

Revista de

# Toxicología

ÓRGANO OFICIAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TOXICOLOGÍA

Volumen 20 Número 1 (2003)

CUATRIMESTRAL

## TABLE OF CONTENTS

<b>Pita R, Anadón A and Martínez-Larrañaga MR.</b> Current status of nerve agent intoxications pretreatment with pyridostigmine and other pharmacological alternatives . . . . .	1
<b>Pérez-Pérez H, Rubio C, Pozuelo MR, Revert C and Hardisson A.</b> Botulism and botulinum toxin . . . . .	8
<b>Castañé PM, Topalián ML, Cordero RR and Salibián A.</b> Influence of the heavy metals speciation in the aquatic environment as determinant of their toxicity . . . . .	13
<b>Pérez-López M, Nóvoa MC, Alonso J, García Fernández MA and Melgar MJ.</b> Lead and cadmium levels in seawater and limpet ( <i>Patella vulgata</i> L.) from the Vigo estuary . . . . .	19
<b>Fuentes D, González Navarro B, González Torres Y, Aldana L, Arteaga ME, Bada AM, Labrada A and Bellido de Luna AT.</b> Pathological changes due to subcutaneous administration of <i>Dermatophagoides siboney</i> and <i>Blomia tropicalis</i> allergenic extracts in rats and mice . . . . .	23
<b>Espinosa, C, Rojas M and Seijas D.</b> Socioeconomical profile of individuals monitored for blood lead. Cituc. 1998-2000 . . . . .	27
<b>Hermida I, Fernández P, Ferrer A, Bermejo AM and Tabernero MJ.</b> Psychosocial profile of patients admitted to hospital following deliberate acute poisoning . . . . .	33
<b>J. Gómez and F. Valcarce.</b> Toxic agents detected in deaths related to fire and intoxications with carbon monoxide . . . . .	38
<b>García D, Nogué S, Sanjurjo E and Espígol G.</b> Hyperammonemia secondary to acute intoxication with valproic acid . . . . .	43
<b>Boluda FJ, Nogué S, Martínez-Pérez J and Muñoz E.</b> Intoxication due to injection of organochlorines and aromatic hydrocarbons . . . . .	46
<b>GTEMA Bulletin 26 / 2002</b> . . . . .	48
<b>Book reviews</b> . . . . .	53
<b>Congresses</b> . . . . .	54

## SUMARIO

<b>Pita R, Anadón A y Martínez-Larrañaga MR.</b> Estado actual del pretratamiento de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra con piridostigmina y otras alternativas farmacológicas . . . . .	1
<b>Pérez-Pérez H, Rubio C, Pozuelo MR, Revert C y Hardisson A.</b> Botulismo y toxina botulínica . . . . .	8
<b>Castañé PM, Topalián ML, Cordero RR y Salibián A.</b> Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad . . . . .	13
<b>Pérez-López M, Nóvoa MC, Alonso J, García Fernández MA y Melgar MJ.</b> Niveles de plomo y cadmio en agua marina y lapas ( <i>Patella vulgata</i> L.) de la Ría de Vigo . . . . .	19
<b>Fuentes D, González Navarro B, González Torres Y, Aldana L, Arteaga ME, Bada AM, Labrada A y Bellido de Luna AT.</b> Alteraciones patológicas producidas por la inoculación subcutánea de los extractos alergénicos de <i>Blomia tropicalis</i> y <i>Dermatophagoides siboney</i> en ratas y ratones . . . . .	23
<b>Espinosa, C, Rojas M y Seijas D.</b> Perfil socioeconómico de adultos monitorizados por exposición a plomo. Cituc período 1998-2000 . . . . .	27
<b>Hermida I, Fernández P, Ferrer A, Bermejo AM y Tabernero MJ.</b> Perfil psicosocial de pacientes ingresados por intoxicación aguda voluntaria . . . . .	33
<b>J. Gómez y F. Valcarce.</b> Tóxicos detectados en muertes relacionadas con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono . . . . .	38
<b>García D, Nogué S, Sanjurjo E y Espígol G.</b> Hiperamoniemia secundaria a intoxicación aguda por ácido valproico . . . . .	43
<b>Boluda FJ, Nogué S, Martínez-Pérez J y Muñoz E.</b> Intoxicación por administración parenteral de insecticidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos . . . . .	46
<b>Boletín GTEMA / 26 / 2002</b> . . . . .	48
<b>Revisión de Libros</b> . . . . .	53
<b>Próximos Congresos</b> . . . . .	54

Incluido en IBECs, ICYT, IME, EMBASE/*Excerpta Medica* y *Chemical Abstracts*

Indexed in IBECs, ICYT, IME, EMBASE/*Excerpta Medica* and *Chemical Abstracts*



ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TOXICOLOGÍA

Rev. Toxicol. 20 (1) 1-54 2003

ISSN 0212-7113

<http://aetox.com>



La **Revista de Toxicología** pretende ofrecer a sus lectores (científicos, docentes, profesionales y estudiosos) información actualizada sobre los avances más recientes en Toxicología. Dedicamos especial atención a los estudios relacionados con los efectos de las sustancias químicas y los mecanismos de toxicidad, mediante ensayos en animales de experimentación, métodos alternativos *in vitro* y estudios en humanos. También incluye estudios sobre nuevas sustancias y técnicas analíticas. Otro aspecto importante de la revista son los artículos de revisión, especialmente en temas de Toxicología Fundamental, Toxicología Clínica, Genotoxicología, Toxicología Ambiental, etc.

## ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TOXICOLOGÍA

### Resumen actual de características y normativas

El objetivo fundamental de la Asociación Española de Toxicología es el de propiciar la relación y cooperación entre sus miembros, y coordinar sus esfuerzos a fin de contribuir al desarrollo y difusión de los conocimientos en las diferentes áreas de la toxicología. Su Estatuto fundacional fue aprobado oficialmente el 15 de enero de 1980.

Toda persona interesada en pertenecer a esta Asociación deberá cumplimentar una ficha de inscripción, refrendada por la Junta Directiva. La cuota anual (43 €) se abona por domiciliación bancaria. Esta cuota da derecho a la recepción de la "Revista de Toxicología". Una vez admitidos los nuevos asociados recibirán un título y, periódicamente, las actas de las reuniones y comunicación de actividades con carácter nacional e internacional que pueden ser de interés.

La asociación promueve la celebración, cada dos años, del Congreso Español de Toxicología, cuya organización puede delegar. Además se ha establecido la celebración periódica de seminarios o mesas redondas organizados por grupos de trabajo. Cada reunión de este tipo será monotemática y abierta a personas no pertenecientes a la Asociación, y se desarrollará en diferentes ciudades españolas.

La Asociación organiza también programas de control de calidad en Toxicología Analítica.

### Asociación Española de Toxicología

Secretaría de la AET  
Universidad Miguel Hernández  
Edificio Vinalopó  
Avda. Ferrocarril, s/n.  
03202 Elche (Alicante)  
e-mail: aetox@umh.es

### Copyright

El envío de un manuscrito implica: que no ha sido publicado anteriormente (excepto como abstract, o como parte de una conferencia, revisión tesis); que no está considerándose su publicación en otra revista, libro, etc.; que su publicación ha sido aprobada por todos los coautores, si los hay; que, cuando

y si el manuscrito es aceptado para su publicación, los autores están de acuerdo en la cesión automática del Copyright a la editorial y que el manuscrito no será publicado en ninguna otra parte ni en ningún otro idioma sin permiso de la editorial.

Todos los artículos publicados en esta revista están protegidos por Copyright, que cubre los derechos exclusivos de reproducción y distribución del artículo (p. ej. como separatas) y también los derechos de traducción. Ningún contenido de la revista puede ser reproducido, fotocopiado, microfilmado o almacenado en bases de datos electrónicas, videodiscos, etc., sin el permiso escrito de los titulares del Copyright.

El uso de nombres descriptivos, de marcas, marcas registradas, etc., incluso si no se identifican especialmente, no implica que estos nombres no estén protegidos por las leyes y regulaciones correspondientes.

*Aunque la información en esta revista se considera exacta y verdadera en la fecha de publicación, ni la editorial, ni el director de la revista, ni los autores pueden aceptar ninguna responsabilidad legal por errores u omisiones que puedan acaecer.*

Los trabajos que hayan sido aceptados se enviarán (original, dos copias y disquete) al editor de la Revista de Toxicología:

Dra. Adela López de Cerain Salsamendi  
C.I.F.A. Universidad de Navarra  
C/ Irunlarrea, s/n. 31008 Pamplona  
(Navarra) España  
Fax: 948 42 56 53  
E-mail: rev.toxicol@unav.es

### Información Suscripción

Para los miembros de la Asociación Española de Toxicología la suscripción está incluida en la cuota de socio de 43 €.

Suscripción anual:

España: 54 €. más 1,50 €. gastos de envío.

Extranjero: 54 €. más 8,26 €. gastos de envío.

Pedidos a:

### Revista de Toxicología

Secretaría: Celia Goñi  
C.I.F.A. Universidad de Navarra  
C/ Irunlarrea, s/n. 31008 Pamplona  
(Navarra) España  
Fax: 948 42 56 52  
e-mail: rev.toxicol@unav.es

D.L.: CO-723-83.

S.V.: 91051 R.

ISSN: 0212-7113

Revista de

# Toxicología

ÓRGANO OFICIAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TOXICOLOGÍA

Volumen 20 Número 1 (2003)

CUATRIMESTRAL

## TABLE OF CONTENTS

<b>Pita R, Anadón A and Martínez-Larrañaga MR.</b> Current status of nerve agent intoxications pretreatment with pyridostigmine and other pharmacological alternatives . . . . .	1
<b>Pérez-Pérez H, Rubio C, Pozuelo MR, Revert C and Hardisson A.</b> Botulism and botulinum toxin . . . . .	8
<b>Castañé PM, Topalián ML, Cordero RR and Salibián A.</b> Influence of the heavy metals speciation in the aquatic environment as determinant of their toxicity . . . . .	13
<b>Pérez-López M, Nóvoa MC, Alonso J, García Fernández MA and Melgar MJ.</b> Lead and cadmium levels in seawater and limpet ( <i>Patella vulgata</i> L.) from the Vigo estuary . . . . .	19
<b>Fuentes D, González Navarro B, González Torres Y, Aldana L, Arteaga ME, Bada AM, Labrada A and Bellido de Luna AT.</b> Pathological changes due to subcutaneous administration of <i>Dermatophagoides siboney</i> and <i>Blomia tropicalis</i> allergenic extracts in rats and mice . . . . .	23
<b>Espinosa, C, Rojas M and Seijas D.</b> Socioeconomical profile of individuals monitored for blood lead. Cituc. 1998-2000 . . . . .	27
<b>Hermida I, Fernández P, Ferrer A, Bermejo AM and Tabernero MJ.</b> Psychosocial profile of patients admitted to hospital following deliberate acute poisoning . . . . .	33
<b>J. Gómez and F. Valcarce.</b> Toxic agents detected in deaths related to fire and intoxications with carbon monoxide . . . . .	38
<b>García D, Nogué S, Sanjurjo E and Espígol G.</b> Hyperammonemia secondary to acute intoxication with valproic acid . . . . .	43
<b>Boluda FJ, Nogué S, Martínez-Pérez J and Muñoz E.</b> Intoxication due to injection of organochlorines and aromatic hydrocarbons . . . . .	46
<b>GTEMA Bulletin 26 / 2002</b> . . . . .	48
<b>Book reviews</b> . . . . .	53
<b>Congresses</b> . . . . .	54

## SUMARIO

<b>Pita R, Anadón A y Martínez-Larrañaga MR.</b> Estado actual del pretratamiento de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra con piridostigmina y otras alternativas farmacológicas . . . . .	1
<b>Pérez-Pérez H, Rubio C, Pozuelo MR, Revert C y Hardisson A.</b> Botulismo y toxina botulínica . . . . .	8
<b>Castañé PM, Topalián ML, Cordero RR y Salibián A.</b> Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad . . . . .	13
<b>Pérez-López M, Nóvoa MC, Alonso J, García Fernández MA y Melgar MJ.</b> Niveles de plomo y cadmio en agua marina y lapas ( <i>Patella vulgata</i> L.) de la Ría de Vigo . . . . .	19
<b>Fuentes D, González Navarro B, González Torres Y, Aldana L, Arteaga ME, Bada AM, Labrada A y Bellido de Luna AT.</b> Alteraciones patológicas producidas por la inoculación subcutánea de los extractos alergénicos de <i>Blomia tropicalis</i> y <i>Dermatophagoides siboney</i> en ratas y ratones . . . . .	23
<b>Espinosa, C, Rojas M y Seijas D.</b> Perfil socioeconómico de adultos monitorizados por exposición a plomo. Cituc período 1998-2000 . . . . .	27
<b>Hermida I, Fernández P, Ferrer A, Bermejo AM y Tabernero MJ.</b> Perfil psicosocial de pacientes ingresados por intoxicación aguda voluntaria . . . . .	33
<b>J. Gómez y F. Valcarce.</b> Tóxicos detectados en muertes relacionadas con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono . . . . .	38
<b>García D, Nogué S, Sanjurjo E y Espígol G.</b> Hiperamoniemia secundaria a intoxicación aguda por ácido valproico . . . . .	43
<b>Boluda FJ, Nogué S, Martínez-Pérez J y Muñoz E.</b> Intoxicación por administración parenteral de insecticidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos . . . . .	46
<b>Boletín GTEMA / 26 / 2002</b> . . . . .	48
<b>Revisión de Libros</b> . . . . .	53
<b>Próximos Congresos</b> . . . . .	54

Incluido en IBECs, ICYT, IME, EMBASE/*Excerpta Medica* y *Chemical Abstracts*

Indexed in IBECs, ICYT, IME, EMBASE/*Excerpta Medica* and *Chemical Abstracts*



ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TOXICOLOGÍA

Rev. Toxicol. 20 (1) 1-54 2003

ISSN 0212-7113

<http://aetox.com>

Revista de

# Toxicología

ÓRGANO OFICIAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TOXICOLOGÍA

## COMITÉ DE REDACCIÓN

### Editor

Dra. ADELA LÓPEZ DE CERAÍN SALSAMENDI  
Universidad de Navarra. Pamplona  
E-mail: acerain@unav.es

### Editor Adjunto

Dr. EDUARDO DE LA PEÑA DE TORRES  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas. MADRID  
E-mail: epena@ccma.csic.es

### Comité Editorial

Dra. M<sup>a</sup> ISABEL ARUFE MARTÍNEZ  
Universidad de Cádiz. CÁDIZ  
E-mail: maribel.arufe@uca.es

Dr. CARLOS BARRIOS GUERRA  
Universidad de Concepción. CONCEPCIÓN (CHILE)

Dra. ANA MARÍA CAMEAN FERNÁNDEZ  
Universidad de Sevilla. SEVILLA  
E-mail: camean@fafar.us.es

Dra. VICTORIA CARRERA GONZÁLEZ  
Universidad Miguel Hernández. ELCHE  
E-mail: v.carrera@umh.es y aetox@umh.es

Dr. DARÍO CÓRDOBA PALACIO  
MEDELLÍN (COLOMBIA)

Dr. ANTONIO DUEÑAS LAITA  
Universidad de Valladolid. VALLADOLID  
E-mail: aduenas.laita@fcu.es

Dra. GUILLERMINA FONT PÉREZ  
Universidad de Valencia. VALENCIA  
E-mail: font@uv.es

Dr. ANTONIO JUAN GARCÍA FERNÁNDEZ  
Universidad de Murcia. MURCIA  
E-mail: ajgf@fcu.um.es

Dr. DIEGO GONZÁLEZ MACHÍN  
CEPIS/OPS  
LIMA (PERÚ)

Dr. CARLOS GOTELLI  
Centro de Investigaciones Toxicológicas  
BUENOS AIRES (ARGENTINA)

Dra. PILAR GASCÓ ALBERICH  
Instituto Nacional de Toxicología. MADRID  
E-mail: p.gasco@mju.es

Dr. ANTONIO PLÁ MARTÍNEZ  
Universidad de Granada. GRANADA  
E-mail: apla@goliat.ugr.es

Dr. GUILLERMO REPETTO KUHN  
Instituto Nacional de Toxicología. SEVILLA  
E-mail: repetto@cica.es

Dr. JOSÉ RUEFF  
Universidad Libre de Lisboa. LISBOA

Dr. MIGUEL ANGEL SOGORB  
Universidad Miguel Hernández. ELCHE  
E-mail: msogorb@umh.es

Dr. JUAN LUIS VALVERDE VILLARREAL  
Instituto Nacional de Toxicología. BARCELONA  
E-mail: biblio@bcn.inaltox.es

Dr. ALBERT VINGUT LÓPEZ  
Instituto Nacional de Toxicología. BARCELONA  
E-mail: quinica@bcn.inaltox.es

# Estado actual del pretratamiento de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra con piridostigmina y otras alternativas farmacológicas

Pita R, Anadón A y Martínez-Larrañaga MR

Departamento de Toxicología y Farmacología. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid

Recibido 1 de Marzo de 2002 / Aceptado 29 de Octubre de 2002

**Resumen:** El bromuro de piridostigmina (bromuro de 3-dimetilaminocarboniloxi-N-metilpiridinio) se utiliza como pretratamiento en escenarios en los que existe riesgo de utilización de agentes neurotóxicos de guerra. De hecho, este pretratamiento fue utilizado por las tropas Aliadas durante la Guerra del Golfo Pérsico. Desde su vuelta a casa muchos veteranos de esta guerra se han quejado de padecer síntomas debidos a lesiones que afectan al sistema nervioso. Las causas de estos síntomas son aún desconocidas, pero el pretratamiento con piridostigmina se está estudiando como posible factor causal. Aunque a la dosis empleada en el pretratamiento los efectos secundarios son mínimos y no se han observado efectos a largo plazo, se ha planteado la posibilidad de que en situaciones de estrés los efectos de la piridostigmina a nivel del sistema nervioso central se vean incrementados, si bien los distintos estudios *in vivo* arrojan resultados contradictorios. Otros estudios *in vivo*, sin embargo, sí han observado un incremento de la actividad central de la piridostigmina al coadministrarse con DEET (N,N-dietil-m-toluamida), utilizado como repelente de insectos por algunas tropas durante la Guerra del Golfo Pérsico. Este hecho recomendaría la necesidad de controlar la utilización de repelentes de insectos en caso de que sea necesario llevar a cabo un pretratamiento con piridostigmina. Recientemente se han empezado a estudiar nuevas alternativas en el pretratamiento de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra de las cuales destaca la huperzina A (9-amino-13-etilidén-11-metil-4-azatriciclo[7.3.1.0(3,8)]trideca-3(8),6,11-trien-5-ona) por sus propiedades farmacocinéticas y mayor eficacia.

**Palabras clave:** Agentes neurotóxicos de guerra, pretratamiento, piridostigmina, DEET, permethrin, huperzina A.

**Abstract:** Current status of nerve agent intoxication pretreatment with pyridostigmine and other pharmacological alternatives. Pyridostigmine bromide (3-dimethylaminocarbonyloxy-N-methylpyridinium bromide) is used as a pretreatment drug in scenarios where there is a risk of exposure to nerve agents. Pyridostigmine bromide was actually used by many Allied troops in the Persian Gulf War. Since their return, many veterans of this war are complaining of neurological symptoms. The causes of the symptoms are still unknown, but pretreatment

with pyridostigmine is being studied as a possible causal factor. Although the currently recommended pretreatment dose has minimal adverse effects and long term effects have not been reported, the possibility of an increased central effect of pyridostigmine in stress situations has been raised, although *in vivo* studies reviewed report contradictory results. Nevertheless, other *in vivo* studies have reported an increased central activity of pyridostigmine when administered with DEET (N,N-diethyl-m-toluamide), an insect repellent used by some troops in the Persian Gulf War. This fact recommends the control of insect repellent use if pretreatment with pyridostigmine has to be established because of nerve agent exposure risk. New alternatives to the pyridostigmine pretreatment have been proposed and huperzine A (9-amino-13-ethylidene-11-methyl-4-azatriciclo[7.3.1.0(3,8)]trideca-3(8),6,11-trien-5-one) stands out because of its pharmacokinetical properties and effectiveness.

**Keywords:** Nerve agents, pretreatment, pyridostigmine, DEET, permethrin, huperzine A.

## Introducción

Los agentes neurotóxicos de guerra son compuestos organofosforados, análogos a los insecticidas organofosforados pero de mayor toxicidad, que constituyen el principal riesgo de utilización de armas químicas no sólo en conflictos armados sino en posibles atentados terroristas. Los principales agentes neurotóxicos de guerra son el tabún o GA (N,N-dimetilfosforamidocianidato de O-etilo), el sarín o GB (metilfosfonofluoridato de O-isopropilo), el ciclosarín o GF (metilfosfonofluoridato de O-ciclohexilo), el somán o GD (metilfosfonofluoridato de O-pinacolilo), el VX (metilfosfonotiolato de O-etilo y de S-2-diisopropilaminoetilo) y el GV (dimetilamidofosfonofluoridato de O-2-dimetilaminoetilo). La intoxicación aguda o una exposición crónica a agentes neurotóxicos de guerra produce una inhibición irreversible de la acetilcolinesterasa (ACHE, EC 3.1.1.7) sináptica, aumentando los niveles de acetilcolina con la consiguiente hiperestimulación colinérgica. Esta hiperestimulación colinérgica, sobre receptores muscarínicos y nicotínicos, dará lugar a alteraciones en el normal funcionamiento del sistema nervioso central y periférico [1]. La muerte sobreviene por un fallo respiratorio debido a la obstrucción respiratoria (por aumento de secreciones bronquiales y broncoconstricción), parálisis de la musculatura esquelética respiratoria y depresión del centro respiratorio [2].

Correspondencia: Cap. René Pita. Escuela Militar de Defensa NBQ. Hoyo de Manzanares, 28240 (Madrid). Tel. 91 8567550. Fax 91 8567703. e-mail: renepita@arrakis.es.

El pretratamiento con bromuro de piridostigmina (bromuro de 3-dimetilaminocarboniloxi-N-metilpiridinio) (Fig. 1) sigue siendo el pretratamiento de las posibles intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra implantado en la mayoría de Ejércitos de la Organización del Tratado del Atlántico Norte (OTAN). Se denomina pretratamiento, y no profilaxis, ya que la administración previa de bromuro de piridostigmina aumenta la eficacia del tratamiento posterior a la intoxicación por el agente neurotóxico. Algunos autores han propuesto la modificación del término pretratamiento por el de "incrementador de la eficacia antidotal" [3]. A pesar de ser un término más correcto, su adopción es difícil por la gran aceptación que tiene actualmente el término pretratamiento, y que ya fue motivo de controversia cuando sustituyó el término de profilaxis, totalmente erróneo en este contexto y que podría resultar confuso, no ya para el personal sanitario, sino para el combatiente en un escenario militar.

La piridostigmina es un carbamato que inhibe de forma reversible la acetilcolinesterasa (AChE) de manera que, una vez en contacto con el agente neurotóxico, habrá una reserva de AChE que no puede ser bloqueada al estarlo ya por el carbamato. La descarbamilación gradual y espontánea del complejo AChE-piridostigmina, en paralelo con la eliminación del agente neurotóxico, liberará suficiente AChE para que la estimulación colinérgica se normalice. Esta hipótesis no resulta del todo convincente ya que lo lógico sería pensar en un efecto sinérgico, si no bien potenciado, al menos aditivo entre la piridostigmina y el compuesto organofosforado [4]. Los estudios *in vivo* en animales, sin embargo, muestran un aumento en la eficacia de la terapia convencional con atropina y una oxima si, previamente a la exposición a agentes neurotóxicos, se lleva a cabo un pretratamiento con piridostigmina [5,6]. Este incremento es marcado en caso de intoxicación por somán, cuyo tratamiento se ve dificultado debido a que la AChE inhibida por el agente neurotóxico sufre rápidamente (2-4 min) un proceso denominado "envejecimiento" [7], que impide la reactivación de la AChE por la oxima. Esta velocidad de envejecimiento es menor en el resto de agentes neurotóxicos [8,9]. La dosis establecida en el hombre es de 30 mg de bromuro de piridostigmina por vía oral cada 8 horas durante 3 semanas con la cual se obtiene una inhibición de la AChE sanguínea del 20-40%, nivel admitido como indicador de

un buen pretratamiento [5,10,11]. Sin embargo, Lennox *et al.* [12] comprobaron, en estudios *in vivo* con ratas y cobayas, que incluso niveles de inhibición del 10% suponían una buena protección en la intoxicación por somán. Esta última observación resulta relevante, ya que en un estudio reciente con voluntarios, a los que se les administraba un régimen de 30 mg de bromuro de piridostigmina cada 8 horas durante 21 días, el 30% de ellos presentaba una inhibición de la AChE inferior al 10% [13].

### Efectos secundarios del pretratamiento con bromuro de piridostigmina

A dosis terapéuticas, los efectos secundarios más frecuentes del bromuro de piridostigmina consisten en un aumento de la motilidad gastrointestinal, dolores abdominales, náuseas, bradicardia, miosis y aumento de la secreción lacrimal, salivar, gastrointestinal y bronquial [14]. Keeler *et al.* [15] realizaron un estudio retrospectivo en 41.650 soldados que recibieron el pretratamiento durante la Guerra del Golfo Pérsico, observando una mínima incidencia de efectos secundarios significativos (<0,1%) que requerían la supresión del pretratamiento. También se observó un empeoramiento del asma en siete soldados asmáticos que recibieron este pretratamiento en la Guerra del Golfo [16]. La experiencia clínica de más de cincuenta años con bromuro de piridostigmina no ha evidenciado la existencia de efectos adversos a largo plazo.

### Pretratamiento con bromuro de piridostigmina y los "enfermos de la Guerra del Golfo"

La piridostigmina se está estudiando como posible factor causal de las neuropatías y miopatías que padecen algunos veteranos de la Guerra del Golfo Pérsico en EE.UU. y en el Reino Unido [17,18]. Actualmente la piridostigmina se emplea en el tratamiento de la miastenia grave en dosis superiores a las empleadas en el pretratamiento, sin que se hayan observado efectos secundarios importantes, excepto cuando se sobrepasan las dosis habituales de 200-1.400 mg/día [19]. En estudios con ratas se observó la aparición de cambios miopáticos en el 1% de las miofibrillas del diafragma, principalmente en la porción postsináptica de la unión neuromuscular, tras administrar diariamente 90 mg/kg de piridostigmina durante 15 días, aunque estas alteraciones eran reversibles [20]. Estudios llevados a cabo con personal militar de EE.UU., que siguió el pretratamiento con piridostigmina durante la Guerra del Golfo, intentaron establecer la posible relación entre el pretratamiento con piridostigmina y la reducción de la fuerza muscular en manos [21]. Se empleó un modelo con un dinamómetro que medía la fuerza de cierre de la mano y se concluyó que no había relación alguna.

Algunos agentes adrenérgicos y la cafeína pueden potenciar los efectos tóxicos de la piridostigmina por mecanismos de acción aún desconocidos, quizás alterando el equilibrio adrenérgico-colinérgico de la función cardio-respiratoria [22]. Si bien los fármacos que modifican la actividad del sistema nervioso simpático tienen un amplio espectro de aplicación y el consumo de café es un hábito ampliamente implantado, las interacciones toxicológicas con el bromuro de piridostigmina durante el pretratamiento sólo tendrían relevancia a dosis de estas sustancias muy superiores a las habitualmente empleadas.

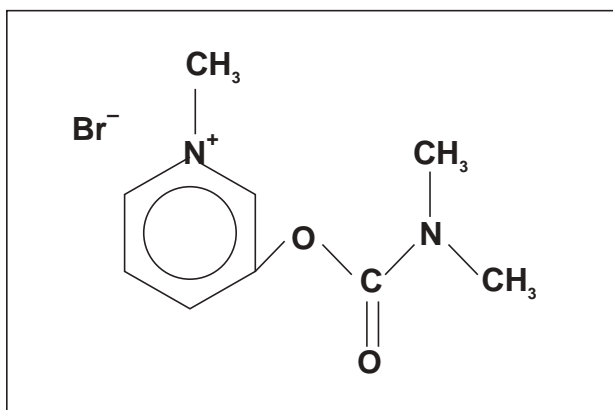


Fig. 1. Estructura química del bromuro de piridostigmina (CAS No. 101-26-8).

Se ha planteado la posibilidad de que en situaciones de estrés físico o psíquico se produzca un aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y los efectos de la piridostigmina a nivel del sistema nervioso central se vean incrementados. Así, en un estudio con 213 soldados israelíes que llevaron a cabo el pretratamiento durante la Guerra del Golfo, se observó una elevada frecuencia de síntomas relacionados con el sistema nervioso central (23,6%) con respecto a los relacionados con el sistema nervioso periférico (11,4%) [23]. Estos resultados indicarían la necesidad de reevaluar y ajustar la dosis actual del pretratamiento, ya que un escenario militar que requiera un pretratamiento con piridostigmina indica un riesgo de ataque con armas químicas y, por lo tanto, una situación de estrés para el combatiente [24].

Distintos estudios *in vivo* con animales han intentado establecer la relación entre el estrés y el aumento de la actividad en el sistema nervioso central de la piridostigmina. Friedman *et al.* [25] observaron que ratones sometidos a un protocolo de natación exhaustiva a los que se les administraba piridostigmina presentaban una actividad de AChE en el encéfalo del 50% con 1/100 de la dosis habitual (0,01 mg/kg i.p. con respecto a los 1,50 mg/kg i.p. habituales). Se observaban además niveles aumentados de AChE RNAm y de c-fos RNAm, siendo el oncogén c-fos un marcador indirecto del aumento de la excitabilidad neuronal. Fishman [26] ponía en entredicho estos resultados indicando que el aumento del nivel de piridostigmina a nivel del sistema nervioso central no era debido a una situación de estrés, sino a un aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica por hipertensión arterial inducida por el protocolo de natación. En cualquier caso, de ambas posturas se podría concluir que los efectos de la piridostigmina a nivel central se encuentran aumentados en una situación de ejercicio intenso. Aún así, los efectos del estrés sobre el pretratamiento con piridostigmina siguen siendo polémicos y, de hecho, varios estudios *in vivo* recientes no muestran un aumento de la actividad anticolinérgica de la piridostigmina en el sistema nervioso central al someter a los animales a distintos protocolos de estrés [27-30]. Los resultados contradictorios de los distintos trabajos pueden ser debidos a las variaciones en las condiciones de experimentación (especies animales, origen del estrés, duración del experimento, etc.) de ahí la dificultad para extrapolar los resultados obtenidos con animales al hombre.

#### **Asociación del pretratamiento con bromuro de piridostigmina a DEET y permetrina, y su relación con los "enfermos de la Guerra del Golfo"**

Otro de los posibles factores causales de algunas patologías que sufre el personal militar de la Guerra del Golfo es la asociación de bromuro de piridostigmina con el repelente de insectos DEET (N,N-dietil-m-toluamida) y el insecticida permetrina ((±)-cis, trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano-1-carboxilato de 3-fenoxibencilo), que pudo haber potenciado los efectos tóxicos de alguna de estas sustancias [17,18]. Durante la Guerra del Golfo algunas tropas Americanas emplearon DEET y sus ropas fueron impregnadas con permetrina, que pudo atravesar el tejido del uniforme de campaña y llegar a la piel [31,32]. El DEET atraviesa la barrera dérmica y puede producir intoxicaciones en el hombre que se caracterizan por temblores

musculares, agitación, dificultad para hablar, crisis convulsivas, alteración de la función cognitiva y coma [33]. Taplin y Meinking [34] informaron de una absorción dérmica de la permetrina del 2% en el hombre. La intoxicación por permetrina afecta los canales de sodio, provocando una apertura prolongada después de un estímulo [35,36]. Esto da lugar a temblores, hiperactividad, ataxia, convulsiones y, en algunos casos, parálisis.

Abou-Donia *et al.* [37] observaron que la asociación de piridostigmina, por vía oral, y DEET y permetrina, por vía subcutánea, en gallinas producía un efecto sinérgico potenciado con respecto a la neurotoxicidad, puesto que las lesiones eran similares a las que producen dosis elevadas de DEET o permetrina. Así, en los estudios histopatológicos se observaba una elevada frecuencia de axones alargados y varicosidades axonales en el sistema nervioso periférico, semejantes a las observadas tras administrar dosis letales de permetrina, y degeneración axonal en médula espinal, similar a la producida por dosis letales de DEET. La hipótesis que establecen los autores es una disminución del metabolismo del DEET y la permetrina por competición por esterasas hepáticas y plasmáticas y, por tanto, una mayor distribución al sistema nervioso central y periférico. Hoy *et al.* [38,39] describieron alteraciones en el comportamiento locomotor de ratas tras la administración conjunta de estas tres sustancias. Utilizaron medidas del comportamiento locomotor ya que suelen ser más sensibles a dosis bajas de las tres sustancias químicas, y así reflejarían mejor la situación real a la que pudieron estar expuestas las tropas de la Guerra del Golfo. Los resultados, si bien indicaban una alteración del comportamiento locomotor, eran complejos y variaban según el sexo del animal, y en función de si se administraba una dosis única o si ésta se repetía durante 7 días. McCain *et al.* [40] obtuvieron un incremento en los índices de letalidad al administrar pienso con bromuro de piridostigmina, permetrina y DEET en ratas. Se vio que las combinaciones de piridostigmina-permetrina o piridostigmina-DEET también manifestaban un sinergismo de potenciación en los índices de letalidad. Los autores plantean dos mecanismos de acción: un aumento en la biodisponibilidad de la piridostigmina por vía oral o bien una disminución del rendimiento de los mecanismos de metabolización. Estos resultados, sin embargo, no son extrapolables al escenario de la Guerra del Golfo ya que las dosis empleadas en este estudio son muy superiores a las que pudieron verse sometidas las tropas desplegadas en la Guerra del Golfo.

Algunos autores [41,42] no comparten las hipótesis de Abou-Donia *et al.* [37] y McCain *et al.* [40] en cuanto a los mecanismos de acción propuestos. Buchholz *et al.* [41] indican un efecto antagónico de la piridostigmina en la distribución de la permetrina en el sistema nervioso central, cuando se administra pienso con piridostigmina en ratas. Se observaba una disminución de los niveles de permetrina en un 30% a nivel del sistema nervioso central y, por lo tanto, descartan un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. Chaney *et al.* [42] observaron que la administración conjunta de piridostigmina y DEET en ratas no alteraba la inhibición de la AChE a nivel periférico, pero sí en el encéfalo. Estos resultados se explicaban por un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica al paso de piridostigmina, y no tanto por un aumento en su bio-

disponibilidad oral. Además, los autores creen que no hay información sobre la participación de esterasas en el metabolismo del DEET, ya que la mayoría de sus metabolitos indican una oxidación hepática por el sistema citocromo P-450 y ven poco probable la hipótesis de una competición por esterasas.

En un estudio reciente Abou-Donia *et al.* [43] intentaron evaluar dosis similares a las que pudieron estar expuestas las tropas de la Guerra del Golfo, con el fin de observar si el pretratamiento con piridostigmina aumentaba la toxicidad de la exposición a dosis bajas de DEET y permetrina. Las ratas fueron tratadas durante 45 días con DEET (40 mg/kg en etanol al 70% por vía dérmica) y/o permetrina (0,13 mg/kg en etanol al 70% por vía dérmica) y/o bromuro de piridostigmina (1,3 mg/kg en agua por vía oral los últimos 15 días). Tanto la administración por separado como conjunta de las tres sustancias provocó una alteración del comportamiento sensorial y motor de las ratas, aunque no se observó ningún efecto sinérgico en ningún tipo de asociación. El DEET y la permetrina por sí solas no inhibían la AChE plasmática o en el sistema nervioso central, pero al coadministrar las tres sustancias, o al coadministrar DEET y piridostigmina, aumentaba la inhibición de la AChE en el tronco encefálico y mesencéfalo. La administración de cada sustancia por separado aumentó la unión del ligando [ $^3\text{H}$ ] citisina a los receptores muscarínicos M2 en corteza cerebral, pero la administración conjunta no produjo ningún tipo de sinergismo. Por el contrario, la administración por separado no afectó la unión del ligando a receptores nicotínicos, mientras que la coadministración de las tres sustancias sí produjo un aumento significativo en la corteza cerebral. Por lo tanto, la exposición, por separado o conjunta, a estas tres sustancias puede producir alteración del comportamiento así como alteraciones en receptores colinérgicos y actividad de la AChE.

Recientemente se han investigado otro tipo de interacciones en las que podría intervenir la piridostigmina. Griffiths *et al.* [44] tras la administración en cobayas de piridostigmina y las diez vacunas empleadas por las Fuerzas Armadas del Reino Unido durante la Guerra del Golfo (tétanos, fiebre tifoidea, cólera, meningitis meningocócica, hepatitis B, peste, carbunco, tos ferina, fiebre amarilla y poliomielitis) no encontraron ningún tipo de efecto adverso significativo. El estudio simula el peor de los casos en el que se administrarían, en un corto período de tiempo, la piridostigmina y las diez vacunas. Faltan, sin embargo, estudios complementarios en los que se haga un seguimiento del comportamiento cognitivo y los patrones de sueño.

### Otras alternativas al pretratamiento con bromuro de piridostigmina

Con el fin de reducir la incidencia de los efectos secundarios del pretratamiento con piridostigmina algunos países están estudiando la posibilidad de combinar la piridostigmina con fármacos anticolinérgicos. En la República Checa se está implantando un pretratamiento que incluye la asociación de bromuro de piridostigmina y dos antimuscarínicos de actividad central: la benactizina y el trihexifenidilo (PANPAL). Estudios *in vivo* han demostrado la eficacia del pretratamiento con PANPAL para facilitar la recuperación de las alteraciones respiratorias y cardiovasculares en ratas a las que se les administraba 120  $\mu\text{g}/\text{kg}$

i.m. de somán, equivalentes a dos veces la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) del somán [45]. También se ha visto la mayor eficacia del PANPAL al compararlo con un pretratamiento sólo con piridostigmina en ratones intoxicados con somán [46].

Algunos países del antiguo pacto de Varsovia utilizan un pretratamiento con otro carbamato, la fisostigmina que, al no ser un compuesto catiónico como la piridostigmina, puede atravesar con facilidad la barrera hematoencefálica y, por tanto, conseguir un buen pretratamiento a nivel central [47,48]. Éste es, sin embargo, también su gran inconveniente ya que podrían aparecer efectos a nivel del sistema nervioso central [49,50], no aceptables en un escenario militar en el cual el combatiente tiene que estar en estado de alerta. Otro inconveniente es la corta semivida de eliminación que presenta (inferior a una hora), lo que supondría la administración de dosis reiteradas o la utilización de formas farmacéuticas de liberación modificada [8,51]. Las Fuerzas Armadas del Reino Unido estudian la opción de asociar la fisostigmina con un antagonista muscarínico como la escopolamina, que ha demostrado reducir los efectos secundarios centrales e incluso una mayor eficacia del tratamiento posterior [52]. Philippens *et al.* [50] obtuvieron buenos resultados en cobayas con esta asociación aunque, para evitar la incapacidad post-exposición al somán, proponen la incorporación de un antagonista nicotínico a la asociación fisostigmina-escopolamina.

Dentro de los fármacos que se están estudiando como posibles sustitutos de la piridostigmina en el pretratamiento de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra se encuentran la memantina (1-amino-3,5-dimetil-adamantano) y la huperzina A (9-amino-13-etilidén-11-metil-4-azatriciclo[7.3.1.0(3,8)]trideca-3(8),6,11-trien-5-ona) (Fig. 2). La memantina, un derivado del adamantano, y uno de sus metabolitos, el Mrz 2/373 (1-amino-3-hidroximetil-5-metil-adamantano), han mostrado buenos resultados en la intoxicación por somán en ratas [53], aunque sus efectos secundarios son importantes por lo que parece poco probable que se incorpore al pretratamiento de intoxicaciones de agentes neurotóxicos de guerra.

La huperzina A, un alcaloide presente en la planta *Huperzia serrata* (familia *Lycopodiaceae*) (Fig. 3), se plantea hoy en día como la principal opción para sustituir el pretratamiento con

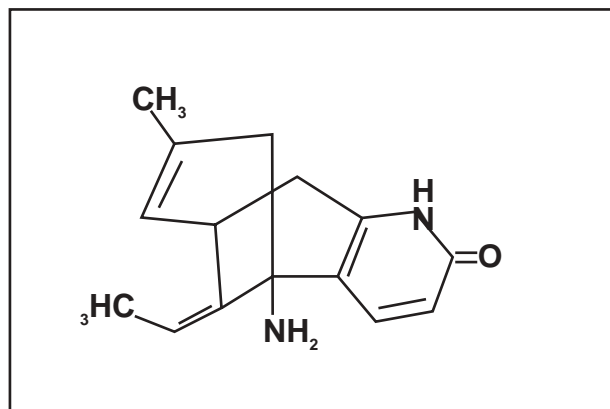


Fig. 2. Estructura química de la huperzina A (CAS No. 102518-79-6).





Fig. 3. *Huperzia serrata* (Liney GK, con autorización de Carr GD).

bromuro de piridostigmina [54,55]. Este alcaloide es un inhibidor reversible de la AChE que, además de presentar una mayor afinidad por la AChE que los carbamatos, libera la enzima más lentamente y tiene una semivida de eliminación mayor [56,57]. Otra ventaja de la huperzina A con respecto a los carbamatos es su inhibición prácticamente selectiva de la AChE eritrocítica, mientras que la piridostigmina y la fisostigmina inhiben tanto la AChE eritrocítica como la butirilcolinesterasa plasmática [58]. Por otra parte, estudios *in vivo* con animales han demostrado que es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica sin que se hayan observado efectos secundarios a este nivel [54,55,59]. En un estudio prospectivo a doble ciego en 103 pacientes que padecían la enfermedad de Alzheimer, el 58% de los pacientes mostró una mejora de la función cognitiva, memoria y comportamiento [60]. Qian *et al.* [61] estudiaron las propiedades farmacocinéticas de la huperzina A en seis voluntarios a los que se les administró una dosis única de 0,99 mg por vía oral. La concentración plasmática en función del tiempo seguía un modelo monocompartimental con una cinética de absorción de primer orden y se obtuvieron los siguientes parámetros farmacocinéticos: semivida de absorción ( $t_{1/2a}$ ) de 12,6 minutos; semivida de eliminación ( $t_{1/2e}$ ) de 288,5 minutos; concentración máxima ( $C_{max}$ ) de 8,4  $\mu\text{g/L}$  que tardaba en alcanzarse ( $t_{max}$ ) 79,6 minutos; y área bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC) de 4,1 mg-min/L. Estos valores indican una rápida absorción del fármaco por vía oral, una amplia distribución en el organismo y una moderada velocidad de eliminación.

## Conclusiones

El pretratamiento con piridostigmina mejora notablemente el tratamiento posterior de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra. Esta mejora es significativa en las intoxicaciones por somán, en las que rápidamente se produce el proceso de "envejecimiento" de la AChE que impide la reactivación por la oxima utilizada en la terapia convencional.

Los efectos secundarios del pretratamiento con bromuro de piridostigmina se deben a una extensión de la actividad colinérgica en distintos órganos e incluyen aumento de la motilidad gastrointestinal, dolores abdominales, náuseas, bradicardia, miosis y aumento de la secreción lacrimal, salivar, gastrointestinal y bronquial. Sin embargo, durante la Guerra del Golfo estos efectos fueron mínimos teniendo en cuenta el beneficio que aporta su uso en caso de exposición a agentes neurotóxicos. Este pretratamiento parece, por tanto, bastante seguro en una población sana. Tampoco se han descrito efectos a largo plazo en las dosis empleadas en el pretratamiento.

Los estudios *in vivo* en animales demuestran un aumento en la inhibición de la AChE en el sistema nervioso central al coadministrar piridostigmina y DEET, de ahí que se deba controlar el uso de repelentes de insectos durante el pretratamiento.

La asociación de piridostigmina a antimuscarínicos tales como la benactizina y el trihexifenidilo no sólo aumenta la eficacia del pretratamiento, sino que disminuye los posibles efectos secundarios. Este tipo de asociaciones sería más indicado si es necesario llevar a cabo un pretratamiento en poblaciones en las que pueden haber personas más susceptibles a la piridostigmina, como es el caso de pacientes asmáticos.

Aunque existen otras opciones a la utilización de la piridostigmina en el pretratamiento de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra, la huperzina A destaca como el principal candidato a sustituir a la piridostigmina debido a su mayor eficacia y buenas propiedades farmacocinéticas, si bien actualmente hay poca experiencia en su utilización en el hombre.

## Bibliografía

- Marrs TC (1993) Organophosphate poisoning. *Pharmac Ther* 58: 51-66.
- Grob D, Harvey AM (1953) The effects and treatment of nerve gas poisoning. *Am J Med* 14: 52-63.
- United States Army Medical Research Institute of Chemical Defense (1998) Special publication: pyridostigmine. USAMRICD Special Publication 98-01.
- Tonkopi V (2001) Structure and efficiency of carbamates as drugs for prophylaxis. En: Proceedings of the seventh international symposium on protection against chemical and biological warfare agents. National Defence Research Institute, Umea (Suecia). En prensa.
- Gall D (1981) The use of therapeutic mixtures in the treatment of cholinesterase inhibition. *Fundam Appl Toxicol* 1: 214-216.
- Dawson RM (1994) Review of oximes available for treatment of nerve agent poisoning. *J Appl Toxicol* 14: 317-331.
- Spencer PS, Wilson BW, Albuquerque EX (2000) Sarin, other "nerve agents", and their antidotes. En: Spencer PS, Schaumburg HH, Ludolph AC (editores) *Experimental and clinical neurotoxicology*, 2ª ed., Oxford University Press, New York. 1073-1093.
- United States Army Medical Research Institute of Chemical Defense (1990) Clinical notes on chemical casualty care: pyridostigmine. USAMRICD Technical Memorandum 90-4.
- Koplovitz I, Stewart JR (1994) A comparison of the efficacy of HI6 and 2-PAM against soman, tabun, sarin, and VX in the rabbit. *Toxicol Lett* 70: 269-279.

10. Briggs CJ, Simons KJ (1986) Treatment of organophosphorus poisoning: pharmaceutical aspects of antidotes. En: Heyndrickx B (editor) Proceedings of the second world congress on new compounds in biological and chemical warfare. University Press, Gante (Bélgica). 514-523.
11. Dunn MA, Sidell FR (1989) Progress in medical defense against nerve agents. JAMA 262: 649-652.
12. Lennox WJ, Harris LW, Talbot BG, Anderson DR (1985) Relationship between reversible acetylcholinesterase inhibition and efficacy against soman lethality. Life Sci 37: 793-798.
13. Marino MT, Schuster BG, Brueckner RP, Lin E, Kaminskis A, Lassetter KC (1998) Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of pyridostigmine bromide for prophylaxis against nerve agents in humans. J Clin Pharmacol 38: 227-235.
14. Taylor P (1996) Anticholinesterase agents. En: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman A (editores) Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9ª ed., Mc Graw Hill, New York. 161-176.
15. Keeler JR, Hurst CG, Dunn MA (1991) Pyridostigmine used as a nerve agent pretreatment under wartime conditions. JAMA 266: 693-695.
16. Gouge SF, Daniels DJ, Smith CE (1994) Exacerbation of asthma after pyridostigmine during Operation Desert Storm. Mil Med 159: 108-111.
17. Institute of Medicine: Committee on health effects associated with exposures during the Gulf War (2000) Illnesses in Gulf War veterans. En: Fulco CE, Liverman CT, Sax HC (editores) Gulf War and health (volume 1): depleted uranium, pyridostigmine, sarin, vaccines. National Academy Press, Washington, D.C. 39-67.
18. Moss JI (2001) Many Gulf War illnesses may be autoimmune disorders caused by the chemical and biological stressors, pyridostigmine bromide, and adrenaline. Med Hypotheses 56: 155-157.
19. Niesen CE, Shah NS (2000) Pyridostigmine-induced microcephaly. Neurology 54: 1873-1874.
20. Bowman PD, Schuschereba ST, Johnson TW, Woo FJ, McKinney L, Wheeler CR, *et al.* (1989) Myopathic changes in diaphragm of rats fed pyridostigmine bromide subchronically. Fundam Appl Toxicol 13: 110-117.
21. Kaiser KS, Hawksworth AW, Gray GC (2000) Pyridostigmine bromide intake during the Persian Gulf War is not associated with postwar handgrip strength. Mil Med 165: 165-168.
22. Chaney LA, Rockhold RW, Mozingo JR, Hume AS, Moss JI (1997) Potentiation of pyridostigmine bromide toxicity in mice by selected adrenergic agents and caffeine. Vet Human Toxicol 39: 214-219.
23. Sharabi Y, Danon YL, Berkenstadt H, Almog S, Mimouni-Bloch A, Zisman A, *et al.* (1991) Survey of symptoms following intake of pyridostigmine during the Persian Gulf war. Isr J Med Sci 27: 656-658.
24. Somani SM, Husain K, Jagannathan R (2001) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of carbamates under physical stress. En: Somani SM, Romano JA Jr. (editores) Chemical warfare agents: toxicity at low levels. CRC Press LLC, Florida. 145-189.
25. Friedman A, Kaufer D, Shemer J, Hendler I, Soreq H, Tur-Kaspa I (1996) Pyridostigmine brain penetration under stress enhances neuronal excitability and induces early immediate transcriptional response. Nat Med 2: 1382-1385.
26. Fishman RA (1997) Less stress-more pressure? Nat Med 3: 366.
27. Lallement G, Foquin A, Baubichon D, Burckhart MF, Carpentier P, Canini F (1998) Heat stress, even extreme, does not induce penetration of pyridostigmine into the brain of guinea pigs. Neurotoxicology 19: 759-766.
28. Grauer E, Alkalai D, Kapon J, Cohen G, Raveh L (2000) Stress does not enable pyridostigmine to inhibit brain cholinesterase after parenteral administration. Toxicol Appl Pharmacol 164: 301-304.
29. Sinton CM, Fitch TE, Petty F, Haley RW (2000) Stressful manipulations that elevate corticosterone reduce blood-brain barrier permeability to pyridostigmine in the rat. Toxicol Appl Pharmacol 165: 99-105.
30. Tian H, Song X, Bressler J, Pruett S, Pope CN (2002) Neither forced running nor forced swimming affect acute pyridostigmine toxicity or brain-regional cholinesterase inhibition in rats. Toxicology 176: 39-50.
31. Snodgrass HL (1992) Permethrin transfer from treated cloth to the skin surface: potential for exposure in humans. J Toxicol Environ Health 35: 91-105.
32. Wester RM, Tanojo H, Maibach HI, Wester RC (2000) Predicted chemical warfare agent VX toxicity to uniformed soldier using parathion in vitro human skin exposure and absorption. Toxicol Appl Pharmacol 168: 149-152.
33. Spencer PS (2000) N,N-Diethyl-m-toluamide and other dialkylamides. En: Spencer PS, Schaumburg HH, Ludolph AC (editores) Experimental and clinical neurotoxicology, 2ª ed., Oxford University Press, New York. 492-496.
34. Taplin D, Meinking TL (1987) Pyrethrins and pyrethroids for the treatment of scabies and pediculosis. Semin Dermatol 6: 125-135.
35. Anadón A, Martínez-Larrañaga MR, Díaz MJ, Bringas P (1991) Toxicokinetics of permethrin in the rat. Toxicol Appl Pharmacol 119: 1-8.
36. Vijverberg HPM (2000) Pyrethroids. En: Spencer PS, Schaumburg HH, Ludolph AC (editores) Experimental and clinical neurotoxicology, 2ª ed., Oxford University Press, New York. 1028-1044.
37. Abou-Donia MB, Wilmarth KR, Jensen KF, Oehme FW, Kurt TL (1996) Neurotoxicity resulting from coexposure to pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin: implications of Gulf War chemical exposures. J Toxicol Environ Health 48: 35-56.
38. Hoy JB, Cornell JA, Karlix JL, Schmidt CJ, Tebbett IR, van Haaren F (2000) Interactions of pyridostigmine bromide, DEET and permethrin alter locomotor behavior of rats. Vet Human Toxicol 42: 65-71.
39. Hoy JB, Cornell JA, Karlix JL, Tebbett IR, van Haaren F (2000) Repeated coadministrations of pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin alter locomotor behavior of rats. Vet Human Toxicol 42: 72-76.
40. McCain WC, Lee R, Johnson MS, Whaley JE, Ferguson JW, Beall P, *et al.* (1997) Acute oral toxicity study of pyridostigmine bromide, permethrin, and DEET in the laboratory rat. J Toxicol Environ Health 50: 113-124.
41. Buchholz BA, Pawley NH, Vogel JS, Mauthe RJ (1997) Pyrethroid decrease in central nervous system from nerve agent pretreatment. J Appl Toxicol 17: 231-234.
42. Chaney LA, Wineman RW, Rockhold RW, Hume AS (2000) Acute effects of an insect repellent, N,N-diethyl-m-toluamide, on cholinesterase inhibition induced by pyridostigmine bromide in rats. Toxicol Appl Pharmacol 165: 107-114.
43. Abou-Donia MB, Goldstein LB, Jones KH, Abdel-Rahman AA, Damodaran TV, Dechkovskaia AM, *et al.* (2001) Locomotor and sensorimotor performance deficit in rats following exposure to pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin, alone and in combination. Toxicol Sci 60: 305-314.
44. Griffiths GD, Hornby RJ, Stevens DJ, Scott LAM, Upshall DG (2001) Biological consequences of multiple vaccine and pyridostigmine pretreatment in the guinea pig. J Appl Toxicol 21: 59-68.

45. Kassa J, Fusek J (1998) The positive influence of a cholinergic-anticholinergic pretreatment and antidotal treatment on rats poisoned with supralethal doses of soman. *Toxicology* 128: 1-7.
46. Kassa J, Vachek J, Bajgar J, Fusek J (2001) A combination of pyridostigmine with anticholinergic drugs: effective pharmacological pretreatment of soman-poisoned mice. *ASA Newsletter* 84: 16-19.
47. Xia DY, Wang LX, Pei SQ (1981) The inhibition and protection of cholinesterase by physostigmine and pyridostigmine against soman poisoning in vivo. *Fundam Appl Toxicol* 1: 217-221.
48. Deshpande SS, Viana GB, Kauffman FC, Rickett DL, Albuquerque EX (1986) Effectiveness of physostigmine as a pretreatment drug for protection of rats from organophosphate poisoning. *Fundam Appl Toxicol* 6: 566-577.
49. Kirby AW, Townsend AT (1989) The effect of carbamates on the neural portion of the visual system. En: *Proceedings of the third international symposium on protection against chemical warfare agents*. National Defence Research Institute, Umea (Suecia). 151-152.
50. Philippens IH, Melchers BP, Oliver B, Bruijnzeel PL (2000) Scopolamine augments the efficacy of physostigmine against soman poisoning in guinea pigs. *Pharmacol Biochem Behav* 65: 175-182.
51. Sidell FR (1992) Clinical considerations in nerve agent intoxication. En: Somani SM (editor) *Chemical warfare agents*. Academic Press Inc., San Diego (California). 155-194.
52. Scott EAM, Hollands RN, Wetherell JR (1994) The current UK medical countermeasures for nerve agent poisoning; physostigmine and hyoscine as an alternative to pyridostigmine. En: Price B (editor) *Proceedings of the chemical and biological medical treatment symposium*. Applied Science and Analysis, Portland (Maine). 1.14-1.17.
53. Stojiljkovic MP, Maksimovic M, Bokonic D, Kilibarda V, Tadic V, Boskovic B (1998) Adamantanes versus carbamates as prophylactic agents in soman-poisoned rats. En: *Proceedings of the sixth international symposium on protection against chemical and biological warfare agents*. National Defence Research Institute, Umea (Suecia). 197-202.
54. Patocka J, Kassa J (1999) Huperzine A: prospective prophylactic antidote against organophosphate warfare agent poisoning. *ASA Newsletter* 71: 16-19.
55. Tonduli LS, Testylier G, Masqueliez C, Lallement G, Monmaur P (2001) Effects of huperzine used as pre-treatment against soman-induced seizures. *Neurotoxicology* 22: 29-37.
56. Ashani Y, Peggins JO, Doctor BP (1992) Mechanism of inhibition of cholinesterases by huperzine A. *Biochem Biophys Res Commun* 184: 719-726.
57. Grunwald J, Raveh L, Doctor BP, Ashani Y (1994) Huperzine A as a pretreatment candidate drug against nerve agent toxicity. *Life Sci* 54: 991-997.
58. Lallement G, Foquin A, Dorandeu F, Baubichon D, Aubriot S, Carpentier P (2001) Subchronic administration of various pretreatments of nerve agent poisoning. I. Protection of blood and central cholinesterases, innocuousness towards blood-brain barrier permeability. *Drug Chem Toxicol* 24: 151-164.
59. Laganiere S, Corey J, Tang XC, Wulfert E, Hanin I (1991) Acute and chronic studies with the anticholinesterase huperzine A: effect on central nervous system cholinergic parameters. *Neuropharmacology* 30: 763-768.
60. Xu SS, Gao ZX, Weng Z, Du ZM, Xu WA, Yang JS, *et al.* (1995) Efficacy of tablet HUP-A on memory, cognition and behavior in Alzheimer's disease. *Acta Pharmacologica Sinica* 16: 391-395.
61. Qian BC, Wang M, Zhou ZF, Chen K, Zhou RR, Chen GS (1995) Pharmacokinetics of tablet huperzine A in six volunteers. *Acta Pharmacologica Sinica* 16: 396-398.

## Botulismo y toxina botulínica

Pérez-Pérez H, Rubio C, Pozuelo MR, Revert C y Hardisson A

Área de Toxicología. Facultad de Medicina. Universidad de La Laguna. 38071 La Laguna. S/C de Tenerife.

Tfno: 922-319372. Fax: 922-319279. e-mail: crubio@ull.es

Recibido 22 de Marzo de 2002 / Aceptado 5 de Noviembre de 2002

**Resumen:** El botulismo es una toxi-infección producida por la bacteria anaerobia *Clostridium botulinum* por medio de una potentísima toxina, la toxina botulínica, de la cual existen ocho serotipos diferentes. Ésta es capaz de provocar en humanos al menos cuatro cuadros clínicos diferentes por bloqueo de la transmisión neuromuscular, y que pueden variar en gravedad desde la casi ausencia de síntomas hasta la muerte por parálisis respiratoria. Paradójicamente, la toxina botulínica se presenta también como un arma terapéutica eficaz y segura en decenas de enfermedades, si bien gran parte de estas potenciales aplicaciones está aún en fase de investigación.

**Palabras clave:** Botulismo, toxina botulínica.

**Abstract: Botulism and botulinum toxin.** Botulism is a toxic infection produced by the anerobic bacterium *Clostridium botulinum* through a powerful toxin, which has eight different serotypes: the botulinum toxin. This toxin is able to produce disease in humans by blocking neuromuscular transmission by at least four different ways. The affection can go from the nearly absence of symptoms to death after respiratory paralysis. Paradoxically, botulinum toxin has also become an efficacious, safe therapeutic tool in several kinds of conditions, although most of these potential uses are still in research stages.

**Key words:** Botulism, botulinum toxin.

### Introducción

El botulismo se remonta a Oriente Medio, durante el reinado del emperador de Bizancio, León VI (886-911), el cual prohibió la preparación y venta de morcilla (*botulus*) por asociarla con una enfermedad de muy grave pronóstico. Se le llama también alantiasis por aparecer asimismo después de la ingestión de salchichas (*alantos* en griego) contaminadas.

El estudio de la bacteria causante de la enfermedad no comenzó hasta 1896. Se le atribuye a Emile van Ermengem, discípulo belga de Robert Koch y Claude Bernard, el descubrimiento de la toxina botulínica a partir del aislamiento de un bacilo anaerobio esporulado. Lo nombró *Bacillus botulinus*. En 1920, al ser ya considerado un anaerobio estricto, el bacilo fue transferido por

Holland al género *Clostridium*, siendo llamado desde entonces *Clostridium botulinum*. En 1970 se aisló el último de los ocho serotipos de toxina botulínica que se conocen hoy.

### Manifestaciones clínicas, diagnóstico y tratamiento del botulismo:

El botulismo es la enfermedad causada por las neurotoxinas de *Clostridium botulinum*, que tienen un efecto paralizante progresivo de inicio en los nervios craneales y extensión caudal a las extremidades [1].

Existen cuatro formas de botulismo: 1) botulismo transmitido por alimentos (por la ingestión de la toxina preformada en alimentos contaminados por la bacteria) [1, 2]; 2) botulismo de las heridas (por producción de toxina *in vivo* en heridas contaminadas) [1, 2]; 3) botulismo infantil (por ingestión de esporas y producción de toxina en el intestino del lactante) [1, 2]; y 4) indeterminado, donde se incluyen casos de niños mayores y adultos en los que la enfermedad se produce por un mecanismo similar al del infantil [1].

En el *botulismo alimentario*, la enfermedad, que se presenta tras un período de incubación de 24 horas a 4 días después de la absorción de la toxina [1, 3, 4], varía desde formas leves que no requieren atención médica hasta un cuadro grave que puede provocar la muerte en 24 horas por una parálisis flácida descendente simétrica que ocasiona insuficiencia respiratoria [1, 2, 3]. Los síntomas comienzan con afectación de los nervios craneales (diplopía, disartria, disfagia), agravándose progresivamente la debilidad motora, que pasa a cuello, brazos, tórax y piernas. Puede haber náuseas, vómitos y dolor abdominal antes o después del comienzo de la parálisis. Hay además mareos, visión borrosa y boca seca. No aparecen fiebre ni alteración del nivel de conciencia. Es frecuente que existan ptosis, pupilas dilatadas y fijadas, reflejos pupilares atenuados, fleo paralítico, estreñimiento intenso (tras un período de diarrea inicial) y retención urinaria [1, 2, 3, 4].

El *botulismo de las heridas* es similar al alimentario, aunque tiene un período de incubación más largo (unos 10 días) y faltan los síntomas digestivos [1, 2].

El *botulismo del lactante* es hoy la forma más frecuente de botulismo en EE.UU. [1, 2]. Su intensidad varía desde las formas

leves, en las que el lactante deja de ganar peso, hasta las fulminantes, con parálisis e insuficiencia respiratoria, pudiendo ser una de las causas de muerte súbita del lactante [1, 2]. Aunque la mayoría de los casos no puede atribuirse a ningún alimento concreto, se sabe que la miel contaminada es una fuente de esporas, por lo que se aconseja que no se alimente con miel a los niños menores de un año de edad [1, 2]. La colonización intestinal por *C. botulinum* suele afectar a lactantes de menos de 6 meses de edad; esta susceptibilidad puede disminuir al desarrollarse la flora intestinal normal [1].

El *botulismo indeterminado* (también denominado botulismo infeccioso entérico del adulto, botulismo infeccioso del adulto de origen desconocido y botulismo infantil del adulto) incluye los casos que no pueden atribuirse a un alimento concreto. Aquí la toxina se produce en el intestino en personas colonizadas por el germen. Se encuentran toxinas y microorganismos en las heces y en el alimento sospechoso pueden encontrarse esporas, pero no toxina. La enfermedad gastrointestinal o la cirugía pueden predisponer al trastorno [1].

El **diagnóstico** del botulismo es esencialmente clínico. Se confirma por el aislamiento del microorganismo (a partir del alimento, heces o vómitos) o demostración de la actividad de la toxina (en el alimento, heces o suero, mediante un bioanálisis en ratón) [1, 2].

El **tratamiento** exige soporte ventilatorio y vigilancia intensiva del enfermo [1, 2]. En los casos vehiculados por alimentos (serotipos A, B y E) debe administrarse antitoxina trivalente de caballo [1, 2]. Si no hay íleo paralítico, se pueden dar purgantes y enemas para eliminar la toxina del intestino; los vómitos y el lavado gástrico sólo se utilizan si la ingestión fue reciente, de unas horas antes [1]. No está demostrada la eficacia de los antibióticos [1]. En el botulismo infantil, ni la antitoxina equina ni los antibióticos son beneficiosos. En el botulismo de las heridas sí se administra la antitoxina, además de revisarse y desbridarse la herida, y se da penicilina para eliminar la bacteria, si bien no está probada su utilidad [1].

## LA TOXINA BOTULÍNICA

La toxina botulínica (TXB) fue descubierta en 1897 e introducida como agente terapéutico en 1977. Esta potentísima toxina se ha convertido en un fármaco muy útil cuya lista de posibles aplicaciones no deja de aumentar, sobre todo en los campos de las hiperfunciones musculares y las disfunciones del sistema nervioso autónomo, aspectos que se comentarán más adelante.

La TXB está producida por el bacilo *Clostridium botulinum*, Gram negativo y anaerobio estricto formador de esporas. Esta bacteria tiene una tolerancia variable al oxígeno, pero no crece jamás en atmósferas que contienen más de un 10% de oxígeno [5]. *Clostridium botulinum* es capaz de producir en el hombre y en el resto de mamíferos la intoxicación conocida como botulismo, y que es consecuencia de la ingestión de una toxina preformada en el alimento contaminado.

El botulismo alimentario puede ocurrir a raíz de varias situaciones: 1) cuando un alimento que va a conservarse se contamina con esporas; 2) cuando la conserva no inactiva las esporas, sino que destruye otras bacterias de la putrefacción que pueden inhibir la proliferación de *C. botulinum* y, además, proporciona las

condiciones de pH (mayor de 4'5) y temperatura (menor de 120 °C) que permiten la germinación y la elaboración de la toxina; y 3) cuando no se calienta el alimento ya contaminado hasta una temperatura que destruya la toxina antes de ingerirla (a partir de 85-100 °C) [1, 2, 4, 6, 7].

## Estructura y mecanismo de acción de la toxina botulínica:

Existen ocho subtipos serológicos de toxina botulínica, nombrados de la A a la G (A, B, C1, C2 y de D a G) [1, 2, 8, 9, 10], si bien sólo afectan al sistema nervioso humano los serotipos A, B, E, F y G [10, 4]. Según algunos autores, el tipo G se ha asociado con casos de muerte brusca, pero no con enfermedad neuroparalítica. Únicamente la toxina A es la utilizada en terapéutica, aunque la B, la C y la F se perfilan también como nuevos fármacos [10, 11]. La C2, al contrario que el resto, no es una neurotoxina, sino una citotoxina cuya actuación altera la permeabilidad vascular [2]. La mayoría de los aislamientos bacterianos individuales producen sólo una toxina [2].

Todos los serotipos botulínicos tienen la misma estructura química y un peso molecular de unos 140 a 170 kDa [5, 8, 9]. Son producidos en la fase de crecimiento y se liberan durante la lisis bacteriana, la cual se produce espontáneamente, sobre todo bajo la influencia de autolisinas producidas por la propia cepa [6]. Los serotipos son antigénicos y son inmunológicamente diferentes [1, 5].

La TXB es una proteína compuesta de una cadena ligera L (de unos 50 kDa) y una cadena pesada H (de unos 100 kDa) unidas por un puente disulfuro [1, 5, 10]. Además, la toxina suele estar asociada a otras proteínas (sin efecto terapéutico), como la hemaglutinina, en forma de complejos; esta asociación permite la protección de la parte activa frente a los ataques de la digestión [5]. La cadena pesada es la responsable de la fijación al receptor presináptico y es similar en todos los serotipos, al contrario que la cadena ligera –que es la fracción realmente tóxica [5]–.

En cuanto a su mecanismo de acción, la TXB lleva a cabo una lisis de las proteínas implicadas en la exocitosis de la acetilcolina a nivel de la unión neuromuscular, inhibiendo así la descarga colinérgica [12]. Esto ocurre en tres etapas después de que la toxina haya penetrado en el sistema vascular y haya sido transportada a las terminaciones nerviosas periféricas colinérgicas (incluyendo las uniones neuromusculares, las terminaciones nerviosas posganglionares parasimpáticas y los ganglios periféricos) [1, 5, 8, 9, 10]:

1. En primer lugar, la cadena H se fija rápida e irreversiblemente a los receptores diana de la superficie de las terminaciones nerviosas presinápticas colinérgicas.
2. A continuación se pasa a la fase de internalización (endocitosis) del complejo toxina - receptor y la liberación de la cadena L de la toxina al citosol.
3. Por último, dicha cadena L fragmenta la proteína SNAP-25 celular y de esta forma bloquea la liberación de acetilcolina, con su inmediata consecuencia: la parálisis muscular. El sistema nervioso central no resulta afectado.

## LA TOXINA BOTULÍNICA COMO TRATAMIENTO

El primer uso médico de la TXB (serotipo A) la llevó a cabo el oftalmólogo Alan Scott, en 1980, para tratar el estrabismo [5, 8, 10]. Nueve años más tarde, la *Food and Drug Administration* estadounidense aprobó su uso en el estrabismo, el blefarospasmo y los “trastornos del nervio facial” [8, 9]. Hoy en día, la TXB-A se emplea en muchas más afecciones, si bien las indicaciones aprobadas oficialmente en los distintos países siguen siendo pocas y muy concretas.

Aunque se ha demostrado que la TXB es en la mayoría de sus usos clínicos actualmente aceptados un tratamiento seguro y efectivo [1,10], debe ser siempre aplicada por médicos experimentados, con la técnica y las indicaciones adecuadas [13]. La técnica consiste en inyectar la toxina por vía intramuscular o subcutánea, según la indicación, en el músculo indicado. En ocasiones es necesario, e incluso recomendable, utilizar electromiografía como guía a la hora de inyectar la sustancia, para lograr una mayor precisión en el punto de aplicación [5, 8, 11].

El efecto terapéutico de la toxina es transitorio y limitado al área donde ésta es administrada. La recuperación de la función neuronal en dicha área ocurre gradualmente a medida que unas nuevas terminaciones nerviosas crecen y contactan con la membrana postsináptica, mientras el axón original se restablece [8, 9, 10, 14].

Así, el uso terapéutico de la TXB se basa en su propiedad para provocar, siempre localmente, parálisis flácida muscular y disfunción del sistema nervioso autónomo.

### Indicaciones terapéuticas de la toxina botulínica A autorizadas en España:

Siempre refiriéndonos al serotipo A, en España existen cuatro indicaciones para el uso, siempre hospitalario, de toxina botulínica [15]: el tratamiento del blefarospasmo, del espasmo hemifacial, de la tortícolis espasmódica y la corrección del estrabismo (en mayores de 12 años). También se usa en la espasticidad del brazo en pacientes que han sufrido un accidente cerebrovascular agudo y en la espasticidad asociada a pie equino en niños mayores de dos años con parálisis cerebral infantil [13]. Por lo tanto, el uso de la TXB-A con fines estéticos no está aún autorizada en nuestro país.

En Francia se ha autorizado además, aunque reservado al medio hospitalario, su uso en miopatías tiroideas recientes y en el tratamiento de las deformaciones dinámicas del pie equino en niños con espasticidad debida a alguna enfermedad motriz cerebral [5].

En el Reino Unido, el uso terapéutico de la toxina sólo está aprobado en el blefarospasmo, el espasmo hemifacial y la espasticidad [11].

### Especialidades farmacéuticas que contienen TXB-A:

Existen dos especialidades autorizadas, y sólo para uso hospitalario en España: Botox (Allergan) vial 100 UI (env 1) y Dysport (Ipsen Farma) vial 500U/3ml (env 2) [113, 15]. Una unidad se define como la dosis letal media (DL50) intraperitoneal en el ratón Swiss-Webster [8, 9, 10, 15].

Es importante tener presente que una unidad de Botox no es equivalente en potencia a una unidad de Dysport y, aunque diversos estudios han intentado buscar equivalencias proporcionales entre las dosis de ambos productos, no se ha llegado a ninguna conclusión clara [16]. Algunos autores opinan que es imposible llegar a establecer una relación exacta entre estas especialidades, puesto que tienen propiedades farmacodinámicas diferentes [2]. Incluso las técnicas de dilución y de aplicación difieren en los dos productos [10, 16].

### Efectos secundarios, contraindicaciones, interacciones, fallo terapéutico:

Los efectos secundarios más frecuentes tras la aplicación de la toxina son los derivados de la difusión local del fármaco a partir del punto de inyección, produciendo debilidad muscular (por ejemplo, ptosis, lagrimeo, fotofobia e irritación ocular cuando la toxina es inyectada en los músculos que rodean al ojo; o disfagia transitoria por la difusión de la toxina a los músculos orofaríngeos al tratar una tortícolis). Estos efectos se pueden minimizar utilizando técnicas electromiográficas como guía para lograr una mayor precisión en el momento de la inyección [5, 8], así como aplicando la máxima dosis efectiva en cada caso diluida en el mínimo volumen posible [10]. Se han visto, aunque con mucha menos frecuencia, efectos indeseados generalizados como hipersensibilidad o síntomas gripales [8, 11, 14, 17].

Las contraindicaciones a este fármaco se refieren a pacientes con enfermedades de la unión neuromuscular (como la miastenia gravis o el síndrome de Eaton-Lambert) [10], a mujeres embarazadas y a madres lactantes [5, 11, 13]. No se debe administrar en personas en tratamiento con aminoglucósidos (potencian su efecto) [10, 13], espectinomina, e incluso con polimixinas, tetraciclina o relajantes musculares [14], así como con anticoagulantes [5].

Puesto que el bloqueo neuromuscular que la toxina produce es reversible, las inyecciones deben repetirse cada cierto tiempo, en general varios meses, según la indicación [8, 9, 10, 11, 13, 14]. Sin embargo, frecuentemente se produce una pérdida de respuesta a la TXB con el tiempo y las repetidas aplicaciones [8, 10, 11, 13, 16]. La justificación más frecuentemente dada para explicar este fenómeno es la formación de anticuerpos antitoxina en el sujeto, pero esta relación no siempre es absoluta y no es totalmente aceptada [8,16]. Estos pacientes podrían beneficiarse de inyecciones con otros serotipos de TXB, como el B, el C o el F, si bien el posible uso clínico de estas sustancias aún se está estudiando [9, 10, 11].

### ACTUALES Y POTENCIALES USOS TERAPÉUTICOS

Actualmente podrían existir más de 50 posibles indicaciones de aplicación de toxina botulínica, a pesar de que la gran mayoría de ellas no están justificadas por ensayos clínicos controlados ni por su seguridad de uso. Están hoy en curso numerosos estudios que pretenden demostrar con criterios de medicina basada en la evidencia las múltiples aplicaciones terapéuticas de la toxina botulínica. Además, existen trabajos científicos enfocados hacia la síntesis de toxinas botulínicas quiméricas por modificación de su cadena pesada, lo cual las haría específicas de un determina-

do receptor celular y, así, ejercer su acción enzimática sobre células diana concretas [5]. Enumeraremos los potenciales usos terapéuticos de la TXB-A según el grado actual de evidencia de efectividad demostrado.

- **Tratamiento con TXB recomendado [18]:** *Distonías focales* (distonía cervical –tortícolis-, blefaroespasma, calambre del escribiente, síndrome de Meige) [8, 11, 18, 19]. *Espasmo hemifacial* [5, 8, 11, 14, 15, 18, 19]. *Espasticidad focal*, tanto en adultos (deformidad equina espástica, espasticidad del músculo flexor de la rodilla, hemiespasticidad de miembros inferiores, espasticidad del flexor de la mano, del flexor de los dedos o del flexor del codo, espasticidad severa del aductor, brazo espástico no funcionante, tetraespasticidad extensora severa) [18, 20, 21] como en niños, sobre todo en los casos de espasticidad por parálisis cerebral, y siempre en combinación con tratamiento fisioterapéutico y un adecuado apoyo del entorno [5, 11, 17, 18, 22, 23]. *Hiperhidrosis focal* [5, 8, 9, 14, 18, 24, 25], sobre todo la axilar y la palmar, y en el síndrome de Frey (o de “sudoración gustatoria”); también se ha aplicado TXB en la hiperhidrosis plantar, frontal y del tronco, pero con peores resultados [5, 24]. *Arrugas faciales frontales* [5, 8, 11, 18]. *Fisura anal* [5, 9, 11, 18, 25, 26]. *Ptosis preventiva* (para proteger la córnea en pacientes con parálisis facial, en cuidados intensivos o con oftalmopatía tiroidea) [8, 11, 18, 27].
- **Tratamiento con TXB reservado a centros especializados y a casos individuales (hasta que se realicen nuevos y más amplios estudios que aseguren su eficacia y seguridad) [18]:** Con respecto a las *distonías*: calambre “calambre del músico”, distonía lingual, distonía generalizada, síndrome de La Tourette, discinecias tardías [8, 11, 18]. *Temblores*: temblor distónico, temblor por parkinsonismo, temblor esencial de la cabeza o de la mano [11, 18]. *Disfasias y problemas del lenguaje*: disfonía espasmódica [8, 11, 14, 18] (la Academia Americana de Otorrinolaringología - Cirugía de cara y cuello considera la TXB-A la primera opción terapéutica de esta afección [8], temblor vocal [8, 18], mioclonía del paladar [8, 14, 18], tics vocales, tartamudeo [8, 11, 18]. En oftalmología, estrabismo [11, 14, 15, 18, 27]. *Función glandular*: hipersalivación (sialorrea) [8, 18, 25], lagrimeo excesivo [18, 27], “ojo seco” [27], síndrome de las lágrimas de cocodrilo [18, 25, 27], síndrome de Ross [18]. *Dolor*: cefaleas tensionales y migrañas [8, 18, 28, 29] (donde la TXB-A ha demostrado tener efectos analgésicos que no se explican del todo por el bloqueo colinérgico), dolores de espalda, dolor postoperatorio, fibromialgia [18]. *Arrugas*: faciales en general [5, 11, 14, 18, 27], líneas de expresión faciales [5, 8, 9, 18, 27], asimetría facial consecutiva a parálisis facial [8, 18], arrugas por cicatrización y sinquinesias [8, 14, 18], cicatrices faciales [18]. En el *área urogenital*, disinergia del esfínter de músculo detrusor de la vejiga [18, 25], vejiga hiperrefléxica [25], uretrismo, espasticidad de esfínter, neovejiga, vaginismo [18, 11]. Con respecto al *sistema gastrointestinal*, se han tratado con TXB-A la acalasia [14, 18, 25, 26], la disfunción del esfínter de Oddi [18, 25, 26], el anismo [18, 25, 26], el síndrome puborrectal [8, 25], el estreñimiento propio del parkinsonismo (estreñimiento “de salida” y no de absorción) [18, 25]. En *otras áreas*, se ha utilizado la toxina para la *epi-*

*lepsia partialis continua*; también puede provocar disminución de la producción de cerumen [7] y mejorar la rinitis [8, 14, 18] y el bruxismo [14, 18].

- **Usos de la TXB-A aún no valorables por la escasez de datos o de evidencia científica [18]:** distonía mandibular [8, 14, 18], distonía faríngea [11, 18], adyuvante en la curación de granulomas de las cuerdas vocales [6, 11, 14], oftalmopatía endocrina [11, 14, 18], nistagmo oscilatorio, parálisis del músculo oculomotor externo [18], hipertrofia del músculo masetero [14], codo de tenista [18], síndrome doloroso miofacial, obesidad (con inyecciones de TXB-A en las paredes gástricas, para lograr una mayor sensación de saciedad) [18], diversas enfermedades esofágicas (espasmo difuso esofágico [8, 25, 26], espasmo del esfínter esofágico superior [8, 18, 25], distonía cricofaríngea [8, 11, 18, 25, 26], afectación esofágica de la enfermedad de Chagas [18, 25, 26], estenosis hipertrófica pilórica infantil, espasmo pilórico postoperatorio y diverticulitis esofágica [18], enfermedad de Hirschprung [18, 26] y dolor torácico no cardiogénico [18].

## Referencias

1. Abrutyn E (1998). *Botulismo*. En: Faucia, Braunwold E, Isselbacher K, Wilson JD y cols. *Harrison. Principios de Medicina Interna*. 14ª Ed., McGraw-Hill Interamericana de España, Madrid. 1032-1034.
2. Murray Pr, Kobayashi Gs, Pfaller Ma, Rosenthal Ks (1997). *Bacilos anaerobios grampositivos esporulados*. En: *Microbiología médica*. 2ª Ed., Harcourt Brace de España, Madrid. 294-308.
3. Castellano Arroyo M (1998). *Intoxicaciones por alimentos*. En: Gisbert Calabuig J A. *Medicina legal y Toxicología*. Ed. Masson, Barcelona. 871-882.
4. Hobbs Bc, Roberts D (1993). *Bacterias y otros microbios que provocan intoxicaciones alimenticias e infecciones transmitidas por los alimentos*. En: *Higiene y toxicología de los alimentos*. 3ª Ed., Acribia, Zaragoza. 33-64.
5. Degouy A, Aubin A, Aubin F, Monnier G, Humbert Ph. (2000). *La toxine botulique en dermatologie*. *Ann Dermatol Venereol* 127(6-7): 638-42.
6. Johns N (1995). *Enfermedades transmitidas por alimentos, microorganismos y parásitos*. En: *Higiene de los alimentos*. Ed. Acribia, Zaragoza. 41-76
7. Lafont Ph, Lafont J (1990). *Toxicidad y contaminación bacteriana*. En: Derache J. *Toxicología y seguridad de los alimentos*. Ed. Omega, Barcelona. 193-202.
8. Blitzer A, Sulica L. (2001). *Botulinum toxin: basic science and clinical uses in otolaryngology*. *Laryngoscope* 111(2): 218-26.
9. Böni R, Kreyden O, Burg G. (2000). *Revival of the use of botulinum toxin: application in dermatology*. *Dermatology* 200(4): 287-91.
10. Huang W, Forter Ja, Rogachefsky A S. (2000). *Pharmacology of botulinum toxin*. *J Am Acad Dermatol* 43 (2 Pt 1):249-59.
11. Münchau A, Bhatia Kp (2000). *Uses of botulinum toxin injection in medicine today*. *BMJ* 320:161-5.
12. Lefkowitz Rj, Hoffman B B, Taylor P (1996). *Neurotransmisión*. En: Hardman Jg, Limbird Le, Molinoff Pb, Ruddon Rw, Goodman Gilman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9ª Ed., McGraw-Hill Interamericana, México. 113-148.
13. Villa Lf (2001). *Medimecum. Guía de terapia farmacológica*. 6ª Ed., Adis. 549.

14. Walshe P, O'Hare D, Mcshane D, Timon C. (2001). *The use of botulinum toxin in otorhinolaryngology*. Hosp Med 62(4): 228-30.
15. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Dirección electrónica: [www.portalfarma.com](http://www.portalfarma.com)
16. Guyer Bm (2001). *Some unresolved issues with botulinum toxin*. J Neurol 248 Suppl 1: 11-3.
17. Ubhi T. (2000). *Treatment of paediatric cerebral palsy with Dysport*. Hosp Med 61(10): 718-21.
18. Jost wh, Kohl A. (2001). *Botulinum toxin: evidence – based medicine criteria in rare indications*. J Neurol 248 Suppl 1: 39-44.
19. Jost WH, Kohl A (2001). *Botulinum toxin: evidence – based medicine criteria in blepharospasm and hemifacial spasm*. J Neurol 248 Suppl 1: 21-4.
20. Reichel G (2001). *Botulinum toxin for treatment of spasticity in adults*. J Neurol 248 Suppl 1: 25-7.
21. Pazos A, Pascual J (2001). *Farmacología de los movimientos anormales. Fármacos antiespásticos* En: FLÓREZ J. *Farmacología Humana*. Ed. Masson, Barcelona. 513-531.
22. Sánchez-Carpintero R, Narbona J (1997). *Toxina botulínica en parálisis cerebral infantil: resultados en 27 sujetos a lo largo de un año*. Rev Neurol 25(140): 531-5.
23. Kirschner J, Berweck S, Mall V. (2001). *Botulinum toxin treatment in cerebral palsy: evidence for a new treatment option*. J Neurol 248 Suppl 1: 31-3.
24. Naumann M (2001). *Evidence – Based medicine: botulinum toxin in focal hyperhidrosis*. J Neurol 248 Suppl 1: 31-3.
25. Naumann N, Just Wh, Toyka Kv. (1999). *Botulinum toxin in the treatment of neurological disorders of the autonomic nervous system*. Arch Neurol 56(8): 914-6.
26. Mandal A; Robinson Rj. (2001). *Indications and efficacy of botulinum toxin in disorders of the gastrointestinal tract*. Eur J Gastroenterol Hepatol 13(5):603-9.
27. Denniston A, Reuser T (2001). *The use of botulinum toxin in ophthalmology*. Hosp Med 62(8):477-9.
28. Göbel H, Heinze A, Heinze-Kuhn K, Aaustermann K. (2001). *Botulinum toxin A in the treatment of headache syndromes and pericranial pain syndromes*. Pain 91(3): 195-9.
29. Göbel H, Heinze-Kuhn K, Jost Wh. (2001). *Evidence – based medicine: botulinum toxin A in migraine and tension-type headache*. J Neurol 248 Suppl 1:34-8.



# Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad

Castañé PM<sup>1</sup>, Topalián ML<sup>1</sup>, Cordero RR<sup>1,2</sup> y Salibián A<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Ecofisiología Aplicada, Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Nacional de Luján, Casilla de Correo 221, B6700ZBA, Luján, Argentina

<sup>2</sup>Instituto de Geología y Geocronología Isotópica, CONICET, Bs. As

<sup>3</sup>Comisión de Investigaciones Científicas, Provincia de Buenos Aires, B1900 La Plata, Argentina. e-mail: prodea@mail.unlu.edu.ar

Recibido 15 de Marzo de 2002 / Aceptado 6 de Junio de 2002

**Resumen:** La captación y toxicidad de los metales pesados para los organismos acuáticos están influidos no sólo por su concentración; también son relevantes el tiempo de exposición y los factores bióticos y abióticos del ambiente. Para considerar las relaciones de los metales con la biota acuática se deben tener en cuenta tres niveles de interés: a) la especiación en el ambiente, b) las interacciones con la membrana plasmática en la interfase organismo-ambiente, así como otros factores secundarios que pueden afectar los mecanismos funcionales básicos del individuo y c) la partición del elemento en los compartimentos del organismo y los efectos biológicos resultantes de su interacción con los receptores en los sitios de acción. En esta revisión se presentan ejemplos que ilustran la necesidad de determinar no sólo la concentración total de un metal en solución acuosa sino también el perfil de su entorno fisicoquímico y su biodisponibilidad; esta última puede ser correlacionada directamente con la especiación química a través del modelo de actividad del ion libre (en inglés, FIAM, free ion activity model). Se discute además la posibilidad de usar organismos como sensores de la biodisponibilidad de los metales en relación con su especiación química. Dentro de ellos, las algas representan un grupo muy importante ya que muestran una sensibilidad a los contaminantes mucho mayor que otros organismos acuáticos.

Se presentan resultados propios obtenidos mediante bioensayos de laboratorio, usando cultivos algales mono-específicos de *Selenastrum capricornutum* Printz (= *Raphidocelis subcapitata*); se ha estudiado el efecto del Cd sobre la inhibición de la fotosíntesis en presencia del quelante EDTA-Na<sub>2</sub>. Los resultados muestran que la concentración total del Cd no es un buen predictor de su toxicidad para las algas y que su especiación puede afectar la disponibilidad del mismo para los organismos en medio acuático y, consecuentemente, determinar la magnitud de su toxicidad.

**Palabras clave:** metales pesados, especiación química, toxicidad, medio acuático, bioensayos algales.

**Abstract: Influence of the heavy metals speciation in the aquatic environment as determinant of their toxicity.** The uptake and toxicity of heavy metals for aquatic organisms are not only under the influence of their concentration; the exposure time and the biotic and abiotic characteristics of the particular environment are also relevant. The relationship of the metals with the aquatic biota requires taking into account a) their speciation in the environment, b) the interactions with the cellular membrane in the organism-water interface as well as other secondary factors that may affect functional basic mechanisms of the organism and, c) the partition of the metal in the different compartments of the organism and the biological effects as a result of their interaction with the receptors at their sites of action. Several examples showing the importance of the determination of the total concentration and bioavailability of the metals and of the environmental profile are presented; in this respect, the free ion activity model (FIAM) is a useful tool that allows to determinate the correlation between the bioavailability and chemical speciation of the particular element. In addition, the possibility that organisms may be sensors of the bioavailability of heavy metals in the context of their speciation is discussed. Algae constitute a very important group of organisms that show a high sensitivity in the assessment of the impacts of toxic chemicals on aquatic species. The results obtained through laboratory bioassays run using *Selenastrum capricornutum* Printz (= *Raphidocelis subcapitata*) as test organism and cadmium chloride as a reference toxic are shown. The used end point was the inhibition of the photosynthesis rate when grown in media containing EDTA-sodium salt. It was shown that the total concentration of Cd was not a good indicator to predict the toxicity of the metal and that the speciation significantly affects its bioavailability and, consequently, the intensity of the toxic response.

**Key words:** Heavy metals, chemical speciation, toxicity, aquatic environment, algal bioassays.

## INTERACCIONES ENTRE METALES Y ORGANISMOS ACUÁTICOS

Para la mayoría de los organismos la exposición a metales pesados, por encima de una concentración umbral, puede ser extremadamente tóxica. Los de mayor importancia toxicológica y ecotoxicológica en los ambientes acuáticos son: Hg, As, Cr, Pb,

Correspondencia: Dr. Alfredo Salibián. Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Casilla de Correo 221, B6700ZBA-Luján, Argentina. Fax: 54-323-425795. e-mail: prodea@mail.unlu.edu.ar

Cd, Ni y Zn. Los iones de estos elementos suelen penetrar en la célula a través de los mismos sistemas de transporte que utilizan otros cationes metálicos fisiológicamente importantes (Ca, Mg, Cu, Zn). Dentro de la red trófica, los organismos fotosintetizadores o productores son las principales vías de acceso de los metales pesados hacia los consumidores, incluido el ser humano [1].

La actividad industrial y minera ha incrementado dramáticamente la contaminación de los ambientes naturales periurbanos por metales pesados. Por ejemplo, luego de un prolongado monitoreo regular del Río Reconquista (Buenos Aires, Argentina) se encontraron metales disueltos en el agua superficial cuyas concentraciones superaban ampliamente los límites máximos permitidos para la protección de la vida dulceacuática en la legislación vigente: As 4 veces, Cd 40.000, Cr 150, Cu 65 y Zn 23 veces [2-3].

La captación y toxicidad de los metales pesados para los organismos acuáticos están influidos no sólo por su concentración; también son relevantes el tiempo de exposición y los factores bióticos y abióticos del ambiente [4-6]. Para considerar las relaciones de los metales con la biota acuática se deben tener en cuenta tres niveles de interés: a) la especiación en el ambiente, b) las interacciones con la membrana plasmática en la interfase organismo-ambiente, así como otros factores secundarios que pueden afectar los mecanismos funcionales básicos del individuo y c) la partición del elemento en los compartimentos del organismo y los efectos biológicos resultantes de su interacción con los receptores en los sitios de acción.

### Especiación del metal en el ambiente

En la descripción de la concentración de compuestos inorgánicos, considerados "sustancias traza" en los ambientes naturales, es frecuente encontrar la misma expresada en términos de elementos químicos. Sin embargo éstos son parte de moléculas y forman diversas especies moleculares presentes simultáneamente y en relaciones diversas en el ambiente. Por otro lado el comportamiento de un elemento depende de las especies particulares en la que está presente y la mayor reactividad de una especie no necesariamente coincidirá con la mayor concentración del metal en esa forma química. De allí que el comportamiento de un elemento en el ambiente (biodisponibilidad, toxicidad, distribución, etc.) no pueda predecirse basándose en su concentración total [7].

Para tomar en cuenta la complejidad del ambiente natural en el cual se encuentran los elementos traza y su importancia en el comportamiento de los mismos aparece en el contexto químico, el término "especiación".

*Especiación química* se define como la distribución de un elemento químico particular entre las diferentes formas en las cuales puede existir (especies), en un medio determinado. Incluye tanto los elementos libres (en forma neutra o ionizada) como los variados complejos que pueden formarse con diferentes ligandos [8]. La especiación química en aguas superficiales refleja la complejidad química de ese medio.

Los modelos de especiación de elementos traza consideran la formación de complejos con ligandos inorgánicos y orgánicos de bajo peso molecular, complejos con materia orgánica disuel-

ta, adsorción sobre la superficie del material particulado, reacciones redox, etc.

En aguas naturales la concentración de ligandos inorgánicos [ $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{HS}^-/\text{S}^{2-}$  (en condiciones anóxicas)] puede ser conocida con precisión; por el contrario los orgánicos (aminoácidos, ácidos orgánicos, material particulado) sólo se conocen como parámetros colectivos. A ellos deben añadirse los que se incorporan a través de vertidos antropogénicos, como por ejemplo, NTA (ácido nitrilotriacético) y EDTA (ácido etilendiamintetraacético) que pueden encontrarse en una concentración de  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  M [9].

La dificultad analítica para determinar las concentraciones de una sola especie o de un grupo de especies ha tenido por consecuencia que en general se cuantifique la concentración total de elementos trazas en el ambiente. Sin embargo, el análisis de las distintas especies químicas es una herramienta importante para predecir su comportamiento en el ecosistema y desarrollar medidas de remediación en caso de contaminación [6].

Desastres ecológicos como el incidente del metilmercurio en Minamata, sirven como trágico recordatorio de la importancia de la especiación de los elementos tóxicos en su movilización y bioacumulación. Muchas especies químicas de As, Hg y Se son transformados en el ambiente durante procesos de alteración abiótica, captación y eliminación por la biota, fijación y removilización en los sedimentos, etc. [7].

El óxido de cadmio y algunas sales de este metal, como el sulfuro y el carbonato, son prácticamente insolubles en agua pero pueden convertirse en sales hidrosolubles en el medio natural, mientras que el sulfato, el nitrato y los haluros son hidrosolubles [10]. De allí que la especiación del cadmio en el ambiente tiene importancia para evaluar su riesgo tóxico y ecotoxicológico. Los factores ambientales influyen en la captación y, por ende, en los efectos tóxicos del cadmio en los organismos acuáticos. Al aumentar la temperatura aumentan la captación y los efectos tóxicos, mientras que el aumento de la salinidad o de la dureza del agua los hace disminuir [11-12]. Los efectos producidos en presencia de materia orgánica disuelta son variables. Se observó que fracciones de masa molecular relativa intermedia, entre 500 a 300.000, reducen la captación y los efectos tóxicos fijando el cadmio y reduciendo su disponibilidad para los seres vivos; mientras que fracciones mayores de 300.000 aumentaron la toxicidad de este metal [13].

Estos ejemplos ilustran la necesidad de determinar no sólo la concentración total de un metal sino también el perfil del entorno fisicoquímico y su biodisponibilidad. Esta puede ser correlacionada directamente con la especiación química a través de la actividad del ion libre [14].

### *Modelo de actividad del ion libre* (en inglés, FIAM, free ion activity model):

Para que un metal se acumule y/o provoque una respuesta biológica en un organismo blanco, debe interactuar o atravesar una membrana celular.

Esta interacción del metal con la superficie celular, involucra como especies reactivas tanto al ion libre ( $\text{M}^{z+}$ ) como al complejo metal-ligando, de fórmula general, (ML), y puede ser

representada en términos de la formación de complejos de superficie M-X-célula, donde X-célula corresponde a un ligando celular presente en la superficie.

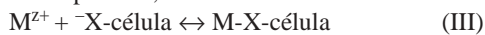
En el caso más simple - cuando el ión libre es la especie que reacciona con componentes de la superficie celular- se pueden considerar las siguientes reacciones:

A. equilibrio en la solución



$$K_1 = [ML] / ([M^{Z+}] [L]) \quad (II)$$

B. reacción, en la superficie, de  $M^{Z+}$



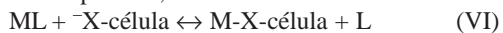
$$K_2 = \{\text{M-X-célula}\} / \{\text{X-célula}\} [M^{Z+}] \quad (IV)$$

reordenando  $\{\text{M-X-célula}\} = K_2 \{\text{X-célula}\} [M^{Z+}] \quad (V)$

donde  $K_1$  y  $K_2$  son las constantes de equilibrio, L es un ligando en solución, y las cargas en los complejos se omiten por simplicidad.

Se supone que la respuesta biológica es proporcional a la concentración del complejo de superficie,  $\{\text{M-X-célula}\}$ . Si la concentración de los sitios X-célula libres permanece aproximadamente constante, la ecuación (V) indica que la respuesta biológica varía directamente como función de  $[M^{Z+}]$ .

C. reacción, en la superficie, de ML



$$\{\text{M-X-célula}\} = K_3 \{\text{X-célula}\} [ML] / [L] \quad (VII)$$

Reordenando la ecuación (II) y sustituyendo en (VII) se obtiene  $\{\text{M-X-célula}\} = K_1 K_3 \{\text{X-célula}\} [M^{Z+}]$

que muestra la misma dependencia de  $[M^{Z+}]$  que en la ecuación (V).

Diferentes autores han sugerido posibles mecanismos de unión entre la formación del complejo de superficie, M-X-célula, y el inicio del efecto biológico [15]. Si X-célula representa un sitio fisiológicamente activo en la superficie celular, la unión del metal M puede inducir una respuesta biológica directa (por ej., en las branquias de los peces). Por otro lado, si ese ligando celular corresponde a un sitio de transporte que permite al metal M atravesar la membrana celular y penetrar en el citosol, la unión al sitio de superficie precederá al transporte al interior de la célula; en otras palabras, la reacción efectiva de M con el sitio blanco ocurrirá intracelularmente, luego de atravesar la membrana. En una variación de este escenario, M podría competir por un sitio, X-célula, de transporte normalmente utilizado por un micronutriente esencial. Entonces, la unión del metal M al sitio de superficie inhibirá la provisión de ese elemento e inducirá una deficiencia de ese nutriente. Tal es el caso, por ejemplo, de la competencia Cu/Mn y Cd/Fe en el fitoplancton [16] o la de Ca/Cd en la piel de larvas de anfibios [12].

Las suposiciones que tiene en cuenta el FIAM son: (a) la membrana celular es el primer sitio de interacción del metal con los organismos vivos; (b) esta interacción con la membrana plasmática puede describirse como una reacción de complejación en la superficie, formándose el complejo M-X-célula; (c) el transporte del metal en solución, hacia la membrana, y la subsecuente reacción de complejación en la superficie ocurre rápidamente (respecto a la toma del metal y a la expresión de la respuesta bio-

lógica) de modo tal que se establece un pseudoequilibrio entre las especies del metal en el seno de la solución y aquellos en la superficie biológica; (d) la respuesta biológica depende estrictamente de la concentración del complejo de superficie M-X-célula; (e) dentro del rango de concentraciones de metales de interés toxicológico, la concentración de los sitios libres,  $\{\text{X-célula}\}$ , permanece virtualmente constante y las variaciones en la  $\{\text{M-X-célula}\}$  siguen aquellas de  $[M^{Z+}]$  en solución; y (f) durante la exposición al metal, la estructura de la superficie biológica permanece inalterada (por ej., el metal no induce ningún cambio en la estructura de la membrana plasmática).

*Algunas aparentes excepciones al FIAM:*

A. Ligandos orgánicos que formen complejos lipofílicos con el metal: los ligandos de estructura  $R_2 C(S)S^-$  (por ejemplo los xantatos) forman complejos lipofílicos con el metal que, por esa condición, atraviesan, fácilmente, la membrana celular. Otros ejemplos del aumento de la captación/ toxicidad del metal complejado se registraron para la 8 hidroxiquinolina (oxina) y ligandos relacionados. La introducción de un grupo sulfónico a la molécula de oxina en posición 5, que convierte al complejo en hidrofílico, hace desaparecer el aumento de toxicidad [17].

B. Ligandos inorgánicos: en experiencias realizadas con iones fluoruro como complejante del Al se observaron aparentes excepciones al modelo. En estos casos, se propuso que, L-M-X-célula (F-Al-X-branquia) contribuyó junto a Al-X-branquia a la toxicidad observada. La contribución a la respuesta biológica del metal complejado se postuló en estos casos, debida a su capacidad para ocupar sitios activos en la membrana celular [15].

C. Ligandos orgánicos de bajo peso molecular que formen complejos hidrofílicos con el metal: en experimentos con el alga unicelular *Selenastrum capricornutum*, se informó el aumento de biodisponibilidad de  $Cd^{2+}$  y  $Zn^{2+}$  en presencia de citrato ( $100 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ). En estos ensayos se encontró que: (i) al comparar los efectos producidos con el agregado de NTA, en presencia de citrato la concentración de  $Cd^{2+}$  que inhibe el 50% del crecimiento algal ( $IC_{50}$ ) disminuía de 0.6 a  $0.085 \mu\text{mol.l}^{-1}$ , y con  $Zn^{2+}$  de 0.7 a  $0.17 \mu\text{mol.l}^{-1}$ , lo que indica el aumento de toxicidad de estos metales en presencia de dicho anión; (ii) la captación de Cd por la célula era dos veces mayor con citrato que con NTA, lo que indica que la entrada del metal a la célula aumenta en presencia del mismo. Por lo tanto se concluye que la toma de citrato por parte de la célula es suficiente para explicar el aumento de biodisponibilidad del metal debido posiblemente al transporte inespecífico del complejo metal-ligando a través de sistemas de transporte de la membrana biológica [18].

D. Materia orgánica disuelta (en inglés, DOM, dissolved organic matter): la materia orgánica disuelta en las aguas naturales tiene influencia en la especiación y biodisponibilidad de los metales. La mayoría de los autores expresan la hipótesis de que la DOM natural actúa como un ligando, reduciendo la toxicidad por complejación del metal de una forma similar a ligandos sintéticos tales como EDTA. El FIAM asume implícitamente que los complejos hidrofílicos metal-DOM no contribuyen directamente a la toxicidad del metal por su

incapacidad de atravesar las barreras biológicas [19]. Sin embargo, la presencia de ácido fúlvico como parte de la DOM muestra que en esos casos, la participación en reacciones de complejación con Al no está limitada a su actuación como ligando; además hay claras evidencias de la interacción del ácido fúlvico con la membrana celular y su participación como proveedor de fósforo para las algas, apareciendo como una aparente excepción al FIAM. Esto refleja la dificultad de aplicar este modelo a medios con DOM, dada su naturaleza indefinida y la inherente dificultad analítica para determinar concentraciones de ion libre en su presencia [20].

### Interacciones metal-organismo

Al aproximarse a la superficie de un organismo vivo, un metal, generalmente, encuentra primero una capa protectora de polisacáridos o glicoproteínas (por ej. la pared celular de los microorganismos o plantas superiores; el mucus de las células animales). Las macromoléculas que forman esta capa externa contienen una variedad de grupos funcionales simples, generalmente no quelantes, dominados por dadores de oxígeno. A valores de pH neutro algunos de esos grupos pueden ionizarse, conformando una matriz de sitios cargados negativamente a través del cual el metal debe migrar.

Al moverse hacia el interior celular, el metal encuentra la membrana plasmática, con un gran número de receptores o sitios de unión que pueden ser de dos tipos: sitios fisiológicamente inertes, en los cuales el metal puede ser secuestrado sin perturbar el funcionamiento celular normal, o sitios fisiológicamente activos. En el último caso la unión del metal puede afectar al metabolismo directamente (por ej. si el sitio de unión corresponde a una enzima de membrana) o indirectamente (si el metal unido es transportado a través de la membrana al interior de la célula) y una vez dentro de la célula, puede interactuar con una amplia variedad de sitios, con las consiguientes alteraciones del metabolismo.

Considerando este modelo general, la interacción de un metal con un organismo acuático puede plantearse como un proceso que involucra los siguientes pasos: (a) difusión desde el seno de la solución a la superficie biológica; (b) difusión a través de las barreras externas; (c) sorción/complejación, en la superficie, del metal a sitios de unión pasivos en la capa protectora, o a sitios en la superficie externa de la membrana plasmática; (d) internalización del metal mediante mecanismos de transporte a través de la membrana plasmática.

Por último, cabe mencionar el modelo del ligando biótico (en inglés, BLM, biotic ligand model) desarrollado recientemente. Este modelo se basa en la hipótesis de que la toxicidad no está solamente relacionada con la concentración acuosa del metal libre, sino que es necesario considerar tanto la complejación metal-ligando biótico como la interacción del metal con los cationes que compiten en el sitio de acción de toxicidad [21]. Se ha estudiado la aplicación del BLM para predecir los efectos de una variedad de parámetros químicos del agua natural sobre la toxicidad del cobre en las branquias de peces y en dafnias, encontrándose buena concordancia con las  $CL_{50}$  medidas experimentalmente [22].

### Partición del metal en el organismo y los efectos biológicos resultantes

A pesar de la complejidad de los procesos toxicológicos, pueden hacerse algunas generalizaciones acerca del modo de unión de metales que conduce a efectos adversos. Las respuestas tóxicas pueden ser debidas a alguno de los siguientes daños causados por el metal [23]:

- A. bloqueo de grupos funcionales, biológicamente esenciales, de biomoléculas: por ejemplo, el complejo piruvato dehidrogenasa es inhibido por el  $As^{3+}$  debido a su reacción con dos grupos sulfhidrilos del ácido dihidrolipoico (cofactor esencial), por formación de una estructura cíclica estable.
- B. desplazamiento de iones metálicos esenciales en biomoléculas: uno de los ejemplos mejor documentados es la inhibición por Pb de ácido  $\delta$ -aminolevulínico dehidratasa (ALAD) en vertebrados [24], donde el Zn es desplazado por dicho metal así como la alteración en la composición y conformación de los eritrocitos en *Bufo arenarum* expuesto a iones plomo [25].
- C. modificación de la conformación activa de las biomoléculas: por ejemplo, el Hg reacciona con las uniones disulfuro, afectando la estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas; la inserción del Hg extiende la longitud normal de la unión disulfuro en aprox. 0.3 nm lo cual en algunos casos es suficiente para reducir la actividad biológica de la proteína blanco.

También hay evidencias que ciertos metales son capaces de sufrir procesos redox dentro de la célula que pueden inducir toxicidad por producción de radicales libres oxígeno, reactivos [26].

En el caso particular del cadmio, su toxicidad aguda para los organismos acuáticos es variable, incluso entre especies estrechamente emparentadas [27], y guarda relación con la concentración de iones libres del metal. El cadmio interacciona con el metabolismo del calcio en los animales; en los peces provoca hipocalcemia, probablemente al inhibir la captación de calcio a partir del agua. No obstante, las concentraciones elevadas de calcio en el agua los protegen de la ingestión de cadmio por competencia en los lugares de captación. En el anfibio *Bufo arenarum*, alteraciones epidérmicas ocurridas en soluciones conteniendo cadmio, fueron mitigadas en presencia de NaCl o agua dulce artificial, lo que fue interpretado ligándolo a la competición entre Cd y Ca [12]. El zinc aumenta la toxicidad del cadmio para los invertebrados acuáticos. Se han notificado efectos subletales en el crecimiento y la reproducción de invertebrados acuáticos, así como modificaciones estructurales en las branquias. Hay pruebas de la selección de estirpes resistentes de invertebrados acuáticos tras la exposición al cadmio sobre el terreno. La toxicidad del Cd es variable en los peces; los salmónidos son especialmente susceptibles. Se han notificado efectos subletales en los peces, en particular malformaciones de la espina dorsal. Las fases biológicas más susceptibles son el embrión y la larva joven; los huevos son los menos vulnerables. No se ha observado una interacción homogénea entre el cadmio y el zinc en los peces [13].

## UN CASO PARTICULAR: LAS ALGAS

La toma de iones metálicos por las algas del fitoplancton aparece en la mayoría de los casos como un proceso en dos etapas que comprende: (a) unión del metal sobre la superficie externa de la célula con ligandos biológicos liberados o con ligandos superficiales con grupos funcionales, (b) transporte del complejo superficial, a través de la membrana, al interior de la célula, en general por moléculas portadoras o *carriers* [9].

Del lado exterior de la membrana, existe un equilibrio entre los varios complejos formados entre solutos y los ligandos de superficie con el ion metálico libre. Si el transporte hacia el interior de la célula es lento en comparación con el proceso de pre-equilibración en el seno de la solución, la toma del ion metálico por la célula, depende de la concentración del ion libre. La producción y eliminación de los *carriers* están relacionadas con la velocidad de crecimiento algal.

La selectividad del transporte de ciertos iones metálicos está dada por la selectividad de estos ligandos. Las moléculas portadoras son, con frecuencia, proteínas y la estabilidad de sus complejos con diferentes metales corresponde a la secuencia establecida por el ordenamiento de Irving-Williams:  $Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+}$ ; factores estéricos también están involucrados en la selectividad. La concentración dentro de la célula depende de la disponibilidad de los ligandos portadores, de la velocidad del transporte a través de la membrana y posiblemente de la velocidad de transporte fuera de la célula.

La importancia central de la actividad del ion acuoso libre en el efecto biológico no necesariamente reside en que el mismo sea la especie tomada, en ese momento, por el organismo acuático, pero refleja que la reactividad química del metal es medida por la actividad del ion libre y que sus efectos fisiológicos están mediados por interacciones químicas entre el metal y varios ligandos celulares.

Una vez en el interior de la célula algal, el ion metálico puede intervenir en procesos bioquímicos o ser atrapado en formas inactivas (por ej. complejo por metalotioneínas), como una forma de detoxificación. Los efectos tóxicos sobre las algas han sido observados cuando la concentración intracelular del ion metálico alcanza nivel crítico, próximo a la concentración mínima de un metal traza esencial. El sistema aparece "sobreinundado" con iones metálicos que reaccionan e inactivan enzimas críticas [9].

Los metales tóxicos son generalmente incorporados al interior de la célula algal por sistemas de transporte de metales nutrientes. Los sitios de unión metabólicos nunca son completamente específicos para los metales nutrientes o que actúan como cofactores, por lo tanto los mismos pueden ser desplazados competitivamente por los metales inhibitorios o tóxicos, que pueden acceder así a sitios metabólicos fundamentales.

### *Uso de bioensayos algales para predecir la toxicidad de los metales en relación con su especiación química*

Es posible usar organismos como sensores de la biodisponibilidad de los metales en relación con su especiación química. Dentro de ellos, las algas representan una parte muy importante de los productores primarios acuáticos, siendo responsables de más del 70% de la producción de oxígeno total en la biosfera y muestran una sensibilidad a los contaminantes mucho mayor

que otros organismos acuáticos [28]. Los bioensayos de laboratorio, usando cultivos algales mono-específicos de *Selenastrum capricornutum* Printz (= *Raphidocelis subcapitata*) han mostrado ser una herramienta útil para asistir en el manejo de la mayoría de los problemas relacionados con la calidad de las aguas naturales [28-29].

Se ha determinado que en soluciones acuosas el  $Cd^{2+}$  disuelto inhibe el crecimiento, la fotosíntesis, la respiración, reduce la concentración de clorofila y en algunas especies produce hinchamiento y alteración de las membranas [30].

El uso de métodos de inhibición de la fotosíntesis en cultivos algales, utilizando técnicas de medición de  $^{14}C$ , está siendo propuesto en varios países para su estandarización, como una alternativa a los ensayos de inhibición de crecimiento para la determinación de riesgo de sustancias tóxicas [31]. La evaluación de este importante proceso fisiológico, crítico para la sobrevivencia de los productores primarios, puede realizarse en bioensayos estáticos de laboratorio con las siguientes ventajas: son de muy corta duración, constituyen un sistema cerrado que permite ensayar compuestos degradables o volátiles, y posibilitan usar como centinelas especies individuales o comunidades naturales.

En nuestro laboratorio, hemos estudiado el efecto del  $Cd^{2+}$  sobre la inhibición de la fotosíntesis en presencia del quelante EDTA- $Na_2$  [32]. Se ensayaron siete concentraciones nominales de  $Cd^{2+}$  entre 0.06 y 0.68 ppm ( $0.5-6.1 \times 10^{-6}$  M). Se corrieron 3 series para cada concentración: i) medio de cultivo EPA [29] sin EDTA, ii) con EDTA  $2.10^{-6}$  M, y iii) con EDTA  $2.10^{-4}$  M. Los ensayos se realizaron con cultivos axénicos de *Selenastrum capricornutum*, provista por la UTEX (Universidad de Texas, Austin) a 24 °C e iluminación permanente ( $100 \mu e.m^{-2}.s^{-1}$ ). Las muestras se preincubaron 4 hs; se agregó  $NaH^{14}CO_3$  y se incubaron 2 hs más; los ensayos finalizaron llevando a pH 2. Se eliminó el  $NaH^{14}CO_3$  remanente y se midió la radioactividad fijada. Se calculó el porcentaje de inhibición de cada muestra respecto del control (medio sin EDTA). A la mayor concentración de EDTA utilizada,  $2.10^{-4}$  M, se estimó la fotosíntesis para todas las concentraciones del metal. La concentración de  $Cd^{2+}$  inhibitoria de la fotosíntesis en 50% ( $IC_{50}$ ) se estimó por interpolación lineal para toxicidad subletal [33]. Con los valores de  $[Cd^{2+}]_{nominal}$ , los resultados obtenidos (medias y límite de confianza al 95%) fueron:

- |                            |                                     |
|----------------------------|-------------------------------------|
| a) sin complejante,        | $1.11 (0.96-1.44) \times 10^{-6}$ M |
| b) con EDTA $2.10^{-6}$ M, | $2.25 (2.01-2.86) \times 10^{-6}$ M |

Cuando la  $IC_{50}$  fue estimada con la  $[Cd^{2+}]_{libre}$ , calculada con el programa MINEQL [34], utilizando los componentes del medio respectivo, no se encontraron diferencias significativas entre ambos tratamientos:

- |                            |                                     |
|----------------------------|-------------------------------------|
| a) sin EDTA,               | $1.06 (0.92-1.38) \times 10^{-6}$ M |
| b) con EDTA $2.10^{-6}$ M, | $1.13 (0.95-1.59) \times 10^{-6}$ M |

Estos resultados muestran que la concentración total (nominal) del Cd no es un buen predictor de su toxicidad para las algas y que su especiación puede afectar la disponibilidad del mismo para los organismos en medio acuático y por consiguiente determinar su efecto biológico adverso.

**Agradecimientos:** Los resultados originales presentados en este artículo corresponden al Proyecto "Especiación química: su

influencia en la toxicidad de metales pesados en medio acuoso”, acreditado por el Programa de Incentivos y por el DCB-UNLu (Res. 243-98), el mismo contó con apoyo económico de la Universidad Nacional de Luján.

## Bibliografía

- Moreno Sanchez R, Devars S (1999) Abundancia de los metales pesados en la biosfera. En: Cervantes C, Moreno-Sanchez R (eds) Contaminación Ambiental por Metales Pesados. AGT Editor. Mexico. 1-10.
- Castañé PM, Loez CR, Olguín HF, Puig A, Rovedatti MG, Topalián ML, Salibián A (1998) Caracterización y variación espacial de parámetros físicos, químicos y del plancton en el río Reconquista (Buenos Aires, Argentina). Rev Int Contam Amb 14: 69-77.
- Topalián ML, Castañé PM, Rovedatti MG, Salibián A (1999) Principal component analysis of dissolved heavy metals in water of the Reconquista river (Buenos Aires, Argentina). Bull Environ Contam Toxicol 63: 484-490.
- Markert B (1998) Distribution and biogeochemistry of inorganic chemicals in the environment. En: Schüürmann G and Markert B. Ecotoxic. John Wiley & Sons. Nueva York. 165-222.
- Dawson DC, Ballatori N (1995) Membrane transporters as sites of action and routes of entry for toxic metals. En: Goyer RA and Cherian G (Eds.) Toxicology of Metals. Springer-Verlag. Berlin. 53-76.
- Wilken RD (1998) Speciation of chemical elements in the environment. En: Schüürmann G, Markert B. Ecotoxicology. Wiley. New York. 223-235
- Bernhard M, Brinckman FE, Irgolic KJ (1986) Why “Speciation”. En: Bernhard, M.; Brinckman, F.E. and Sadler, P.J. (Eds.) The Importance of Chemical Speciation in Environmental Processes. Springer-Verlag. Berlin. 7-14.
- Lyman W J (1995) Transport and transformation processes. En: Rand G M (ed) Fundamentals of Aquatic Toxicology. Taylor & Francis. Washington. 449-492.
- Stumm W, Morgan JJ (1995) Aquatic Chemistry. John Wiley & Sons. Nueva York. pp. 1022.
- Jonnalagadda SB, Prasada Rao PVV (1993) Toxicity, bioavailability and metal speciation. Comp Biochem Physiol 106 C: 585-595.
- Muñoz CV, Ferrari L, Salibián A (1990) Protective actions of ions against the Cadmium toxicity to young *Bufo arenarum* tadpoles. Bull Environ Contam Toxicol 45: 313-319.
- Ferrari L, Salibián A (1999) Effect of cadmium on the epidermic structure of *Bufo arenarum* tadpoles: influence of the chemical composition of the incubation media. Arch Physiol Biochem 107: 91-96.
- WHO (World Health Organization) (1992) Cadmium-Environmental Aspects (Environmental Health Criteria 135). Geneve. pp. 156.
- Turner DR (1995) Problems in Trace metal speciation modeling. En: Tessier A, Turner DR. Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems. John Wiley & Sons. Chichester. 149-203.
- Campbell PGC (1995) Interaction between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. En: Tessier A, Turner DR (Eds) Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems. John Wiley & Sons. Chichester. 45-102 .
- Wright DA, Welbourn PM (1994) Cadmium in the aquatic environment: a review of ecological, physiological and toxicological effects on biota. Environ Rev 2: 187-214.
- Phinney JT, Bruland KW (1994) Uptake of lipophilic organic Cu, Cd and Pb complexes in the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii*. Environ Sci Technol 28: 1781-4.
- Errecalde O, Seidl M, Campbell PGC (1998) Influence of a low molecular weight metabolite (citrate) on the toxicity of cadmium and zinc to the unicellular green alga *Selenastrum capricornutum*: an exception to the free-ion model. Wat Res 32: 419-429.
- Roy RL, Campbell PGC (1997) Decreased toxicity of Al to juvenile atlantic salmon (*Salmo salar*) in acid soft water containing natural organic matter: a test of the free-ion model. Environ Toxicol Chem 16: 1713-1720.
- Parent L, Twiss MR, Campbell PGC (1996) Influences of natural dissolved organic matter on the interaction of aluminium with the microalga *Chlorella*: A Test of the free-Ion model of trace metal toxicity. Environ Sc Technol 30: 1962-1969.
- Di Toro DM, Allen HE, Bergman HL, Meyer JS, Paquin PR, Santore RC (2001) Biotic Ligand Model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. Environ. Toxicol. Chem. 20, 10: 2383-2396.
- Santore RC, Di Toro DM, Paquin PR, Allen HE, Meyer JS (2001) Biotic Ligand Model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia*. Environ. Toxicol. Chem. 20, 10: 2397-2402.
- Mason AZ, Jenkins KD (1995) Metal detoxification in aquatic organisms. En: Tessier A, Turner D R. Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems. John Wiley & Sons. Chichester. 479-608.
- Arrieta MA, Peri SI, Apartin C, Rosenberg CE, Fink NE, Salibián A (2000) Blood lead concentration and delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in adult *Bufo arenarum*. Arch Physiol Biochem 108: 275-280.
- Rosenberg CE, Peri SI, Arrieta MA, Fink NE, Salibián A (1998) Red blood cell osmotic fragility in *Bufo arenarum* exposed to lead. Arch Physiol Biochem 106: 19-24.
- Kawanishi S (1995) Role of active oxygen species in metal-Induced DNA damage. En: Goyer RA, Cherian G (Eds.). Toxicology of Metals. Springer-Verlag. Berlin. 349-371.
- US Environmental Protection Agency (2001) Update of Ambient Water Quality criteria for Cadmium, EPA-8222- R-01-001. Washington DC. pp. 268.
- Greene JC, Bartels CL, Warren-Hicks WJ, Parkhurst BR, Linder GL, Peterson SA, Miller WE (1988) Protocols for Short Term Toxicity Screening of Hazardous Waste Sites, EPA 600/3-88/029, US Environmental Protection Agency, Washington DC.
- Lewis MA (1995) Algae and vascular plant Tests. En: Rand G M (ed). Fundamentals of Aquatic Toxicology. Taylor & Francis. Washington. 135-169.
- Moreno Sanchez R, Diaz Barriga F, Devars S (1999) Mecanismos de toxicidad y de tolerancia a los metales pesados. En: Cervantes C, Moreno-Sanchez R (eds) Contaminación Ambiental por Metales Pesados. AGT Editor. México. 11-40
- Kusk KO, Nyholm N (1991) Evaluation of a phytoplankton toxicity test for water pollution assessment and control. Arch Environ Contam Toxicol 20: 375-379.
- Topalián ML, Castañé PM, Cordero Otero RR, Salibián A (2000) El EDTA como protector de la inhibición de fotosíntesis de *Selenastrum capricornutum* por acción del Cadmio. Rev Brasil Toxicol 13 (Supl. 1): 51.
- Norbert-King TJ (1993) A linear interpolation method for sublethal toxicity: the inhibition concentration (ICp) Approach. National Effluent Toxicity Assessment Center, Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory. Duluth, Minnesota. Technical Report: 03-93
- Schecher WD, McAvoy DC (1991) MINEQL+: A Chemical Equilibrium Program for personal Computer. Environmental Research Software.

## Niveles de plomo y cadmio en agua marina y lapas (*Patella vulgata* L.) de la Ría de Vigo

Pérez-López M, Nóvoa MC, Alonso J, García Fernández MA y Melgar MJ\*

Área de Toxicología. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela. Estrada da Granxa s/n 27002 Lugo  
Tfno.: 982252231 ext. 22206. Fax: 00 34 982252195. e-mail: mjmgar@lugo.usc.es

Recibido 16 de Mayo de 2002 / Aceptado 21 de Agosto de 2002

**Resumen.** El empleo de seres vivos para monitorizar la contaminación por metales pesados en los ecosistemas acuáticos es de extremo interés en el campo de la ecotoxicología. En el presente estudio se han recogido muestras de agua marina y de lapas (*Patella vulgata* L.) de distintos puntos de la Ría de Vigo, con la intención de determinar en ellos los niveles de plomo y cadmio, por medio de una técnica de voltamperometría. Los resultados obtenidos mostraron una relación estrecha entre los niveles hallados en las muestras de agua, y los encontrados en los moluscos, sobre todo los correspondientes a los tejidos blandos de lapas, relacionándose directamente a un incremento en la contaminación medioambiental. La concentración fue más elevada en los tejidos blandos que en la valva, especialmente en el caso del Cd (incremento aproximado de 93.6 veces). Los niveles de contaminación metálica fueron mayores en los animales recogidos en la zona interior de la Ría, salvo en el caso del cadmio presente en los tejidos blandos, donde la concentración máxima (5.62 ppm) correspondió con muestras próximas al mar abierto.

**Palabras clave:** Lapa, metal pesado, agua marina, Ría de Vigo, tejido blando, valva.

**Abstract: Lead and cadmium levels in seawater and limpet (*Patella vulgata* L.) from the Vigo estuary.** The use of living beings to monitorize heavy metal contamination in aquatic environments is very important in ecotoxicologic studies. At the present work, seawater and limpets (*Patella vulgata* L.) were sampled at different points along the Vigo estuary, and lead and cadmium concentrations were quantified by differential pulse anodic stripping voltammetry. The results obtained showed a clear relationship between seawater and limpet heavy metal levels, especially those corresponding to limpet soft tissues, directly related to an increase in of environmental contamination. Heavy metal concentrations were usually higher in soft tissues than in shell, mainly for cadmium (increase of 93.6 folds). Heavy metal levels in animals sampled inside the estuary were higher, except for cadmium levels in soft tissues, where a maximum concentration (5.62 ppm) was quantified at sampling point, situated next to the open sea.

**Keywords:** Limpet, heavy metal, seawater, Vigo estuary, soft tissue, shell.

### Introducción

Los metales pesados se encuentran ampliamente distribuidos por todo el planeta, como consecuencia tanto de causas naturales como humanas [1], de tal forma que la actividad industrial ha liberado al medio ambiente concentraciones metálicas que pueden llegar a ser hasta 100-1000 veces superiores a las encontradas de forma natural en la corteza terrestre, lo que provoca que los organismos vivos estén expuestos a niveles extraordinariamente elevados [2]. Concretamente en los ecosistemas acuáticos, los metales pueden incorporarse a las aguas de estuarios a través de los cauces fluviales, o por descargas directas, para una vez allí ser acumulados en los sedimentos [3] o ser captados por los seres vivos. Una adecuada evaluación del grado de contaminación por metales en una zona requerirá por tanto una estimación de los niveles naturales de estos elementos en la biota y en el medio físico [4].

La Ría de Vigo es una de las mayores y seguramente mejor estudiadas de todas las Rías gallegas. Es un sistema que posee una relativamente pequeña red fluvial de descarga, a lo que se asocia la abundancia de vertidos procedentes de la ciudad de Vigo, que supera en la actualidad los 400.000 habitantes [5]. Además, abundan los astilleros y otras actividades portuarias, lo que contribuye a un alto grado de contaminación. Por otra parte, esta zona posee un elevado interés por su potencial como gran productora de productos relacionados con la pesca y el marisqueo, que son empleados para el consumo humano de una manera directa.

En estudios de ecotoxicología, para determinar la contaminación por metales pesados, se han empleado ciertos invertebrados como bioindicadores, lográndose determinar que las concentraciones de metal en estos seres son directamente proporcionales a los niveles medioambientales [6]. Entre estos animales, los bivalvos y otros moluscos parecen ser adecuados indicadores de estos agentes tóxicos en los ecosistemas acuáticos [7], siendo empleados con frecuencia distintas especies de lapas, debido a que constituyen una especie ampliamente distribuida (abundan en casi todos los ecosistemas rocosos) y concentran activamente metales [8].

El presente trabajo ha tenido como objetivo investigar el contenido en plomo y cadmio de agua marina y lapas recogidas en distintos puntos de la Ría de Vigo. Si bien las concentraciones

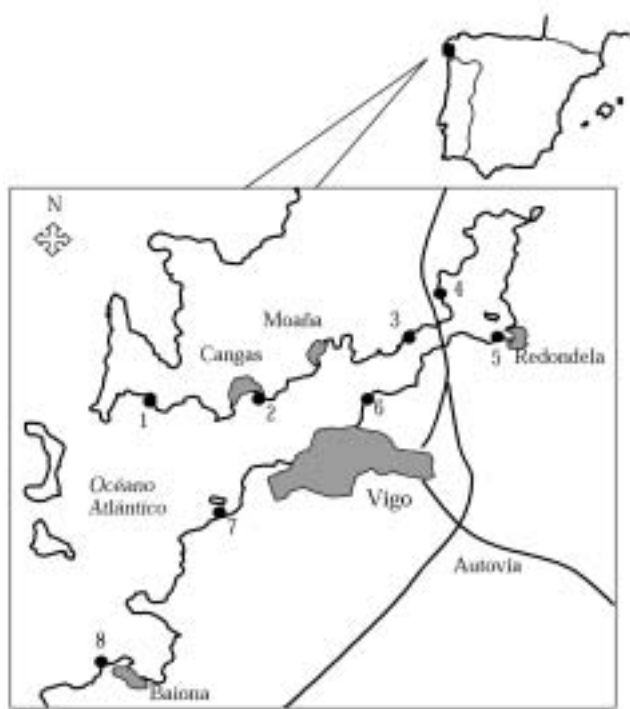
de metales en muestras biológicas son mayores que en el medio ambiente, el interés del trabajo radicó en determinar la existencia de una clara relación entre los dos lechos estudiados.

## Material y Métodos

### Muestreo

Las muestras de lapas, *Patella vulgata* L., y agua se recogieron simultáneamente durante un sólo día (mayo del 2001) en la Ría de Vigo (figura 1). Se muestrearon 9 animales en cada punto, en la zona intertidal y durante la marea baja, distribuyéndose aleatoriamente en tres muestras, para evitar variación individual, escogiéndose además de tallas similares. Los especímenes se recogieron directamente de rocas en la zona media eulitoral, procurando que los animales estuvieran sumergidos periodos de tiempo similares a los que pasaban al descubierto. En botellas de polietileno de 250 ml se tomaron muestras de agua a 15-25 cm de la superficie. Todas las muestras se transportaron al laboratorio a 4 °C, y los moluscos se mantuvieron vivos durante 48 horas en agua del estuario, para que purgaran sus sistemas digestivos, y así medir sólo los niveles de metales depositados biológicamente [9].

La preparación de las muestras se realizó según el método de García y col. [10], dividiendo los animales en tejidos blandos y valva. Tras homogeneizado y secado a 105 °C durante 6 horas, una alícuota de 2 g de peso seco fue transformada en cenizas en horno a 425 °C (15-40 horas). Las cenizas fueron pesadas y transferidas a matraces de 25 ml enrasando con HCl 0.1 N.



**Fig. 1.** Distribución geográfica de las zonas de muestreo en la Ría de Vigo.

### Análisis

La concentración de metales se determinó por voltamperometría de redisolución anódica (equipo Metrohm VA 693 processor acoplado a un electrodo VA 694), empleando soluciones patrón de 1000 mg/l y tampón acetato, con CH<sub>3</sub>COOH 2mol/l y NH<sub>3</sub> 1mol/l, pH 4.6 (Suprapur Grade Merck). El rango de voltaje osciló entre -850 mV a -250 mV, con un flujo de 20 mV/s y una amplitud de pulso de 50 mV. Los límites de determinación fueron de 0.1 µg/l (0.1 ppb). La precisión y reproducibilidad del método se obtuvo analizando 10 replicados de una muestra, y calculando el coeficiente de variación, que resultó de 3.20 %. El liquen *Evernia prunastri* (L) Ach. (IAEA-336) fue empleado como material de referencia y la cuantificación tuvo lugar mediante adiciones estándar (dos adiciones por medida).

## Resultados y discusión

Los resultados correspondientes a las concentraciones de metales en las muestras de agua se presentan en la tabla 1. Se obtuvieron en general concentraciones crecientes de metales a medida que el punto de muestreo se situaba más interiormente en el estuario, correspondiendo los máximos a los puntos 4 y 5 (Fig. 1). Hay que resaltar que en el caso del cadmio la muestra de agua del punto 8, próxima al mar abierto, correspondió al valor máximo (0.05 ppb), pero se descartó una posible contaminación puntual de la muestra, debido a la elevada concentración de este metal también cuantificada en los tejidos de lapa de este mismo punto. De acuerdo con estos resultados, la distribución de metales en agua se asoció con la zona de muestreo, siendo la mayor concentración la correspondiente al interior del estuario, indicando un claro efecto de la actividad humana, obteniéndose valores similares a los de otras zonas costeras [11, 12].

En la figura 2A se observa que las concentraciones de cadmio fueron bastante similares en todas las muestras de valvas de lapa, con un mínimo en el punto 1 (0.04 ppm) y un máximo en el punto 8 (0.22 ppm). Por el contrario, cuando se determinó en tejidos blandos, la concentración mayor se obtuvo en el punto 5 (4.92 ppm). Hay que considerar que en este caso, el punto 8 representó la segunda mayor concentración (3.47 ppm). Para este metal, el factor de concentración con respecto al agua de mar fue de aproximadamente 80 veces.

Las concentraciones de plomo en valva y tejidos blandos (figura 2B) mostraron una distribución irregular respecto al punto de

**Tabla 1.** Concentraciones de Cd y Pb en las muestras de agua marina, expresados en ppb (µg/l).

	Cd	Pb
1	0.01	0.17
2	0.01	0.33
3	0.01	0.96
Zonas de muestreo 4	0.03	1.51
5	0.02	2.05
6	0.01	1.06
7	0.01	0.98
8	0.05	0.75



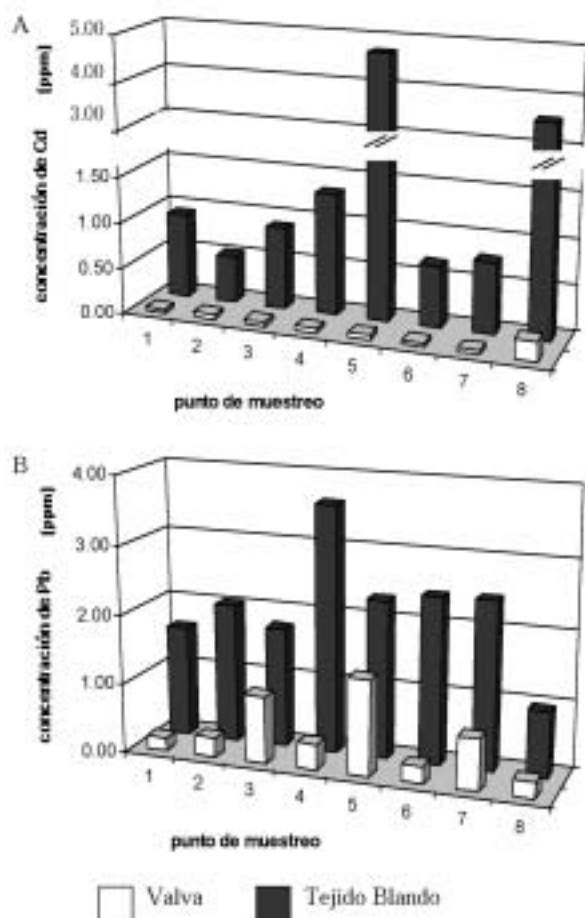


Fig. 2. Niveles de cadmio (A) y plomo (B) en tejidos blandos y valva de lapa, *Patella vulgata* L. Los resultados están expresados en ppm sobre peso seco.

muestreo. El máximo contenido en valvas correspondió a zonas situadas en el interior del estuario (3 y 5), decreciendo hacia el mar abierto. Los puntos 4 y 6, presentaron niveles anormalmente bajos comparados con los valores en agua. La concentración de plomo en tejido blando fue mayor en el punto 4 (> 3 ppm), con un mínimo en el punto 8 (0.95 ppm). La fuente de esta contaminación local por plomo podría ser la liberación de este metal procedente de la combustión de gasolinas de coches y especialmente embarcaciones acuáticas, así como alguna descarga local de tipo industrial (en las proximidades de los puntos 4, 5 y 6 existen instalaciones de astilleros).

Estudios similares han mostrado que las mayores concentraciones de metales se suelen cuantificar en tejidos blandos de lapa, comparados con los de valvas [13]. Esta diferencia fue en el presente estudio especialmente patente para el punto 5. Sin embargo, en estudios sobre mejillones, *Mytilus edulis*, se observó que al monitorizar el Pb, la medida en las valvas podía ser de interés particular, pues esta concentración era mayor que en tejidos blandos, algo que no pasaba con los restantes elementos analizados [14].

En la especie *Littorina brevicula* se observó que los niveles de Cd en tejidos blandos estaban directamente correlacionados con los niveles circundantes [12]. Por el contrario, Langston y Zhou [15] determinaron la incapacidad de la especie *Littorina littorea*

para ser empleada como bioindicador de la contaminación por metales, debido a la capacidad de los moluscos de regular los niveles celulares de estos contaminantes. El interés en estudios comparativos entre especies parece por tanto relativo, pues la acumulación es diferente en cada especie, y la ausencia de diferencias debe ser atribuida a características individuales más que a similitudes en la acumulación [11], como se observa al analizar el contenido en plomo en moluscos comestibles de la Ría de Pontedeume [16]: 8.00  $\mu\text{g/g}$  peso seco en tejidos blandos de *Cerastoderma edule*, 74.00 en *Mytilus edulis*, y 81.80 en *Venerupis decusata*, siempre dentro de la misma zona de muestreo.

Hay que considerar que las variaciones en el contenido de metales en distintos moluscos puede atribuirse a factores tales como el momento del muestreo, o distintas actividades biológicas [17]. Se han demostrado variaciones estacionales más marcadas en animales de zonas costeras bajo una gran influencia humana frente a otros de zonas menos afectadas [18], pudiendo constituir un parámetro de primer orden, que influenciaría la concentración de contaminantes. Por otra parte, la comparación debería realizarse con moderación, por la variabilidad en la calidad de los datos analíticos: zonas de muestreo, edad, talla, etc., que podrían influenciar los resultados finales [19]. Este hecho es particularmente interesante al considerar factores como la salinidad, pH o dureza, que afectan la abundancia de la especie química [20]. El presente artículo muestra los resultados preliminares de un estudio espacial para evaluar el estado de contaminación del estuario, pero la variación temporal, de acuerdo con los factores ya establecidos, debe ser evaluada, para obtener conclusiones a largo plazo en estudios ecotoxicológicos.

## Agradecimientos

Los autores quieren expresar su agradecimiento a la Xunta de Galicia, que a través del proyecto PGIDT02TAL26101PR ayudó a la realización del presente trabajo.

## Bibliografía

- Fan AM (1996) An introduction to monitoring and environmental and human risk assessment of metal. En: Magos L, Suzuki T. Toxicology of Metals, Lewis Publishers, Boca Raton, 5-9.
- Carral E, Puente X, Villares R, Carballeira A (1995) Background heavy metal levels in estuarine sediments and organisms in Galicia (northwest Spain) as determined by modal analysis. Sci. Tot. Environ. 172, 175-188.
- Wright P, Mason CF (1999) Spatial and seasonal variation in heavy metals in the sediments and biota of two adjacent estuaries, the Orwell and the Stour, in eastern England. Sci. Total Environ. 226, 139-156.
- Bryan, G.W., Langston, W.J., Hummerstone, L.G., Burt, G.R. (1985) A guide to the assessment of heavy metal contamination in the estuaries using biological indicators. Mar. Biol. Assoc. U.K. Occasional Publication 4, 1-92.
- Belzunce MJ, Bacon JR, Prego R, Wilson MJ (1997) Chemical forms of heavy metals in surface sediments of the San Simón Inlet, Ría de Vigo, Galicia. J. Environ. Sci. Health. A 32 (5), 1271-1292.
- Rainbow PS, Phillips DJH (1993) Cosmopolitan biomonitors of trace metals. Mar. Poll. Bull. 26, 593-601.

7. Gunther AJ, Davis JA, Hardin DD, Gold J, Bell D, Crick J, Scelfo GM, Sericano J, Stephenson M (1999) Long-term bioaccumulation monitoring with transplanted bivalves in the San Francisco estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 38(3), 170-181.
8. Marchán S, Davies MS, Fleming S, Jones HD (1999) Effects of copper and zinc on the heart rate of the limpet *Patella vulgata* L. *Comp. Biochem. Physiol. A* 123, 89-93.
9. Phillips DJH (1980) Quantitative aquatic biological indicators. Their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. Applied Science Publishers Ltd, Londres.
10. García MA, Alonso J, Fernández MI, Melgar MJ (1998) Lead content in edible wild mushrooms in northwest Spain as indicator of environmental contamination. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 330-335.
11. Tarazona JV, Muñoz MJ, Carbonell G, Carballo M, Ortiz JA, Castaño A (1991) A toxicological assessment of water pollution and its relationship to aquaculture in Algeciras Bay, Cádiz, Spain. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20, 480-487.
12. Paek SM, Chung S, Lee IS (1999) Level of heavy metals in the Oasan Bay in Korea and involvement of metal binding protein in the accumulation of cadmium in *Littorina brevicula*. *Korean J. Ecol.* 22(2), 95-100.
13. Puente X, Villares R, Carral E, Carballeira A (1996) Nacreous shell of *Mytilus galloprovincialis* as a biomonitor of heavy metal pollution in Galiza (NW Spain). *Sci. Tot. Environ.* 183, 205-211.
14. Gobert S, Daemers-Lambert C, Bouquegneau JM (1992) État physiologique et contamination en métaux lourds des moules *Mytilus edulis* sur la côte belge. *Bull. Soc. Royale Sci. Liège* 61(1/2), 177-194.
15. Langston WJ, Zhou M (1986) Evaluation of the significance of metal-binding proteins in the gastropod, *Littorina littorea*. *Mar. Biol.* 92, 505-515.
16. Barreiro R, Carballeira A, Real C (1989) Metales pesados en bivalvos comerciales de cinco Rías gallegas. *Thalassas* 7, 49-52.
17. Ostapezuk P, Schladot JD, Emons H, Oxynos K, Schramm KW, Grimmer G, Jacob J (1997) Environmental monitoring and banking of marine pollutants by using common mussels. *Chemosphere* 34(9/10), 2143-2151.
18. Fowler SW, Oregioni B (1976) Trace metals in mussels from the N.W. Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 7(2), 26-29.
19. Schuhmacher M, Domingo JL (1996) Concentrations of selected elements in oysters (*Crassostrea angulata*) from the spanish coast. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 106-113.
20. Roesijadi G, Robinson WE (1994) Metal Regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation, and release. En: Malins DC, Ostrander GK. *Aquatic toxicology: molecular, biochemical, and cellular perspective*. Lewis publishers, Boca Raton, 387-420.

# Alteraciones patológicas producidas por la inoculación subcutánea de los extractos alergénicos de *Blomia tropicalis* y *Dermatophagoides siboney* en ratas y ratones

Fuentes D<sup>1</sup>, González Navarro B<sup>1</sup>, González Torres Y<sup>1</sup>, Aldana L<sup>1</sup>, Arteaga ME<sup>1</sup>, Bada AM<sup>1</sup>, Labrada A<sup>2</sup> y Bellido de Luna AT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, CENPALAB. Finca Tirabeque, Km 21/2 Carretera al Cacahual, Bejucal, La Habana, Cuba. e.Mail: ict@cenpalab.inf.cu

<sup>2</sup>Centro Nacional de Biopreparados, La Habana, Cuba

Recibido 11 de Marzo de 2002 / Aceptado 7 de Agosto de 2002

**Resumen:** Los extractos alergénicos se emplean en tratamientos de inmunoterapia, ya que son capaces de inducir cambios inmunológicos en la respuesta alérgica, reduciendo los síntomas clínicos de la enfermedad. Estas preparaciones terapéuticas se aplican directamente al hombre, por lo que nos propusimos como objetivo de este trabajo evaluar los cambios patológicos producidos por la administración subcutánea durante 28 días del extracto alergénico de *Dermatophagoides siboney* y *Blomia tropicalis* en ratas y ratones. Se encontraron lesiones circunscritas en la hipodermis del lugar de aplicación y caracterizadas por abundantes células redondas: linfocitos, células plasmáticas y macrófagos, agrupadas fundamentalmente alrededor de los vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas, así como algunos leucocitos polimorfonucleares de tipo neutrófilo y células cebadas. Se concluye que la administración repetida de los extractos alergénicos de *Dermatophagoides siboney* y *Blomia tropicalis* en ratas y ratones no provoca alteraciones patológicas.

**Palabras clave:** Alergenos, *Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides siboney*, ratas, ratones.

**Abstract:** Pathological changes due to subcutaneous administration of *Dermatophagoides siboney* and *Blomia tropicalis* allergenic extracts in rats and mice. The allergenic extracts are used in immunotherapy treatments, because they are able to induce immunologic changes in the allergic response, significantly reducing the clinical symptoms of the illness. These therapeutic preparations are applied directly to man. The objective of this paper is to evaluate anatomopathologic changes due to subcutaneous administration by 28 days of *Dermatophagoides siboney* and *Blomia tropicalis* allergenic extracts in mice and rats. Circumscribed lesions were found in hipodermis's application point and characterized by abundant round cells: lymphocytes, plasmatic cells and macrophages. This cells were grouped near nervous and sanguineous vessels. Some neutrophils leukocytes and mast cells were also observed. We concluded that repeated administration of *Dermatophagoides siboney* and *Blomia tropicalis* allergenic extracts' in mice and rats did not provoke any pathological changes.

**Key words:** Allergens, *Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides siboney*, rats, mice.

## Introducción

El interés de los ácaros como causas posibles de enfermedades alérgicas ha aumentado en las tres últimas décadas [1, 2]. La importancia de estos artrópodos como inductores de asma ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [3].

Los ácaros del polvo *Blomia tropicalis* y *Dermatophagoides siboney* están distribuidos en todo el mundo, siendo más comunes en el polvo de las casas de climas tropicales y subtropicales [4], por lo que millones de personas están expuestos a ellos. En los Estados Unidos se ha demostrado que estas especies son comunes en el polvo de las casas [5], mientras que otros estudios realizados en algunos países de América Latina como: Argentina [6], Brasil [7], Colombia [8] y Venezuela [9] revelaron una alta prevalencia de asma, asociada directamente con la exposición a los alérgenos de los ácaros del polvo.

Extensos estudios realizados en Cuba han encontrado la presencia de ácaros en aproximadamente el 85 % de las muestras de polvo estudiadas, así como una gran sensibilización de los pacientes asmáticos a estos ácaros, determinada mediante pruebas en piel e IgE específicas [10, 11].

Teniendo en cuenta la gran difusión de estos ácaros y las posibles consecuencias de su acción sobre el hombre, resulta imprescindible la utilización de una vacuna contra ellos, mediante la inoculación de sus extractos alergénicos.

Los extractos alergénicos son obtenidos a partir del cultivo de ácaros en condiciones de laboratorio, están compuestos por una mezcla de proteínas de bajo y mediano peso molecular y son usados fundamentalmente para el diagnóstico y la terapia de pacientes con manifestaciones alérgicas [12,13].

Debido a que los extractos alergénicos constituyen preparaciones terapéuticas que se aplican directamente en el hombre, es necesario realizar los estudios de Toxicología Experimental, para detectar los efectos de su administración repetida en animales [14]. Por esas razones nos hemos propuesto como objetivo de este trabajo evaluar los cambios histopatológicos producidos por la inoculación subcutánea durante 28 días del extracto alergénico de *Dermatophagoides siboney* y *Blomia tropicalis* en la piel de ratas y ratones.

## Material y Métodos

El ensayo fue concebido como se estipula en las directrices de extractos alérgicos, para el registro de cualquier sustancia o componente relacionado [14,15].

### Sustancia de ensayo

Este producto se obtiene a partir de la extracción en disolución de bicarbonato de amonio de las proteínas solubles del cultivo completo de ácaros *Blomia tropicalis* y *Dermatophagoides siboney*; es sometido posteriormente a procesos de purificación, filtración esterilizante y liofilización y contiene de un 30 a un 50 % de proteínas y de un 10 a un 30 % de carbohidratos. Su actividad alérgica radica en la fracción proteica y es diluido para su uso en solución fosfato salina (PBS) con fenol al 0.4 % como conservante y albúmina humana al 0.03 % como esterilizante

### Animales

Se emplearon 80 ratones NMRI (Cenp:NMRI) y 120 ratas Sprague Dawley (Cenp:SPRD) de ambos sexos, de 5-6 semanas y 4-6 semanas de edad, respectivamente, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, La Habana, Cuba), clínicamente sanos y SPF, los cuales se mantuvieron en período de adaptación de 7 días.

### Condiciones de mantenimiento:

Todos los animales se alojaron individualmente en cajas plásticas de polipropileno (Tecniplast), y se mantuvieron en condiciones controladas, con temperatura:  $22 \pm 2$  °C, humedad relativa: 65-80%, 12 cambios de aire/hora y un fotoperíodo de 12/12 horas.

Tanto a las ratas como a los ratones se les suministró alimento pelletizado, fórmula EMO 1001 (ALYco, CENPALAB, La Habana, Cuba) para un consumo promedio diario de 25 g y 5 g, respectivamente. El agua de bebida se administró a voluntad. Todos los materiales fueron esterilizados mediante autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

### Dosificación

El ensayo se realizó con un solo nivel de dosis. La dosis administrada en cada inyección (0.5 ml) fue de 166.6 UB, 50 veces superior a la dosis terapéutica máxima propuesta para el hombre [14].

### Evaluación del extracto alérgico de *Blomia tropicalis*

Los animales fueron divididos en grupos de 10 hembras y 10 machos cada uno, a los cuales se les aplicó el siguiente tratamiento:

- Grupo I: Ratones: 0.5 ml (166.6 UB) de extracto alérgico.
- Grupo II: Ratones: 0.5 ml de Diluyente (Control).
- Grupo III: Ratas: 0.5 ml (166.6 UB) de extracto alérgico.
- Grupo IV: Ratas: 0.5 ml de Diluyente (Control).
- Grupo V: Ratas: 0.5 ml de Solución Salina (Control Negativo)

### Evaluación del extracto alérgico de *Dermatophagoides siboney*

Los animales fueron divididos en grupos de 10 hembras y 10 machos cada uno, a los cuales se les aplicó el siguiente tratamiento:

- Grupo I: Ratones: 0.5 ml (166.6 UB) de extracto alérgico.
- Grupo II: Ratones: 0.5 ml de Diluyente (Control).
- Grupo III: Ratas: 0.5 ml (166.6 UB) de extracto alérgico.
- Grupo IV: Ratas: 0.5 ml de Diluyente (Control).
- Grupo V: 0.5 ml de Solución Salina (Control Negativo)

### Vía, lugar de administración y duración del ensayo

La administración se llevó a cabo por vía subcutánea. Las aplicaciones se realizaron detrás del área escapular, alternando en los pliegues derecho e izquierdo que se forman a ambos lados de la columna vertebral.

El tratamiento se aplicó diariamente a los animales durante los 28 días del ensayo.

### Observaciones clínicas

El período de observación fue de 28 días. Se realizó observación clínica dos veces al día en horas de la mañana y la tarde. Las observaciones incluyeron, entre otras, cambios en: lugar de aplicación, piel y pelaje, membranas mucosas y ojos, sistemas respiratorio, circulatorio, nervioso central y autónomo, actividad somatomotora y patrón de comportamiento.

Se prestó particular atención a la observación de temblores, convulsiones, diarrea, letargia, salivación, sueño y coma.

### Exámenes de Patología

Al finalizar el estudio todos los animales fueron narcotizados con éter dietílico, posteriormente desangrados por la vena femoral y finalmente se sacrificaron por dislocación cervical. A continuación se realizó necropsia completa de todos los animales, describiendo las lesiones anatomopatológicas macroscópicas encontradas.

En los estudios con ratones, se obtuvieron y pesaron los siguientes órganos: Hígado, Riñones, Bazo, Timo, Ovario/Testículo, Corazón y Pulmones.

Para el estudio histopatológico se procesaron los órganos: Bazo, Riñones, Hígado, Ovario/Testículo, Timo, Corazón, Pulmón, Encéfalo, Adrenales, Ganglio mesentérico y supraescapular, así como el lugar de inoculación y alejado de la inoculación de todos los animales; para lo cual se realizó la fijación en formol neutro al 10%, imbibición e inclusión en parafina, cortes y tinción con Hematoxilina-Eosina. Se utilizó un microscopio simple, Carl Zeiss.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico a los pesos de órganos se realizó por el paquete estadístico SPSS Windows [16] para un nivel de significación de  $p < 0.05$ , utilizando una prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Los datos se analizaron de manera independiente para cada sexo.

## Resultados

Durante el desarrollo de la prueba no se observaron síntomas de toxicidad ni mortalidad en las ratas ni en los ratones.

El estudio de los pesos relativos de órganos (en relación con el peso corporal, %) de los ratones a los que se les aplicaron los extractos alérgicos de *B. tropicalis* y *D. siboney* durante 28 días (Tabla 1 y 2) demostró la no existencia de diferencias significativas en el Grupo Tratado con respecto al Grupo Control, excepto en el bazo de los machos ( $p=0.001$ ) a los que se le aplicó extracto de *D. siboney*.

No se encontraron cambios significativos de expresión patológica durante la necropsia ni en el estudio histológico de los órganos Bazo, Riñones, Hígado, Ovario/Testículo, Timo, Corazón, Pulmón, Encéfalo, Adrenales, Ganglio mesentérico y supraescapular; tanto de las ratas como de los ratones, mientras que la

**Tabla 1.** Aplicación del extracto alérgico de *Blomia tropicalis* durante 28 días en ratones. Comportamiento del peso relativo de órganos (en relación con el peso corporal, %).

Sexo	Órgano	Control (n=10)		Tratado (n=10)	
		Media	D.E.	Media	D.E.
Hembras	Timo	0.28	0.07	0.31	0.07
	Bazo	0.50	0.09	0.45	0.09
	Hígado	5.40	0.34	5.86	1.51
	Riñones	1.47	0.05	1.44	0.09
	Corazón	0.54	0.05	0.52	0.06
	Pulmones	0.83	0.06	0.88	0.08
	Ovario	0.10	0.02	0.13	0.02
Machos	Timo	0.25	0.05	0.23	0.05
	Bazo	0.45	0.07	0.42	0.05
	Hígado	5.67	0.56	5.88	0.29
	Riñones	1.77	0.11	1.84	0.10
	Corazón	0.66	0.06	0.67	0.10
	Pulmones	0.76	0.11	0.80	0.06
	Testículo	0.41	0.05	0.44	0.15

**Tabla 2.** Aplicación de extracto alérgico de *Dermatophagoides siboney* durante 28 días en ratones. Comportamiento del peso relativo de órganos (en relación con el peso corporal, %).

Sexo	Órgano	Control (n=10)		Tratado (n=10)	
		Media	D.E.	Media	D.E.
Hembras	Timo	0.35	0.06	0.28	0.08
	Bazo	0.50	0.15	0.43	0.11
	Hígado	5.34	0.35	5.34	0.55
	Riñones	1.41	0.14	1.33	0.19
	Corazón	0.55	0.05	0.52	0.08
	Pulmones	0.68	0.08	0.71	0.05
	Ovario	0.10	0.02	0.13	0.02
Machos	Timo	0.24	0.02	0.21	0.04
	Bazo	0.36	0.06	0.48*	0.08
	Hígado	5.70	0.40	5.99	0.24
	Riñones	1.77	0.16	1.77	0.15
	Corazón	0.61	0.09	0.58	0.05
	Pulmones	0.70	0.14	0.72	0.04
	Testículo	0.41	0.05	0.44	0.15

\*Diferencias significativas para  $p<0.05$ . Test no paramétrico U de Mann-Whitney.

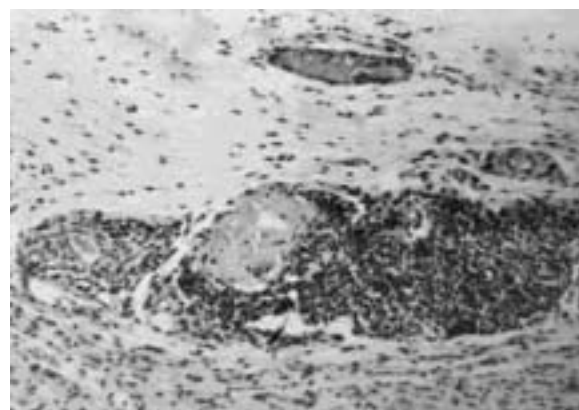
observación microscópica de la piel reveló alteraciones circunscritas al punto de aplicación, las cuales no se evidenciaron en las muestras de piel alejadas del lugar de inoculación.

En ambas especies, el cuadro microscópico de la piel del lugar donde se inoculó el producto se caracterizó por la presencia de abundantes células redondas: linfocitos, células plasmáticas y macrófagos agrupadas en la proximidad de vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas (Figuras 1 y 2). Estos cambios se localizaron en la hipodermis, por debajo de la capa muscular, donde se apreció además una extensa área de tejido cicatrizal y algunos polimorfonucleares de tipo neutrófilo y células cebadas, así como ligera hemorragia en algunos casos.

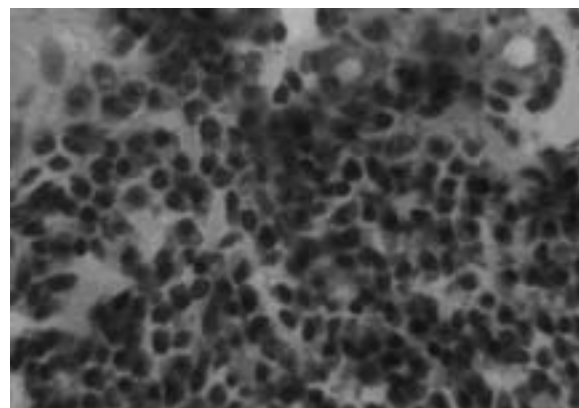
Se realizó tinción especial con azul de toluidina para evidenciar las células cebadas (mastocitos) y no se detectaron diferencias significativas entre los grupos para las ratas ni para los ratones.

## Discusión

Las reacciones alérgicas son el resultado de la exposición a un (1) alérgeno, el cual provoca la producción y liberación de anticuerpos IgE, que se asocian a receptores ( $Fc_\epsilon R$ ) de alta especi-



**Figura 1.** Agrupación de células redondas en la cercanía de vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas en el lugar de aplicación tras la inoculación repetida por vía subcutánea de extractos alérgicos de *D. Siboney* y *B. tropicalis*. Hematoxilina Eosina 32X.



**Figura 2.** Agrupación de células redondas en la cercanía de vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas en el lugar de aplicación tras la inoculación repetida por vía subcutánea de extractos alérgicos de *D. Siboney* y *B. tropicalis*. Nótese el predominio de linfocitos y células plasmáticas. Hematoxilina Eosina 400X.

ficidad en los basófilos y células cebadas provocando la degranulación de las células y la liberación de histamina, prostaglandina y leucotrienos [17].

En este trabajo se estudiaron los cambios patológicos producidos por la inoculación durante 28 días de los extractos alergénicos de *Blomia tropicalis* y *Dermatophagoides siboney*, por vía subcutánea en ratas y ratones.

Durante la realización del estudio no se detectaron síntomas clínicos ni mortalidad de los animales.

Respecto al estudio de los pesos de órganos en relación con el peso corporal (%) de los ratones se observaron diferencias significativas en el bazo de los machos tratados con extracto de *D. Siboney*, pero teniendo en cuenta las funciones que desempeña el mismo dentro del organismo [18], resulta lógico su aumento de tamaño ante la administración repetida de un alérgeno que actúa como antígeno, sin embargo, no se encontraron centros germinales ni otro cambio histopatológico de importancia.

La observación de abundantes células plasmáticas y linfocitos en el lugar de aplicación, tanto en ratas como en ratones, sugiere que los extractos alergénicos son capaces de estimular mecanismos inmunitarios que permiten la protección del organismo.

La presencia de estas células y la no existencia de diferencias significativas entre grupos respecto a las células cebadas y basófilos es atribuible a la acción farmacológica esperada del extracto alergénico, el cual previene la interacción de las IgE específicas al alérgeno y los basófilos. Estudios previos encontraron que la vacunación por largos períodos con estas sustancias disminuye la producción de IgE y aumenta los anticuerpos de tipo IgG1. Este cambio permite a los anticuerpos reconocer el alérgeno en sangre y eliminarlo, lo que evita la reacción alérgica. Debido a esta situación, las moléculas de IgE no pueden interactuar con los alérgenos y por lo tanto no pueden ponerse en contacto con los basófilos y mastocitos, lo que trae consigo que no ocurra la degranulación de estas células ni la respuesta alérgica [17].

Estudios anteriores para valorar la toxicidad por dosis repetidas del extracto alergénico del ácaro del polvo *Dermatophagoides pteronyssinus* [19] obtuvieron resultados similares a los alcanzados durante nuestro estudio, mostrando que la inoculación repetida de este extracto no produce alteraciones en el organismo que los recibe y sólo provoca una respuesta celular circunscrita al lugar de aplicación con predominio de células redondas.

En nuestro caso, se encontró una reacción similar ante la inoculación subcutánea por 28 días de los extractos alergénicos de *Blomia tropicalis* y *Dermatophagoides siboney* en ratas y en ratones, lo que corrobora que ambas especies pueden usarse indistintamente como biomodelos adecuados para la evaluación de la toxicidad de sustancias que actúan sobre el sistema inmune [20].

Teniendo en cuenta que el asma y otras enfermedades alérgicas constituyen un serio problema para la salud, y que la exposición a alérgenos de los ácaros del polvo está estrechamente vinculada a su aparición [21]; el uso de extractos alergénicos representa un método eficaz para el diagnóstico y control de estas enfermedades.

En conclusión, bajo las condiciones experimentales de los ensayos realizados y de acuerdo a los resultados obtenidos, la administración repetida de alérgenos en ratas y ratones no provocó alteraciones patológicas que afecten a los animales.

## Bibliografía

1. Platts-Mills TAE, Sporik RB, Chapman MD, Heyman PW (1997) The role of domestic allergens. En Chadwick DJ, Cardew G (Eds.), The rising trends in asthma. Ciba foundation. Chichester: John Wiley & Sons. London. pp.173-189.
2. Cuello MN, Patiño CM, Baena-Cagnari CE (1998) Existe una relación entre síntomas respiratorios en la infancia y la exposición a ácaros? Educación médica continua. Arch Arg Alergia Inmunol 29. 7-11.
3. Organización Mundial de la Salud (1988) Dust mite allergens and asthma: A world-wide problem. International workshop report. Bull WHO 66. 769-780.
4. Editorial (1995) *Dermatophagoides siboney* and *Blomia tropicalis*-dust mites of subtropical and tropical areas. Clin Exp Allergy 25. 922-928.
5. Arlian L, Bernstein D, Berstein IL (1992) Prevalence of dust mites in the homes of people with asthma living in eight different geographic areas of the United States. J of Allergy and Clin Immunol 90. 292-296.
6. Baena-Cagnari CE, Neffen HE, Fernández-Caldas E, Patiño CM, Sanchez-Guerra ME, Cuello MN, Bustos GJ (1992) Sensibilidad cutánea a ácaros domésticos y de depósito en niños y adultos asmáticos. Arch Arg Alergia Inmunol 23. 66-70.
7. Arruda LK, Rizzo MC, Chapman MD, Fernández-Caldas E, Baggio D, Platts-Mills TAE, Nasputz CK (1990) Exposure and sensitisation to dust mite allergens among asthmatic children in Sao Paulo, Brazil. Clin Exp Allergy 23. 433-439.
8. Puerta-Llerena L, Fernández-Caldas E, Caraballo García L, Lockett RF (1991) Sensitisation to *Blomia tropicalis* and *Lepidoglyphus destructor* in *Dermatophagoides* spp Allergic individuals. J Allergy Clin Immunol 88. 943-950.
9. Hurtado I, Parini M (1987) House dust mites in Caracas, Venezuela. Ann Allergy 59.128-130.
10. Ferrándiz R. (1997) Allergenic characterization of the domestic mite *Dermatophagoides siboney*. Linköping University Medical Dissertations No. 532. pp. 126.
11. Casas R, Ferrándiz R, Wihl JA, Fernández B, Dreborg S (1999) Biological activity of *Dermatophagoides siboney* and *Blomia tropicalis* allergens in exposed and unexposed mite-allergic individuals. Effect of patient selection on the biologic standardization of mite extracts. Allergy 54. 392-396.
12. Hage-Hamsten M (1995) *Dermatophagoides siboney* and *Blomia tropicalis*-dust mites of subtropical and tropical areas. Clin and Exp Allergy 25. 905-909.
13. WHO Position Paper (1997) Allergen Immunotherapy: Therapeutic Vaccines for allergic diseases, draft 7, Geneva: 27-29 January, 1-20.
14. Nordic Council on Medicine (1989) Registration of allergen preparations. Nordic Guidelines. Publication No. 23, 2<sup>nd</sup> Edition. Uppsala. pp. 18-19.
15. Handbook of in Vivo Toxicity Testing (1990). Academic Press. USA. pp. 394.
16. Statistical Package Scientific System 1992, SPSS for Windows, Released 5.0.1, License # 651544. October 9.
17. Edmonds J (2002). The development of allergen vaccines. Available from: <http://www.micro.unsw.edu.au>.

## Perfil socioeconómico de adultos monitorizados por exposición a plomo. Cituc período 1998-2000

Espinosa C, Rojas M y Seijas D

Centro de Investigaciones Toxicológicas de la Universidad de Carabobo (CITUC)

Recibido 16 de Enero de 2002 / Aceptado 19 de Septiembre de 2002

**Resumen:** Se estudió la relación entre la concentración de plomo en sangre (Pb-S) de 667 individuos que acudieron al laboratorio del Centro de Investigaciones Toxicológicas de la Universidad de Carabobo, Venezuela (período 1-1-1998 al 31-12-2000), y su zona de procedencia (vivienda y/o lugar de trabajo). Se utilizó tecnología de Sistemas Geográficos de Información (SGI), ubicando espacialmente a los sujetos estudiados, asociando de forma gráfica la procedencia de éstos con los resultados analíticos. Los promedios de Pb-S de los individuos con Valores Superiores al Límite Permissible (VSLP) resultaron ser mayores en el año 1999 con respecto a los demás años. Ocho sectores del estrato C (pobreza relativa o crítica) y uno del B (calidad de vida satisfactoria), mostraron el mayor porcentaje (93.72%) de individuos con VSLP de Pb-S. Los sectores 16 y 28 (del estrato C), resultaron con los porcentajes más elevados de individuos con VSLP (83.26 y 6.27% respectivamente). Al establecer la asociación entre los VSLP y los sectores de procedencia, sólo el sector 16 fue significativo mostrando una correlación parcial directa ( $R=0.28$ ;  $p<0.01$ ). El promedio de Pb-S en el estrato socioeconómico C (28.83 ug/dl) fue significativamente superior ( $p\leq 0.05$ ) a los encontrados en los estratos A (14.61 ug/dl), B (17.10 ug/dl) y en individuos sin estratificación socioeconómica conocida (SEC) (17.01 ug/dl). Los individuos pertenecientes al estrato socioeconómico C tenían casi 3 veces más riesgo que los demás, de presentar VSLP de Pb-S (OR = 2.86, IC 95%: 1.25-6.55). Se analizan las razones que justifican estos hallazgos. El estudio confirma que la utilización de SGI y métodos epidemiológico-estadísticos extiende las posibilidades de prevención de enfermedades producidas por contaminantes ambientales como el Pb y que correlacionando datos geográficos y de indicadores biológicos de exposición, se pueden identificar áreas de "alto riesgo", conduciendo a una acción pro activa de salud pública.

**Palabras Clave:** Exposición, plomo, monitoreo, sistema geográfico de información.

**Abstract: Socioeconomical profile of individuals monitored for blood lead. Cituc. 1998-2000.** The concentration of lead blood (Pb-S) was determined in 667 individual that attended the

Centre for Toxicological Investigations of the University of Carabobo in Venezuela, between January 1, 1998 to December 31, 2000. The relationship between these concentrations and residence/work place location was established. Geographical Information Systems (SGI) technology was used for mapping the data. The highest number of concentrations of Pb-S above permissible levels (VSLP) were found in 1999. The highest percentage (93.72%) of subjects with VSLP was found in eight (8) sectors of status C (relative/critic poverty) and one sector from B. Sectors 16 and 23 (from status C), had the highest percentages of subjects with VSLP (83.26 and 6.27% respectively). When we associate VSLP and residence/work location, only sector 16 was statistically significant, showing a partial direct correlation ( $R= 0.28$ ;  $p<0.01$ ) The Pb-S average in C (28.83 ug/dl) was significantly higher ( $p<0.05$ ) to that found in A (14.61 ug/dl), B (17.1 ug/dl) and in individuals with unknown location (SEC) (17.01 ug/dl). Individuals from status C had a higher risk of presenting VSLP (OR = 2.86, IC 95%: 1.25-6.55). This study confirms that SGI and epidemiological-statistical methods extend the possibilities of the prevention of contaminant adverse health effects and that by correlating geographical and biological indicators of exposure data, we can identify "high risk" areas, leading to a pro active public health action.

**Key words:** Exposure, lead, monitoring, geographical information system.

### Introducción

El urbanismo no controlado ha repercutido en el aumento significativo de vehículos y en la contaminación atmosférica en Latinoamérica [1]. Dentro de los contaminantes, el plomo (Pb) es uno de los metales pesados más estudiados y sus efectos deletéreos han sido extensamente descritos en la literatura [2-7]. Aunque la contaminación es un problema global que deben afrontar todas las sociedades, no es menos cierto que la desigualdad en la distribución de los riesgos ambientales se ha incrementado, existiendo abundante literatura científica que aborda el problema desde diferentes facetas [1, 8-11]. El tema de la "justicia ambiental" implica en la actualidad el estudio de factores como raza, pobreza, ambiente, cercanía a zonas contaminadas, minorías, etc., tratando de estimar su repercusión en la aparición de patologías y en sus formas de prevención y control [12-13]. La situación de desigualdad social en grupos minoritarios

Correspondencia: CITUC: Calle 144 # Río-211. La Ceiba, Valencia, Venezuela. Tel.: 58-241-8247256. Fax: 58-241-8237530. e-mail: martini@telcel.net.ve.

en países industrializados como Estados Unidos y su repercusión en la condición de salud, no es ajena a países en desarrollo, donde, bajo otros estilos, las diferencias adquiridas por susceptibilidad afectan la calidad de vida y por ende, las condiciones de salud de los individuos [9-10].

Para este estudio se utilizó tecnología de SGI. Los SGI son paquetes de software y hardware diseñados para integrar las estructuras de los mapas de un área específica en estudio, con información que está relacionada con determinados atributos geográficos [14-16]. Permiten establecer indicadores sociodemográficos que constituyen elementos estratégicos para la planificación, la gestión y la evaluación de programas de salud, así como para comparar los distintos grupos sociales y la contribución de estas variables a los potenciales efectos adversos de los contaminantes.

Valencia, capital del Estado Carabobo (Venezuela), es la principal ciudad industrial del país y sus características de ventajosa ubicación geográfica junto con su acelerado crecimiento en los últimos 20 años, ha generado una diversidad de problemas interrelacionados que afectan las condiciones ambientales y atentan contra la calidad de vida de sus habitantes [17]. El Centro de Investigaciones Toxicológicas de la Universidad de Carabobo (CITUC), ubicado en esa ciudad, tiene entre sus funciones la realización de análisis toxicológicos al público en general. Los datos derivados de estos análisis, registrados a través de los años, permiten correlacionar y estimar, con base estadística, características individuales y ambientales de quien acude a solicitar nuestros servicios y que pudieran ser representativas de comunidades similares en nuestro país. Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo fue establecer la relación entre los resultados de Pb-S de individuos que acudieron al laboratorio del CITUC y los sectores de procedencia (vivienda y/o lugar de trabajo). Igualmente, entre dichos resultados y la estratificación socioeconómica de los mencionados individuos.

## Metodología

Es una investigación descriptiva, de tipo longitudinal, de carácter retrospectivo. La población estuvo constituida por 667 personas, mayores de 18 años, con residencia en el Distrito Valencia (municipios Valencia y Naguanagua), que acudieron de forma voluntaria al laboratorio del CITUC a realizarse análisis de Pb-S, desde el 1 de Enero de 1998 al 31 de Diciembre de 2000. Los datos fueron obtenidos de la base de datos SICAT (Sistema de Información para el Control de Análisis Toxicológicos), desarrollado por el CITUC en FoxPro V2.6 para Windows e implantado a partir del año 1998. La información utilizada para los objetivos del trabajo fueron los datos personales y la zona de

procedencia (vivienda y/o empresa). Esta última se ubicó espacialmente en un SGI compuesto por: Mapa digitalizado del Distrito Valencia (Fig. 1), datos geo-referenciales ó espaciales (zona de procedencia) y datos del individuo ó tabulares (nombre, edad, sexo y niveles de Pb-S). La digitalización del mapa y ubicación espacial de los pacientes dentro de él (capa), fue realizada por expertos (del departamento de informática en Defensa Civil del Estado Carabobo), en MAPINFO Profesional V6.5 [18]. Tanto los datos tabulares como los espaciales se obtuvieron del SICAT. Los individuos estudiados fueron ubicados espacialmente dentro del mapa digitalizado y sectorizado. Se dividió el mapa del Distrito Valencia en 31 sectores de igual proporción territorial (Fig. 1). Estas sectorizaciones están basadas en el Instructivo para la Asignación de zonas del Sistema de Preaprobaciones de Crédito automotor del Banco Federal para Valencia [19] y la clasificación según estrato socioeconómico en los sectores se estableció, aplicando el "Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos de la República de Venezuela", realizado por FUNDACREDESA [20]. El método consiste en la estratificación social basada en variables socio demográficas, propuesto por el profesor Graffar de Bélgica para Europa y modificado y adaptado para uso en Venezuela por H. Méndez Castellano. La distribución de los individuos estudiados según sector de procedencia y estrato socioeconómico, se describen en la Tabla 1.

La cuantificación de Pb-S se efectuó por espectrometría de Absorción Atómica, mediante ionización en llama, con un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 3110, utilizando el método 8003 de NIOSH [21], bajo el programa de control de calidad externo PICC-Pb-S del Instituto de Seguridad e Higiene, Zaragoza, España [22]. La extracción de sangre se realizó por punción venosa en tubos heparinizados que fueron refrigerados hasta el momento de su análisis. Se tomó como valor permisible el establecido por la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) de los Estados Unidos, para la población adulta (< 30 ug/dl) [23].

La asociación gráfica de las variables procedencia de los individuos y sus resultados analíticos, permitió establecer la contribución de la vivienda y/o lugar de trabajo, con un importante indicador biológico de la exposición al Pb, como lo es el Pb-S.

Para el Análisis Estadístico se utilizó el paquete estadístico "Statistical Package for Social Sciences" (SPSS), versión 9. Se utilizó la prueba t de Student para muestras independientes. La asociación entre VSLP de Pb-S y estratos socioeconómicos y sectores de procedencia de los individuos se evaluó mediante Regresión Logística, se empleó el análisis de varianza de una vía en la comparación de Pb-S por estratos. El nivel de significación aceptado fue  $p \leq 0.05$ .

**Tabla 1.** Distribución de los individuos estudiados según sector de procedencia y estrato socioeconómico. Distrito Valencia. Estado Carabobo.

Estrato	Descripción	Categorización	Sectores estudiados [n]	%/31	Individuos/sector	%/total individ.
I	Alta calidad de vida	A	7	22.5	24	3.6
II	Muy buena calidad de vida	A				
III	Satisfactoria calidad de vida	B	7	22.5	74	11.1
IV	Pobreza Relativa	C	17	54.8	535	80.2
V	Pobreza Crítica	C				
	Total		31	100		



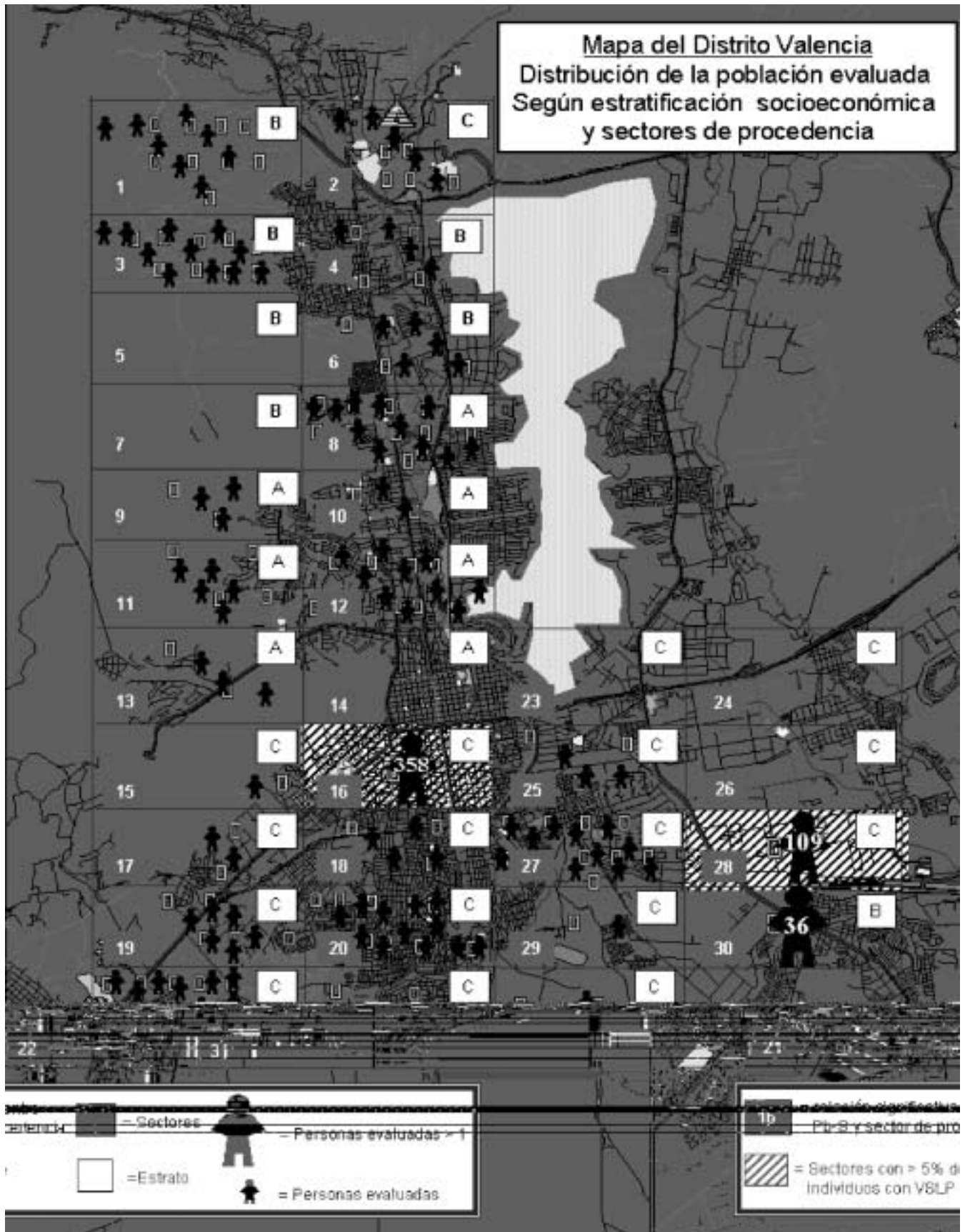


Fig. 1

**Tabla 2.** Distribución de los individuos estudiados, según sus valores promedio (X) de Pb-S y los Valores Superiores al Límite Permissible (VSLP), obtenidos, referidos al año en estudio.

Año	Pb-S [ug/dl]				VSLP de Pb-S [ug/dl]				
	N	% <sup>[1]</sup>	X ± DE	Rango	N	% <sup>[1]</sup>	% <sup>[2]</sup>	X ± DE	Rango
1998	376	56.37	30.72 ± 16.5	0-86	190	28.48	50.53	44.61 ± 11.29	31-86
1999	150	22.49	23.48 ± 19.2	0-98	33	4.95	22	53.13 ± 20.64	31-98
2000	141	21.14	17.18 ± 5.43	0-42	16	2.40	11.34	36.40 ± 3.69	31-42
Total	667	100	26.41 ± 16.7	0-98	239	35.83	35.83	44.49 ± 13.22	31-98

DE= Desviación Estándar.

(1) = Porcentaje calculado sobre el total de muestra (667 individuos).

(2) = Porcentaje calculado sobre el total de individuos de cada año.

**Tabla 3.** Distribución de los individuos estudiados (los 3 años), según su promedio de Pb-S (X) en la población total y con VSLP, asociados a su estrato socioeconómico.

Estrato	Población total			Población con VSLP			
	N	% <sup>[1]</sup>	X <sup>[3]</sup>	N	X <sup>[3]</sup>	% <sup>[1]</sup>	% <sup>[2]</sup>
A	24	3.6	14.61	3	39.33	0.44	12.5
B	74	11.1	17.10	8	36.02	1.19	10.8
C	535	80.2	28.83	221	44.98	33.13	41.3
Sin estratificación conocida	34	5.1	17.01	7	40.68	1.04	20.5
TOTAL	667	100	26.41	239	44.49	35.8	

(1) = % calculado sobre el total de la población estudiada (667)

(2) = % calculado sobre el total de la población de cada sector con VSLP.

(3) = Promedio de Pb-S en ug/dl.

## Resultados

Durante el período 1998-2000, 667 personas provenientes del Distrito Valencia, solicitaron análisis de Pb-S, en el CITUC. De éstos, 599 [90%], eran hombres y 68 [10%], eran mujeres, siendo sus promedios de Pb-S respectivos 27.93 y 13.04 ug/dl. El promedio en hombres fue significativamente superior al de las mujeres. Los promedios de Pb-S y los que resultaron con VSLP se describen en la Tabla 2. A pesar de que el promedio más elevado de Pb-S se encontró en el año 1998, fue en 1999 donde los promedios de VSLP resultaron mayores. El año 2000 muestra una disminución, no sólo del promedio de Pb-S sino del porcentaje de individuos con VSLP.

Los sectores 16 y 28 (ambos del estrato C, pobreza relativa o crítica), resultaron con los porcentajes más elevados de individuos con VSLP (83.26 y 6.27% respectivamente) (ver Fig. 1) y también alcanzan los promedios máximos de Pb-S (45.47 y 42.76 ug/dl respectivamente), entre los individuos con VSLP. Al estudiar mediante Regresión Logística la asociación entre los VSLP de Pb-S y todos los sectores de procedencia de los individuos estudiados (como variables predictoras), únicamente el sector 16 resultó significativo (OR = 11.60; IC 95%: 6.54 – 20.54), obteniéndose una correlación parcial directa de 0.28. Al comparar si existían diferencias significativas entre los promedios de Pb-S en función de su estrato socioeconómico, se encontró que el promedio en el estrato C (28.83 ug/dl), fue significativamente superior ( $p \leq 0.05$ ) al de los estratos A (14.61 ug/dl), B (17.10 ug/dl) y al de los individuos SEC (17.01 ug/dl) (Tabla 3). Igualmente se observa que en el estrato C se concentra la mayor proporción de la población general y el mayor número de individuos con VSLP. El análisis de Regresión Logística reveló una asociación significativa entre los VSLP (variable dependiente) y los estratos socioeconómicos (A, B y C) (variables predictoras), hallándose que los individuos del estrato C tienen 2.86 veces más riesgo de presentar VSLP (Tabla 4).

tos socioeconómicos (A, B y C) (variables predictoras), hallándose que los individuos del estrato C tienen 2.86 veces más riesgo de presentar VSLP (Tabla 4).

## Discusión

El presente estudio permitió determinar la contribución de la zona de procedencia y características socioeconómicas de una población seleccionada en el Distrito Valencia, Estado Carabobo, sobre las concentraciones obtenidas de la monitorización de Pb-S. El hecho que en el año 2000 haya habido una disminución de promedios de plumbemia, podría explicarse porque en épocas más recientes existe una mayor precaución en relación a los contaminantes, y en especial al Pb, lo que permitiría una mayor protección frente a la exposición. Igualmente, algunos procesos productivos donde el Pb estaba presente, o se han eliminado o se ha disminuido el uso del metal.

**Tabla 4.** Regresión Logística entre población con VSLP de Pb-S y estratos socioeconómicos.

Estratos	p	R <sup>[1]</sup>	OR <sup>[2]</sup>	IC 95% <sup>[3]</sup>
A	$p < 0.05$	-0.05	0.20	0.04 – 0.82
B	$p \leq 0.01$	-0.07	0.22	0.07 – 0.67
C	$p < 0.05$	0.06	2.86	1.25 – 6.55
Constante	$p < 0.01$			

Se ha utilizado como variable dependiente el VSLP de Pb-S y como variables predictoras los estratos socioeconómicos a que pertenecen los individuos.

(1) = Coeficiente de Correlación Parcial.

(2) = Razón de Odds.

(3) = Intervalo del 95% de confianza de la Razón de Odds.

Nuestro trabajo, por un lado, difiere del estudio español realizado por Sole *et al.* (1998) [24], quienes encontraron que el valor promedio de Pb-S de su población estudiada, no tuvo relación significativa con respecto al sexo, pero es consistente con la investigación ejecutada en México por Junko-Muñoz (1996) [25], ya que el promedio de Pb-S en hombres fue significativamente superior al de las mujeres. Igualmente, en el mencionado trabajo de Sole *et al.* [24], no se encontró una relación significativa entre Pb-S y zona de procedencia, a diferencia del de Junko-Muñoz [25], cuyos valores de Pb-S fueron significativamente correlacionados ( $r=0.964$ ) con las zonas de residencia consideradas y en el presente estudio, esta significación resultó positiva para el Sector geográfico 16 (Fig. 1).

Es importante resaltar que en este sector, de 358 personas evaluadas, 314 (87.7%), trabajan en una empresa de acumuladores ubicada en dicha zona. Este hecho podría justificar los altos valores de Pb-S encontrados en los individuos que trabajan en dicho sector, quienes, en buen número, también tienen sus viviendas en la misma zona.

De 31 sectores estudiados 17 (54.83%) pertenecen al estrato socioeconómico C (Tabla 1), y de éstos, 8 (47.05%) se encuentran localizados en el sur del Distrito (Fig. 1), donde se ubica una muy alta densidad de industrias potencialmente contaminantes, que como todo avance tecnológico, tiene un costo que puede derivar en deterioro tanto al hombre como al ambiente, planteando un impacto tóxico que hay que controlar.

Entre las razones que podrían explicar el hecho de que gran magnitud (93.72%) de los individuos con VSLP de Pb-S se encuentren concentrados en la mencionada zona sur (de baja condición socio-económica), se podría mencionar que ésta es un área de elevada explosión demográfica y con menores ingresos que las otras estudiadas. El estudio económico clásico predice que la pobreza juega un importante papel en la distribución de los riesgos individuales y sociales. De la misma forma, el costo más bajo de estos vecindarios atrae las industrias contaminantes que buscan reducir sus costos de producción. A esto se suma la insuficiencia/inexistencia de adecuados servicios públicos de saneamiento (Ej. agua potable) y de una infraestructura apropiada para controlar la contaminación, con las consecuencias de gran concentración de residuos industriales, comerciales y residenciales [26]. Una buena proporción de estas viviendas son muy antiguas, de bajo estándar de calidad y probablemente pintadas con pintura con contenido de Pb. Prácticas de remoción de la misma, por ejemplo, mediante procedimientos inadecuados, expone a sus ocupantes [9,27]. Así mismo, la presencia de tuberías metálicas y su deterioro, puede liberar cantidades no determinadas de Pb al agua. En el caso particular del Pb, la exposición por oficios artesanales de la llamada "economía informal", es común y sus consecuencias no previstas ni controladas [1].

Las deficiencias nutricionales son también comunes en esta población. Siendo que el Pb en su mecanismo de acción tóxica, interactúa con componentes esenciales del organismo, la dieta baja en nutrientes esenciales favorece la acción biológica del metal [1]. Otro factor importante es el nivel educativo. La educación se traduce en mayor cuidado, implementación de hábitos higiénicos, control de la exposición intra y extra-muros, etc., parámetros fundamentales en el mantenimiento de la calidad de vida. Por último, la carencia de políticas bien entendidas de

"Gestión ambiental", que permitan difundir, en todos los estratos sociales, la información sobre los riesgos a los que la población está sometida, con especial énfasis en agentes como el Pb, que puede provocar efectos de tipo crónico, muy severos, que comprometen variados sistemas del organismo.

## CONCLUSIONES-RECOMENDACIONES:

- ❖ Los resultados del presente estudio indican que la zona de procedencia y la condición socioeconómica de los individuos, constituyen un predictor de los niveles elevados de Pb-S encontrados y por tanto, podría considerarse un factor de riesgo.
- ❖ La utilización de SGI como el MAPINFO y métodos epidemiológico-estadísticos, extienden las posibilidades de diagnóstico temprano de enfermedades producidas por contaminantes ambientales (como el Pb), permitiendo identificar áreas de "alto riesgo", conduciendo a una acción pro activa de salud pública.
- ❖ Se requieren estudios posteriores, con mayores datos que puedan integrarse al análisis espacial., para determinar en forma más concluyente los principales predictores de niveles elevados de Pb-S en la población investigada.
- ❖ El diseño de programas de vigilancia periódica en las zonas consideradas como potencialmente críticas, permitirá identificar, prevenir y controlar factores contribuyentes de riesgo por parte de las Instituciones pertinentes.

## Bibliografía

1. Anónimo (1996) Conclusions. *Sci Tot Environ* 188 Suppl 1: S149-S158.
2. Silbergeld EK (1990) Implications of new data on lead toxicity for managing and preventing exposure. *Environ health perspect* 89: 49-59.
3. Landrigan PJ (1991) Strategies for epidemiologic studies of lead in bone in occupationally exposed populations. *Environ health perspect* 91: 81-86.
4. Landrigan PJ (1990) Current Issues in the epidemiology and toxicology of occupational exposure to lead. *Environ health perspect* 89: 61-66.
5. Tong S, Schimding, Prapamontol T (2000) Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. *Bull World Health Organ* 78: 1068-1077.
6. Lacasaña M, Romieu I, McConnell R y grupo de estudio de plomo en América Latina y el Caribe. (1996). El problema de exposición al plomo en América Latina y el Caribe. *Serie Ambiental* No. 16. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud/ Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud, Metepec, pp 2-23.
7. Rojas M, Squillante G, Medina E, Rojas O, Sarmiento A (2000) Environmental factors associated with blood lead levels in Venezuelan children. *Vet Human Toxicol* 42[3]: 174-177.
8. Friedman G [1989]. Occupational Disease Among Minority Workers. *AAOHN J* 37: 64-70.
9. Ríos R, Poje G, Detels R (1993) Susceptibility to environmental pollutants among minorities. *Toxicol Ind Health* 9: 797-820.
10. Sweeny T, Brain J, Goldleski J (1988) "Preexisting disease." En: Brain JD, Beck BD, Warren AJ y Staikh RA eds. *Variations in*

- susceptibility to inhaled pollutants. John Hopkins University Press, Baltimore, MD. pp 142-158.
11. Mohai P, Bryant B (1992) Race, Poverty, and the Environment. *The Disadvantaged Face Greater Risks*. EPA Journal: 6-8.
  12. Jamall I, Davis B (1991). Chemicals and Environmentally Caused Diseases in Developing Countries. *Infect Dis Clin North Am* 5: 367-373.
  13. Finkelman J (1996). Chemical safety and health in Latin America: An overview. *Sci Tot Environ*; 188: S3-S29.
  14. Reissman D, Staley F, Curtis G, Kaufmann R (2001) Use of geographic information system technology to aid Health Department decision making about childhood lead poisoning prevention activities. *Environ Health Perspect* 109: 89-94.
  15. Moore D, Lees B, Davey S (1991) A New Method for Predicting Vegetation Distributions using Decision Tree Analysis in a Geographic Information System. *Environ Management* 15: 59-71.
  16. White E, Aldrich T (1999) Geographic Studies of Pediatric Cancer near Hazardous Waste Sites. *Arch Environ Health* 54: 390-397.
  17. Guevara E (2001) Perspectiva Universitaria de la Situación Ambiental y Ecológica de Carabobo (reseña). *Tiempo Universitario, UC, Valencia*. Marzo 19: 36-38.
  18. MAPINFO Professional V6.5 [Programa de Computadora]. Troy, New York 12180, MAPINFO Corporation; 2002.
  19. Banco Federal (1998) Instructivo para la Asignación de Zonas en el Sistema de pre-aprobaciones de crédito. Valencia.
  20. FUNDACREDESA (1990) Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos de la República de Venezuela, Proyecto Venezuela. Caracas.
  21. National Institute for Occupational Safety and Health (1994) NIOSH Manual of Analytical Methods, 4th ed., V.1, P&CAM 208, U.S. department of health, education and welfare. Publ. (NIOSH) 7439-92-1.
  22. Gabinete de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Programa Interlaboratorios de Control de Calidad (PICC). Diputación General de Aragón. Zaragoza. España.
  23. American Conference of Governmental Industrial Hygienists [ACGIH] (2001). Threshold Limit Values for chemical substances and physical agents & Biological exposure indices. Cincinnati.
  24. Sole E, Ballabriga A, Domínguez C (1998). Lead exposure in the general population of the metropolitan area of Barcelona: blood levels and related factors. *Sci Total Environ* 224(1—3):19-27.
  25. Junko-Muñoz P, Toman R, Lee JH, Barton SA, Rivas F, Cerda-Flores RM (1996). Blood lead concentration and associated factors in residents of Monterrey, Mexico. *Arch Med Res* 27(4):547-51.
  26. Organización Panamericana de la Salud (OPS) (1993) Nuestro planeta, nuestra salud, informe de la comisión de salud y ambiente de la OMS. Washington D.C.
  27. Zirschky J (1990) Employee transported contaminant releases. *Haz Waste Haz Mater* 7: 201-209.

## Perfil psicosocial de pacientes ingresados por intoxicación aguda voluntaria

Hermida I<sup>1</sup>, Fernández P<sup>2</sup>, Ferrer A<sup>3</sup>, Bermejo AM<sup>2</sup> y Tabernero MJ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna. Hospital Miguel Servet de Zaragoza

<sup>2</sup>Servicio de Toxicología Forense. Instituto de Medicina Legal. Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela

<sup>3</sup>Servicio de Toxicología Clínica. Hospital Clínico de Zaragoza

Recibido 17 de Abril de 2002 / Aceptado 7 de Agosto de 2002

**Resumen:** Se estudió el perfil psicosocial de 118 sujetos intoxicados que precisaron ingreso en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza desde el 1 de Enero de 1995 hasta el 1 de Enero de 1996. La edad media fue  $36,7 \pm 17,6$  años (rango: 15-83 años) y el intervalo asistencial fue de  $5,1 \pm 5,2$  horas (rango: 0,2-24 horas). Se recogió historia de enfermedad orgánica previa en 40 casos, asistencia psiquiátrica previa en 71 casos y un valor medio de  $1,7 \pm 1,2$  intoxicaciones previas. Las intoxicaciones multi-medicamentosas (32,6%) y las asociaciones medicamento-droga (29,5%) fueron las más frecuentes, predominando, entre los medicamentos, las benzodiacepinas, antidepresivos y analgésicos, y, entre las drogas, el alcohol. Se observó clínica neurológica en 73 pacientes. El 93% de la población estudiada habitaba en medio urbano y se detectó una mayor presencia de solteros, en situación de paro y que habían recibido solo enseñanza primaria. Los problemas familiares y de pareja fueron los motivos desencadenantes más frecuentes. Por último, el diagnóstico psiquiátrico revela la existencia de trastornos de la personalidad (42%), trastornos adaptativos (38%), trastornos relacionados con sustancias (25%), trastornos del estado de ánimo (22%) y otros, observándose asociación de dos tipos de trastornos en 36 casos. Se puede concluir que el perfil psicosocial parece ser muy importante para valorar un intento autolítico, una intoxicación recurrente y/o un análisis psiquiátrico.

**Palabras clave:** Perfil psicosocial, Pacientes, Hospital, Intoxicación.

**Abstract: Psychosocial profile of patients admitted to hospital following deliberate acute poisoning.** The psychosocial profile of 118 poisoned patients who required admission to Miguel Servet Hospital of Zaragoza from January 1, 1995 to January 1, 1996 was studied. The mean patient age was  $36.7 \pm 17.6$  years (range: 15-83 years) and the case management time was  $5.1 \pm 5.2$  h (range: 0.2-24 h). A previous history of some organic diseases was recorded in 40 cases, previous psychiatric care in 71 cases and a mean value of  $1.7 \pm 1.2$  previous poison-

ing attempts. Multimedicine intake (32.6%) and medicine-drug of abuse associations (29.5%) were the most frequent, prevailing benzodiazepines, antidepressants and analgesics among medicines, and alcohol among drugs of abuse. Clinical symptoms of neurological type were observed in 73 patients. The majority of the population studied (93%) lived in urban areas, with a high presence of single, unemployed men and with primary education. Family and partner-related problems were the most frequent risk factors. Finally, the psychiatric diagnosis shows the existence of personality disorders (42%), adjustment disorders (38%), substance-related disorders (25%), mood disorders (22%) and others, observing two disorders associated in 36 cases. We can conclude that the psychosocial profile seems to be very important to assess a suicidal ideation, a recurrent poisoning and/or a psychiatric evaluation.

**Key Words:** Psychosocial profile, Patients, Hospital, Poisoning

### Introducción

En los últimos 30 años los casos de tentativa de suicidio por ingesta de psicofármacos han aumentado en la población juvenil, lo que representa un problema significativo para la asistencia en los servicios hospitalarios de urgencias [1-3]. Se ha observado una relación positiva entre la proporción de psicofármacos prescritos por el médico general y el número de intoxicaciones medicamentosas [4-6], siendo la existencia de un trastorno psiquiátrico una pieza clave en relación al riesgo de suicidio. La evaluación del estado psicológico del paciente condiciona la orientación terapéutica en cada caso concreto, teniendo en cuenta que las intoxicaciones fatales son más frecuentes al aumentar el número de tentativas.

El abordaje del fenómeno de las intoxicaciones agudas supone conocer tanto su patrón epidemiológico como las características psicológicas y el entorno social del paciente. Por ello, parece interesante hacer una valoración del perfil psicosocial del ingresado en un hospital por una intoxicación aguda voluntaria, de cara a un planteamiento preventivo de este tipo de problemas. En este trabajo el estudio psiquiátrico de los sujetos se ha realizado siguiendo los criterios del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, DSM-IV [7].

Correspondencia: Purificación Fernández. Servicio de Toxicología Forense. Instituto de Medicina Legal. Facultad de Medicina. C/ San Francisco, S/N. 15782-Santiago de Compostela. e-mail: imlpuri@usc.es.

## Material y Métodos

**Pacientes.**- Se estudiaron 118 casos de intoxicaciones agudas que precisaron ingreso en la Residencia General del Hospital Miguel Servet (HMS) de Zaragoza en el período comprendido entre el 1 de enero de 1995 y el 1 de enero de 1996.

**Variables.**- En el Servicio de Urgencias se rellenó una ficha clínica sobre intoxicaciones [8] que contempla los siguientes aspectos: identificación del paciente (edad y sexo), datos cronológicos (día de la intoxicación e intervalo asistencial), antecedentes, vía de entrada, tipo de agente, manifestaciones clínicas, tratamiento aplicado y estudio analítico-toxicológico.

Posteriormente al ingreso, se realizó un seguimiento del paciente, para lo cual se elaboró una ficha complementaria sobre intoxicaciones en la que se recogen datos relacionados con la esfera sociocultural y el aspecto psíquico de los sujetos, especialmente de aquellos que lo hacen con intencionalidad autolítica: habitat (rural o urbano), estado civil, nivel de estudios, situación laboral, motivo desencadenante de la intoxicación y diagnóstico psiquiátrico, en base a la clasificación DSM-IV de los trastornos mentales. La información fue recogida siempre por la misma persona para precisar con detalle y uniformidad cada uno de los aspectos de la encuesta. Esta ficha se rellenó “a pie de cama” del enfermo tras explicarle su finalidad y asegurarle absoluta confidencialidad en la información personal obtenida.

**Análisis Estadístico.**- Las fichas clínicas se informatizaron al introducir los datos en el programa Statview 4.0 para ordenador Mackintosh Performa 475, que permite su gestión como fichero y admite su análisis estadístico. Este fichero tiene una distribución en forma de cuadrícula en la que cada una de las variables es una columna y cada caso una fila.

Para el análisis de las variables cuantitativas se han utilizado pruebas paramétricas (test t de Student para comparar dos medias, ANOVA o análisis de la varianza para comparar más de dos medias entre sí, y estimación de la regresión simple para valorar el grado de correlación entre dos variables cuantitativas) y pruebas no paramétricas (test de la U de Mann Withney para analizar las asociaciones entre una variable cualitativa con dos categorías y otra cuantitativa, test de Kruskal-Wallis para valorar la asociación entre una variable cuantitativa y otra cualitativa con más de dos categorías, y el coeficiente de correlación de Spearman para la valoración de correlaciones entre variables cuantitativas). Para el análisis de las variables cualitativas se han utilizado la prueba de homogeneidad de dos porcentajes y la prueba del Chi cuadrado y contraste de proporciones, aplicando la corrección de Yates en las tablas de contingencia de 2x2.

Se ha considerado la significación estadística para valores de  $p < 0,05$ .

## Resultados y discusión

Los 118 pacientes ingresados por intoxicación en el Hospital Miguel Servet (Zaragoza) durante el año 1995 suponen un 11,8% del total de intoxicaciones atendidas en este hospital. De

estos pacientes hospitalizados, 18 declararon sobredosis por drogas y 78 reconocieron intentos suicidas con fármacos.

Su *edad* media era de  $36,7 \pm 17,6$  años (rango: 15-83 años). La mitad eran hombres y la otra mitad mujeres, aunque se aprecia un predominio de los primeros en todas las edades, excepto en los intervalos 15-19 años y 40-49 años en los que predominan las mujeres (Figura 1).

La *distribución por estaciones* resultó ser: verano (33 casos), primavera (26 casos), invierno (26 casos) y otoño (11 casos). En muchos casos es difícil conocer la hora de la intoxicación pues no siempre el paciente lo recuerda y muchas veces incluso lo encuentran dormido o en estado de coma. Por ello, el *intervalo asistencial*, definido como el tiempo transcurrido entre la intoxicación y la atención hospitalaria, sólo se conoce en 70 casos, con un valor medio de  $5,1 \pm 5,2$  horas (rango: 0,2-24 horas); este parámetro es decisivo a la hora de plantear las posibilidades terapéuticas más adecuadas, según el tóxico implicado. También cabe señalar que en la decisión de ingreso de un paciente influye sobre todo la existencia de ideación suicida persistente, así como el consumo elevado de alcohol en personas con un entorno personal y social tan complejo que obliga a su ingreso en un intento de abordar de forma serena sus problemas físicos, psíquicos y sociales.

De los 78 pacientes que contestaron a cuestiones relacionadas con los *antecedentes*, un 58% declararon antecedentes de drogadicción, reconociendo ser consumidores habituales de alcohol (26 casos), de fármacos psicoactivos (10 casos) y/o de otras drogas de abuso (9 casos), sustancias detectadas en los sujetos intoxicados. Se recogió historia de enfermedad orgánica previa en 40 pacientes: 7 padecían SIDA, uno cardiopatía severa, uno insuficiencia renal crónica, uno insuficiencia respiratoria crónica, uno enfermedad neurológica crónica y 29 relataban diversas patologías de base más banales. A veces se podría explicar un intento autolítico por el deseo de terminar con el sufrimiento que le provoca dicha enfermedad [9]. Otro hecho significativo es que 71 pacientes referían asistencia psiquiátrica previa en forma de psicoterapia (9 casos), psicofármacos (13 casos) o ambos (49 casos); en estos casos, son las benzodiacepinas y los antidepresivos los agentes más frecuentemente implicados. El 35% de los pacientes reconocieron intoxicaciones previas (IP), con un valor medio de  $1,7 \pm 1,2$  (rango: 1-10); se trata de sujetos con cierta inestabilidad psíquica que deben ser controlados periódicamente para prevenir las intoxicaciones con intencionalidad suicida;

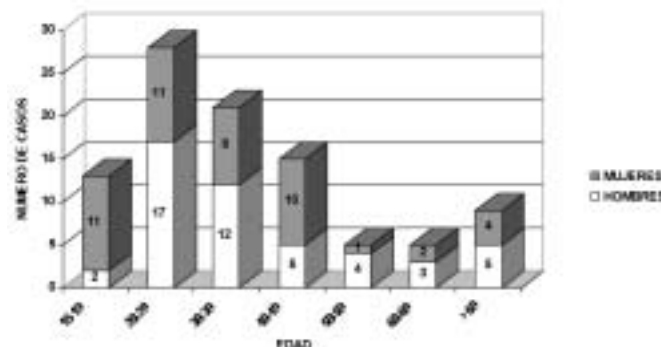


Figura 1.- Distribución según Edad y Sexo.

en general, utilizan los mismos agentes en todas las ocasiones, predominando los neurolépticos (valor medio IP:  $2,5 \pm 1,8$ ), el alcohol (valor medio IP:  $2,1 \pm 1,5$ ) y las benzodiazepinas (valor medio IP:  $2,0 \pm 1,5$ ). A la vista de estos resultados parece que en los pacientes ingresados por intoxicación voluntaria confluyen un conjunto de factores de base orgánica y psíquica (alcoholismo, enfermedades orgánicas, tratamiento psiquiátrico) que determinan una mayor tendencia a las intoxicaciones graves.

La *vía de entrada* más utilizada fue la oral (87,5%), seguida de la parenteral (2,1%) y respiratoria (2,1%); el predominio de la vía oral está relacionado con el mayor consumo de alcohol y medicamentos. Según *el tipo de agente*, la intoxicación más frecuentemente registrada fue la multimedicamentosa (31 casos), seguida de la asociación medicamento-droga (28 casos), un solo medicamento (15 casos), una sola droga (10 casos) y multidroga (4 casos). Las intoxicaciones multimedicamentosas están asociadas fundamentalmente con el consumo de una benzodiazepina + un antidepresivo (15 casos), seguido del consumo de varias benzodiazepinas y de una benzodiazepina + paracetamol. En las intoxicaciones debidas a medicamento-droga están implicadas mayoritariamente una benzodiazepina + alcohol (10 casos), seguidas de un antidepresivo + alcohol y de una benzodiazepina + heroína. La asociación de dos o más drogas sólo se dió en 4 casos, detectándose alcohol + opiáceos + cocaína. Las tablas 1 y 2 muestran la distribución de los pacientes que reconocen el consumo de fármacos o drogas, respectivamente, así como aquellos casos en los que se detectó la presencia de fármacos o drogas. El segundo grupo siempre es menos numeroso que el primero porque no se recogieron muestras biológicas en todos los casos y también porque la detección del tóxico pudo verse dificultada si el intervalo asistencial fue elevado. Entre los medicamentos implicados se observó un predominio de las benzodiazepinas, seguidas de antidepresivos, neurolépticos y paracetamol. Entre las drogas de abuso, es el alcohol la sustancia más usada, con mucha diferencia. Los fármacos suelen ser utilizados por personas jóvenes, en tratamiento con psicofármacos en el momento de la intoxicación, con psicopatología de base y reiteración en la conducta de autoenvenenamiento. Los pacientes que consumieron alcohol eran frecuentemente varones que sufrieron intoxicaciones previas con este mismo agente.

Se presentaron *manifestaciones clínicas* neurológicas en 73 pacientes, manifestaciones digestivas en 28 pacientes, manifestaciones respiratorias en 8 pacientes, y manifestaciones cardio-

vasculares en 7 pacientes. Entre las primeras destaca el coma en distinto grado, agitación-delirio y alteraciones pupilares, todas ellas asociadas significativamente con el alcohol y otras drogas de abuso. Estos resultados son similares a los obtenidos en otras áreas geográficas de nuestro país [5]. El *tratamiento* evacuante-neutralizante (lavado gástrico, carbón activado, eméticos) fue aplicado en 55 casos y el antidótico en 51 casos (38 recibieron flumacénil y 13 recibieron N-acetilcisteína en intoxicaciones por benzodiazepinas y paracetamol, respectivamente). Existe acuerdo al considerar que el primer tratamiento es útil si se emplea en las primeras 4-6 horas post-ingesta, que se corresponde con el valor medio del intervalo asistencial de nuestros pacientes.

Aproximadamente un 36% de los sujetos ingresaron en algún momento en la planta de Psiquiatría porque presentaban una constante ideación suicida y/o una fuerte drogodependencia. La mayoría de los pacientes de este grupo van a ser derivados luego, para su seguimiento, a la Unidad de Salud Mental (USM), con el fin de prevenir nuevos episodios de intoxicación [10].

De los 68 pacientes en los que pudo conocerse el *lugar de residencia*, 63 habitaban en medio urbano y 5 en medio rural. La distribución según el *estado civil* fue similar para hombres y mujeres y refleja una mayor presencia de individuos solteros (51 casos), seguidos de los casados (25 casos), separados (16 casos) y viudos (3 casos). Este dato coincide con lo publicado por otros autores [11-13], que piensan que el matrimonio "protege" del suicidio pues la integración en una unidad familiar disminuye la tendencia al individualismo. Sin embargo, Jamil [14] encuentra un predominio de casadas entre las mujeres y de solteros entre los varones.

*El nivel de estudios* más frecuente, tanto en hombres como en mujeres, fue la enseñanza primaria en 47 casos, seguida de estudios superiores en 37 casos y sin estudios en 11 casos, distribución similar a la obtenida por Mairata y col [15]. Sólo se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el primer grupo y el alcohol y entre el segundo grupo y el paracetamol.

La *situación laboral* más frecuente fue el desempleo, seguido por el trabajo fuera de casa, observándose una prevalencia significativa de las mujeres entre los estudiantes y las amas de casa (tabla 3). En nuestro país, hace unos 25 años, se apreciaba un alto porcentaje de amas de casa entre los pacientes atendidos por intoxicación aguda, sin embargo, la incorporación gradual de la mujer al mercado laboral y un aumento del desempleo en todos los sectores explica el cambio observado en cuanto a la intoxicación aguda voluntaria. Sólo se ha observado una asociación

**Tabla 1.** Fármacos consumidos y fármacos detectados.

Fármacos	Nº Consumidos*	% (T=74)	Nº Detectados**	% (T=46)
Benzodiazepinas	38	51,4	28	60,8
Antidepresivos	19	25,7	8	17,4
Neurolépticos	13	17,6	6	13,0
Paracetamol	13	17,6	7	15,2
Salicilatos	4	5,4	3	6,5
Barbitúricos	3	4,1	1	2,2
Litio	2	2,7	2	4,3
Otros	23	31,1	3	6,5

\* Número de pacientes que reconocieron un consumo de fármacos.

\*\* Número de pacientes en los que se detectó la presencia de fármacos.

**Tabla 2.** Drogas consumidas y drogas detectadas.

Drogas	Nº Consumidos*	% (T=42)	Nº Detectados**	% (T=12)
Alcohol	34	80,9	7	58,3
Opiáceos	8	19,0	4	33,3
Otras	4	9,5	1	8,3

\* Número de pacientes que reconocieron un consumo de drogas.

\*\* Número de pacientes en los que se detectó la presencia de drogas.

**Tabla 3.** Distribución según la Situación Laboral y el Sexo.

Situación laboral	Nº Hombres %	Nº Mujeres %	Total %
Parado	15 (32,6)	11 (22,9)	26 (27,7)
Trabajador fuera de casa	13 (28,3)	11 (22,9)	24 (25,5)
Estudiante(*)	4 (8,7)	12 (25,0)	16 (17,0)
Jubilado	10 (21,7)	4 (8,3)	14 (14,9)
Ama de casa(*)	0	9 (18,8)	9 (9,6)
Baja laboral	4 (8,7)	1 (2,1)	5 (5,3)
TOTAL	46	48	94

(\*) p=0,01.

estadísticamente significativa entre el uso de antidepresivos y los estudiantes y personas que trabajan fuera de casa. La distribución de la situación laboral en este trabajo coincide con la de Kaa y Gregersen [16] en Dinamarca, pero difiere de la obtenida en otros países de entorno cultural muy diferente como Zimbabwe [17], donde es mayor el porcentaje de intoxicaciones entre los estudiantes y las amas de casa. El desempleo y la jubilación se habían considerado clásicamente como factores de riesgo suicida [18]; no obstante, esta asociación parece haber disminuido al generalizarse esta situación en los países occidentales.

La tabla 4 recoge la distribución de las intoxicaciones según el motivo desencadenante y el sexo. No es fácil que las personas puedan atribuir con claridad la responsabilidad del acto realizado a un aspecto concreto [19]. En nuestra serie se hace referencia a una "situación general" como un conjunto de problemas que conducen a ese estado crítico, pero si se concreta más el motivo desencadenante, los problemas familiares y de pareja fueron los más comunicados en la población total y especialmente en las mujeres por su mayor facilidad para abordar temas personales o íntimos. Más distantes, y con valores bastante similares entre sí, estaban los problemas económicos, con drogas, laborales y de estudios. Chan y col [9] señalaron que un 80% de sus pacientes intoxicados alegaron problemas emocionales, dificultades en sus relaciones sociales o enfermedad física, mientras que Mairata y col [15] encontraron que los problemas familiares eran los más frecuentes. En nuestra serie, sólo se encontró una correlación estadísticamente significativa entre los problemas en los estudios y la intoxicación con paracetamol, un fármaco disponible en todos los hogares; los demás agentes no pudieron ser asociados con un motivo desencadenante concreto.

En lo que se refiere al diagnóstico psiquiátrico, los resultados obtenidos se reflejan en la tabla 5. Hubo asociación de dos trastornos en 36 pacientes, estando implicado un trastorno relacionado con sustancias en 14 de ellos y un trastorno de la personalidad en los 22 restantes.

No se han observado asociaciones estadísticamente significativas de los trastornos de la personalidad con las diferentes variables excepto con el hecho de no realizar ninguna actividad fuera de casa (p=0,02), lo que podría explicarse por ser personas generalmente menos adaptables en el medio laboral o en el lugar de estudios. Isometsa y cols. [20] demostraron una mayor incidencia de la conducta suicida fundamentalmente relacionada con el trastorno límite, lo que concuerda con nuestros resultados. La edad media de estos pacientes fue de  $37,2 \pm 16,8$  años.

**Tabla 4.** Distribución según el Motivo Desencadenante y el Sexo.

Motivo desencad.	Nº Hombres %	Nº Mujeres %	Total
Familia (*)	12 (35,3)	22 (64,7)	34
Pareja	11 (44,0)	14 (56,0)	25
Situación general	6 (46,2)	7 (53,8)	13
Económico	5 (62,5)	3 (37,5)	8
Drogas	6 (85,7)	1 (14,3)	7
Estudios	1 (16,7)	5 (83,3)	6
Laboral	4 (66,7)	2 (33,3)	6

(\*) p=0,04.

Los trastornos adaptativos fueron más frecuentes en mujeres (63,9%), siendo la edad media inferior a la del resto de los trastornos ( $28,7 \pm 15,7$  años) y similar a la obtenida por Mitrev, en Bulgaria [21]. Estos trastornos se asociaron con el menor número de intoxicaciones previas ( $1,2 \pm 0,5$ ), con la ausencia de atención psiquiátrica previa (p=0,0001), con un nivel de estudios superiores (p=0,002), con el desarrollo de actividad fuera de casa (p=0,008) y con el consumo de medicamentos, fundamentalmente paracetamol.

**Tabla 5.** Distribución según el Diagnóstico Psiquiátrico.

Trastornos	Nº Casos	Porcentaje
<b>T. de la Personalidad</b>	<b>40</b>	
Histriónico	16	40,0
Límite (Borderline)	14	35,0
Paranoide	5	12,5
Obsesivo-Compulsivo	2	5,0
Esquizoide-Esquizotípico	1	2,5
Narcisista	1	2,5
Antisocial	1	2,5
<b>T. Adaptativos-Ansiedad</b>	<b>36</b>	
Mixto (Depresivo-Ansioso)	15	41,7
Mixto (Emociones-Comportamiento)	11	30,5
Con Ansiedad	4	11,1
Depresivo	6	16,7
<b>T. Relacionados con Sustancias</b>	<b>24</b>	
Con Alcohol	17	70,8
Con Otras Drogas	7	29,2
<b>T. del Estado de Animo</b>	<b>21</b>	
Distimia (T. Depresivo-Neurótico)	13	61,9
T. Depresivo Mayor	5	23,8
T. Bipolar	1	4,8
Otros	2	9,5
<b>T. Psicóticos</b>	<b>10</b>	
Esquizofrenia	5	50,0
Esquizoafectivo	3	30,0
Delirante (Paranoide)	2	20,0
<b>T. Somatomorfos</b>	<b>4</b>	
T. Conversión	2	50,0
T. Somatización	1	25,0
Hipocondría	1	25,0
<b>Delirio</b>	<b>2</b>	
<b>Demencia</b>	<b>2</b>	
<b>Retraso Mental</b>	<b>2</b>	



Los trastornos relacionados con sustancias fueron más frecuentes en varones (79,2%), con una edad media de  $38,7 \pm 12,8$  años. Se asociaron con sobredosis ( $p=0,0001$ ), con antecedentes de consumo de alcohol ( $p=0,0003$ ) y con la ausencia de consumo de fármacos ( $p=0,0002$ ). La desinhibición producida en estos sujetos actúa como factor precipitante de la conducta suicida [22, 23], siendo difícil diferenciar, en muchos casos, si se trata de una muerte accidental o de un suicidio encubierto.

Los trastornos del estado de ánimo presentaron una tendencia no significativa a una mayor edad que los otros ( $42,7 \pm 16,1$  años), a la mayor presencia de mujeres (61,9%) y a la ausencia de actividad fuera de casa. Sin embargo, se detectó una asociación significativa con el consumo habitual de fármacos psicoactivos ( $p=0,01$ ), datos estos que coinciden parcialmente con los descritos por Vieta y cols. [24].

Los pacientes con trastornos psicóticos padecían mayoritariamente esquizofrenia (50%), eran todos varones, con una edad media de  $39,3 \pm 20,6$  años, que precisaron más días de hospitalización que el resto ( $65,5 \pm 108,4$  días), por ser intoxicaciones con mayor repercusión orgánica y precisar ingreso en la Unidad de Psiquiatría para su estabilización.

Los trastornos somatomorfos se presentaron solo en 4 pacientes, con una edad media de  $32,2 \pm 10,5$  años. La mitad eran estudiantes, todos ellos estaban a tratamiento con psicofármacos (benzodiazepinas) y reconocían una media de intoxicaciones previas superior a la de los otros trastornos ( $3 \pm 1,8$ ).

Por último, hemos de resaltar la necesidad de un diseño más uniforme de los estudios epidemiológicos sobre intoxicaciones agudas; solo así será posible establecer comparaciones que permitan conocer la situación de este tipo de patología en cada momento y lugar. También nos parece interesante incluir parámetros que definan el perfil psicosocial de los pacientes intoxicados, con el fin de explicar la consistencia en la intencionalidad suicida, el daño potencial de intoxicaciones recurrentes y la necesidad de una evaluación psiquiátrica.

## Bibliografía

- Black D (1986) Adolescent suicide: preventive considerations. *Br Med J* 292, 1620-1621.
- Sarró D, Nogué S (1992) Suicidios. *Med Clin* 98, 624-626.
- Hidalgo MI, Santiago M, García B, González C (1994) Las conductas autoagresivas en el servicio de urgencias. *Aten Primaria* 13, 45-52.
- Buchanan W (1991) A year of intentional self poisoning in Christchurch. *NZ Med J* 104, 470-472.
- Fernández P, López-Rivadulla M, Bermejo A, Ortega M, Sánchez I, Concheiro E (1996) Estudio de 293 intoxicaciones en el área sanitaria de Santiago de Compostela durante 1993. *Rev Toxicol* 13, 71-75.
- Diekstra RF, De Graaf AC, Van Egmond M (1984) On the epidemiology of attempted suicide. A sample-survey study among general practitioners. *Crisis* 5, 108-118.
- Pichot P (1995) DSM-IV. Manual diagnóstico y terapéutico de los trastornos mentales. Edit. Masson, SA, Barcelona.
- Ferrer A, Bona MA, Castellano M, Civeira E, Fuentes F, Munné P, Nogué S, Pascual A (1991) Propuesta de una ficha para el estudio de las intoxicaciones agudas en el medio hospitalario. *Rev Toxicol* 8, 325.
- Chan TYK, Critchley JAJH (1994) The spectrum of poisoning in Hong Kong: an overview. *Vet Human Toxicol* 32, 135-137.
- Gilbody S, House A, Owens D (1997) The early repetition of deliberate self harm. *JR Coll Physicians Lond* 31, 171-172.
- Carvajal A, Bachiller A, Rayo R, García L (1987) Intoxicaciones agudas en Valladolid. Estudio epidemiológico en los casos atendidos en el Hospital Clínico desde 1978 a 1984. *Med Clin* 88, 135-139.
- Rodríguez JA, Hinojal R (1994) Intoxicaciones agudas: estudio epidemiológico retrospectivo en un área sanitaria asturiana, 1985-1989. *Rev Toxicol* 11, 99-104.
- Özköse Z, Ayoglu F (1999) Etiological and demographical characteristics of acute adult poisoning in Ankara, Turkey. *Hum Exp Toxicol* 18, 614-618.
- Jamil H (1990) Acute poisoning: a review of 1900 cases. *JMPA* 40, 131-133.
- Mairata S, Morei A, Ladaria A, Ballesteros JA, De la Calle F (1981) Intoxicación medicamentosa aguda voluntaria. Estudio epidemiológico en Mallorca. *Rev Clin Esp* 163, 307-310.
- Kaa E, Gregersen M (1992) Fatal poisonings in Jutland (Denmark) during the 1980s. *Int J Leg Med* 195, 133-138.
- Nahchi C, Kasilo O (1992) The pattern of poisoning in urban Zimbabwe. *J Appl Toxicol* 12, 435-438.
- Pritchard C (1990) Suicide, unemployment and gender variations in the Western World 1964-1986. Are women in anglophone countries protected from suicide? *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 25, 73-80.
- Arranz FJ (1997) Epidemiología de la conducta suicida. En Ros S La conducta suicida. Libro del año SL, Madrid. 43-62.
- Isometsa ET, Henriksson MM, Heikkinen ME (1996) Suicide among subjects with personality disorders. *Am J Psychiatry* 153, 667-673.
- Mitrev I (1996) A study of deliberate self-poisoning in patients with adjustment disorders. *Folia Med Plovdiv* 38, 11-16.
- Breslow RE, Klinger BI, Erickson BJ (1996) Acute intoxication and substance abuse among patients presenting to a psychiatric emergency service. *Gen Hosp Psychiatry* 18, 183-191.
- Farrell M, Neeleman J, Griffiths P, Strang J (1996) Suicide and overdose among opiate addicts. *Addiction* 91, 321-323.
- Vieta E, Nieto E, Gastó C, Cirera E (1992) Serious suicide attempts in affective patients. *J Affect Disord* 24, 147-152.

# Tóxicos detectados en muertes relacionadas con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono

J. Gómez y F. Valcarce

Instituto de Toxicología. Departamento de Madrid. C/ Luis Cabrera nº 9. 28002 Madrid. Telfs. 91 5628585 / 91 5628469

Recibido 8 de Abril de 2002 / Aceptado 16 de Octubre de 2002

**Resumen:** Se presentan en este trabajo las conclusiones del estudio realizado sobre los resultados de los análisis efectuados en muestras de sangre de 882 personas que resultaron fallecidas o intoxicadas en fuegos o a consecuencia de la inhalación de monóxido de carbono y/o de otros gases de combustión. En ellas se investigó la presencia de monóxido de carbono, cianuro y otros tóxicos tales como el alcohol etílico y los psicofármacos.

Se realizan dos subgrupos, el de muertes producidas por intoxicación por monóxido de carbono y el de las ocurridas en fuegos. Se puede observar que las concentraciones de carboxihemoglobina alcanzadas en uno y otro grupo difieren sensiblemente, siendo muy superiores las encontradas en el primer grupo, con frecuencias máximas entre 50% y 70% de carboxihemoglobina frente a las detectadas en el segundo grupo cuyas frecuencias máximas se hallan entre 1% y 15%.

En las muertes ocurridas en fuegos se detecta además cianuro en concentraciones variables ( 0,2 - 12 µg / ml ) e independientes del nivel de carboxihemoglobina detectado en cada caso. Entre los otros tóxicos más frecuentes se detectan el alcohol etílico, las benzodiacepinas, el butano y los antidepresivos, entre otros. El alcohol etílico se detecta en diferentes concentraciones observándose una mayor concentración en los casos de fuegos, lo que indica que puede tener influencia en la ocurrencia de accidentes relacionados con ellos.

**Palabras clave:** Monóxido de carbono. Fuegos. Intoxicación.

**Abstract: Toxic agents detected in deaths related to fire and intoxications with carbon monoxide.** We describe herein the conclusions reached when studying the analytical results obtained from 882 blood samples belonging to persons who died or resulted intoxicated as a consequence of fires or inhalation of carbon monoxide and/or other combustion gases.

Carbon monoxide, cyanide and other toxics, such as ethyl alcohol and psychotropics, were investigated on these samples, and we distinguished two groups of cases, one in which there was a carbon monoxide intoxication and the other one being deaths that took place in relation to a fire.

We realize that carboxyhemoglobin levels differ from one to another group, the first one being much higher, showing frequency maximum in the 50% to 70% range against 1% to 15% in the second group. In fire-related cases, cyanide was found in concentrations that ranged from .2 µg / ml to 12µg / ml, showing no correlation with corresponding carboxyhemoglobin levels.

Other toxics that also appeared were, among others, benzodiazepines, butane, antidepressants and ethyl alcohol in variable concentrations but with the trend being higher in those cases where fire was involved, indicating some responsibility of this toxic in the course of the event.

**Key words:** Carbon monoxide. Fires. Intoxication.

## Introducción

Cuando se produce una muerte relacionada con un fuego o una intoxicación por monóxido de carbono y/o otros gases de combustión, a menudo necesitamos obtener información sobre las circunstancias que han rodeado al suceso y la investigación químico-toxicológica de las muestras de las víctimas nos proporciona con frecuencia datos que ayudan a la comprensión de dichas circunstancias.

En estos casos, en el Instituto de Toxicología de Madrid se reciben muestras de sangre procedentes de autopsias y también de hospitales en las que se investigan principalmente los posibles gases tóxicos generados en la combustión, tales como monóxido de carbono y ácido cianhídrico, así como alcohol etílico y otras investigaciones complementarias.

Estas investigaciones se vienen realizando durante al menos los últimos 15 años y a partir de esta experiencia, presentamos en este trabajo los resultados del estudio realizado sobre 882 muestras de otras tantas personas afectadas por sucesos relacionados con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono (CO).

## Material y Métodos

El estudio se ha realizado sobre los datos obtenidos durante el periodo de diez años comprendido entre los años 1991 y 2000, entre los que se han seleccionado aquellos que procedían de situaciones relacionadas con fuegos [1] y aquellos que presentaron niveles de carboxihemoglobina en sangre superiores a 10% respecto de la hemoglobina total [2].

Las muestras en las que el nivel de carboxihemoglobina determinado fue menor de 10% no se han incluido, excepto si se tuvo constancia explícita de que el suceso ocurrió en un fuego. Tampoco se han considerado aquellos casos en los que la cifra obtenida, aunque superior al 10%, pudiera ofrecer dudas debido al estado de conservación de la muestra o a otras circunstancias.

Del total de muestras estudiadas, 305 corresponden a muertes relacionadas con fuegos, mientras que 577 corresponden a intoxicaciones por monóxido de carbono, habiendo un número de 201 casos de las muertes relacionadas con fuegos en los que también se registraron unos niveles de carboxihemoglobina mayores de 10% y que pueden considerarse también como intoxicados por CO.

Las muestras de sangre se reciben conservadas en frío y se custodian en cámara frigorífica a una temperatura de 4° C hasta el momento de su análisis. La determinación del porcentaje de carboxihemoglobina que hay en ellas se realiza por espectrofotometría en el visible en la región de 416 nm a 432 nm según los métodos de Rodkey [3] y Rodkey modificado [4] con los que sólo se necesita una pequeña cantidad de muestra del orden de 50 µl.

La investigación de cianhídrico se realizó determinando la concentración de ión cianuro en las muestras por espectrofotometría en el visible a 585 nm previa extracción por microdifusión y formación de un complejo coloreado [5,6], necesiándose en este caso al menos 1 ml de muestra para llevar a cabo el análisis.

Se realizan también otros análisis complementarios, solicitados por el médico forense o entidad demandante de los análisis, consistentes fundamentalmente en la determinación de alcohol etílico por cromatografía de gases con espacio de cabeza, drogas de abuso y fármacos por enzaimunoensayo, cromatografía de líquidos de alta presión y cromatografía de gases con detección npd - fid y espectrometría de masas, si bien este tipo de análisis no se solicitan siempre y por tanto no se realizan en todas las ocasiones.

**Resultados:**

En la figura 1 se puede ver cuales han sido los principales tóxicos detectados en casos de muertes relacionadas con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono y en ella se observa que el tóxico mayoritariamente detectado es el monóxido de carbono, si bien vemos que la frecuencia con la que éste se detecta en relación con los otros tóxicos no es la misma en ambos casos. Ello es debido a que sólo un 26% de las intoxicaciones por CO corresponden a intoxicaciones ocurridas en fuegos, por lo que la frecuencia con que aparecen tóxicos como el cianuro (CN), que

se presentan sobre todo en esos casos, es relativamente menor cuando se considera el total de las intoxicaciones por CO.

En el epígrafe de otros se incluyen tóxicos muy diversos como benzodiazepinas, analgésicos, opiáceos, antidepressivos, cocaína, etc., mientras que el capítulo de hidrocarburos recoge fundamentalmente gases tales como el butano y el propano, relacionados con intoxicaciones por elementos calefactores que los utilizaban como combustibles.

Igualmente, las frecuencias de las concentraciones de carboxihemoglobina (COHb) encontradas en uno y otro caso difieren entre sí tal como puede verse en la figura 2 que recoge las frecuencias con que se presentan los diferentes porcentajes de COHb, dependiendo de que el suceso se haya producido en un fuego o no. En la figura 3 se pueden ver las frecuencias de las concentraciones de alcohol etílico detectadas en uno y otro caso, apreciándose también ciertas diferencias entre las que corresponden a sucesos relacionados con fuegos y aquéllos en los que sólo se ha producido intoxicación por CO.

En cuanto a las concentraciones de ión cianuro encontradas en las muestras procedentes de muertes relacionadas con fuegos, podemos ver su distribución de frecuencias en la figura 4. En la figura 5 se presentan conjuntamente las concentraciones de carboxihemoglobina y de ión cianuro encontradas en dichos casos y en ella se representan para cada caso determinado, eje X, los porcentajes de COHb referidos al eje Y, ordenados por valores

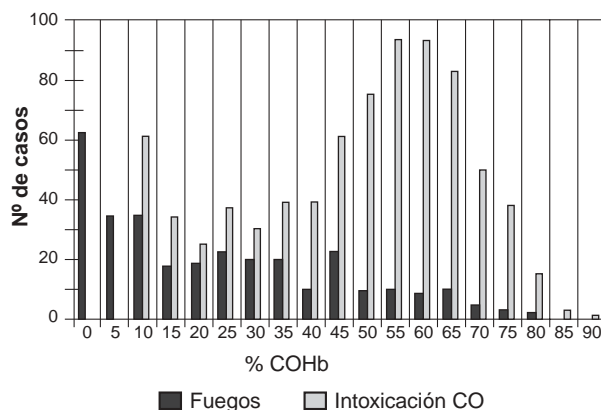


Fig. 2. Fuegos e intoxicaciones CO. Frecuencia de niveles de COHb.

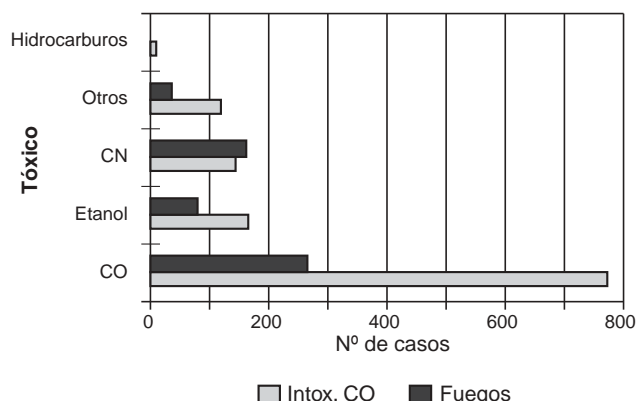


Fig. 1. Fuegos e intoxicaciones CO. Frecuencia de los tóxicos detectados.

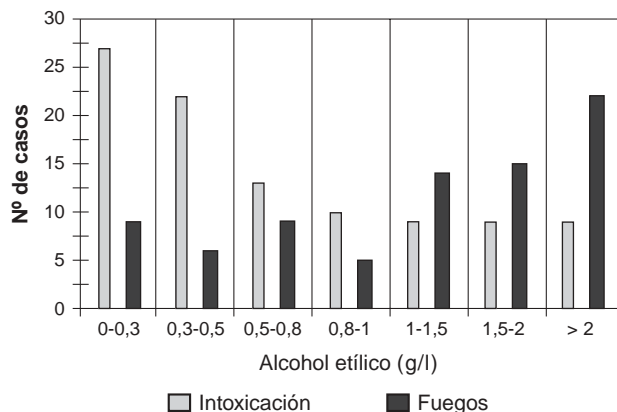


Fig. 3. Fuegos e intoxicaciones CO. Concentración de alcohol etílico..

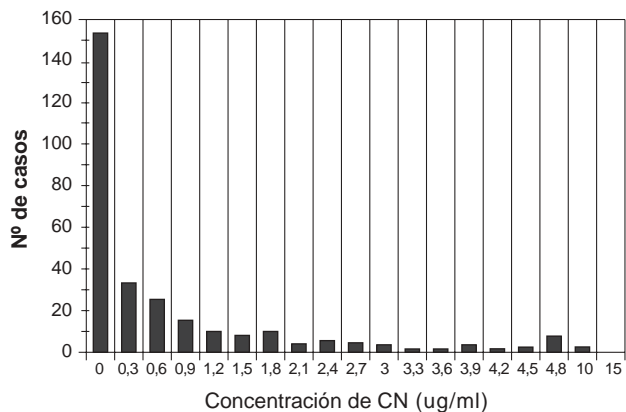


Fig. 4. Muertes en fuegos. Frecuencia de concentración de cianuro.

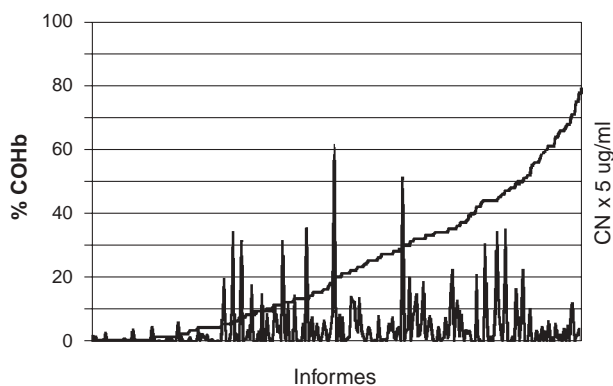


Fig. 5. Muertes en fuegos. Concentraciones de COHb y CN.

crecientes y las concentraciones de ión cianuro expandidas en un factor 5, en µg / ml referidas también al eje Y, que presentan picos de altura variable sin aparente conexión con los valores de COHb correspondientes.

Estos tóxicos detectados, se presentan solos en ocasiones pero muchas veces aparecen en combinación con otro o más de ellos por lo que tenemos que tener en cuenta cuáles son éstas combinaciones, pues la acción conjunta de dos ó más tóxicos puede tener un efecto potenciador de las toxicidades individuales de cada uno de ellos y explicar a veces consecuencias que no se podrían explicar por la acción individual de uno de ellos. Las combinaciones de tóxicos detectadas en los casos relacionados con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono se pueden ver en las figuras 6 y 7 en las que observamos ciertas diferencias en uno y otro caso, en especial la aparición del CO como agente único en un alto porcentaje de las intoxicaciones por monóxido de carbono y la de la combinación CO - CN en los sucesos relacionados con fuegos o incendios.

Con respecto a la edad y sexo de la población afectada, vemos en las figuras 8 y 9 la distribución de frecuencias en uno y otro caso en las que observamos una mayor incidencia en los varones de los dos tipos de sucesos, si bien se observan ciertas diferencias entre ambos, en especial en la frecuencia de muertes rela-

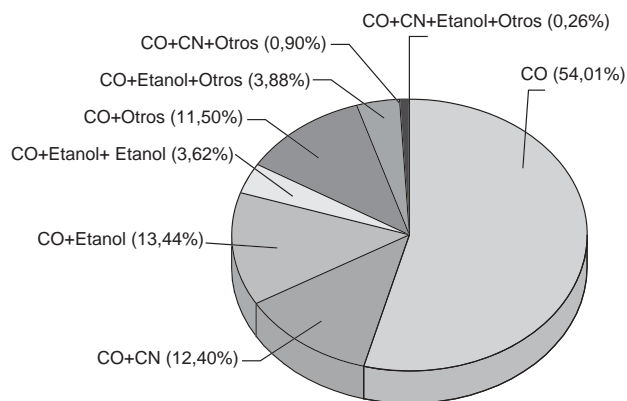


Fig. 6. Intoxicaciones por CO. Combinaciones de tóxicos detectadas.

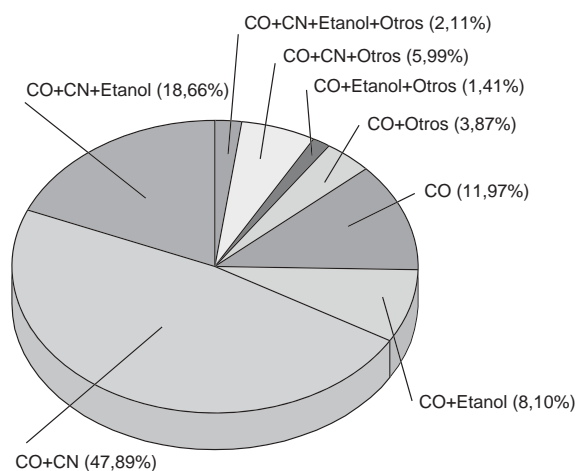


Fig. 7. Muertes en fuegos. Combinaciones de tóxicos detectadas.

cionadas con fuegos de los mayores de 70 años que es superior a la correspondiente ocurrencia de intoxicaciones en dichas edades.

Las frecuencias relativas por el lugar donde se produjo el suceso son muy similares en uno y otro caso y la ocurrencia tuvo lugar mayoritariamente en el domicilio, seguido por el coche en las intoxicaciones o por el coche y el campo en los fuegos, respectivamente.

Sobre cómo se distribuyen los tóxicos detectados y si tienen alguna relación con las circunstancias del suceso, intentamos ver la posible relación entre el lugar en que se produjo el hecho y los tóxicos detectados, figura 10, en la que se observa una cierta tendencia a que las muertes ocurridas en el coche y en el campo presenten mayor frecuencia de positivos de etanol y de otros tóxicos, mientras que las muertes ocurridas en el domicilio y en el trabajo muestran mayor incidencia de positivos de monóxido de carbono y de ión cianuro.

El período del año en que se produjeron estos sucesos guarda la misma tendencia en el caso de los fuegos y en el de las intoxicaciones por CO y presenta una fuerte dependencia con los meses del año tal y como aparece representado en la figura 11.

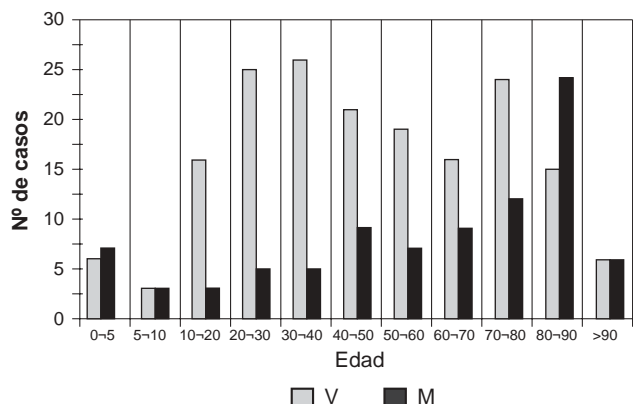


Fig. 8. Muertes en fuegos. Frecuencia por edad y sexo.

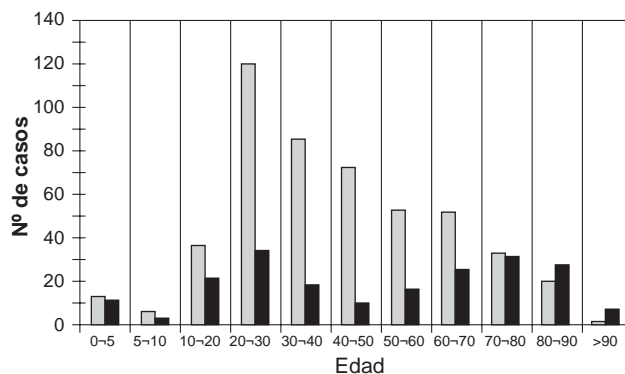


Fig. 9. Intoxicaciones por CO. Frecuencia por edad y sexo.

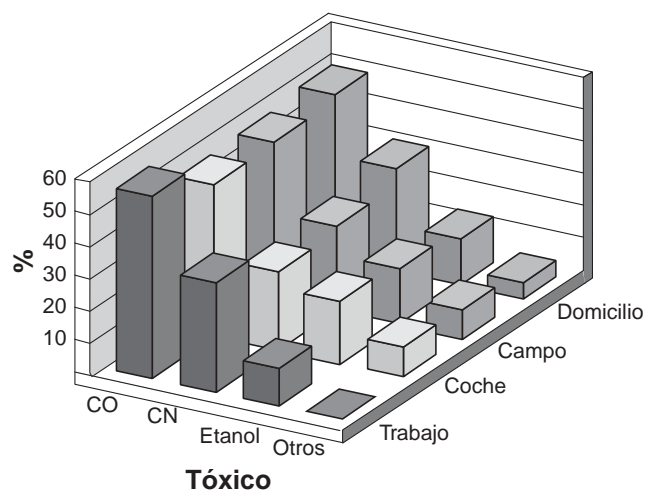


Fig.10. Muertes en fuegos. Frecuencia por tóxico y lugar.

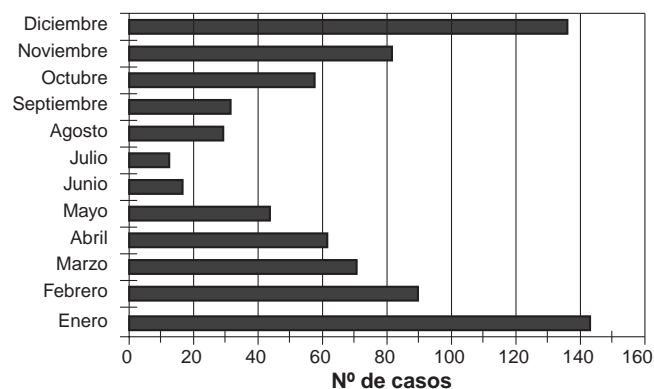


Fig. 11. Muertes por CO. Frecuencia por meses.

En lo que a la etiología de los sucesos respecta, la mayoritaria fue la accidental (76%), seguida por el suicidio (9%) y también, en pequeña proporción, por el homicidio (2%) en los casos de muertes relacionadas con fuegos. Existe una marcada dependencia de la frecuencia de los suicidios registrados con respecto al sexo y a la edad de las personas afectadas y se constata que los suicidios, que son en su mayoría realizados en el coche ó vehículo (75%), se llevaron a cabo preferentemente por medio de una intoxicación por CO y han afectado con mayor frecuencia a jóvenes varones (90 %) de entre 20 y 40 años de edad (65 %).

### Discusión

Los resultados del estudio nos muestran que los sucesos en relación con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono afectaron de forma mayoritaria a varones de edades comprendidas entre 20 y 40 años de edad, aunque las muertes en fuegos afectaron también en un alto porcentaje a hombres y mujeres mayores de 70 años.

El periodo del año en que se registraron con mayor frecuencia estos hechos coincide con los meses de otoño e invierno, lo que nos indica la estrecha relación que existe entre estos sucesos y el uso de calderas, calefacciones, hogares, braseros, etc. así como la menor ventilación de los locales. La mayoría de las veces, la etiología de la muerte es la accidental y el suceso ocurre en el domicilio, sin olvidar el relativamente alto número de ellos que también se produce en coches o vehículos como consecuencia de accidentes de tráfico y de suicidios.

Los tóxicos más frecuentemente detectados fueron el monóxido de carbono, el cianuro y el alcohol etílico, aunque también se detectaron en menor número de casos otros tóxicos tales como benzodiazepinas, antidepresivos, opiáceos, analgésicos, cocaína e hidrocarburos, entre otros. Algunos de los tóxicos detectados se presentan de forma selectiva dependiendo del tipo de suceso que haya tenido lugar, así por ejemplo el cianuro se detecta mayoritariamente en los casos relacionados con fuegos, como consecuencia de la inhalación de gas cianhídrico procedente de la combustión de materiales que han ardido, mientras que los hidrocarburos, principalmente gases butano y propano, se han detectado sobre todo en intoxicaciones por monóxido de carbono producidas por elementos de calefacción que los usaban como combustibles.

Las concentraciones encontradas para estos tóxicos también nos proporcionan información y marcan tendencias con respecto a las circunstancias en las que el suceso ha ocurrido, esto se apre-

cia claramente al observar las diferentes frecuencias con que se presentan los porcentajes de carboxihemoglobina detectados dependiendo de si en el suceso ha estado implicado el fuego ó no. Por ello, la determinación del nivel de COHb además de proporcionarnos información sobre si ha existido intoxicación por monóxido de carbono [7], puede también indicar si dicha intoxicación ha estado asociada a un fuego, en especial si otros resultados tales como la presencia de ión cianuro lo corroboran.

Los porcentajes de COHb detectados en intoxicaciones por CO en las que no ha habido fuegos o incendios suelen ser altos y presentan sus máximas frecuencias en los rangos de 50 % a 70 %, niveles considerados letales. Por contra, los niveles detectados en sucesos relacionados con fuegos tienen sus máximas frecuencias en el rango de 1% a 15 % y sólo en un pequeño número de casos superan el 50%.

Los niveles de alcohol etílico encontrados muestran cierta tendencia a ser más altos en los sucesos relacionados con fuegos, mayor de 1 g/l en el 67% de los casos, frente a un 27% en los casos de intoxicación por CO, indicando una posible responsabilidad de dicho tóxico en la producción del suceso o en la incapacidad para escapar de las llamas, especialmente en accidentes de tráfico con posterior incendio del vehículo y en incendios provocados por la quema de rastros y similares.

Las concentraciones de ión cianuro detectadas son bajas en la mayor parte de los casos, en el rango de 0,2 - 3,0 µg / ml, pero también se han encontrado concentraciones más altas, de 4, 5 y hasta de 10 y 12 µg /ml, en más de una docena de casos, valores que son considerados como letales para este tóxico cuyo umbral de letalidad suele situarse en el entorno de los 4 µg / ml. Esto nos sugiere que en alguno de los casos de muertes en fuegos, el principal responsable de la intoxicación es el gas cianhídrico, siendo el monóxido de carbono un simple coadyuvante de la misma, si bien en la mayor parte de los sucesos en los que la muerte es imputable a una intoxicación por gases de combustión, se aprecia que suele ser como consecuencia de la acción conjunta de ambos gases.

Los niveles altos de cianuro se encuentran de forma puntual y aleatoria, y no se presentan en los casos en los que los porcentajes de carboxihemoglobina son menores de 5%, indicándonos que dichos casos corresponden probablemente a situaciones en las que la muerte se produjo de forma rápida a consecuencia de las llamas ó de otras causas traumáticas ó patologías asociadas y sí se presentan ocasionalmente asociados a niveles de COHb de entre 5 % y 50%.

Al margen de este hecho, no se aprecia una correlación entre los niveles de COHb y las concentraciones de ión cianuro detectadas y así para casos en que se presentan los mismos porcentajes de carboxihemoglobina, las concentraciones de ión CN encontradas pueden ser muy diferentes, lo que nos indica que las concentraciones encontradas en cada caso dependerán de la composición química de los materiales que hayan ardiendo y por tanto de si éstos eran generadores de gas cianhídrico como sucede con

algunos de los materiales sintéticos utilizados en la construcción y en la vestimenta [8]. Esto puede producir confusión en algunas situaciones dado que incluso la posición relativa de las víctimas con respecto a estos materiales puede dar lugar a diferentes resultados para dos ó mas personas que se encontraban en una misma estancia. En revisiones sobre los tóxicos encontrados en sucesos relacionados con fuegos, así como de las lesiones sufridas por las víctimas [9,10] se observan algunas de las tendencias aquí descritas, aunque no se hace referencia al carácter aleatorio que para las concentraciones de ión cianuro hemos encontrado en este trabajo.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a M<sup>a</sup> Dolores Martínez, y a Carolina Sánchez de la Torre su ayuda en la elaboración de los datos contenidos en este trabajo. Asimismo agradecen a Celia Acedo y José Azparren su participación en la realización de algunos de los análisis. También agradecemos la colaboración de todos aquellos que con su trabajo callado y diario han contribuido a que este trabajo se haya podido realizar, así como al Director del Departamento de Madrid del Instituto de Toxicología, Manuel Sancho, quién con su apoyo e interés lo ha hecho posible.

## Bibliografía

1. Valcarce F, Gómez J (2001) Muertes relacionadas con incendios en el periodo 1991-2000, analizadas en el I. de Toxicología de Madrid. XIV Congreso Español de Toxicología. Murcia. Rev Toxicol 18/3. 192.
2. Gómez J, Valcarce F (2001) Intoxicaciones por monóxido de carbono en el periodo 1991-2000, analizadas en el I. de Toxicología de Madrid. XIV Congreso Español de Toxicología. Murcia. Rev Toxicol 18/3. 187.
3. Rodkey FL, Hill TA, Pitts LL, Robertson RF (1979) Spectrophotometric measurement of carboxyhemoglobin and methemoglobin in blood. Clin Chem 25/8. 1388-1393.
4. Valcarce F (1998) Análisis espectrofotométrico de carboxihemoglobina en sangre. X Congreso Latinoamericano de Toxicología. La Habana. An Congreso. 53.
5. Rodkey FL, Collison HA (1977) Determination of Cyanide and nitroprusside in blood and plasma. Clin Chem 23/11. 1969-1975.
6. Ortega M, Vallejo E (1966) Datos referentes a la investigación toxicológica de cianuros. An R Academia de Farmacia 4-5. 479-487.
7. Maeda H, Fukita K, Oritani S, Ishida K, Zhu B (1997) Evaluation of post-mortem oxymetry with reference to the causes of death. Forensic Sci Int 87. 201-210.
8. Ballantyne B (1987) en Clin. & Exp. Toxicology of Cyanides. Ed. Wrigth. U.K. 248-291.
9. Iwasaki Y, Yashiki M, Kojima T, Miyazaki T (1998) Interpretation of accelerants in blood cadavers found in the wreckage after fire. Am J Forensic Med Pathol 19. 80-86.
10. Gerling I, Meissner C, Reiter A, Oehmichen M (2001) Death from thermal effects and burns. Forensic Sci Int 115. 33-41.

# Hiperamoniemia secundaria a intoxicación aguda por ácido valproico

García D, Nogué S, Sanjurjo E y Espígol G

Área de Vigilancia Intensiva y Unidad de Toxicología Clínica, Hospital Clínic, Barcelona

Recibido 2 de Mayo de 2002 / Aceptado 3 de Junio de 2002

**Resumen:** Se presenta el caso de una mujer que ingirió 30 g de ácido valproico, entre otros psicofármacos, en una tentativa de suicidio. La intoxicación se caracterizó por el coma profundo, con hiperamoniemia (54  $\mu\text{mol/L}$ ) y una elevada concentración en sangre de ácido valproico (235  $\mu\text{g/mL}$ ). Aunque el curso clínico se complicó con una neumonía por aspiración, la paciente evolucionó favorablemente. Se discute el mecanismo por el que se produce la hiperamoniemia en este tipo de intoxicación.

**Palabras clave:** Ácido valproico. Hiperamoniemia.

**Abstract: Hyperammonemia secondary to acute intoxication with valproic acid.** We present the case of a woman who ingested 30 g of valproic acid, plus other psychoactive drugs, in a suicide attempt. The intoxication was characterized by a deep coma, with hyperammonemia (54  $\mu\text{mol/L}$ ) and elevated blood levels of valproic acid (235  $\mu\text{g/mL}$ ). Although the clinical course was complicated by pneumonia due to aspiration, the patient evolved favourably. The mechanism that produces hyperammonemia in this type of intoxication is discussed.

**Key words:** Valproic acid. Hyperammonemia.

## Introducción

La hiperamoniemia puede estar presente tanto en los tratamientos crónicos como en las intoxicaciones agudas por ácido valproico, y puede ser responsable de un cuadro de encefalopatía similar a la de origen hepático en ausencia de insuficiencia hepatocelular [1-3]. Se presenta un caso de hiperamoniemia por intoxicación aguda con ácido valproico, describiendo los mecanismos fisiopatológicos que conducen a un aumento del amonio, así como el posible papel terapéutico de la carnitina tanto en las intoxicaciones agudas como, en forma de suplemento dietético, en los tratamientos crónicos.

## CASO CLÍNICO

Una mujer de 46 años, ingresa en el Área de Vigilancia Intensiva de nuestro Hospital trasladada desde otro centro por ingesta, con

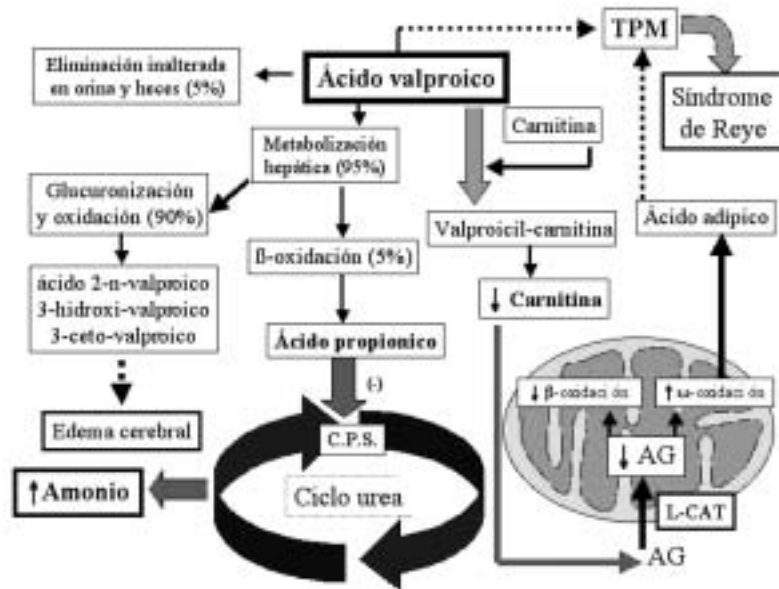
intencionalidad suicida, de 30 g de ácido valproico, 9 g de gabapentina, 90 mg de clonazepam y 120 mg de risperidona. La paciente estaba diagnosticada de un trastorno bipolar de tipo 2 y había sido tratada previamente con litio y carbamacepina, sin buenos resultados, desarrollando un hipotiroidismo atribuido al litio y que precisaba tratamiento sustitutivo con 75  $\mu\text{g}$  al día de levotiroxina. Actualmente estaba en tratamiento con gabapentina, valproato, clonazepam, risperidona y venlafaxina. Había realizado previamente dos intoxicaciones medicamentosas de tipo suicida.

La paciente realiza la sobreingesta de los fármacos ya mencionados e informa a la familia, que relata un cuadro de vómito precoz con salida de comprimidos. Fue llevada a otro Hospital donde se practicó un lavado gástrico sin que se observase la salida de restos de pastillas, manteniéndola en observación sin administrar carbón activado. Somnolienta inicialmente, presenta una disminución progresiva del nivel de conciencia hasta el coma profundo, por lo que se inicia una perfusión con flumazenilo y suero bicarbonatado; para proteger la vía aérea, se decide la intubación orotraqueal y la conexión a ventilación mecánica, trasladándose a continuación a nuestro Hospital. A su llegada se encontraba estable hemodinámicamente, con pupilas mióticas y en coma con una puntuación de 7 en la escala de Glasgow, sin signos de focalidad neurológica. Los resultados analíticos iniciales fueron normales a excepción de una acidosis mixta, respiratoria y metabólica (lactato 25 mg/dL; v.n.: < 22 mg/dL) con hipoxemia secundaria a una neumonía por aspiración bibasal. Los niveles séricos de valproato fueron de 235  $\mu\text{g/mL}$  (v.n.: 40-100  $\mu\text{g/mL}$ ) y se objetivó una rabdomiolisis leve (CPK 1.227 UI/L; v.n.: 30-140 UI/L) sin repercusión en la función renal. Los niveles de amonio eran de 54  $\mu\text{mol/L}$  (v.n.: 9-33  $\mu\text{mol/L}$ ), siendo la función hepática normal. Se realizó un tratamiento de soporte y antibioticoterapia con amoxicilina-ácido clavulánico, evolucionando favorablemente, siendo extubada a las 36 h y dada de alta hacia una sala de hospitalización general a los 4 días de su ingreso, con posterior traslado a su domicilio sin ningún tipo de secuelas.

## Discusión

La hiperamoniemia en las intoxicaciones por ácido valproico se debe a una disminución del ciclo de la urea por inhibición de la carbamil fosfato sintetasa tipo I por parte del ácido propiónico [4-6], que es un metabolito del ácido valproico (figura 1). Por otro lado, el valproico se une a la carnitina formando valproicil-carnitina, que es eliminada por orina [5]. La falta de carnitina

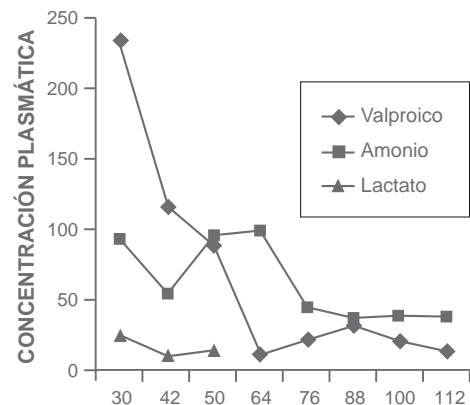
Correspondencia: Dr. Santiago Nogué, Área de Vigilancia Intensiva, Hospital Clínic, C/ Villarroel 170, 08036 Barcelona. Fax: 93-2275693. e-mail: snogue@clinic.ub.es.



**Fig. 1 . Metabolismo del ácido valproico y sus implicaciones fisiopatológicas.**  
 TPM.: Translocación de la permeabilidad mitocondrial; AG: Ácidos grasos.  
 C.P.S.: Carbamil-fosfato sintetasa tipo I; L-CAT: L-carnitin-aciltransferasa tipo I.

interfiere en la capacidad de la L-carnitin-aciltransferasa I para transportar los ácidos grasos hacia el interior de la mitocondria del hepatocito, lo que secundariamente inhibe la β-oxidación y estimula la ω-oxidación, cuyo resultado final son los ácidos adipico y subérico [7,8]. Estos ácidos, junto con el propio valproico, han sido recientemente implicados en un mecanismo de disrupción mitocondrial denominado translocación de la permeabilidad mitocondrial y que se traduciría en un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y en la aparición de un cuadro análogo al Síndrome de Reye [9]. Se ha postulado además, que el ácido 2-n-valproico, un metabolito activo del valproico, se acumularía en el SNC y sería el responsable del edema cerebral descrito en estas intoxicaciones [5]. En el caso que nos ocupa, se midieron las concentraciones plasmáticas de ácido valproico y de amonio cada 12 h (figura 2), observando una relación directa entre ambas concentraciones, aunque decalada en el tiempo, lo que interpretamos como una consecuencia de la metabolización del valproico hacia el ácido propiónico, metabolito que no pudo ser cuantificado analíticamente. No se ha demostrado que los otros fármacos que la paciente tomó en su tentativa de suicidio interfirieran metabólicamente con el valproato, por lo que atribuimos a éste la presencia de la hiperamonemia y el cuadro de coma. La hiperlactacidemia y la acidosis metabólica podrían deberse también a un efecto directo de las elevadas concentraciones de ácido valproico [10].

Diversos autores han señalado la posibilidad de utilizar la carnitina como suplemento dietético durante el uso prolongado de ácido valproico o en las intoxicaciones agudas, para compensar los efectos deletéreos del ácido propiónico sobre el metabolismo de los ácidos grasos, pero no hay estudios controlados que discernan la verdadera trascendencia y utilidad de esta terapéutica. Consideramos de interés la determinación rutinaria del ión amonio en los intoxicados con valproico y disminución del nivel de conciencia, así como también en los pacientes tratados de mane-



**Fig. 2 . Evolución (en horas posteriores a la ingesta) de la concentración plasmática de ácido valproico (vn: 40-100 µg/mL), amonio (vn:9-33 µmol/L) y lactato (vn: 0-22 mg/dL).**

ra crónica con valproato y que presenten una merma en sus funciones cognitivas superiores, especialmente si la concentración de ácido valproico se encuentra en el rango terapéutico o si el individuo está en tratamiento con otros agentes anticonvulsivantes, como la fenitoína o el fenobarbital, ya que estos fármacos podrían incrementar la concentración de los metabolitos del ácido valproico o inhibir directamente el metabolismo hepático del amonio [4, 5].

### Bibliografía

- Duarte J, Macias S, Coria F, Fernandez E, Claveria LE (1993). Valproate-induced coma; case report and literature review. *Ann Pharmacother* 27:582-583.
- Rawat S, Borkowski WJ, Swick HM (1991). Valproic acid and secondary hyperammonemia. *Neurology* 31:1173-1174.



3. Wen-Ling L, Chen-Chang Y, Jou-Fang D, *et al.* (1998). A case of severe hyperammonemia and unconsciousness following sodium valproate intoxication. *Vet Hum Toxicol* 40:346-348.
4. Blindauer KA, Harrington G, Morris GL, *et al.* (1998). Fulminant progression of demyelinating disease after valproate induced encephalopathy. *Neurology* 51:292-295.
5. Doyon S (1998). Anticonvulsivants. En: Goldfrank L, Flomenbaum N, Lewin N, Weisman R, Howland M, Hoffman R. *Goldfrank's Toxicologic Emergencies*. Appleton & Lange, Stamford (Connecticut, USA), 689-701.
6. Normann S, Speranza V, Gaar G (2001). Valproate and selected newer anticonvulsivants. En: Ford M, Delaney K, Ling L, Erickson T. *Clinical Toxicology*. W. B. Saunders Company, Philadelphia (Pennsylvania, USA), 493-497.
7. Murakami K, Sugimoto T, Woo M, Nishida N, Muro H (1996). Effect of L-carnitine supplementation on acute valproate intoxication. *Epilepsia* 37:687-689.
8. Seger D (1998). Anticonvulsants. En: Haddad L, Shannon M, Winchester J. *Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose*. W. B. Saunders Company, Philadelphia (Pennsylvania, USA), 655-663.
9. Trost LC, Lemasters JJ (1996). The mitochondrial permeability transition: a new pathophysiological mechanism for Reye's syndrome and toxic liver injury. *J Pharmacol Exp Ther* 278:1000-1005.
10. Dumoulin A, Lapostolle F, Adnet F, *et al.* (1997). Acidose et hyperlactatémie lors des intoxications aiguës par le valproate de sodium. *Presse Med* 26:555-557.

## Intoxicación por administración parenteral de insecticidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos

Boluda FJ, Nogué S, Martínez-Pérez J\* y Muñoz E\*\*

Unidad de Toxicología Clínica. Hospital Clínic. Barcelona

\*UCI y \*\*Servicio de Cirugía. Hospital Mútua de Terrassa. Terrassa

Recibido 2 de Mayo de 2002 / Aceptado 1 de Agosto de 2002

**Resumen:** La intoxicación por vía parenteral debida a insecticidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos, es muy poco frecuente. La toxicidad comporta efectos locales y sistémicos que pueden llegar a comprometer la vida del paciente. Se presenta el caso clínico de un varón que desarrolló una importante reacción local necrótico-inflamatoria, con leve afectación sistémica hepática y renal, tras administrarse los mencionados productos por vía parenteral en una tentativa de suicidio.

**Palabras clave:** Intoxicación por organoclorados. Intoxicación por hidrocarburos. Celulitis química.

**Abstract:** Intoxication due to injection of organochlorines and aromatic hydrocarbons. Intoxication due to injection of organochlorines and aromatic hydrocarbons is highly unusual. The toxic effects may be local and systemic and can be life-threatening. We present the case of a man who suffered a severe local necrotic-inflammatory reaction with slight hepatic and renal involvement.

**Key words:** Organochlorine intoxication. Hydrocarbon intoxication. Chemical cellulitis.

### Introducción

La intoxicación por vía parenteral con insecticidas organoclorados e hidrocarburos es muy poco frecuente, pero no tanto por el tipo de tóxico sino por la vía de exposición. Presentamos un caso singular, en el que tras la administración parenteral de los mencionados tóxicos, el paciente presentó un cuadro clínico que quedó restringido a una importante reacción local necrótico-inflamatoria con leve repercusión hepática, muscular y renal.

### CASO CLÍNICO

Un varón de 40 años fue remitido al Servicio de Urgencias tras realizar un intento de suicidio unas 11 horas antes, al tratar de

inyectarse por vía intravenosa en el antebrazo izquierdo 6 ml de un insecticida en cuya composición estaban presentes organoclorados (16% de dicofol y 6% de tetradifón) e hidrocarburos aromáticos (xileno y ciclohexano). El paciente tenía antecedentes de un trastorno de la personalidad, con otra tentativa autolítica previa hacía unos 10 años.

A su ingreso estaba consciente, orientado, afebril, normotenso, eupneico en reposo y con frecuencia cardíaca normal. Presentaba buena hidratación de piel y mucosas y la exploración física por aparatos era estrictamente normal a excepción de una discreta reacción local inflamatoria en la zona de la inoculación, con edema, eritema, aumento de temperatura local y dolor a la palpación en el antebrazo izquierdo. Se indicó tratamiento local con agua de Burow, antiinflamatorios (diclofenaco) y antibióticos (amoxicilina-ácido clavulánico) por vía parenteral. En horas posteriores, estos signos flogóticos fueron empeorando, apareciendo febrícula hasta un máximo de 38,4 °C.

En los controles analíticos realizados diariamente, destacó la aparición inicial de una rabdomiólisis (CK 678 UI/L), resuelta al tercer día de ingreso, y el desarrollo transitorio de un patrón citolítico y colestásico hepático con valores máximos de GOT 73 UI/L, GPT 88 UI/L y GGT 201 UI/L, siendo la bilirrubina total y las fosfatasas alcalinas normales. Se observó también una leucocitosis y neutrofilia junto a una discreta alteración de la función renal, con creatinina máxima de 1.6 mg/dL (Tabla 1). El resto de parámetros bioquímicos, hemostáticos y hematológicos, incluyendo el equilibrio ácido-base, permanecieron rigurosamente normales. Un último control analítico realizado 21 días después del intento autolítico, mostraba una normalización absoluta de todos los parámetros alterados.

En relación al cuadro local de celulitis química, evolucionó tórpidamente con progresión de la reacción inflamatoria en todo el brazo, acompañada de parestesias en el antebrazo y primer dedo de la mano izquierda; finalmente desarrolló un absceso en la zona de la inoculación que se desbridó, extrayéndose 250 mL de un líquido amarillento y cremoso, de aspecto purulento y olor aromático, que ocupaba el antebrazo y parte del brazo a nivel del espacio entre bíceps y tríceps braquial. Durante el desbridamiento, se observó necrosis de la grasa subcutánea con preservación de fascias y músculos. El estudio microscópico del líquido extraído no mostró gérmenes, leucocitos ni restos celulares; el cultivo también fue negativo, por lo que se descartó la naturaleza infecciosa de dicho líquido. No se envió muestra para su

Correspondencia: Dr. Santiago Nogué, Unidad de Toxicología Clínica, Hospital Clínic. C/ Villarroel 170, 08036 Barcelona. Fax: 93-2275693. snogue@clinic.ub.es.

**Tabla 1.** Evolución de los parámetros analíticos durante los 21 días posteriores a la administración de los tóxicos.

Día	GOT UI/L	GPT UI/L	GGT UI/L	CK UI/L	Creatinina mg/dl
+1	27			678	1.2
+2	22			347	1.0
+3	73	81	100	122	1.6
+4		88	146	119	0.8
+5		87	201	71	0.9
+7	51			49	0.86
+9	34	86	132		1.08
+12	20	65	117	82	1.05
+21	12	23	41	76	0.9

análisis bioquímico ni anatómopatológico. Al décimosegundo día el aspecto del antebrazo había mejorado, pero persistía una zona de edema en el trayecto de la vena mediana basílica, por lo que se decidió practicar una ecografía que descartó la trombosis de dicha vena. La evolución posterior de la herida quirúrgica fue muy favorable con una resolución total, aunque persistían las parestesias en el primer dedo. Fue dado de alta asintomático a los 36 días de la inyección.

## Discusión

La intoxicación por vía parenteral con insecticidas o hidrocarburos es muy poco frecuente, ya que sólo hemos encontrado 4 referencias bibliográficas. La composición del producto inyectado, como se ha comentado en la descripción del caso clínico, era de insecticidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos, éstos últimos utilizados como disolventes por la liposolubilidad de los primeros.

Los organoclorados son unas sustancias orgánicas empleadas desde hace muchos años como insecticidas y que debido a su importante acumulación medioambiental y en el ser humano (fijación a tejidos grasos, metabolismo hepático muy lento, semividas de eliminación de varias semanas a varios meses), han sido actualmente relegados a un uso muy restringido por sus efectos nocivos a largo plazo, decidiendo incluso la prohibición de alguno de ellos, como el DDT (diclorodifeniltricloroetano), el endrín y otros. Su principal órgano diana es el SNC, provocando cuadros de cefalea, alteraciones visuales, vértigo, confusión, temblor, mioclonias, convulsiones y coma. Esta neurotoxicidad está condicionada por el aumento en la excitabilidad de las membranas neuronales, al interferir los transportes de sodio y potasio.

La inyección subcutánea o intramuscular de hidrocarburos produce una reacción inflamatoria con necrosis tisular local, y donde la compresión vascular, nerviosa o tendinosa son posibles [1]. Hay que hacer hincapié en que las manifestaciones iniciales son discretas y que precisan siempre de una valoración quirúrgica, ya que la abscesificación con producción de un material de aspecto purulento pero estéril, es frecuente [2]. De hecho, la fasciotomía y la descontaminación por vía quirúrgica son a menudo necesarias [3].

En nuestro caso, el intento de administración intravenosa acabó en una inyección subcutánea, lo que debió provocar una necrosis de la grasa; el material obtenido tras el desbridamiento podía ser la licuefacción de la grasa subcutánea, extremo que no se pudo comprobar al enviar la muestra sólo al laboratorio de Microbiología. Si la inyección del hidrocarburo se hubiese producido por vía intravenosa, se habría acompañado de fiebre más elevada, pudiendo incluso llegar a provocar un edema agudo de pulmón no cardiogénico [4]. Con respecto a las alteraciones analíticas presentadas (rabdomiólisis, afectación hepática y renal), pueden ser atribuidas a una acción tóxica tanto de los organoclorados como de los hidrocarburos [5,6,7].

La administración parenteral de insecticidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos comporta unos efectos tóxicos locales y sistémicos potencialmente graves, que justifican un seguimiento estrecho de estos pacientes en los días subsiguientes por el riesgo de complicaciones.

## Bibliografía

1. Bismuth C, Baud F, Conso F, Dally S, Frejaville J-P, Garnier R., Jaeger A (2000) Toxicologie Clinique. Flammarion Médecine-Sciences. Paris. pp1092-1093.
2. Goldberg LH, Shupp D, Weitz HH et al (1982) Injection of household spray insecticide. *Ann Emerg Med* 11. 626-629.
3. Mark T, Buchman MD (2000) Upper extremity injection of household insecticide: A report of five cases. *J Hand Surg* 25A. 764-767.
4. Sevcik P, Hep A., Peslova M (1992) Intravenous xylene poisoning. *Intensive Care Med* 18. 377-378.
5. Stipetic ME, Hobbs GD (1998) Multi-system failure in a suicidal chlordane ingestion. A case report. *J Toxicol Clin Toxicol* 36. 467.
6. Garcia M., Mourelle M (1984) Gamma-glutamyl transpeptidase: a sensitive marker in DDT and toxaphene exposure. *J Applied Tox* 4. 246-248.
7. Grimmett WG, Dzendolet I., Whyte I (1996) Intravenous thiodan (30% endosulfan in xylene). *J Toxicol Clin Toxicol* 34. 447-452.

# GRUPO DE TRABAJO ESPECIALIZADO EN MÉTODOS ALTERNATIVOS (GTEMA)

BOLETIN GTEMA # 26 2002

Grupo de Trabajo Especializado en Métodos Alternativos. Http: <http://tox.umh.es/aet/Grupos/gtema>

Edita: Guillermo Repetto, Instituto Nacional de Toxicología, Apdo Postal 863, 41080 Sevilla, Email: [repetto@sev.inaltox.es](mailto:repetto@sev.inaltox.es)

## 1 PROMOCION DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

- La Comisión Europea aboga por coordinar la búsqueda de alternativas a la experimentación animal. El comisario europeo de Investigación y Ciencia, Philippe Busquin, abogó en una reunión en julio en Bruselas (DG Research+JRC meeting) ante investigadores, autoridades, reguladores, representantes de la industria y organizaciones no gubernamentales, por coordinar esfuerzos en el desarrollo de métodos que reduzcan, sustituyan o disminuyan el impacto de la experimentación con animales. Busquin subrayó la necesidad de actuar con urgencia, ya que las recientes reformas en las regulaciones europeas sobre cosméticos y sustancias químicas pueden multiplicar la demanda de tests con animales en los próximos años. Así, el nuevo reglamento sobre registro, evaluación, autorización y restricción de productos químicos obliga a evaluar de aquí al 2012 cerca 30.000 sustancias, lo que obligará a sacrificar a “millones de animales” en experimentos, si no se desarrollan otras soluciones.
- El primer borrador del VI Programa Marco ya está disponible en internet. En el programa de prioridades figura el desarrollo de nuevos ensayos in vitro que sustituyan la experimentación animal. Se dá prioridad a los ensayos suficientemente maduros para entrar en fase de validación, por lo que se requiere que la obtención de resultados cumpla con lo exigido para ésta (BPL y PNTs). <http://www.cordis.lu/fp6/eoi-analysis.htm#pdf>.
- Se ha convocado la concesión de Ayudas para la realización de Proyectos de I+D en el marco de algunos programas del Plan Nacional de Investigación científica y desarrollo tecnológico (BOE 31-10-02). El plazo para la presentación de los proyectos de I+D termina el próximo día 3 de diciembre de 2002.
- La nueva estrategia de la CE en este campo persigue reestudiar los riesgos de las sustancias químicas existentes y fijar un nuevo sistema de registro, evaluación y autorización mediante un procedimiento gradual de análisis hasta el año 2012. Sin embargo, se calcula que este nuevo control obligará a usar unos 17 millones de animales en los próximos 10 años. La experimentación afectaría a la mayor parte de los sectores químicos (detergentes y limpieza en el hogar, pinturas o las petroquímicas).
- Está disponible el documento correspondiente la decisión del Parlamento Europeo por el que se ha adoptado el nuevo programa de Salud Pública para 2003-2008: Entre otros puntos contiene un apartado que puede interesar a los implicados en programas de toxicovigilancia y cuestiones de emergencias. El punto 2.2 dice: “2.4. intercambiando información relativa a estrategias destinadas a contrarrestar los riesgos sanitarios provocados por factores físicos, químicos o biológicos en situaciones de emergencia, incluidos los relacionados con los actos terroristas, y desarrollando o utilizando, cuando proceda, planteamientos y mecanismos comunitarios” [http://europa.eu.int/comm/health/ph/eu\\_action/eu\\_action01\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/health/ph/eu_action/eu_action01_en.html).
- La Comisión Europea adoptó el pasado 4 de julio una serie de propuestas cuyo objetivo es reducir la exposición ambiental y humana a los pesticidas agrícolas. El documento tiene carácter consultivo y pueden efectuarse sugerencias hasta el próximo día 30 de noviembre de 2002. <http://europa.eu.int/comm/environment/ppps/home.htm>.
- Nuevo acceso directo a todos los documentos disponibles sobre sustancias europeas existentes (HPVCs, LPVCs, lista EINECS, sustancias prioritarias, borradores de evaluación del riesgo, informes finales, resúmenes, diarios oficiales, etc, a través de ESIS (Existing Substances Information System). <http://ecb.jrc.it/ESIS>.

## 2 LIBRO BLANCO DE COMPUESTOS y OTROS

- La Comisión Europea ha elaborado una nueva estrategia para reevaluar los efectos ambientales y sobre la salud de las sustancias comportará una intensificación de los experimentos con animales, según los grupos defensores de los animales. De los 30.000 productos químicos que hay en la Unión Europea, unos 25.000 deberán ser evaluados mediante ensayos con animales vivos, mientras que para el resto se podrán usar técnicas alternativas.

## 3 ENSAYO DE COSMÉTICOS EN ANIMALES

- La Unión Europea se acercó en noviembre a un acuerdo para prohibir a partir de 2009 el uso de animales para evaluar Cosméticos. El compromiso de los gobiernos europeos impediría también la importación de productos externos ensayados en animales.

- De hecho el Parlamento Europeo exigió que se aplicara la Directiva de prohibición de comercialización de cosméticos experimentados sobre animales, que debería haber entrado en vigor el pasado 1 de julio de 2002. En una Resolución del 24/9, la Eurocámara acusó al Ejecutivo europeo de incumplir el derecho comunitario al plantear la posibilidad de un nuevo aplazamiento para esta normativa, con el fin de lograr un nuevo acuerdo entre las instituciones comunitarias. En nombre de la comisión de Medio Ambiente, Salud Pública y Política del consumidor, Dagmar Roth-Benhrendt, manifestó en presencia de la comisaria de Medio Ambiente, Margot Wallstrom, que la Comisión está con este comportamiento “violando el Tratado” de la UE, por lo que amenazó con “recurrir al Tribunal de Justicia si es preciso.
- La prohibición de comercialización de productos cosméticos terminados testados sobre animales contempla, no obstante, que los ingredientes podrían seguir siendo comercializados hasta que hubiera métodos de ensayo alternativos aceptados por el ECVAM y la OCDE, lo cual significa que la medida tendrá un efecto limitado.
- Aunque en principio debía entrar en vigor la prohibición definitiva en el territorio de los Estados miembros a partir de julio de 2002, el temor a problemas en el seno de la Organización Mundial del Comercio (OMC) llevaron a los Quince a un acuerdo condicionado a la existencia de otros tipos de pruebas.

#### 4 ENSAYOS IN VITRO

Comercialización de un ensayo de pirógenos: Charles River Laboratories, comercializa el ensayo desarrollado y patentado por Thomas Hartung y Albrecht Wende, que consiste en un ELISA que emplea sangre humana para detectar pirógenos [http://www.criver.com/products/invitro/endotoxin/pdf/IPT\\_sheer.pdf](http://www.criver.com/products/invitro/endotoxin/pdf/IPT_sheer.pdf).

#### 5 DERECHOS DE LOS ANIMALES

- Alemania acaba de dar un paso histórico ya que ha reformado su Constitución para introducir una enmienda según la cual el Estado tiene la obligación de velar por la protección de los animales. Es el primer país de la UE que incluye de forma explícita en su carta magna los derechos de los animales.
- El Parlamento Holandés ha cerrado el probablemente último laboratorio europeo con chimpancés tras una campaña en su contra de la Coalición para el fin de los experimentos con chimpancés en Europa. Los animales serán enviados a diversos lugares, incluyendo Alicante.
- El Comité Científico Asesor de la Dirección General Sanco (Salud y Protección de los consumidores) de la Comisión Europea ha emitido un comunicado indicando su preocupación sobre las implicaciones que podría tener la desaparición de los centros de investigación con primates no humanos.

#### 6 ACTIVIDADES DE ECVAM

- Tras la finalización de su contrato, el pasado mes de junio se retiró como Director del Centro Europeo para la Validación de

Métodos Alternativos (ECVAM) el Prof. Michael Balls, que seguirá activo desde la Fundación para la Sustitución de los Animales en la Experimentación Biomédica (FRAME) en Gran Bretaña.

- El 1 de octubre se ha incorporado como nuevo Director (con categoría de Jefe de Unidad), el Dr. Thomas Hartung que procede de la Universidad de Konstanz en Alemania, y que ha intervenido en programas de validación de ECVAM. Sin duda alguna su actuación será decisiva en el ritmo de validación e incorporación de nuevos procedimientos toxicológicos regulados.
- Se ha publicado el ECVAM Task Force Report. Good cell culture practice task force report 1. T. Hartung, M. Balls, C. Bardouille, O. Blanck, S. Coecke, G. Gstraunthaler & D. Lewis ATLA 30(4).
- Asimismo, presenta gran interés el informe global titulado “Alternative (non-animal) methods for chemical testing: current status and future prospects”, Worth AP, Balls M (2002) ATLA 30 Supp 1 <http://ihcp.jrc.it/Activities/ACTIndex.html>.

#### 7 ACTIVIDADES DE ICCVAM (USA)

Están disponibles varios informes:

- ICCVAM Evaluation of EPISKIN, EpiDerm (EPI-200), and the Rat Skin Transcutaneous Electrical Resistance (TER) Assay - In Vitro Test Methods for Assessing the Dermal Corrosivity Potential of Chemicals (NIH Publication 02-4502, June 2002), <http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/epidocs/cwgfina/cwgfina.pdf>.
- Nota de prensa del IPCS (The International Programme on Chemical Safety, de la Organización Mundial de la Salud), “Endocrine Disrupting Chemicals: New Publication Shows Need For Further Research,” [http://www.who.int/pcs/emerg\\_site/edc/pub\\_notice.html](http://www.who.int/pcs/emerg_site/edc/pub_notice.html).
- “Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors” (WHO/PCS/EDC/02.2). [http://www.who.int/pcs/pcs\\_new.html](http://www.who.int/pcs/pcs_new.html).
- “The Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) Expert Panel Report on the Current Status of In Vitro Test Methods for Detecting Endocrine Disruptors” <http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/endodocs/final/panelrpt.pdf>.
- The ICCVAM Endocrine Disruptor Working Group (EDWG) ha propuesto una lista de sustancias para la validación de métodos de cribado in vitro de disrupción endocrina [http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/endodocs/final/sub\\_list.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/endodocs/final/sub_list.pdf).

#### 8 ACTIVIDADES EN FARMATOXI

- En el area de trabajo compartido de la Comunidad Virtual de Farmacología y Toxicología –Farmatoxi se están llevando a cabo diversos proyectos (<http://farmatoxi.rediris.es/>):
- Los doctores Rimbau y Gallardo están coordinando diversas acciones en el Grupo de Trabajo nº 5 de Farmatoxi (Innova-

ción en la Docencia-Aprendizaje de Farmacología y Toxicología), particularmente sobre métodos de valoración toxicológica y farmacológica en sustratos vegetales.

- Otros aspectos relacionados con alternativas, como por ejemplo los de procedimientos a utilizar en el ensayo regulado de medicamentos, cosméticos, etc se tratan en la zona del Grupo 01 de Alternativas a la Experimentación animal.

## 9 REUNIONES

- 4º Congreso Mundial de Alternativas y uso de Animales en las Ciencias de la Vida se ha celebrado en Nueva Orleans (US) del 11 al 15 de agosto de 2002. El congreso no ha llegado al interés de las anteriores ediciones, aunque ha contado con unos 400 participantes. El intenso programa se desarrolló con seis sesiones simultáneas sobre los siguientes aspectos: alternativas de reducción y reemplazo; política y ética; alternativas de reducción y refinamiento; recursos en enseñanza e información; y desarrollo de ensayos, validación e implementación. Probablemente las sesiones sobre aspectos relacionados con la educación son las que han incluido temas más novedosos. La próxima edición del congreso tendrá lugar dentro de 3 años en Alemania.
- Algo más interesante resultó el INVITOX 2002, celebrado del 16-19 Octubre 2002, en Formia, Italia. Aunque se rompió la tradición de emplear lugares aislados, el workshop de la Sociedad Europea de Toxicología in vitro fue un excelente lugar para el encuentro y discusión científicos.
- La I Jornada Nacional de la Red Española de Métodos Alternativos se celebró en Madrid del 28-29 Octubre 2002 –Con el título “ Los Métodos Alternativos y la Estrategia Europea de Evaluación de Sustancias Químicas”. La participación de representantes de los Ministerios de Sanidad y Consumo, Medio Ambiente, y Agricultura, Pesca y Alimentación, así como de la industria y los consumidores permitió un abordaje global ante la nueva legislación que se avecina.
- Difusión de métodos alternativos en Brasil: Del 1 al 12 de julio de 2002, la Dra M<sup>a</sup> Pilar Vinardell de la Universitat de Barcelona, ha impartido un curso teórico-práctico con el título Avances en la reducción, refinamiento y reemplazo (3Rs) de animales de experimentación: Aplicación práctica en el Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica del Centro de Ciencias da Saude de la Universidade Federal de Santa María en Río Grande do Sud (Brasil). En dicho curso se hizo hincapié en el concepto de 3Rs y en especial en el reemplazo de animales de experimentación en ensayos toxicológicos. Así mismo se trató el concepto de validación de nuevos métodos alternativos y de la situación legal y práctica de estos nuevos métodos. Se pusieron a punto varias metodologías alternativas a estudios de irritación. El Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica de la Universidade Federal de Santa María, dirigido por el Dr Sergio Luiz Dalmora, tiene amplia experiencia en la determinación de pirógenos in vitro, mediante la determinación de interleuquinas. Durante la estancia de la Dra Vinardell se presentó una tesis de “mestrado” sobre el desarrollo y estandarización de cultivo celular para la determinación de pirógenos, participando, la Dra

Vinardell en la comisión examinadora. En un futuro próximo se empezarán a aplicar algunas de las técnicas que se impartieron durante el curso, con el fin de ampliar el desarrollo de métodos alternativos.

M<sup>a</sup> P. Vinardell

## 10 ENSEÑANZA

- El Colegio Americano de Cirujanos ha aprobado el uso de simuladores anatómicos humanos en lugar de animales vivos para el entrenamiento en el tratamiento en traumatizados <http://www.Simulab.com>).
- Según el Comité de Médicos por una Medicina Responsable de Canadá, el empleo de animales vivos está siendo sustituido en la facultades de Medicina de Canadá por diversos procedimientos alternativos, incluyendo los de realidad virtual.
- FROGUTS.COM Disección de una rana (<http://www.froguts.com>),
- The Virtual Anesthesia Machine. University of Florida Department of Anesthesiology <http://www.anest.ufl.edu/vam>
- Entrenamiento en experimentación animal: The Medical Research Service of the Department of Veterans Affairs <http://www.researchtraining.org/>.

## 11 REDUCCION Y REFINAMIENTO

- Las actas del ICLAS - CCAC International Symposium on Regulatory Testing and Animal Welfare (Quebec 2001) han sido publicadas en el Suplemento 43 del US Institute for Laboratory Animal Research (ILAR) (2002) [http://dels.nas.edu/ilar/jour\\_online.asp?id=jour\\_online](http://dels.nas.edu/ilar/jour_online.asp?id=jour_online).
- Varias organizaciones han urgido al Departamento de Agricultura norteamericano para que vuelva a colocar en su página web diversos documentos importantes sobre el empleo de animales en ensayos.
- Se han publicado las Nuevas directrices sobre el empleo de dióxido de carbono en la eutanasia de pequeños animales, United States National Institutes of Health Office of Laboratory Animal Welfare (OLAW), disminuyendo la cantidad de gas, y evitando introducir a los animales en cámaras que ya lo contengan. <http://www.hsus.org/ace/14735>.
- Según el Programa Nacional de Toxicología (US) NTP, el uso de ratones modificados genéticamente (GAMMs) para ensayos de carcinogenicidad puede disminuir el tiempo y número de animales. El NTP decide considerar ensayos con GAMMs en la batería de ensayos para evaluar carcinogenicidad. <http://ntp-server.niehs.nih.gov/Meetings/2002/NTPTransgenicStrategy3.pdf>.

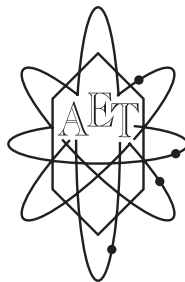
## 12 AGENDA

- Science in the Service of Animal Welfare, UFAW Symposium 2\_4 Abril 2003, Universidad de Edimburgo [scioff@ufaw.org.uk](mailto:scioff@ufaw.org.uk).
- XV Congreso Español de Toxicología, Valencia, 22 al 25 de Abril del 2003. <http://tox.umh.es/AET/index.htm>.

- 18th European Society for Animal Cell Technology ESACT meeting: Animal Cell Technology meets Genomics, Granada, 11-15 Mayo 2003, <http://www.esact.org>.
- Course on laboratory animal science, 12-23 Mayo 2003, Utrecht, The Netherlands, [pdk@las.vet.uu.nl](mailto:pdk@las.vet.uu.nl).
- Congress on in vitro biology, Portland, OR, USA, 31 Mayo-5 Junio 2003, <http://www.sivb.org>.
- CICTA 2003 Environmental problems in an Iberoamerican context 5th Iberian Congress and 2nd Iberoamerican on Environmental Contamination and Toxicology, Septiembre, <http://cimar.org/cicta2003/>.
- 41st Congress of the European Societies of Toxicology "Eurotox 2003", Florencia, Italia, 28 Septiembre -1 Octubre, 2003.
- 10<sup>th</sup> International congress of toxicology, 11-16 July 2004, Tampere, Finlandia, <http://www.uta.fi/fst>.

### 13 BOLETINES DEL GTEMA

Los boletines previos del Grupo de Trabajo Especializado en Métodos Alternativos están íntegramente disponibles en la página del GTEMA (<http://tox.umh.es/aet/grupos/gtema/>) en el apartado documentos.



**XV CONGRESO**

**TOXICOLOGÍA**

**ESPAÑOL DE**

Valencia, 22 al 25 de Abril de 2003

### Programa científico

El congreso constituye una excelente oportunidad para el intercambio de información entre todos aquellos científicos interesados en las diferentes ramas de la Toxicología. Versará sobre los aspectos fundamentales, progresos experimentales y aplicaciones de la Toxicología, y continuará con la tradición que tienen esta serie de Reuniones de constituir un foro para la presentación y debate de los avances científicos más recientes. El programa constará de conferencias plenarias y mesas redondas junto con exposiciones orales y de carteles que harán un especial énfasis en los recientes progresos, tanto teóricos como de todas las áreas de aplicación de la Toxicología.

Los temas incluidos, aunque no de manera restrictiva, serán los siguientes:

- ♦ Toxicología Experimental
- ♦ Métodos Alternativos
- ♦ Toxicología Molecular
- ♦ Toxicología Alimentaria
- ♦ Toxicología Ambiental/Ecotoxicología
- ♦ Toxicología Clínica
- ♦ Toxicología Forense
- ♦ Toxicología Laboral
- ♦ Toxicología Veterinaria

### Secretaría técnica

Laboratori de Bromatologia i Toxicologia  
Facultat de Farmàcia. Universitat de València  
Av. Vicent Andrés Estellés s/n  
46100 Burjassot, València, España

Tel.: (96) 3864958 - Fax: (96) 3864954  
E-mail: [m.jose.ruiz@uv.es](mailto:m.jose.ruiz@uv.es)  
[http:// www.uv.es/AETOX2003](http://www.uv.es/AETOX2003)

### Sede de la reunión y alojamiento

La reunión se celebrará en la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València, situada en el campus de Burjassot a 5 Km de la ciudad de Valencia y a 3 Km del aeropuerto, lugar fácilmente accesible en metro y bus.

Se dispondrá de una amplia oferta de alojamiento para los congresistas en colegios mayores y hoteles de distintas categorías en la ciudad de Valencia.

### Viajes y alojamiento

Tic-Tac Tours  
Avd. Blasco Ibáñez 51 B  
46021 Valencia

Tel. 963 69 41 22  
Fax. 963 69 42 10  
E-mail: [tictactours@terra.es](mailto:tictactours@terra.es)

Reserva de alojamiento **antes del 1 de marzo.**



## REVISIÓN DE LIBROS (Book Reviews)

### Fundamentos de Ciencia Toxicológica

José Bello Gutiérrez y Adela López de Cerain Salsamendi

23,74 Euros IVA incluido.

Rústica 17x24 cm, 700 gr, 368 páginas

I. S.B.N. 84-7978-472-5. Editorial Díaz de Santos

En la Revista de Toxicología 18 (2): 130 (2001) se publicó la reseña de la obra *Fundamentos de Ciencia Toxicológica*; ahora de nuevo se nos ha enviado un ejemplar para hacer una reseña y lo único que ha cambiado en la citada obra es la Nota de los Autores, que deseo reproducir por su interés aclaratorio, y a petición de sus autores los Profesores José Bello y Adela López de Cerain:

“Esta obra corresponde a los *Apuntes de Clase* utilizados por los alumnos de las Licenciaturas de Farmacia, Biología, Química y Bioquímica, que han cursado la disciplina de *Toxicología General*, bajo nuestra enseñanza durante los cuatro últimos años.

Estos *Apuntes de Ciencia Toxicológica* se han venido gestando a lo largo de 20 años, en tanto que la disciplina se impartía a los alumnos de la Licenciatura de Farmacia. Durante varios cursos, las explicaciones de clase han tenido como base principal el excelente texto del Prof. Manuel Repetto, *Toxicología Fundamental*, que edita Díaz de Santos, y que figura como libro de referencia en la bibliografía de consulta incluida al final de estos *apuntes*.

Algunos de los temas aquí tratados han sido desarrollados de acuerdo con los conocimientos toxicológicos aportados por el Profesor Repetto en su libro, a quien los autores quieren expresar su profundo agradecimiento y admiración”.

Creo que es de gran interés el reproducir este tipo de *Nota de los Autores* que engrandecen tanto al citado como a sus autores.

Eduardo de la Peña de Torres  
Editor Adjunto

La obra de los Profesores del Departamento de Bromatología, Tecnología de los Alimentos y Toxicología de la Universidad de Navarra es un tratado de introducción a la Toxicología General, dirigida tanto a los alumnos como a todo Profesor que desee poseer un texto válido de consulta general.

Los temas, desde un principio, se van tratando con suficiente y progresiva profundidad, no olvidando los nuevos conceptos y vocabularios que se están imponiendo en determinados temas, no tan bien tratados por parecer marginales; me refiero precisamente a los capítulos dedicados a la Fase Toxodinámica de todo fenómeno tóxico.

Hay pocos tratados de Toxicología General de autores españoles. Sí se dispone de tratados generales traducidos, muy buenos, pero que resultan hoy día un poco obsoletos. Sin que hayan perdido su valor inicial, muchas veces, por parecer viejos, se agradece disponer de un nuevo tratado con una magnífica y racional presentación en sus apartados correspondientes.

Prof. M<sup>a</sup> C. de la Torre Boronat  
Dpto. de Nutrición y Bromatología  
Facultad de Farmacia. Barcelona

## PRÓXIMOS CONGRESOS

- 9-13 marzo, 2003, Salt Lake City, Utah, USA  
**SOT 42<sup>th</sup> Annual Meeting**  
Website: <http://www.toxicology.org/MemberServices/Meetings/am2003/index.html>
- 30 marzo - 2 abril, 2003  
**BTS 2003 Annual Congress, British Toxicology Society, Edinburgh, Scotland**  
Program details: <http://www.thebts.org/meetings/pages/program>
- 22-25 abril 2003, Valencia, España  
**XV Congreso Español de Toxicología**  
e-mail: [m.jose.ruiz@uv.es](mailto:m.jose.ruiz@uv.es) / Website: <http://www.uv.es/AETOX2003>
- 20-23 mayo 2003, Rome, Italy  
**EAPCCT XIII International Congress**  
Website: <http://www.eapcct.org/>
- 7-9 May 2003, Graz, Germany  
**2<sup>nd</sup> International Workshop on Analytical, Chemical and Biological Relevance of Heterocyclic Aromatic Amines**  
Website: <http://www.cis.TUGraz.at/ilct/haa2/hca-workshop-2003.htm>
- 11-15 mayo 2003, Granada, España  
**18<sup>th</sup> European Society for Animal Cell Technol. ESACT Meeting: Animal Cell Technology meets Genomics**  
Website: <http://www.esact.org>.
- 31 May-5 June 2003, Portland, USA  
**Congress on In Vitro Biology**  
Website: [www.sivb.org](http://www.sivb.org)
- 13-18 julio 2003, Lisboa, Portugal  
**9<sup>th</sup> European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology**  
Email: [eavpt2003@fmv.utl.pt](mailto:eavpt2003@fmv.utl.pt) / Website: [www.fmv.utl.pt/eavpt2003/congress.htm](http://www.fmv.utl.pt/eavpt2003/congress.htm)
- 22-24 September 2003, Oporto, Portugal  
**CICTA 2003. Environmental problems in an Iberoamerican context. 5<sup>th</sup> Iberian Congress and 2<sup>nd</sup> Iberoamerican on Environmental Contamination and Toxicology**  
Website: <http://cimar.org/cicta2003/>
- 28 septiembre -1 octubre 2003, Florencia, Italia  
**Eurotox 2003**  
Tel. +39-2-20488316/356, fax +39-2-20488.260 / e-mail: [Marina.Marinovich@unimi.it](mailto:Marina.Marinovich@unimi.it) or [info@eurotox2003.org](mailto:info@eurotox2003.org)
- 11-14 November, 2003, Guilin, China  
**5CTDC (5<sup>th</sup> Congress of Toxicology, in Developing Countries)**  
Hosted by Chinese Society of Toxicology(CST) / Website: <http://www.ciccst.org.cn:81/5ctdc/>
- 11-16 julio 2004, Tampere, Finlandia  
**ICT X 2004**  
Tel + 358 3 2156672, fax +358 3 2156170, e-mail [blhata@uta.fi](mailto:blhata@uta.fi) or [ictx@tsgcongress.fi](mailto:ictx@tsgcongress.fi)
- 1-4 junio 2004, Strasbourg, France  
**XXIV EAPCCT Congress**  
Location: Strasbourg Convention Centre

## Instrucciones a los autores

Los MANUSCRITOS se enviarán por triplicado, escritos claramente y a doble espacio, con márgenes amplios, por una sola cara y en hojas DIN A4. Tanto la forma como el contenido deberán ser cuidadosamente revisados para evitar correcciones sobre las pruebas. Se indicará sobre el margen izquierdo la localización de tablas y figuras.

El TEXTO debe ser claro y conciso, cuidando la ortografía y la utilización de abreviaturas. Todas las páginas irán numeradas correlativamente, comenzando por la primera página o titular y siguiendo con el texto, bibliografía, tablas y pies de figuras.

Los ARTÍCULOS originales no deberían superar las cuatro páginas impresas u ocho en las revisiones incluyendo tablas y figuras (una página impresa equivale a unas tres páginas mecanografiadas). El precio de cada página adicional es de 60 €. Las COMUNICACIONES cortas y los CASOS clínicos no deben superar las dos páginas impresas incluyendo una o dos tablas o figuras y hasta 10 citas bibliográficas.

El editor someterá las copias a dos revisores externos a la revista cuyas observaciones se trasladarán al autor para la reescritura del original.

## Presentación del manuscrito

En la PRIMERA PÁGINA deberá constar: título del artículo y hasta cinco palabras clave, ambos en inglés y castellano. Nombre completo del autor/es, institución donde se ha realizado el trabajo y dirección donde hay que enviar las pruebas. Para facilitar la comunicación se agradecería la inclusión de un número de teléfono, fax o e-mail.

RESUMEN: Será lo más informativo posible, y comprenderá una pequeña Introducción, un sucinto Material y Métodos, los Resultados abreviados y las Conclusiones del trabajo. Su lectura dará una idea clara del mismo, se acompañará de una versión en inglés (*Abstract*) y palabras clave (*Key words*). No debe sobrepasar las 30 líneas mecanografiadas y no debe incluir abreviaturas ni referencias.

La INTRODUCCIÓN describirá los orígenes y bases del estudio. Las revisiones y las comunicaciones cortas no necesitan introducción.

En la sección de MATERIAL Y MÉTODOS se evitarán descripciones de todo aquello que pueda encontrarse en la bibliografía citada. Deben describirse de forma concisa los individuos y series estudiados, criterios de selección, procedimientos, duración y número de repeticiones de los ensayos, equipo y materiales utilizados y cuantos datos puedan precisarse para la repetición del estudio. Los métodos estadísticos deberán también describirse en esta sección. Para sustancias químicas o fármacos se citará el nombre genérico conforme a la IUPAC. Si se utiliza una marca registrada, se hará constar el nombre genérico y el nombre del fabricante.

La sección de RESULTADOS presentará sin interpretarlas, las observaciones realizadas, así como el análisis estadístico. Los datos numéricos se pueden presentar en tablas pero sin repetirlos entonces en el texto.

En la DISCUSIÓN se considerarán los resultados presentados comparándolos con otros publicados, las razones que apoyan la validez de los mismos, su aplicación práctica y las directrices para nuevas investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA: La exactitud de las referencias bibliográficas es responsabilidad del autor. Sólo deberían incluirse referencias relacionadas estrechamente con el trabajo y que el autor pueda verificar personalmente. Todas las referencias listadas deben ir citadas en el texto. Citas como "observaciones no publicadas" o "pendientes de publicación" deberían evitarse. Las referencias irán numeradas por orden de aparición en el texto y citadas numéricamente y entre corchetes. Por ejemplo: [1], [2-13]. Al final del texto la bibliografía irá citada de la siguiente manera:

a) artículos de revistas: apellidos e iniciales de todos los autores, año, título completo, revista en su abreviatura normalizada, número de volumen y primera y última página y utilizando los signos de puntuación como en el ejemplo.

7. de la Peña E, Herrera A, Barrueco C, Canga C (1988) Sistemas de activación metabólica. *Rev Toxicol* 6: 33-38.

b) libros: apellidos e iniciales de los autores, año de publicación, título completo del libro, editorial, lugar de publicación y nº de páginas o, si se trata de un capítulo, apellidos e iniciales de los autores, año de publicación, título del capítulo, en: editores del libro, título completo del libro, editorial, lugar de publicación y primera y última página:

21. de la Peña E, Burguete I, Guadaño A (1999) Evaluación Mutagénica y Genotóxica. Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica, Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental, MRCIA98. Madrid. pp. 398.

14. de la Peña E, Guadaño A, Repetto G (1999) Métodos alternativos y complementarios en experimentación animal. En: Pérez-García CC, Díez-Prieto I, García Partida P (cols) Introducción a la Experimentación y Protección Animal. León. Universidad de León. 215-223.

FIGURAS: Todas las figuras deberán ir numeradas consecutivamente y enviadas en hoja aparte. Las fotografías se enviarán en diapositiva o copia en positivo sobre papel brillante. Las figuras publicadas previamente deben ser enviadas con el permiso escrito del titular de los derechos. Las explicaciones de la figuras no deben repetirse en el texto y tienen que ser breves y claras. Notas como "ver texto" deben evitarse.

Formato: las ilustraciones se enviarán en el formato definitivo o indicando claramente el porcentaje de reducción que se desea. En cualquier caso hay que tener en cuenta las proporciones de la columna o página impresa.

Las inscripciones dentro de las figuras serán claras y aproximadamente de 2 a 3 mm de altura. Para la publicación de fotografías en color, el autor tendrá que sufragar los gastos, según presupuesto de la editorial.

Las TABLAS deberán presentarse en hojas aparte, una tabla por hoja, numeradas correlativamente con números arábigos y con una leyenda.

En resumen la ESTRUCTURA DE UN ARTÍCULO será la siguiente: Título, title, firma, resumen, palabras clave, abstract, key words, texto, agradecimientos, bibliografía.

La redacción de la revista se reserva el derecho de introducir modificaciones en los artículos recibidos, siempre que no alteren el sentido de los mismos, para adaptarlos a las normas de publicación.

Los trabajos (original y dos copias) se enviarán a la Editora de la Revista de Toxicología o como archivo pdf en un correo electrónico:

Dra Adela López de Cerain Salsamendi

C.I.F.A. Universidad de Navarra

C/ Irunlarrea, s/n. 31008 PAMPLONA

(Navarra) España.

Fax: 948/42 56 52. E-mail: rev.toxicol@unav.



ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TOXICOLOGÍA

Rev. Toxicol. 20 (1) 1-54 2003

ISSN 0212-7113

<http://aetox.com>

INCLUIDA EN IBECs, ICYT, IME, EMBASE/*Excerpta Medica* y *Chemical Abstracts*

# Asociación Española de Toxicología

**Presidente:** Dr. Eduardo de la Peña (epena@ccma.csic.es)  
CSIC, Centro de Ciencias Medioambientales.

**Secretaria:** Dra. Victoria Carrera (aetox@umh.es)  
Universidad Miguel Hernández  
Edificio Vinalopó.  
Avda. del Ferrocarril s/n  
03202 Elche (Alicante).

**Internet:** <http://aetox.com>

## Sección de Toxicología Clínica

Dra. Ana Ferrer (aferrer@msf.unizar.es)  
Hospital Clínico de Zaragoza.

Dr. Santiago Nogué (nogue@medicina.ub.es)  
Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.

Internet: <http://ebro.unizar.es/aet>

## Sección de Toxicología Ambiental

Dr. Eduardo de la Peña (epena@ccma.csic.es)  
CCMA-CSIC. Madrid.

Dra. Pilar Gascó (p.gasco@mju.es)  
Instituto de Toxicología. Madrid

Dra. Ana de la Torre (torre@inia.es)  
Centro de Investigación de Sanidad Animal  
INIA. Madrid.

## Sección de Toxicología Forense

Dr. Juan Luis Valverde (biblio@bcn.inaltox.es)  
Instituto de Toxicología. Barcelona.

## Grupo de Trabajo Especializado en Métodos Alternativos

Dr. Guillermo Repetto (repetto@us.es)  
Instituto de Toxicología. Sevilla.  
Internet: <http://aetox.com>

## Revista de Toxicología (Editada desde 1983)

**Editora:** Dra. Adela López de Cerain  
(acerain@unav.es)  
CIFA. Universidad de Navarra  
C/ Irunlarrea s/n. 31008. Pamplona

**e-mail:** [rev.toxicol@unav.es](mailto:rev.toxicol@unav.es)  
**Internet:** <http://aetox.com>