudos, habitualmente por acción sobre el sistema nervioso central. En ambos casos, accidental o criminal, las dosis asociadas a las intoxicaciones superan largamente las que están involucradas en los dos primeros escenarios de tipo terapéutico, y se caracterizan por requerir con urgencia de personal médico, no siempre disponible en el momento de la intoxicación. Estas situaciones las describiremos entonces dentro del contexto que denominaremos de emergencia toxicológica. Un resumen de todos estos escenarios se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Escenarios posibles para eventos tóxicos relacionados a la ingesta de medicamentos

Escenario	Contexto de intoxicación	Dosis	Causas	Control
Bajo tratamiento terapéutico	RAMs bajo control médico	terapéuticas	efectos adversos previstos	MTD, si requiere
Polimedicados			interacción medicamentosa	MTD, si requiere y seguimiento clínico
Prescripción fuera de prospecto			efectos adversos no previstos	
Sobredosis terapéutica		Supra terapéuticas	fármacos con escaso margen terapéutico	MTD y seguimiento clínico
Sobredosis accidental	Emergencia toxicológica	tóxicas	auto ingestión involuntaria	laboratorio y atención médica de urgencia
Sobredosis criminal			intento de suicidio u homicidio	

Estudios de seguridad y monitoreo terapéutico

Según los criterios establecidos por el ANMAT, la autoridad de aplicación en la República Argentina para estos temas, se establecen tres niveles de riesgo sanitario que permiten ponderar la necesidad de profundizar los estudios de **seguridad** de los medicamentos utilizados localmente, mediante los llamados ensayos de bioequivalencia. Estos tres niveles dependen, además de la gravedad de las dolencias atendidas por el fármaco, de la gravedad de las RAMs que pueden aparecer si el fármaco se encontrara en concentraciones plasmáticas por encima de la ventana terapéutica. Siguiendo los criterios de la OMS, se distinguen el **riesgo sanitario alto** (3 puntos), si hay probabilidad de aparición de RAMs graves, el **riesgo sanitario intermedio** (2 puntos), si hay probabilidad de aparición de RAMs no necesariamente graves y el **riesgo sanitario bajo** (1 punto), si existe la probabilidad de aparición de RAMs leves. Adicionalmente, se considera la referencia de los tres países que se asumen de más alto nivel de vigilancia farmacológica, que son Canadá, Alemania y Estados Unidos de América, consignando en cuántos de ellos el fármaco ha sido clasificado como necesario de ser estudiado. Entonces, operativamente se asigna un puntaje ponderado, según el algoritmo siguiente:

$$\text{Riesgo} = (\text{riesgo sanitario} \times 3) + (\text{número de países en que se exige estudio})$$

Esta ponderación se utiliza para valorar la pertinencia de optimizar los estudios de **seguridad**, mediante criterios que se aplican fundamentalmente a fármacos administrados por vía oral o parenteral, existiendo menores exigencias para formas farmacéuticas administradas por vía ocular, ótica y tópica. De esta manera se establecen prioridades, como las que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Algunos ejemplos de fármacos de uso habitual que son ponderados como de alto riesgo farmacológico y a cuyas nuevas formulaciones se le requieren estudios de seguridad

Fármaco	Puntaje	Nº de países bajo control	Riesgo sanitario	Ventana terapéutica ($\mu\text{g/mL}$)
Fenitoína sódica	12	3	Alto	2
Carbonato de litio	12	3	Alto	1,25 – 6,00
Etosuximida	11	2	Alto	1,9 – 3,7
Sulfato de quinidina	11	2	Alto	1,2 – 2,0

Desde el punto de vista del laboratorio analítico, estos criterios son complementados con una serie de exigencias bioanalíticas que permiten validar los métodos usados para determinar

el principio activo y/o sus productos de biotransformación en plasma, suero, sangre, orina o el fluido biológico que represente mejor la distribución de la sustancia en el organismo y la exposición de los tejidos blanco de su acción. En principio se deben cumplir requerimientos de especificidad, sensibilidad, precisión y robustez establecidos por la autoridad regulatoria, debiendo informarse los resultados de validación de los procedimientos a utilizar en el ensayo, como la curva estándar, el límite de detección del principio activo y/o de su producto de biotransformación, el límite de cuantificación, el rango lineal de cuantificación, entre otros. De la misma manera, se deberán informar los resultados de los ensayos de estabilidad del principio activo y/o de su producto de biotransformación en la muestra elegida para el estudio. Periódicamente hay actualizaciones de las normas que rigen los estándares analíticos exigidos al laboratorio dedicado a estas tareas. Como ejemplos representativos de la normativa aplicada a nivel global, obsérvense las Disposiciones de ANMAT 5040/06 y 4133/12.

Desde el laboratorio, es necesaria la atención en métodos aptos para MTD. La aptitud abarca distintos aspectos y no siempre un método desarrollado y validado para el dosaje de un fármaco en el marco de un estudio clínico (estudios de farmacocinética, estudios de bioequivalencia), será adecuado para su aplicación en MTD. Por ejemplo, el rango de concentraciones medibles que será necesario abordar en un estudio clínico es relativamente amplio, requiriéndose dos y hasta tres órdenes de magnitud que incluyan a las concentraciones subterapéuticas, las concentraciones terapéuticas y las concentraciones tóxicas. En el caso de los métodos para MTD sólo es necesario distinguir las concentraciones del margen superior terapéutico de las correspondientes al margen inferior tóxico, de manera que el rango de medidas posibles rara vez supera un orden de magnitud, y a diferencia de los métodos analíticos utilizados en el desarrollo de un estudio de **seguridad** o bioequivalencia, en estos casos se requiere de una precisión adecuada alrededor de los puntos de corte que son los que distinguen a las concentraciones terapéuticas de las concentraciones tóxicas. Esta menor exigencia en el rango tiene su contracara en la necesidad de una gran precisión de la medida, dentro de ese rango tan estrecho. Como ya se mencionó, la rapidez con la que se obtienen los resultados también es crítica, por las consecuencias potenciales en la modificación de las dosis administradas en el transcurso del tratamiento. Esto significa que se exige un desempeño de los métodos que permitan resultados en tiempos cortos, para permitir una modificación a tiempo de las dosificaciones si fuera necesario, sin mayores riesgos para el paciente. Como consecuencia se pueden resignar algunos parámetros de validez analítica, en función de optimizar los tiempos de obtención del dato analítico.

Para este contexto, existe consenso que en el recién nacido es importante el monitoreo de aminoglucósidos, cloramfenicol, digoxina, y teofilina; en el niño antiepilepticos y teofilina; en el anciano digoxina, psicofármacos y teofilina; en la mujer embarazada aminoglucósidos, antiepilepticos, digoxina, teofilina y litio en los casos excepcionales en que pueda utilizarse. Por otro lado, en la insuficiencia renal es de importancia la monitorización de aminoglucósidos, vancomicina y litio; en la insuficiencia cardíaca digoxina, aminoglucósidos, teofilina y antiarrítmicos;

en las alteraciones hepáticas teofilina y lidocaína. Algunas condiciones que determinan estas guías de acción se muestran en la Tabla 3.

Administración fuera de prospecto y enfermedades olvidadas

Tanto la administración fuera de prospecto, como el uso de fármacos con escasa información farmacológica, son escenarios en donde los márgenes de incertidumbre son mayores a los habituales. Esta incertidumbre abarca tanto respecto de los beneficios de la farmacoterapia (**eficacia**) como de los riesgos asumidos en el tratamiento (**seguridad**). La información estadística disponible sugiere que existe una mayor tasa de RAMs en pacientes tratados farmacológicamente bajo control médico, cuando esta prescripción se hace fuera de prospecto. Por lo tanto, el dilema al que se enfrenta la decisión médica entre privar al paciente de tratamiento, o iniciar tratamientos con información insuficiente, obliga a la implementación de medidas de vigilancia adicionales que garanticen que la decisión tomada es la que más se adecúa en cada caso y que los riesgos sean los mínimos posibles.

Tabla 3: Algunos ejemplos de fármacos de uso habitual con escaso margen terapéutico, que requieren de MTD

Fármaco	Rango terapéutico	Concentración tóxica mínima
Quinidina	3 – 6 µg/mL	>6 µg/mL
Tobramicina	0,5 – 8,0 µg/mL	>2 µg/mL
Valproato	50 - 100 µg/mL	>100 µg/mL
Vancomicina	5 – 25 µg/mL	>13 µg/mL

Este escenario es frecuente en pediatría, especialmente en neonatólogos e internistas, alcanzando hasta un 25% de las prescripciones totales. Estos profesionales frecuentemente se ven obligados a extrapolar información farmacológica correspondiente a los adultos o a asumir como válida la información empírica obtenida en situaciones análogas. Entre los fármacos que con más frecuencia se utilizan fuera de prospecto en pediatría, se incluyen en primer lugar los fármacos hipnóticos y sedantes, seguidos de los medicamentos antitrombóticos y antibióticos.

Para muchos fármacos existe el agravante de la inexistencia de formulaciones apropiadas para el uso pediátrico, disponibles sólo en forma de cápsulas o comprimidos para adultos, complicando la posibilidad de administrar las dosis previstas de manera adecuada. Esto es potencialmente grave dado que la fragmentación de un comprimido, la incorporación de nuevos excipientes u otras manipulaciones, pueden dar lugar a una formulación ineficaz, de mayor riesgo o ambas cosas en forma aleatoria.

Emergencia toxicológica por fármacos

En las administraciones por sobredosificación, nos encontraremos con cuadros generalmente agudos que ingresan a los servicios de urgencia, con compromiso de los signos vitales y frecuentemente en estado de inconsciencia. El conjunto de alteraciones clínicas, junto con la anamnesis y los resultados de laboratorio, deben orientar al equipo médico para iniciar el tratamiento orientado lo más rápidamente posible. La tarea del laboratorio es vital para complementar la información que se obtiene por otras vías, estando atentos a la posibilidad de datos incompletos, e incluso contradictorios entre sí. El propio escenario de urgencia obliga a que los métodos analíticos empleados permitan la obtención de resultados cualicuantitativos rápidamente, que tienen como principal fin el orientar rápidamente en la conducta terapéutica. El propio cuadro agudo orienta a la búsqueda de tóxicos que se encuentren en altas dosis, lo que no debe desviar la atención sobre la presencia de otros tóxicos que estando presentes en menor concentración o administrados en regímenes de exposición crónica por sobre el cuadro agudo, puedan complicar el análisis.

Por esta razón, una muestra de obtenida de un paciente en situación de urgencia que es remitida al laboratorio para su investigación toxicológica, incluye una cantidad de información de contexto que debe orientar a la implementación de la menor cantidad de ensayos posibles, de manera de contar con resultados rápidos, confiables y claramente orientativos respecto de la conducta terapéutica que debe seguir el equipo médico. Esta información de contexto puede consistir en el cuadro clínico del paciente con sus signos y síntomas más relevantes, hallazgos encontrados en el sitio de retiro del paciente (pastillas o blíster vacíos hallados en su entorno, por ejemplo), información que entregan los familiares, antecedentes clínicos (historial previo de tratamientos, antecedentes de adicciones), respuesta al tratamiento del cuadro agudo durante la misma emergencia y toda otra información orientativa. En la urgencia toxicológica, de rápida progresión, una muestra determinada tendrá características únicas que representan el estado particular del paciente en el momento de la obtención de la muestra. De manera que la calidad de los resultados depende también de la decisión de cuándo y dónde obtener la muestra.

Se cuenta con una considerable batería de pruebas de color o pruebas de toque que tienen carácter orientativo y que se aplican normalmente a muestras de orina, en donde en una sobredosis esperamos encontrar cantidades considerables de la droga o de sus principales metabolitos. La mayoría de estas pruebas de toque tienen interferencias, baja sensibilidad y están fuertemente influidas por la matriz y sus componentes. Siempre es conveniente contrastar los resultados con una muestra control, libre de la droga que se está investigando. Por lo tanto, un resultado negativo de alguna de estas pruebas no necesariamente indica la ausencia de droga en orina. Por ejemplo, pueden obtenerse resultados negativos cuando la droga está presente, pero en concentraciones inferiores a los del cutoff (concentración mínima detectable) de la prueba.

Lo mismo se aplica a los inmunoensayos rápidos. De ellos también contamos con una gran oferta de dispositivos comerciales, disponibles para una considerable cantidad de fármacos y

drogas de abuso que son las causas más frecuentes de intoxicaciones de urgencia. Cada ensayo tiene establecido su cut-off y que debe ser indicado por el fabricante, de manera que un ensayo negativo no necesariamente significa ausencia de la droga, aunque sí probablemente no se encuentre en concentraciones compatibles con un cuadro tóxico agudo.

Los ensayos rápidos de laboratorio, ya sean pruebas de toque, colorimetría en tubo de ensayo o inmunoensayos rápidos entregan entonces información adicional, que puede no ser completa, pero que sin duda ayuda en la toma de decisiones por parte del equipo médico en una situación para la que el tiempo es un recurso valioso. Para ambos tipos de pruebas rápidas (colorimétricas o inmunométricas) el resultado que entrega mayor cantidad de información, es el ensayo positivo.

Como ya se mencionó, en la anamnesis de los casos es importante valorar todo dato que pueda vincular el paciente particular con aquellos casos que más frecuentemente se dan en la urgencia toxicológica por fármacos. Esto es, la información acerca de la edad, género, tratamiento preexistente, existencia de parientes o entorno familiar bajo tratamiento terapéutico, puede arrojar información muy valiosa respecto de cuál es el tóxico involucrado. Una buena anamnesis puede mejorar el desempeño del laboratorio para dilucidar más rápidamente el fármaco involucrado en una sobredosificación. Debe considerarse también la posibilidad de causas concomitantes en un cuadro agudo, como un coma hipoglucémico o un accidente cerebro-vascular, que también son dilucidados rápidamente por parámetros de laboratorio.

Para el caso particular de la intoxicación con fármacos neurotóxicos, la clasificación de los cuadros clínicos en **toxidromes** definidos, entrega una información muy relevante para orientar en cuál o cuáles son los agentes responsables de la intoxicación. Un **toxidrome** se define como un conjunto de síntomas y signos que dan cuenta de uno o más mecanismos de acción más o menos definido y que suelen darse simultáneamente. Los **toxidromes** para estos fármacos se pueden agrupar en cuatro tipos: anticolinérgico, colinérgico, simpaticomimético y serotoninérgico. Para algunos fármacos en particular o para las intoxicaciones mixtas, se encontrarán manifestaciones que pueden no ser clasificados claramente en alguno de estos cuatro tipos de **toxidromes**.

Sin duda, las intoxicaciones por fármacos son las más frecuentes en las intoxicaciones en niños, independientemente de las regiones geográficas y las metodologías utilizadas para recabar los datos. Corresponden a más de la mitad de los casos epidemiológicamente válidos. Dentro de los fármacos, los más frecuentemente informados son los analgésicos/antitérmicos, y entre ellos fundamentalmente el paracetamol (acetaminofeno), que alcanza a reportes por encima del 80% de los casos. Generalmente estos casos están relacionados al acceso del paciente a presentaciones líquidas en envases sin tapa de seguridad. A este fármaco, le siguen las intoxicaciones pediátricas por ácido acetilsalicílico e ibuprofeno, también del grupo de los analgésicos/antitérmicos. Se puede afirmar que la toxicología pediátrica de emergencia, por su

casuística, por las particularidades de los cuadros tóxicos y su progresión, y por las alternativas de tratamiento, constituyen un campo de trabajo específico de la toxicología de urgencia, en donde las intoxicaciones por fármacos juegan un papel muy relevante.

En las evaluaciones también se deben considerar los informes locales de frecuencia, que pueden tener un sesgo particular algo diferente de los reportados globalmente, por características propias de la región y tendencias terapéuticas geográficamente delimitadas.

Toxicología de los hipnosedantes. Benzodiacepinas

Entre las intoxicaciones de urgencia en adultos, las producidas por fármacos hipnóticos y sedantes se reportan como las más frecuentes. Entre los responsables encontramos principalmente a las benzodiacepinas y a los barbitúricos y en menor medida otros fármacos de menor uso como el meprobamato, la buspinona, la doxilamina, el zolpidem o la zopiclona. Los dos primeros presentan el agravante de presentarse en intoxicaciones mixtas con etanol u otros depresores del SNC, teniendo las benzodiacepinas y los barbitúricos, en mayor o menor medida, efectos sinérgicos con éstos últimos.

Las benzodiacepinas se incluyen dentro de un gran grupo de psicofármacos denominado psicolépticos, es decir aquellos que son depresores de las actividades psíquicas. Dentro de éstos, se incluyen en el grupo denominado Tranquilizantes Menores. Son utilizadas principalmente para tratar los trastornos de ansiedad, el insomnio o como relajantes musculares o medicación pre-anestésica en cirugía.

Todos podemos sentir ansiedad cuando experimentamos una situación que es exigente comparado con lo habitual de la vida y que por lo tanto requiere una adaptación. Por ello es normal sentir cierto nerviosismo antes de un examen o una cirugía, miedo ante una situación peligrosa o un desastre natural. Estas son respuestas adaptativas derivadas de la señal (la ansiedad) que indica que la situación por la que se está atravesando demanda un esfuerzo extra. La ansiedad normal presenta como características el hecho de ser transitoria, depender de la causa particular que la origina y presentar una intensidad que esté de acuerdo con el estímulo causante de la misma; es decir no es una respuesta exagerada y cesa cuando desaparece la exigencia.

En contraste con esto, una ansiedad patológica persiste en el tiempo, es independiente de que exista o no un estímulo externo que la provoque y da una respuesta desproporcionada con respecto a la situación real que puede estar pasando la persona que la padece. Esto lleva a estos pacientes a evitar determinadas situaciones que generan en última instancia retracción social, conductas evasivas y una serie de síntomas clínicos asociados a su padecimiento psíquico.

Así en los pacientes que presentan trastornos de ansiedad se observarán ansiedad excesiva, preocupaciones exageradas, miedos o temores desmedidos, aumento de la tensión nervio-

sa, incremento del estado alerta, además de manifestaciones físicas relacionadas con el estímulo autonómico (taquicardia, palpitaciones, transpiración excesiva, boca seca, temblores musculares, piel pálida o ruborizada), dolor precordial, sensación de nudo en la garganta, hiper ventilación, disnea, dolor de estómago, falta de apetito, diarreas, nauseas, vómitos, tensión, dolores musculares, temblores en manos y cara, sensación de debilidad corporal, además de cefaleas, mareos, inestabilidad y parestesias. Todo esto causa un deterioro notable en la persona y trae aparejado importantes problemas para el desarrollo de sus actividades diarias.

Las benzodiacepinas son compuestos químicos formados por un anillo bencénico (A) fusionado con uno diazepínico de siete miembros (B). En general presentan un sustituyente arílico en posición 5 (C). Los distintos sustituyentes (R) que presenten en los anillos darán lugar a las diferentes benzodiacepinas tal como se indica en la Figura 1.

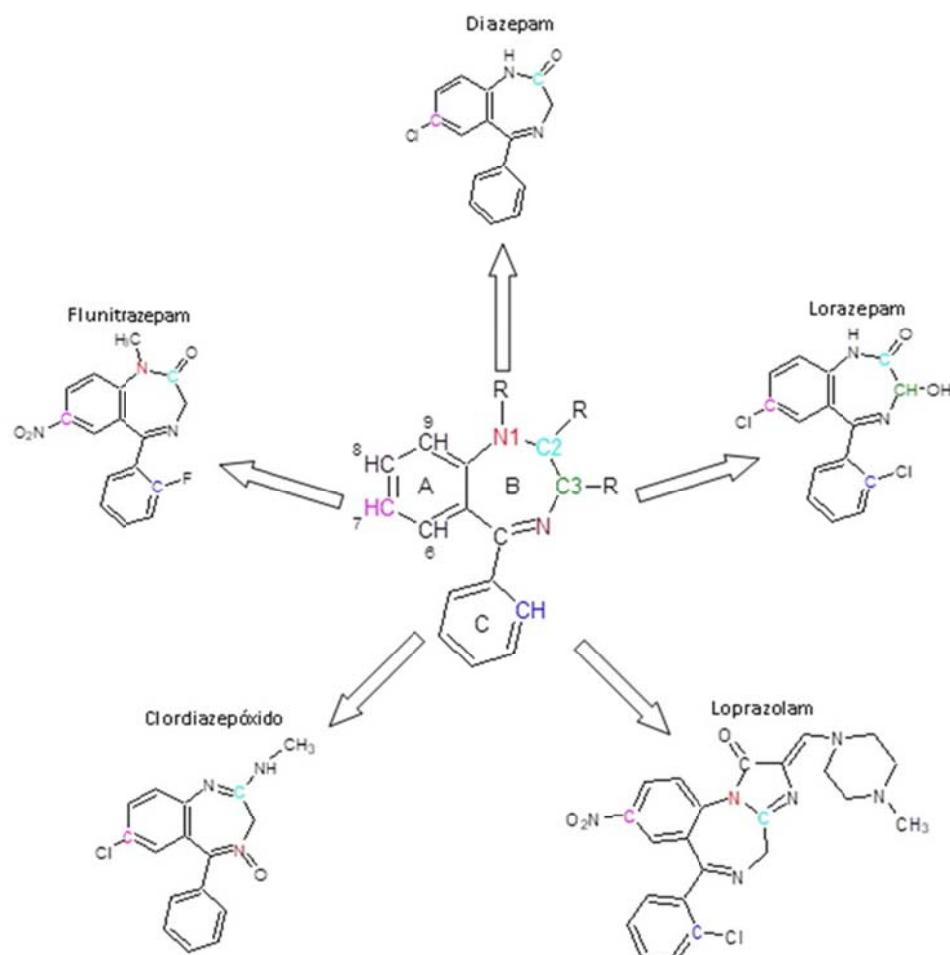


Figura 1: La figura central corresponde a la estructura química general de una benzodiacepina. Se muestran a modo de ejemplo 5 benzodiacepinas diferentes de acuerdo a los diversos sustituyentes que estas presenten

En la nomenclatura de estos compuestos suele utilizarse la terminación -lam o -lan.

Estos compuestos pueden clasificarse también de acuerdo a la semivida de los mismos. Así encontraremos benzodiacepinas de duración "ultra-corta" (menos de 6 Hs de semivida), "corta"

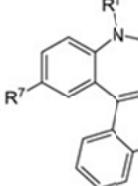
(menos de 12 Hs de semivida), "intermedios" (entre 12 y 24 Hs de semivida) y "larga" (más de 24 Hs de semivida). Las benzodiacepinas de duración corta e intermedia en general tienen

pocos efectos residuales, mientras que las de duración larga usualmente presentan efectos sedativos que continúan al día siguiente de la administración. Así mismo, estos tipos de benzodiacepinas pueden generar insomnio de rebote al suspender la medicación.

Las benzodiacepinas se absorben en el tracto gastrointestinal prácticamente por completo. En algunos casos la absorción completa se produce luego de que la benzodiacepina sufre un cambio químico en el estómago; por ejemplo el clorazepato se descarboxila por acción del jugo gástrico convirtiéndose en N-desmetil-diazepam o nordazepam, siendo este metabolito el que se absorbe por completo. Otros ejemplos son el prazepam y el flurazepam, dos benzodiacepinas que son absorbidas únicamente como sus metabolitos activos.

Tanto las benzodiacepinas como sus metabolitos activos se fijan a proteínas plasmáticas para ser transportadas por sangre. Dependiendo de su lipofilicidad, el grado de fijación a proteínas es distinto, por ejemplo es de un 70% para aprazolam y de un 99% para diazepam.

Tabla 4. Algunas benzodiacepinas representativas de cada uno de los grupos, clasificados por su farmacocinética

Estructura	Principales sustituyentes				$V_{1/2}$ (h)	Representante
	R ¹	R ²	R ^{2'}	R ⁷		
	-H	O	-H	-Cl	larga	clorazepato
	-CH ₃	O	-H	-Cl	larga	diazepam
	-Br	O	-H	-H	intermedia	bromazepam
	-CH ₃	O	F	-NO ₂	intermedia	flunitrazepam
	-H	-OH	-Cl	-Cl	intermedia	lorazepam
	-H	O	-H	-Cl	corta	oxazepam
imidazol		-F	Cl		ultracorta	midazolam

Existen varias vías de administración para las benzodiacepinas, entre las cuales destacan la vía oral, sublingual, intramuscular y endovenosa. Para la elección de una u otra vía se tendrá en cuenta el efecto que se quiere obtener y el tipo de benzodiacepina que se utilice. La vía de preferencia es, en general, la vía oral dado que estos fármacos tienen buena absorción en el tubo digestivo. Las benzodiacepinas administradas por vía sub-lingual son lorazepam, alprazolám y clonazepam; esta vía presenta una entrada más directa a la circulación sistémica y por lo tanto una acción más rápida.

Las benzodiacepinas que presentan una absorción conocida por vía intramuscular son lorazepam y midazolam. La vía endovenosa se utiliza en caso de agitación extrema donde es

necesario que se alcance rápidamente el efecto sedante de estos fármacos; para ello se emplean diazepam, lorazepam, midazolam.

En cuanto a su distribución, las benzodiacepinas son muy liposolubles, por lo cual al ingresar en los vasos sanguíneos necesitan unirse a proteínas plasmáticas para ser transportadas. Como sabemos las moléculas activas y que pueden pasar a los tejidos son las que circulan libremente, mientras las que están unidas a proteínas continúan circulando por los vasos sanguíneos. Es importante tener en cuenta esto ya que en ciertas situaciones donde disminuyan las proteínas plasmáticas, principalmente por hipoalbuminemia (cirrosis, síndrome nefrótico, malnutrición) o cuando las benzodiacepinas sean desplazadas de las proteínas por una interacción medicamentosa, aumentará la fracción libre de estos fármacos con lo cual se presentará una acción farmacológica mayor pudiendo llegar a una intoxicación.

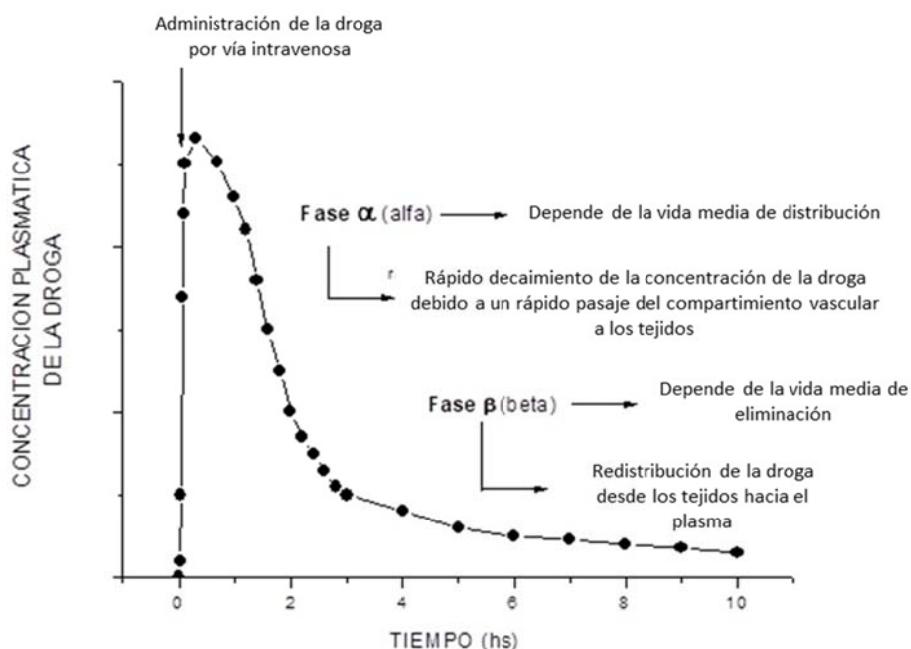


Figura 2: Concentración en plasma vs tiempo. Se observa una distribución bifásica: Fase α dependiente de la vida media de distribución y Fase β dependiente de la vida media de eliminación.

Las benzodiacepinas presentan una amplia distribución y llegan a prácticamente todo el cuerpo. Cuando se administra una dosis de benzodiacepina intravenosa inmediatamente se obtiene su concentración máxima y luego ésta comienza a caer rápidamente debido a un rápido pasaje del compartimiento vascular o central a los tejidos, principalmente a aquellos más irrigados como el SNC, corazón, hígado y riñones (Figura 2). Esta etapa en una curva de farmacocinética corresponde a la llamada “fase α” donde vemos que la concentración de la droga en plasma cae rápidamente en función del tiempo. Esta fase depende de la vida media de distribución.

Esta situación continúa hasta que la concentración de benzodiacepinas es mayor en los tejidos que en el plasma. En ese momento se da una fase de redistribución, donde para equilibrar esta situación se produce un pasaje de la droga desde los tejidos hacia el plasma. Este

efecto se produce para tender a equilibrar las concentraciones en ambos compartimientos. A esta etapa se la conoce como “fase β” y en la curva de farmacocinética se observa un descenso más lento de los niveles del fármaco en plasma. Esto se produce debido a que la droga vuelve al plasma desde los tejidos y va a comenzar a eliminarse por procesos de biotransformación y excreción, los cuales constituyen una forma más lenta de quitar la droga de circulación que el pasaje inicial a los tejidos. Esta fase dependerá de la vida media de eliminación.

De acuerdo a esto podemos decir que los tejidos funcionan como reservorios de la droga, y el proceso de redistribución favorece la utilización del fármaco, previamente acumulado en los tejidos, por el SNC. Las benzodiacepinas atraviesan la barrera hematoencefálica, ya que deben actuar sobre el SNC. En las mujeres, durante el embarazo, atraviesan la placenta y llegan al feto.

En cuanto a su biotransformación y excreción, debido a su carácter lipofílico las benzodiacepinas deben sufrir ciertas reacciones de biotransformación para convertirse en moléculas más hidrosolubles y ser eliminadas en orina. Prácticamente todas las benzodiacepinas sufren conjugación con ácido glucurónico (reacción de fase II) antes de eliminarse; para algunas de ellas como el lorazepam y el oxacepam, esta es la única reacción de biotransformación que sufren. En cambio otras benzodiacepinas experimentan uno o dos pasos (reacciones de fase I) antes de conjugarse con glucurónico para finalmente eliminarse. Es posible que en esas etapas intermedias se generen metabolitos activos. Por ejemplo el bromazepam y el alprazolam sufren primero una reacción de oxidorreducción generando compuestos con actividad de benzodiacepina (metabolitos activos) que luego se conjugan para eliminarse en orina. Mientras que el diazepam y el clorazepato sufren N-desalquilación para dar nordiazepam, un metabolito activo de vida media larga, hidroxilaciones para dar otro metabolito activo, el oxazepam y temazepam, que luego se conjugan para eliminarse (Figura 3).

Por otro lado, el clonazepam se inactiva por hidroxilación oxidativa y nitroreducción pero no se conjuga con el ácido glucurónico. La biotransformación que sufren las distintas benzodiacepinas es tenida en cuenta desde el punto de vista clínico al momento de elegir una de ellas para realizar un tratamiento, desde el punto de vista que involucran diferentes reacciones metabólicas llevadas a cabo por el hígado. Así cuando se debe administrar una benzodiacepina a pacientes cirróticos o ancianos, por ejemplo, se prefiere utilizar lorazepam ya que la única biotransformación que sufre es por conjugación con glucurónico y este tipo de procesos no se ven fuertemente afectados por la edad o por las enfermedades del hígado.

El mecanismo de acción de las benzodiacepinas involucra su acción sobre uno de los receptores de GABA. Para comprender esto recordemos cómo funciona la neurotransmisión GABA-érgica: el Ácido γ-aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC. Es sintetizado en las neuronas a partir del aminoácido glutamato, de carácter excitatorio, quedando acumulado en vesículas dentro de la neurona. Ante el estímulo nervioso que recibe la célula las vesículas se acercan a la membrana presináptica y adosándose a ella se abren hacia el exterior liberando el GABA en el espacio intersináptico, el cual interactúa con los receptores GABA en la membrana de la neurona postsináptica. Luego por captación principal-

mente en la neurona postsináptica y por interacción con las células de la glía es removido del espacio intersináptico, terminando así su acción.

Existen tres tipos de receptores para el GABA: GABA A, GABA B y GABA C; que presentan diferentes localizaciones y aunque son diferentes entre sí, los tres actúan produciendo la hiperpolarización de las células en las que están presentes. Los receptores GABA A están ubicados en el SNC, en el cuerpo, dendritas y axones de neuronas postsinápticas. Son estructuras que conforman un canal (ionóforo) de Cl⁻. Cuando el GABA se une al receptor GABA A se genera una apertura del canal iónico que favorece el pasaje del Cl⁻ al interior de la célula, lo cual genera una hiperpolarización de la célula que disminuye la excitabilidad de la neurona e inhibe la descarga eléctrica.

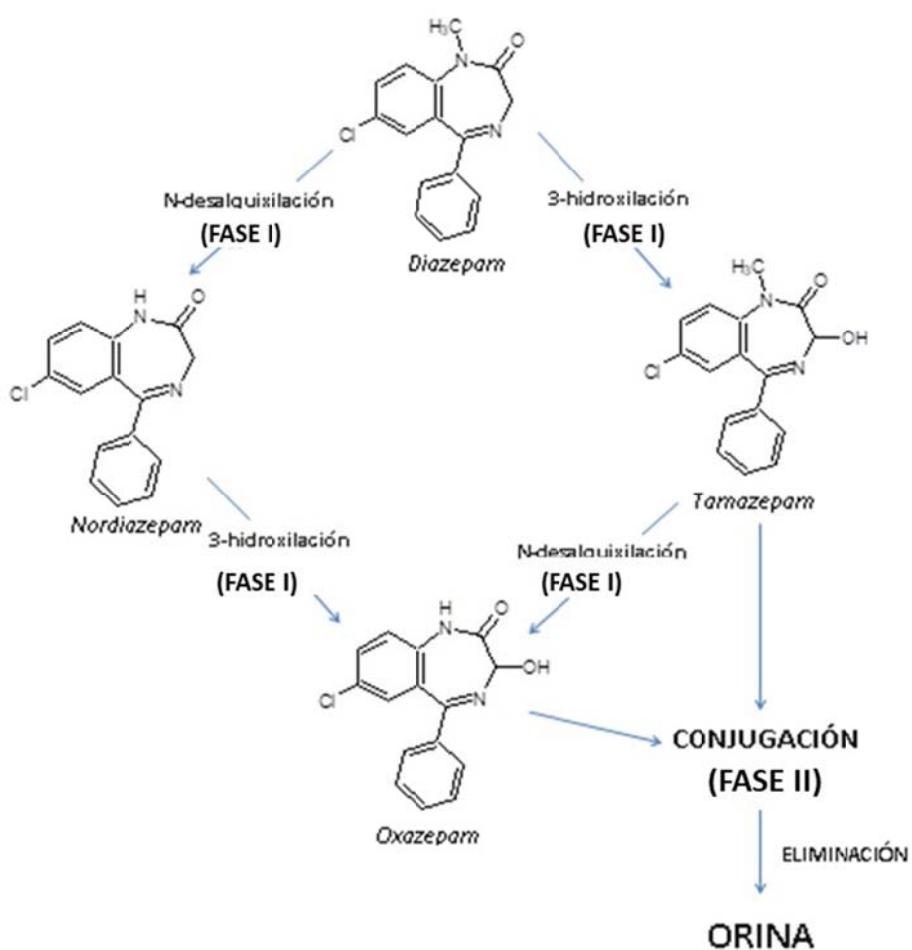


Figura 3: Metabolización del Diazepam. Las reacciones de 3-hidroxilación y N-desalquilación, ambas de Fase I, dan origen a metabolitos activos. Luego sufren conjugación (Fase II) y son eliminados en orina

En estos receptores se encuentra un sitio de unión a benzodiacepinas conocido como receptor benzodiacepínico central (BZ). Este es un sitio alostérico diferente al sitio al cual se une el GABA. Cuando las benzodiacepinas se unen a este receptor generan un aumento del efecto del neurotransmisor GABA, ya que favorecen la unión entre el GABA y el receptor y por lo tanto aumentan la frecuencia de apertura del canal de cloruros, fenómeno que constituye el meca-

nismo de acción de las benzodiacepinas. Resulta fundamental que el neurotransmisor GABA se una al mismo receptor pero en sitios diferentes para que estos psicofármacos puedan realizar su acción. De esta forma, en presencia de GABA, cuando las benzodiacepinas se unen al receptor GABA A en la neurona postsináptica, a través del sitio de unión BZ, se genera una potenciación de los efectos del GABA; es decir una mayor frecuencia de apertura del canal de Cl⁻ y un aumento neto de la cantidad de Cl⁻ que ingresa a la célula. Esto produce una hiperpolarización de la neurona, con lo cual se aleja de su potencial de disparo (se hace más negativa) cortando de esta forma la descarga eléctrica de la neurona post-sináptica e inhibiendo la transmisión del estímulo hacia la próxima sinapsis.

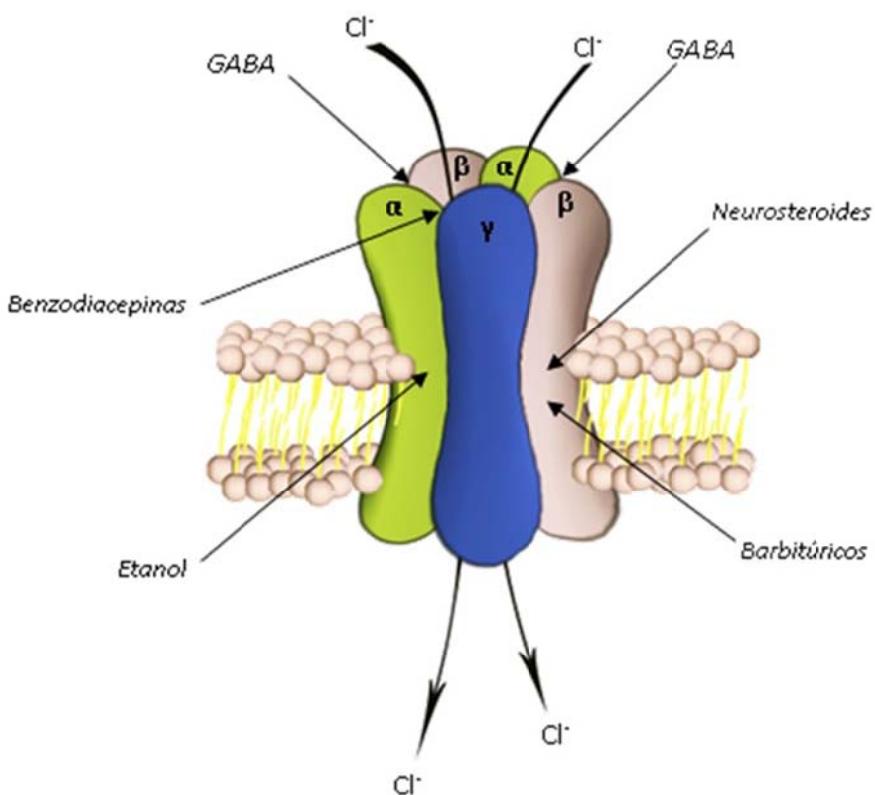


Figura 4: Esquema del receptor GABA-A. Este es un receptor pentamérico formado por 2 subnidades (verde), dos subnidades β (rosa) y una subunidad γ (azul). El GABA posee dos sitios de unión, ubicados en la interfase entre las subnidades α y β. El sitio de unión a benzodiacepinas se encuentra también en la interfase, en este caso entre las subnidades α y γ. Los barbitúricos y neurosteroides tienen su sitio de unión en la región transmembrana de la subunidad β del receptor mientras que el de etanol se halla en la misma región, pero de la subunidad α.

Los receptores GABA A tienen además sitios de unión alostéricos para otras sustancias, como el etanol y los barbitúricos por ejemplo, lo cual explica los efectos de depresión del SNC más profunda observados al consumir conjuntamente estas sustancias.

Las benzodiacepinas son utilizadas para disminuir la ansiedad (ansiolítico), dar sensación de tranquilidad disminuyendo la tensión psíquica (sedante). Así mismo son empleadas en casos de insomnio, generando una disminución en el tiempo en que la persona se duerme y disminuyendo también la cantidad de “despertares nocturnos” (hipnóticos).

Las benzodiacepinas también se emplean como fármacos para tratar los síntomas del ataque de pánico y generar miorrelajación (antipánico y relajante muscular). Son empleadas como anticonvulsivantes para controlar las crisis convulsivas o epilépticas. Se prefiere la administración de clonazepam para tratamientos a largo plazo y el diazepam endovenoso para el caso de crisis epilépticas.

El tratamiento con benzodiacepinas puede generar efectos adversos como hipersedación, somnolencia durante el día (efecto resaca), relajación muscular en exceso, boca seca, cefaleas, visión borrosa, alteraciones gastrointestinales, alteraciones en la memoria de fijación (amnesia anterógrada), aumento de peso, enlentecimiento psicomotriz, efectos paradojales y en ancianos ataxia, disartria y vértigo con riesgos asociados a las caídas que puedan sufrir estos pacientes.

Por otro lado, dado que las benzodiacepinas son en general drogas bastante seguras ya que presentan Dosis Letales alejadas de las Dosis Terapéuticas, no presentarán depresiones del SNC tan profundas como para llegar a deprimir el centro cardio-respiratorio cuando se administran solas, aún en dosis altas o sobredosis.

En estos casos se observará pérdida de conciencia por el efecto sedante e hipnótico de las mismas, mediado por el efecto potenciador que tienen las benzodiacepinas sobre la neurotransmisión gaba-érgica. Se emplea flumazenil que actúa como antagonista y suprime los efectos sedantes e hipnóticos permitiendo que la persona recupere la conciencia.

Luego del consumo prolongado de estos fármacos el paciente experimenta fenómenos de tolerancia, que involucran la necesidad de aumentar la dosis con el objetivo de lograr el mismo efecto tranquilizante. En especial este tipo de fenómenos se dan con las benzodiacepinas de acción corta administradas en altas dosis y durante mucho tiempo.

Así mismo, las benzodiacepinas presentan riesgo de abuso y dependencia tanto física como psíquica, cuando son utilizadas sin prescripción ni seguimiento médico. Para retirar esta medicación es necesario realizarlo con control médico, debido que al retirarlas bruscamente luego de tratamientos prolongados se pueden presentar síndrome de abstinencia, rebote de los síntomas originales o recurrencia del trastorno original.

Las manifestaciones clínicas del síndrome de abstinencia incluyen ansiedad, irritabilidad, insomnio, disforia, cefaleas, foto y audio-sensibilidad, dolores y contracturas musculares, temblor, sudoración, náuseas, anorexia, molestias abdominales, taquicardia e hipertensión sistólica leve; y en casos más graves crisis de pánico, ideas paranoides, despersonalización, delirios, confusión y convulsiones.

Por otro lado, las benzodiacepinas son utilizadas de forma no terapéutica en muchos casos de usuarios de anfetaminas y otras drogas estimulantes. En estos casos de administración combinada de estas sustancias existen mayores riesgos de presentar trastornos mentales, deterioro social y alteraciones de la salud en general.

El médico debe evaluar cada caso particular para tomar una decisión sobre si administrar benzodiacepinas o no a una mujer embarazada, evaluando riesgos y necesidades/beneficios de dicha administración. Especialmente se debe tener especial cuidado en la administración de

estos fármacos para evitar la posibilidad de efectos teratogénicos que pueden tener estos fármacos. Si durante el parto se administran benzodiacepinas puede ocurrir que el recién nacido presente hipotonía muscular y dificultades respiratorias como apneas.

Por otro lado, si la mujer embarazada recibió un tratamiento con benzodiacepinas durante el embarazo debemos tener en cuenta que estos fármacos llegaron a la circulación del feto ya que tienen la capacidad de atravesar la placenta. Por lo tanto al momento del nacimiento, luego de cortar el cordón umbilical se suprime la llegada de benzodiacepinas al recién nacido ya que no mantiene el contacto con la circulación sanguínea de la madre. Esta situación puede derivar en un síndrome de abstinencia en el bebé quien podrá presentar irritabilidad, insomnio, temblores, hipertonía muscular y convulsiones. En este caso también el neonatólogo o pediatra debe evaluar la relación riesgo/beneficio de que la madre amamante al niño, ya que estos compuestos se secretan en leche materna.

En los casos de intoxicación aguda, el **toxicodrome** presentará fundamentalmente efectos sobre el SNC que se manifiestan como somnolencia, disartria (dificultad para articular palabras), diplopía (visión doble), ataxia (dificultad para coordinar movimientos) e hiporreflexia (respuesta disminuida a los estímulos sensoriales), en un cuadro que puede evolucionar hacia un coma. En dosis altas se presentarán efectos cardiológicos manifestados principalmente como una hipotensión de origen central. En dosis aún mayores será posible observar depresión del centro respiratorio, con hipoventilación y riesgo de acidosis respiratoria y aspiración. Se mencionó que todos estos efectos se encuentran potenciados y aparecerán a dosis menores de la droga si el paciente además ingirió alcohol, junto con el fármaco.

Los datos de laboratorio son fundamentales para el diagnóstico, fundamentalmente por la presencia en plasma y en orina. A pesar de ser útil el seguimiento de la progresión de estos valores para el manejo de la intoxicación, si presentan gran utilidad diagnóstica su rápida identificación. En muchos casos, en orina no aparecen rápidamente metabolitos fácilmente detectables, lo que constituye una dificultad para su identificación temprana en esta matriz. Dada las interacciones farmacológicas mencionadas y la conducta médica diferencial en síndromes de intoxicación mixta, también el laboratorio debe estar atento a la determinación de alcohol u otros fármacos depresores del SNC, tanto en plasma como en orina, que puedan explicar mejor los cuadros complejos o de difícil manejo y permitan tomar la decisión terapéutica más acertada.

Se cuenta con pruebas rápidas como los inmunoensayos y las pruebas cromáticas, para la detección de benzodiacepinas y sus derivados metabólicos. Más laboriosas pero a su vez más sensibles, cuantitativos y por lo tanto útiles para la toma de decisión terapéutica, existen alternativas cromatográficas (TLC, HPLC o GC) que están ampliamente reportadas. Todas estas técnicas cromatográficas requieren pasos previos de pretratamiento de muestras, con mayores tiempos de análisis y costo, además de los requerimientos instrumentales. Será decisión médica, en conjunto con el laboratorio, hasta donde se profundiza con las determinaciones.

Además de las medidas de desintoxicación generales y el tratamiento de sostén para los signos y síntomas neurológicos, se cuenta con el flumacenilo como antagonista selectivo de los

receptores GABA, que actuará como un antídoto. Este fármaco revierte rápidamente los efectos de las benzodiacepinas y presenta una vida media corta de 20 a 45 minutos. Dados los riesgos asociados a su uso, sólo es de elección en las intoxicaciones graves, de alto riesgo para el paciente. Una sobredosis de este antídoto puede agravar los cuadros, por lo que es muy importante determinar si la depresión del SNC está causada íntegramente por benzodiacepinas o si existe un factor adicional. En esta evaluación, juegan por igual tanto el criterio clínico del médico como los resultados del laboratorio. Si hay un error diagnóstico, la propia falta de respuesta al flumacenilo será un indicio definitivo de que el cuadro de depresión del SNC no es causado por una benzodiacepina de manera significativa.

Fármacos hipnóticos. Barbitúricos

Entre los compuestos pertenecientes al grupo de depresores del Sistema Nervioso Central (SNC) encontramos unos psicofármacos llamados Barbitúricos. A partir de urea y ácido malónico se obtiene el ácido barbitúrico, el cual constituye la base química de estos compuestos. Los distintos sustituyentes que presente la molécula base darán origen a los distintos barbitúricos y aportarán también a las características ácidas de estas sustancias (pK_a entre 3 y 7) dadas fundamentalmente por la acidez del C2 de la molécula quien puede presentar equilibrio ceto-enol favorecido por la ubicación de este entre los dos N amido vecinales.

Cuando el O unido al carbono en la posición 2 es reemplazado por un S se originan los tio-barbitúricos que presentan una mayor lipofilicidad que los oxibarbitúricos. El aumento de lipofilicidad en general disminuye la duración de los efectos, la latencia en el inicio de la actividad y aumentan la potencia como hipnótico y el metabolismo de los mismos.

Dependiendo de cuál barbitúrico se trate, existirán diferencias en cuanto a la potencia de su acción, la rapidez con la que comienzan sus efectos y la duración de los mismos; clasificándose como compuestos de acción ultra corta, corta, intermedia y prolongada. Los barbitúricos de acción ultracorta producen anestesia dentro del minuto post-administración, usualmente contienen azufre como el thiopental o su sal sódica tiopentoato de sodio conocido como Pentotal. En los de acción corta, su efecto se produce entre 1 y 3 horas post-administración, como en el caso del pentobarbital o el secobarbital. En los de acción intermedia, la acción se produce entre 3 y 6 horas post-administración, como es el caso del butabarbital o el amobarbital. Finalmente, en los de acción prolongada, el efecto se produce alrededor de 1 hora después de la administración y se mantiene durante 12 horas o más, como en el caso del barbital y el fenobarbital.

Los barbitúricos de larga duración son en general menos liposolubles que los de las otras categorías, por lo cual no se acumulan tan rápidamente en los tejidos y son eliminados por riñón como metabolitos activos. Por otro lado los barbitúricos de corta duración presentan en general mayor liposolubilidad y pK_a , y se metabolizan en el hígado casi en su totalidad generando metabolitos inactivos que son excretados en orina glucuronizados.

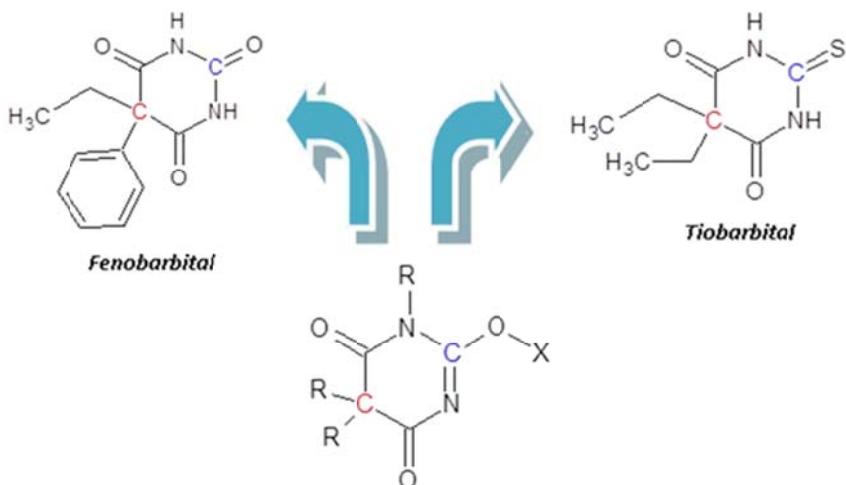


Figura 5: La figura central corresponde al esquema general de un barbitúrico. Se muestran a modo de ejemplo dos barbitúricos diferentes de acuerdo a los diversos sustituyentes que estos presenten

En la terapéutica se han utilizado como sedantes, hipnóticos, anestésicos y anticonvulsivos, ya que dependiendo del barbitúrico y de la dosis empleada pueden generar desde una sedación leve hasta el coma. En nuestros días han sido reemplazados por otros tranquilizantes más seguros como las benzodiacepinas. También fueron utilizados con fines no terapéuticos adquiriendo nombre populares como “Bella durmiente”, “Azules”, “Amarillas”, “Púrpuras”, “Pájaros rojos” entre otros.

La principal vía de administración de los barbitúricos es la oral, especialmente cuando se utilizan con fines sedantes o hipnóticos, ya que estos compuestos presentan una rápida absorción y prácticamente completa por vía gastrointestinal. Las sales sódicas se absorben más rápidamente que las formas ácidas, y la absorción se ve retrasada por la presencia de alimentos en el estómago.

En algunos casos puede administrarse mediante inyecciones intramusculares profundas en músculos grandes para evitar la posible necrosis que puede generarse en localizaciones más superficiales. La administración intravenosa se emplea sólo en casos especiales como el tratamiento de crisis epilépticas (fenobarbital sódico) o para la inducción y mantenimiento de anestesia general (tiopental).

En cuanto a su distribución, los barbitúricos se distribuyen ampliamente, pudiendo incluso atravesar la barrera placentaria. Los barbitúricos ingresan también en tejidos como músculo y tejido adiposo, manifestando mayores volúmenes de distribución y consecuentemente menores concentraciones plasmáticas. Los barbitúricos, especialmente los que tienen mayor liposolubilidad, sufren redistribución después de la inyección intravenosa.

La mayoría de los barbitúricos sufre metabolización y/o conjugación en el hígado, para ser eliminados luego en orina, excepto el fenobarbital y el aprobarbital que son menos liposolubles. Cerca del 25% del fenobarbital y prácticamente todo el aprobarbital se eliminan inalterados en orina. La reacción de biotransformación más importante que sufren estos compuestos es la

oxidación del radical que presentan en el C5 ya que esta reacción frecuentemente involucra la inactivación del compuesto. Estos derivados oxidados se eliminan como tales en orina o conjugados con glucurónido. Existen algunos casos especiales como el del fenobarbital donde la N-glicosilación resulta importante en la metabolización.

Estos compuestos pueden sufrir variadas reacciones de biotransformación que incluyen N-hidroxilación, desulfuración, apertura del anillo, N-desalquilación, para generar metabolitos activos. Las personas jóvenes metabolizan más rápidamente los barbitúricos que los ancianos y los niños. Existen ciertas situaciones fisiológicas y patológicas que pueden alterar las vidas medias de estos compuestos, por ejemplo suelen aumentar durante el embarazo debido al aumento del volumen de distribución y en enfermedades hepáticas crónicas como la cirrosis. Por otro lado la vida media de algunos barbitúricos como el fenobarbital puede disminuir ante la administración repetida fundamentalmente debido a la inducción en las enzimas microsómicas que esta droga genera.

Sea de forma inalterada o como sus metabolitos, los barbitúricos se eliminan en orina, siendo posible aumentar la excreción mediante procedimientos que promueven la diuresis osmótica o la alcalinización de la orina.

Los barbitúricos actúan en inhibición postsináptica en células del tálamo, piramidales y con inhibición presináptica en células de médula. Se unen a un sitio específico en los canales iónicos sensibles al ácido γ-aminobutírico (GABA) encontrados en el SNC. GABA es el mayor neurotransmisor inhibitorio del SNC. Los barbitúricos actúan sobre el mismo receptor (GABA A) que las benzodiacepinas, pero ejercen su acción uniéndose a otro sitio de unión distinto al cual se unen las benzodiacepinas o el GABA. Al unirse los barbitúricos potencian las corrientes de cloruro inducidas en presencia del GABA, mediante la prolongación de los períodos durante los cuales permanece abierto el canal y por tanto se producen esas corrientes de Cl^- ; y no por el aumento de la frecuencia de apertura del canal como lo hacen las benzodiacepinas.

En dosis mayores, los barbitúricos se comportan como compuestos GABA^{miméticos}, es decir estimulan los receptores GABA A directamente en la ausencia del GABA. A mayores concentraciones (anestésicas) los barbitúricos pueden actuar sobre los receptores de glutamato (neurotransmisor excitatorio) en el SNC, especialmente inhibiendo los receptores AMPA y disminuyendo las corrientes de entrada de Na^+ a través de los mismos; con lo cual suprime la activación de estas neuronas.

Esta multiplicidad de sitios de acción de los barbitúricos puede ser la base de su capacidad de inducir anestesia clínica completa y de sus efectos depresores centrales más pronunciados en comparación con las benzodiacepinas, que dan como resultado su bajo margen de seguridad, como se muestra en la Figura 6.

Los barbitúricos se emplean en el tratamiento de emergencia de convulsiones, como ocurre en el tétanos, eclampsia, estado epiléptico, hemorragia cerebral entre otras. Los barbitúricos de acción ultra-corta y corta se emplean sólo cuando se debe usar anestesia general para controlar las convulsiones refractarias a otras medidas.

Las dosis hipnóticas de barbitúricos aumentan el tiempo total de sueño y alteran las etapas del sueño. Al igual que las benzodiazepinas, estos fármacos disminuyen la latencia del sueño, el número de despertares y las duraciones de los ciclos REM. Durante la administración nocturna repetitiva se produce cierta tolerancia farmacocinética ya que como los barbitúricos son inductores del sistema CYP450 la metabolización es más rápida y el efecto es menor con lo cual se requiere una dosis mayor para alcanzar la misma respuesta.

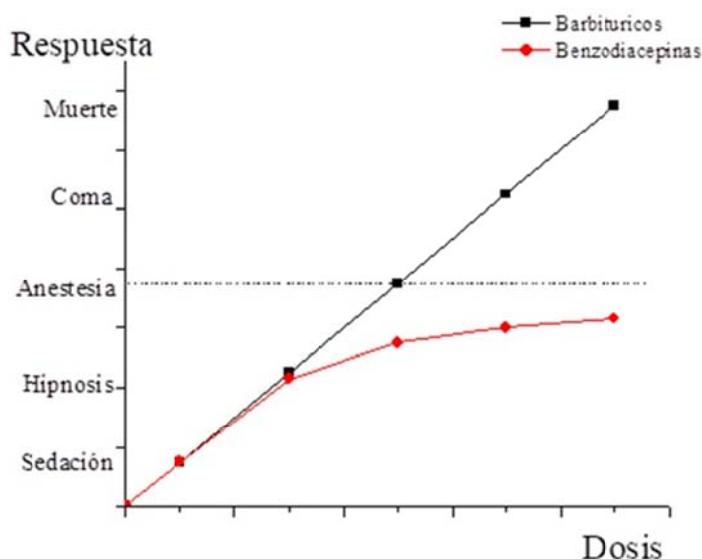


Figura 6: Curva Dosis-Respuesta para Barbitúricos y Benzodiacepinas. La diferencia entre las respuestas alcanzadas a dosis altas por ambos tóxicos se relaciona con los diferentes mecanismos de acción de cada uno de ellos en esas situaciones

La suspensión de la administración puede generar un rebote en todos los parámetros que habían disminuido con los barbitúricos. Algunos barbitúricos (oxibarbituratos) en dosis bajas tienden a disminuir el tono de la musculatura gastrointestinal y la amplitud de las contracciones rítmicas, por lo cual producen retraso peristáltico.

Debemos tener en cuenta los efectos que resultan de la administración conjunta de barbitúricos con otros depresores del SNC. El más frecuente es el etanol y esta combinación resultará en una depresión severa del SNC. Lo mismo ocurre con antihistamínicos e inhibidores de la monoamino oxidasa que también son depresores del SNC.

Otro aspecto de la interacción de medicamentos es la influencia que tiene la inducción del CYP₄₅₀ por parte de los barbitúricos sobre el metabolismo de otros fármacos y sustancias endógenas. En estas situaciones se puede ver alterada la mineralización ósea y la absorción de Ca⁺² ya que se acelera el metabolismo de las vitaminas K y D. Así mismo se acelera el metabolismo de hormonas esteroideas endógenas y exógenas (anticonceptivos) generando alteraciones endocrinas o embarazos no deseados.

Del mismo modo puede generarse una mayor cantidad de metabolitos tóxicos de ciertos anestésicos clorados y de tetracloruro de carbono, lo cual promoverá la peroxidación lipídica y la necrosis periportal que producen estos agentes en el hígado.

Frecuentemente los barbitúricos son consumidos junto con drogas estimulantes como anfetaminas o cocaína, para contrarrestar efectos. Usualmente se emplean dosis altas de estas sustancias y esta combinación resulta altamente peligrosa ya que puede derivar en un aumento del ritmo cardíaco y falla coronaria.

Si bien hoy en día, la frecuencia de los casos de intoxicación con barbitúricos ha disminuido bastante, especialmente por la disminución de su uso como sedantes o su reemplazo por las benzodiacepinas, aún se registran algunos casos que presentan una etiología suicida o accidental en niños o droga-dependientes.

En términos generales se producirá una intoxicación grave cuando se ingiere más de 10 veces la dosis hipnótica de una sola vez; y si se ingiere acompañada de otros depresores del SNC, como el alcohol, la dosis necesaria para provocar este efecto es menor.

En estos casos el paciente presenta un estado comatoso, con una respiración lenta o rápida y superficial. Esto deriva en acidosis respiratoria e hipoxia cerebral, también se observa descenso de la presión debido a la acción del fármaco y a los efectos de la hipoxia sobre los centros vasomotores medulares. En este cuadro se generarán complicaciones pulmonares y renales que tendrán efectos fatales si no se instaura un tratamiento.

Como tratamiento se toman medidas de soporte que tiendan a mantener los parámetros vitales en niveles adecuados, asegurar la funcionalidad de la vía respiratoria y una adecuada ventilación y oxigenación del paciente. Luego puede emplearse el lavado gástrico si no han transcurrido más de 24 hs desde la ingesta. Si las condiciones del paciente lo permiten (función renal y cardíaca conservadas, paciente hidratado) se puede emplear la diuresis forzada y la alcalinización de la orina para acelerar la excreción de aprobarbital y fenobarbital.

Toxicología de los antidepresivos y antipsicóticos.

Antidepresivos tricíclicos

Podemos clasificar a los fármacos antidepresivos según su mecanismo de acción farmacológica en cuatro grupos como (I) efectores no selectivos de receptores de aminas bioactivas, dentro de los cuales están los antidepresivos tricíclicos y los antidepresivos heterocíclicos, (II) inhibidores de la captación de la serotonina, (III) inhibidores selectivos y reversibles de la monoamino oxidasa e (IV) inhibidores irreversibles y no selectivos de la monoamino oxidasa (IMAO). Como ejemplo de antidepresivos tricíclicos se encuentran la amitriptilina y la imipramina, ambos de uso muy frecuente. Dentro de los antidepresivos heterocíclicos encontraremos a la trazodona y la mianserina. Dentro de los inhibidores de la recaptación de la serotonina son frecuentemente usados la fluoxetina y sertralina. Como ejemplos de inhibidores selectivos y no selectivos de la monoaminoxidasa (IMAO) encontramos a la fenelclina y a la moclobemida respectivamente.

En este universo de fármacos, los mayores riesgos de intoxicación aparecen con los antidepresivos tricíclicos, tanto por la frecuencia de uso, por los márgenes terapéuticos menores y por

mayor disponibilidad para el paciente automedicado. El resto de los fármacos antidepresivos y antipsicóticos actualmente utilizados, son bastante seguros y rara vez son los responsables de cuadros de intoxicación aguda. En el caso de los IMAO es relevante mencionar su interacción sinérgica con las aminas biógenas presentes en algunos alimentos, como algunos quesos madurados y otros alimentos fermentados.

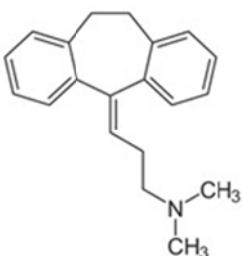


Figura 7: Estructura de la amitriptilina, el antidepresivo tricíclico más representativo

Por otro lado, dada la naturaleza compleja de los síndromes correspondientes a las alteraciones neuropsiquiátricas, la polimedición es una situación frecuente en pacientes con este tipo de patologías. Además, muchas veces se hace necesario tratar RAMs, muy frecuentes en los psicofármacos, de manera que la actitud médica es de constante vigilancia, haciendo ajustes de las dosificaciones y de los fármacos administrados, cada vez que fuera necesario. Son estos pacientes los que con más frecuencia son víctimas de intoxicación aguda, por propia decisión o por sobredosificación accidental. De manera que en un cuadro agudo de estos pacientes, debe evaluarse cuidadosamente la coexistencia con otros síntomas y signos propios de la polimedición, de la misma patología psiquiátrica o de una causa neurológica subyacente, que pueden confundir el diagnóstico y por lo tanto inducir a error en el tratamiento.

Los antidepresivos tricíclicos y heterocíclicos presentan **toxicidromes** muy similares y difíciles de distinguir. Pero dado que la estrategia terapéutica es confluente, esto no es un gran problema durante la urgencia. Respecto de su cinética por vía oral, tras su ingesta alcanzan concentraciones plasmáticas máximas dentro de las 2 a 8 horas. Estos tiempos se acortan si la administración es por vía intramuscular. Son sustancias lipofílicas, de manera que presentan volúmenes de distribución elevados y una importante tasa de unión a proteínas. Esto explica por qué la diuresis y la diálisis no son eficaces en una desintoxicación para un cuadro agudo. El metabolismo es hepático y renal, con marcada circulación enterohepática, típica de las sustancias lipofílicas. La vida media de estas drogas es variable de entre 7 y 60 horas, reportándose tiempos más prolongados si hay una sobredosis. Algunos antidepresivos tricíclicos tienen metabolitos hepáticos con actividad farmacológica, de manera que en estos casos, la concentración plasmática de la droga madre no necesariamente va a corresponderse con el estado clínico del paciente. Por otro lado, si se producen efectos muscarínicos, una de las consecuencias es el retraso del vaciamiento gástrico, lo que prolonga en el tiempo el pico de concentración sérica y agravando el cuadro inicial.

Las dosis terapéuticas de los antidepresivos tricíclicos son de entre 2 y 4 mg/Kg. Con dosis mayores a 10 y hasta 20 mg/Kg aparecerán los primeros efectos francamente tóxicos, concomitantes con un retraso del vaciamiento gástrico, que modificará la cinética de absorción. Las dosis letales se encuentran a partir de los 20 mg/Kg, con un riesgo vital neto a partir de los 35 mg/Kg. Los cuadros de intoxicación se manifiestan mediante efectos anticolinérgicos, efectos mixtos sobre el SNC, efectos cardíacos y efectos antihistamínicos por antagonismo con los receptores H1 y H2. Los efectos anticolinérgicos se pueden manifestar por midriasis (dilatación anormal de la pupila), taquicardia, visión borrosa, sequedad de las mucosas, disminución de la motilidad del tracto digestivo, íleo (occlusión del intestino), hipotermia y retención urinaria. Las acciones sobre el SNC se manifiestan con somnolencia, delirios, alucinaciones, temblores generalizados y crisis comiciales (ataques epilépticos de origen no endógeno), con un cuadro que puede progresar hasta el coma. Los efectos cardíacos, que constituyen la primera causa de muerte por estas drogas, se producen por una acción sobre los canales de sodio, con disminución de la velocidad de despolarización, un prolongamiento de la etapa de repolarización y un aumento del período refractario.

El laboratorio entregará información relevante, como la determinación plasmática de la droga. Otro parámetro útil es la medida de la acidosis metabólica, dado que a menores pHs aumenta la fracción libre de la droga y por lo tanto se agudizan los efectos clínicos. Estas determinaciones se acompañan de una monitorización de la glucemia, la determinación de gases en sangre arterial, la calcemia y perfil hepático. Las concentraciones plasmáticas de la droga no se correlacionan con las manifestaciones clínicas y electrocardiográficas, de manera que este dato no influye mayormente, ni en la estrategia terapéutica ni en el tratamiento.

Existe una considerable cantidad de pruebas cromáticas de toque que pueden utilizarse para la determinación cualitativa de antidepresivos tricíclicos con cierto grado de especificidad y que son especialmente útiles para la detección en orina. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que en una etapa inicial de un cuadro agudo puede producirse retención de orina, de manera que las primeras muestras pueden contener cantidades insignificantes de la droga y sus metabolitos, aún en presencia de concentraciones altas en sangre. También se han reportado numerosas técnicas cromatográficas (principalmente TLC y HPLC), que permiten una cuantificación más precisa y con muchas menos interferencias. Sin embargo, la cuantificación plasmática de los antidepresivos tricíclicos pocas veces aporta un dato relevante para el pronóstico o el tratamiento de los pacientes.

Durante el tratamiento de los pacientes, además del mantenimiento de las funciones respiratorias y circulatorias básicas, el tratamiento de la deshidratación si la hay, se impone el tratamiento farmacológico con bicarbonato para la alcalinización de la orina. El lavado gástrico y/o el tratamiento con carbón activado son acciones que dependen del tiempo transcurrido desde la ingesta, y quedarán a criterio médico. Es habitual el tratamiento con benzodiacepinas para el tratamiento de las crisis comiciales, y con fisostigmina como antídoto para el tratamiento de los efectos anticolinérgicos. Esta batería farmacológica puede obligar a un monitoreo clínico y de laboratorio estricto, que puede incluir un MTD para algunas de estas drogas de ataque.

Toxicología de los analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos.

Salicilatos

Los salicilatos poseen propiedades antitérmicas, antiinflamatorias. Son utilizados de manera frecuente como analgésicos y muchas veces de libre disponibilidad. Son un grupo de fármacos derivados del ácido salicílico e incluye al ácido acetilsalicílico (aspirina), al acetilsalicilato de lisina, al salicilato sódico, al ácido salicilsalicílico y otros, con numerosas formulaciones existentes tanto para adultos como para tratamiento en pediatría. La intoxicación por salicilatos es hoy en día mucho menos habitual que la intoxicación por acetaminofeno. Esto es consecuencia de la evolución de las tendencias en la prescripción de antitérmicos, sobre todo frente a la evidencia que asocia a los salicilatos al síndrome de Reye.

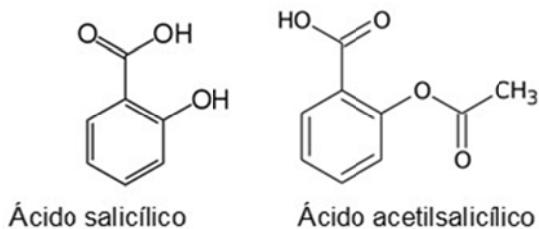


Figura 8: Estructura de los salicilatos más representativos.

En general presentan una biodisponibilidad alta (80% al 100%), alcanzando el pico de concentración sérica en menos de 30 minutos. El volumen de distribución de la droga varía en las sobredosis, aumentando por efecto de la disminución del pH de líquido extracelular. Es así que para una dosis terapéutica, el Vd informado para ácido acetilsalicílico es de 0,15 a 0,21 L/Kg, mientras que con dosis mayores a 300 mg/Kg el Vd alcanza valores de 0,51 L/Kg. El metabolismo del acetilsalicilato es rápido, con tiempos de vida media plasmática inferiores a una hora. Sin embargo, el salicilato que puede ser administrado directamente o generarse por metabolismo de un derivado de salicilatos, para dosis bajas es de 2 a 3 horas y se incrementa hasta 15 y 30 horas para casos de intoxicación en donde hay además importantes variaciones del pH plasmática y fundamentalmente urinario que dificultan su eliminación.

El salicilato presenta veloz metabolización hepática hacia varios intermedios, que da cuenta de un marcado efecto de primer paso, es decir, es este metabolismo hepático el que explica la notable disminución de la biodisponibilidad de las dosis por vía oral. En dosis altas, el metabolismo hepático que a dosis bajas presenta cinética de orden 0, puede saturarse y disminuir el potencial efecto protector, pudiendo llegar a observarse que, luego del punto de saturación, con pequeños incrementos de las dosis por vía oral se observarán grandes incrementos de los niveles plasmáticos.

La eliminación es principalmente renal en forma de ácido salicilúrico, con un pequeño porcentaje eliminado en la forma de ácido salicílico libre. Todas estas sustancias, incluyendo va-

rios intermedios menores, son ácidos débiles con un pK cercano a 3,5, de manera que la eliminación renal es dependiente del pH de la orina.

El diagnóstico del paciente intoxicado se realiza mediante la anamnesis, el cuadro clínico y la determinación de salicilatos en orina y/o en plasma. Para la identificación de salicilatos en orina se cuenta con algunas reacciones rápidas de toque. El test del FeCl_3 es una prueba de screening sensible e inespecífica que permite confirmar una sospecha médica, si no se cuenta con métodos de dosaje sérico suficientemente rápidos.

El test del FeCl_3 consiste en el agregado de 1 mL de FeCl_3 al 10% a 1 mL de orina, preferentemente en placa de toque. En presencia de salicilatos, aparece un color de púrpura a violeta. El test es inespecífico, dado que puede dar positivo con cetonas, por lo que puede ser necesario hacer un diagnóstico diferencial con una cetoacidosis alcohólica o diabética. Además es excesivamente sensible, pudiendo dar positivo con valores normales de salicilatos. Por estas razones, la salicilemia es el dato de laboratorio definitivo que deberá obtenerse en el caso de contar con la técnica para ello.

Si hubiese disponible contenido estomacal, producto por ejemplo de maniobras para producir la emesis como parte del tratamiento de urgencia, puede ser una muestra alternativa válida la búsqueda de salicílico. Es posible aplicar el ensayo del FeCl_3 , pero con una previa hidrólisis que permita obtener ácido salicílico a partir del acetilsalicílico no absorbido, que puede realizarse tratando 1 mL de muestra con HCl (0,1 mol/l en agua) y calentando a 100°C durante 10. Luego de enfriar y filtrar si fuera necesario, se neutraliza con 1 mL de solución acuosa de hidróxido de sodio (0,1 mol/l) para recién desarrollar el test descripto en el párrafo anterior.

La salicilemia puede determinarse mediante espectrofotometría con el método de Trinder o mediante HPLC/UV. Ambos métodos son suficientemente sensibles en las condiciones de un paciente intoxicado. Sin embargo, el método de Trinder tiene como interferentes al fluoruro y al oxalato, de manera que se tendrá cuidado en el anticoagulante utilizado al obtener las muestras de plasma, si es éste el método elegido.

Los signos y síntomas clínicos iniciales, la estimación de la dosis y la medición de los niveles de salicilato plasmáticos son elementos que permiten evaluar la severidad de los cuadros agudos. En el caso de los cuadros más crónicos, es la evaluación clínica la determinante en el pronóstico. En condiciones terapéuticas, el valor de salicilatos plasmáticos oscila en valores de 150 a 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Con este rango de referencia, en un cuadro agudo leve o moderado arrojará valores dentro del rango terapéutico, en cuadros de toxicidad severa se encontrarán valores séricos de entre 300 y 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en casos graves con riesgo de muerte los valores plasmáticos superarán los 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y si alcanzan valores por encima de 1200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, el pronóstico más probable es la muerte del paciente. En pacientes intoxicados de manera crónica con salicilatos, se encontrarán manifestaciones clínicas similares a los agudos, pero con concentraciones séricas de salicilato mucho menores que las correspondientes a los estadios agudos. Este fenómeno ocurre porque habrá un amento del Vd determinado por los cambios de pH. Es de consenso médico que los cuadros clínicos de intoxicación no se correlacionan bien con los valores séricos de salicilatos en los casos agudos y mucho menos en los originados por intox-

caciones crónicas. Por otro lado, luego de una intoxicación aguda, los picos plasmáticos suelen alcanzarse entre 4 y 6 horas después de la ingesta, de manera que lo más adecuado es la toma de muestra después de las 4 horas de la estimación de la misma.

A partir de las intoxicaciones moderadas, en el laboratorio se encontrarán trastornos electrolíticos y acidosis metabólica con gap aniónico aumentado. Estos parámetros se agravan con el aumento de los valores séricos de salicilatos. El seguimiento del paciente intoxicado bajo tratamiento es mediante la valoración de glucemia, calcemia, fosfatemia, magnesemia y función renal mediante el dosaje de urea y creatinina.

Un procedimiento utilizado para aumentar la velocidad de eliminación urinaria consiste en la administración de bicarbonato hasta alcanzar un pH 8,0 en la orina, lo que permite eliminar rápidamente más de un 30% del salicílico circulante en menos de dos horas. La calcemia es un parámetro difícil de estabilizar durante la terapia alcalinizante y deberá ser controlada por el laboratorio. Durante dicha terapia se debe mantener el pH arterial en valores de entre 7,40 y 7,50 sin que se superen las 7,55 unidades de pH. En el mismo período, el pH urinario se debe mantener en valores de entre 7,5 y 8,0.

Reporte de caso típico: luego de una discusión familiar, una joven de 21 años es trasladada a la guardia por haber ingerido recientemente al menos 15 comprimidos de Ecotrin®. La paciente se mostraba confusa al ingreso y se quejaba de náuseas, dolor abdominal y acúfenos (percepción de sonidos en el oído que no provienen de ninguna fuente externa). Se solicitó laboratorio sanguíneo seriado, se obtuvo muestra de orina y se midieron los gases en sangre. Se observó una alcalosis respiratoria, con pH elevado, con una PaCO₂ baja y un bicarbonato en el límite bajo. El tratamiento de ataque fue carbón activado y, además, 1 litro de dextrosa al 5% intravenosa con 40 mmol de potasio endovenoso. El ensayo de FeCl₃ en orina, da un resultado francamente positivo.

Toxicología de los analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos. Acetaminofeno

El acetaminofeno (paracetamol) es el analgésico-antipirético de más frecuente prescripción en todo mundo, además de ser uno de los fármacos más importantes en la autoprescripción. Es de fácil accesibilidad, de manera que se encuentra presente en la mayoría de las familias y es por esta razón que es la primera causa de intoxicación medicamentosa, por causas accidentales y voluntarias, estableciéndose como la causa de intoxicación más frecuente en menores de cinco años, mayoritariamente por circunstancias accidentales. Dentro de las causas de insuficiencia hepática aguda, es también una de las más frecuentes.

La dosis terapéutica en pediatría es de 15 mg/kg/toma, con intervalos de entre 4 y 6 horas, sugiriéndose dosis óptimas de 30 mg/Kg/día. La dosis mínima tóxica en el niño se sitúa en 140 mg/kg, observándose tolerancias a la respuesta tóxica con dosis de hasta 200 mg/kg. El máximo terapéutico en adultos es de 1 gr/toma para 90 mg/kg/día.

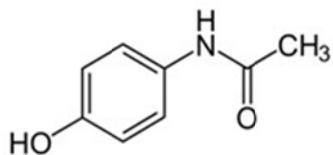


Figura 9: Estructura del acetominofeno.

El acetaminofeno se metaboliza en el hígado mediante varias vías que se muestran en la Figura 1, que dan lugar a metabolitos conjugados por un lado y por otro a metabolitos producto de la oxidación o la desacetilación, que son los responsables de los distintos mecanismos de acción tóxica. El principal es el N-acetil-p-benzoquinoinamina (NAPQI), generado por la acción del citocromo P450(CYP)2E1, que en dosis terapéuticas se conjuga con glutatión y se elimina por vía renal. Por otra vía, de desacetilación y conjugación con ácido araquidónico, se forma AM404. Su inmediato precursor, el p-aminofenol, puede ser detoxificado mediante la acción de sulfotransferasas y eliminado por orina. En condiciones terapéuticas normales, los derivados glucuronizados, sulfatados y conjugados con glutatión prevalecen y son los responsables de hasta el 95% del metabolismo de la droga, excretándose entonces por vía renal.

En una sobredosis, la sulfatación y la glucuronización se ven saturadas, comenzando a pre-
valecer la vía oxidativa y de desacetilación. Por otro lado, en el feto, el recién nacido y los niños
pequeños, la conjugación se encuentra disminuida, de manera que se satura a dosis menores.
En sobredosis persistentes y altas con agotamiento del glutatión, el NAPQI excedente provoca-
rá necrosis centrolubillar por unión a proteínas hepáticas y probablemente sea el responsable
de la alteración de la función tubular. La analgesia a altas dosis se producirá por activación del
receptor endocannabinoide cerebral CB1 por parte del AM404. Finalmente, el agotamiento del
glutatión y la alteración de su metabolismo, da lugar a una acidosis metabólica que se manifies-
ta junto con un gran aumento de ácido piroglutámico en sangre y orina.

Una dosis mortal para adulto se sitúa en alrededor de 10 gr, pero podría ser menor en pa-
cientes con malfunción hepática previa, en pacientes bajo tratamiento con inductores enzimáti-
cos como los barbitúricos, o en pacientes bajo tratamiento con fármacos que consumen gluta-
tión, como la doxorrbicina, un antineoplásico de uso frecuente en leucemias y algunos carci-
nomas. La intoxicación más frecuente es la que se observa por dosis agudas y únicas de ace-
taminofeno, en donde se encontrará un antecedente claro de ingesta de alguna formulación de
paracetamol, que luego de la anamnesis facilita el diagnóstico. En el caso de los pacientes
pediátricos, se habla de dos tipos de pacientes: por un lado el escolar o preescolar que ingiere
grandes cantidades de formulaciones pediátricas, estimulado por sus características sensoria-
les (oler, colores y sabores agradables) y por otro lado el adolescente que consume grandes
cantidades con propósitos suicidas. Éste es el segundo perfil de paciente que más frecuen-
temente evoluciona hacia un cuadro de insuficiencia hepática aguda grave, que requiere tras-
plante o que tiene como resultado la muerte.

La intoxicación crónica es menos frecuente, pero de mayor mortalidad, describiéndose casos en niños en edad preescolar con fiebre, muchas veces malnutridos y deshidratados, que reciben dosis supraterapéuticas de manera repetidas, por error en la automedicación por parte de sus tutores. También presenta cierta frecuencia el perfil del paciente adolescente con alcoholismo incipiente (enolismo) que consumen recurrentemente dosis altas de acetaminofeno para el tratamiento de dolores inespecíficos, propios de dicha patología. Según la información disponible, las dosis de acetaminofeno necesaria para causar toxicidad crónica es de >150 mg/kg/día durante más de 2 días.

El tiempo de protrombina como indicador de daño hepático puede alterarse entre las 12 y las 36 horas de ocurrida la ingesta. El dosaje de acetaminofeno en plasma ayuda al diagnóstico y acompaña el pronóstico de los pacientes, siendo el parámetro más importante para la evaluación de la terapia para protección hepática. El tratamiento del paciente intoxicado con metionina o N-acetilcisteína (NAC) puede proteger contra los daños hepáticos, si se administra dentro de las primeras 12 horas de ocurrida la ingesta. Como ensayo preliminar se cuenta con test rápidos que permiten identificar la presencia de la droga en orina, como forma de evaluar pacientes con cuadros compatibles con una intoxicación de este tipo dentro de las 24 horas de producida la probable ingesta.

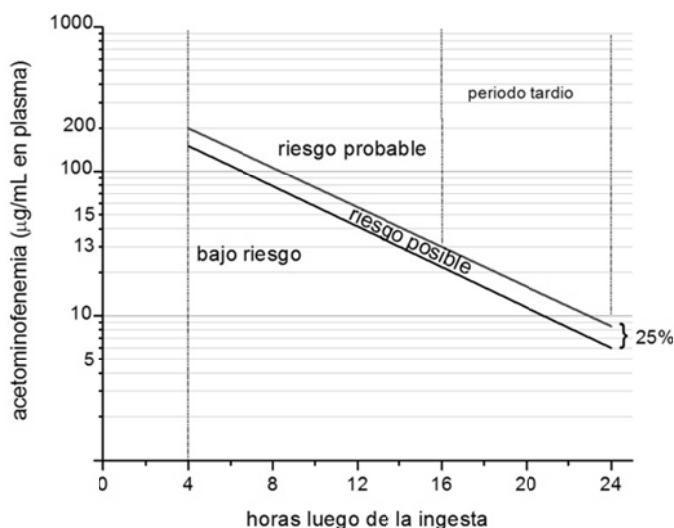


Figura 10: Nomograma de Rumack-Matthew para la predicción del riesgo de hepatotoxicidad por ingesta de acetaminofeno. Un riesgo probable se define como la probabilidad de hepato-toxicidad superior al 60% y de mortalidad mayor al 5%.

Los valores plasmáticos terapéuticos de acetaminofeno se encuentran entre 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que en paciente intoxicado se encontrarán valores por encima de 30 y hasta 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Mediante un análisis retrospectivo de pacientes que presentaron hepatotoxicidad (GOT $> 1000 \text{ UI/L}$), en 1975 fue propuesto el nomograma de Rumack-Matthew (Figura 10), que predice el riesgo de hepatotoxicidad en función de la concentración sérica de acetaminofeno y el tiempo transcurrido desde la ingesta, tal como se muestra en la tabla 6. Este nomograma está

basado en una estimación rápida de la cinética del metabolismo hepático de la droga, que como se indicó se puede alterar por el grado de afectación de la función. Este nomograma indica cuales son los valores de acetaminofeno que indicarían el tratamiento con NAC para la intoxicación aguda.

En este nomograma, un valor de acetaminofenemia de una muestra obtenida antes de las 4 horas de la ingesta no tiene valor predictivo, dado que aún la absorción y la distribución pueden ser todavía procesos significativos. Por otro lado, en períodos tardíos, por encima de las 16 horas, también el nomograma pierde parte de su poder predictivo, dado que en pacientes con un daño hepático agudo importante, que puede manifestarse de manera tardía como una detoxificación hepática alterada, se modifica la cinética plasmática de la droga y por lo tanto su relación con las probabilidades de daño hepático permanente. Aun habiendo pasado bastante tiempo desde que fue propuesto, el nomograma de Rumack-Matthew sigue siendo útil para la toma de decisiones en el tratamiento del paciente intoxicado.

Tabla 5: Nomograma de Rumack-Matthew que establece la necesidad de tratamiento con NAC, en función de la acetaminofenemia en el paciente con intoxicación aguda

Tiempo estimado transcurrido desde la ingesta	Tratamiento con NAC si la concentración de acetaminofeno en plasma es mayor a
4 horas	150 µg/mL
6 horas	100 µg/mL
8 horas	80 µg/mL
10 horas	50 µg/mL
12 horas	30 µg/mL
14 horas	20 µg/mL
16 horas	10 µg/mL
18 horas	7 µg/mL
20 horas	6 µg/mL
22 horas	5 µg/mL
24 horas	4 µg/mL

El ensayo del FeCl_3 en orina descripto en el apartado anterior puede usarse con el mismo procedimiento y arrojará en este caso un color azul. Se cuenta con otros ensayos en placa de toque que también presentan suficiente sensibilidad y adecuada especificidad. Entre ellos se encuentra el ensayo de Nessler, que arroja un color marrón, el ensayo de Folin-Ciocalteu, con el que se obtiene un color azul, y el ensayo de Liebermann, que arroja un color violeta. Todos

estos ensayos son adecuados para el testeo de orina, y pueden ser utilizados en plasma, solo en pacientes con intoxicaciones muy graves, en donde las altas concentraciones arrojarán resultados más confiables. Existen disponibles también ensayos colorimétricos y procedimientos mediante cromatografía en capa delgada que se utilizarán en la medida de la disponibilidad del laboratorio y como ensayos complementarios para confirmar los resultados de los ensayos con placa de toque.

Reporte de caso típico: Una mujer de 22 años ingresa en urgencias por fracaso renal agudo. Entre sus antecedentes personales destacaba un intento de suicidio a los 14 años por ingesta de fármacos que se resolvió con lavado gástrico, y posteriormente tratamiento antidepresivo hasta los 18 años. Tres días antes de su ingreso ingiere 30 comprimidos de Blokium Gesic®, comenzando de manera casi inmediata con vómitos y dolor abdominal. Por el cálculo de la dosis, considerando la formulación, se estima que la paciente ingirió 12 gr de paracetamol. Se obtienen muestras de orina y sangre. Se observa una elevación de las enzimas hepáticas (GOT = 5.058 UI/L, GPT = 7.430 UI/L, LDH = 2.498 UI/L), alteración de las pruebas de coagulación (actividad de protrombina de 38%, tiempo parcial de tromboplastina activada de 29 segundos) e insuficiencia renal aguda (creatinina sérica 4.4 mg/dL, urea 105 mg/dL), ingresando en la unidad de cuidados intensivos. En las 48 horas siguientes se aprecia descenso de las transaminasas y mejoría de las pruebas de coagulación acompañadas de empeoramiento de la función renal y disminución del volumen de diuresis a 600 mL/24 horas, a pesar de dosis elevadas de furosemida intravenosa (360 mg/día). Se realizaron tres sesiones de hemodiálisis, comenzando al octavo día con aumento de la diuresis, mejoría progresiva de la función renal y normalización de las pruebas de función hepática.

Toxicología de los anticonvulsivantes. Carbamacepina

Entre los fármacos utilizados para el tratamiento de las convulsiones se encuentran la fenitoína, el ácido valproico y las carbamacepinas, dentro de las opciones clásicas. Otros de aparición más reciente son el felbamato, la lamotrigina y la gabapentina. Todos tienen mecanismos de acción diferentes y la elección terapéutica es en base al tipo de patología, a los procesos patológicos subyacentes a las convulsiones y a la respuesta de cada paciente particular al tratamiento farmacológico. La fenitoína por ejemplo, es el medicamento de primera elección para el tratamiento de la epilepsia y la neuralgia del trigémino, mientras que el ácido valproico es de primera elección para el tratamiento de las ausencias (pequeño mal) y de segunda elección para la epilepsia, refractaria a fenitoína. Por otro lado, la carbamacepina es utilizada en el tratamiento de varios tipos de alteraciones convulsivas, para el tratamiento de la neuralgia del trigémino y otras patologías.

La carbamacepina se absorbe rápidamente tras la ingesta oral, aunque presenta una variabilidad importante que depende de la formulación particular y de fluctuaciones propias de cada paciente. A veces se observarán absorciones lentas y en otras ocasiones, rápidas. Los niveles

plasmáticos terapéuticos de la carbamacepina oscilan entre 6 y 12 µg/mL. Una parte significativa se metaboliza en el hígado hasta el 10,10-epóxido, que alcanza concentraciones plasmáticas de entre 1 y 4 µg/mL y que también va a ser responsable de parte de la actividad farmacológica, con menor afinidad a proteínas y menores Vd. El pico de concentración se registra entre las 4 y las 12 horas de la ingesta, pero en la intoxicación aguda puede prolongarse hasta por 24 y hasta 72 horas. La unión a proteínas plasmáticas alcanza hasta un 75% y llega hasta Vd de entre 0,8 y 1,4 L/Kg. La vida media de eliminación en un paciente que inicia un tratamiento con carbamacepina es de 20 a 65 horas, valor que rápidamente disminuye en la medida que el tratamiento se prolonga.

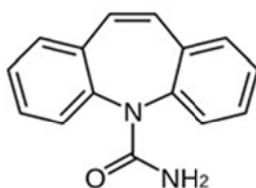


Figura 11: Estructura de la carbamacepina.

La carbamacepina administrada de manera crónica, induce el propio metabolismo de la droga, por inducción de P 450, CYP 3A3 y 3A4. Esto va a implicar que su vida media disminuye a valores de 8 a 17 horas, su Vd aumentará hasta un rango de entre 0,9 y 2,1 L/Kg y la vida media alcanzará valores de 18 a 65 horas para los adultos y de 8 a 19 horas para los niños.

El mecanismo de acción farmacológica de la carbamacepina estaría asociado a un papel anticolinérgico en el tronco cerebral y el cerebelo, similar al de los antidepresivos tricíclicos. El fármaco reduce la permeabilidad de las membranas neuronales a los iones sodio y potasio, fenómeno que induce la inhibición de la liberación del glutamato y otros neurotransmisores sinápticos, además de bloquear la recaptación de norepinefrina. Actúa también como un inhibidor de los receptores muscarínicos y nicotínicos, de los receptores adenosínicos cerebrales, además de interferir con los canales de sodio en el miocardio. Finalmente, estimula la secreción de la hormona antidiurética, con el correspondiente efecto fisiológico.

La intoxicación con carbamacepina, que aparece con valores séricos por encima de 12 µg/mL, en ocasiones da lugar a cuadros dependientes. Dado el fenómeno de inducción enzimática descripto, será importante distinguir una sobredosis tóxica en pacientes bajo tratamiento de la sobredosis en pacientes que ingieren una única dosis, sin antecedentes previos. En este segundo caso, la toxicidad aparecerá en dosis de 20 a 30 mg/Kg, con riesgo de muerte en dosis por encima de los 140 mg/Kg. En consumidores crónicos, se han reportado intoxicaciones no fatales con dosis de hasta 640 mg/Kg.

La mayoría de los casos descritos de intoxicaciones agudas por carbamacepina son intentos de suicidio o en el menor de los casos homicidio. El **toxicodrome** para este fármaco es una

combinación de síndrome anticolinérgico, alteraciones en el movimiento voluntario y coma. En las primeras etapas puede reportarse dolor de cabeza y dolor abdominal, además de vómito, diarrea o constipación, disminución o aumento de los reflejos tendinosos profundos, disartria (dificultad para articular palabras), ataxia (dificultad en la coordinación de movimientos voluntarios), nistagmus (movimiento involuntario, rápido y repetitivo de los ojos), diplopía (visión doble) e hipotensión. Si prevalecen las manifestaciones anticolinérgicas, se observará hipertermia, taquicardia sinusal (aumento paulatino de la frecuencia cardíaca hasta por encima de 100 pulsaciones por minuto), hipertensión, retención urinaria, midriasis (dilatación anormal de la pupila) e íleo (occlusión del intestino). En algunos pacientes pueden aparecer modificaciones violentas del humor y alucinaciones.

La clínica revelará un cuadro que puede confundirse con una intoxicación por drogas hipnótico-sedantes, pero se distingue por la mayor afectación sobre el sistema cerebelo-vestibular, central y anticolinérgico periférico, elementos que deberán ser identificados por el médico. Además, la intoxicación con neurolépticos suele provocar alteraciones del movimiento que le son propias. En particular, la carbamacepina es un anticonvulsivante en bajas dosis pero en sobredosis es un potente proconvulsivante, de manera que pueden observarse movimientos coreoatetósicos (movimientos involuntarios anormales de las extremidades que pueden semejar un baile), hemibalismo (movimientos espásticos, involuntarios, rápidos, sin coordinación, especialmente en las extremidades superiores), nistagmus y oftalmoplejía (incapacidad para mover voluntariamente el globo ocular). Son características las fluctuaciones de nivel de conciencia, con repentinhas mejoras y empeoramientos, que reflejan el patrón errático de la absorción digestiva. Los cuadros de intoxicación suelen ser de poca gravedad, y salvo que existan situaciones superpuestas al cuadro tóxico basal, la recuperación ocurre dentro de las 48 horas siguientes a la ingesta. Si hay una evolución hacia la muerte del paciente, las causas más frecuentes están relacionadas a complicaciones respiratorias.

Considerando estos cuadros variables y muchas veces inespecíficos, sin la apropiada anamnesis, las intoxicaciones crónicas necesitarán del diagnóstico diferencial con hipoglucemia, patología neurológica primaria, síndrome serotoninérgico e intoxicación por etanol. En las intoxicaciones agudas es necesario descartar la intoxicación por antidepresivos tricíclicos, agentes anticolinérgicos y otros anticonvulsivantes.

Son parámetros útiles de laboratorio para el diagnóstico diferencial la glucemia, la alcoholemia y un screening general de drogas en orina. Por otro lado, será importante la determinación de los niveles plasmáticos de la droga, siendo sumamente relevante establecer la evolución temporal de ese valor. El objetivo será identificar el período en donde se encuentra el pico de concentración, y el seguimiento de los valores hasta una disminución por debajo de 10 µg/mL. En casos de una prolongación de la etapa de absorción, puede ser de utilidad el dosaje plasmático del metabolito principal, para establecer con claridad cuando termina dicha etapa. El criterio aplicado es que si la relación carbamacepi-

na/carbamacepina-epóxido supera el valor de 2,5, todavía estaremos en presencia de una etapa absorbtiva desde la cavidad gástrica.

Se cuenta con un ensayo cualitativo que permite la detección de la carbamacepina con sensibilidad baja pero suficiente en contexto de sobredosis, aplicable al contenido gástrico y a los residuos obtenidos en la escena. La prueba consiste en agregar 1 mL de la muestra y 1 mL de ácido clorhídrico (2 mol/L) a 5 mL de cloroformo. Se mezcla enérgicamente por 1 minuto y se centrifuga. Descartada la fase superior acuosa, se agrega 0,2 mL de solución de hipobromito de sodio fresca, mezclado por 30 segundos. El hipobromito se prepara disolviendo en frío (baño de hielo) 0,5 mL de bromo elemental en 5 mL de hidróxido de sodio (400 g/L). La formación de un color azul-violeta en la capa del cloroformo indica la presencia de carbamazepina en concentraciones por encima de 250 mg/L. Además, se encuentran descriptas numerosas técnicas cromatográficas (TLC y HPLC) que permiten el dosaje de carbamacepina libre y su derivado epóxido.

El tratamiento de la intoxicación por carbamacepina es de soporte y de tratamiento de los síntomas y signos. Dependiendo de la gravedad de cada manifestación, el paciente podrá requerir el tratamiento farmacológico con vasopresores, antiarrítmicos, benzodiacepinas y fenobarbital. Es de primera elección, frente a una sospecha, el empleo del carbón activado para la descontaminación digestiva.

Toxicología de los antiarrítmicos

Los antiarrítmicos, son un grupo particular dentro de los fármacos que tienen acción cardiovascular y generalmente se clasifican según cuál es su mecanismo de acción farmacológica, como se indica en la Tabla 6. Son heterogéneos desde el punto de vista de sus estructuras y mecanismos de acción, definiéndose como aquellos que actúan contra las alteraciones del ritmo cardíaco a dosis que no dan lugar a efectos adversos sobre el latido cardíaco. Son el tratamiento de elección en la mayoría de las arritmias, ya sean causadas por anomalías en el origen del impulso cardíaco por alteración del automatismo o por alteraciones en la secuencia de activación del miocardio por alteraciones de la conducción. Estas anomalías pueden ser causadas o por alteraciones en los mecanismos iónicos responsables de la dinámica de los potenciales de acción cardíacos o por alteraciones de tipo anatómico-funcional, lo que determina en última instancia cual será la estrategia farmacológica de elección.

Tabla 6: Clasificación de los fármacos antiarrítmicos, según su mecanismo de acción farmacológica

Grupo	Mecanismo de acción	Ejemplos
Ia	Bloqueo de canales de Na^+ dependientes del voltaje.	quinidina, procainamida
Ib		lidocaína, aprindina
Ic		propafenona, flecainida
II	Bloqueo de receptores α -RAM enérgicos.	propranolol, atenolol, bisoprolol, metoprolol
III	Prolongación de la duración del potencial de acción y del período refractario.	amiodarona, sotalol
IV	Bloqueo de los canales de Ca^{2+} dependientes del voltaje de tipo L.	verapamilo, diltiazem

Los escenarios de toxicidad de estos fármacos están habitualmente relacionados a los efectos adversos propios de las dosis terapéuticas, de manera que el dosaje de los fármacos o sus metabolitos en los fluidos del paciente (sangre, plasma, suero, orina, LCR) aportará muy poco en la toma de decisiones médicas. De manera menos frecuente, se encontrarán cuadros de intoxicación por sobredosis, habitualmente asociados a interacciones medicamentosas o a casos de susceptibilidad.

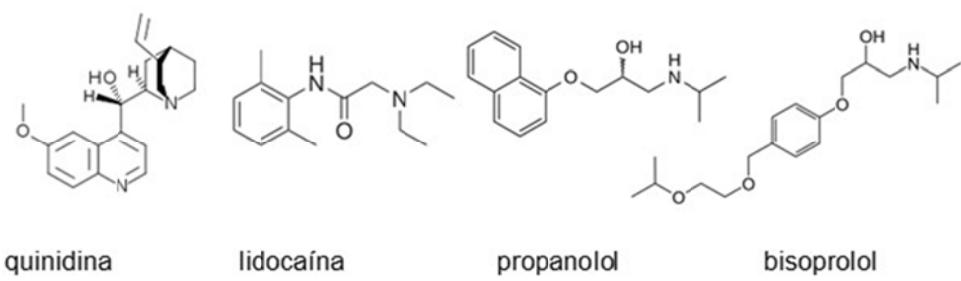


Figura 12: Estructura de algunos fármacos antiarrítmicos de uso frecuente

Para la quinidina, los RAMs más comunes descriptos son los de tipo digestivo como diarrea, anorexia, náuseas o émesis, y los anticolinérgicos como sequedad de las mucosas, disminución de la motilidad intestinal y visión borrosa. Estas manifestaciones tóxicas, dependiendo de su intensidad, indican la suspensión del tratamiento en una proporción significativa de los pacientes. Estas mismas RAMs son las que determinan la contraindicación en pacientes con miastenia grave, glaucoma o hipertrofia de próstata. Son menos frecuentes RAMs asociadas a la hipersensibilidad como la fiebre, la urticaria, el asma y algunas manifestaciones hematológicas y hepáticas.

En dosis supraterapéuticas, la quinidina puede producir un síndrome caracterizado por alteraciones neurológicas, como cefaleas, acufenos, dificultad de audición y vértigo, alteraciones visuales como visión borrosa, diplopía (visión doble) o alteración de la percepción de los colores, confusión, alucinaciones y psicosis, manifestaciones cardiovasculares como hipotensión grave, bloqueos AV e intraventriculares, bradicardia (disminución de la frecuencia cardíaca, depresión de la contractilidad y taquicardias polimórficas ventriculares. La aparición de algunos efectos sobre la función cardíaca aumenta cuando la administración es intravenosa. Este conjunto de alteraciones se conoce como cinconismo o quininismo y el tratamiento es simplemente la suspensión de la medicación.

La lidocaína es un anestésico local que presenta una alta afinidad por el estado en reposo del canal de Na^+ , siendo el fármaco de elección en el tratamiento de las arritmias ventriculares graves intrahospitalarias. Sus RAMs son de tipo neurológico, manifestándose vértigo, euforia, disartria (dificultad para hablar), parestesias (sensación de cosquilleo), temblor, visión borrosa, diplopía, nistagmo (movimiento involuntario de los ojos), ataxia (pérdida de la coordinación muscular), confusión mental, depresión respiratoria. También se manifiestan trastornos digestivos como náuseas y vómitos, cardiovasculares como depresión de la contractilidad, bradicardia, bloqueo AV, hipotensión y ensanchamiento del QRS. Las dosis supraterapéuticas o sobredosis pueden dar lugar a convulsiones que remiten con diazepam. De todos los antiarrítmicos, es el que tiene menos efectos cardiotóxicos. Las manifestaciones sintomáticas suelen aparecer en concentraciones plasmáticas de entre 3 y 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que los primeros signos aparecen en un rango de entre 6 y 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En pacientes sometidos a dosis letales, se han medido concentraciones plasmáticas superiores a 33 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se ha descripto que los pacientes con metabolismo acelerado pueden manifestar RAMs y manifestaciones tóxicas francas a concentraciones plasmáticas aún menores.

Las intoxicaciones con β -bloqueantes son muy poco frecuentes a pesar de ser de muy alta frecuencia de prescripción. Estas suelen ser especialmente severas, describiéndose mortalidades de entre el 4 y el 5%. Sin embargo, la mayoría de los RAMs y efectos tóxicos son predecibles de manera que en la práctica médica se reducen significativamente los riesgos simplemente excluyendo a los pacientes que presentan condiciones de riesgo preexistentes. Los β -bloqueantes antagonizan con los receptores β -adrenérgicos de manera competitiva y con gran afinidad con los β -bloqueantes endógenos, de manera que frente a una sobredosificación las dosis habituales de β -adrenérgicos son ineficaces, requiriéndose dosis más elevadas y con un tratamiento combinado para revertir los efectos.

Las manifestaciones tóxicas son de tipo cardiovascular como bradicardia e hipotensión, este último signo de mal pronóstico. En un cuadro severo, se describe un shock cardiogénico que es aún más grave en el caso de labetalol o carvedilol o en el tratamiento concomitante con un antagonista del calcio. De manera menos frecuente, puede aparecer un edema agudo, sobre todo en paciente con insuficiencia cardiaca previa. Aparecerán también manifestaciones neurológicas como somnolencia, obnubilación, agitación, alucinaciones; en casos más graves se sucederán convulsiones, depresión del nivel de conciencia y coma.

Los primeros signos de intoxicación aparecen con alteraciones en el electrocardiograma (ECG) entre 20 minutos y hasta 3 horas luego de la ingesta, con alargamiento del intervalo QT y otros. En el laboratorio se hallarán acidosis láctica, hipercaliemia (como manifestación de una insuficiencia renal aguda), hipocalcemia y citólisis hepática hipóxica. Es necesario tomar en cuenta algunas causas con cuadros similares que requieren diferenciación. Si el intervalo QT es normal, el diagnóstico diferencial será con hipotermia, intoxicación por opiáceos o compuestos organofosforados. En caso de un intervalo QT corto, el diagnóstico diferencial será con tóxicos digitálicos y cianuro. La intoxicación con amiodarona puede cursar con un cuadro similar, con un intervalo QT alargado.

Referencias

- American College of Medical Toxicology, Guidance document: management priorities in salicylate toxicity. *J Med Toxicol*, 11(1)149-152. 2015.
- Biancucci GF, et al. Manual de procedimientos analíticos toxicológicos para laboratorios de baja complejidad. Argentina: Asociación Toxicológica Argentina. 2007.
- Giglio, N.D., Malozowski, S. Prescripciones fuera de prospecto. *Arch Arg Ped*, 102 (2), 121-124. 2004.
- Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics - 11th Ed., USA: Laurence L. Brunton. 2006
- Mintegi, S. Manual de intoxicaciones en pediatría. Grupo de Trabajo de Intoxicaciones de la Sociedad Española de Urgencias en Pediatría, 3a edició. Madrid: Ergon. 2012.
- Munné P, et al. Intoxicaciones medicamentosas (II). Analgésicos y anticonvulsivantes. *Anal Sis San Nav.*, 26(1), 65-95. 2003.
- Osés I, et al. Intoxicaciones medicamentosas (I). Psicofármacos y antiarrítmicos. *Anales Sis San Nav.*, 26 (1), 49-63. 2003.

Los autores

Coordinador

Giannuzzi Leda

Licenciada en Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Buenos Aires. Magister Scientiae en Ciencias y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Mar del Plata. Doctora en Ciencias Químicas, Universidad de Buenos Aires, Profesora Toxicología, Toxicología Avanzada y Ciencias Forenses del Área Toxicología, Universidad Nacional de La Plata desde 1992-actual. Profesora de más 60 cursos de Post Grados dictados en el país y en el exterior. Investigadora Principal CONICET. Categoría docente UNLP investigador I. Autor de más 100 trabajos científicos en temas de Toxicología General, Toxicología de Alimentos, Tecnología y Microbiología de Alimentos publicados en revistas indexadas. Director de Proyectos de investigación y de Extensión Universitaria, UNLP. Autor de patentes y director de tesistas y becarios.

Autores

Andrinolo, Darío

Licenciado en Biología orientación Zoología en la facultad de Ciencias naturales y Museo de la UNLP 1992. Magister en Ciencias Fisiológicas otorgado por la Facultad de Medicina de La Universidad de Chile 1997. Doctor en Ciencias Biomédicas otorgado por la Facultad de Medicina de La Universidad de Chile 2002. Jefe de Trabajos Prácticos Dedicación simple, Área Toxicología. Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Categoría de docente UNLP- investigador (II). Investigador Independiente CONICET. Director del Programa Ambiental de Extensión Universitaria PAEU de la Facultad de Ciencias Exactas 2011-presente. Miembro del Consejo Directivo del Instituto “Centro de Investigaciones Medio Ambientales CIMA”, Facultad de Ciencias Exactas - UNLP. 2015-actualidad

Mastrantonio Garrido, Guido Enrique

Bioquímico y Doctor en Ciencias Exactas, Área Cs. Biológicas de la UNLP. Magister en Toxicología Universitaria de la Universidad de Sevilla. Docente de toxicología en grado y

postgrado en las Universidades Nacionales de La Plata, La Pampa, Mar del Plata y del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires. Actualmente se desempeña como Jefe de Trabajos Prácticos en el Área de Toxicología de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y Profesor Adjunto de Toxicología de los Alimentos en la UNNOBA. Investigador CONICET en Salud e Investigador de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. Autor de más de 100 publicaciones, libros, capítulos y presentaciones a congresos en temáticas de toxicología forense, ambiental, de los alimentos y clínica. Director de diecisésis tesis y tesinas en los mismos temas. Actualmente, dirige proyectos de investigación y transferencia orientados al estudio de la toxicología de fármacos de vacancia en pediatría.

Oliver, Cristian

Bioquímico Universidad Nacional de La Plata. Especializado en toxicología forense con énfasis en el análisis instrumental de material biológico por espectrometría de masas tandem. Ayudante Diplomado en las materias de Analítica Instrumental, Toxicología General y Medio Ambiente. En la actualidad se desempeña como profesional a cargo del espectrómetro de masas tandem del Centro de Investigación y Control del Doping dependiente del Instituto Provincial de Lotería y Casinos. Autor de trabajos científicos y libros de la especialidad. Development of *Thiobacillus* biofilm for metal recovery, Evaluation for Lf 25 as a new biomarker of exposition to heavy metals on the bivalve mussel *Limnoperna fortunei*. Presencia del pesticide Carbofuran (carbamato) en muestras de cebo y contenido gástrico de caninos de la ciudad de Urdinarrain, Entre Ríos, Colaboración en la redacción del capítulo “Toxicología General”, en el libro Medicina Forense Contemporánea, Manual de Técnicas Analíticas en el Laboratorio de Toxicología, coautor del capítulo 3 – Toxicología Analítica, y autor de los capítulos 5 – Abuso de Sustancias Volátiles y 7- Pesticidas, 2006, ISBN 987-05-0147-8. Manual de Cianobacterias y Cianotoxinas, coautor del capítulo 6: Fundamentos de los Métodos Analíticos. *Instituto Correntino del Agua y del Ambiente (ICAA) – Administración de Obras Sanitarias Corrientes (AOSC)*

Ortega, Florencia

Licenciada en Ciencia y Tecnología de Alimentos graduada en la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata desde 2016. Actualmente estudiante de doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP) con lugar de trabajo en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-CONICET- UNLP). Becaria Doctoral CONICET. Ingrese a la cátedra de Toxicología General de la Facultad de Cs. Exactas, UNLP, como Ayudante Alumno (2015) y actualmente me encuentro como Ayudante Diplomado. Colaboración con el grupo LEAR (Laboratorio de Especies Altamente Reactivas) del INIFTA (CONICET- UNLP) desde 2011. Proyecto de Extensión sobre taller de ciencias para nivel inicial, FCE-UNLP desde 2012. Área de investigación: nanotecnología, polímeros biodegradables, envases funcionales, alimentos.

Sedan, Daniela Yazmine

Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas. Bioquímica. Universidad Nacional de La Plata. Toxicología, Determinantes ambientales de la salud. Ayudante Diplomado en las materias Toxicología General y Toxicología dictada para las carreras de Bioquímica, Lic. en Química y Tecnología Ambiental y Lic. en Química de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP. Investigadora Asistente de CONICET. Publicaciones: Cyanobacterias como determinante ambiental de la salud, Cianobacterias y Cianotoxinas. Efectos en la salud humana. Casos informados y primeros acercamientos al estudio epidemiológico (2011). Biomarkers of prolonged exposure to microcystin-LR in mice (2013). Recreational Exposure during Algal Bloom in Carrasco Beach, Uruguay: A Liver Failure Case Report (2017). Proyectos de investigación y extensión en temáticas vinculadas a la toxicología y analítica de cianotoxinas, biomarcadores de exposición a solventes y cannabinoides.

Rasile María Alejandra

Bioquímica. Docente en la Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas actualmente en la Cátedra de toxicología. Docente en la cátedra de Farmacobotánica desde 1999 hasta 2006. Perito Bioquímico Forense Sección Manchas Biológicas de Policía Científica Departamento Judicial La Plata del Ministerio de Seguridad de la Provincia de Buenos Aires, desde el año 1995. Actualmente Jefe de División Cromatografía Gaseosa (desde el 30 de mayo de 2017 a la fecha). Autor de publicaciones, en temáticas de educación y presentación a de experiencia pedagógica en extensión universitaria como dispositivo de formación y prevención (2014), capítulos de libros en temáticas relacionadas a la toxicología. Participación en proyectos de extensión interdisciplinario en carácter de participante y como coordinadora en la temática de educación en una salud, enfermedades infecciosas y zoonóticas emergentes y reemergentes, cambio climático, cambio global y desarrollo sustentable, en coordinación con las Facultades de Ciencias Veterinarias, Ciencias Médicas y Ciencias Exactas.

Ventosi, Ezequiel

Licenciado en Bioquímica y Técnico Químico Universitario, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Ayudante alumno de la cátedra de Toxicología de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP para las carreras de Lic. en Bioquímica, Lic. en Química y Lic. en Química y Tecnología Ambiental. Becario Doctoral de CONICET.

Toxicología general y aplicada / Leda Giannuzzi ... [et al.] ; coordinación general de Leda Giannuzzi. - 1a ed . - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; La Plata : EDULP, 2018.
Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-950-34-1695-2

1. Toxicología. I. Giannuzzi, Leda II. Giannuzzi, Leda, coord.
CDD 610.7

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
47 N.º 380 / La Plata B1900AJP / Buenos Aires, Argentina
+54 221 427 3992 / 427 4898
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2018
ISBN 978-950-34-1695-2
© 2018 - Edulp

e
exactas


Editorial
de la Universidad
de La Plata



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA