



TOXICOLOGÍA FUNDAMENTAL

Manuel Repetto Jiménez
Guillermo Repetto Kuhn

4º EDICIÓN

TOXICOLOGÍA FUNDAMENTAL

Manuel Repetto Jiménez

Ex-Director del Instituto Nacional de Toxicología. Sevilla
Profesor Titular de Toxicología, jubilado. Universidad de Sevilla

Guillermo Repetto Kuhn

Facultativo. Instituto Nacional de Toxicología. Sevilla
Profesor Asociado de Toxicología. Universidad de Sevilla

TOXICOLOGÍA FUNDAMENTAL

Cuarta edición



© Manuel y Guillermo Repetto, 2009
Cuarta edición

Reservados todos los derechos

«No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna, forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del Copyright.»

Ediciones Díaz de Santos

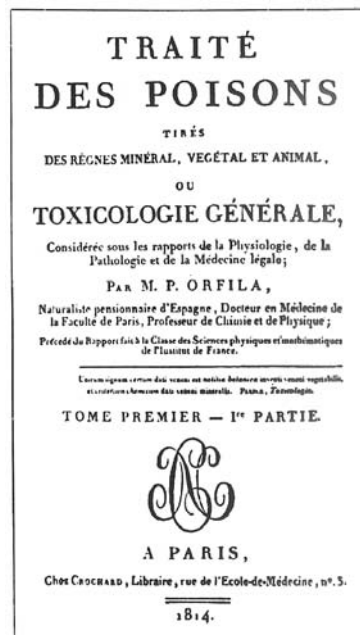
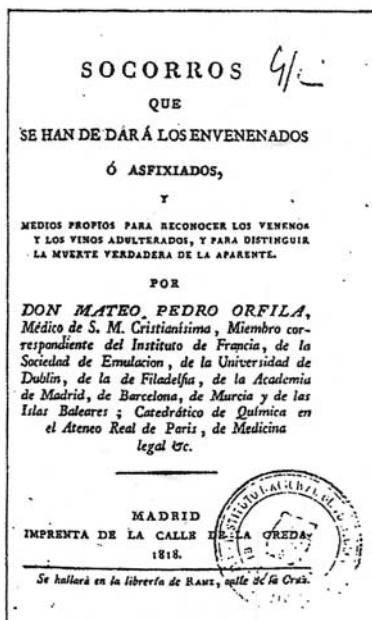
E-mail: ediciones@diazdesantos.es
Internet://<http://www.diazdesantos.es/ediciones>

ISBN: 978-84-7978-898-8
Depósito Legal: M-283-2009

Diseño de cubierta: Angel Calvete
Fotocomposición: Fer
Impresión: Edigrafos
Encuadernación: Rústica-Hilo



Mateo J. B. Orfila (Mahón, 1787-1853),
creador de la Toxicología Científica



Portada sobre su tratado sobre
toxicología. (1ª edición. París, 1814)

Contenido

Prólogo a la cuarta edición	XIX
Prefacio. Desastres tóxicos.....	XXI
Capítulo 1. Desarrollo y evolución histórica de la Toxicología	
Periodo primitivo. Edad Antigua.....	1
<i>El veneno en la caza, la mitología y el delito.....</i>	1
Edad Media (Siglos V-XV)	3
Edad Moderna (Siglos XV-XVIII)	5
<i>Primeros estudios toxicológicos</i>	5
<i>Nacimiento de la toxicología judicial o forense</i>	8
Edad Contemporánea (Siglos XIX-XXI)	9
<i>Progresos en los conocimientos toxicológicos</i>	12
Toxicología clínica. Centros antitóxicos	12
Toxicología industrial y ambiental	13
Toxicología bromatológica y farmacéutica	14
Toxicología reguladora (Legislación toxicológica)	15
Toxicología mecanicista	16
<i>Toxicología de sistemas</i>	17
Enseñanza de la toxicología	18
<i>Acreditación y Registro de toxicólogos</i>	19
Bibliografía.....	19
Capítulo 2. Conceptos y definiciones: Toxicología. Toxicidad	
La intoxicación y sus clases	22
Glosario de conceptos toxicológicos.....	23
Interés toxicológico del factor tiempo.....	32
Concepto y clasificaciones por toxicidad.....	33
<i>Efectos colaterales, secundarios e indeseables de los medicamentos.....</i>	35

X CONTENIDO

Relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta.....	36
<i>Hormetinas</i>	39
<i>Concepto de pT</i>	39
Toxicidad de las sustancias químicas	41
Toxicidad de las sustancias naturales	43
Agentes físicos	43
Etiología de las intoxicaciones	47
Armas químicas, físicas y biológicas	50
<i>Grupo 1. Agentes tóxicos</i>	50
<i>Grupo 2. Agentes neutralizantes o incapacitantes</i>	50
<i>Grupo 3. Armas indirectas, de disuasión y confusión</i>	51
<i>Grupo 4. Armas biológicas</i>	52
<i>Convenios de prohibición</i>	52
Referencias toxicológicas en la legislación española.....	52
<i>Veneno</i>	52
<i>Alcohol</i>	53
<i>Drogas o gentes de drogadicción</i>	53
<i>Medicamentos</i>	54
<i>Alimentos</i>	54
<i>Medio ambiente</i>	54
<i>Medio ambiente laboral</i>	55
<i>Doping o dopaje</i>	56
Bibliografía.....	57

Capítulo 3. Tránsito de los xenobióticos en el organismo. Toxicocinética

Clasificaciones generales de los tóxicos.....	59
Clasificación de los tóxicos por el lugar de acción	59
Procesos de tránsito	60
<i>Mecanismos de absorción</i>	60
<i>Distribución</i>	69
<i>Localización, acumulación o fijación</i>	72
<i>Eliminación</i>	73
<i>Redistribución post mortem</i>	77
Toxicocinética.....	79
<i>Modelos compartimentales</i>	79
<i>Aplicaciones de la toxicocinética</i>	82
<i>Diferencias entre farmacocinética y toxicocinética</i>	82
Cinética de la absorción	83
<i>Sistema cerrado de dos compartimientos</i>	85
<i>Sistema abierto de dos compartimientos</i>	86
Cinética de la distribución o transporte.....	86
<i>Cinética general en modelo monocompartimental</i>	86
<i>Cinética en modelo bicompartimental</i>	89
Biodisponibilidad	94
<i>Volumen aparente de distribución</i>	94

Cinética de la eliminación	96
<i>Vida media de eliminación</i>	97
<i>Curvas de excreción urinaria</i>	98
<i>Principio de la meseta</i>	98
<i>Aclaramiento (clearance)</i>	100
<i>Formas prácticas para calcular K_e, K_a y $t_{1/2}$</i>	101
<i>Retención selectiva</i>	102
Casos particulares de cinéticas	105
<i>Absorción percutánea</i>	105
<i>Absorción de gases o vapores</i>	105
Factores que afectan a la toxicocinética	110
<i>Cinética lineal y no lineal</i>	110
Cinética del efecto	111
<i>Modelo I: monocompartimental abierto</i>	111
<i>Modelo II.a: bicompartimental abierto</i>	111
<i>Modelo II.b: bicompartimental abierto</i>	112
<i>Modelo III.a: tricompartmental abierto</i>	112
<i>Modelo III.b: tricompartmental abierto</i>	112
Ejercicios prácticos de toxicocinética	112
Bibliografía	113

Capítulo 4 Biotransformaciones de los tóxicos

Biotransformaciones en la Fase I ó de Primer Paso	118
<i>Reacciones de oxidación</i>	119
<i>Reacciones de reducción</i>	126
<i>Hidrólisis</i>	129
<i>Desalquilación</i>	129
<i>Hidratación</i>	129
<i>Isomerización</i>	131
<i>Resumen de las biotransformaciones Fase I</i>	131
Interés toxicológico de los epóxidos	131
Biotransformaciones en la Fase II o de Segundo Paso	132
Biotransformaciones postmorte	138
Bibliografía	141

Capítulo 5. Fenómenos de inhibición, activación e inducción enzimática

Principales respuestas funcionales	143
<i>Inactivación de proteínas</i>	144
<i>Inhibición enzimática</i>	144
<i>Formas de activación enzimática</i>	145
<i>Inducción enzimática</i>	147
Bibliografía	158

Capítulo 6. Mecanismos de toxicidad

A. Afectación de la estructura celular	163
<i>Muerte celular</i>	163
B. Alteraciones de la función celular	167
Clases de mecanismos	169
<i>Causticación</i>	172
<i>Establecimiento de uniones químicas persistentes: alquilación y arilación</i>	173
<i>Reactivos electrófilos y nucleófilos</i>	174
<i>Alteración de la homeostasis del calcio</i>	191
<i>Defensa celular contra el estrés</i>	194
Mecanismos inmunitarios.....	194
Toxicidad selectiva	204
<i>Los receptores</i>	204
<i>Transmisión de señales celulares. Clases de receptores</i>	205
<i>Receptores de interés toxicológico</i>	208
Relaciones estructura – actividad	211
Relaciones cuantitativas (QSAR)	215
<i>Parámetros electrónicos</i>	215
<i>Parámetros de sustituciones estéricas</i>	216
<i>Parámetros de la mínima diferencia estérica (MSD)</i>	216
<i>Coeficiente de partición</i>	216
<i>Valores cromatográficos</i>	216
Relaciones biológicas	216
Bibliografía.....	217

Capítulo 7. Mecanismos de toxicidad

Fisiopatología general de causa tóxica	222
Ciclo celular	223
Fisiopatología tóxica de los vasos sanguíneos	224
Alteraciones de la respiración celular. Gases de especial interés toxicológico	225
<i>Anoxia</i>	225
<i>Asfixia (hipoxia)</i>	226
Fisiopatología tóxica del sistema nervioso.....	233
<i>Elementos anatomofisiológicos</i>	233
<i>Barrera hematoencefálica</i>	243
Neurotoxicología	244
<i>Neuronopatías</i>	245
<i>Axonopatías</i>	246
<i>Mielinopatías</i>	247
<i>Afectación transmisional del impulso nervioso</i>	248
<i>Miopatías</i>	251
<i>Vasculopatías tóxicas</i>	251
<i>Neuropatías tóxicas de especial interés</i>	251

Patologías tóxicas de la función pulmonar.....	255
<i>Elementos anatomofisiológicos</i>	255
<i>Procesos tóxicos en el pulmón</i>	256
<i>Aspiración de partículas</i>	262
<i>Fiebre del soldador. Fiebre por metales, teflón, etc.</i>	263
Hepatopatías tóxicas.....	263
<i>Recuerdo anatómico y fisiológico</i>	263
<i>Principales reacciones hepatotóxicas</i>	267
Nefropatías de origen tóxico	272
<i>Procesos nefrotóxicos</i>	274
Patologías tóxicas de la piel	279
<i>Absorción percutánea. La piel como vía de absorción</i>	281
<i>Toxicodermias</i>	282
<i>Interés toxicológico del pelo</i>	287
<i>Dermitis por contacto</i>	287
<i>Urticaria y angioedema</i>	288
<i>Urticarias físicas</i>	288
<i>Urticaria de contacto</i>	289
<i>Urticaria por picaduras de insectos</i>	289
<i>Urticaria de distribución sistémica</i>	289
<i>Angioedema por fármacos</i>	289
<i>Dermatitis seborréica</i>	289
<i>Efectos nocivos de la luz</i>	290
<i>Reacciones de fotosensibilización</i>	293
<i>Sustancias capaces de producir sensibilización</i>	293
<i>Necrosis tóxica epidérmica</i>	294
<i>Lupus eritematoso de origen tóxico</i>	294
Patologías tóxicas en el aparato digestivo	295
Patologías tóxicas de las gónadas y de la función sexual.....	297
Disruptores endocrinos u hormonales	301
<i>Receptores de estrógenos</i>	304
<i>Mecanismos de acción</i>	305
<i>Hipótesis cinética</i>	306
<i>Receptores de andrógenos</i>	306
<i>Principales disruptores endocrinos</i>	307
<i>Preocupación y actuaciones internacionales</i>	309
Otras patologías tóxicas endocrinas	310
Cardiotoxicidad	311
<i>Cardiotoxicidad de toxinas peptídicas</i>	315
<i>Alcoholes</i>	316
<i>Hidrocarburos halogenados</i>	316
<i>Anestésicos</i>	316
<i>Antibióticos</i>	317
Patologías tóxicas de la sangre y de la médula ósea	317
<i>Acciones tóxicas sobre los hematíes</i>	318
<i>Acciones tóxicas sobre los leucocitos</i>	319
<i>Acciones tóxicas sobre la hemostasia</i>	320
<i>Enfermedades tumorales en el sistema hematopoyético</i>	321

Ototoxicología	321
Patologías tóxicas de los ojos	323
Síndromes patológicos complejos	327
<i>Síndrome de intolerancia idiopática ambiental</i>	327
<i>Síndrome del edificio enfermo o patógeno</i>	328
<i>Enfermedad de la Guerra del Golfo Pérsico</i>	328
Genotoxicología	329
Bibliografía.....	337

Capítulo 8. Factores que modifican la toxicidad

Factores que dependen del medio ambiente. Condicionantes físicos	342
<i>Condiciones climáticas y meteorológicas</i>	342
<i>Actividad lumínica</i>	342
<i>Temperatura</i>	342
<i>Presión atmosférica</i>	343
<i>Ruido</i>	343
<i>Ciclos biológicos</i>	343
Factores que dependen del individuo. Condicionantes biológicos.....	344
<i>Especie</i>	344
<i>Raza</i>	344
<i>Sexo</i>	345
<i>Edad</i>	345
<i>Individuo</i>	348
<i>Salud /Enfermedad</i>	352
<i>Situación psicosocial</i>	352
Factores derivados de las condiciones de absorción	353
Cronotoxicología y Cosmotoxicología.....	354
<i>Ciclos o ritmos del Universo</i>	354
Cronosusceptibilidad	362
Bibliografía.....	364

Capítulo 9. Interacciones entre fármacos

Interacción fisicoquímica	369
Interacción farmacocinética	369
<i>Influencias sobre la absorción</i>	369
<i>Interferencias en la distribución</i>	371
<i>Interacciones en la biotransformación</i>	372
<i>Interacciones en la excreción</i>	374
Interacción farmacodinámica	375
<i>Interferencias sobre los receptores</i>	376
<i>Interacciones funcionales</i>	376
<i>Interacciones de medicamentos con alimentos</i>	376
<i>Caso particular del alcohol etílico</i>	382

Sinergismo, adición y potenciación.....	383
Yatrogenia.....	384
Decálogo para el médico que receta.....	384
Bibliografía.....	386

Capítulo 10. Antagonistas y antidotos

Principios generales para el empleo de antidotos y antagonistas.....	388
Principales antagonistas	389
Principales antidotos.....	393
Botiquines de antidotos. Recomendaciones	400
<i>Botiquines domésticos</i>	401
<i>Botiquines de Centros de Asistencia Primaria</i>	401
<i>Botiquines de Centros penitenciarios</i>	401
<i>Botiquines de empresas</i>	401
<i>Botiquines de Servicios de urgencias extrahospitalarios</i>	401
<i>Botiquines de Hospitales, niveles I y II</i>	401
<i>Botiquín de Hospital de Referencia Toxicológica</i>	401
<i>Botiquín de Hospital de Referencia Nuclear</i>	401
Bibliografía	402

Capítulo 11. Evaluación de la toxicidad y del riesgo. Toxicología experimental

Fuentes del conocimiento toxicológico	403
Experimentación toxicológica: objetivos, fundamentos y tipos.....	404
<i>Objetivos básicos de la experimentación toxicológica</i>	404
<i>Principios de la experimentación toxicológica</i>	404
<i>Tipos de investigaciones toxicológicas experimentales</i>	407
Diseño y componentes de los modelos toxicológicos experimentales.....	408
<i>El sustrato biológico /especie animal</i>	409
<i>Número y distribución de las unidades experimentales</i>	411
<i>Selección de las dosis y grupos</i>	413
<i>Elección de la vía de exposición</i>	413
<i>Periodo de exposición</i>	414
<i>Biomarcadores de toxicidad /toma de muestras</i>	414
<i>Análisis de resultados</i>	416
<i>Modelo predictivo</i>	418
<i>Condiciones generales</i>	418
Principales ensayos toxicológicos regulados	419
<i>Toxicidad aguda</i>	419
<i>Capacidad corrosiva</i>	423
<i>Capacidad irritante dérmica y ocular</i>	424
<i>Capacidad sensibilizante</i>	425
<i>Toxicidad por exposición repetida o prolongada</i>	425
<i>Carcinogenicidad</i>	426
<i>Mutagenicidad</i>	427

<i>Toxicidad para la reproducción y el desarrollo</i>	429
<i>Toxicidad para el medio ambiente</i>	432
<i>Cinética en el organismo y el medio ambiente</i>	433
<i>Otros tipos de estudios</i>	435
<i>Propiedades fisicoquímicas</i>	436
Métodos alternativos. Toxicidad <i>in vitro</i>	437
<i>Justificación de los ensayos in vitro</i>	441
<i>Ventajas e inconvenientes de los ensayos in vitro</i>	441
Métodos de toxicología molecular	443
Las reglamentaciones sobre la experimentación toxicológica	444
<i>Requerimientos reguladores</i>	444
<i>Protocolos de ensayo</i>	444
<i>Buenas Prácticas de Laboratorio</i>	446
<i>Protección de los animales de experimentación. Legislación</i>	449
<i>Legislación de protección de los trabajadores</i>	450
Análisis del Riesgo Tóxico	450
<i>Identificación de los peligros potenciales</i>	452
<i>Evaluación dosis - respuesta (toxicidad / seguridad)</i>	454
<i>Evaluación de la exposición</i>	454
<i>Caracterización del riesgo</i>	456
<i>La gestión o manejo del riesgo</i>	460
<i>Comunicación del riesgo</i>	460
<i>Control o seguimiento del riesgo</i>	461
<i>El sistema REACH</i>	461
Bibliografía	464

Capítulo 12. Toxicología clínica

Centros antitóxicos	468
<i>Servicio de información y asesoramiento toxicológico (SIT o CIT)</i>	468
<i>Servicio de análisis toxicológico</i>	470
<i>Servicio de tratamiento de intoxicados</i>	471
Coordinación intercentros	471
<i>Farmacovigilancia y toxicovigilancia</i>	472
Epidemiología de las intoxicaciones	473
Bibliografía	477

Capítulo 13. Diagnóstico de la intoxicación

Signos anatomopatológicos de la muerte por intoxicación	480
<i>Disposición del cadáver</i>	480
<i>Coloración de la piel</i>	480
<i>Corazón y aparato circulatorio</i>	482
<i>Pulmón</i>	482
<i>Cerebro</i>	482
<i>Hígado</i>	482

<i>Bazo</i>	482
<i>Riñón</i>	482
<i>Estómago e intestino</i>	483
Diagnóstico biológico.....	483
<i>Parámetros biológicos y bioquímicos: Biomarcadores</i>	483
<i>Experimentación animal y vegetal</i>	490
<i>Ensayos inmunológicos</i>	492
Bibliografía.....	492

Capítulo 14. El análisis químico-toxicológico

Niveles de complejidad de los Laboratorios de Toxicología.....	494
Fases de actividad en un laboratorio de Toxicología	496
La muestra para el análisis toxicológico (judicial, clínico, ambiental)	497
Cadena de custodia.....	497
<i>Consideraciones generales sobre las muestras biológicas</i>	498
Introducción al análisis químico-toxicológico	502
Modalidades del análisis químico-toxicológico	503
Fases de un análisis químico-toxicológico general	503
Dotación básica de un laboratorio de Toxicología analítica.....	503
Orientación de los análisis toxicológicos	504
<i>Información general</i>	504
<i>Información clínica</i>	505
Variables que influyen en los resultados analíticos	505
<i>Momento de toma de la muestra</i>	505
<i>Estabilidad del compuesto en la muestra</i>	506
<i>Amplitud y reproducibilidad del método analítico</i>	507
<i>Interferencias en el método</i>	508
Normativas de Garantía de calidad en los análisis toxicológicos.....	509
Interpretación de los resultados analíticos.....	510
<i>El riesgo de la excesiva sensibilidad instrumental</i>	512
El informe toxicológico.....	518
Bibliografía.....	519

Capítulo 15. Sistemáticas analíticas toxicológicas

Clasificación de los tóxicos conforme a los métodos de análisis.....	521
Sistemáticas analíticas toxicológicas.....	521
Sistemáticas para gases y vapores	523
<i>Gases tóxicos en la atmósfera</i>	524
Sistemáticas para tóxicos inorgánicos	525
<i>Preconcentración</i>	526
<i>Especiación</i>	526
<i>Técnicas electroanalíticas</i>	527
<i>Determinación directa por espectrofotometría EAA</i>	528

<i>Espectrometría de emisión de plasma</i>	528
<i>Técnicas cromatográficas. Electroforesis</i>	528
Sistemáticas para tóxicos orgánicos	528
<i>Hidrólisis y digestiones</i>	529
<i>Extracciones con disolventes orgánicos</i>	529
Métodos previos y simplificados de análisis toxicológico	538
Inmunoensayos	538
<i>Ventajas e inconvenientes de los inmunoensayos</i>	540
<i>Métodos químicos simplificados</i>	541
Análisis toxicológico del pelo	542
Bibliografía	543

Capítulo 16. Bases generales para la asistencia y tratamiento de intoxicados

Primeros auxilios al intoxicado	545
<i>Vía inhalatoria</i>	546
<i>Vía cutánea</i>	547
<i>Vía digestiva</i>	549
<i>Vía rectal</i>	551
Tratamiento médico cualificado	551
<i>Mantenimiento de las funciones respiratoria y circulatoria</i>	552
<i>Diagnóstico clínico y analítico</i>	553
<i>Intensificación clínica de las medidas de urgencia</i>	553
<i>Tratamiento específico y antidótico</i>	556
<i>Tratamiento sintomático</i>	557
<i>Vigilancia y control</i>	557
Complicaciones de las intoxicaciones agudas	558
<i>Síndrome serotoninérgico y Síndrome maligno por neuroléticos</i>	559
Diagnóstico y tratamiento de las lesiones por radiaciones	560
Prioridades en el tratamiento de las víctimas de desastres químicos	562
Bibliografía	563

Índice analítico	565
------------------------	-----

Prólogo a la cuarta edición

El tiempo transcurrido desde la 3ª. edición, con la consecuente evolución de los conocimientos toxicológicos, y el haberse agotado los ejemplares correspondientes a la misma, nos han decidido a afrontar una nueva edición que, introduzca los más importantes avances en las distintas facetas de esta ciencia. También hemos querido mantener la estructura de la obra, con capítulos dedicados a los principales cimientos de la Toxicología, partiendo desde bases químicas, biológicas, bioquímicas, anatómicas y fisiológicas, que permitan a los estudiosos, cualquiera que sea su formación previa, introducirse directamente en cada uno de los temas; se ha dado especial atención a los nuevos conocimientos en mecanismos de toxicidad, para nosotros fundamentales para explicar los procesos fisiopatológicos y los abordajes terapéuticos así como para interpretar los resultados analíticos y la valoración del riesgo. Nunca nos cansaremos de insistir en que la Toxicología mecanicista es hoy más importante que la descriptiva clásica con el estudio de tóxico a tóxico, relegado a diccionarios o enciclopedias.

Para esta actualización he contado con la colaboración de mi hijo Guillermo, quien ya me había ayudado en ediciones anteriores, toxicólogo bien curtido en la investigación, en la documentación y en la docencia universitaria, todo lo cual me llena de satisfacción y orgullo.

Nuevamente hemos querido buscar el equilibrio entre recoger los nuevos conocimientos frente a nuestra preocupación por seguir manteniendo la obra dentro de unas dimensiones que atraigan al estudioso, aunque, obviamente, el volumen sea mayor en cada nueva edición. En esta disyuntiva hemos tenido muy presente la calurosa acogida y las opiniones de los profesores y alumnos de los países de habla española que utilizan el libro.

Nuestro sincero reconocimiento a todos ellos, así como a la Editorial Díaz de Santos por las continuas atenciones que dedica a nuestras obras y el interés con que las publica.

Manuel REPETTO

Prefacio. Desastres tóxicos

Tradicionalmente se ha venido considerando que las intoxicaciones eran hechos fortuitos, generalmente aislados, normalmente intencionados, o en ocasiones de carácter epidémico, a consecuencia de la ingestión de alimentos o plantas nocivas; pero en la actualidad no sólo tiene importancia la intoxicación dramática, de cuadro clínico evidente, sino que importa, aún más si cabe, el elevado número de intoxicaciones subclínicas, crónicas o no, de presentación sinuosa, cuadros difusos y de difícil diagnóstico. La era tecnológica e industrial ha puesto en manos del hombre, para su uso cotidiano, unos ciento setenta mil productos, de los treinta y cinco millones de sustancias químicas que han sido sintetizadas (Registro del *Chemical Abstract Service*, División de la *American Chemistry Society*, mayo, 2008), número que se incrementa sin cesar con los millares que se sintetizan cada año, y estos productos, de innegable utilidad en la mayoría de los casos, constituyen un arsenal de cuya peligrosidad no solemos tener conciencia. Nuestro diario, y a veces despreocupado, contacto y empleo de los productos químicos (incluidos los farmacéuticos), se traduce en la multiplicación de las intoxicaciones en sus diferentes clases.

Por ello, la toxicología se ha afianzado como disciplina, independizándose de sus ciencias madres, y desarrollando, por su parte, una serie de ramas que, en los últimos años, están siendo intensamente cultivadas.

Por otra parte, la tendencia de la toxicología moderna, que ya hemos reflejado en las ediciones anteriores de esta obra, es la de cambiar el método descriptivo por el mecanicista, a lo que aún damos más énfasis en la presente; pero tememos que ello pueda inducir a creer que las intoxicaciones agudas se han convertido en casos puntuales y que sólo tienen lugar las sinuosas, crónicas y por nuevas sustancias. Sin embargo, de tiempo en tiempo se producen intoxicaciones masivas, que afectan a un importante número de individuos, por lo que reciben el nombre de *desastres* o *catástrofes químicas* o *tóxicos* (véase definiciones en Cap. 2.)

Nos parece que recordar estos episodios trágicos no solamente sirve para tener presente la realidad práctica del riesgo tóxico colectivo, sino también para estimular a la sociedad a mantener mecanismos preventivos, defensivos y de actuación ocasional; ciertamente hay multitud de organizaciones nacionales e internacionales capacitadas para intervenir en cada desastre, pero hemos comprobado que aún se falla en un aspecto para nosotros esencial, como es extraer de cada caso enseñanzas prácticas para evitar o para optimizar la actuación en ocasiones futuras.

Por todo ello, relacionamos a continuación los más sonados desastres tóxicos desde el siglo XX:

1900	Manchester (Inglaterra). Tras la ingesta de una cerveza se producen 6.000
------	--

- intoxicaciones, 70 mortales, erróneamente diagnosticadas y conocidas como neuritis alcohólica; posteriormente y gracias a mejores análisis, se comprobó que fueron debidas no al alcohol sino a un compuesto arsenical que procedía, al parecer, del empleo de ácido sulfúrico técnico (impuro) en la sacarificación. Episodios similares se han repetido posteriormente en distintos lugares del Reino Unido.
- 1915 **Yprés** (Bélgica). Tras el bombardeo por los alemanes de las tropas aliadas y la respuesta de éstas con el gas mostaza, desde entonces llamado también *yperita*, se afectaron unos 100.000 soldados de ambos bandos.
- 1921 **Alberta** (Canadá). Posteriormente en **EE UU**. Vacas alimentadas con trébol dulce enmohecido (que transforma la cumarina en dicumarina) experimentan diátesis hemorrágica o «enfermedad del trébol»; dio lugar al descubrimiento del primer anticoagulante oral, y la observación de que se recuperaban los animales que comían alfalfa permitió descubrir en ésta la vitamina K.
- 1930 **Valle del Mosa** (Bélgica). En un solo día, a principios del mes de diciembre, fallecen 60 personas y enferman varios miles, a consecuencia de que la inversión de la temperatura ambiental favoreció la concentración de sustancias tóxicas en el aire de esta zona industrial. Junto con los episodios acaecidos en Donora (1948), Londres (1952) y Los Ángeles (1977) han sido los primeros casos dramáticos estudiados de contaminación ambiental.
- 1929-31 **EE UU**. Intoxicación colectiva conocida como «parálisis de la ginebra», que afectó a más de 20.000 personas. El agente fue tricresil-o-fosfato, que fue utilizado para preparar extracto de jengibre.
- 1937 **EE UU**. Se comercializó un elixir de sulfanilamida al 10 por 100 en dietilenglicol para el tratamiento de la faringitis estreptocócica, sin haber realizado ensayos de seguridad, confiando en que ya se utilizaba esta sulfamida en comprimidos. Fallecieron 107 personas, niños en su mayoría; se suicidó el fabricante y motivó al gobierno a promulgar la Food, Drug and Cosmetic Act (TOSCA, 1938). Con la misma etiología se han originado intoxicaciones masivas en distintos países (véase más adelante, como ejemplos, 1985, Austria; 1990, Nigeria; 1992, Argentina; 1995-96, Haití; 1998, India; 2006, Panamá) y aunque suele decirse que la causa fue una contaminación, en realidad lo normal es la sustitución de polietilenglicol por dietilenglicol, incluso pudiera pensarse en la existencia de una farmacopea defectuosa con recetas erróneas. Durante 2007 se han detectado, y ordenado retirar, en numerosos países de Occidente unos dentífricos fabricados en China, falsificaciones de marcas muy conocidas internacionalmente, y que contenían hasta un 6 por ciento de dietilenglicol; se vendían en tiendas de bajo precio, y también habían sido distribuidos en kits de higiene personal en hospitales, hoteles, aviones, etc.
- 1948 **Donora, Pensilvania** (EE UU). A finales del mes de octubre, la inversión de la temperatura agravó y mantuvo la polución; en 4 días se afectan unas 6.000 personas y mueren 17, pasando el peligro cuando la lluvia limpió el aire.
- 1950 **Toyama** (Japón). La explotación intensiva de una antigua mina, por los requerimientos de la II Guerra Mundial, provocó la contaminación de la cuenca del río Jinzu por diversos compuestos metálicos, principalmente de cadmio; también se dice que el drenaje de los campos de arroz permitió la oxidación del ion S^{2-} del suelo a SO_4^{2-} , lo que favoreció la disolución del cadmio. Aunque desde 1912 se conocían casos de muertes de peces y de enfermedad humana,

- se consideraba una patología endémica de la zona atribuida a una bacteria; en 1955 el Dr. Ogino (o Hagino) la relacionó con el cadmio y la denominó *enfermedad de Itai-itai* (en japonés, gritos de dolor), caracterizada por disentería, desmineralización, osteoporosis y osteomalacia con intenso dolor, malformaciones y fracturas óseas, así como nefropatía. Se registraron innumerables afectados.
- 1952 **Londres, UK.** A principios del mes de diciembre, en una semana fallecen unas 10.000 personas a causa de la contaminación del aire motivada por las calefacciones domésticas, concentrada por influencia de dos anticiclones, aire frío y la niebla. Los principales contaminantes eran óxidos de azufre (SO_x), óxidos de carbono (CO_x) y materia particulada, constituyendo lo que se llamó *smog* (contracción de las palabras *smoke*, humo, y *fog*, niebla, y traducido por algunos como *neblumo*); es el smog químico, diferente del habitual en Los Ángeles.
- 1953 **Japón, Bahía de Minamata.** Parálisis sensorio-motora letal, conocida como *enfermedad de Minamata*, que afectó a 169 casos registrados y 3.000 estimados. El agente fue el metilmercurio acumulado por los peces (principal alimento de la población) procedente de efluvios industriales; compuestos orgánicos e inorgánicos de mercurio presentes en las aguas residuales fueron transformados por el plancton y los crustáceos en tiometil-mercurio, que al ser consumido por los peces formaba en sus músculos metilmercurio-cisteína.
- 1956 **Iraq.** Intoxicación masiva por harina de trigo cuyo grano había sido tratado con el fungicida etilmercurio-p-toluensulfanilida. Se han repetido intoxicaciones de igual etiología al consumirse granos destinados a la siembra, adicionados de conservadores.
- Paquistán.** Treinta y cuatro muertos, intoxicados por trigo tratado con etilmercurio y acetato de metilmercurio.
- Posteriormente, 1971, se produjeron en Iraq 6.148 intoxicaciones, con 452 muertes por granos protegidos contra los hongos con compuestos similares.
- 1959 **Marruecos.** Dos mil personas experimentaron la *parálisis del aceite*, al consumir un aceite adulterado con lubricante usado de aviones, que contenía mezcla de 2, 3 y 4-cresilofosfatos.
- 1960 **Holanda.** Se registraron 16.250 intoxicaciones humanas, aunque se calcula que el número de afectados fue superior a 50.000, por la *enfermedad de la mantequilla*, una especie de «enfermedad del suero», de tipo alérgico, originada por un emulsionante comercial consistente en un éster del ácido maléico y la glicerina, empleado en la fabricación de margarina. No se consiguió reproducir en animales, probablemente debido a que su mecanismo es inmunitario. También en los Estados Unidos de América se produjo una intoxicación paralítica por la mantequilla consecuentemente al empleo como envolvente de un papel plastificado con tricresil-ortofosfato, que fue absorbido por el alimento.
- 1961 **Europa (Alemania, Gran Bretaña, etc.), Australia, Canadá, Japón.** Se advierte el nacimiento de 10.000-12.000 niños con graves malformaciones, de madres que habían tomado en los tres primeros meses del embarazo (30 a 50 días después de la última menstruación, período de la *organogénesis*) el medicamento *talidomida*. Las malformaciones consistían principalmente en deformidades de las extremidades o ausencia de parte del brazo con mano en forma de aleta (focomelia), y también lesiones en ojos, orejas, genitales, riñones, tubo digestivo, boca, sistema nervioso, etc. El producto (alfa-naftilimidoglutarimida) se había prescrito en

los países aludidos como ansiolítico e hipnótico y contra las náuseas y vómitos del embarazo, pero no en los EE UU, donde la FDA se había opuesto a causa de la inducción de algunas neuropatías periféricas (sensaciones de quemazón, adormecimiento u hormigueo en extremidades, etc.).

El desastre demostró la necesidad de amplios estudios toxicológicos preclínicos y de minimizar la exposición de las embarazadas a las sustancias químicas. El compuesto se introduce en un nucleótido de la región promotora de genes específicos (IGF-1 y FGF-2) y los bloquea. Dichos genes se expresan en la síntesis de los *factores de crecimiento 1 y 2*, conocidos como *integrinas*, que estimulan la angiogénesis en el embrión al principio del desarrollo de los miembros. Compite así con un factor de transcripción (Sp1) que participa en la regulación de un gran número de genes, y también inhibe la producción de la citoquina *factor alfa de necrosis tumoral* (FNT- α), asociado a varias enfermedades inflamatorias, y que actúa oponiéndose a la angiogénesis. Por ello, posteriormente ha encontrado aplicación en el tratamiento de diversas afecciones como el eritema nodoso de la lepra, lupus eritematoso, artritis reumatoide, úlceras del SIDA y otras enfermedades, cáncer terminal, mieloma múltiple, etc., y se experimenta en la degeneración macular, aunque con grandes precauciones, principalmente ante posibilidad de embarazo. Sin embargo, en algún país en vías de desarrollo se ha generado un mercado negro del medicamento y usos sin control médico, especialmente entre enfermos de SIDA, que está dando lugar al nacimiento de niños con malformaciones.

1965-66 **Quebec** (Canadá). El empleo de sulfato y cloruro de cobalto como estabilizador de la espuma de cerveza originó un brote epidémico grave de miocardiopatía

degenerativa, con sufusión pericárdica, elevación del nivel de hemoglobina, fallo cardíaco congestivo, úlceras gástricas y lesiones tiroideas. Episodios similares se han registrado también en Bélgica y en Omaha (EE UU).

1961-1971 **Vietnam**. Durante los años que duró la conocida como Guerra de Vietnam, el ejército norteamericano bombardeó el país con productos tóxicos (se dijo que ochenta y dos millones de litros), principalmente el incendiario *napalm* y el desfoliante y herbicida *agente naranja*, con el objeto de destruir la vegetación en que se pudiera emboscar el enemigo, arrasando así unos dos millones de hectáreas. El agente naranja estaba constituido por 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), y contenía como impureza policlorodibenzodioxinas, que también se forman por pirosíntesis cuando se calientan las sustancias citadas, lo que ocurriría al incendiar la vegetación. Se afirma que la elevada toxicidad de las *dioxinas* afectó a cerca de un millón de personas, entre habitantes y contendientes, incluidos soldados aliados de los norteamericanos procedentes de diversos países; se han observado efectos genotóxicos en individuos de la cuarta generación. Con mucho menor dramatismo, por el escaso número de afectados, se intoxicaron drogadictos que fumaron cigarrillos de marihuana incompletamente destruidos en un tratamiento similar realizado sobre una plantación ilegal de cannabis en Nuevo México.

Además del episodio ocurrido en Seveso (véase más adelante), citaremos dos ejemplos relacionados:

En marzo de 1999, se originó gran mortandad de pollos en varias granjas belgas; se descubrió que los piensos consumidos habían sido enriquecidos con grasas de diversa procedencia, como aceite de transformadores eléctricos con bifenilos policlorados (PCB), los cuales por calen-

tamiento también generan dioxinas. Los estados europeos suspendieron el comercio de pollos y huevos belgas durante seis meses; afortunadamente, la alarma producida por la muerte de los pollos evitó intoxicaciones humanas.

En septiembre del año 2004, Víctor Yushchenko, candidato a la presidencia del gobierno de Ucrania, fue envenenado, desarrollando cloroacné, hinchazón y desfiguración del rostro, que le quedó con señales como las de la viruela, etc. En laboratorios de Viena y Amsterdam se descubrió en su sangre altas concentraciones de dioxinas (TCDD).

1971 **EE UU.** Se registró un número indeterminado de aparición de adenoma vaginal en muchachas de 14-22 años, cuyas madres habían recibido tratamiento con dietilestilbestrol (DES) en el primer trimestre de gestación para evitar el aborto espontáneo.

1970-2000 **Costa Rica, Costa de Marfil, Ecuador, Filipinas, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá, República Dominicana, etc.** Se calcula que unos 50.000 trabajadores agrícolas, principalmente en cultivos de bananas, fueron afectados por el uso del insecticida (nematocida) DBCP (1,2-dibromo-3-cloropropano), más de 20 años después de haberse prohibido en EE UU. Se demostró (mediante espermiograma) la inducción de esterilidad y trastornos psíquicos consecuentes, y se le atribuyeron tumores, ceguera, atrofia muscular, diabetes, etc., con correlación entre las patologías y el tiempo de exposición.

1975 **Afganistán.** Treinta y cinco mil personas se intoxicaron por alimentos contaminados por *Hellotropium popovi*, que contiene alcaloides pirrolizidínicos, causantes del síndrome veno-oclusivo.

1976 **Italia,** comarca de Seveso. Escape de tetraclorodibenzo-p-dioxina de una fábrica de productos farmacéuticos que estaba preparando triclorofenol. Se pro-

dujo un número no bien conocido de intoxicaciones (más de 5.000) de diversa gravedad y evolución, y se autorizó la provocación de abortos por temor a las posibles teratogénesis.

1977 **India.** 268.000 neurointoxicaciones y porfirias registradas, consecuentes al consumo de harinas procedentes de granos tratados con el fungicida hexaclorobenceno.

Ya en 1956 se habían registrado intoxicaciones similares en Turquía, y posteriormente casos aislados en diferentes países, de niños intoxicados por este producto añadido al polvo de talco; ello dio lugar a la prohibición de este aditivo en cosméticos.

1977 **Los Ángeles, EE UU.** Seis millones de automóviles y la industria de la zona lanzan al aire diariamente 700 toneladas de contaminantes, principalmente óxidos de nitrógeno (NO_x), ozono (O₃) e hidrocarburos que, al reaccionar por la actividad lumínica, constituyen lo que se denominó *smog fotoquímico*.

1978 **España.** Unas 200 intoxicaciones, con varias muertes, producidas por la adición, en Extremadura, de arseniato sódico en lugar de citrato sódico, a un vino para controlar la acidez.

1980 **Buenos Aires.** Los pediatras diagnostican varios casos de acrodinia (enfermedad multiorgánica, que se manifiesta por parestesia y trastornos de la sensibilidad en las extremidades, con enrojecimiento, erupción y exfoliación de la piel y afectación renal) y alertan sobre una posible contaminación mercurial, que se confirma por el hallazgo de altos niveles de mercurio en la orina de los niños. Una inteligente investigación sanitaria descubre que una lavandería de pañales los había tratado con fenilmercurio, como medio de protección antifúngica, lo que expuso a un número de lactantes comprendido entre 7.000 y 10.000 al tóxico. Afortunadamente no murió ningún niño, y a los dos años se

comprobó que los 23 más afectados habían recobrado la normalidad clínica y analítica.

- 1981 **España.** *Síndrome del Aceite Tóxico*, epidemiológica y oficialmente (OMS) reconocido como debido a un aceite de colza desnaturalizado con anilina, destinado a usos industriales. Se registraron más de 24.396 casos (unos 584 mortales), de cuadros con muy lenta evolución, que comenzaba por una enfermedad pulmonar (neumonía atípica), pasaba por afectaciones cutáneas (prurito, urticaria, exantema, esclerodermia, síndrome de Sicca), pérdida total de grasa corporal y de masa muscular (que ocasionaba insuficiencia respiratoria) y neuropatía periférica; pacientes que sobrevivieron bastante tiempo, generalmente gracias a atención fisioterapéutica, desarrollaron cánceres.

El aceite, procedente de países de Europa central, se importaba en España con destino a la industria metalúrgica, y para evitar su uso alimentario, al que se aplicarían mayores impuestos, se le añadió en la aduana, si no lo llevaba ya adicionado, el colorante anilina, que por oxidación adquiere color oscuro y olor desagradable, a pesar de lo cual, pero gracias a su bajo precio, fue consumido por numerosas personas.

Por rigurosos estudios epidemiológicos se comprobó que aproximadamente a la semana de la ingestión y, generalmente, tras varias tomas, aparecían los síntomas en la secuencia señalada, comprobándose que los aceites consumidos contenían anilidas grasas (derivadas de la reacción de anilina con los diferentes ácidos grasos de los aceites) en concentraciones superiores a 700 ppm. También se detectaron en los aceites, pero en muy pequeña proporción, y se lograron sintetizar, unos productos de reacción del glicerol de los triglicéridos con la anilina (aminoglicéridos), que resultaron ser de elevada toxicidad.

A pesar de los numerosos estudios efectuados en diversos laboratorios españoles y extranjeros, no se logró reproducir el síndrome en animales de experimentación, aunque sí, y en diversas especies, diversos síntomas aislados, cuando se les administraba los aceites implicados o anilidas obtenidas por síntesis. Años antes, un laboratorio farmacéutico japonés había sintetizado y experimentado diversas anilidas como fármaco hipolipemiante. Se desecharon por descabelladas y sin base epidemiológica alguna propuestas de otros agentes causales, como virus, metales, armas químicas, plaguicidas, etc.

De las diversas hipótesis fisiopatológicas que se propusieron y estudiaron, la que se mantuvo por más tiempo fue la inmunitaria.

- 1984 **India.** *Tragedia de Bhopal*, que se dijo afectó a 200.000 personas, con 3.800 muertos, a causa del escape de metilisocianato de una fábrica de agroquímicos.

El gas es un violento irritante de las mucosas oculares y respiratorias y por hidrólisis genera ion CN^- .

- 1985 **Austria.** Se intoxican 21 personas por ingestión de un vino blanco que había sido endulzado con dietilenglicol.

- 1987 **Olavarria** (Argentina). Un plaguicida arsenical (arsenito sódico), habitualmente usado en el medio rural para progenar al ganado de la picadura de insectos, contaminó grandes cantidades de carne y productos cárnicos, al parecer tras un robo en una carnicería. Se produjo intoxicación aguda de unas 720 personas, alguna de las cuales requirieron tratamiento con BAL.

- 1989 **EE UU.** Se utilizaba el aminoácido L-triptófano como medicamento antidepresivo (práctica ahora prohibida) y como suplemento dietético con fines anabolizantes entre gimnastas culturistas, pero el laboratorio farmacéutico japonés que lo fabricaba, mediante un proceso de biosíntesis fermentativa,

- modificó por ingeniería genética la bacteria responsable, y el producto resultó contaminado con un dímero del triptófano. Se afectaron unas 5.000 personas, 1.500 quedaron con daño permanente y 37 murieron a causa de un *síndrome de eosinofilia-mialgia*, caracterizado por aumento de eosinófilos, intenso dolor muscular, trastornos neurológicos, inflamación generalizada, lesiones esclerodermiformes, fatiga, hipertensión pulmonar, etc.
- 1990 **Bangladesh.** Se intoxican 300 personas, con 200 fallecidos, por dietilenglicol en un jarabe de paracetamol.
- 1990 **Nigeria.** Nueva intoxicación por dietilenglicol en jarabe de paracetamol, con 109 fallecimientos.
- 1992 **Argentina.** Se producen 25 fallecimientos por un tónico con dietilenglicol.
- 1992 **Uruguay.** Se registran 118 intoxicados (trastornos gastrointestinales, auditivos y renales) por el uso de bromato potásico como aditivo (blanqueante) en panadería y pastelería.
- 1992 **Alicante** (España). En una empresa textil en que se realizaba estampación de tejidos mediante pintura a pistola de aire, 116 trabajadores desarrollan una neumonía organizada, con fibrosis intersticial y disminución de la función respiratoria; seis de los pacientes fallecieron. La aparición del brote coincidió con la introducción en la pintura de un producto plástico resultante de la reacción del ácido adípico y la dietilentriamina, que parece que también está relacionado con un brote de enfermedad respiratoria similar localizado en Orán (Argentina).
- 1995 **Tokio** (Japón). El día 20 de marzo, miembros de una secta religiosa (¿) japonesa denominada «del juicio final» vierden, en trenes de tres líneas del metro de Tokio, el compuesto organofosforado, considerado gas de guerra, sarin GB (isopropil-metil-fluorofosfonato), lo que afectó a 5.500 personas de las que fallecieron 12; aparte de las lesiones en aque-
- llas, muchas requirieron posterior tratamiento psicológico. Afortunadamente, no se aplicó el producto en forma de aerosol que hubiera sido mucho más dañino.
- 1995-96 **Haití.** Fallecen 89 personas, principalmente niños, con un jarabe de paracetamol con dietilenglicol.
- 1998 **India.** 33 muertes por un jarabe con dietilenglicol (véanse años 1937, 1985, 1995, 2006 y 2007).
- 2002 **Nanjin** (China). Más de 300 personas se intoxicaron (100 muertes) con el raticida tetramina (tetrametilen disulfotetramina), que posee un efecto antagonista del gamma-amino butirato (GABA), por bloqueo de sus receptores; aunque el efecto puede ser reversible, provoca inicialmente estimulación sobre el sistema nervioso central y corazón, seguido de desvanecimiento, pérdida de conciencia, temblores, convulsiones, espuma en la boca, incontinencia, y muerte. La dosis letal media (DL 50) en mamíferos es de 0,1 mg /kg. Al parecer, el veneno fue añadido a unos bizcochos por el primo del propietario del fabricante, celoso del éxito de éste; el autor fue ejecutado a los pocos días.
- 2002 **Moscú** (Rusia). Unas 150 personas, entre secuestradores y rehenes murieron, y sobre 700 rehenes presentaron intoxicación grave, durante el asalto por unidades especiales de la policía rusa en un teatro moscovita, mediante el uso de gases narcóticos cuya naturaleza no fue revelada ni siquiera a los médicos que trataron a los intoxicados, y cuyo uso parece que había sido desaconsejado por expertos. El Ministerio de Sanidad ruso admitió muy posteriormente que se trataba de un derivado del fentanilo, lo que fue confirmado por análisis toxicológicos realizados en Alemania a intoxicados de este país; el tratamiento con naloxona había resultado efectivo; también se habló de otros gases, como el éster bencílico de hidroxiquinuclidina, también conocido como BZ y como QNB, agente incapacitante.

- 2006 **León** (Nicaragua) y otras localidades rurales. Unas 1.000 personas resultaron intoxicadas, casi 100 fallecieron y numerosos quedaron ciegos o con lesiones permanentes, como consecuencia de la ingesta de un aguardiente popular de venta a granel conocido como *guaro o guarón o lijo guarón*, con alto contenido de alcohol metílico posiblemente obtenido por destilación de madera.
- 2007 **Panamá**. Panamá. Se registran unos 15.000 posibles intoxicados con 116 muertes a causa de la presencia de dietilenglicol en diversos medicamentos preparados por la Caja de la Seguridad Social, como un jarabe expectorante antigripal, otro jarabe antihistamínico anticatarral con difenhidramina, una pasta dérmica con calamina, etc. (véanse años 1937, 1985, 1995 y 1998). Posteriormente, y en diversos países, se han detectado y retirado del mercado pastas dentífricas y diversos cosméticos, fabricados en paísi se de economía emergente y escasos controles de calidad, que contenían dietilenglicol.

Y si de los *desastres tóxicos humanos* pasamos a referirnos a las *tragedias ecotóxicas* debidas a la afectación de los ecosistemas por la llegada más o menos accidental de productos químicos, tenemos suficiente con recoger algunos de los ocurridos en 1986:

- España: Reserva Biológica de Doñana, con la muerte de más de 20.000 aves acuáticas por insecticidas.
- Suiza: Incendio en una fábrica de plaguicidas de Basilea y llegada al río Rhin de productos procedentes directamente de la fábrica y arrastrados por la lluvia, con la práctica eliminación de la vida animal y vegetal de una parte del río.
- Australia: incendio en la ciudad de Sidney, en otra fábrica de productos químicos.
- Rusia: Chernobyl: accidente en planta nuclear que no sólo afectó y alarmó a parte de Europa, sino que al parecer sirvió de pantalla para encubrir otros escapes radiactivos ocurridos por entonces.

En 2006, a los veinte años de la catástrofe, un informe de la OMS (IAEA/WHO, TORCH Report, 2006) calcula que, además de las personas que fallecieron cuando el accidente, en este período de tiempo han muerto de cáncer unas 9.000 personas, principalmente entre los trabajadores que participaron en los rescates y, además, unas 5.000 que eran niños y adolescentes cuando la explosión han desarrollado cáncer de tiroides, el tejido más sensible a aquél tipo de radiaciones (yodo radiactivo), leucemia, afecciones diversas en el sistema inmunitario, nervioso, circulatorio, respiratorio, etc., y se estima que en los próximos años fallecerán unos 4.000 más (véase *Agentes físicos*, Cap. 2). Otras instituciones rebajan grandemente estas cifras, pero otras distintas las elevan considerablemente. En cuanto al impacto medioambiental, casi todos los informes coinciden en que la zona aún contaminada (Bielorrusia) es de unos 150.000 km cuadrados (la tercera parte de España), y está presente en la tierra, el agua y los árboles, aunque los bosques de coníferas próximos a la central nuclear se talaron completamente.

Y por citar sólo dos catástrofes ecotóxicas más recientes:

- 1998 **Aznalcollar** (España). En la citada población, a 35 Km. de Sevilla, se rompe una presa que retiene los desechos del proceso de separación por decantación en una mina, que se explota desde la época romana. La rotura vierte a los ríos Agrio y Guadimar unos 4,5 hectómetros cúbicos de aguas y lodos y se afectan 4.400 hectáreas, con amenaza del Parque Nacional de Doñana y a la selecta fuente piscícola y marisquera de la desembocadura del río Guadalquivir. Las altas concentraciones de metales, especialmente de arsénico, plomo, cobre, cinc, antimonio, cadmio, etc. provocan la degradación de la zona; en 2001 aún se mantiene la contaminación, y en enero de 2002 se lamenta la UNES-

CO; el gobierno regional planifica un «corredor verde» permanente de 40 Km. de longitud y hasta 1 de ancho, sin aprovechamiento agrícola ni ganadero.

2005 **China.** El 13 de noviembre, la explosión en una planta petroquímica próxima a la ciudad de Harbin, al NO de China, provoca la contaminación del río Amur, uno de los seis más largos del mundo, y afec-

tación del río Songha que prosigue hacia Rusia. El desastre se acompaña de otro similar en Chongqing, en el centro del país, que vierte al Yangtsé. Se pone en peligro un amplio territorio, incluyendo la zona rusa próxima, ríos y lagos, con unos 1,2 millones de personas, a quienes se aconseja no utilizar el agua ni la pesca en dos meses.

1

DESARROLLO Y EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA TOXICOLOGÍA

PERIODO PRIMITIVO. EDAD ANTIGUA

El veneno en la caza, la mitología y el delito

Puede decirse que cada época histórica ha tenido su tóxico, y que los venenos han desempeñado un importante papel en la historia, sea con fines positivos (caza, exterminio de plagas o animales dañinos, medicamentos, etc.) o con fines criminales, lo cual ha hecho que su estudio, es decir, la toxicología, se haya desarrollado gradual y paralelamente a estas prácticas.

Es de suponer que el hombre prehistórico ya tuvo conocimiento de propiedades tóxicas de algunas sustancias minerales, animales o vegetales. La experiencia ha enseñado al hombre qué sustancias resultan perjudiciales y cuáles no lo son tanto, y algunas de ellas fueron empleadas por el hombre primitivo para la caza y, posteriormente, con fines euforizantes, terapéuticos o criminales.

Muy probablemente fueron los productos de origen vegetal los tóxicos primeramente manejados. Así, en algunos palafitos de la Edad del Bronce se han encontrado frutos del *papaver*.

Investigaciones arqueológicas de G. Saint-Hilaire y Parrot han proporcionado conocimiento sobre el empleo de tóxicos por los hombres del Paleolítico, que impregnaban las puntas de lanzas o flechas con diferentes sustancias. Aun

hasta nuestros días, los bosquimanos de África han seguido utilizando para ello mezclas de *Amaryllis distichia*, varias especies de *Euphorbium* y *Acocanthera*; algunos pueblos utilizaron también venenos de serpientes y de araña negra. Otras tribus africanas han empleado desde tiempo inmemorial semillas de *Strophantus hispidus* o *Strophantus kombe*. Aristóteles (384-322 a.C.) apunta el uso del veneno de víboras, y Estrabón (63-20 a.C.) el de peces. Dioscórides (siglo I) cita el uso del tejo y el eléboro (tetanizante e hipotensor), también usado por los castellanos con el nombre de «yerba de las ballestas», y como expone Scarlato (2007) se observa claramente una diferenciación regional en el uso de estos venenos; en Japón el acónito, en Oceanía los tetanizantes y sofocantes, y en América una gran diversidad, como tuvieron ocasión de comprobar los descubridores. En la zona del Amazonas se usa preferentemente el curare y el estrofantó en las «flechas herboladas», en Colombia, Panamá, Nicaragua, Costa Rica, sur de Venezuela, Guayana, etc., se emponzoñaban flechas con ácaros (que contienen numerosos alcaloides) y venenos de reptiles, como la rana dorada, sapo minero, etc. (*Dendrobates auratus* o *tinctorius*, *Phyllobates terribilis* o *bicolor*) en que los indios clavaban flechas y ponían cerca del fuego, para que con el calor segregara el veneno. Y en América del Norte, los pieles rojas y mexicas aplicaban los venenos de serpientes y alacranes.



Figura 1.1. Papiro de Ebers (aprox. 1500 a. C.). Escrito en caracteres hieráticos (escritura jeroglífica culta egipcia). Se conserva en el museo de Leipzig (Alemania).

Se sabe que el emperador del Japón Shen-Nung (3.500 a.C.) poseía un jardín botánico con plantas medicinales y tóxicas; posteriormente los japoneses extraían un cardiotóxico del crisantemo. En Egipto de los faraones se utilizaban diversos tóxicos cuyo conocimiento estaba reservado a los sacerdotes, como ocurría en muchas tribus primitivas.

El veneno más clásico de todos los tiempos ha sido el arsénico, en forma de diferentes compuestos, y ya figura en lo que se tiene por el texto de medicina más antiguo, escrito hace más de cuatro mil años en tablillas de barro encontradas en Mesopotamia por el norteamericano Samuel S. Kramer en 1956. En el *Papiro de Ebers* datado hacia el año 1500 antes de Cristo, (descubierto por el egiptólogo alemán Georg Ebers) se encuentra la documentación escrita más antigua acerca de medicamentos y de venenos, con referencias a plomo, antimonio, cobre, cáñamo índico, *papaver*, conina, acónito, hioscina, helebro, opio, etc. De la misma época es el papiro egipcio de Hearst, con referencias al veneno de las serpientes y de otros animales.

En el *Papiro de Saggarah* se hace referencia a las propiedades tóxicas de la almendra amarga, que, según el *Papiro del Louvre*, resulta ser el ejemplo más antiguo del uso de un veneno como medio de ejecución.

En los libros Veda (1500 a. C.), especialmente en el *Ayurveda* o libro de la Ciencia de la Vida, se encuentran citados algunos venenos y se dan recomendaciones para la terapéutica de envenenamientos con antidotos a base de miel, mantequilla, asafétida, etc. En la parte del Ayurveda denominada *Surusta*, se citan venenos vegetales como el oleandro y minerales como el arsénico y el mercurio, y se habla ya de acciones abortivas.

Salomón (972-929 a. C.) en sus *Proverbios* describe perfectamente la embriaguez alcohólica.

Tanto la mitología oriental, como la griega o la romana hacen frecuente empleo de tóxicos, aunque, como dice Mata: «Los dioses no envenenan ni hacen envenenar, por ser este recurso infame e indigno de la majestad de un dios». Se refiere a los dioses de la Tierra, porque los del Mar sí intervienen en suicidios y envenenamientos mitológicos. De todas maneras, las alusiones al tema son frecuentes:

[...] de la grieta del Parnaso, donde estaba el Oráculo de Delfos, se desprendía el ácido carbónico, y en algunos sitios el sulfhídrico, gases que aportaban sus propiedades farmacodinámicas a las ceremonias. [...] Una de las flechas de Hércules envenenada con sangre de la hidra de Lerna hirió al centauro Chirón. [...] El cazador Orion fue mordido por una serpiente venenosa. [...] Este mismo animal muerde a Eurídice cuando huye para casarse con Orfeo...

También encontramos que Anfitrite, celosa de Neptuno, envenenó las aguas donde se bañaba la ninfa Escila.

La laguna Estigia exhalaba gases deletéreos y era considerada como infernal.

Pero también en la tierra mitológica, la esposa de Orfeo, Eurídice, muere a causa de la mordedura de una serpiente, y la historia de Hércules repite una serie de envenenamientos, e incluso su misma muerte fue por intoxicación al ponerse la túnica mojada en la sangre del centauro Neso.

La historia mitológica de Medea es la de una envenadora de oficio, como lo sería, históricamente, Locusta.

Encontramos en la mitología un suicidio por intoxicación, el de Estenobea, y los asesinatos de Glauce, Teseo, Ciro, etc.

Por su parte, la *Biblia* recoge homicidios y suicidios, e incluso leemos la recomendación de Moisés de limpiar bien de cardenillo los utensilios de cobre. En el *Éxodo* (7:20-21), al describir las plagas de Egipto, se recoge que *las aguas del Nilo se volvieron rojas y no se podían beber*, lo que ha sido interpretado como la primera referencia a una *marea roja* por microalgas; idéntica interpretación puede hacerse de la cita del explorador e historiador Álvarez Núñez Cabeza de Vaca, al anotar (1536) que en el México precolombino se relacionaba el comienzo del año con la llegada de las mareas rojas, lo que supondría un carácter cíclico de éstas, aún no demostrado.

No puede olvidarse el establecimiento en Grecia del «Veneno del Estado», principalmente la cicuta, como medio de ejecución, y Platón registró el cuadro clínico de la ejecución de Sócrates (399 a. C.) con notable exactitud, y que a Alejandro Magno su propio médico lo intentó envenenar (331 a. C.).

Hipócrates (460-377 a. C.), llamado el padre de la Medicina, incluye en su famoso *Juramento* que «... jamás me dejaré inducir a administrar a nadie un veneno o un medicamento que conduzca a la muerte o al aborto...»

Teofrasto (371-287 a. C.), el más célebre discípulo de Aristóteles y el botánico mejor conocido de la Antigüedad, describió las plantas de su tiempo señalando algunas venenosas.

Dos poemas debidos a Nicander y Colofón (185-135 a. C.), aunque en gran parte fantásticos, están basados en observaciones y experiencias de tipo toxicológico; así *Alexefármica* refiere las propiedades tóxicas de varias sustancias, en tanto que en *Theriaca*, término que vino a significar antídoto, se alude a tratamientos de intoxicados.

Muy familiar es la leyenda de Mitrídates VI, rey del Ponto, (120-63 a. C.), quien por miedo a ser envenenado a consecuencia de sus conflictos con Roma, tomaba regularmente pequeñas pero crecientes cantidades y mezclas de venenos para hacerse resistente a los mismos pero, tras ser derrotado por Pompeyo, al querer suicidarse, no lo consiguió por encontrarse inmunizado, y hubo de pedir a un soldado que lo matara con su espada.

En su honor se denominaron mitridáticos o mitridatos a mezclas preventivas compuestas por gran número de ingredientes y confeccionadas con ritos místicos y encantamientos, y que se usaron como remedios preventivos contra la peste, las fiebres malignas y las mordeduras de los animales venenosos y envenenamientos. Una de las más populares prescripciones de este tipo, la llamada «*Eltheriac*» de Andrómaco, se componía de 60 ingredientes.

Por su parte, Dioscórides (40. d. C.), médico de Nerón, hizo un interesante aporte toxicológico en su *De Universa Medica* al discutir sobre venenos y antídotos, agrupándolos según su origen vegetal, animal o mineral.

Los romanos también hicieron de los venenos un uso político, y la corte del emperador solía tener un envenenador oficial. Éste es el caso de Locusta, una esclava que fue condenada por asesinato, pero una vez indultada se convirtió en experta envenenadora al servicio propio y del Estado. Fue encargada por Agripina para envenenar al emperador Claudio, su marido, al parecer con *Amanita phalloides*, y ayudó a Nerón a eliminar a su hermanastro Británico. El uso doméstico común de los venenos por las mujeres romanas dio lugar a la *Ley Cornelia* (81 a. C.), por la cual si el convicto de envenenamiento era patricio se le confiscaban sus propiedades y se le desterraba, mientras que si se trataba de un plebeyo se le condenaba a muerte.

A pesar de esto se llegó a refinamientos insospechados, especialmente en la forma de administrar el tóxico; en las excavaciones de Pompeya se han encontrado sortijas con cavidades para contener el veneno y con punzones disimulados para su inoculación. Los compuestos de arsénico eran los más utilizados, aunque también se empleaba el acónito, el beleño y el cólico. También usaron el polvo de cantáridas como afrodisíaco.

EDAD MEDIA (SIGLOS V-XV)

Para los árabes, herederos de la medicina griega, la cual desarrollaron con su química práctica mediante la preparación y extracción de medicamentos, tras inventar tres de las operaciones básicas de la química: destilación, sublimación y cristalización, no fueron desconocidos los venenos.

Así, el más prominente de los médicos árabes, Avicena (980-1037), nacido en Persia y conocido como el Príncipe de los Médicos, dedica el libro V de su *Canon de Medicina* a tratar las drogas y sus prescripciones; al final de su vida se permitió una existencia desordenada y murió intoxicado por un midriático preparado con opio.

El sabio sufí, nacido en Murcia y viajero continuo de España a Persia, Jabir ibn Hayyan, Gabir o Geber para los occidentales, en su *Libro de los venenos* de los tres reinos, mineral, vegetal y animal, establece cinco clases de espíritus: azufre, arsénico, mercurio, amoníaco y alcanfor, y reflexiona sobre la dosis tóxica.

Por su parte, el filósofo y médico judío español Moisés ben Maimón o Maimónides (Córdoba, 1135-1204) escribe en árabe ampliamente sobre medicina y farmacia; en su libro *Los venenos y sus antídotos* (1198), da consejos para evitar las intoxicaciones y prescribe su tratamiento. Pocos años después (1240) Federico II, emperador de Alemania y rey de Sicilia, promulgó un edicto por el que separaba la Medicina y la Farmacia, y se reglamentaba el ejercicio de ésta.

En la Edad Media se prodigaron extensamente los envenenamientos criminales y comenzó a hacerse sentir la necesidad de establecer una toxicología médico-legal. Las pruebas para descubrir envenenamientos se basaban en la observación de alguna coloración desusada del cadáver, anormal putrefacción, incombustibilidad del corazón, etc., síntomas muchas veces confundibles con los de enfermedades infecciosas. A pesar de ello, eran populares ingeniosos venenos, y la obra sobre venenos de Pietro de Albano, profesor de Ciencias en la Universidad de Padua, alcanzó amplia difusión, para tratarse del siglo XV, con catorce ediciones.

Existe abundante literatura sobre la difusión de los envenenamientos criminales en la Italia del siglo XV, y en algunas obras se destaca a la familia Borgia entre los mejores especialistas.

De la familia española Borja, Alfonso (1378-1458) era profesor de Derecho cuando fue nombrado obispo de Valencia y más tarde cardenal en Roma (donde italianizó su apellido a Borgia) y finalmente, papa con el nombre de Calixto III. Se llevó a Roma a su sobrino Rodrigo, diplomático y también cardenal y papa con el nombre de Alejandro VI; muy mujeriego tuvo numerosos hijos, en-



Figura 1.2. Hermanos Rodrigo y Lucrecia Borgia.

tre ellos, César, cardenal (aunque renunció) y militar y cortesano de éxito (apodado *Valentino*), y Lucrecia, con historia o leyenda de amoríos, incluso incestuosos con su padre y hermanos, intrigas y uso de venenos, generalmente constituidos por compuestos arsenicales y restos de animales (*ptomainas*).

Se llegó a decir que el papa Borgia, Alejandro VI, envenenó a varios de sus cardenales y él mismo fue víctima de envenenamiento, aunque en recientes trabajos aparece como inocente, y su propia muerte atribuida a una enfermedad febril, probablemente paludismo.

Es lógico pensar que los Borgia quizá no hicieron mayor uso de los venenos que algunos gobernadores de la escuela de Maquiavelo, ya que durante esta época el veneno fue un arma común en la vida social y política de las cortes europeas, particularmente de Francia e Italia; en los primeros dos tercios del siglo XV, murieron envenenados nueve sucesores de Carlomagno y cinco papas.

Alrededor de 1420, el Consejo de los Diez, de Venecia, tenía una escala o baremo de precios para el envenenamiento de las gentes; el valor dependía del rango de las víctimas y de la dificultad de aproximación al sujeto. En las actas de sus reuniones se reflejan las deliberaciones y las remuneraciones correspondientes a la eliminación de ciertas personas; el éxito de la operación se marcaba en el margen del archivo con la palabra *factum*, y los venenos más comúnmente empleados eran arsenicales, sublimado corrosivo y acónito.

Durante este periodo, la semiología toxicológica avanzó poco, y la detección de los envenenamientos era difícil porque se confundían los síntomas con los de muchas enfermedades. Los

alimentos defectuosamente preservados se sazonaban fuertemente y ello enmascaraba más fácilmente el sabor del veneno. La única operación de toxicología analítica consistía en dar de comer a un animal los restos del alimento sospechoso.

Por ello, la única forma de descubrir al envenenador era atraparlo en el momento de contaminar el alimento; de aquí que durante los siglos XVI y XVII los envenenamientos llegaran a constituir una seria amenaza pública en Italia, Francia, Holanda e Inglaterra; puede encontrarse una detallada relación de estos hechos en *Poisons and Poisoners*, de C. J. S. Thompson (1931).

Como la ya citada familia Borgia, la de los Médici también alcanzó notoriedad en el uso de los venenos; se cuenta que Alejandro, Duque de Florencia envenenó a su propia madre, y Catalina (1519-1589), sobrina del papa Clemente VII, tras casarse con el que después fue rey de Francia como Enrique II, introdujo en este país los métodos italianos, y experimentaba con los pobres la efectividad y dosificación de los venenos; también llevó a Francia, además de los perfumes florentinos, la costumbre de introducir en la comida un trozo de cuerno de unicornio (rinoceronte) para, según se decía, destruir cualquier tóxico. Iguales propiedades se atribuían a las piedras de *bezoar*, concreciones de origen biliar que se extraían del intestino de animales, generalmente cabras, hasta que el rey Carlos IX, hijo de Catalina, instigado por su médico, el prestigioso Ambrosio Paré, ordenó que se hiciera una experiencia con un preso, al que un boticario administró bicloruro de mercurio y seguidamente bezoar, que no contrarrestó la intoxicación, demostrándose la ineffectividad del «antídoto». En Praga se realizó una experiencia similar con un condenado (1565) que, por supuesto, también murió.

La actividad más próspera de la época se desarrolló en el sur de Italia, incluida Sicilia. El más famoso de estos delincuentes fue una mujer, llamada Toffana, residente en Nápoles, a quien se hizo responsable de la muerte de varios cientos de personas (unas 600) entre las que se citan los papas Pío III y Clemente XIV. Su principal preparación era el *acqua toffana* que por la sintomatología que ha llegado hasta nosotros parece que estaba constituida por arsénico y cantáridas; se embotellaba en frascos que mostraban la imagen

de algún santo, normalmente san Nicolás de Bari, nombre asociado al de un manantial cuyas aguas parecían tener notables propiedades curativas. Fué ajusticiada en 1719.

Por el mismo tiempo aparece otro famoso veneno, conocido como *acquetta* de Peruzzia, el cual se preparaba espolvoreando con arsénico vísceras de cerdo; los líquidos de la putrefacción disolvían el arsénico, a cuya toxicidad se unían las ptomaínas (gr. *ptoma*, cadáver) producidas.

Una seguidora de Toffana fue Jerónima Spara, que operó en Roma hacia 1659 y encabezaba una sociedad secreta integrada principalmente por jóvenes casadas pertenecientes a algunas de las más opulentas familias. En reuniones regulares celebradas en casa de Spara se obtenían venenos e instrucciones para su uso. La extraña relación de jóvenes viudas con Spara promovió una investigación que concluyó con el ahorcamiento de Spara y doce mujeres más y el azote público de muchas otras.

Otro envenenamiento legendario es el de Ladislao, rey de Nápoles, de quien se dice que murió a consecuencia de una intoxicación arsenical, producida durante el coito por un algodón impregnado en el veneno y que su amante se había colocado en la vagina, quien previamente se había inmunizado mediante dosis progresivas del tóxico.

Según otra leyenda la muerte de Ladislao (1414) se produjo a causa del veneno que su hija llevaba en los labios.

EDAD MODERNA (SIGLOS XV-XVIII)

Primeros estudios toxicológicos

En el apartado anterior hemos citado las primeras obras en que se aludía a las sustancias tóxicas, pero es a partir del siglo XV cuando encontramos ya una intención de aproximación científica. Relacionaremos a continuación las principales publicaciones.

En 1472 apareció un libro de Fernando Panzzeti.

El célebre alquimista Arnaldo de Villanueva escribió el *Tractatus de arte cognoscendi venena cum quis timet sibi ea administrare*. Santos de Ardonis, en 1592, en Venecia, el *Opus de Venenis*.

Jerónimo Mercurial, profesor de Bolonia, escribió el *De venenis et malis venenosis*.



Figura 1.3. Paracelso (Theophrastus Phillipus Aureolus Bombastus von Hohenheim) (1491-1541) y su *Tercera Defensa*.

De considerable interés histórico son los trabajos de Paracelso sobre el éter y la yatroquímica, con sus estudios sobre las dosis; se anticipó a señalar la posibilidad de que ciertos venenos administrados a dosis adecuadas podían actuar como medicamentos. Su verdadero nombre era Teofrasto von Hohenheim (1491-1541) y, al parecer, aceptó sin entusiasmo el nombre de *Paracelso* en honor del médico romano Celso, o según también se dice fue así llamado para indicar que estaba «próximo al cielo»; recorrió toda Europa antes de establecerse en Basilea.

Paracelso fue el primero que utilizó el concepto de dosis con un sentido cuantitativo; empleó como medicamentos cantidades apropiadas de extractos de heléboro, alcanfor, convalaria, menta, etc., y sustancias ya entonces reconocidas como tóxicas, tales como derivados de arsénico, mercurio, plomo y antimonio (tártato emético, uno de sus favoritos), para el tratamiento de diversas enfermedades, como la sífilis, por lo que fue acusado. En 1564 publicó una *Trilogía* dedicada a

Drey Bücher/ Durch den Hochgeler

ten Herrn Theophrastum von Hohenheim/ Paracelsum genant; beider Erzney Doctorn/ den Hochwürdigsten/ Hoch vñ Ehrwürdigen/ Wolgebomen/ Gefirengen/ Hochgelerten/ Edlen/ Vesten/ Fürsichtigen/ Erfamen/ Erbaren vñ Weisen/ Erzbischoffen/ Bischoffen/ Prelaten/ Grauen/ Freyherrn/ Ritteren/ vom Adel/ vñ Landtschafft des Erzherzogthums Kärnten ic. zu ehren geschriben.

Das erst Büch/ die verantwortung vber etlich verurtheilung seiner mißganner.

Das ander/ von dem Irthum vñ Labvrinth der Arzten/ das sey in andern Büchern lehren solten dann bißher geschehen.

Das dritt/ von dem vrsprung vñ herkommen der Caritarischen Krankheiten/ nach dem alten namen vom Stein/ Sandt oder Gries/ auch heilung der selbigen.

Darbey ist vorn ersten Büch ein wahrhafter kurtzer außzug der Kärntischer Chronik.

gedruckt zu Völin/

Durch die Erben Arnoldi Spörmanni.

ANNO 1564.

Mit Kay. Mayest. Enad vñ Freyheit.

Portada de la Trilogía Carintia, que incluye la Tercera Defensa de Paracelso (Colonia, 1564). Biblioteca Walleriana, Upsala, Suecia.

las autoridades de Carintia (Austria); la primera parte de la obra consiste en las *Siete Defensas*, de las que la más conocida es la *Tercera Defensa*, en que hace una apología del uso de venenos con sus prescripciones y establece uno de los más importantes pensamientos toxicológicos de todos los tiempos, lamentablemente olvidado con harta frecuencia. Aunque escrito en alemán, se hizo famosa la traducción latina anotada al margen:

- ¿Hay algo que no sea veneno?
- Todas las cosas son veneno y no hay nada que no lo sea.
- Solamente la dosis determina que una cosa sea o no veneno:
dosis sola facit venenum.

Merece la pena añadir aquí el pensamiento de un toxicólogo oriental del siglo pasado (Jeyaratnam, Sri Lanka, 1980):

*No hay sustancias inocuas,
sólo hay formas inofensivas de manejarlas.*

aunque, como también había escrito el inglés Peter M. Latham (1789-1875): *medicamentos y venenos son a veces las mismas sustancias administradas con diferente intención*.

En 1527, la obra de Matthioli de Siena alude a los polvos del archiduque de Austria como contra-veneno del arsénico, cuya virtud, según Rogneta, residía en el vino con el cual se administraba.

Un autor notable del siglo XVII es Fabricio de Hilden, con su obra *Opera Omnia*, que habla de los vapores malignos que el arsénico envía a las vísceras nobles y que por las venas llegan al hígado, por las arterias al corazón, y por los nervios al cerebro.

Zachias, en su *Medicina legal*, discute el valor de la cantidad de tóxico que se encuentra en los cadáveres, habla de las vías de penetración y de la absorción por las mucosas, afirmando como principio general que si el veneno no es absorbido no produce ningún efecto aunque se introduzca en el cuerpo.

Un autor del siglo XVI, Chioco, se preocupó por la posibilidad de que se produzcan venenos con los humores del cuerpo humano, y Reies (siglo XVII) se interesaba acerca de si era posible alimentarse con veneno y si se podrían comer animales envenenados. Courten realizó experimentos toxicológicos en animales, en tanto que Antonio de Trilla publicó en Toledo su *Tratado general de todas las tres especies de venenos, como son, de minerales, plantas y animales*.

En el siglo XVIII encontramos un creciente número de autores que se van preocupando cada vez más por la toxicología. Mead, Sindor y Neuman aplican a la doctrina de los venenos la yatomatemática y la quimiatria. Gestoldy se pregunta si hay diferencias esenciales entre los distintos venenos y un remedio apropiado para todos ellos. En tanto que Hoffman intenta combatir errores existentes.

Se publica entonces un libro debido a Stenezel, que parece ser el primero de los que se han de titular *Toxicología patológica médica*.

Nebel relaciona signos de la intoxicación; Sprohuel experimenta con animales; Gmeli se refiere a venenos que pueden ser medicamentos; y a la inversa, Isenflam estudia medicamentos que pueden ser venenos.

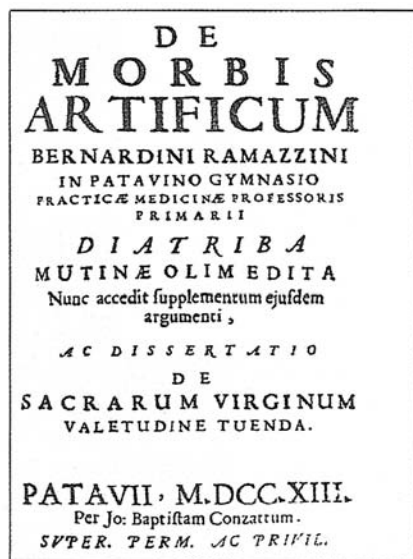
Aún más fecundo en autores se presenta el siglo XIX del que el propio Orfila en *Noticia bibliográfica* relaciona 72.

Aparece el *Manual de toxicología*, de Franck; el *Ensayo de toxicología* de Duval, donde se recomienda el azúcar como remedio para las intoxicaciones minerales; la primera edición de la *Toxicología general* de Orfila, donde la relaciona con la fisiología, patología y medicina legal, al igual que Armand de Montgarny, que también la relaciona con la jurisprudencia médica, y Bertrand publica su *Manual médico legal de los venenos*.

Eusebio de Salle presenta un cuadro sinóptico de los venenos, basado en los adelantos de la historia natural, la terapéutica y la medicina legal, relacionando los accidentes que producen con los remedios más indicados y los reactivos para reconocerlos. Lamaistre establece unas reglas para describir los venenos. Guerin de Hammers estudia la toxicología desde un punto de vista conjunto, químico, fisiológico, patológico y terapéutico.

Además de estos y otros autores que tratan de ir compilando los esparcidos conocimientos, hay otros muchos que se van especializando en determinadas sustancias: estricnina, cólico, belladona, veneno de serpientes y de animales ponzoñosos.

Juan Fragoso, de Toledo, médico de Felipe II, escribió *Eritemas quirúrgicos de los medicamentos compuestos*. Encontramos ya preocupación por la toxicología ambiental y la medicina del trabajo en la obra del italiano Ramazzini (1700) *De morbis artificum diatriba*. Bernardino Ramazzini nació en Capri, en 1633, y fue profesor de medicina en las universidades de Módena y Padua, de la que llegó a ser rector; murió en Venecia, en 1714; en esa obra, conocida también como *Enfermedades de los trabajadores* dedica sendos capítulos a las diferentes profesiones (mineros, químicos, farmacéuticos, yeseros, estañadores, pintores, herreros, poceros, cloaqueros, sepultureros, tabaqueros, tipógrafos, obstetras, nodrizas, lavanderas, panaderos, cardadores de lino, cañamo y seda, agricultores, atletas, bañistas, etc.) con agudas observaciones acerca de los olores y condiciones de salubridad de los lugares de trabajo y su posible participación en las enfermedades más comunes de cada profesión, apoyándose en frecuentes citas de Hipócrates, Galeno, Avicena, Mercurial, Juvenal, Marcial, Zacehia y otros autores clásicos. Sobre la contaminación del ambiente urbano escribió el sevillano Ximénez de Lorite *De los daños que*



Tratado de las enfermedades de los artesanos. Segunda edición, 1713.



Bernadino Ramazzini en 1710.

Figura 1.4. Ramazzini y su obra principal.

puede ocasionar a la salud pública la tolerancia de algunas manufacturas dentro de los pueblos (24 de marzo de 1790, *Memorias*, tomo IX).

Más próximo a la época actual podemos citar a Galtier, con la *Toxicología general* y su *Tratado de toxicología médica, química y legal*; Anglada, con su *Toxicología general*; Pedro Mata, catedrático de la Universidad Central de Madrid, con su *Compendio de Toxicología* (1875).

Ambrosio Tardieu, con su obra *Estudio médico-legal sobre el envenenamiento*, se adelantó a su época, y aun a la nuestra, en algunos aspectos de su filosofía sobre el tema.

Rabuteau (1874), con *Elementos de Toxicología y medicina legal*, y Briaud y Chaudi publicaron una obra titulada *Química legal*, donde, además del análisis químico de los venenos, relacionan los procedimientos analíticos para manchas de sangre, esperma, materia cerebral, etc., en la línea del pensamiento de Tardieu, que propugnaba la actuación de unos peritos especializados en estas materias y diferentes del médico forense. Esta misma orientación la da Dragendorff, catedrático en Dorpat, en sus *Manuales de Toxicología* (1886-1888).

Nacimiento de la toxicología judicial o forense

La frecuencia de envenenamientos en Francia determinó que las autoridades comenzaran a designar a peritos médicos y químicos, y se dictó una ley que obligaba a recurrir a tales asesamientos, y aunque en muchos casos las intervenciones dieran muy poco resultado por ser la Química muy rudimentaria, estimularon a los peritos a estudiar el desarrollo de técnicas de análisis, con lo que se inició la verdadera Toxicología analítica.

Fue famoso el proceso de madame Brinvilliers, hija del conde Dreux d'Aubray, mujer hermosa e inteligente (1630-1676), de conducta escandalosa, quien con su amante produjo una serie de envenenamientos, incluido el de su esposo. Aunque los peritos no tuvieron éxito en la investigación, posteriormente el amante murió en su laboratorio, mientras preparaba un gas tóxico, posiblemente arsenamina o arsina, al romperse la máscara con la que se protegía.

Otra envenenadora famosa fue Catalina Deshayes, conocida como «la Voisin» (1680), que regentó un lucrativo negocio para la venta de venenos a mujeres deseosas de enviudar y estuvo

implicada en un atentado frustrado contra la vida de Luis XIV, al proporcionar lo que después se llamaron «polvos de sucesión», compuestos, según Plenck, de arsénico y azúcar de saturno (acetato de plomo). Usó también acónito, belladona y opio, y se dice que mató a unos 2.000 niños en un trágico sistema de planificación familiar.

Era tal el temor a los envenenamientos que, según Cesalpino, además de la antigua costumbre de hacer probar la comida a los servidores, se utilizaban vajillas de «electro», muy bruñidas, para detectar, por medio de su empañamiento, la presencia de algún tóxico.

EDAD CONTEMPORÁNEA (SIGLOS XIX-XXI)

Una serie de procesos judiciales que se hicieron famosos, como los de madame Lafargue, madame Lacoste, Couty de La Pommerais, en Francia; el de Helena Jegado en Holanda, el de Lidia Fougines en Bélgica, significaron importantes jalones en el desarrollo de la ciencia toxicológica, al obligar a los peritos de los tribunales no sólo a intensificar sus estudios, sino incluso a enfrentarse entre ellos, como el proceso Boursier, que, en 1823, enfrentó a Orfila, Gaedy y Barruel.

En 1830, el químico inglés James M. Marsh (1789-1846) desarrolla un método para evidenciar la presencia de arsénico en vísceras y alimentos que contribuyó en parte a disminuir los envenenamientos mediante este elemento químico. Este método, descubierto en 1775 por el químico alemán Carlos Guillermo Scheele (1742-1786), basado en la liberación del arsénico en forma de arsina, mediante reducción con hidrógeno nascente, y sublimación del elemento al incidir una llama de los gases desprendidos sobre una placa fría, fue utilizado judicialmente por primera vez en el proceso Lafarge (1842), donde intervinieron las insignes figuras toxicológicas de la época, Orfila (por parte de la acusación y de la Justicia) y Raspail (por parte de la defensa). Detalles de aquella discusión pueden encontrarse en la obra de Balthazard *Orfila et l'affaire Laffarge*.

Pedro Mata, en su *Compendio de toxicología general y particular* (Madrid, 1875), aunque lo dedica «A la memoria del grande Orfila, eterno recuerdo», repetidas veces critica a éste, en favor

de Anglada, llegando a decir que la obra de Orfila, más que un estudio de toxicología es un «tratado de los venenos». Sin embargo, es internacionalmente reconocido que uno de los fundadores de la moderna ciencia toxicológica fue Mateo José Buenaventura Orfila (1787-1853) (véase *Textbook of toxicology*, Kenneth y Gelling, Oxford University Press, 1959, New York, y numerosas publicaciones posteriores e incluso actuales).

Nacido en Mahón, en la isla de Menorca, recibió su primera educación en Valencia y Barcelona; después se trasladó a París, donde se graduó en Medicina en 1811, estudiando también Química. Ocupó la Cátedra de Química reemplazando a Vauquelin discípulo a su vez, de Lavoisier, y es interesante consignar que recibió una carta del primer ministro de Fernando VII en la que le hacía saber que el rey le nombraba profesor de Química en Madrid, en sustitución de M. Louis Prust; pero al condicionar Orfila su aceptación a un plan de estudios químicos, quedó frustrado su regreso a España.

En 1813 publicó *Elementos de Química y Tratado de las exhumaciones Jurídicas*, y en 1814, su *Tratado de Toxicología* en dos volúmenes, obra clásica y fundamental que aún hoy es reconocida como la primera obra completa de importancia internacional (Backer, 1993). Desarrolló multitud de pruebas para identificar los tóxicos, que agrupa en seis clases. En su obra describe además las propiedades físicas, químicas, fisiológicas y tóxicas de las sustancias, deteniéndose en los métodos de tratamiento.

Experimentó con animales a los que administraba cantidades conocidas de sustancias, observando la sintomatología de la intoxicación, y después de muertos examinaba los órganos y analizaba los tejidos. Entre sus más importantes contribuciones destaca el descubrimiento de que los tóxicos se acumulan en diferentes tejidos.

Fue profesor de Medicina Legal de la Universidad de París, y, en 1821, publicó su libro de texto titulado *Lecciones de Medicina Legal*, que, en número de 60, recogía sus explicaciones universitarias. En 1831 llegó a ser decano de la Facultad de París y presidente de la Academia de Medicina, lo cual no deja de ser un testimonio de la valía de nuestro compatriota, que, por muy «afrancesado» que fuera, no dejaba de ser un extranjero en Francia.

Viajó en 1816 y en 1846 a Mahón y Barcelona, Madrid y Sevilla, donde le recibieron sus Academias de Medicina.

Se retiró en 1848, aunque siguió escribiendo y sus libros sobre tóxicos y Medicina Legal estuvieron ampliamente difundidos y sirvieron de base para el desarrollo de estas ciencias en otros países. Así, sir Robert Christison (1797-1882), después de graduarse en Medicina por la Universidad de Edimburgo, fue a París a estudiar toxicología con Orfila, para ser nombrado a su regreso Catedrático de Medicina Forense y Materia Médica de la Universidad de Edimburgo. Escribió *A treatise on poisons*, un excelente libro que fue ampliamente usado y reimpresso, siendo su cuarta edición, en 1845, la primera americana.

Christison llegó a ser uno de los principales médicos consultantes de Escocia e hizo importantes contribuciones a la farmacología, preocupándose especialmente en proporcionar bases científicas a la toxicología. Las ediciones americanas de los textos de Orfila y Christison estimularon a los autores norteamericanos, entre los que destaca Henry Coley, con su trabajo *Poisons and asphyxia* (1832).

En esta época dejan de emplearse en parte los venenos tradicionales, dando quizá la razón a Tardieu, quien propugnaba que debía evitarse la difusión de los conocimientos toxicológicos. Envenenadores más refinados recurren a extractos vegetales con alcaloides, cuya química poco conocida dificultaba el descubrimiento del delito. En este orden se citan los casos del doctor Castaing, que utilizó acetato de morfina, y la relativa profusión que alcanzó en Inglaterra el empleo de la estricnina.

El esfuerzo de los peritos iba dando frutos; tras la prueba de Marsh para el arsénico, Reinsh desarrolla en 1841 sus ensayos para el arsénico y el mercurio; y en 1840, Fresenius y Von Babo proponen una sistemática para la detección de los diferentes venenos inorgánicos.

Un escalón importante se alcanza en Bélgica cuando, en 1850, se procesa al conde Hipólito de Bocarmé, acusado de haber asesinado a su cuñado. Designado perito el químico Jean Servais Stas (1813-1891) desarrolla un procedimiento de extracción de alcaloides de las vísceras y consigue separar de éstas el veneno utilizado: la nicotina.

La trascendencia de este descubrimiento es tal, que el procedimiento de Stas, ligeramente modificado por Otto y posteriormente por Ogier, sigue aún utilizándose por los toxicólogos actuales, habiendo resistido cuantos intentos se hacen con-

tinuamente para sustituirlo por otras técnicas de extracción y fraccionamiento, pues tan sólo se ha conseguido completar ligeramente la sistemática y adicionarle técnicas modernas de purificación de los extractos, aunque éstos sean luego estudiados por la técnica instrumental moderna, por lo menos, hasta la introducción de los métodos de extracción «en fase sólida».

Otro proceso judicial, el seguido en Francia contra el médico homeópata Couty de La Pommerais, acusado de haber asesinado a una viuda para apoderarse de un seguro, dio ocasión a Tardieu y Roussin para iniciar las aplicaciones de la experimentación fisiológica en la identificación de los venenos, demostrando los efectos de la digitalina en ranas. No es preciso aclarar que ningún perito actual se basaría tan sólo en estos datos para establecer una afirmación acusatoria, ya que desde Ogier conocemos la producción de glucósidos en la putrefacción, y desde Selmi, las ptomaínas.

En Italia, en 1870, la muerte del general Gibbone es atribuida a un sirviente que es condenado a muerte porque los peritos detectaron en las vísceras una sustancia alcaloide con reacciones semejantes a la delfinina. Pero el químico Selmi, de Bolonia, descubre que los alcaloides se formaron durante la putrefacción y los denominó ptomaínas (del gr. *ptoma*, cadáver). Selmi comunicó su descubrimiento a la Academia de Ciencias de Bolonia, y continuó durante diez años experimentando con vísceras de animales, tratando de diferenciar las ptomaínas de los alcaloides vegetales. Posteriormente, Gauthier, en Francia, establece por distintas vías la formación de las ptomaínas en la putrefacción de los albuminoides (Capítulo 4, Tabla 4.4).

Estos descubrimientos resultaron trascendentales para la toxicología, especialmente en su rama judicial, al exigir una mayor profundidad química al análisis tóxico, para obtener la necesaria garantía, que en realidad no se ha logrado hasta el advenimiento de la instrumentación quimicofísica, del tipo de la cromatografía de gases o de líquidos, la espectrofotometría en los rangos ultravioleta o infrarrojo, o de absorción atómica, la espectrometría de masa, la activación neutrónica, etc.

La Toxicología como auxiliar de la Justicia ha funcionado en las distintas épocas y países de muy distinta manera. En un principio eran los médicos forenses los obligados no sólo al examen

macroscópico del cadáver, sino también al análisis químico de las muestras biológicas, procedimiento que aunque apoyado por ilustres autores no deja de ser absurdo (como decía Tardieu), al exigir a unos profesionales la especialización en materias tan diversas como puedan ser la patología forense, el análisis químico, o la criminalística con sus facetas de estudio de manchas, de restos de pinturas, de huellas de personas, animales o vehículos, de trozos de vidrio, de documentos, etc., todo lo cual ha desembocado modernamente en las diferentes especialidades de Ciencias Forenses y de Policía Científica.

En algunos países hay centros de toxicología judicial, pero lo más frecuente es que los análisis toxicológicos de interés legal se realicen en los laboratorios de la Cátedra o Instituto de Medicina Legal. Existe también la modalidad seguida en Francia y Bélgica, por ejemplo, donde hay unos peritos individualmente reconocidos que pueden realizar las investigaciones en laboratorios privados, cobrando sus honorarios a la acusación o a la defensa, según a quien interese el estudio.

En España, el gobierno nombró en 1855 una comisión para elaborar un proyecto de cuerpo de médicos forenses, en tanto que para las peritaciones de laboratorio, especialmente las que requirieran análisis químicos, disciplina muy poco desarrollada aún, se designaba en 1858 al Catedrático de Medicina Legal y Toxicología de Madrid, junto con el Catedrático de Química y Física Médicas o el de Historia de la Medicina.

Posteriormente, en 1862, se autoriza a los jueces de primera instancia a encargar los análisis a los farmacéuticos, y en su caso, consultar a las cátedras de Medicina Legal o de quinto curso de Farmacia, de cualquiera de las universidades españolas. Pero los catedráticos y los farmacéuticos llegaron a negarse a realizar los análisis sin remuneración, entrando la administración de justicia en una situación caótica, que trató de resolverse mediante el Real Decreto de 11 de julio de 1886, por el que se crearon los Laboratorios de Medicina Legal dependientes del Ministerio de Justicia, que en 28 de abril de 1911 se denominaron Instituto de Análisis Químico-Toxicológico, transformado el 10 de julio de 1935 en Instituto Nacional de Toxicología, con tres departamentos de carácter regional, enclavados en Madrid, Barcelona y Sevilla. Posteriormente, un Decreto de

13 de julio de 1967 reorganizó este Instituto calificándolo como centro nacional técnico en materia toxicológica, mejorando su constitución e instalaciones y abriendo la posibilidad de colaboración con los demás estamentos de la Administración. Es decir, que además de su función de auxiliar de la Justicia, se atribuye al Instituto Nacional de Toxicología una intervención más activa como órgano de información de la Administración en general y se le autoriza para difundir los conocimientos en materia toxicológica, considerándosele, además, Centro de Asesoramiento e Información, y se le faculta para evacuar los informes y consultas que se le formulen en relación con la prevención y lucha contra las intoxicaciones, y la información toxicológica en general. En este orden, el 1 de febrero de 1971 comenzó a funcionar en el Departamento de Madrid el primer Servicio de Información Toxicológica por teléfono que existió en España; en 1990 se formalizaron los servicios de Barcelona y Sevilla que, con posterioridad, fueron lamentablemente suprimidos.

En la actualidad está variando el esquema de los servicios de la toxicología forense en España, con la creación de Institutos Provinciales de Medicina Legal dotados de laboratorios y, al parecer, reservando para el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses un papel de *centros de referencia*. El gran reto de los nuevos institutos es la homogenización de criterios y el acatamiento de los códigos de Garantía de Calidad.

Tabla 1.1. División actual de la Toxicología Forense.

Toxicología Postmorte	Clásica
Drogas de abuso	Determinación en : Sustancias sospechosas Muestras biológicas
Toxicología conductual	Puestos de trabajo: ejecutivos, operarios, controladores, etc. Tránsito motorizado: conductores/peatones, pilotos Fuerzas armadas
Toxicología ambiental	Contaminación Delito ecológico Toxicología laboral

Modificado de Kunsman, 1999.

Progresos en los conocimientos toxicológicos

Independientemente de la toxicología judicial, aunque quizá forzada por ella, tenía que desarrollarse una toxicología básica o farmacológica. Tardieu llegó a negar la existencia de la toxicología como ciencia, alegando que los venenos no forman un orden natural. Claude Bernard decía que toda sustancia introducida en el organismo y extraña a la constitución química de la sangre es un medicamento o un veneno. Sin embargo, ha quedado bien comprobada la teoría de Paracelso respecto a que la toxicidad es, en el fondo, una cuestión de dosis.

Se requería, por tanto, que los farmacólogos y fisiólogos aportasen su estudio a la parcela toxicológica. Había que saber primero cómo penetran los tóxicos en el ser vivo, y a través de qué vías, conocer los procesos de difusión en el medio interno (Velázquez, 1962); completar la observación de Orfila de que los tóxicos pasan del aparato digestivo a diferentes órganos con una cierta selectividad, adelantándose a la Toxicocinética y a la teoría de la difusión merced a las proteínas transportadoras, estudiado a distintos niveles por numerosos autores, desde Anton Nicolai (1798), que muestra cómo el almizcle se absorbe por la lengua; Chrestien (1810), quien recomendaba la aplicación de sales de oro sobre la lengua y encías para el tratamiento de la sífilis; Karmel, que, en 1873, observó cómo el alcohol es absorbido por vía sublingual; o el escocés Wood (1844), con la comprobación de la administración de sustancias mediante inyecciones, hasta los italianos Coprano y Meli, con el estudio ecuacional de la absorción de diferentes sustancias, y los más recientes, pero ya clásicos, de Ariens y Goodman y Gilman (1972), con sus esquemas de transporte, activación y desactivación de las drogas.

Interesaba, además, conocer la relación de dosis a efecto, para lo cual aparecieron los conceptos de dosis tóxicas, dosis letal, dosis letal media (Trevan), dosis letal mínima (Lucchelli), y los importantes trabajos de Schackell, de Carpenter, Powers, y tantos otros que tratan de llevar a fórmulas matemáticas y gráficas los conocimientos farmacológicos aplicándolos a la toxicología.

De especial trascendencia es el desarrollo del concepto de toxicidad selectiva, partiendo del de quimioterapia de Ehrlich, y ampliamente estudiado por Albert desde 1951, considerando factores de bioquímica comparativa y biología molecular, en relación con los aspectos farmacodinámico, permeabilidad celular, constitución estérica de las moléculas, fenómenos de ionización y quelación, etc., que abrieron el camino para tratar de explicar por medio de la teoría de orbitales moleculares los fenómenos e interreacciones de las drogas con los receptores biológicos (Kier, 1971).

Y todo este esfuerzo para profundizar en el conocimiento toxicológico se dirige fundamentalmente a la prevención y el tratamiento de las intoxicaciones, dando origen a una moderna rama de la toxicología cual es la «Toxicología Clínica», que, como afirman Boyland y Goulding en su *Modern trends in toxicology* (1968), adquiere una orientación diferente de la medicina forense, como lo demuestra la considerable atención que investigadores, gobiernos, industrias e incluso el público, dirigen hacia los problemas que presenta el tratamiento de las intoxicaciones, efectos secundarios de los medicamentos, etc. Comités internacionales de expertos se ocupan de la evaluación de la toxicidad de las drogas, las acciones teratogénicas, la relación con los trastornos metabólicos, las interreacciones entre medicamentos, etc. (Davey, Paget, Schorz, etc., 1963).

Fuhner, en 1956, alaba la obra de Zangger *Intoxicaciones* (1924), que trata especialmente de los errores más frecuentes en su tiempo acerca del diagnóstico y la terapéutica de las intoxicaciones.

Ya decía Zangger que «los médicos tan sólo diagnostican la cuarta parte de las intoxicaciones», hecho lamentable que únicamente puede remediarse enseñando mejor la toxicología. En este mismo sentido se expresa Fournier cuando, en 1968, se muestra insatisfecho, aunque el Ministerio de Educación Nacional francés haya reconocido la necesidad de una enseñanza de Toxicología en Medicina (véase más adelante).

TOXICOLOGÍA CLÍNICA. CENTROS ANTITÓXICOS

Actualmente se calcula que un 1 por 100 de los ingresos generales en hospitales se debe a intoxicaciones, y el 8 por 100 de todas las autopsias que se realizan en el mundo son por muerte tóxica.

De la misma manera que la Psiquiatría se desarrolló en el seno de la Medicina Legal, para después constituirse en materia médica independiente, así la Toxicología ya no es tan sólo una faceta de la Medicina Legal, como no lo es de la Química Analítica: la amplitud de las materias y el elevado número de sustancias químicas, que bajo tantas formas y de manera continua están en contacto con el hombre, exigen una personalidad propia de las nuevas ramas de la Toxicología, especialmente de la Química toxicológica y de la Toxicología clínica.

Ésta tendrá por fines la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las intoxicaciones que, como cualquier enfermedad, pueden manifestarse con curso agudo o crónico, presentando, en cada caso, diferentes exigencias terapéuticas.

Las dificultades en alcanzar estos objetivos han suscitado la creación de un sistema intermedio, con personal especializado en proporcionar información toxicológica con fines de prevención y tratamiento. Este sistema está constituido por los «Centros de Lucha contra las Intoxicaciones», iniciados en 1952 en Estados Unidos y desarrollados hoy en todos los países. El interés y utilidad de estos centros se deduce claramente del hecho de que en Estados Unidos llegaron a funcionar en la década de 1980 unos 600 centros, aunque la aplicación de criterios de calidad ha disminuido la cifra a la décima parte (véase Capítulo 12).

De las observaciones estadísticas de los centros antitóxicos (CAT) surgió la necesidad de los Servicios de Farmacovigilancia y, más tarde, de los de Toxicovigilancia (Capítulo 12), con el fin de proteger a la población de los riesgos tóxicos.

El manejo por la industria de grandes cantidades de compuestos químicos, así como su transporte y almacenaje incrementan el riesgo de accidentes y consecuente afectación de los seres vivos, al igual que el empleo de sustancias químicas en acciones de guerra y de terrorismo. Todo ello ha provocado profunda preocupación en ambientes gubernamentales y clínicos con el desarrollo de programas de prevención y de tratamiento del medio ambiente y de los individuos afectados por sustancias especialmente peligrosas, internacionalmente conocidas como HAZMAT, acrónimo de la expresión inglesa *hazardous materials*. En el *Hazardous Substances Data Bank* ([http://toxnet.](http://toxnet.nlm.nih.gov/help/toxnet update.html)

<http://toxnet.nlm.nih.gov/help/toxnet update.html>) hay registradas casi 5.000 sustancias potencialmente peligrosas y datos sobre la exposición humana así como recomendaciones para el tratamiento de urgencia tras la exposición. A otras muchas bases de datos puede accederse a través de nuestro portal de Buscatox, que incluye también un módulo de aprendizaje <http://busca-tox.com>.

TOXICOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL

En el siglo XX ha adquirido extraordinaria importancia la toxicología industrial, y, de forma más amplia, la laboral u ocupacional hasta el punto de haber promovido en varios países (entre ellos España, en 1973) una nueva especialidad profesional. Este hecho se debe a las siguientes circunstancias:

- a) La considerable expansión de la industria.
- b) El crecimiento simultáneo de las diferentes ramas de la química industrial: orgánica, de los plásticos y resinas, alimentaria, farmacéutica, agrícola y química nuclear.
- c) El reconocimiento de los derechos del trabajador contra los posibles peligros tóxicos en el seno de la industria.

El último punto requiere especial atención, pues el reconocimiento de los derechos del individuo a condiciones higiénicas de trabajo ha sido difícil de conseguir. Ya hemos citado los antecedentes históricos de Ramazzini y Ximénez de Lorite en el siglo XVIII, y aunque la legislación sobre el tema parece muy reciente, hay que recordar que el 30 de enero de 1900 fue promulgada en España la Ley de Accidentes del Trabajo, con reglamentos de aplicación aprobados por Reales Decretos de 28 de julio y 2 de agosto. En ella, aparte de especial preocupación por los accidentes, se atiende a la pureza del aire, ordenando la existencia de aparatos depuradores, filtros e instrumentos para comprobar su calidad, así como las precauciones recomendables para el manejo de sustancias tóxicas.

Sin embargo, Oliveras y Soler, en *Elementos de higiene industrial* (1929), critican duramente algunas de las prevenciones de la Ley, por insuficientes.

Suiza fue la primera nación que estableció indemnizaciones para la enfermedad profesional, e Inglaterra y Francia publicaron las primeras listas de enfermedades, aunque comprendían un número muy reducido y destacaban como principales el saturnismo y el hidrargirismo.

A partir de 1917 se impulsó en Rusia extraordinariamente la Medicina del Trabajo, para lo cual se instituyeron centros especializados en Char-kow, Moscú, Leningrado, etc., mientras que Alemania, Austria, Hungría y Checoslovaquia adoptaron el sistema de Seguro de Enfermedad, y en las repúblicas hispanoamericanas se consideraba al enfermo profesional con los mismos derechos que el accidentado en el trabajo.

En España se promulgó, en 1947 un Decreto de Clasificación de Enfermedades Profesionales, que establecía las Normas Médicas por las cuales han de regirse los reconocimientos, diagnósticos y la calificación de una serie de enfermedades profesionales, como las producidas por los ácidos sulfúrico, sulfuroso y sulfhídrico, por los hidrocarburos alifáticos halogenados, por el sulfuro de carbono, por los nitro y aminoderivados de los hidrocarburos aromáticos, arsénico y sus compuestos, los isocianatos, el vanadio y sus compuestos, el fósforo y sus compuestos, el mercurio, los derivados halogenados de los hidrocarburos aromáticos, etc., reglamentación que ha sido modificada por diferentes disposiciones posteriores, hasta confluir en el Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo creado en abril de 1970, dependiente del Instituto Nacional de Previsión, del Ministerio de Trabajo, denominado después Servicio Social de Higiene y Seguridad en el Trabajo, integrado en el Ministerio de Sanidad y Seguridad Social (1977) y, posteriormente, de nuevo en el de Trabajo.

De manera similar habría que considerar la contaminación ambiental urbana, con su incidencia en la salud del ciudadano, en el paisaje y en las obras culturales, sean pictóricas, escultóricas, arquitectónicas o de ingeniería, así como la contaminación de los espacios naturales, sus animales y su vegetación, todo ello materia de la toxicología ambiental y de la ecotoxicología. Muy expresivamente, G. Persoone distingue ambas ramas, considerando que para la toxicología ambiental es crítico o crucial que se afecten o mueran algunos individuos, pero la ecotoxicología sólo se interesa cuando se producen desequilibrios en el ecosistema.

TOXICOLOGÍA BROMATOLÓGICA Y FARMACÉUTICA

Asimismo, han adquirido imprescindible utilidad los estudios de bromatología toxicológica, para el control sanitario de los alimentos, en servicios que en España dependen de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria (2001), del Ministerio de Sanidad, así como de los respectivos servicios de las Comunidades Autónomas o regionales, de la misma manera que la Dirección General de Farmacia del Ministerio de Sanidad y Consumo (R. D. de 1 de febrero de 1979), con su Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (1999), también es la responsable de la autorización de un medicamento para que pueda ser dispensado en el país.

En relación con la bromatología hay que aludir al problema de la contaminación de los alimentos por sustancias químicas voluntariamente añadidas por el fabricante o formando parte de la contaminación ambiental. Entre las primeras, los conservadores, acondicionadores organolépticos, odorantes, colorantes, hormonas, antibióticos, antisépticos, etc., que producen fenómenos tóxicos a corto o a largo plazo; y en el segundo caso los residuos de insecticidas, especialmente organoclorados, que por su persistencia se encuentran en los alimentos de procedencia vegetal y animal (p. ej., leche) y que se acumulan en nuestros tejidos grasos. Como hemos demostrado, el 100 por 100 de nuestros conciudadanos adultos estudiados contenían DDT y bifenilos policlorados (productos de amplia utilización tecnológica), al igual que el 70 por 100 de las leches maternas humanas, y el 30 por 100 de las muestras de sangre obtenidas del cordón umbilical, lo cual indica que muchos niños nacen contaminados por tales productos, incluso bastantes años después de la retirada del DDT del mercado. En nuestro segundo estudio epidemiológico vimos que en el medio rural aún persistía el DDT, mientras que en el urbano prevalecen los BPCs (Repetto *et al.*, 1974; Martínez *et al.*, 1993).

Ante la enfermedad de Minamata, que apareció en Japón y se comprobó que era debida a intoxicación de los peces por compuestos de alquimercurio procedentes de aguas residuales de fábricas de papel, se han desarrollado campañas de control de la contaminación alimentaria por mercurio y se han promovido interesantes estudios epidemiológicos.

gicos de la contaminación marina. El metilmercurio, por ser liposoluble, atraviesa la barrera hematoencefálica y produce lesiones irreversibles. En abril de 1973, el Ministerio de Gobernación dispuso una ordenación analítica para la detección de dicha contaminación tóxica en los peces destinados al consumo humano.

El establecimiento por la OMS del IDA o máxima ingesta admisible de una sustancia en la totalidad de la dieta diaria, así como las directrices de la Comisión de la Unión Europea sobre niveles límites de contaminantes en alimentos y bebidas, están dando origen a una homogeneización de las legislaciones en los distintos países.

Tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) como el gobierno de los EE UU y la Unión Europea han establecido las «lista positivas» y «negativas» de aditivos alimentarios permitidos o prohibidos y las cantidades o ingestas diarias admisibles (IDA) para cada uno de ellos; la UE ha iniciado la reevaluación de 300 productos edulcorantes, colorantes y aromatizantes empleados actualmente en los alimentos.

Igualmente, cada vez se hacen más estrictas las legislaciones y las medidas para el control de la presencia de metales, medicamentos, plaguicidas y otros contaminantes en los alimentos, y del uso de productos para el engorde fraudulento de animales de consumo humano.

Ya hemos citado la creación del Servicio de Farmacovigilancia, para el control de las reacciones adversas de los medicamentos, cada vez más importantes y frecuentes como consecuencia de la proliferación de aquéllos y su empleo a veces abusivo o indiscriminado (polifarmacia), que causa sensibilizaciones y fenómenos tóxicos por sobredosificaciones, sinergias, incompatibilidades, etc.

La toxicología farmacéutica es una importante área dedicada al estudio de las cualidades tóxicas de los medicamentos, márgenes de seguridad, riesgos que comporta su uso, reacciones adversas, etc., tanto de forma inmediata como a largo plazo y en la descendencia.

Entre los riesgos secundarios que deben prevenirse figuran algunos poco sospechados, como los que se provocan tras la administración continuada de medicamentos antiansiedad y somníferos que, se ha visto, incrementan la incidencia de reacciones alérgicas, alucinaciones, comportamientos anómalos en la alimentación o durante el sueño,

como el sonambulismo, o una variante de éste que se ha denominado *síndrome alimentario nocturno*, que conduce al sobrepeso.

TOXICOLOGÍA REGULADORA (LEGISLACIÓN TOXICOLÓGICA)

En relación con lo expuesto anteriormente, es preciso destacar que la toxicología ha llegado a ser una de las disciplinas científicas que está dando origen en nuestros días a mayor cantidad y diversidad de normativas legales.

Disposiciones ministeriales o interministeriales, por propia iniciativa o como cumplimiento de recomendaciones o directrices de organismos internacionales, están produciendo un extenso cuerpo legal de raíz toxicológica. Como ejemplos citaremos las normativas que establecen límites legales de alcohol, medicamentos o drogas de adicción en sangre, orina o aliento de conductores de vehículos públicos o privados; de contaminantes o aditivos en alimentos y bebidas de consumo humano y animal; de emisión o de inmisión de contaminantes ambientales, tanto en términos generales como en el ambiente laboral; de niveles de xenobióticos, o sus metabolitos, en fluidos corporales de trabajadores expuestos, etc. Igualmente, deben citarse las normativas para la clasificación por toxicidad de las sustancias químicas y de los estudios toxicológicos exigidos para que sea autorizada la comercialización de medicamentos, plaguicidas, productos cosméticos, domésticos o industriales, etc.

Muchas de las disposiciones proceden, en Europa, de las directrices de la Comisión de la Unión Europea. En su seno hay constituido un comité científico asesor en materia de toxicología y ecotoxicología, denominado Comité Científico de Riesgos Sanitarios y Medioambientales, integrado por un representante de cada país miembro. Dicho comité estudia los problemas toxicológicos, frecuentemente después de consultar a especialistas en temas concretos, y elabora informes que la Comisión tendrá en cuenta al redactar sus directrices; éstas serán seguidamente acatadas y transformadas en legislación nacional por los Estados miembros. Además, la UE ha creado (2006) la Agencia Europea de Compuestos Químicos (ECHA), encargada de cumplimentar la llamada Regulación REACH (véanse Caps. 2 y 11).

De todo ello ha derivado el desarrollo de una toxicología reguladora, que supone, según Van de Venne y Berlin (1990), el empleo de la toxicología con fines legislativos.

Como observación final en relación con la evolución y desarrollo de la toxicología, pudiera decirse que esta ciencia, que nació como auxiliar de la Justicia, colabora actualmente con el Legislador ofreciéndole bases para legislaciones que velen por el bien común (véase «Referencias toxicológicas en la legislación española», Cap. 2).

En definitiva, lo que las legislaciones pretenden es *minimizar el riesgo* que los agentes físicos y químicos representan para los seres vivos; partiendo de lo que se ha llamado *sociedad del riesgo*, en que se vive sometido a las acciones persistentes o intermitentes de elementos en que se basa o derivan de nuestra forma de civilización.

TOXICOLOGÍA MECANICISTA

Creemos que la toxicología ya ha superado la etapa de ciencia descriptiva, de acumulación de datos, de listados de sustancias y de sus dosis tóxicas agudas y letales, aunque prosiga el desarrollo de subespecialidades órgano-específicas (neurotoxicología, dermatotoxicología, nefrotoxicología, inmunotoxicología, genotoxicología, toxicología genética, etc.).

Efectivamente, podemos ver que la tendencia de la toxicología en los últimos 20 años es la comprensión de los fenómenos en términos de toxicología bioquímica o toxicología molecular. Esa es, para nosotros, la línea más potente del desarrollo de la toxicología: el mejor conocimiento de las interacciones entre los xenobióticos y las biomoléculas y, aún más entre las moléculas exógenas y los mediadores intracelulares, todo ello interpretado a la luz de los progresos en genética, polimorfismos enzimáticos (por su variabilidad bioquímica) y de los estudios poblacionales. Esto requerirá una mayor atención de los toxicólogos a la bioestadística, que se ha establecido como importante ciencia auxiliar; solamente con la experta aplicación de esta herramienta podrán establecerse adecuadamente los límites máximos permitidos de contaminación ambiental urbana y en el medio laboral y en los alimentos, así como se podrán encontrar las causas de algunas enfermedades, como ciertos tras-

tornos mentales y neurológicos, cuya incidencia está creciendo insistentemente sin que aún conozcamos su etiología, y en definitiva considerar más ajustadamente que ahora los grupos de riesgo.

La toxicología mecanicista o mecanística busca la identificación de todo el entramado molecular que conduce desde la exposición inicial al tóxico hasta la última manifestación de trastorno en el organismo. Así, pretende encontrar las explicaciones moleculares de cómo los xenobióticos penetran en el organismo, se distribuyen, biotransforman y excretan (es decir los procesos toxicocinéticos), cómo los xenobióticos o sus metabolitos ejercen sus efectos a través de interacciones moleculares (toxicodinámica) y, finalmente, cómo la célula, el órgano o el cuerpo reacciona frente al ataque, con respuestas que pueden ser adaptativas, de tolerancia o de reparación o bien sucumbiendo al daño.

Como veremos, en ocasiones estos procesos son sencillos, se desarrollan en un único nivel, pero frecuentemente tienen lugar a través de cadenas o cascadas de acontecimientos bioquímicos.

La Toxicología está cambiando rápidamente, principalmente a causa de los avances en los conocimientos de los cambios producidos en las señales de transducción celular causados por las sustancias químicas, sean endo o xenobióticos. Tienen especial actualidad las proteínas de superficie celular (cadherinas, integrinas etc.), los factores de transcripción y de transporte (chaperonas), las quinasas del estrés (MEKK), la proteínaquinasa mitogénica (MAPK), los factores antiapoptóticos y proapoptóticos (caspasas, Bcl, factores de necrosis, caspasa-citocromo c, etc.), proteínas GTP, interacciones de proteínas Ras-Raf, el papel de las mitocondrias, y las numerosas cascadas de señales.

Se está desarrollando con gran fuerza la *Toxicogenómica*, ciencia que estudia las modificaciones de la expresión de los genes por la acción de los tóxicos, que está soportada por las nuevas tecnologías, como el «*microarray*», que permiten evaluar masivamente los cambios en la expresión génica. Combina la información de los estudios a escala genómica (perfiles de expresión de ARNm), a escala proteómica (perfiles proteicos globales, tanto celulares como tisulares), de la susceptibilidad genética y de los modelos computacionales, para comprender el papel de las interacciones gen-ambiente (Rockett, 2003).

En paralelo con la moderna Farmacogenética, está evolucionando la *Toxicogenética*, que se define como el estudio de la variabilidad clínica en la respuesta a los xenobióticos, como consecuencia de la participación de determinados genes concretos que presentan los llamados polimorfismos, y que a menudo refleja diferencias en la actividad de enzimas biotransformadoras, de las proteínas transportadoras y de los receptores (véase Capítulo 7).

La explosión en el descubrimiento de muchas variantes de secuencias de ADN, particularmente de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), predicen que casi 1,5 de estos nucleótidos pueden ser funcionalmente importantes. El tipado de alelos de forma predictiva podría incrementar la eficacia de los medicamentos así como mejorar su selección para cada paciente y reducir sus efectos indeseables.

Ya se han caracterizado numerosos polimorfismos en los genes humanos, lo que abre nuevas perspectivas, pues la identificación y caracterización de nuevos polimorfismos en los genes que expresan enzimas han de tener una gran aplicación preventiva.

Toxicología de sistemas (*systems toxicology*)

Consiste en un estudio integrado o multidimensional de la respuesta de los organismos frente a

los tóxicos, aplicando tanto los métodos tradicionales como los modernos, es decir, la observación clínica, el análisis químico toxicológico, la toxicocinética, los análisis bioquímicos y biomarcadores (de exposición, de efecto y de susceptibilidad), los estudios histológicos, el análisis molecular de expresión de genes, *toxicogenómica* (*transcriptómica*), *toxicoproteómica* y *metabonomica*, etc. que puedan dilucidar nuevas vías y redes mecánicas. Es decir, mientras la toxicología tradicional y reciente utilizaba argumentos racionales, tratando, por ejemplo, de identificar el gen implicado en las patologías relacionadas con cierto producto, los nuevos planteamientos operan de forma más empírica, buscando los niveles de expresión de miles de genes, algunos de los cuales pudieran estar implicados aunque otros no lo estén y obtener la mayor información posible de carácter toxicodinámico (Boelsterli, 2007).

En definitiva, la Toxicología de nuestros días es fundamentalmente mecanística apoyada en los avances de la Biología Molecular, y la Figura 1.5 refleja la complejidad de la Toxicología actual, con las áreas de conocimiento que la sustentan, y su derivación a unas áreas fundamentales y unas ramas de aplicaciones prácticas. En la Rama de Toxicología General se incluye una faceta de Coordinación, de conformidad con la classifica-

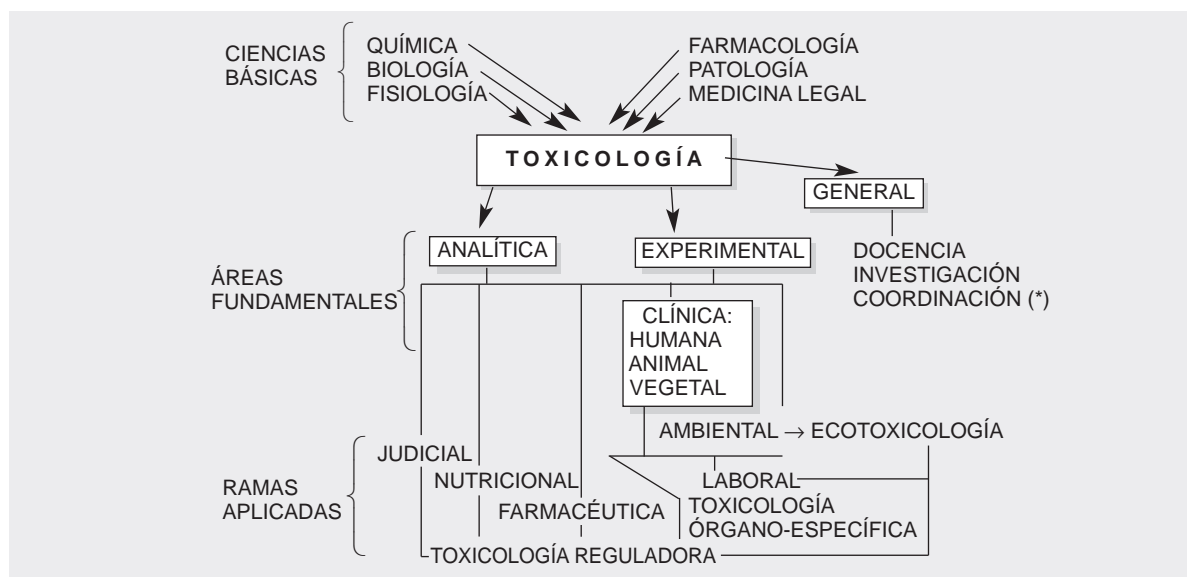


Figura 1.5. Ciencias básicas, áreas fundamentales y ramas aplicadas de la Toxicología actual. Relación de Áreas y Subáreas.

ción de toxicólogos que se propuso por la OMS (1982) en unos profesionales de nivel I, especializados en cualquiera de las ramas, y otros de nivel II, responsables de la coordinación o dirección de equipos de toxicólogos.

ENSEÑANZA DE LA TOXICOLOGÍA

De todo lo expuesto se deduce claramente que la toxicología, en cualquiera de sus ramas, está sometida a un intenso desarrollo que, normalmente, encuentra el obstáculo de una deficiente implantación en las universidades.

Ya hemos referido cómo Fuhner en Alemania (1956) y Fournier en Francia (1968) se lamentaban de la deficiente programación de los estudios de toxicología en sus respectivos países, como ya lo hiciera, para España, Pedro Mata en el siglo XIX, y nosotros repetidamente en el siglo XX.

La situación de carencia fue denunciada duramente en la revista *Archives of Toxicology* por Aldridge y Schlatter (1980), en el trabajo *Training and Education in Toxicology*, que por su interés fue traducido al español y publicado por la Asociación Española de Toxicología. Los autores decían textualmente que el número de cátedras y departamentos de Toxicología en las instituciones académicas de Europa era inadecuado para el desarrollo equilibrado de la educación en este tema, y era urgente crear departamentos que gozasen de un status igual al de las otras disciplinas biomédicas, y reclamaban el reconocimiento de la Toxicología como materia multidisciplinar.

En los últimos años de la década de los 70, la Oficina europea de la Organización Mundial de la Salud (OMS, WHO) promovió la creación de comisiones que estudiaran las necesidades que tendría Europa de especialistas en Toxicología hacia el año 2000 y las acciones formativas que deberían desarrollarse para cumplir las expectativas. Las previsiones fueron publicadas por el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS), perteneciente a la OMS, en 1981, con el nombre de *Manpower development for control of chemicals* y *Manpower in toxicology* (1982) en un significativo esfuerzo para aclarar la situación y estimular a los gobiernos a preocuparse por la formación en toxicología. En años posteriores,

una comisión de la Unión Europea realizó encuestas en los Estados Miembros para constatar la docencia de toxicología en sus universidades.

Como paliativo, en distintos lugares se comenzaron a organizar cursos para postgraduados. En 1978, la Federación Mundial de Centros Antitóxicos y de Toxicología clínica formó una comisión para organizar cursos internacionales por vía postal. El Departamento de Salud de EE UU instituyó ayudas para programas especiales en numerosas universidades, dirigidos al adiestramiento de toxicólogos, de la misma manera que en Iberoamérica se organizan cursos nacionales e internacionales con idéntico objetivo.

También están proliferando cursos a distancia, a través de Internet, para postgraduados, como los que nosotros organizamos desde la Universidad de Sevilla o desde otras instituciones (<http://www.busca-tox.com>).

Sin embargo, desde hace muchos años venimos insistiendo en que, lo más importante para el desarrollo y la utilidad de la Toxicología no son los cursos de postgrado, que tienen un objetivo de formación de especialistas y profesores, sino la docencia de asignaturas de Toxicología en el pregrado, y esto no debe limitarse a las carreras clásicas, sino extenderse a todas las de carácter sanitario, de Ciencias de la Salud o Ciencias de la Vida, así como a todas aquellas en que se contemple la fabricación, manipulación y uso de sustancias químicas, como las ingenierías industriales, agrónomicas, etc., y en las carreras de carácter alimentario y ambiental, lo que poco a poco se va convirtiendo en realidad.

El primer paso decisivo fue la creación de cátedras de toxicología independientes de otras materias, como Medicina Legal, Farmacología, Análisis químico, etc., para permitir un desarrollo y evolución propios, lo que si bien ocurrió en Francia en 1834, al crearse en la Facultad de Farmacia de París la primera cátedra de toxicología del mundo, ha sido seguido con enorme lentitud en otros lugares.

Tradicionalmente los estudios universitarios de materias toxicológicas han venido realizándose en España en las facultades de Farmacia, Medicina y Veterinaria unidos a otras disciplinas, en relaciones que hoy pueden parecernos extrañas, aunque afortunadamente nuevos planes académicos han mejorado la situación.

En la licenciatura de Farmacia existió una asignatura que se denominó de Análisis Químico de Alimentos, Medicamentos y Venenos, y que después se titulaba de Análisis Químico Aplicado, Bromatología y Toxicología. Hacia 1970 se desglosó tímidamente en algunas universidades una «ampliación» de Toxicología, que en 1997 adquiere carácter troncal, como Toxicología General, junto con otras asignaturas, de carácter obligatorio y/o específico, de Toxicología de los Medicamentos, de los Alimentos o Ambiental.

En las facultades de Medicina hubo una macroasignatura de Medicina Legal, Psiquiatría y Toxicología, de la que se desglosó la Psiquiatría en los años cincuenta, permaneciendo la Toxicología supeditada a la material legal. Afortunadamente, en los nuevos planes de estudio, aunque, lógicamente, persista una Medicina Legal y Toxicología Forense, se incrementa la presencia de la Toxicología en Patología y Prácticas Médicas, enfermedades infecciosas e intoxicaciones, Medicina de Urgencia, Medicina Preventiva y otras materias, pero sin que llegue a consolidarse una Toxicología Clínica.

La licenciatura de Veterinaria tuvo tradicionalmente una Farmacología, Veterinaria Legal y Toxicología, de la que en los años ochenta se desglosó la Farmacología; en los nuevos planes también se contemplan algunas especialidades toxicológicas y ecotoxicológicas.

Pero además, en los programas de la licenciatura de Química aparece la toxicología en varias materias obligatorias y optativas; igualmente hay asignaturas de toxicología en las nuevas licenciaturas de Ciencias Ambientales y de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, y aparecen como optativas en los programas de Bioquímica, Biología, etc.

Acreditación y Registro de toxicólogos

Desde 1979, el American Board of Toxicology, organización independiente radicada en Washington DC, expide certificados que acreditan sólida capacitación y continuada actividad profesional en Toxicología; los nombres de estos toxicólogos se mantienen en una lista o Registro durante un periodo de tiempo, generalmente cinco años, al cabo de los cuales hay que demostrar que se sigue ejerciendo la profesión para conseguir mantenerse en el

Registro; en Europa, varios países y la asociación EUROTOX han implantado un sistema similar. En España, la Asociación Española de Toxicología gestiona el Registro Nacional de Toxicólogos profesionales, cuyos nombres también son incluidos y publicados en el registro de EUROTOX (véase <http://aetox.es>).

BIBLIOGRAFÍA

- Aldridge WN, Schlatter Ch. Training and education in Toxicology. *Archives of Toxicology*, 1980, 45, 249-256.
- Backer RC. Forensic toxicology. En: Balantyne B, Marrs T, Turners P (eds.). *General and applied toxicology*, vol. 2: Basingstoke, Macmillan Press, 1993.
- Bass R, Vamvakas S. The toxicology expert: what is required? *Toxicology Letters*, 2000, 112-113, 383-389.
- Berlin A, Hoet P, Lauwerys R, Van der Venne M Th. *Survey of training programmes in toxicology in the European Community*. Luxembourg, 1989.
- Boelsterli UA. *Mecanistic toxicology*. 2.^a ed. Boca Raton. CRC Press, 2007.
- Boyland E, Goulding G. *Modern trends in toxicology*. Londres: Butterworths, 1968.
- BUSCATOX: <http://busca-tox.htm>.
- Chengelis ChP, Holson JF, Grad ShC. *Regulatory toxicology*. New York, Raven Press, 1995.
- Corbella J. *Historia de la Toxicología*. Barcelona. Seminari Pere Mata, 1998.
- Cravey RH, Baselt RC. *Introduction to forensic toxicology*. California: Bio-Medical Publications, 1981.
- Cuadro de referencias históricas: <http://www.asmall-doseof.org/historyoftox/index.php>.
- Deichmann W, Henscler D, Holmstedt B, Keil G. What is there is not poison? A study of the third defense by Paracelsus. *Arch Toxicol*, 1986, 58: 207-213.
- Dragendorff G. *Manual de toxicología*. Madrid: Ed. Bailly-Baillière, 1888.
- Dubois KP, Geiling EMK. *Textbook of toxicology*. Nueva York: Oxford University Press, 1959.
- Duncan WAM. *Toxicology, review and prospect*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1973.
- Fuhner H. *Toxicología médica*. Barcelona: Ed. Científico Médica, 1956.
- Hayes W. *Essays in toxicology*. Vols. 1-7, Nueva York: Acad. Press, 1976.
- Hayes AW. *Principles and methods of toxicology*, 3.^a ed. Nueva York: Ed. Raven Press, 1994.
- Hazardous Substances Data Bank (USA): <http://toxnet.nlm.nih.gov/help/toxnetupdate.html>.
- Inform. *Poisoning and toxicology, historical aspects*. Wichita: St. Francis Hospital, 9, 2, 1977.

- Instituto de Ciencias de la Vida (ILSI): <http://www.ilsil.org>.
- Klaassen CD y Watkins M. *Casarett y Doull-Fundamentos de Toxicología*. Barcelona. McGraw-Hill-Interamericana. 2005.
- Kroes R. Pan-European research challenges in Toxicology and Epidemiology: twinning for the better. *Toxicology Letters*, 2000, 112-113, 573-575.
- Kunsmann G. Human performance toxicology. En: B. Levine (ed.). *Principles of forensic toxicology*. Nueva York. Am. Association of Clinical Toxicology. 1999.
- Martínez E, Romanos A, Praena M, Repetto M, Martínez D. Compuestos organoclorados I: relación de niveles sanguíneos en madres y recién nacidos y en leche materna, con parámetros maternos y de lactantes *An. Esp. Pediatría*, 38, 6, 493-498, 1993.
- Mata P. *Tratado de medicina y cirugía legal*. Madrid: Ed. Bailly-Baillière, 1874.
- OMS. *Manpower in toxicology*, M. Mercier (ed.). Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 1982.
- Osweiler GD. *Toxicology National Veterinary Series*. Philadelphia, Williams and Wilkins, 1996.
- Orfila M. *Traité des poisons tirés des règnes mineral, vegetal et animal, ou Toxicologie Générale*. Paris. Crochard. 1814 (su 4ª edición traducida al español por PA Calvo, Madrid, 1945).
- Orfila M. *Tratado de medicina legal*. Madrid: Imprenta JM Alonso, 1847.
- Plaa G, Duncan W. *Toxicology as a predictive science*. Nueva York: Academic Press, 1978.
- Repetto M, Menéndez M, Guija J. Contamination humaine par des produits organochlorés. En: Tombergs HP. (ed.) *Poison control /Entgiftungsprobleme*. Darmstadt. Verlag. 1974.
- Repetto M, Vettorazzi G. Complejidad de la toxicología moderna. *Revista de Toxicología*, 1983; 1, 0.
- Repetto M. La formación de toxicólogos. *Tribuna Médica*, 1983; 975, 31.
- Repetto M. La formación de toxicólogos clínicos. *JANO*, 1985; 19-29.
- Repetto M. Perspectivas y tendencias de la toxicología hacia el siglo XXI. *Rev de Toxicología*, 1995; 12: 2/3, 47-55.
- Rockett JC. The future of Toxicogenomics. En: ME Burczinski (ed.). *An introduction to toxicogenomics*. Boca Raton, Florida. CRC Press. 2003.
- Scarlato E. Toxicología. La ciencia de las flechas. *Bol. Asoc. Toxicológica Argentina*, 21, 77, 2007.
- Vingut A. *El ácido cianhídrico a través de la historia*. Barcelona. Seminari Pere Mata. Univ. de Barcelona. 1999.
- Vingut A. Antecedentes de la Toxicología Forense en España. *Rev. de Toxicología*, 2003, 20:2, 87-88.
- Wexler Ph. *Information resources in toxicology*. 4.ª ed. San Diego. Academic Press. 2007.

2

CONCEPTOS Y DEFINICIONES: TOXICOLOGÍA. TOXICIDAD

La *Toxicología*, simplemente, es la ciencia que estudia los *venenos*, sustancias de diverso origen usadas por el hombre desde la más remota antigüedad por sus cualidades nocivas, y también por supuestas propiedades afrodisíacas o venéreas, es decir, relacionadas con el *amor de Venus*, de donde se hace derivar el término veneno. El vocablo tóxico procede etimológicamente del griego antiguo *toxikon*, que significa «vida de amor», paradoja que se repite en otros idiomas, como el inglés y el alemán, donde *gift* (veneno) también quiere decir «regalo». En el griego moderno, *toxon* significa arco, y *toxikon* alude a algo propio para el arco o la flecha, refiriéndose quizás a las sustancias empleadas para envenenar éstas.

Según el concepto actual, un tóxico es una sustancia que puede producir algún efecto nocivo sobre un ser vivo, y como la vida, tanto animal como vegetal, es una continua sucesión de equilibrios dinámicos, los tóxicos son los agentes químicos o físicos, capaces de alterar alguno de estos equilibrios.

Recientemente ha sido propuesta una definición en el sentido de que tóxico es toda radiación física o agente químico que, tras generarse internamente o entrar en contacto, penetrar o ser absorbido por un organismo vivo, en dosis suficientemente alta, puede producir un efecto adverso directo o indirecto en el mismo (Guitart, 2008, modificada).

De acuerdo con esto, cualquier sustancia puede actuar como tóxico, ya que tanto los productos *exógenos* como los propios *constituyentes* del organis-

mo, cuando se encuentran en él en excesivas proporciones, pueden producir trastornos tóxicos. Dichos compuestos *exógenos* se denominan *xenobióticos*.

De aquí se deriva que el concepto de toxicidad posea un carácter relativo. No hay sustancias *atóxicas*; cualquier producto químico actuará como tóxico, a unas determinadas condiciones del sujeto, de la dosis y del ambiente. Este concepto, que parece contrastar con las ideas del vulgo, no es nuevo, sino que fue enunciado por Paracelso (siglo XVI), cuando afirmó que «todo depende de la dosis». Una sustancia que administrada en pequeña cantidad produzca daño, será más tóxica que otra sustancia que precisa mayor dosis para originar el mismo daño.

Efectivamente, veamos varios ejemplos:

El agua es indispensable para la vida, muchos organismos están constituidos en más de sus dos terceras partes por agua; sin embargo, un exceso de agua ingerida, o una enema rectal de agua destilada, puede producir la muerte por intoxicación hídrica.

El oxígeno o la glucosa son imprescindibles para la mayoría de los organismos, pero sabemos que su exceso conduce a graves trastornos y a la muerte; recordemos el clásico efecto Pasteur de inhibición del crecimiento microbiano, al aumentar la concentración de glucosa en el medio, base de las conservas azucaradas.

De la misma manera, la vida se hace imposible en una atmósfera de oxígeno puro, porque se consume rápidamente el ácido gammaaminobutírico, moderador de la transmisión nerviosa central, y

como consecuencia, se producen graves alteraciones nerviosas, convulsiones y la muerte.

En principio, los conceptos *tóxico* y *veneno* son sinónimos, pero en la actualidad, el primero de ellos se toma en su más amplio sentido, con carácter general, para designar a un agente químico o físico perturbador de los equilibrios vitales, mientras que la palabra «veneno» se reserva para aplicarla a ese mismo agente cuando su empleo fue intencionado. De aquí que por *intoxicación* se entienda un trastorno producido de forma accidental, y por *envenenamiento* la consecuencia de un hecho voluntario, sea por parte del sujeto agente o del paciente (homicidio o suicidio).

De todo esto, y de lo expuesto en el capítulo anterior, definimos la Toxicología como la *ciencia que estudia las sustancias químicas y los agentes físicos en cuanto son capaces de producir alteraciones patológicas a los seres vivos, a la par que estudia los mecanismos de producción de tales alteraciones y los medios para contrarrestarlas, así como los procedimientos para detectar, identificar y determinar tales agentes y valorar y prevenir el riesgo que representan.*

LA INTOXICACIÓN Y SUS CLASES

La acción de un agente tóxico sobre un organismo se traduce en una alteración del estado fisiológico o de salud; por tanto, una intoxicación es una enfermedad. Según el grado de afectación del individuo, la intoxicación puede calificarse como leve, moderada y severa o grave. También puede ser considerada bajo un criterio patocrónico, es decir, estimando su curso o evolución en función del tiempo, y así podemos clasificarlas de intoxicaciones agudas, crónicas y recidivantes (Figura 2.1).

Intoxicación aguda. Consiste en la aparición de un cuadro clínico patológico, tras una única exposición a una sustancia o múltiples exposiciones en un periodo de 24 horas. El caso más representativo es la presentación de fenómenos tóxicos antes de las 24 horas de una única absorción del agente. La evolución puede llevar al intoxicado a la muerte, o a una recuperación total o parcial, en la cual quedarían secuelas o lesiones persistentes.

La *intoxicación retardada* es una forma especial de intoxicación aguda en la que la sintomatología no se manifiesta hasta varios días o semanas des-

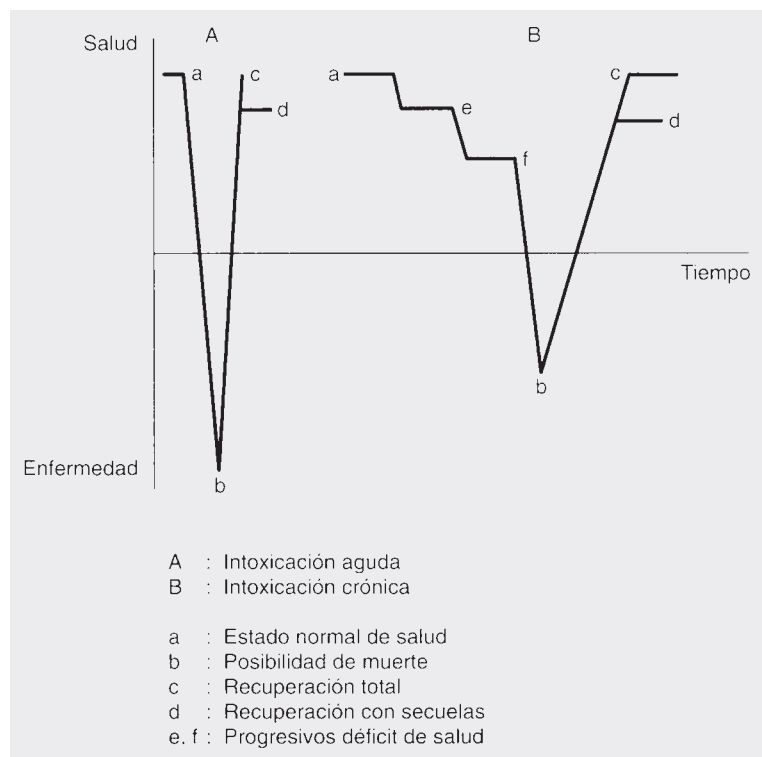


Figura 2.1. Clasificación patocrónica de las intoxicaciones.

pués de la absorción, como ocurre con el fósforo, el talio, el paraquat, etc.

Intoxicación subcrónica. Cuadro clínico por exposición repetida a un agente durante un periodo de tiempo inferior al 10 por 100 de la vida media de la especie considerada. Anteriormente se había denominado como subaguda, expresión ahora obsoleta pues daba lugar a confusión con una intoxicación grave desde el punto de vista clínico. La evolución presenta las mismas posibilidades que la intoxicación aguda, aunque clínicamente suele ser menos grave.

Intoxicación crónica. Es la consecuenta a la repetida absorción de un tóxico. A veces esta absorción se produce en cantidades por sí mismas insuficientes para hacer patentes trastornos tóxicos, pero que por acumulación del producto dentro del organismo, normalmente en órganos o tejidos concretos, o por suma de efectos lesivos, con el transcurso del tiempo, lleva a estados patológicos. Muchas veces los trastornos permanecen latentes (subclínicos) hasta que por cualquier causa se manifiestan, ya sea por una bajada de la condición fisiológica general (enfermedad), ya sea por una movilización del tóxico de los lugares donde estuviera depositado, lo que produciría una intoxicación aguda al aumentar los niveles hemáticos del agente.

La intoxicación crónica es muy frecuente en nuestros días como consecuencia del mal uso de medicamentos, productos industriales y plaguicidas, de la contaminación ambiental y las toxicofilias. Suelen presentar cuadros clínicos difusos, poco claros, que frecuentemente inducen a confusión con diversas enfermedades, lo cual obstaculiza una terapéutica apropiada.

La repetición de intoxicaciones y las intoxicaciones *recidivantes* conducen al individuo a estados de deficiencia biológica, que se oponen a la recuperación cada vez con mayor intensidad, y debido a ello la restitución es en cada caso más deficiente (Figura 2. 1).

GLOSARIO DE CONCEPTOS TOXICOLÓGICOS

La base de toda ciencia es la solidez conceptual

La multidisciplinaridad de la toxicología, el hecho de que personas con distinta formación académica la estudien, trabajen en ella o la enseñen,

hace recomendable velar por la pureza y apropiado uso de los conceptos. Con esa intención se ofrecen diversos términos tomados de la versión española del *Glosario de la IUPAC* (Repetto y Sanz, 1995), o de otras fuentes, que se indican a cada caso.

Abreviaturas utilizadas:

ant.: antónimo, opuesto

m. est.: más estricto

m. gral.: más general

mr: M. Repetto

ps P. Sanz

sin.: sinónimo

sin. p.: sinónimo parcial

t. rel.: término relacionado

ver. esp.: aportación de la versión española

absorción (biológica). Proceso de entrada o transporte, activo o pasivo, de una sustancia al interior de un organismo; puede tener lugar a través de diferentes vías.

activación metabólica. Biotransformación de una sustancia, de toxicidad relativamente baja, en un derivado tóxico, m. gral. *activación, biotransformación*. m. est. *síntesis letal*. sin. *bioactivación*.

acumulación. Sucesivas retenciones de una sustancia por un organismo diana, un órgano o una parte del medio ambiente, que conducen a un aumento de la cantidad o la concentración de la sustancia en los mismos. OMS, 1989a.

administración (de una sustancia). Aplicación de una cantidad conocida de una sustancia a un organismo por una ruta definida y un procedimiento reproducible.

aducto. Producto, generalmente de gran tamaño molecular, formado por la unión de dos sustancias (en Toxicología, un compuesto activo y una molécula biológica), sin que ninguna de ellas sufra pérdidas en su estructura. (mr).

afinidad. 1) En Química, compatibilidad electrónica entre dos átomos o moléculas que se atraen y llegan a formar una nueva molécula con un descenso de la energía libre. 2) En Farmacología y Toxicología, cualidad que depende de la concor-

dancia fisicoquímica y espacial entre una biomolécula (receptor) y otra molécula (agonista o ligando) que les permite acoplarse mutuamente, lo que provoca una acción que se manifiesta como efecto; se valora como *eficacia*. (mr).

agudo. Exposiciones o efectos a corto plazo. 1) En toxicología experimental, estudios de corta duración, normalmente de 24 h, o de dos semanas o menos, iniciados por la administración de una dosis única. ant. *crónico*. 2) En clínica médica, patología súbita y grave con curso rápido.

agente alquilante. Sustancia que introduce un grupo alquilo (cadena lineal) en un compuesto. Por extensión se aplica también a otros grupos moleculares. t. rel. *agente acilante* (introduce un grupo ácido).

alcalosis. Situación patológica en la que la concentración de ion hidrógeno en los fluidos biológicos es inferior a la normal, por lo que el pH de la sangre se eleva por encima de la normalidad. ant. *acidosis*.

alcoholímetro. 1) Aparato (densímetro) usado para apreciar la graduación alcohólica de un líquido; sin. *alcohómetro*, *pesaalcohol*. 2) Dispositivo para medir la cantidad de alcohol en el aire espirado. sin. *etilómetro*, (ver. esp.)

alelo. Cada una de las diversas formas de un gen que aparece en la misma posición relativa (locus) de cromosomas homólogos. Cada gen humano tiene dos variantes o alelos, uno que procede del padre y otro de la madre. t. rel. *gametos*, *meiosis*, *locus*.

alergeno. Sustancia antigénica capaz de producir hipersensibilidad. t. rel. *alergia*, *antígeno*, *hipersensibilidad*.

alimentaria, cadena. Secuencia o serie de especies que se alimentan unas de otras, en cuya sucesión se transmiten y concentran, entre otras, sustancias tóxicas (ver. esp.). sin. *cadena trófica*.

anticuerpo monoclonal. Anticuerpo producido por células clonadas a partir de un único linfocito. m. gral. *anticuerpo*. t. rel. *anticuerpo policlonal*.

antídoto. Sustancia capaz de contrarrestar o reducir el efecto de una sustancia potencialmente tóxi-

ca mediante una acción química relativamente específica. Nota ver. esp.: Esta acción molecular es antídoto- tóxico, mientras que el antagonista actúa por vía farmacológica o mecanismo fisiológico. t. rel. *antagonista*.

antígeno. Sustancia que induce al sistema inmunitario a producir células específicas o anticuerpos específicos; se combina con lugares específicos de unión (epítopes) de los anticuerpos o las células. Nagel *et al.*, 1991. t. rel. *anticuerpo*, *epítipo*.

antimetabolito. Sustancia estructuralmente similar a un metabolito, que compite con él o lo reemplaza, y así evita o reduce su función normal.

apoptosis. Proceso fisiológico previsto de muerte y desintegración de tejidos dentro del desarrollo normal de los seres vivos. t. rel. *necrosis*.

artefacto. Hallazgo o consecuencia de las técnicas experimentales o de observación, que no es propio u original del sistema que se estudia.

autopsia (del latín, ver por sí mismo). Examen postmortem de los órganos y tejidos corporales para determinar la causa de la muerte o situaciones patológicas. t. rel. *biopsia*. sin. *necropsia*.

bioacumulación. Incremento progresivo de la cantidad de una sustancia en un organismo o parte de un organismo, que ocurre porque la velocidad de captación excede la de eliminación. t. rel. *bioconcentración*, *biomagnificación*.

bioconcentración. Proceso que conduce a una concentración mayor de una sustancia en un organismo que en el medio ambiente en el que es expuesto. t. rel. *biomagnificación*.

biodisponibilidad. Proporción de la dosis que una sustancia absorbida por cualquier vía alcanza en la circulación sistémica.

bioensayo. Procedimiento para estimar la concentración o actividad biológica de una sustancia midiendo su efecto sobre un sistema vivo.

bioindicador. Especie o grupo de especies representativas y típicas de un estado específico de un ecosistema, que aparece con una frecuencia suficiente

para emplearse para monitorización y cuya población muestra una respuesta sensible a los cambios.

biomagnificación. Proceso por el que se consiguen concentraciones más altas de una sustancia en los organismos de los niveles superiores de la cadena trófica del ecosistema; de una forma más simple, es el proceso por el cual la concentración de una sustancia es mayor en un organismo que en su alimento. t. rel. *bioconcentración*.

biomarcador. Indicación de un acontecimiento o condición en un sistema biológico o muestra que proporciona una medida de exposición, efecto o susceptibilidad. Debe poder cuantificarse un compuesto u alteración bioquímica, fisiológica, conductual o de otro tipo en un organismo.

biopsia. Excisión de un pequeño trozo de tejido de un ser vivo, para su estudio bioquímico o histológico, normalmente con fines diagnósticos. t. rel. *autopsia*, *necropsia*.

carcinógeno. Agente físico, químico o biológico capaz de incrementar la incidencia de neoplasias malignas. sin. *cancerígeno*. IARC, 1987.

carcinoma. Tumor maligno de células epiteliales. sin. *epitelioma*. t. rel. *sarcoma*.

catabolismo. Proceso de biotransformación de moléculas complejas a otras más simples, lo que proporciona a menudo energía biológicamente disponible. ant. *anabolismo*. m. gral. *metabolismo*.

chaperona. (en inglés, acompañante). Proteína sin actividad enzimática que facilita o impide la formación de agregados moleculares en las reacciones bioquímicas. (ps).

clon. Población de células derivada, por mitosis, de una célula única.

clónico. Rápida sucesión de contracciones y relaciones musculares alternativas. t. rel. *tónico*. IRIS, 1986.

cocarcinógeno. Factor físico, químico o biológico que intensifica el efecto de un carcinógeno.

concentración. Cantidad de una sustancia, expresada en peso o en moles (S), por unidad de peso o volumen del medio en que se encuentra ($C = S/kg$; $C = S/L$). Puede expresarse como porcentaje (riqueza). No es sinónimo de dosis.

concentración efectiva (CE). Proporción de una sustancia en un medio que causa un determinado efecto en un sistema dado; la CE-50 es la concentración que causa el 50 por 100 del efecto máximo. t. rel. *concentración letal*.

concentración letal (CL). Proporción de una sustancia tóxica en un medio, que causa la muerte después de un cierto período de exposición. OMS, 1979. t. rel. *concentración efectiva*, *dosis letal*.

concentración letal mínima. La más baja que se sepa produce la muerte.

Nota. Los conceptos concentración letal, concentración letal mínima, concentración tóxica, concentración tóxica mínima, etc. son distintos del de dosis, pues se trata de la proporción o riqueza del tóxico en el medio (sea aire, agua, alimento o tejidos o fluidos de un intoxicado).

concentración media ponderada en el tiempo o valores de exposición diaria (VLA-ED, TLV-TWA). Es el valor límite establecido para una jornada normal de trabajo de 8 horas y una semana laboral de 40 horas, al que pueden estar expuestos casi todos los trabajadores repetidamente día tras día, sin manifestar efectos adversos. ACGIH, 1993. t. rel. *media ponderada en el tiempo*.

confianza, intervalo de. Conjunto de valores ordenados en el que se encuentra comprendido el valor de un parámetro de una población, con una probabilidad que viene determinada por un nivel de confianza preestablecido ($1 - \alpha$). Mide la precisión de la estimación del parámetro.

crítico, efecto. Primer efecto adverso que aparece cuando en el órgano crítico se alcanza la concentración o nivel umbral (crítico). OMS, 1989a.

cromátida. Cada uno de los dos filamentos unidos por el centrómero que forman un cromosoma.

cromatina. Complejo coloreable de ADN y proteínas presentes en el núcleo de una célula eucariótica. t. rel. *eucariota*.

cromosoma. Estructura autorreplicante formada por ADN complejo con proteínas, implicada en el almacenamiento y transmisión de la información genética; la estructura física que contiene los genes. Nagel *et al.*, 1991. t. rel. *cromátida*.

Las moléculas de ADN miden de 1,5 a 8,5 cm., por lo que han de estar muy compactadas en los cromosomas.

Las células humanas poseen 46 cromosomas, distribuidos en 22 parejas de cromosomas homólogos y una pareja de cromosomas sexuales, que son homólogos (XX) en la mujer, y heterólogos (XY) en el hombre. Las células somáticas (corporales) poseen las 23 parejas, y se denominan diploides, mientras que las células germinales tienen un solo ejemplar de cada pareja (haploides, del griego simple) que se completan en la fecundación al unirse a la germinal del otro sexo.

desintoxicación. Tratamiento de pacientes intoxicados a fin de reducirles la probabilidad o severidad de los efectos nocivos. t. rel. *destoxicación*.

destoxicación. Procesos de transformación química que hacen a una molécula menos tóxica. t. rel. *desintoxicación*. (ver. esp.)

diana (biológica). Población, organismo, órgano, tejido, célula o constituyente celular sobre el que ejerce su acción un agente físico, químico o biológico. OMS, 1979. t. rel. *receptor*.

diastereómeros. Estereoisómeros que no son imágenes especulares ni superponibles. (ver. esp.) t. rel. *enantiómeros*.

diastereómeros cis-trans. Estereoisómeros que tienen diferentes sustituyentes en el mismo lado o en lados opuestos de un doble enlace o de un anillo.

dosis. Cantidad de sustancia administrada o absorbida por un individuo en proporción a su peso o volumen corporal, ordinariamente en 24 horas. Se suele expresar en mg/kg. (ver. esp.)

dosis efectiva (DE). Dosis de una sustancia que origina un efecto definido en un sistema dado; la DE-50 es la dosis que causa el 50 por 100 del efecto máximo. m. gral. *dosis*. t. rel. *dosis letal*, *DL-50*.

dosis letal media (DL_{50}). Dosis, calculada estadísticamente, de un agente químico o físico (radiación)

que se espera que provoque la muerte al 50 por 100 de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas.

dosis letal mínima (DL_{min}). La menor cantidad de sustancia que introducida en el organismo produce la muerte a algún individuo bajo un conjunto de condiciones definidas.

dosis máxima tolerable (MTD, en inglés). Cantidad máxima de una sustancia que introducida en el organismo no mata a los animales de experimentación.

dosis tóxica. Proporción de una sustancia que produce intoxicación sin que llegue a ser letal.

efecto cuantal. Condición que puede expresarse solamente como que «ocurre» o que «no ocurre», como la muerte o la aparición de un tumor. ant. *efecto gradual*. t. rel. *efecto aleatorio*. sin. *efecto todo o nada*.

efecto latente. Aún no manifestado (ver. esp.) t. rel. *efecto retardado*.

efecto poblacional. Número absoluto o incidencia de casos ocurridos en un grupo de individuos.

efecto retardado. Cambios aparecidos un tiempo después de terminada la exposición a un tóxico. sin. *p. efecto latente*; t. rel. *periodo de latencia*.

efecto sistémico. De carácter generalizado o que ocurre en distinto lugar de aquel por el que el agente penetró en el cuerpo. Requiere la absorción y distribución del tóxico por el cuerpo. ant. *efecto local*.

efecto subclínico. Cambio biológico consecuente a la exposición a un agente patógeno, antes de que aparezcan los síntomas de la enfermedad.

efecto subcrónico. Cambio biológico resultante de una exposición durante el 10 por 100 del periodo de vida del organismo estudiado; en experimentación animal con roedores se estima este periodo como de tres meses (90 días). sin. *p. efecto subagudo*. t. rel. *toxicidad subcrónica*.

enantiómeros. Estereoisómeros que son imágenes especulares, pero no superponibles (ver. esp.) t. rel. *diastereómeros*.

endotelio. Capa de células planas que cubre la superficie interna de los vasos sanguíneos y linfáticos, de las membranas serosas y sinoviales y las cavidades orgánicas. (ver. esp.)

enzima. Catalizador de las reacciones bioquímicas, y facilita la transformación de los sustratos.

epidemiología. Estudio de la distribución de estados de salud y sus determinantes en las poblaciones, y la aplicación de este estudio al control de problemas sanitarios. Last, 1988.

epigenesis, epigenético. Cambios en un organismo a causa de alteraciones en la expresión de la información genética, sin alteración del genoma; se afecta al fenotipo pero no el genotipo. t. rel. *mutación, fenotipo, tumor*.

epitelio. Capa, generalmente múltiple, de células que cubre la superficie externa y algunas internas del cuerpo, como la piel, mucosas, los bronquios, intestino, etc., y forma las glándulas.

eritema. Enrojecimiento de la piel producido por congestión (afluencia o acumulación de sangre, generalmente por vasodilatación) de los capilares. (ver. esp.)

esclerosis. Endurecimiento de un órgano o tejido, generalmente a causa de crecimiento excesivo de tejido fibrótico.

estupefaciente. Sustancia que disminuye la actividad del sistema nervioso y, consecuentemente, la actividad psíquica y mental. (ver. esp.) sin. *narcótico*.

especificidad. manifestación de la afinidad de dos moléculas químicas o una química y otra biológica (receptor) que, cuando se emparejan, provocan siempre el mismo efecto (especificidad de unión y de acción) . (mr)

etilómetro. sin. de *alcoholímetro*, 2.^a acepción. (ver. esp.)

eutrofización. Cambio adverso en las características biológicas o químicas de una masa de agua por depleción del contenido en oxígeno debido a depósito de materia orgánica como resultado de una producción primaria elevada al aumentar el aporte de nutrientes.

exposición. 1) Situación en la cual una sustancia puede incidir, por cualquier vía, sobre una población, organismo, individuo, órgano, tejido o célula diana (ver. esp.) 2) Concentración, cantidad o intensidad de un determinado agente físico, químico o biológico, que incide sobre una población, organismo, individuo, órgano o célula diana; usualmente se expresa en términos cuantitativos de concentración, duración y frecuencia (para agentes químicos y microbiológicos) o de intensidad (para agentes físicos). t. rel. *tiempo de exposición, límites de exposición*.

exposición crónica. Exposición continua durante un largo periodo o una fracción significativa del tiempo de vida de los individuos considerados. ant. *exposición aguda*.

fármaco. En sentido amplio, cualquier producto que puede ser absorbido por un organismo, difundirse en él y producirle cambios, favorables o no. Los fármacos empleados para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades son los medicamentos. sin.: *xenobiótico*. (mr).

factor de pendiente de cáncer (CSF). Expresa el incremento de riesgo por unidad de dosis (en mg/kg de peso/día) como probabilidad de que se produzca cáncer frente a dosis vitales. Peña, 2000. t. rel. *unidad de riesgo de cáncer*.

fenotipo. Características observables de un organismo, estructurales y funcionales, determinadas por el genotipo y moduladas por el ambiente. Nagel *et al.* 1991. t. rel. *genotipo*.

fibrilación. Temblor muscular.

fibrosis. Formación anormal de tejido fibrótico, con endurecimiento del conjuntivo, a partir de los fibroblastos.

gen. Unidad básica estructural y funcional de material hereditario. Es un tramo de ADN situado en un locus, de función conocida: una secuencia ordenada de nucleótidos que codifica la síntesis de una cadena de polipéptido (traducción), o una secuencia reguladora que hace posible la traducción. sin. *cistron*.

genotipo. Composición alélica específica de una célula bien referida al total del genoma o, más comúnmente, a un gen o conjunto de genes. Suzuki *et al.*, 1989.

genotóxicos. Agentes físicos o químicos que producen daño en el material genético celular.

genotoxicología. Estudia los efectos de los tóxicos sobre el material genético.

hiperplasia. Excesiva multiplicación de células normales en un órgano o tejido.

hipertrofia. Aumento excesivo del volumen o tamaño de un órgano o tejido.

hormesis. Efecto beneficioso de una sustancia (*hormetina*) a dosis bajas, que se comporta como tóxica a dosis más altas. (ver. esp.)

in silico. Modelos predictivos; alternativa no experimental que se apoya en sistemas computarizados con modelos matemáticos que relacionan cuantitativamente la estructura química y la actividad bioquímica y fisiológica (QSAR), toxicocinética y cinética ambiental, etc. de los compuestos químicos apoyándose en datos teóricos y experiencias previas. (g.r.).

intoxicación. Proceso patológico, con signos y síntomas clínicos, causado por una sustancia de origen exógeno o endógeno.

in vitro. Literalmente, en vidrio. Estudio de laboratorio realizado sobre células, tejidos u órganos aislados o con sistemas subcelulares o bioquímicos (enzimas). ant. *in vivo*.

in vivo. Estudio realizado sobre individuo vivo. ant. *in vitro*.

Índices biológicos de exposición (IBE). Son parámetros actualmente utilizados para poner de manifiesto la absorción o acumulación de un xenobiótico

por un ser vivo; pueden servir como *criterios* para valorar el grado de afectación. Se definen como la expresión numérica de un parámetro biológico en relación con la incidencia de un xenobiótico sobre la salud del individuo. Normativas de distinto rango pueden establecer los IBE como valores *límites biológicos* (BLV o BTL).

Hay varios tipos de IBE:

a) Químicos: *Concentración del tóxico*, o sus *metabolitos*, en los fluidos o tejidos biológicos. b) Bioquímicos: *Modificación de parámetros* bioquímicos fisiológicos (metahemoglobina, iones, glucosa, glucógeno, actividades enzimáticas, etc.). c) Funcionales: *Alteraciones objetivables de funciones fisiológicas* (capacidad respiratoria, volumen-minuto circulatorio, conductividad nerviosa, reflejos, reacción muscular, diuresis, etc.). d) Histológicos: Lesiones tisulares.

Índices de Calidad Ambiental (ICA). Es una forma de resumir las características del medio ambiente para evaluar sus condiciones en relación con la salud de la población. Podemos considerar cuatro grados o niveles:

I. *Admisible.* Representa un estado ambiental saludable, con proporciones de contaminantes a las que no *aparecen alteraciones fisiológicas* ni reacciones de protección o adaptación.

II. *Alerta* (percepción). Se presentan *reacciones de molestia* al ser percibidas por los órganos de los sentidos (umbral de percepción) y se inducen respuestas fisiológicas *reflejas* (lacrimación, tos y estornudo). Supone necesidad de limitar los efluentes.

III. *Alarma.* Contiene concentraciones capaces de *producir o agravar patologías crónicas*, con previsible aumento de morbilidad y mortalidad, especialmente para enfermos cardiorrespiratorios.

IV. *Peligro.* Son valores a los que se producirán, *probablemente, patologías agudas* en la mayor parte de la población. Es situación de *emergencia*.

Ingesta Diaria Admisible (IDA), Ingesta Diaria Tolerable (IDT, TDI) o Dosis Diaria Admisible (DDA). Dosis máxima de una sustancia (contaminante, metal, plaguicida, aditivo alimentario, etc.) que se estima puede ser ingerido diariamente por

un individuo durante toda la vida sin riesgo apreciable para su salud. Se expresa en mg/kg de peso corporal/día, como suma de la totalidad de la sustancia que pueda absorberse proveniente de todas las fuentes. OMS, 1987. Puede apostillarse como definitivo o como provisional, en función de los conocimientos toxicológicos, y también puede referirse a absorción diaria (p.ej. *ingesta máxima diaria tolerable provisional o temporal*, PMTDI en inglés) que se aplica a tóxicos no acumulativos, o a exposición semanal (*ingesta semanal tolerable provisional*, PTWI) para tóxicos acumulativos, como los metales. Cuando no se ha establecido oficialmente se le denomina *IDA especificada*.

isómeros. Compuestos que poseen la misma fórmula molecular pero distintas propiedades.

isómeros espaciales o geométricos. Compuestos con los mismos átomos pero con diferente disposición espacial. Pueden ser *enantiómeros* o *quirales* (un isómero es la imagen en el espejo del otro y no poseen un plano de simetría; son *d*, + ó *R*, ó bien, *l*, «-» ó *S*) o *diastereoisómeros* que no son imágenes especulares y un plano los puede dividir en dos trozos simétricos.

isquemia. Deficiencia local de aporte de sangre y, por tanto, de oxígeno a un órgano o tejido, a causa de obstrucción o constricción de algún vaso sanguíneo.

línea celular. Población establecida de células obtenidas a partir del subcultivo de un cultivo primario. t. rel. *estirpe celular*.

linfocito. Célula sanguínea, del grupo de los leucocitos, capaz de sensibilizarse y desarrollar una respuesta inmunitaria; hay dos tipos de linfocitos: B y T. t. rel. *respuesta inmunitaria*.

margen de exposición (MOE, en inglés), *margen de seguridad* (MOS, en inglés). Relación entre el nivel sin efecto adverso observable (NOAEL, en inglés) y la dosis o concentración teórica o estimada. t. rel. *índice terapéutico*.

máxima concentración admisible (*aceptable o permisible*) (MAC, en inglés). Concentración máxima aceptable a la que una persona puede exponerse durante cierto tiempo. Es la concentración que si es inhalada diariamente (en el caso de personas que trabajan 8 horas, cinco días a la semana, o

durante 24 horas en caso de la población general), y que según los conocimientos actuales no parecen inducir daño apreciable ni durante la vida laboral, ni posteriormente, ni en siguientes generaciones. t. rel. *límite permisible de exposición*, *valor umbral límite* (TLV).

muestra. 1) Porción de material seleccionada de una cantidad mayor de forma que la fracción elegida sea representativa del todo. De ser posible, el todo debe ser homogeneizado, antes de la toma (ver. esp.). 2) En estadística: grupo de individuos tomados al azar de una población, a efectos de investigación. 3) Uno o más ejemplares tomados de una población o de un proceso con la intención de obtener información de los mismos. t. rel. *muestra al azar*, *muestra aleatoria*, *muestra estratificada*, *muestra sistemática*.

mutagénesis. Introducción de cambios heredables (mutaciones) del genotipo en una célula como consecuencia de alteración o de pérdida de genes o de cromosomas (o de parte de ellos). Nagel *et al.*, 1991.

nivel sin efecto observable (NOEL, en inglés). La mayor concentración o cantidad de una sustancia, hallada experimentalmente o por observación, que no causa alteraciones en la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo o duración de la vida de los organismos diana, distinguibles de los observados en organismos normales (control) de la misma especie y cepa, bajo condiciones idénticas a las de exposición. t. rel. *efecto adverso*.

peligro. Posibilidad de que un agente produzca efectos dañinos, a causa de sus propiedades específicas y de las circunstancias y grado de la exposición. En otras palabras, un agente peligroso es una fuente de daño. t. rel. *riesgo*. (ver. esp.)

plasma. 1) Componente fluido de la sangre en el que están en suspensión las células sanguíneas. sin. *plasma sanguíneo*. 2) Componente fluido del semen producido por las glándulas anejas, las vesículas seminales, la próstata y las glándulas bulbouretrales. sin. *plasma seminal*, *liquido seminal*. 3) Sustancia celular externa al núcleo. sin. *citoplasma*. 4) Gas altamente ionizado.

población. 1) En estadística, la totalidad de unidades consideradas. Una parte definida de una pobla-

ción se denomina subpoblación. En el caso de una variable aleatoria, se considera que la distribución de probabilidades define la población de esa variable. El término segmento de población se utiliza a veces como sinónimo de población. OMS, 1989a. 2) En ecología: conjunto de individuos de la misma especie que viven en la misma área geográfica.

población en riesgo. Grupo de personas que pueden desarrollar un efecto adverso y que están potencialmente expuestas a un factor de riesgo determinado. Aquellas personas que ya han desarrollado la enfermedad se excluyen en los estudios de incidencia.

polimorfismo. 1) En Química, existencia de una sustancia en más de una forma cristalina de agregación atómica o molecular. sin. p. *alotropía*. 2) Existencia de dos o más individuos fenotípicamente diferentes respecto a un mismo carácter, dentro de la misma especie. 3) Referido al metabolismo: variaciones interindividuales del metabolismo de sustancias endógenas o de xenobióticos debido a distinta constitución genética, lo que produce un incremento de efectos secundarios o tóxicos, o efectos clínicos diferentes.

polimorfismo genético. Situación en la que un carácter genético aparece en más de una forma en una población, lo que produce la coexistencia de más de un tipo morfológico.

presión parcial de un gas (en una mezcla de gases). Es el producto de la presión del medio considerado (atmosférico, alveolar, confinado, etc.) por su tanto por uno en el conjunto. Así, el oxígeno en el aire, a la presión de una atmósfera, está a una concentración del 20,98%, luego su pO_2 es igual a $0,21 \times 760 = 159,6$ mm de Hg (mr).

proteoma. (proteínas/genoma). Conjunto de proteínas procedentes de un genoma (ps).

proteómica. Análisis global cualitativo y cuantitativo de las proteínas de una muestra, sea un organismo, una célula, etc.

proteosoma. Es una gran proteasa con multisubunidades, con dos formas principales: 20S y 26S; se encuentran en el citosol, tanto libres como unidas al RE, y en el núcleo. Realiza una actividad

multicatalítica; reconoce, despliega y digiere sustratos proteicos previamente «marcados», por ejemplo cuando están oxidadas y parcialmente desplegadas.

receptor. Biomolécula diferenciada o sitio de unión con afinidad por un determinado tóxico, de cuya unión se derivará un efecto. m. gral. *diana, órgano diana.* (ver. esp.)

recombinación. Proceso en que se produce intercambio de material genético entre dos ADN diferentes y se origina un nuevo ADN (nuevo genotipo).

recombinante. Individuo o célula cuyo genotipo se ha generado por recombinación. (ver. esp.)

riesgo. Probabilidad de que se produzcan efectos adversos o daños por exposición a un agente tóxico, a causa de las propiedades inherentes del mismo y a las circunstancias o grados de la exposición. t. rel. *peligro.* (ver. esp.)

riesgo adicional. Probabilidad de que por causas espontáneas o por agentes diversos se incremente el riesgo consecuente a la exposición a un agente determinado.

riesgo admisible. Probabilidad de sufrir una enfermedad o daño que se considera despreciable por ser suficientemente pequeña. sin. p. *riesgo tolerable*, t. rel. *riesgo despreciable.*

seguridad. Inversa del riesgo; práctica certeza de que, en condiciones definidas, no se derivará daño de un peligro. 1) En farmacología: garantía de que puede utilizarse una sustancia, en la cantidad necesaria y para un determinado propósito, con mínimo riesgo para la salud. 2) En toxicología: elevada probabilidad de que la exposición a una sustancia, en condiciones definidas de cantidad y forma, que minimicen la exposición, no producirá daño. t. real. *certidumbre práctica, riesgo.*

seguridad química. Garantía práctica de que los organismos no están expuestos a cantidades tóxicas de sustancias químicas; esto implica conseguir un riesgo aceptablemente bajo de exposición a sustancias potencialmente tóxicas. Duffus, 1986.

significación, grado de (p). En un estudio comparativo, valora la verosimilitud de una hipótesis res-

pecto a los datos empíricos. Por convenio se considera significativo (que discrepa de la hipótesis) todo desvío con un grado de significación $p < 0,05$, lo que lleva a rechazar la hipótesis.

signo. Evidencia objetiva de una afección o enfermedad, perceptible por un observador (hipertensión, sibilancias, ECG). Es el síntoma objetivado por el médico (ver. esp.).

síndrome. Conjunto de signos y síntomas que caracterizan a una determinada enfermedad.

síntoma. Evidencia subjetiva de una afección o enfermedad, percibida por el propio sujeto que la sufre (por ejemplo, náuseas, dolor, jaqueca). t. rel. *signo*.

sistémico. Relativo al cuerpo entero como una unidad.

techo, valor limite umbral (TLV-C). Concentración que no se debe sobrepasar en ningún momento durante la exposición en el trabajo. ACGIH, 1993.

tetánico. 1) Relativo al bacilo del tétano (ver. esp.). 2) Espasmos tónicos musculares.

toxicidad. Capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo (dosis única o repetidas), tipo y gravedad del daño, tiempo necesario para producir éste, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes.

toxicidad aguda. Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos dentro de un corto plazo de tiempo (usualmente 24 horas, pero se admite hasta 14 días) después de la administración de una dosis única (o una exposición dada) o tras dosis o exposiciones múltiples en 24 h. t. rel. *efecto agudo*. ant. *toxicidad crónica*.

toxicidad crónica. Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos consecuentes a una exposición prolongada; éstos pueden aparecer durante o después de interrumpida la exposición. t. rel. *ensayo de toxicidad crónica*. ant. *toxicidad aguda*. IRIS, 1986.

toxicidad subcrónica. 1. Efectos adversos ocasionados por administración o exposición repetida de

una sustancia durante un corto periodo de tiempo, usualmente el 10 por 100 de la vida (al menos 90 días en animales). 2. Capacidad para producir efectos adversos tras exposición subcrónica. t. rel. *ensayos de toxicidad subcrónica*.

tóxico. Sustancia o agente físico que, actuando en muy pequeña cantidad, es capaz de producir efectos adversos sobre los organismos vivos (ver esp.).

toxicometría. Conjunto de determinaciones cuantitativas de parámetros biológicos afectados por los tóxicos (ver. esp.).

toxicogenética. Estudia la variabilidad individual en la respuesta a los tóxicos (diferencias enzimáticas, proteínas transportadoras y de interacción con receptores) por causas genéticas o hereditarias considerando determinados genes discretos (polimorfismos). (ps)

toxicogenómica. Estudia el comportamiento del genoma completo, incluyendo los cambios de expresión de los genes, ante la acción de los tóxicos. (ps).

toxicología. Ciencia que estudia las sustancias químicas y los fenómenos físicos en cuanto son capaces de producir alteraciones patológicas a los seres vivos, a la vez que estudia los mecanismos de producción de tales alteraciones y los medios para contrarrestarlas, así como los procedimientos para detectar, identificar y determinar tales agentes y valorar y prevenir el riesgo que representan (mr.).

toxicovigilancia. Proceso activo de identificación, investigación y evaluación de efectos tóxicos que aparezcan sobre la población, con el objetivo de tomar medidas para reducir o controlar la exposición a las sustancias que los produzcan.

toxificación. Conversión metabólica de una sustancia en otra más tóxica. ant. *destoxicación*.

toxina. Sustancia venenosa de origen biológico, producida por un organismo inferior o superior del reino animal o vegetal. El término inglés *toxin* no es traducible por toxina sino por tóxico, de significado más amplio. m. gral. *tóxico, veneno*.

transcripción. Proceso por el que la información genética, codificada en una secuencia lineal de nucleótidos, en una rama de ADN, se copia en una

secuencia exactamente complementaria de ARN. t. rel. *transcripción reversa, retrotranscripción*.

tumor. 1) Inflamación (bulto) o crecimiento anormal de un tejido, ya sea benigno o maligno. 2) Crecimiento anormal, en velocidad y estructura a partir del tejido normal, sin utilidad fisiológica. sin. *neoplasia*.

unidad de riesgo de cáncer (URC). Representa el incremento de riesgo frente a la absorción de una dosis fija de 1 µg/Kg ó 1 µg/L de tóxico en el alimento durante toda la vida. Kolluru, 1998. t. rel. *factor de pendiente de cáncer*.

Valor Umbral Limite (TLV, Threshold limit value). Se refiere a niveles permisibles de agentes químicos o físicos en el ambiente laboral, propuestos por la American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH, EE UU. 1993.

Actualmente incluye tres tipos de umbrales o valores límites ambientales:

- a) VLA-ED (TLV-TWA): Valores de Exposición Diaria o media ponderada en el tiempo. Concentración media a que puede estar expuesto un trabajador durante 8 horas diarias o 40 horas a la semana, sin sufrir efectos adversos.
- b) TLV-C: Valor techo (*ceiling*). Concentración ambiental que no debe ser sobrepasada en ningún momento.
- c) VLA-EC (TLV-STEL): Límite de Exposición de Corta Duración. Valores límites para cortos periodos de tiempo (15 minutos), sin que exceda el TWA diario, y sin que se repita más de cuatro veces al día ni con menor intervalo de una hora.

valores guía. Valores cuantitativos (en concentración o en número) de un constituyente ambiental o biológico, cuya no superación asegura una agradable calidad del aire, agua o alimentos y de los que no se deriva un riesgo significativo para el usuario.

vasculitis. Inflamación de las paredes de los vasos sanguíneos; puede ser causada por infección, patología inmunitaria, agentes físicos (radiaciones, traumatismos) o agente químicos (tóxicos). (mr).

veneno. 1) Toxina animal utilizada para autodefensa o depredación y liberada normalmente por mor-

dedura o picadura. 2) Tóxico usado intencionadamente. sin. p. *toxina, tóxico*.

vida media, tiempo medio ($t^{1/2}$). Tiempo en el cual la concentración de una sustancia se reduce a la mitad, asumiendo un proceso de eliminación de primer orden.

xenobiótico. En sentido estricto, cualquier sustancia que interactúa con un organismo y que no es uno de sus componentes naturales. sin. *sustancia exógena, sustancia extraña*.

INTERÉS TOXICOLÓGICO DEL FACTOR TIEMPO

El tiempo es un parámetro al que años atrás no se daba la consideración que merece en Toxicología, pero al que hoy se le reconoce una importancia capital. Posiblemente el cambio tuvo lugar durante los estudios de la toxicidad del paraquat, al observarse que los efectos, incluso los de dosis letales, no aparecían inmediatamente sino después de hasta catorce días; de ahí vino el concepto de *tiempo de latencia*, el que media desde la absorción del tóxico hasta la manifestación del efecto, concepto que aunque no era nuevo, nunca se había observado tan marcado. Por otra parte, se sabía que, en cualquier intoxicación, los efectos pueden permanecer más o menos tiempo (*tiempo de evolución*), durante el que se pueden producir lesiones o la muerte o, finalmente la recuperación del sujeto (Fig. 2.2). Además, como ya se ha visto, el tiempo, corto o largo, durante el que se produce la absorción de un tóxico clasifica a las intoxicaciones en agudas y crónicas.

De acuerdo con la llamada regla de Habers (1924), el efecto de un tóxico es función de la concentración (c) del tóxico en el ambiente o en el medio interno, y del tiempo (t) de exposición o contacto: $E = f(c \times t)$.

Desde que se absorbe un tóxico hasta que se manifiestan los efectos, puede transcurrir un plazo que se denomina *tiempo de latencia*, que, en cada caso, es *función* de la *vía* de administración, del *individuo*, de que necesite o no su transformación en un *metabolito activo*, etcétera, y, evidentemente, del *tipo de efecto* que utilicemos como signo, pues no debemos olvidar que cada xenobiótico puede

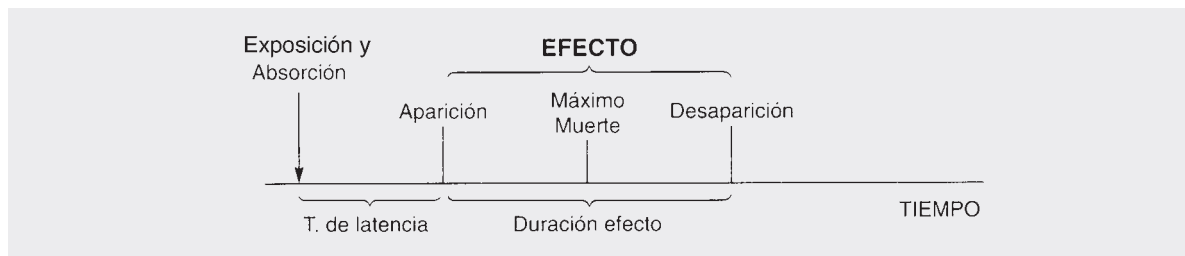


Figura 2.2. Distintos tiempos en un proceso tóxico.

desencadenar diferentes efectos. Cuando nos interesa registrar la producción de *muerte*, manejamos el llamado *tiempo letal* y *tiempo letal medio* (TL), promedio del transcurrido en los diferentes individuos, desde la aplicación del tóxico hasta su muerte; mayor exactitud posee el TL50, referido al 50 por 100 de los individuos experimentados.

Otros plazos o tiempos de interés son los de *aparición de efecto*, de *efecto máximo* y de *desaparición*.

En términos de contaminación ambiental, al considerar las concentraciones de los tóxicos en el medio (sea aire o agua), es preciso tener en cuenta, también, el *tiempo de permanencia en el ambiente*, porque la dosis recibida será función tanto de la concentración como del tiempo (*tiempo de exposición*).

De las tablas de toxicidad aguda o de las de MAC, éstas de escasa toxicidad aguda, pueden extraerse conclusiones erróneas si se pretende aplicar los datos a toxicidad crónica, ya que en ocasiones una sustancia con alta DL o MAC puede resultar peligrosa a largo plazo y con dosis baja, por acumulación de tóxico o sus efectos, por sensibilización (por ejemplo, sensibilización del miocardio a los haluros de carbono), capacidad carcinogénica, etc.

Para evaluar la contaminación ciudadana por sustancias no carcinógenas (pues los carcinógenos genotóxicos no tienen dosis mínima), se puede calcular la concentración máxima permisible en aire urbano (CMPU) en una exposición diaria de 24 horas, por la población general:

$$\text{CMPU} = \frac{\text{TLV}}{420}$$

donde 420 es un factor de incertidumbre que pretende tener en cuenta el diverso estado fisiológico de los ciudadanos.

CONCEPTO Y CLASIFICACIONES POR TOXICIDAD

La *toxicidad* es una cualidad a la vez *intrínseca* y *relativa* de todas las sustancias que, como iremos viendo, depende de un conjunto de condiciones y circunstancias, como son los procesos de biotransformación (los que aumentan la toxicidad del compuesto y los que la disminuyen), así como los mecanismos de defensa del individuo, todo lo cual está determinado por las características genéticas de cada uno; también influyen otros factores internos y externos, como las circunstancias fisiológicas del individuo (a su vez muy influenciadas) y la participación concomitante de otros compuestos químicos.

El manejo y consumo de éstos supone un riesgo que es función de:

- Las *características fisicoquímicas* de las sustancias.
- Su *potencialidad tóxica* (pT), o toxicidad intrínseca que está en razón inversa a las cantidades precisas para provocar daño a los seres vivos.
- La *probabilidad* de que sea absorbida por el hombre, y la *frecuencia* con que esto pueda ocurrir. De estos dos factores (probabilidad de exposición y frecuencia) depende, en definitiva, el *riesgo*, o probabilidad de que se produzca un efecto tóxico.

Aunque incluso las sustancias que son constituyentes normales de nuestro organismo (como las hormonas o los neurotransmisores), cuando están en concentraciones superiores a las fisiológicas, pueden originar patologías, solemos referirnos a los tóxicos como *xenobióticos* o compuestos extraños, o que vienen de fuera de los seres vivos.

La potencialidad tóxica de una sustancia es tanto mayor cuanto menor sea la dosis precisa para producir un efecto nocivo.

Hasta hace poco se hablaba de *dosis sin efecto* pero la experiencia ha enseñado que es preciso ser prudentes y sólo admitir que hay dosis o niveles *sin efecto observable* (NISEO, en inglés NOEL), ya que muchas veces las consecuencias de una o repetidas exposiciones no se manifiestan exteriormente o sólo lo hacen después de cierto tiempo.

Cuando un organismo recibe pequeñas dosis de una sustancia procura adaptarse a ella, bien incrementando su propia capacidad de biotransformación (metabolismo) y excreción o incluso elevando, dentro de unos márgenes, su umbral de sensibilidad para soportar el tóxico. En el caso de que la dosis supere estas capacidades fisiológicas de adaptación, aparecerán modificaciones en los parámetros biológicos.

Para aludir a la toxicidad de las sustancias era clásico referirse a las dosis precisas para producir la muerte tras una sola absorción, es decir, para originar una intoxicación aguda letal.

Esta dosis letal (DL) se calcula por experimentación con suficiente número de animales para obtener valores de significación estadística; así se calculan la DL mínima, que mata a un solo individuo, la DL-50, o media letal para el 50 por 100 de los ejemplares, la DL-100, que intoxica mortalmente a todos los individuos, y dosis intermedias como DL-25, DL-75, etc.

Sin embargo, se ha visto que este parámetro es insuficiente para calificar la toxicidad de las sus-

tancias, porque productos de escasa toxicidad aguda, con altas DL-50, resultan muy peligrosos cuando se absorben de forma crónica. Por ello la DL-50 ha quedado reducida a un mero valor de referencia, que debe determinarse para a partir de él investigar otros parámetros toxicométricos.

En cuanto a los humanos, como obviamente no se debe experimentar con ellos, se recogen datos retrospectivos epidemiológicos de donde, con grandes posibilidades de error como apuntamos antes, se deducen las exposiciones o dosis mínimas que se sepan hayan producido efectos tóxicos o muertes, y unas hipotéticas *dosis tóxicas o letales medias estimadas*, que se simbolizan por DTE_m y DLE_m.

Por otra parte, la correlación dosis-efecto presenta en los humanos mucha mayor dispersión que en la experimentación animal. Las razones de esta discordancia se encuentran básicamente en que los animales de experimentación se seleccionan entre razas puras de estabilidad muy controlada, criados en bioterios estandarizados, que aseguren la perfecta salud, y con alimentación homogénea, mientras que los humanos somos producto de múltiples cruces entre pueblos y razas, con grandes variaciones en los hábitos de vida en general y alimentarios en particular, lo cual, unido al empleo de medicamentos, tabaco, alcohol y otras drogas y plaguicidas, y al efecto de los contaminantes ambientales más relevantes de cada localidad, nos hace cada vez más diferentes desde el punto de vista bioquímico.

Tradicionalmente se han venido clasificando las sustancias en varias categorías, de acuerdo con su

Tabla 2.1. Rangos de toxicidad* según vías de administración

Rango de toxicidad	Denominación usual	Vía oral Dosis única, rata DL50	Vía cutánea, dosis única, conejo DL50	Inhalación vapor 4 h. CL50, ratas ppm	Posible dosis letal hombre
1	Extremadamente tóxico	< 1 mg/kg	< 5 mg/kg	10	1 gota, 1 grano
2	Altamente tóxico	1-50 mg/kg	5-50 mg/kg	10-100	1 cucharilla (4 ml)
3	Moderadamente tóxico	50-500 mg/kg	50-350 mg/kg	100-1.000	30 g
4	Ligeramente tóxico	0,5-5 g/kg	0,35-3 g/kg	1.000-10.000	250 g
5	Prácticamente no tóxico	5-15 g/kg	3-25 g/kg	10.000-100.000	1 litro
6	Relativamente inocuo	> 25 g/kg	> 25 g/kg	> 100.000	> 1 litro

De: Deichman WB y Gerarde HW. *Toxicology of drugs and chemicals*. Nueva York: Academic Press, 1969.

* Se refiere exclusivamente a toxicidad aguda.

toxicidad letal (DL50), normalmente por vía oral (Tablas 2.1 y 11.12).

Pero estas clasificaciones no consideran el riesgo que supone la toxicidad por absorción crónica, que, como ya indicamos, presenta en la actualidad una gran importancia cuantitativa por su frecuencia. Además no deberíamos clasificar los productos atendiendo sólo a la dosis con que matan, sino que sería más lógico utilizar como indicadores otros efectos menos dramáticos y que permitieran una reversibilidad (véase Índices Biológicos de Exposición).

En este sentido nos parece de gran interés la propuesta rusa de estimar unos coeficientes de acción tóxica aguda o crónica, que se definen como sigue:

a) *Coeficiente de acción tóxica a guda*, obtenido como cociente entre la DL50 y la dosis umbral (DU) o más baja que, tras una absorción única, causa modificaciones en los indicadores biológicos, rebasando las capacidades fisiológicas de adaptación al tóxico.

$$\text{Coeficiente de acción tóxica aguda} = \frac{\text{DL50}}{\text{DU}}$$

b) *Coeficiente de acción tóxica crónica*, cociente entre la citada dosis umbral para una sola exposición y la dosis umbral que causa efectos nocivos como consecuencia de una absorción crónica. Según el periodo de tiempo en que se produjera ésta (3, 6, 12 meses), tendríamos coeficientes de acción crónica o subcrónica.

Coeficiente de acción tóxica crónica =

$$= \frac{\text{DU (1 exposición)}}{\text{DU (exp. crónica)}}$$

Conforme a estos coeficientes, las anteriores clasificaciones corresponderían a lo expuesto en la Tabla 2.2:

Tabla 2.2.

Clase de sustancia	Coeficientes de acción tóxica	
	Aguda	Crónica
1. Sumamente tóxica	< 6	> 10
2. Muy tóxica	< 18	> 5
3. Moderadamente tóxica	< 50	> 2,5
4. Ligeramente tóxica	> 50	< 2,5

Efectos colaterales, secundarios e indeseables de los medicamentos

En farmacología terapéutica se utiliza una serie de conceptos para aludir a efectos que producen los medicamentos y que no son buscados o pretendidos con el uso; frecuentemente se manejan como sinónimos tales conceptos, lo que origina gran confusión. Esta situación parece provenir de la traducción incorrecta del término inglés *side-effects*, cuyo significado literal es el de efectos colaterales, pero que por la mayor riqueza del idioma español se traduce a veces por otros vocablos de diferente significado.

El hecho de que un fármaco no realice una única acción específica, sino que simultáneamente afecte a distintos receptores, hace que se produzca una suma de efectos *colaterales*; por ejemplo, además de la actividad anticolinérgica de la atropina, este fármaco produce sequedad de boca, retención urinaria, midriasis y taquicardia, como acciones colaterales. Por otra parte, un fármaco puede dar origen a otros efectos que derivan del primario o principal; son los efectos *secundarios*, como la disbiosis que sigue al empleo de los antibióticos, o la hipocaliemia consecuente al uso de diuréticos, o la retención hídrica debida a los corticoides (Tabla 2.3).

A veces estos efectos colaterales y secundarios son aceptables, pero otras veces son molestos e incluso peligrosos, por lo que reciben el nombre de *efectos adversos o indeseables*, que además incluyen los debidos a *idiosincrasia* (o respuesta atípica por causa genética), *alergia* o hipersensibilidad adquirida, e *intolerancia* por cualquiera de ambas causas.

Tabla 2.3. Causas de los efectos nocivos de los medicamentos

POR CAUSAS GENERALES COMO:

- Toxicidad intrínseca (*citotóxicos*)
- Sobredosificación
- Interacción

POR CAUSAS PARTICULARES:

Efectos adversos o indeseables

- Secundarios (*hipopotasemia por diuréticos*)
- Colaterales (*taquicardia por anticolinérgicos*) (*side-effects*)
- Intolerancia
 - Idiosincrasia
 - Hipersensibilidad

Todo ello es concordante con las definiciones de la OMS y de la FDA norteamericana, para las acciones adversas o indeseables de los medicamentos.

Según la OMS: «Es cualquier acción perjudicial, no buscada y que aparece a las dosis empleadas normalmente en el hombre para el tratamiento, profilaxis o diagnóstico.»

Y según la FDA: «Es cualquier cambio patológico no buscado, con carácter orgánico, funcional o de laboratorio, que está relacionado con una sustancia utilizada en la profilaxis, diagnóstico o terapéutica de las enfermedades o para la modificación de estados fisiológicos.»

En consecuencia, ni la intoxicación producida por la absorción excesiva (sobredosificación) de un medicamento ni la interacción medicamentosa entran en estas definiciones y no pueden considerarse como reacciones adversas propiamente dichas.

Según el Ministerio de Sanidad español (2003) un 10% de los ingresos hospitalarios se debe a una utilización indebida de los medicamentos, generalmente, por automedicación; por otra parte, un informe oficial de EE UU (1999) reveló que allí mueren al año unas 7.000 personas por prescripción errónea de los medicamentos y muchas veces a causa de la mala letra de los médicos.

RELACIONES DOSIS-EFECTO Y DOSIS RESPUESTA

Efecto es la manifestación de la acción de un fármaco que modifica algún mecanismo bioquímico o

función fisiológica. Este cambio debido a la interacción a nivel molecular entre el xenobiótico y constituyentes biológicos puede no ser evidente (efecto subclínico) o manifiesto (efecto clínico), que incluso a veces puede medirse de forma objetiva.

Normalmente se utilizan como sinónimos los términos efectos y respuesta, pero actualmente se pretende reservar este último para designar el porcentaje de población en que se manifiesta un efecto.

El efecto va indefectiblemente ligado a dos variables: dosis y tiempo, aunque con frecuencia se considera sólo el binomio dosis-efecto.

Esta relación puede ser de dos tipos:

a) *Cuántica*. Responde a la ley del todo o nada; ante una dosis el individuo presenta el máximo efecto posible o no experimenta nada.

b) *Gradual*. El efecto es función de la dosis; la representación gráfica de esta relación se aproxima (porque generalmente es una nube de puntos) a una hipérbola (Fig. 2.3) que muestra cómo al aumentar la dosis se incrementa el efecto, hasta llegar a una dosis (D_m) en que se alcanza un efecto máximo, y la curva se hace asintótica. En ocasiones la correlación fluctúa y gráficamente es una sigmoide (Fig. 2.4). Cuando se representa el efecto frente al logaritmo de la dosis se obtiene una recta (Fig. 2.5). A veces, en lugar de considerar el efecto se maneja el valor del porcentaje de éste sobre el efecto máximo ($E/E_m \times 100$).

Para calcular la relación dosis-efecto conviene recoger datos de muchos individuos (de cuantos más mejor), y, como ocurre que para una misma

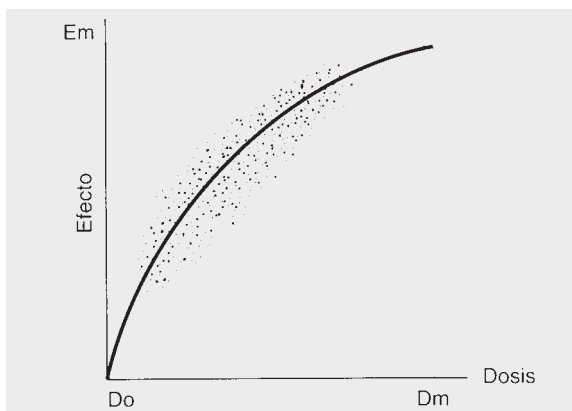


Figura 2.3. Representación ideal de la relación dosis-efecto.

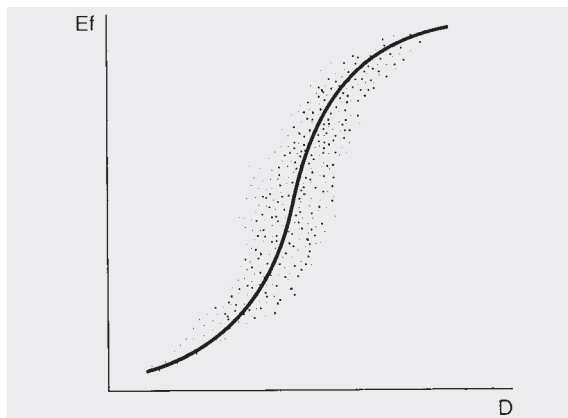


Figura 2.4. Algunas relaciones dosis-efecto presentan forma sigmoidea.

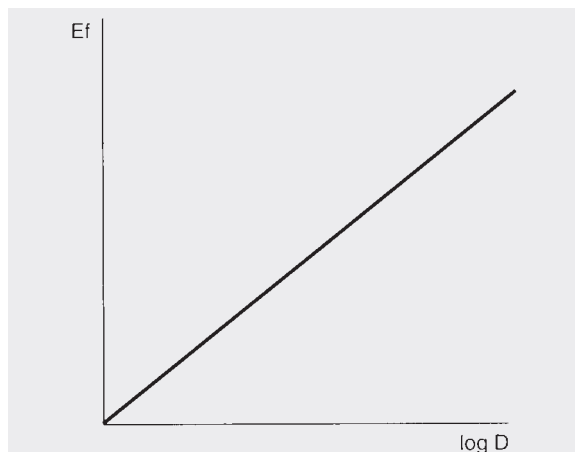


Figura 2.5. Representación semilogarítmica de la curva dosis-efecto.

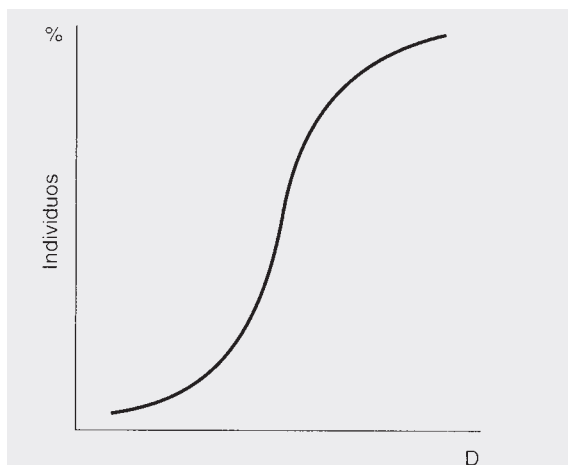


Figura 2.7. Respuesta acumulada.

dosis, en una población dada, no todos los individuos experimentan idéntico efecto, denominamos *respuesta* a la proporción (%) de esa población que manifiesta el efecto requerido. De aquí podemos obtener las curvas *dosis-respuesta*, que cumplen la llamada «ley biológica de distribución al azar».

Como en una población hay siempre elementos más sensibles y otros más resistentes, al representar el número de individuos que muestran el mismo efecto frente a una misma dosis, se tiene una curva de Gauss (Fig. 2.6), simétrica o no.

Dado que a una cierta dosis el número de individuos afectados es igual a la suma o acumulación de todos aquellos que se afectan por dosis menores a la administrada, podemos obtener también la curva de frecuencias o de *respuestas acumuladas*, que es una línea sigmoide (Fig. 2.7), transformable en recta (Fig. 2.8), en representación semilogarítmica (respuesta frente a logaritmo de la dosis).

De todas estas curvas se puede extrapolar la respuesta que producirá una dosis. Esto puede hacerse por varios procedimientos; el modelo del impacto

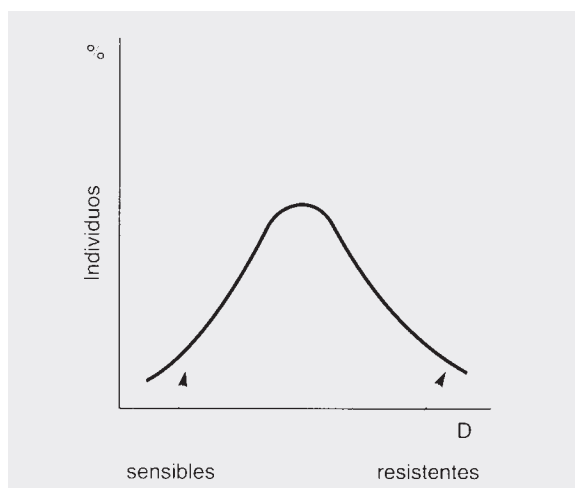


Figura 2.6. Curva dosis-respuesta (frecuencia de individuos).

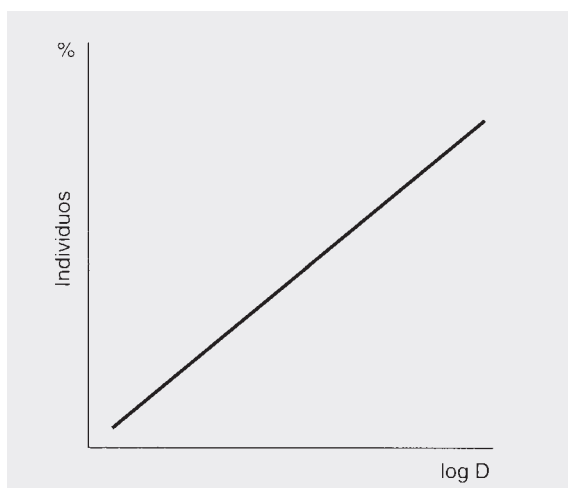


Figura 2.8. Representación semilogarítmica de la respuesta acumulada.

singular (una dosis = un efecto) supone una relación lineal, y significa que los individuos que sobreviven a una dosis dada resistirán una dosis menor.

El modelo de relación lineal nos permite calcular gráficamente la DL50. En ordenadas se representa el número de animales utilizados en la experiencia y en abscisas las unidades de dosis (que pueden escogerse como 2, 4, 8, 16 y 32), a condición de que estén en proporciones geométricas, cuyos logaritmos aumentan uniformemente (0,30103, 0,60206, 0,90309, 1,20412, 1,50515). Al señalar el número de animales que mueren o que sobreviven con cada dosis tendremos dos líneas cuya intersección corresponde a la DL50 (Fig. 2.9).

Las representaciones semilogarítmicas de las curvas dosis-efecto y dosis-respuesta nos permiten deducir la toxicidad de una sustancia a partir de la pendiente de la recta; cuanto más próxima a la vertical sea ésta, hay mayor incremento en la respuesta para un pequeño intervalo de dosis, por lo que la sustancia será más tóxica (A), siempre que se considere la misma vía de administración. De dos rectas paralelas, será más peligrosa la sustancia cuyo efecto se inicia a dosis inferiores (B) (Fig. 2.10).

Otra forma de considerar la respuesta es estimando la probabilidad de que se produzca. Para ello se utilizan los probits, que son unidades de probabilidad, que se corresponden a las desviaciones (σ) con respecto a la media. A la dosis media (DL50) ($\sigma = 0$), hay el 50 por 100 de respuesta con valor de 5 probits (Fig. 2.11).

Para transformar porcentaje de respuestas en probits se pueden utilizar fórmulas matemáticas o tablas que se encuentran en libros de bioestadística, o representando la curva de dosis-respuestas en papel semilogarítmico probabilístico (Fig. 2.12).

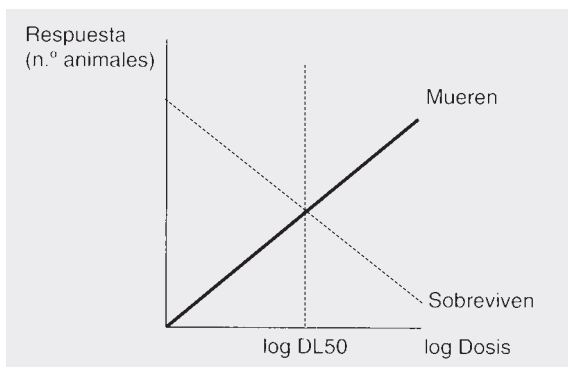


Figura 2.9. Cálculo gráfico de la DL50.

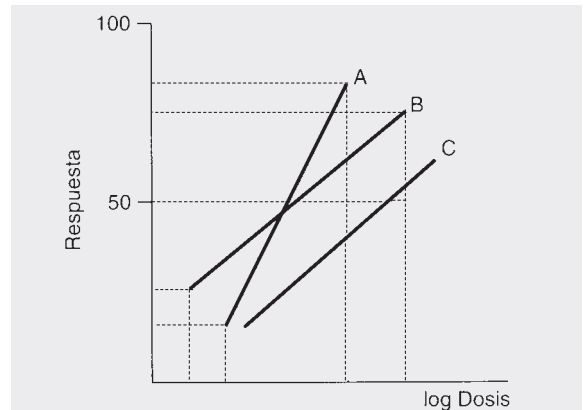


Figura 2.10. A mayor pendiente, mayor toxicidad.

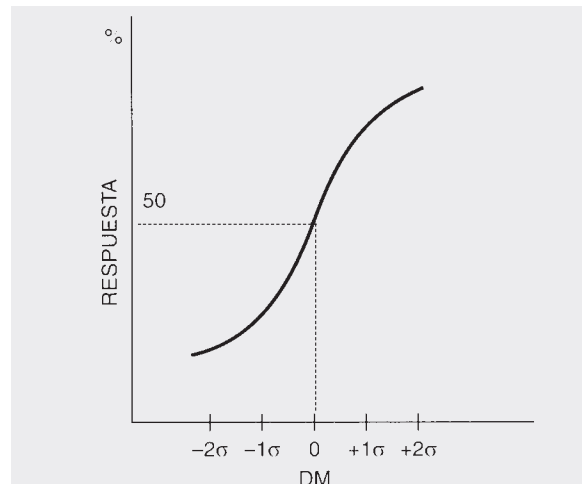


Figura 2.11. Variaciones de la respuesta por desviaciones de la dosis.

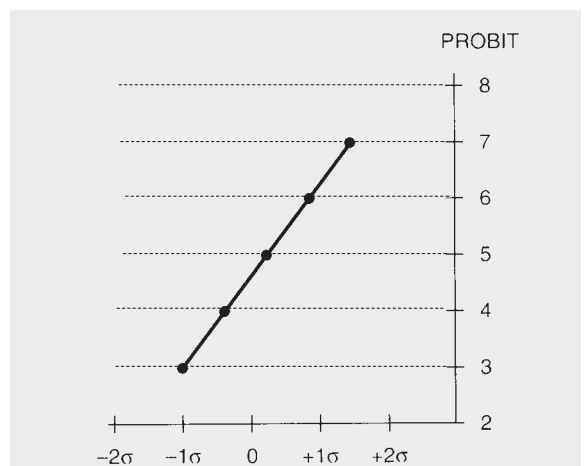


Figura 2.12. Expresión de la respuesta en probits.

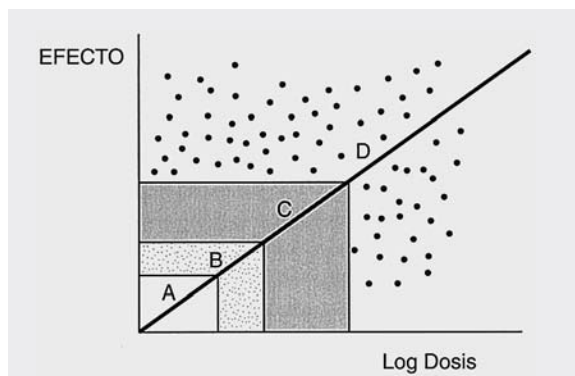


Figura 2.13. Zonas de relación dosis-efecto.

De conformidad con el ya destacado carácter relativo de la toxicidad, al representar gráficamente la relación dosis-efecto de un medicamento, encontramos las siguientes áreas de correspondencia (Fig. 2.13):

- A. Sin efecto aparente favorable o desfavorable.
- B. Zona de aplicación terapéutica.
- C. Efectos tóxicos transitorios o reversibles.
- D. Efectos tóxicos irreversibles.

Hormetinas

Luckey y Venugopal (1977) denominaron *hormetinas* a todas aquellas sustancias que absorbidas a pequeñas dosis ejercen un efecto beneficioso para los procesos fisiológicos, pero que a dosis más altas o cuando dosis bajas repetidas originan concentraciones tisulares elevadas, dan lugar a efectos tóxicos. Como hormetinas pueden actuar el 50 por 100 de las sustancias tóxicas con efectos que, según la

dosis o las concentraciones tisulares, pueden variar según se representa en la Figura 2.14.

En zona I, de *carencia*, y zona II, de *insuficiencia*, mejora la salud con la dosis, pero los niveles son insuficientes para una función fisiológica normal. La zona III es la de acción *hormética* de función fisiológica óptima. En la zona IV aparecen efectos *nocivos* y en la V fenómenos *tóxicos* que evolucionan según una representación sigmoidea (Fig. 2.14).

Estos conceptos, representados en amplias curvas en forma de U o de U invertida, de carácter bimodal o incluso multifásico han sido desarrollados posteriormente por Calabrese y colaboradores (Calabrese y Baldwin, 2001 y 2003), poniendo de manifiesto cómo algunas sustancias que, a pequeñas dosis, actúan como débiles antitumorales, cuando se administran a mayores dosis, por encima de la línea en el origen, son tumorigénas; y a la inversa, con la curva de la U invertida, sustancias que inhiben el crecimiento, a bajas dosis pueden estimularlo, como habíamos descrito nosotros (Repetto y Sanz, 1978, véase Capítulo 11).

Concepto de pT

Este concepto de potencial de toxicidad ha sido propuesto por Luckey y Venugopal, en un intento de disponer de un parámetro que evalúe la toxicidad de las sustancias de una forma más exacta que las conocidas.

La *p* en *pT* representa el potencial o toxicidad inherente de una sustancia, expresada para determinadas condiciones, vías de administración y especie; esta *p* trata de ser el principio de incer-

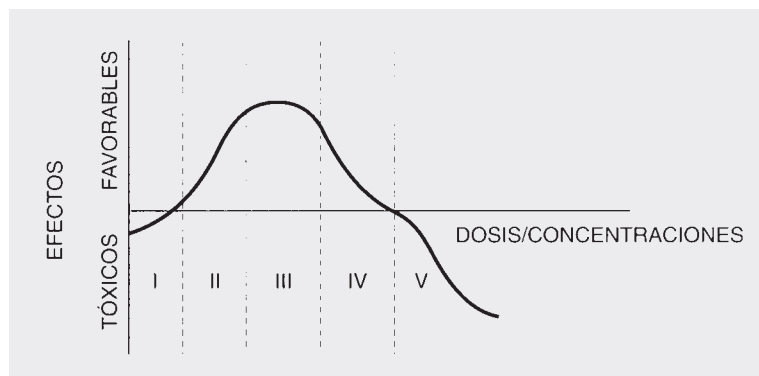


Figura 2.14. Comportamiento de las hormetinas.

Tabla 2.4. Dosis letal 50, Intraperitoneal en el ratón, clasificadas por pT

Tóxico	Peso molecular	mg/kg	mol/kg	Toxicidad pT
Botulínica D	1.000.000	$3,2 \times 10^{-7}$	$3,20 \times 10^{-16}$	15,49
Botulínica A	900.000	$1,14 \times 10^{-6}$	$1,27 \times 10^{-15}$	14,90
Botulínica B	165.000	$8,08 \times 10^{-7}$	$4,90 \times 10^{-15}$	14,31
Botulínica E	350.000	$5,68 \times 10^{-6}$	$1,62 \times 10^{-14}$	13,79
Tétanos	66.000	$1,67 \times 10^{-6}$	$2,53 \times 10^{-14}$	13,60
<i>Shigella</i>	82.000	$1,35 \times 10^{-3}$	$1,65 \times 10^{-11}$	10,78
Palitoxina	3.300	$1,5 \times 10^{-4}$	$4,55 \times 10^{-11}$	10,34
<i>Perfringens</i>	40.500	$3,2 \times 10^{-3}$	$7,90 \times 10^{-11}$	10,10
<i>Perfringens</i> CO	74.000	$8,1 \times 10^{-3}$	$1,09 \times 10^{-10}$	9,96
<i>Pestis</i>	120.000	$4,0 \times 10^{-2}$	$3,33 \times 10^{-10}$	9,48
Estreptocócica	80.000	$1,0 \times 10^{-1}$	$1,25 \times 10^{-9}$	8,90
Estafilocócica	21.000	$4,0 \times 10^{-2}$	$1,90 \times 10^{-9}$	8,72
Saxitoxina	372	$3,4 \times 10^{-3}$	$9,14 \times 10^{-9}$	8,04
Tetrodotoxina	319,3	$1,0 \times 10^{-2}$	$3,13 \times 10^{-8}$	7,50
Amanitina	916	0,3	$3,28 \times 10^{-7}$	6,48
Actinomicina D	1.256	0,7	$5,58 \times 10^{-7}$	6,25
Estricnina	334,4	0,98	$2,93 \times 10^{-6}$	5,53
Rotenona	394,5	2,8	$7,10 \times 10^{-6}$	5,15
HgCl ₂	271,5	5	$1,84 \times 10^{-5}$	4,74
Paratión	291,3	5,5	$1,89 \times 10^{-5}$	4,74
Adrenalina	183,3	4	$2,18 \times 10^{-5}$	4,66
NaH ₂ AsO ₄	163,9	9	$5,49 \times 10^{-5}$	4,26
TICI	239,8	24	$1,00 \times 10^{-4}$	4,00
HCN	27,0	3	$1,11 \times 10^{-4}$	3,95
BeCl ₂	79,9	12	$1,50 \times 10^{-4}$	3,82
Na fluoracetato	100,1	18	$1,80 \times 10^{-4}$	3,74
Benedryl	255,4	84	$3,29 \times 10^{-4}$	3,48
Codeína	299,4	130,00	$4,34 \times 10^{-4}$	3,36
Morfina	285,4	285	$9,99 \times 10^{-4}$	3,00
Estreptomycin	581,6	610	$1,05 \times 10^{-3}$	2,98
Cafeína	194,2	250	$1,29 \times 10^{-3}$	2,89
Tetraciclina HCl	480,9	650	$1,35 \times 10^{-3}$	2,87
BaCl ₂	208,3	500	$2,40 \times 10^{-3}$	2,62
Aspirina	180,2	495	$2,75 \times 10^{-3}$	2,56
NaF	42,0	125	$2,98 \times 10^{-3}$	2,53
Pu citrato	435,1	1.750	$4,02 \times 10^{-3}$	2,40
Pantoténico (ác)	219,2	900	$4,11 \times 10^{-3}$	2,39
CdCl ₂	183,3	1.350	$7,36 \times 10^{-3}$	2,13
Nicotínico (ác)	123,1	1.860	$1,51 \times 10^{-2}$	1,82
CCl ₄	153,8	4.620	$3,00 \times 10^{-2}$	1,52
NaCl	58,4	2.600	$4,45 \times 10^{-2}$	1,35

Según Luckey y Venugopal, 1977. *J Tox & Env Health* 2: 633.

Nota.— Obsérvese que las primeras 18 sustancias de las relacionadas son de procedencia biológica, lo que demuestra la falacia de identificar «lo natural» con «lo sano».

Tabla 2.5. Comparación de la DL50, IP, en la rata, de Be y TI

Compuesto	Toxicidad expresada como							
	Compuesto mg/kg	Factor	Metal mg/kg	Factor	Metal mol/kg	Factor	pT	Factor
BeCl ₂	4,4	1/1,6	0,5	10	0,056	1/2,5	4,26	0,75
TiCl ₄	6,9		4,5		0,022		5,66	
Be acetato	317	10	22,4	1	2,49	1/22	2,6	0,66
Ti acetato	29,6		23,0		0,113		3,94	

tidumbre en biología, y pT resulta un concepto, en cierto modo, similar al de pH .

Por definición, pT es la inversa (el negativo) del logaritmo de base 10 de la dosis de una sustancia (expresada en mol/kg), que produce un determinado efecto. Es decir, $pT = -\log T$, donde T es la dosis molar, de forma que pT puede calcularse fácilmente a partir de la dosis en mg/kg, cuando se conoce el peso molecular (Tabla 2.4).

Para evaluar la relación dosis-efecto se utiliza el logaritmo, ya que se sabe bien que el efecto de un fármaco es más proporcional al log de la dosis que a su expresión algebraica. El concepto de pT es aplicable a cualquier tipo de efecto, desde un efecto determinado (miosis, salivación, mutagénesis, etc.) a muerte, indicándola como pT_{25} , pT_{50} , etc.

Esta concepción de tipo molecular puede ayudar a explicar y cuantificar mecanismos de toxicidad y la toxicidad propia de la sustancia, puesto que existe una relación directa entre el número de átomos o iones que se hallen presentes y su efecto farmacodinámico.

En la Tabla 2.5, Luckey y Venugopal justifican la lógica de su teoría. Al comparar la toxicidad como DL50 por vía intraperitoneal (IP), en ratas, de los cloruros de berilio y talio, se observa que el primero es casi 1,6 veces más tóxico que el segundo. Pero, si calculamos en estas sales el contenido del catión, deduciremos que la DL en mg/kg del metal berilio es 10 veces superior a la del talio.

Por otra parte, comparando la toxicidad de los acetatos de ambos metales, el acetato de berilio resulta 10 veces menor que el de talio, pero, calculando sus respectivas proporciones de catión, las toxicidades de ambos metales aparecerán

similares, lo cual es ilógico y se contradice con lo anteriormente calculado.

Sin embargo, si expresamos las respectivas dosis letales en moles por kilogramo, de la comparación entre los cloruros resulta que el talio es 2,5 veces más tóxico que el berilio, en tanto que, comparando las DL de los metales en los acetatos, el talio sería 22 veces más tóxico que el berilio.

Y si ahora calculamos los respectivos pT encontraremos que no existen ya tantas diferencias numéricas, y se mantiene el orden de toxicidad.

Una sustancia que posea un pT de 0, indicando que la dosis letal es de 1 mol/kg, puede ser estimada como de muy escasa toxicidad. Al ver un pT del orden de 1, de 2 o de 3, podemos deducir rápidamente que las DL50 molares se hallarán por los niveles de 0,1, 0,01, 0,001 mol/kg; y si el pT de un compuesto es 1, 2 ó 3 veces mayor que el de otros, se deberá a que es 10, 100 ó 1.000 veces más tóxico que éstos.

TOXICIDAD DE LAS SUSTANCIAS QUÍMICAS

Sabemos que se denomina *tóxico* a toda sustancia que, en pequeñas dosis, es capaz de producir daños a los organismos vivos y, ya hemos visto, aunque nunca se insistirá bastante, que la toxicidad de las sustancias es una *cualidad relativa*, que depende, por una parte, de la dosis que se absorba, y por otra, de que el sujeto pertenezca al reino animal o al vegetal, de su especie, sexo, edad, circunstancias fisiológicas y ambientales, etc., como se tratará más adelante.

I A	II A	III B	IV B	V B	VI B	VII B	VIII	I B	II B	III A	IV A	V A	VI A	VII A			
H														He			
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
1.8	2.9																
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
2.3	1.5											2.2					
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
2.7	2.4	1.6		3.0	2.0	2.0	2.4	2.6	2.6	2.7	2.6	1.5	2.9	3.8	3.6		
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
2.0			1.9	2.1	2.7					3.5	2.9	1.6	3.3	2.6	3.1		
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
	2.5	2.1		2.0	3.4						3.7	3.9	3.8				
Fr	Ra	Ac															

Figura 2.15. Valores pT en el sistema periódico, referidos a las sales con el mayor grado de valencia.

Por ello, nunca puede calificarse a una sustancia como *inocua* o no tóxica, ya que cualquiera de ellas, aun las imprescindibles para la vida, como el agua, el oxígeno, la glucosa, etc., a grandes cantidades o en determinadas circunstancias, puede resultar nociva. Además, nunca se puede estar seguro de que una sustancia no sea capaz de producir daño, solamente basados en que nadie lo haya constatado.

Algunas sustancias en dosis muy pequeñas, pero recibidas repetidamente, pueden provocar, con más probabilidad en unos individuos que en otros, una alteración del sistema inmunitario (agentes inmunoactivos o *inmunotóxicos*) o bien cáncer; hay muy pocos compuestos químicos que sean capaces de inducir cáncer tras pequeño número de dosis, por muy grandes que sean éstas, pues, en general, se requieren exposiciones repetidas durante años con dosis muy bajas, para que se desarrollen las neoplasias. Hay carcinógenos que actúan reaccionando directamente sobre los constituyentes genéticos, por lo que se denominan *genotóxicos*, de los que no se conoce que posean una «dosis segura» por muy pequeña que sea; otros carcinógenos activan otros mecanismos, generalmente de tipo hormonal, que sólo indirectamente afectan a las bases genéticas, y por ello reciben el nombre de *epigenéticos* o *mitogénicos* por actuar activando la mitosis o división celular.

Por otra parte, algunos tóxicos no penetran en el cuerpo sino que hacen su efecto dañino solamente en el lugar en que contactan con el organismo; son los tóxicos por contacto o de acción local, como los irritantes y cáusticos y corrosivos y algunos tipos de carcinógenos. Otras sustancias han de pasar a la sangre y ser distribuidas por el interior del organismo gracias a lo que se denomina vía sistémica, para llegar a los lugares u órganos donde preferentemente ejercen sus acciones; son los *tóxicos sistémicos*. Véase la Tabla 2.6, donde se resumen, para una visión de conjunto, todos estos conceptos, que serán desarrollados a lo largo de este libro.

Con la intención de aumentar la protección de la salud y del medio ambiente, a través de un mejor conocimiento de la toxicidad de las sustancias y mediante la sustitución de las más peligrosas por otras más seguras, la UE dispone, desde el día 1 de enero de 2007, de la llamada Regulación REACH (registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias químicas), que simplifica y reúne en una sola cuarenta normativas europeas sobre la materia, y para cuyo cumplimiento ha creado la Agencia Europea de Sustancias químicas (ECHA), con sede en Helsinki (véase Cap. 11; puede consultarse <http://ec.europa.eu/enterprise/reach> y <http://ec.europa.eu/echa/home>).

Tabla 2.6. Clasificación de las sustancias según su nocividad sobre los seres vivos

clase	Modalidad	Acción	Observaciones
Inocua			Dependiendo de la dosis, especie, individuo, etc. A grandes dosis no lo es ninguna sustancia.
Inmunoactiva	Alergizante Inmunosupresora Autoinmunizante	Sensibilizante Depresora Lesiva contra uno mismo	Tras absorción reiterada de dosis muy bajas.
Tóxica local Irritante Cáustica/Corrosiva		Inflamación localizada Lesión (ulceración) localizada	
Tóxica sistémica Organoespecífica		Diversa	Se afecta preferentemente un órgano y, secundariamente, otros.
Genotóxica	Mutágena Carcinógena	Directa sobre ADN y ARN	Lesivas a <i>dosis muy bajas reiteradas</i> ; carecen de «dosis de segura o cero». Transmisible a la descendencia (heredable). Pérdida de control de la reproducción celular.
Epigenética	Carcinógena	Estimulación de la mitosis (mitogénica)	Requieren dosis determinada; tienen «dosis segura».
Tox. sobre la Reproducción		Malformación u otros efectos en hijo	Requieren determinadas dosis y ser absorbidas en ciertos periodos de la gestación.

TOXICIDAD DE LAS SUSTANCIAS NATURALES

Frecuentemente la publicidad de ciertos medicamentos, cosméticos, alimentos, etc., los presenta como productos absolutamente seguros alegando que por *ser productos naturales* son de máxima salubridad y absolutamente seguros. Esta rotunda afirmación no deja de ser una falacia porque «natural» no es sinónimo de «sano»; en la naturaleza existen numerosas sustancias, no sólo inorgánicas como compuestos arsenicales, de plomo, de radio, etc., sino también biológicos, producidos por los seres vivos (bacterias, microhongos y hongos, plantas superiores, insectos, reptiles, etc.), que poseen toxinas bacterianas, micotoxinas, alcaloides, glucósidos y muy diversas biotoxinas, sintetizados como productos metabólicos o como sustancias defensivas contra los depredadores. Simples ejemplos serían las aflatoxinas, las toxinas de las setas, la rotenona (presente en la raíz de la planta

Derris elliptica, cuyo extracto se utilizó en pueblos primitivos para la pesca y actualmente como insecticida) y cuyo efecto lesivo sobre el sistema nervioso central puede verse en el Capítulo 7, etc.

Si se observa la anterior Tabla 2.4, donde se relacionan 41 sustancias en orden decreciente de toxicidad, se ve cómo las 18 primeras, que son las más tóxicas, son todas ellas de origen biológico, ninguna es artificial.

AGENTES FÍSICOS

Ordinariamente, se consideran sólo a las sustancias químicas como agentes tóxicos olvidando la lesividad propia de los agentes físicos, lo cual es un error. En otro lugar de este libro (Capítulo 8) se comenta la influencia de la temperatura, la luz, la presión atmosférica y el ruido, así como del conjunto de los factores cósmicos (ritmos circadianos) y fenomenológicos (manchas solares, terremotos, frentes de tormentas, etc.) sobre la toxicidad de las

sustancias en los individuos expuestos, y en el Capítulo 7 estudiaremos las patologías originadas por la luz y el rango ultravioleta (UV).

Pero deben tenerse presentes las acciones nocivas que directamente causan agentes como las radiaciones y la energía electromagnética, a pesar de que sobre ellas sólo se dispone de conocimiento incompleto y con grandes lagunas. Desde finales del siglo XIX se sabe que estamos expuestos a un conjunto complejo de campos eléctricos y magnéticos, y aunque estas acciones han causado cierta preocupación, reciben mayor atención desde hace unos treinta años. Sus efectos sobre los sistemas vivos es innegable, porque son magnéticas o eléctricas las fuerzas que atraen o mantienen unidos a los átomos para formar moléculas, las señales intracelulares, la transmisión nerviosa, etc., que pueden ser afectadas por campos eléctricos o magnéticos y la formación de corrientes inducidas.

En numerosos empleados de empresas instaladas en modernos edificios cerrados, incluso en hospitales, se ha detectado un trastorno morfológico reversible que ha sido denominado *lipoatrofia semicircular*, consistente fundamentalmente en pérdida de tejido graso, especialmente en las piernas, y que se achaca a coincidencia de alta concentración de electricidad estática o campos electromagnéticos, baja humedad relativa y uso de mobiliario metálico que produzcan microtraumatismos repetidos en la zona corporal. Histológicamente solo se aprecia pérdida de tejido graso subcutáneo en los muslos (generalmente en el derecho), a veces en las caderas o el abdomen, sin alteraciones musculares ni sustitución por tejido fibroso; puede acompañarse de cefalea, irritabilidad, sequedad en garganta y tos, prurito cutáneo, etc. Fue descrito en Bélgica, en 1974, como síndrome de Gschwandtner y Münzberger, y en España en Barcelona (Nogué *et al.*, 2007).

Las ondas electromagnéticas son paquetes de energía o fotones, y según su frecuencia y energía o intensidad (campos magnéticos o eléctricos de baja o alta frecuencia) se dividen en *radiaciones ionizantes* y *radiaciones no-ionizantes* y son provenientes tanto de fuentes naturales como artificiales; algunos núcleos atómicos emiten no sólo radiaciones electromagnéticas sino también partículas cargadas de energía (alfa, beta y neutrones) que se conocen como *radiactivas* (Figura 2.16).

Conviene recordar que las radiaciones ionizantes, emitidas por elementos inestables o isótopos, son: las partículas alfa (α), con carga positiva (son núcleos de helio y poseen dos protones y dos neutrones), con poca capacidad de penetración pero alta de ionización; las partículas beta (β) cuya carga puede ser positiva (por poseer dos positrones) o negativas (dos electrones) son más penetrantes pero menos ionizantes que las α ; y las radiaciones gamma (γ), las más penetrantes.

En relación con las radiaciones, suelen distinguirse los términos *contaminación* y *exposición*; con el primero se entiende el depósito superficial o la absorción de isótopos, y por el segundo la penetración de rayos gamma o X o las partículas beta.

La afectación humana y del medio ambiente por las radiaciones ionizantes puede deberse a dispersión de productos radiactivos de laboratorio o radiológicos de diagnóstico clínico, o bien a accidentes durante el transporte de material radiactivo; más graves son las consecuencias de accidentes en reactores nucleares, bombas «sucias» y armas radiactivas y nucleares. Los efectos nocivos derivan de la producción brusca de calor y consecuentes estallidos que generan quemaduras, lesiones y traumatismos, y los más específicos al efectuar la radiolisis del agua con producción de especies reactivas de oxígeno (véanse capítulos 6 y 16) que lesionan los componentes químicos y estructuras celulares y del ADN.

En el apartado de *Armas Químicas, Físicas y Biológicas* se citan también el láser, la granada acústico-luminosa, la bomba termobárica, etc.

Sobre las radiaciones ionizantes (procedentes de compuestos radiactivos, aparatos de radiodiagnóstico, etc.), capaces de romper enlaces moleculares y liberar iones, se sabe bastante, y especialmente que a dosis bajas lesionan directamente el ADN celular y provocan mutaciones y cáncer, y que a dosis superiores causan el llamado síndrome de la médula ósea, el síndrome gastrointestinal y el síndrome del sistema nervioso (Morcillo y Real, 2006).

Especial interés puede tener recordar las controversias internacionales motivadas por el uso de los llamados *proyectiles de uranio empobrecido*, a raíz de su empleo en las guerras de Yugoslavia (1991), Golfo Pérsico (primera guerra de Irak, 1991), Kosovo (1999), Afganistán (2002), segunda guerra de Irak (2003), etc. El uranio natural contiene tres isótopos de este metal: ^{238}U (constituyen-

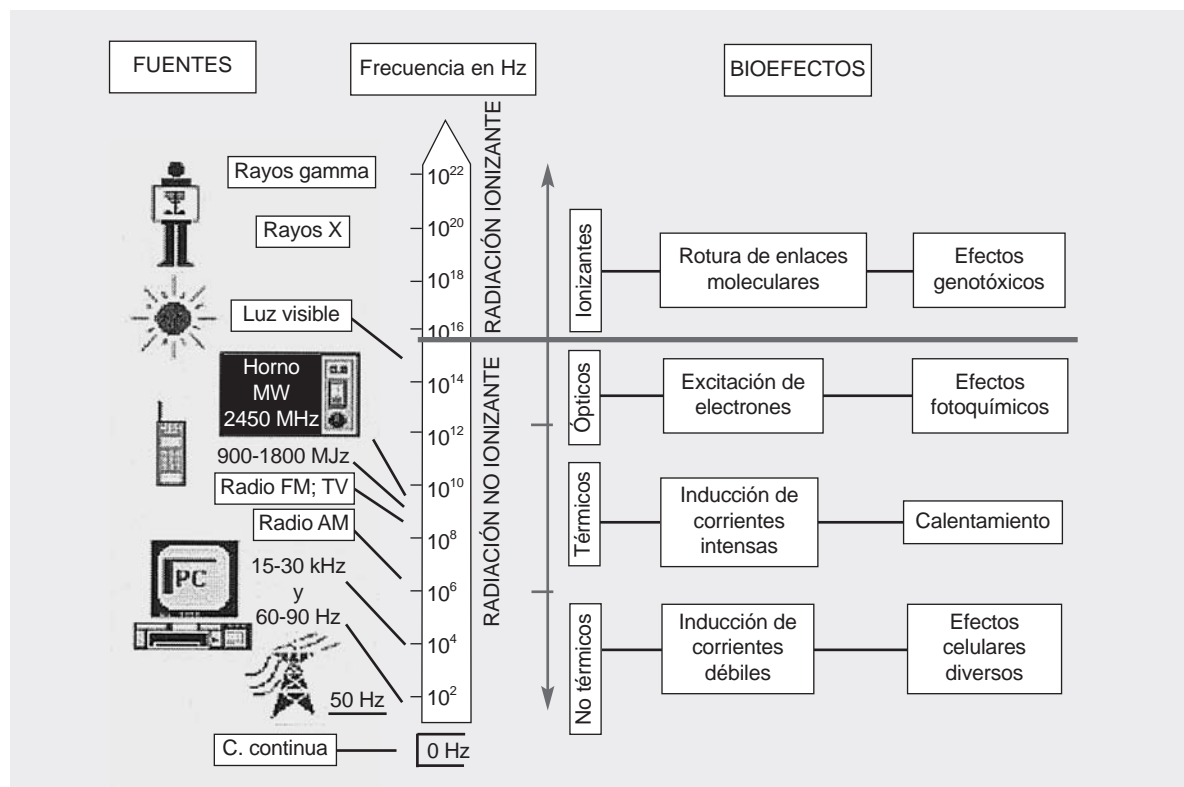


Figura 2.16. Ondas electromagnéticas y sus efectos (Fuente: Informe Técnico, 2001).

do un 99,27% en masa), ^{235}U (0,72%) y ^{234}U (0,005%), y para su uso en las centrales nucleares, al objeto de obtener energía por el proceso de fisión, se requiere enriquecer el ^{235}U hasta el 3%, cuya radiactividad no es mayor que el U natural porque en este hay también otros isótopos radiactivos. En el proceso de enriquecimiento queda como residuo el llamado uranio empobrecido, que posee el 99,8% de ^{238}U , el 0,2% de ^{235}U y el 0,0006% de ^{234}U . Este uranio empobrecido (que también lleva plutonio y cantidades menores de torio, protoactinio y otros elementos similares provenientes de las plantas de procesamiento) tiene desde hace años distintas aplicaciones tecnológicas para aprovechar su alta densidad, como en blindajes y diferentes artilugios, y en la fabricación de munición artillera antiblindajes, en la que suele alearse con titanio, ya que al ser muy dura y pesada es capaz de atravesar paredes metálicas. En el impacto se generan fragmentos afilados, que también son penetrantes, y polvo pirofórico que se incendia y produce óxidos del metal.

El U empobrecido irradia partículas α y β que contaminan el ambiente, la cadena alimentaria y las aguas profundas; las partículas α poseen escasa capacidad de penetración y son retenidas en la epidermis, pero por ingestión e inhalación pueden producir radiolesiones en el medio interno, especialmente por vía respiratoria al inhalar vapores o polvos de los óxidos, fácilmente absorbibles. Se les achacan capacidad para producir lesiones pulmonares y renales (en la excreción urinaria), inmunodeficiencia, leucemia, cánceres y malformaciones congénitas, aunque la OMS y otros organismos aseguran que estos riesgos de origen bélico son bajos si bien deben respetarse y descontaminarse las zonas afectadas, y proseguir las investigaciones sobre la peligrosidad. Aunque esta radioactividad pueda ser baja, no puede olvidarse que el uranio posee una toxicidad química tan alta como el plomo o el mercurio. A esta contaminación junto con la administración de antidotos y medicamentos se ha culpado del llamado *síndrome de la guerra del Golfo* (véase más adelante el apartado de *Armas químicas, físicas y biológicas*).

En 2006, la prensa internacional se ha hecho eco de lo que podría ser el primer caso de envenenamiento criminal por medio de un elemento radiactivo; un ex espía ruso murió en Londres, a pesar de la asistencia médica que le fue dedicada, achacándose su muerte a una administración de polonio, aunque también pudo haber sido que él mismo manipulara el elemento; se dijo que la misma etiología tuvo la muerte de otras personas, críticas con el gobierno ruso. Todos los isótopos de este metal son radiactivos con liberación de partículas α , y fue en el ^{210}Po donde Marie Curie descubrió la radiactividad. La concentración, de origen natural, de este isómero en el humo del tabaco es muy alta, ya que un fumador habitual aspira unas cinco veces la cantidad necesaria para provocar tumores, y ha hecho suponer que el cáncer pulmonar de los fumadores podría tener este origen en lugar del benzopireno. El polonio se retiene en pulmón y pasa a sangre y orina de fumadores; puede conducir a cáncer de pulmón, de hígado, de vesícula y leucemia y enfermedades cardiovasculares.

Acerca de las radiaciones no-ionizantes o cambios en los campos electromagnéticos (radiaciones del espectro luminoso, particularmente la luz solar, la ultravioleta y el láser, radiofrecuencia y microondas) se tiene mucha menos información, aunque en la actualidad se investiga bastante sobre ellas. Se conoce que su energía es insuficiente para romper los enlaces químicos, pero por inducción de corrientes eléctricas y vibraciones atómicas en células y tejidos, son capaces de producir calentamiento e incluso quemaduras, que pueden llegar a hacer estallar las células, aumentar la velocidad de las reacciones químicas, alterar el sistema nervioso, inducir efectos fotoquímicos, etc. Se originan en las conducciones de corriente eléctrica, instrumentos de electromedicina (por ejemplo, el bisturí eléctrico), aparatos electrodomésticos, radiorreceptores, televisores, etc., y desde hace un tiempo preocupan especialmente los hornos de microondas (particularmente cuando por suciedad u otros obstáculos no cierran totalmente), los calefactores de vitrocerámica y las radiofrecuencias de telefonía móvil y sistemas de localización (Fig. 2.16). Debe tenerse en cuenta que los teléfonos móviles o celulares interfieren con los marcapasos cardíacos.

Las radiofrecuencias son parcialmente absorbidas y penetran a pequeña profundidad en los tejidos, donde transforman su energía en movimiento de las moléculas y éste en calor.

Los campos electromagnéticos de baja frecuencia producen una redistribución de las cargas eléctricas en la superficie y también corrientes inducidas en el interior del cuerpo, que afectan principalmente al sistema nervioso y la función muscular.

En España, el Real Decreto 1066/2001 estableció el Reglamento con las condiciones de protección del dominio público radioeléctrico y medidas de protección sanitaria. Por su parte, la Unión Europea ha actualizado (Recomendación del Consejo 1999/519, y Directiva 2004/40/CE) su normativa dirigida a la protección de la salud de los trabajadores expuestos a campos electromagnéticos, aunque sin considerar los efectos a largo plazo, por reconocer que no existen pruebas científicas concluyentes sobre la exposición y el daño.

Por su parte, *el ruido* (del latín *rugitus*, rugido), definido como sonido molesto no deseado, es una energía vibratoria que está causando preocupación entre las autoridades sanitarias, ya que según la OCDE, su nivel en zonas urbanas se ha duplicado en los últimos 20 años; además se ha detectado una relación directa «nivel local de ruido-ingresos hospitalarios». Efectivamente, a partir de 30 decibelios comienza a provocar efectos nocivos; el ruido alto y continuado, incluso en forma de música estridente y particularmente la percibida mediante auriculares, provoca deficiencia auditiva, agrava el efecto local de las sustancias ototóxicas, produce excitación nerviosa que lleva a afectación del sistema cardiovascular con hipertensión, y del sistema vegetativo que se traduce en alteración del sistema endocrino, aparato digestivo y respiratorio, alteraciones fetales y psíquicas. La Directiva 2002/49/CE del Parlamento y del Consejo, conocida como Directiva del Ruido Ambiental, define a este como «*el sonido exterior no deseable o nocivo generado por las actividades humanas, incluido el emitido por los medios de transporte, tránsito rodado, ferroviario y aéreo y por emplazamientos de actividades industriales*».

En España se promulgó en 2003 la llamada *Ley del Ruido*, cuyo reglamento, aprobado en 2006, ha suscitado críticas de expertos, principalmente jurídicos, por poca incidencia en el llamado «ruido del ocio», excesiva tecnificación al exigir mediciones con sonómetros muy precisos pero de elevado precio, olvidar que el ruido es un problema de salud pública que atenta contra los derechos de las personas, escasas atribuciones a las autoridades, etc.

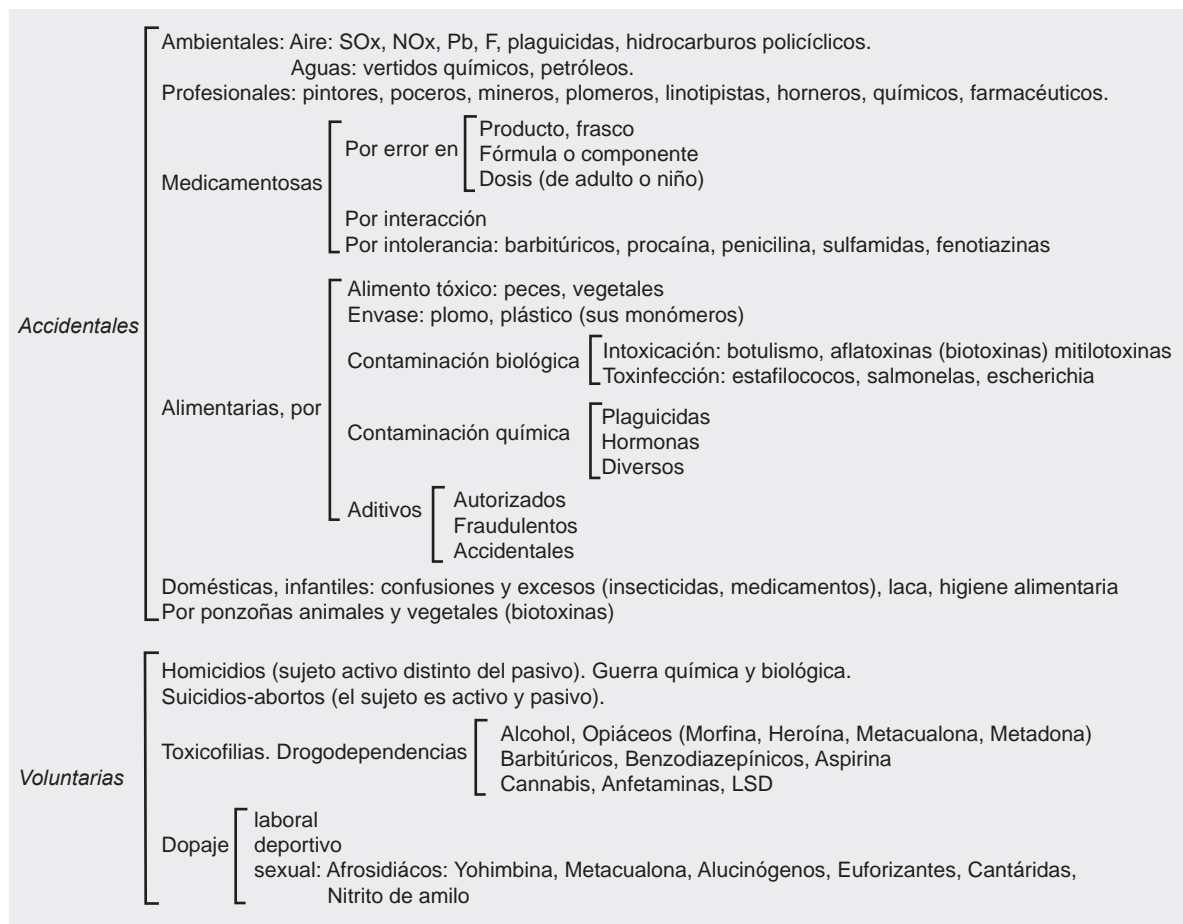


Figura 2.17. Clasificación de las intoxicaciones por su etiología.

ETIOLOGÍA DE LAS INTOXICACIONES

La etiología (gr. *aitia*, causa) consiste en la búsqueda y conocimiento del origen o motivación de una intoxicación. Conforme a esto, para clasificar las intoxicaciones, es importante considerar si en su producción ha habido o no voluntariedad, es decir, si el sujeto activo ha deseado realizarla o si la intoxicación se produjo de forma accidental, sin que mediara intención alguna.

Como ya hemos visto, en la actualidad se reserva la denominación *envenenamiento* para las intoxicaciones en que hubo voluntariedad del sujeto activo, que puede ser en ocasiones (drogadicción, suicidio), simultáneamente, el sujeto pasivo.

Según la etiología, los dos grupos principales de intoxicaciones accidentales y de intoxicaciones

voluntarias pueden subdividirse atendiendo a los restantes factores de la motivación (Figura 2.17).

A. Entre las *intoxicaciones accidentales* podemos distinguir ambientales, profesionales, medicamentosas, alimentarias y domésticas.

a. 1. Las intoxicaciones producidas como consecuencia de la *contaminación ambiental* (aire, aguas y alimentos) poseen la característica de presentarse en forma epidémica cuando se producen descargas de productos químicos al ambiente. Algunas sustancias como los óxidos de azufre o de nitrógeno son constantes en los países desarrollados por originarse en todas las combustiones; son fuertemente irritantes de piel y mucosas, especialmente de los ojos y aparato respiratorio. Cuando llueve, el agua lava la atmósfera constituyendo una

lluvia ácida que daña la vegetación y estructuras metálicas y pétreas (puentes, edificios, monumentos). Los motores de explosión que consumen carburantes adicionados con tetraetilplomo como anti-detonante (ya prohibido en casi todo el mundo), expulsan óxido de plomo y finas partículas del metal, que, después de flotar en el aire y desplazarse con el viento, se depositan o son absorbidas por vía respiratoria; este riesgo dio lugar a disposiciones internacionales para limitar el uso de dicho aditivo, que se pretendió sustituir por manganeso ciclopentanodieno tricarbonilo, sobre cuya incidencia ambiental aún no hay estudios.

Las factorías donde procesan el mineral criolita ($3\text{NaF}\cdot\text{AlF}_3$) para obtener aluminio contaminan con fluoruros particulados que, al depositarse sobre los pastos de alimento del ganado, originan la enfermedad llamada *fluorosis*. Esta enfermedad se caracteriza porque en los huesos, especialmente de las extremidades y los dientes, aparecen manchas y se hacen quebradizos, a consecuencia de aumentar excesivamente la proporción de flúor; recordemos que los huesos están constituidos por apatito, que es fósforo cálcico clorado y fluorado ($3\text{Ca}_3\text{P}_2\text{O}_8 \cdot \text{Ca}(\text{Cl},\text{F})_2$); un pequeño incremento de fluoruro aumenta la dureza de huesos y dientes (motivo de la discutida fluoración de las aguas), pero un exceso los hace frágiles.

En casi todas las combustiones de materias orgánicas pueden producirse hidrocarburos policíclicos, integrados en el llamado alquitrán del humo; entre ellos, el 3,4-benzopireno es uno de los más reconocidos cancerígenos, como epidemiológicamente se ha demostrado entre fumadores, des-hollinadores, horneros y pueblos muy consumidores de alimentos ahumados.

Las sustancias empleadas para combatir las plagas, tanto agrícolas como domésticas, son frecuente origen de intoxicaciones por olvidarse que un producto capaz de eliminar insectos, roedores o malas hierbas, es también tóxico para el hombre, aunque para ello requiera mayor dosis; son sustancias de doble filo, útiles para la humanidad, pero cuyo manejo correcto debe conocerse.

En las aguas fluviales los principales agentes de intoxicación proceden de vertidos industriales y de arrastre de los tratamientos agrícolas (agroquímicos). A veces, las grandes mortandades de peces que aparecen bruscamente no se deben a intoxicación propiamente dicha, sino a asfixia, por desapa-

rición del oxígeno disuelto en las aguas, a consecuencia de la fermentación de los vertidos orgánicos por industrias papeleras, azucareras, etc.

Un grupo de expertos del Registro Internacional de Sustancias Químicas Potencialmente Tóxicas (IRPTC, OMS) destacó en 1983 las seis sustancias más peligrosas por su incidencia en el medio ambiente; por orden alfabético son: cadmio, dióxido de carbono, mercurio, óxidos de nitrógeno y oxidantes fotoquímicos, óxidos de azufre y plomo. Y los procesos más contaminantes: eutroficación, producción y uso de carbón y combustibles fósiles, polución por aceite y abuso de plaguicidas.

Cuando el accidente químico o tóxico provoca unos efectos no deseados sobre las personas, flora, fauna, bienes o servicios, de tal magnitud que superan la capacidad de respuesta de la comunidad, se distingue como desastre químico (Gotelli, 1996).

a.2. Las intoxicaciones *profesionales* suelen ser una forma de las ambientales, aunque también se producen por mala higiene personal de los operarios, generalmente por no lavarse las manos antes de comer o fumar durante el trabajo. Titulados superiores, como químicos, ingenieros, farmacéuticos y anestesiólogos, suelen ser víctimas de intoxicaciones profesionales, aunque no lo contemplen las legislaciones laborales; también experimentan en elevada proporción relativa el suicidio por medios químicos.

a.3. Los *medicamentos* son los más frecuentes agentes de intoxicación, fundamentalmente en niños. La etiología consiste en errores diferentes y sobredosis, interacciones por polimedicación o absorción concomitante de otros productos químicos (alcohol, tabaco, insecticidas, agentes de limpieza, etc.) y por intolerancia, ya sea natural o, más corrientemente, adquirida por el repetido contacto con distintos productos químicos de cualquier índole (hipersensibilización cruzada).

a.4. Entre las intoxicaciones *alimentarias* hay que considerar en primer lugar las causadas por alimentos naturales tóxicos, ya sean vegetales como setas, etc., o animales, como los peces que en épocas de cría segregan sustancias para combatir a los depredadores; también los moluscos que ocasionalmente se cargan de toxinas (mitilotoxinas o saxitoxinas) por ingerir plancton tóxico, como el dinoflagelado *gonyaulax*, causante de las «mareas rojas» al reproducirse abundantemente.

El súbito crecimiento masivo de varias especies de algas microscópicas se produce cada vez con

mayor frecuencia a causa de modificaciones episódicas de las condiciones ambientales de las aguas, tanto por factores físicos, como aumento de la temperatura, iluminación, salinidad, etc., como por factores químicos en forma de contaminantes nitrogenados, fosforados y otros procedentes de desechos industriales, agrícolas y domésticos.

En el agua del mar se ha identificado la proliferación de varios géneros de dinoflagelados portadores de toxinas formando parte del plancton; los moluscos bivalvos (mejillones, almejas, ostras, vieiras, etc.) y otras especies que se alimentan con este plancton por filtración de grandes cantidades de agua, retienen las toxinas que posteriormente provocan intoxicaciones en quienes ingieren tales animales. Entre otras, se distinguen la «intoxicación por toxinas paralizantes», simbolizada por el acrónimo PSP, de su expresión en inglés *paralytic shellfish poisoning*, la «intoxicación por toxinas diarreicas» o DSP (*diarrhetic shellfish poisoning*) y la «intoxicación por toxinas amnésicas», ASP (*amnesic shellfish poisoning*). Por su parte, en el agua dulce de embalses y pantanos proliferan, entre otras, las algas verdeazuladas o cianofíceas productoras de microcistinas, muy tóxicas y cancerígenas. En todos los países se instalan laboratorios para el control de la ausencia de tales toxinas en los animales acuáticos y aguas de suministro, cuyos avisos dan lugar a que las autoridades sanitarias prohíban su consumo y obliguen a la depuración.

En plantas superiores utilizadas como alimento pueden encontrarse numerosos tóxicos como alcaloides diversos, glucósidos cianogénicos, glucosinolatos bociógenos, aminoácidos tóxicos, fitoestrógenos, sustancias vasopresoras y psicoactivas, etc.

A veces, los alimentos envasados absorben sustancias tóxicas del envase, como plomo de las soldaduras, especialmente en conservas viejas, con la lata oxidada que origina pares eléctricos que favorece la disolución del metal. También algunos plásticos de mala calidad o terminación, y sustancias plastificantes, pueden pasar al alimento, especialmente los de tipo graso y los alcohólicos; como ejemplo citamos intoxicaciones masivas por mantequilla envuelta en papel plastificado que contenía triortocresilfosfato (TOCP).

En cuanto a los trastornos por contaminación microbiana de los alimentos, se encuentran en la bibliografía clasificaciones muy contradictorias; nosotros estimamos más lógica la que considera

intoxicaciones y *tox infecciones* de origen microbiano. Las primeras se originan al consumir alimentos que en ese momento contienen toxinas previamente producidas por el microorganismo (toxinas botulínicas del bacilo botulínico, aflatoxinas segregadas por el microhongo *Aspergillus flavus*, etc.); las segundas se producen tras ingerir alimentos contaminados con microorganismos que, al desarrollarse en el cuerpo del consumidor, excretan distintas toxinas (las cinco diferentes del *Estafilococo áureo*, las de las salmonellas o del *Escherichia coli*, etc.).

a.5. Se conocen como *intoxicaciones domésticas* las que se originan dentro de la vivienda, y son las más frecuentes; de éstas los 4/5 afectan a los niños y en segundo lugar a los ancianos. Suelen deberse a confundir bebidas con productos de limpieza, abuso o mal uso de medicamentos o plaguicidas, mala higiene alimentaria, etcétera.

a.6. *Accidentes por ponzoñas* o biotoxinas. Numerosas plantas, insectos, peces y reptiles poseen toxinas (ácidos orgánicos, enzimas y péptidos) que inoculadas a los mamíferos les producen gran dolor local y multitud de acciones sistémicas, de tipo anafiláctico, hemolítico, paralizante nervioso, vasoactivo, cardiotóxico, etcétera (véase Capítulo 7).

B. En cuanto a las *intoxicaciones voluntarias*, cabe distinguir aquellas en que el sujeto pasivo (quien las sufre) es distinto o el mismo que el activo. En el primer caso, tendríamos los homicidios y delitos contra la salud pública, en sus diferentes grados, así como las intoxicaciones producidas por gases de guerra (generalmente irritantes, cáusticos y vesicantes, en piel y mucosas externas y respiratorias, o neurotóxicos, paralizantes del Sistema nervioso); con el último objetivo citado se han empleado biotoxinas (véase más adelante).

b. 1. El empleo de sustancias químicas como agentes de suicidio o de aborto puede situarse en el mismo grupo, pues, al no existir productos exclusivamente abortivos (hasta el empleo de algunas prostaglandinas y antihormonas), la embarazada se expone a una intoxicación aguda de la que puede resultar la expulsión del feto o su propia muerte.

b.2. Grupos aparte merecen el consumo de sustancias químicas con fines hedonistas, de placer o evasión (denominados *tóxicos deleitantes*, *Genus-sifte*, por Fühner, en 1946), causen o no síndrome de dependencia, o bien con fines de aumentar el rendimiento (dopaje) laboral (conductores), estudiantil,

deportivo o sexual; el uso para el doping de hormonas o euforizantes suele conducir a importantes trastornos endocrinos y nerviosos.

b.3. El empleo de algunas sustancias con fines afrodisíacos ha sido perseguido a través de los tiempos sin conseguirse productos realmente efectivos o que no produjesen efectos indeseables, cuando no contrarios al fin intentado. Suelen ser euforizantes o vasodilatadores.

ARMAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y BIOLÓGICAS

A lo largo de la historia se han usado muy diferentes procedimientos para producir alteraciones funcionales, intoxicaciones o enfermedades infecciosas en las tropas enemigas. En todas las épocas se ha usado la contaminación química y biológica de ríos y pozos. La cita más antigua que registra la historia se remonta al año 600 antes de Cristo, en que el dictador ateniense Solon mandó contaminar los depósitos de agua de sus enemigos durante el sitio de Kirra (Frohne y Pfaender, 1997; Samart, 1997).

Los primeros gases bélicos fueron los humos generados al quemar plantas, grasas animales, resinas o minerales con azufre o arsénico (Guerra del Peloponeso, 431 a. C.); Leonardo da Vinci sugirió el empleo de proyectiles fumígenos con arsénico, que también usaron las tropas de Napoleón. Los indios norte y suramericanos quemaban vegetales, en ocasiones impregnados de grasa de pescado.

En la Edad Moderna, a principios de la Primera Guerra Mundial (1914-1918), el irritante bromoacetato de etilo fue utilizado por las fuerzas francesas, así como la cloroacetona por ellas mismas y por las alemanas y rusas (Robinson y Leitenberg, 1971).

En 1915, las tropas alemanas utilizaron fosgeno, bien solo o mezclado con cloro; este mismo año, los alemanes utilizaron iperita para bombardear la ciudad belga de Yprés o Ypern, de donde recibió su nombre el producto. Puede encontrarse amplia información y referencias en Schwenk y Sznitz (2005).

En la actualidad habría que distinguir dos tipos de aplicaciones de todas estas armas: *acciones de guerra*, en que al usuario no importa producir la muerte o incapacidad al enemigo, y *actuaciones de dispersión o disuasión* de grupos alborotadores, manifestantes, atracadores, secuestradores y para defensa personal, etc., en que se emplean armas no

letales de efectos generalmente transitorios, denominadas «antidisturbios». Con esta finalidad es frecuente el uso de los llamados botes de humo o fumígenos constituidos por óxido de cinc y hexacloroetano que, en contacto con la humedad ambiental, forman gran cantidad de pequeñas partículas de cloruro de cinc que afectan a las vías respiratorias altas y producen daño traqueobronquial, edema y congestión pulmonar, con posibilidad de derrames pleurales e incluso en órganos internos.

En la I Guerra Mundial se inició la preparación de compuestos de síntesis, que en este momento pueden clasificarse, atendiendo a sus características fisiopatológicas (Repetto, 1991), como sigue:

Grupo 1. Agentes tóxicos

1.1. *Asfixiantes o sofocantes (neumotóxicos)*, que son compuestos liberadores de cloro, fosgeno, cloropicrina, monóxido de carbono, etc.

1.3. *Asfixiantes histotóxicos*: ácido cianhídrico y derivados (bromuro de cianógeno, etc.) y monóxido de carbono.

1.3.1. *Vesicantes*, que producen irritación, vejigas, llagas, edema, etc., en mucosas externas y vías respiratorias. El agente tipo es la iperita o gas mostaza [sulfuro de bis (2-cloroetilo)].

1.3.2. *Mostazas nitrógenadas*: análogos nitrógenados de la iperita, alguno de los cuales ha encontrado aplicación como antitumoral (clorambucil, ciclofosfamida, etc.). Lesionan el ADN.

1.3.3. *Arsenicales*: el compuesto tipo es la *lewisita* (clorovinildicloroarsina), de acción similar pero más enérgica que la iperita. Contra él se desarrolló el BAL (*british antilewisite*, dimercaptopropanol), de gran utilidad posterior como antidoto quelante frente a los metales.

1.4. *Agentes neurotóxicos*: son ésteres orgánicos del ácido fosfórico (compuestos organofosforados), de gran empleo actual como insecticidas. Los más conocidos son: sarin (GB), soman (GD), tabun (GA), VX, etc. Han sido usados por terroristas (Masuda *et al.*, 1995).

Grupo 2. Agentes neutralizantes o incapacitantes

2.1. *Lacrimógenos*: irritantes locales, sobre todo de las mucosas oculares y respiratorias, a las

que pueden dañar gravemente; su ejemplo tipo son la cloroacetofenona, la clorobenzofenona o el benziliden-malononitrilo.

2.2. *Estornudatorios y vomitivos*: son derivados de la arsina y compuestos generadores de óxidos metálicos, y «emetizantes» como las adamsitas (arsenicales orgánicos).

Además de los humos por combustión ya citados, en la antigua China se usó el polvo de pimienta, que contiene al alcaloide piperina (1-piperoilpiperidina), el cual por hidrólisis libera piperidina, ambos irritantes de las mucosas; ha sido sustituido por la capsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonexamida) derivado de la bencilamina o vanillilamida, presente en los pimientos picantes (guindilla, chile, ají, etc.), y aprovechado como medicamento tópico analgésico pues bloquea a la sustancia P, que participa en la transmisión nerviosa sensitiva.

Un *spray* comercial de defensa, que posee principalmente propiedades lacrimógenas y estornudatorias, contiene norflurano, acetaldehído, acetónitrilo, triclorometano, ácido acético, dihidrocapsaicina y nonivamida (estas últimas sustancias componentes de la oleoresina del *capsicum*). Al incidir la nebulización directamente sobre los ojos y vías respiratorias superiores suele producir irritación de piel y mucosas, con lacrimo profuso, sensación de quemadura y dolor ocular, blefaroespasmos, estornudos incontrolables, rinorrea, tos, dolor nasal, salivación, dolor de garganta, sensación de quemazón o de sustancia picante en lengua. No suele ocasionar daño tisular permanente.

En la mayoría de los individuos los síntomas suelen cesar rápidamente, a los 15-30 minutos, excepto si se frotan los ojos, con lo que pueden mantenerse rojos y con edema más tiempo, 1-2 días; por otra parte, tras la exposición a la capsaicina, la dermatitis de contacto dolorosa puede durar varias horas.

Ocasionalmente, y cuando el contacto es prolongado, se pueden originar quemaduras corneales. En algunos sujetos, especialmente tras exposición intensa, se ha descrito la aparición de sintomatología cardíaca, como taquicardia e hipertensión, que parece se debe más al miedo y al dolor que a los componentes del *spray*, o bien, sintomatología respiratoria de mayor importancia que la referida, con laringoespasmos, broncoespasmo y edema pulmonar, que conducen a insuficiencia respiratoria.

Otros agentes actuales son los compuestos de olor desagradable y persistente, como el del pescado podrido, que no sólo hacen desistir a los congregateados, sino que «marcan» a los individuos para permitir una posterior identificación.

También se emplean agentes físicos, como el láser verde (el color al que se tiene mayor sensibilidad) que ciega por su intensidad, o la «granada acústico-luminosa» que aturde con el ruido y la luz que liberan. En el apartado de *Agentes Físicos* se comentan los efectos de las armas radiactivas y nucleares.

Más moderna es la llamada *bomba de vacío*, *termobárica* o de combustión que, en la zona de impacto dispersa un aerosol de un combustible que al mezclarse con el oxígeno del aire y ser detonado provoca un voraz incendio acompañado de onda expansiva supersónica y altísima presión con máxima destrucción, pero sin posterior contaminación química ni radiactiva.

Grupo 3. Armas indirectas, de disuasión y confusión

3.1. *Fumígenos*: forman nubes o cortinas de humos que impiden la visibilidad. El más conocido es fósforo por combustión, o los tetracloruros de silicio o de titanio, que producen densos humos de clorhídrico y de óxidos metálicos al hidrolizarse en el aire.

Las bombas de humo llevan óxidos de varios metales y un explosivo; la inhalación de los microcristales metálicos puede lesionar el tejido pulmonar.

3.2. *Incendiaris*: son bombas térmicas formadas por compuestos comburentes y por combustibles. Van desde los «cócteles Molotov» a base de gasolina, jabón, etc., al napalm, que es un jabón de aluminio.

3.3. *Agentes fitotóxicos*: sustancias herbicidas y desfoliantes, usadas para destruir la vegetación que pudiera emboscar al enemigo; también se han usado para arrasarse plantaciones de marihuana; químicamente son derivados clorados de los ácidos fenoxiacético o fenoxibutírico (2,4-D, 2,4,5-T, etc.). Estos productos pueden llevar como impurezas dioxinas (TCDD), que también se forman al quemar los vegetales secados; con ello se incrementan los riesgos tóxicos y teratógenos.

Grupo 4. Armas biológicas

Como armas biológicas se consideran los agentes microbianos u otros agentes biológicos y sus toxinas usados con fines hostiles. La obtención de estos agentes es fácil y puede hacerse con escaso presupuesto, pero su aplicación presenta grandes exigencias técnicas, por lo que, a decir de los expertos «una cosa es disponer del agente biológico y otra muy distinta es poder utilizarlo como arma, especialmente a gran escala», es decir, que quienes dispongan de estos agentes pueden agredir a pequeños números de personas, pero difícilmente se consiguen los medios para una dispersión que pueda afectar a masas.

Se han ensayado o utilizado toxinas, como la botulínica, la saxitoxina o la ricina o se han esparcido esporas o medios de cultivo de bacilos (*B. antracis*, *Brucella melitensis*, *Pasteurella pestis*), o de virus (gripe, fiebre amarilla, fiebre equina).

Convenios de prohibición

Aunque a la vista está su escaso cumplimiento, a lo largo del tiempo se han establecido acuerdos para restringir el uso de estas armas; el primero de ellos es el tratado de Estrasburgo, firmado en 1675 por Alemania y Francia. El convenio internacional vigente se firmó el 30 de noviembre de 1992, con el nombre de «Convención sobre la Prohibición del Desarrollo, la Producción, el Almacenamiento y el Uso de las Armas Químicas y sobre su Destrucción» con entrada en vigor el 29 de abril de 1997, si bien, con anterioridad había habido otros acuerdos, como los de la Haya (1899 y 1907) y Ginebra (1925). Además, se han firmado Instrumentos de Ratificación en 1972 (Londres, Moscú y Washington) y 1993 (París), etc. El Código Penal español (Ley Orgánica 2/2000) aplica dichas prohibiciones en sus artículos 566 y 567, en tanto que la Ley 49/1999 contempla el control de sustancias químicas susceptibles de desvío para la fabricación de armas químicas.

Las armas nucleares, biológicas y químicas se distinguen bajo el acrónimo NBQ, o NBQR si se incluyen a las radioactivas, y se ha hecho popular su designación como *armas de destrucción masiva*.

Desde el punto de vista toxicológico, es necesario destacar el posible riesgo, adicional a la exposición por estas armas, que puede presentarse tras la aplicación coincidente de diversas medidas de protección con medicamentos, antídotos, repelentes de insectos, radiaciones, etc., lo que, al parecer, ocasionó los importantes trastornos que, al cabo del tiempo, sufrieron numerosos combatientes norteamericanos y de otros países en la llamada Guerra del Golfo, y cuya etiología aún no ha sido dilucidada (Pita *et al.*, 2003) (véase en este Capítulo el apartado *Agentes físicos*).

REFERENCIAS TOXICOLÓGICAS EN LA LEGISLACIÓN ESPAÑOLA

La legislación penal española distingue como causa de intoxicación punible entre: venenos, alcohol y drogas o fármacos y alimentos manipulados, además de cuestiones relativas al medio ambiente.

También establece que el profesional que atienda a fallecidos por intoxicación o a cualquier intoxicado o accidentado (sea un trabajador, conductor de vehículo de motor o peatón) que esté bajo la influencia de sustancias químicas remita urgentemente un Parte Judicial al juzgado correspondiente. No es delito el consumo privado de drogas de abuso, pero sí su comercio y la posesión con esta intención (véase más adelante).

Analicemos las referencias a cada uno de tales conceptos, de acuerdo con el Código Penal, Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre.

Veneno

Con relación al mismo distingue:

A. Su uso se puede considerar *agravante* conforme al art. 22, estimándolo como alevosía (art. 22.1), o bien forma de «aumento deliberado e inhumano del sufrimiento de la víctima» (art. 22.5), o medio de «obrar con abuso de confianza» (art. 22.6).

B. La muerte de otro provocada voluntariamente con veneno se califica como *homicidio* (art. 139).

b.1. Se pusieran todos los medios para producir el daño, pero por motivos ajenos a la voluntad del autor, no se consigue, se tipifica como *ten-*

tativa (art. 16), que se pena algo menos grave que la *consumación* (art. 62).

b.2. Si algún facultativo conoce una muerte producida con veneno y no la pone en conocimiento de la Autoridad Judicial, incurre en delito de denegación de auxilio a la Administración de Justicia, castigándose el hecho con pena de multa y suspensión de empleo o cargo público (art. 412).

C. La muerte de otro provocada por imprudencia grave es *homicidio imprudente* (art. 142.1), cuya pena es menos grave que el homicidio. Si el homicidio se comete por imprudencia profesional se impone además la pena de inhabilitación especial para el ejercicio de la profesión, oficio o cargo por tiempo de 3 a 6 años (art. 142.3).

D. Si voluntaria o involuntariamente (por negligencia o imprudencia), por uso de medios peligrosos, no se mata con veneno o sustancias tóxicas, pero se producen lesiones, es *delito de lesiones* (art. 148 en relación con el art. 147), penándose más o menos atendiendo al resultado causado o riesgo producido (la pena aumenta en las lesiones de castración, esterilización o impotencia, pérdida o inutilidad de un órgano o miembro principal, o de un sentido, o una grave enfermedad somática o psíquica).

Se aplican penas inferiores cuando exista consentimiento válido, libre, espontáneo y expresamente emitido del lesionado.

Por ello, la eutanasia no siempre pudiera ser estimada como *atenuante*, como «homicidio piadoso».

E. También se castiga como delito (art. 365) el envenenar o adulterar con sustancias infecciosas, u otras que puedan ser gravemente nocivas para la salud, las aguas potables o las sustancias alimenticias destinadas al uso público o al consumo de una colectividad de personas; igualmente se castiga como delito el producir por cualquier medio infección o contagio en ganado o fauna silvestre, dificultar o impedir su reproducción o migración, contraviniendo las Leyes o disposiciones de carácter general protectoras de las especies de fauna silvestre, el comercializar o traficar con ellas o con sus restos (art. 334); agravándose la pena si se trata de especies o subespecies catalogadas en peligro de extinción. También se castiga como delito el empleo para la caza o pesca de veneno, medios explosivos u otros instrumentos o artes de similar eficacia destructiva para la fauna (art. 336).

F. También prevé (encuadrado dentro del art. 325) el envenenamiento de aguas públicas, que no es un delito contra las personas, sino contra el interés general (*Delito contra la Salud Pública*).

Alcohol

A. Como regla general, la embriaguez, no habitual y no buscada de propósito para delinquir, y el síndrome de abstinencia son *atenuantes* (art. 20.2) y se equiparan con la enajenación mental (aunque en el Código de Justicia Militar es siempre agravante).

B. Sin embargo, es de por sí delito, sin necesidad de ninguna otra circunstancia, el mero hecho de conducir vehículos de motor, incluso los ciclomotores, bajo los efectos de bebidas alcohólicas, drogas, tóxicos o estupefacientes, aunque no se produzca accidente o daño (art. 379), que en su versión del año 2007 condena al que condujere con una alcoholemia de 1,2 gramos de alcohol por litro de sangre (0,60 miligramos por litro de aire espirado); hay también sanciones administrativas a partir de 0,50 g / litro de sangre (0,25 para conductores de vehículos colectivos). También lo es el negarse a someterse a pruebas determinación de alcohol y drogas de abuso.

C. Es también delito vender o servir bebidas alcohólicas en establecimientos públicos a menores de dieciocho años, o facilitárselas (art. 369.1º), así como producirles embriaguez maliciosamente. Incurren en delito de abandono de familia, menores o incapaces los padres que por descuido sean la causa de la embriaguez de esos menores (art. 226. 1).

Drogas o agentes de drogadicción

A. La fabricación, manipulación o tráfico de sustancias nocivas para la salud, sin permiso, es delito, encuadrado entre los delitos contra la salud pública (art. 359).

B. También es delito hacer lo anterior, aunque se esté autorizado, pero sin cumplir las normas reglamentarias (art. 360).

C. Promover, favorecer o facilitar el consumo ilegal de drogas (drogas, tóxicos, estupefacientes o sustancias psicotrópicas), por cultivo, elaboración, tráfico o simple tenencia para este fin, es el delito típico y más conocido de los referidos a la droga y su consumo (art. 368); es el auténtico delito de tráfico de estupefacientes o *narcotráfico*.

Se considera más grave si se promueve entre menores o disminuidos psíquicos, o se introducen o difunden en centros docentes, en centros, establecimientos y unidades militares, en establecimientos penitenciarios o en centros asistenciales, o por facultativos, autoridad, funcionario público, trabajador social, docente o educador (art. 369).

D. El dopaje, o absorción de fármacos, con la intención de aumentar el rendimiento, sea deportivo, laboral, sexual o en los estudios, no es más punible que si se conducen en ese estado vehículos de motor, incluso ciclomotores. El dopaje deportivo es objeto de responsabilidad administrativa y de los reglamentos propios (véase más adelante).

Al amparo de la Ley 31/1995 de Prevención de riesgos laborales, y su art. 22, se van introduciendo controles analíticos del consumo de alcohol o drogas de abuso en las fuerzas armadas y en aspirantes y trabajadores de algunas empresas, especialmente de actividades de riesgo para los trabajadores u otros ciudadanos.

La Ley 3/1996 establece el control del comercio de sustancias que pueden utilizarse en la preparación de drogas de abuso (precursores y reactivos).

Medicamentos

A. Exender o dispensar medicamentos deteriorados o caducados o que incumplan las exigencias técnicas relativas a su composición, estabilidad y eficacia, o sustituyan unos por otros, se estima como delito contra la salud pública (art. 361).

B. También lo es el alterar la cantidad, dosis o la composición genuina, imitar o simular medicamentos, así como tener en depósito, hacer publicidad, ofrecer, exhibir, vender, facilitar o utilizar en cualquier forma medicamentosa conociendo su alteración (art. 362. 1).

C. Los medios anticonceptivos y medicamentos abortivos quedan encuadrados dentro de los medicamentos en general, teniendo igual consideración de delito para casos análogos.

Alimentos

A. La producción, distribución o comercialización de alimentos con omisión o alteración de los requisitos establecidos sobre su caducidad o composición si ponen en peligro la salud de los consu-

midores, es también un delito grave contra la salud pública (art. 363).

B. Asimismo cometen ese delito los que alteren con cualquier mezcla nociva las bebidas o comestibles, o vendan géneros corrompidos; o fabriquen o vendan objetos en cuya composición se incorporen sustancias o productos que sean nocivos (arts. 363 y 364).

C. Incurren también en otro delito del mismo estilo los que oculten o sustraigan efectos destinados a ser inutilizados o desinfectados para comercializar con ellos (art. 363.5).

D. Cometen el mismo delito quienes envenenen o adulteren con sustancias infecciosas, u otras que puedan ser gravemente nocivas para la salud, las aguas potables o las sustancias alimenticias destinadas al uso público o al consumo de una colectividad de personas (art. 365).

Medio ambiente

En los delitos contra los recursos naturales y el medio ambiente, prevé el Código la provocación, emisión directa o indirecta, vertidos, radiaciones, extracciones o excavaciones, aterramientos, ruidos, vibraciones, inyecciones o depósitos, contraviniendo las Leyes u otras disposiciones de carácter general protectoras del medio ambiente, en la atmósfera, el suelo, el subsuelo, o las aguas terrestres, marítimas o subterráneas, con incidencia, incluso en los espacios transfronterizos, así como las captaciones de aguas que puedan perjudicar gravemente el equilibrio de los sistemas naturales (art. 325).

La Ley 20/1986, *Básica de residuos tóxicos y peligrosos* estableció la figura del *Delito ecológico*, que el Código Penal de 1995, y su actualización de 2006, denomina *Delitos contra los Recursos Naturales y el Medio Ambiente* (arts. 325 y siguientes).

Se aumenta la pena si el riesgo de grave perjuicio fuese para la salud de las personas.

Igualmente, la pena se agrava cuando estos hechos son cometidos por industrias clandestinas o que desobedezcan las órdenes administrativas al respecto, o falseando u ocultando información sobre los aspectos ambientales de la misma, o que se haya obstaculizado la actividad inspectora de la Administración. También cuando el daño producido sea irreversible o catastrófico o que se produz-

ca una extracción ilegal de aguas en periodo de restricciones (art. 326).

También se califica como delito contra el medio ambiente, a la autoridad o funcionario público que favorezca la concesión de licencias ilegales que autoricen el funcionamiento de las industrias o actividades contaminantes antes referidas, o que silencien la infracción de Leyes o disposiciones normativas al efecto, así como la resolución o voto a favor de su concesión a sabiendas de su injusticia (art. 329), así como el dañar algunos de los elementos que hayan servido para su calificación (art. 330).

El propagar una enfermedad transmisible a las personas tiene la misma consideración.

El Código Penal (art. 322 y sig.), dentro de la rúbrica de delitos relativos a la protección de flora, fauna y animales domésticos, prevé castigar los vertidos a la atmósfera y a las industrias que lo hagan, así como el establecimiento de vertederos de basuras clandestinos o antirreglamentarios, agravando las penas si es cerca de poblaciones o de aguas.

El incumplir previos requerimientos de la autoridad para evitar contaminaciones o circunstancias nocivas para la salud es sólo falta, así como el infringir las normas sobre fabricación de sustancias fétidas o insalubres, o los bandos sobre higiene pública.

La Ley de Protección del Medio Ambiente Atmosférico (38/1972) modificada en 2002, 2003 y como Ley 34/2007, de Calidad del Aire y protección de la atmósfera, se dirige a prevenir, vigilar y corregir las situaciones de contaminación atmosférica (art. 1.º); dicta normas sobre establecimiento o reforma de instalaciones que puedan ser focos emisores; señala los límites permitidos de emisión; dispone la declaración de zonas de Atmósfera Contaminada (art. 5.º), y la aprobación de un Reglamento para zonas en situación de emergencia; señala las autoridades competentes en la materia; incluso concede beneficios fiscales por la corrección de circunstancias emisoras. En esta ley se establecen también sanciones (art. 31), sólo de carácter administrativo, y (art. 37) las autoridades que pueden imponerlas.

El Real Decreto de 1 de agosto de 1985 contempla la contaminación por dióxido de azufre y partículas en suspensión. Señala los límites permitidos; establece medios correctores y zonas de Atmósfera Contaminada. Sólo dispone sanciones

administrativas. Las normas sobre emisión se contienen en el D. 833/1975 y la O. M. de 26 de diciembre de 1995.

También en la ley de Aguas (RD Legislativo 1/2001), en la Ley 16/2002 de Prevención y control integrado de la contaminación, el Reglamento de Dominio Público Hidráulico (RD 606/2003), Ley 10/1998 de Residuos se disponen medidas protectoras y de controles analíticos, así como sanciones, en relación con la contaminación de las aguas fluviales, marítimas, profundas, etc., y establece las medidas de regulación y control de los vertidos a las aguas.

Esta última Ley de Residuos tóxicos y peligrosos establece el régimen jurídico necesario para que en la producción y gestión (recogida, transporte, almacenamiento, recuperación, eliminación, etc.) de tales residuos se garantice la protección de la salud humana, la defensa del medio ambiente y la preservación de los recursos naturales. Incluye tanto los residuos de sustancias químicas como sus recipientes y los envases vacíos que los hubiesen contenido, pero excluye los residuos radiactivos y mineros.

Califica como sustancias tóxicas y peligrosas las siguientes: los elementos químicos y sus compuestos: As, Hg, Cd, TI, Be, Cr hexavalente, Pb, Sb, Se, Te, Ti y sales hidrosolubles de Cu; los carbonilos metálicos, fenoles, cianuros, isocianuros, compuestos órgano-halogenados, disolventes orgánicos y concretamente los clorados, amianto, plaguicidas, medicamentos, peróxidos, cloratos, percloratos, nitruros, éteres, reactivos de laboratorio de actividad no conocida, alquitrán, hidrocarburos policíclicos, cáusticos y aceites minerales y sintéticos.

Por último, citemos el Real Decreto 363/1995, con el Reglamento sobre Declaración de sustancias peligrosas, así como las sucesivas disposiciones que reglamentan distintos extremos del Código alimentario, no sólo en lo que se refiere a alimentos y bebidas, sino también a juguetes infantiles, pegamentos, artículos para bromas, etc. Esta y otras normativas relacionadas, y las relativas a las Buenas Prácticas de Laboratorio, se detallan en el Capítulo 11, de *Experimentación toxicológica*.

Medio ambiente laboral

Es delito contra los derechos de los trabajadores no facilitar los medios necesarios para que los tra-

bajadores desempeñen su actividad con las medidas de seguridad e higiene adecuadas conforme a las normas de prevención de riesgos laborales, de forma que pongan así en peligro grave su vida, salud o integridad física (art. 316).

En ese sentido cabe destacar la promulgación de disposiciones específicas, paralelas a las de la Unión Europea, dedicadas a los riesgos por trabajos con plomo, amianto y cloruro de vinilo monómero.

Doping o dopaje

Fue definido en 1963 por el Consejo de Europa como: «la administración a una persona sana de una sustancia extraña al organismo, o de sustancias fisiológicas utilizadas en cantidades o vías anormales, con el único fin de aumentar artificialmente y de forma ilegal el rendimiento de aquélla al participar en una competición. También puede considerarse dopaje la práctica de determinados procedimientos psicológicos destinados a potenciar la forma física de un deportista».

El Comité Olímpico Internacional prohíbe el «uso en el deporte de métodos de dopaje y las clases de agentes de dopaje incluidos en diversos grupos farmacológicos»; esta redacción mantiene abiertas las listas para poder incluir en ellas cualesquiera posibles dopantes.

Posteriormente, en la Conferencia Mundial Antidopaje (Lausanne, 1999) se definió como «uso de una sustancia, una técnica o un procedimiento, potencialmente dañino para la salud y/o capaz de modificar el rendimiento deportivo, o la presencia en el cuerpo de un deportista de una sustancia o la utilización de un método que esté incluido en el Listado del Código Antidopaje elaborado anualmente por la Agencia Mundial Antidopaje».

El Listado válido desde el día 1 de enero de 2008 es el siguiente:

I. Sustancias prohibidas en todo momento (dentro y fuera de competición)

- S.1. Agentes anabólicos (andrógenos, clenbuterol, etc.).
- S.2. Hormonas.
Eritropoyetina (EPO).

H. de crecimiento (hGH).
tetrahydrogestriona (THG).
Gonadotropinas (LH, hCG), solo en hombres.

Insulina.

Corticotropinas.

S.3. Agonistas beta-2.

S.4. Antiestrógenos.

S.5. Diuréticos y agentes enmascarantes.

II. Métodos prohibidos en todo momento

M.1. Aumento de transferencia de oxígeno.
Sangre, glóbulos rojos o productos de hemoglobina.

M.2. Manipulación física o química.
Alteración de las muestras.
Infusión intravenosa.

M.3. Dopaje genético.
Células, genes, elementos genéticos o modulación de la expresión genética.

III. Sustancias y métodos prohibidos en competición (además de los anteriores).

- S.6. Estimulantes.
Efedrina, anfetaminas, y derivados, pemolina, piracetam, etc.
- S.7. Narcóticos.
Opiáceos, buprenorfina, metadona, etc.
- S.8. Cannabinoides.
- S.9. Glucocorticosteroides.

IV. Sustancias prohibidas en determinados deportes

- P.1. Alcohol.
- P.2. Betabloqueantes.

En España se regulan por la Ley Orgánica 7/2006 de protección de la salud y de lucha contra el dopaje en el deporte y por la publicación de listados; dicha ley crea la Agencia Estatal Antidopaje (BOE 21 de noviembre, 2006)

Los principales grupos de agentes y métodos de dopaje son:

Clases de sustancias calificadas como dopantes

Estimulantes (incluye efedrina, fenilpropanolamina, etc.).
Narcóticos.
Esteroides anabolizantes.

Betabloqueantes.

Diuréticos.

Hormonas peptídicas y afines (gonadotropina coriónica, corticotrofina, hormona del crecimiento, renina, eritropoyetina, etc.).

Métodos de dopaje

Hemotransfusión, autotransfusión.

Manipulaciones físicas, químicas o psicológicas.

Sustancias parcialmente restringidas

Alcohol.

Anestésicos locales.

Corticosteroides.

Cannabinoides.

Pero el dopaje no sólo es una práctica ilegal para las federaciones y organizaciones deportivas, sino que también puede contravenir la reglamentación de la conducción de vehículos de motor y de algunas actividades laborales. Igualmente puede ser considerado dopaje el recurrir a sustancias para incrementar la capacidad de trabajo o estudio (ejecutivos, estudiantes) y la sexual.

En definitiva, además de ser considerado el dopaje como una actuación ilegal (por expresamente prohibida en distintos reglamentos), y fraudulenta (porque atenta al principio de igualdad de disposición entre competidores), ha de ser estimado desde el punto de vista toxicológico como una forma de drogadicción con sus correspondientes efectos nocivos para la salud.

BIBLIOGRAFÍA

Agencia Mundial Antidopaje: www.wada-ama.org.

Arnold JL. CBRNE- Chemical warfare agents. *e-Medicine Journal*, 2001, 2,10; www.emedicine.com

Astolfi E et al. *Toxicología de Pregrado*. Buenos Aires, López Libreros Editores: 1982.

Bass R, Vamcas S. The toxicology expert: what is required? *Toxicology Letters*, 2000, 112-113, 383-389.

Boelsterli UA. *Mecanistic toxicology*. 2.^a ed. Boca Raton. CRC Press, 2007.

Calabrese EJ, Baldwin LA, Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. *TIPS*, 22, 285-291, 2001.

Calabrese EJ, Baldwin LA, Hormesis: the dose-response revolution. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 43, 175-197, 2003.

Center for Disease Control and Prevention (USA) Demilitarization of Chemical Weapons. Emergency Room Procedures in Chemical Hazard Emergencies. www.cdc.gov/nceh

Committee on R+D to improve civilian medical response: Chemical and biological terrorism. Washington. Ed. Nat, Academic Press. 1999.

Córdoba D. *Toxicología*, 5.^a ed. Bogotá. Editorial El Manual Moderno (Colombia) 2006.

Crimi R et al. *Antidoping*. Milano: Organizzazione Medico Farmaceutica, 1993.

Deichmann WB, Gerarde H. *Toxicology of drugs and chemicals*. Nueva York: Academic Press, 1969.

Duffus JH, Nordberg M, Templeton DM. *Glossary of terms used in Toxicology* (IUPAC recommendations) 2.^a ed. 2007. www.iupac.org/publications/2007.

Evreux J.C., Motin J., Roche L. *Precis de toxicologie clinique* París: Masson, 1968.

Frohne D, Pfaendert J. *Giftpflanzen*. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1997.

Fundación Privada Vila Casas. Armas Biológicas. *Cuadernos Quiral* 6,13, 2003. <http://www.fundacionvilacasas.org>.

González J. Sánchez P. Mataix J. *Nutrición en el deporte. Ayudas ergonómicas y dopaje*. Madrid: Díaz de Santos, 2006.

Guitart R. ¿Qué es un «tóxico»? *Rev. de Toxicología*, en prensa, 2008.

Hayes AW. *Principles and methods of toxicology*. 3.^a ed. New York: Raven Press, 1994.

IAEA/WHO (Fairlie I, Sumner D) *The Other Report on Chernobyl* (TORCH). Chernobyl nuclear disaster. April, 2006.

Informe Técnico Comité de Expertos *Campos electromagnéticos y Salud Pública*. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid, 2001.

Klaassen CD y Watkins M. *Casarett y Doull. Fundamentos de Toxicología*. Barcelona. McGraw-Hill-Interamericana. 2005.

Ley 37/2003 del Ruido. BOE, 18-11-2003

Marquardt H, Schäfer SG, McClellan RO, Welsch F. *Toxicology*. New York. Academic Press, 1999

Masuda N, Takatsu M, Morinari H, et al., Sarin poisoning in Tokyo subway. *Lancet* 1995, 345: 1446.

McCarley KD, Bunge AL Physiologically relevant two-compartment Pharmacokinetics models for skin. *J. Pharm. Sci*, 2000, 89;1212-1235.

Morcillo MA y Real A. Evaluación del Riesgo por los agentes físicos: radiaciones ionizantes y campos magnéticos. En: M. Repetto, (ed.) *Toxicología de*

- postgrado-06*. CD ROM, Área de Toxicología, Universidad de Sevilla. 2006.
- NIOSH US. Dep. of HEW. *Registry of toxic effects of chemical substances*. Washington: 1976.
- Nogué S, Salvador E, Montori E *et al*. Lipoatrofia semicircular. Un ejemplo de toxicidad de los agentes físicos. *Actas XVII Congreso español de Toxicología*, 2007.
- Pita R, Anadón A, Martínez-Larrañaga MR. Estado actual del pretratamiento de las intoxicaciones por agentes neurotóxicos de guerra con piridostigmina y otras alternativas farmacológicas. *Rev. Toxicología*, 2003, 20: 1-7.
- Real Decreto 1066/2001, de 26 de septiembre, que aprueba el Reglamento con las Condiciones de Protección del Dominio Público Radioeléctrico y Medidas de Protección Sanitaria.
- Repetto M. *El doping y su control*. Bol. Instituto Nal. de Toxicología. 1967.
- Repetto M. *Tóxicología de los aerosoles*. Sevilla: Ed. Universidad, 1978.
- Repetto M. Aspectos toxicológicos de las armas químicas. *Rev. de Toxicol.*, 1991; 8(1): 5-26.
- Repetto M, Sanz P. Detección toxicológica de herbicidas por un método de antibiograma. *Rev. Esp. Med. Legal y Social*, 4, 14, 58, 1978.
- Repetto M, Sanz P *et al*. *Glosario de términos toxicológicos* (IUPAC, versión española). Sevilla. As. Esp. de Toxicología:1995. <http://busca-tox.com>
- Robinson JP, Leitenberg M. The rise in CB weapons. *The problem of chemical and biological warfare*. Stockholom. Almquist & Wiksells, 19971.
- Rodríguez C. *Dopaje*. Madrid: Interamericana/ McGraw-Hill, 1992.
- Schwenk M, Szinicz L.(eds.) The toxicologist and the response to incidents with chemical and biological warfare agents. *Toxicology*, 2005, 214, 3: 165-278.
- Sidell FR. Chemical Warfare Agents. En: Viccellio Peter, (ed.) *Emergency toxicology*, 2.^a ed. New York. Lippincott-Raven. 1998.
- Smart JK. History of chemical and biological warfare: an american perspective. En FR. Sidell, ET. Takafuji *et al*. (eds.) *Medical aspects of chemical and biological warfare*. Washington DC. Walter Reed Army Medical Center. 1997.
- Unión Europea. Recomendación del Consejo 1999/519, relativa a la exposición de la población general a campos electromagnéticos.
- Unión Europea. Directiva 2004/40/CE, sobre campos electromagnéticos: http://europa.eu.int/eur-lex/es/refdoc/L_159/L_2004159ES_1.pdf.
- Wexler P. *Encyclopedia of toxicology*. San Diego. Academic Press. 1998.
- Wexler P, Hakkinen PJ, Kennedy G Jr., Stoss FW. *Information resources in toxicology*, 4 ed. San Diego. Academic Press. 2007.

3

TRÁNSITO DE LOS XENOBIÓTICOS EN EL ORGANISMO. TOXICOCINÉTICA

CLASIFICACIONES GENERALES DE LOS TÓXICOS

Las sustancias tóxicas pueden someterse a diferentes clasificaciones, que ayudan a su estudio, según se atiende a:

1. Su naturaleza, estructura química y estado físico.
2. Usos y aplicaciones u objeto de su estudio:
 - Medicamentos.
 - Productos industriales.
 - Productos domésticos.
 - Productos de uso agrícola.
 - Contaminantes.
 - Etcétera.
3. Acción fisiopatológica según

{	Lugar de acción	{	Local
	Efectos		Sistémica
4. Mecanismos de acción celular y subcelular (Toxicología molecular).
5. Métodos para su análisis y determinación.

CLASIFICACIÓN DE LOS TÓXICOS POR EL LUGAR DE ACCIÓN

Una sustancia tóxica puede afectar al individuo bien en el mismo lugar en que toma contacto con

él (son los tóxicos de *acción local* o por contacto), o bien en un lugar distante al de entrada (tóxicos de *acción sistémica*).

A. Los tóxicos de *acción local* o por *contacto* ejercen su efecto instantáneamente sobre la piel, mucosas, árbol respiratorio, etc.; destruyen la arquitectura celular, rompiendo las membranas por alteración de las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas. Son los productos conocidos como cáusticos, corrosivos y vesicantes. Como ejemplos tenemos los ácidos, los álcalis (lejías), óxidos nítricos y sulfúricos, óxidos y anhídridos metálicos, aldehídos (acroleína), e incluso disolventes orgánicos como éter, cloroformo, tetracloruro de carbono, tras contacto prolongado. Producen dermatitis, bronquitis, conjuntivitis y auténticas quemaduras químicas.

Algunas sustancias como el níquel, los cromatos, los alquitranes, etc., en su primer contacto con la piel, pueden reaccionar de forma casi imperceptible, formando antígenos que darán lugar a la producción de anticuerpos, que desencadenarán reacciones alérgicas en posteriores contactos. Por estos mecanismos se originan las dermatitis de contacto y, en ocasiones, el cáncer cutáneo, y en el pulmón producen la silicosis: cuando el individuo se sensibiliza por inhalación prolongada de polvo sílice, el tejido pulmonar forma nódulos alrededor de las partículas.

B. *Toxicidad sistémica*, acción a distancia, en lugar distinto al de entrada. Para ello es preciso que el producto penetre en el organismo y se desplace hasta llegar al lugar o lugares donde, con mayor o menor especificidad ejercerá su acción.

PROCESOS DE TRÁNSITO

El tránsito por el organismo de un producto capaz de originar intoxicaciones sistémicas incluye la concatenación de una serie de procesos, como son los siguientes: *absorción, distribución, fijación y excreción*, a lo largo de todos los cuales, la molécula tóxica experimenta numerosas transformaciones bioquímicas. Todo este ciclo se estudia bajo el nombre de *Toxicocinética*, denominándose *Toxicodinámica* a la propia acción tóxica, que se valora por la Toxicometría.

Recordemos ahora en qué consiste cada una de estas fases, y posteriormente consideraremos brevemente su tratamiento matemático (Toxicocinética).

Mecanismos de absorción

La absorción consiste en el paso de un xenobiótico desde el exterior a los fluidos biológicos (sangre, linfa, líquido cefalorraquídeo o LCR); para

Tabla 3.1. Vías de entrada de xenobióticos ordenados según la velocidad de absorción y distribución.

Intravascular	Intraarterial Intravenosa
Inhalatoria	Alveolos Tracto superior
Mucosa	Sublingual Vaginal Nasal Ocular
Intraperitoneal (sustancias hidrosolubles)	
Rectal	Inferior Superior
Intramuscular	
Subcutánea	
Oral	
Pecutánea	

ello el producto en disolución ha de atravesar una serie de membranas (Fig. 3.1) a partir de las *vías de absorción* que limitan con el medio externo (Tabla 3.1).

Recordemos que las sustancias pueden atravesar las membranas biológicas por cinco mecanismos (Tabla 3.2):

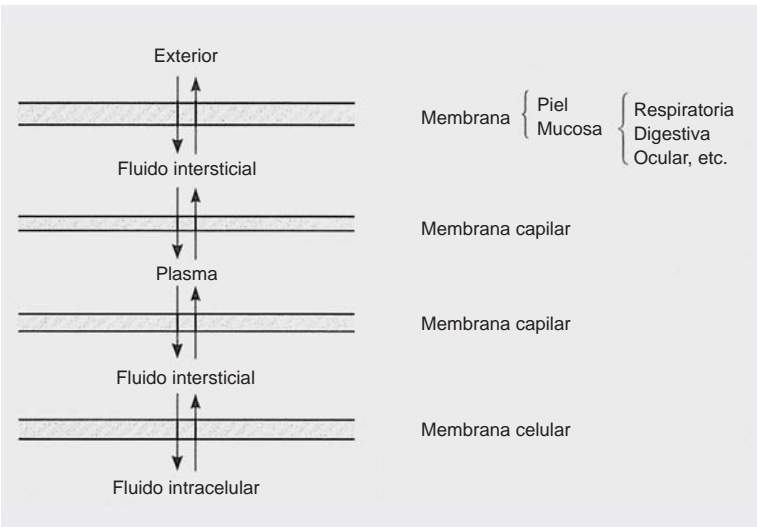


Figura 3.1. Pasos de la absorción.

Tabla 3.2. Formas de paso a través de membranas biológicas.

Forma	Mecanismo	Depende de:	
		Presión	Gradiente de concentración
Filtración	Paso por poros	Sí	Sí
Difusión	Dilución	—	Sí
Transporte Facilitado	Portador	—	Sí
Activo	Portador + ATP	—	No

Otras dos formas de absorción son:

- Fagocitosis en que una célula (fagocito) engloba a una partícula sólida.
- Pinocitosis, en que igualmente, por invaginación de la membrana, se introduce una gota de líquido externo (*endocitosis*, y al revés, *exocitosis*).

a) Paso por los poros o canales de la membrana (*filtración*), que puede producirse como consecuencia de un gradiente de concentraciones (la sustancia pasa, simplemente, desde donde está más concentrada a donde lo está menos) y obligada por la presión. Las condiciones que limitan la filtración son el tamaño de la partícula, que debe ser inferior al del poro; los diferentes tejidos biológicos poseen poros de muy distinto diámetro, y la liposolubilidad (ver más adelante).

b) Por disolución en los constituyentes grasos de la membrana, dando lugar a una *difusión* del producto de un lado hacia el otro, impulsado también por la diferencia de concentraciones.

Tanto la filtración como la difusión son mecanismos pasivos, que no consumen energía.

c) Con el concurso de una molécula transportadora que, uniéndose a la molécula, le permita pasar a través de la membrana, según dos modalidades:

c.1. *Difusión facilitada*, también un mecanismo pasivo, muy eficiente, que utiliza como mediadores grandes moléculas de proteína de la membrana celular que, de forma específica para cada sustrato, se unen a una molécula de este y, mediante un cambio de conformación molecular y posterior liberación ayudan al sustrato a pasar de un lado a otro de la membrana; estas proteínas reciben el nombre de *transportadores*, y de *canales* en el caso de los iones.

Entre las características de estas moléculas están la alta selectividad para la sustancia transportada (distinguen incluso a los enantiómeros), la saturabilidad, la activación o inactivación ante la presencia de otras sustancias, y ser influenciados por la temperatura.

El transporte de iones de un lado a otro de la membrana es regido principalmente por la ley de acción de masas o de gradiente de concentraciones; los solutos pasan del lugar donde están más concentrados a donde lo están menos. Pero los transportadores de membrana invierten esta característica; son proteínas que cambian de conformación al contacto con el sustrato; también pueden ser poros llenos de agua, y en ambos casos se rigen por el gradiente electroquímico del sustrato.

Poseen una especificidad preferencial, pero no absoluta por los principales iones de interés fisiológico. Así, las células no disponen de un sistema específico de absorción para los iones de cadmio, al no ser metal esencial, por lo que este penetra en las células por los canales de Ca^{++} . Los canales de sodio son esenciales en todas las células excitables, pero pueden ser bloqueados por sustancias como la tetradotoxina (TTX) o la saxitoxina, el DDT o los piretroides, aunque actuando de diferente forma, ya que la TTX bloquea el canal de sodio desde fuera de este, cuando un resto guanina de la toxina se introduce por el poro, pero los organoclorados y los piretroides lo bloquean desde dentro.

c.2. *Transporte activo*, con consumo de energía obtenida por hidrólisis de ATP (adenosin trifosfato) y capacidad para hacer que pasen las sustancias en contra del gradiente de concentraciones (desde donde están más diluidas hacia donde están más concentradas). Por ello, frecuentemente se denomina *bombas* a este sistema.

Especialmente interesantes son las llamadas *bombas de expulsión* que, mediante moléculas transportadoras y con consumo de ATP, extraen

sustancias de la célula al espacio extracelular. El primer transportador de este tipo que se descubrió es la glicoproteína P (p-gp), formadora de poros en la membrana que permiten la salida de aniones hidrofóbicos; otro es la *glicoproteína P-asociada a la resistencia a multidrogas* (codificada por el gen MDRP, subfamilia MDRP 1 a 7), que al incrementar grandemente la salida de las células de fármacos constituidos por grandes aniones orgánicos, aquellas ven aumentada su resistencia a distintas drogas. Ejemplos de tales moléculas son el de la *bomba de expulsión de conjugados* (codificada por el gen MRP2), la *bomba de expulsión de fosfolípidos* (gen MRP3), etc. Estas proteínas son abundantes en hígado (en la membrana canalicular del hepatocito), intestinos, pulmón, riñón, placenta, endotelio de venas y capilares, células cancerosas, etc. En los testículos, concretamente en las células de Sertoli y las de Leydig, realizan una importante función protectora al evacuar tóxicos, como plaguicidas orgánicos halogenados, con actividad antiandrogénica.

d) Endocitosis, que mediante invaginación de la membrana plasmática engloba moléculas y partículas en un proceso dependiente de ATP y de iones Ca^{++} .

Simplificando un tanto, podría decirse que el mecanismo más importante, desde el punto de vista toxicológico, para los procesos de absorción, distri-

bución y fijación de los tóxicos es el de difusión, mientras que para la excreción por vía renal (medio acuoso) es la filtración de las moléculas hidrosolubles, y en plano secundario están la difusión (para la reabsorción) y el transporte activo (Fig. 3.2).

Sabemos que las células poseen una membrana semipermeable, constituida por dos capas de moléculas lipídicas; cada una de éstas, según un modelo clásico (Fig. 3.3), se halla cubierta por una capa monomolecular de naturaleza proteica. Pero, según modelos más recientes, las partículas proteicas, muchas de ellas enzimas, están incrustadas en el mosaico graso (Fig. 3.4), formando poros hidrófilos que permiten el paso de disoluciones acuosas.

La estructura de la membrana no es estática, sino que tanto lípidos como proteínas tienen cierta libertad de movimiento en sentido lateral, que aumenta con la temperatura y que es especialmente marcada para lípidos de cadenas cortas y muy insaturadas. La ordenación y el comportamiento de la fase lipídica se corresponden con lo que se conoce como *cristales líquidos* o *mosaico fluido*. Las dos capas grasas (integradas por fosfolípidos, glucolípidos y colesterol) son paralelas, superpuestas, y sus moléculas están orientadas radialmente; en vida, la capa de fosfolípidos más externa está compuesta por fosfatidilcolina (fosfatidil etanolamina), mientras la capa interna

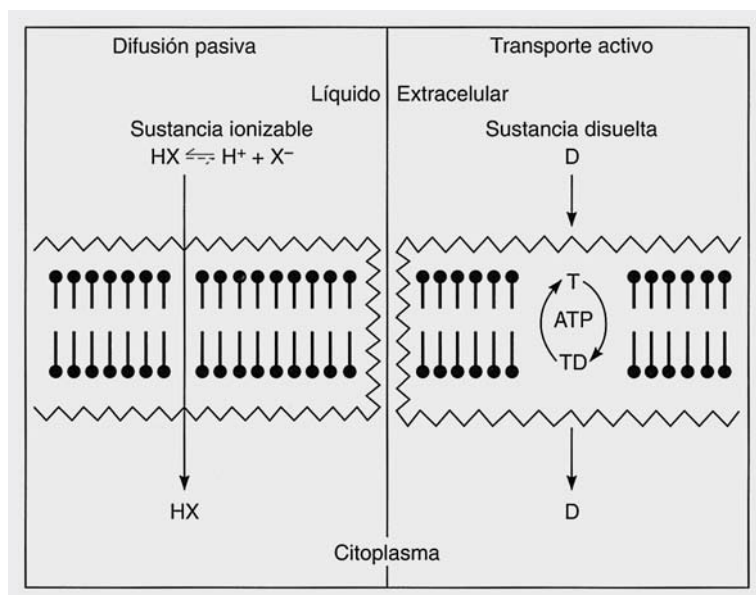


Figura 3.2. Travesía de la membrana por una sustancia ionizable (difusión pasiva), o por una sustancia disuelta, con intervención de un transportador T y consumo de energía (transporte activo).

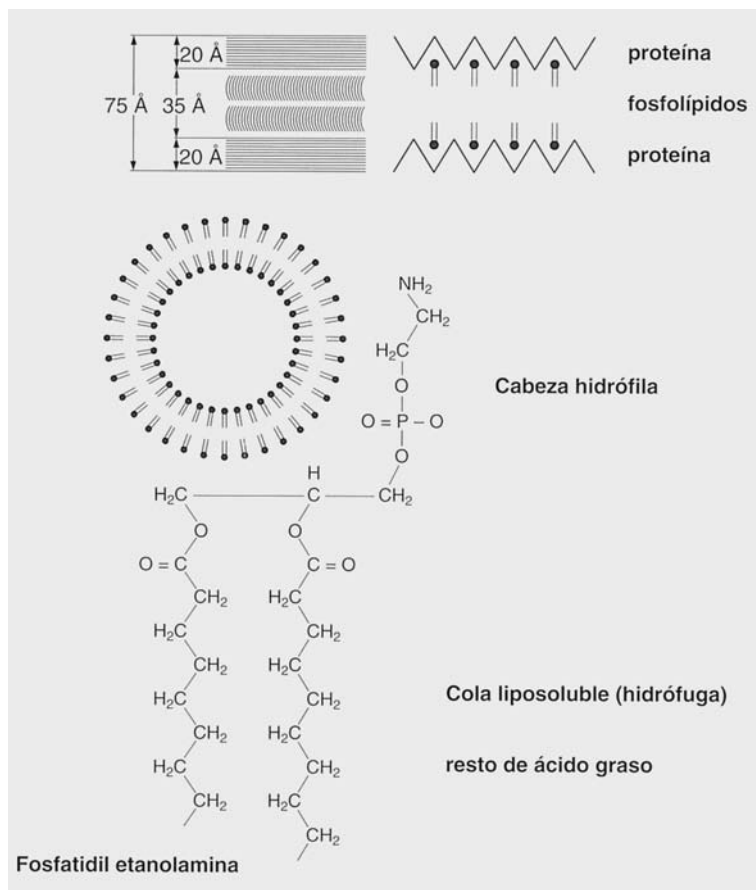


Figura 3.3. Membrana celular tipo.

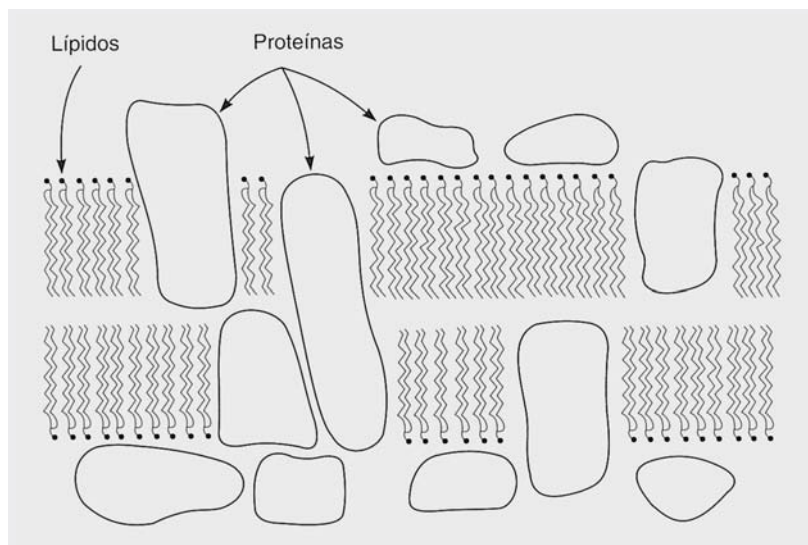


Figura 3.4. Concepción actual de la membrana.

contiene además fosfatidil serina y esfingomieli-na, asimetría que se mantiene con consumo de energía, y que desaparece en los procesos de muerte celular. Esta estructura da a la membrana biológica un marcado carácter lipófilo, por lo que es perfectamente atravesada por las sustancias liposolubles que son sustancias *apolares*, es decir, *no ionizadas*. Por el contrario, la fuerte carga eléctrica de la membrana impide el paso a su través de las sustancias polares, es decir, de los iones. De aquí que la capacidad de ionización, o más específicamente, la capacidad de un ácido para abandonar un ion H^+ , o la de una base para aceptar un protón (procesos de protonación-desprotonación) desempeñen un papel decisivo en la absorción.

La solubilidad de los compuestos orgánicos y su capacidad para atravesar las membranas biológicas vienen dadas por el pH del medio y el pKa del producto (recordemos que se denomina pKa al pH de una disolución en la que hay igual cantidad de sustancia ionizada que sin ionizar).

Por SpH se representa la solubilidad del compuesto a un pH dado, y por So, *solubilidad intrínseca*, la de la forma no-ionizada, es decir, la solubilidad de un ácido a pH próximo a 0 y la de una base a pH próximo a 14.

Las ecuaciones de Krebs y Speakman nos dan:

I) para ácidos monobásicos:

$$SpH = So (1 + 10^{pH-pKa})$$

II) para bases monoácidas:

$$SpH = So (1 + 10^{pKa-pH})$$

de donde las relaciones SpH/So serán respectivamente:

$$\frac{SpH}{So} = 1 + 10^{pH-pKa}, \text{ para los ácidos, y}$$

$$\frac{SpH}{So} = 1 + 10^{pKa-pH}, \text{ para las bases.}$$

En el transporte de los compuestos a través de las membranas celulares, han adquirido gran importancia las llamadas *proteínas de membrana* que participan en los procesos toxicocinéticos de absorción, distribución y excreción; como proteínas que son, su concentración y actividad dependen de las características genéticas de cada indivi-

duo, aunque también pueden ser aumentadas o disminuidas por la presencia de otras sustancias.

Se distinguen dos grandes superfamilias transportadoras de membrana:

- Las conocidas como ABC, que generalmente catalizan el transporte activo con hidrólisis de ATP. Entre ellas destaca la familia de glucoproteínas P (P-gp ó G-P) (codificadas principalmente por el gen MDR-1, afectado de polimorfismos), y
- La de *facilitadores mayores* (MF) o transportadores secundarios y terciarios.

La glucoproteína P (P-gp) de membrana plasmática es una molécula de pequeñas dimensiones (170 kD), formada por un carbohidrato y una molécula de proteína, constituida por 1.200 aminoácidos que se disponen en 2 cadenas iguales, cada una con un segmento N-terminal hidrofílico y un segmento C-terminal hidrofóbico. En su cara intracelular hay una región hidrofílica a la que se liga una molécula de ATP, para permitir su mecanismo de acción dependiente de energía.

La estructura de la G-P es característica de un poro de membrana a través del cual diferentes fármacos son bombeados al espacio extracelular, para disminuir la concentración del interior de la célula a niveles que resultan inactivos.

La G-P se detecta en numerosos órganos y tejidos, especialmente en los epitelios de órganos maduros con capacidad excretora o secretora, endotelios y tejido trofoblástico; en las células del recubrimiento intestinal actúan como una «bomba de aspiración» que devuelve las moléculas al intestino para su excreción, en lugar de permitir que pasen al torrente sanguíneo. La corteza adrenal, el túbulo renal proximal y el epitelio del colon expresan G-P con mayor intensidad que en el resto de tejidos, lo que facilita la eliminación de metabolitos y de diferentes sustancias a la bilis, la orina o a la luz intestinal, y confirma el papel destoxicante y protector celular de la G-P, al tratar de impedir que los xenobióticos alcancen concentraciones activas en estos lugares así como en el endotelio capilar del testículo y del sistema nervioso central.

Los xenobióticos que estimulan la actividad de la glucoproteína P (como determinados antirretrovirales) reducen la concentración plasmática de los principios activos, mientras que los inhibidores de esta glucoproteína la aumentan.

Por otra parte, la mayoría de los pacientes con tumores que responden inicialmente a la quimioterapia presentan posteriormente recaídas, insensibles al tratamiento por la adquisición de la llamada resistencia adquirida a múltiples fármacos antineoplásicos (*MDR-multidrug resistance*). En el estudio farmacocinético de estos fármacos se observó un bombeo activo al exterior de la célula cuando se unían a una proteína de membrana plasmática, presente sólo en las células resistentes.

De la superfamilia de facilitadores mayores (MF) cabe distinguir a los *transportadores de cationes orgánicos* (OCT), que extraen a las aminas biógenas, etc., y a los *transportadores de aniones orgánicos* (OAT), para folatos, ácidos biliares, antimetóticos, etc.

En general, las condiciones que una *membrana* biológica exige para permitir el paso de sustancias a su través son:

- Pequeño *radio* atómico o molecular.
- Valor intermedio del *coeficiente de partición lípido/agua*, de la forma no ionizada.

Recordemos que el coeficiente de reparto o partición (atribuido a Hogben, 1957) es el cociente entre las concentraciones de un producto que se distribuye entre dos disolventes inmiscibles; para determinar el coeficiente de reparto lípido/agua de una sustancia, se suele emplear aceite de oliva, heptano o n-octanol frente agua. Se valora de la siguiente manera: una disolución acuosa del producto se agita en un embudo de decantación con un volumen del disolvente orgánico; se deja reposar para conseguir la separación de las capas de los disolventes inmiscibles y se determina la concentración del producto problema en ambos. En esta fase en equilibrio, el coeficiente de partición lípido/agua será:

$$C_p = \frac{\text{Concentración en el disolvente orgánico}}{\text{Concentración en el agua}}$$

En la actualidad puede determinarse de forma más cómoda mediante cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) que es el método recomendado por la OCDE.

La vía intravascular (intravenosa o intraarterial) es la más completa e inmediata, seguida de la pulmonar o inhalatoria.

Por la *piel, mucosa gastrointestinal y membrana alveolar* son perfectamente absorbibles los compuestos *liposolubles, sustancias apolares*, siéndolo muy difícilmente las sustancias hidrosolubles, polares y en estado ionizado.

Por su parte, la absorción por vía percutánea (cuantitativamente importante en toxicología laboral y ambiental) depende del grado de integridad de la epidermis y de su tratamiento previo con jabones, detergentes y disolventes.

La cuestión toma aspectos de creciente interés a lo largo del tracto digestivo, donde las sucesivas variaciones del pH modifican los estados de disociación de las sustancias polares, controlando las posibilidades de su absorción (Fig. 3.6).

El alcohol, la nitroglicerina, algunos esteroides (estrógenos), nicotina, cocaína, etc., pueden absorberse a través de la *mucosa bucal* (sublingual) con mayor o menor eficiencia.

Si bien la mucosa esofágica es similar a la del estómago, la penetración desde el esófago es pequeña por la rapidez del tránsito; sin embargo, le afectan mucho los cáusticos ingeridos, especialmente en sus tres estrechamientos fisiológicos, que se lesionan por contacto.

La mayor absorción ocurre en estómago o intestino, dependiendo de la estructura química del producto.

Ahora bien, la absorción por la vía oral está afectada por numerosas variables (contenido gástrico previo, velocidad de tránsito intestinal, etc.); la vía rectal también presenta diferencias según el lugar más o menos profundo de la aplicación y la edad del individuo, que influye grandemente en el proceso (Fig. 3.7).

Las moléculas mejor absorbibles por los sistemas biológicos son las que se disuelven bien en las dos fases, es decir, con coeficiente alrededor de 1, porque pueden pasar del medio externo a la membrana y de ésta al medio acuoso interno. Las sustancias exclusivamente liposolubles (aceite de vaselina o parafina, etc.), o las únicamente hidrosolubles, no atraviesan las membranas por difusión pasiva.

Los electrolitos débiles, que se ionizan en solución acuosa pero no en gran proporción, cuando están en forma no-ionizada son más liposolubles y, por tanto, difusibles por las membranas biológicas; pero en estado ionizado son muy hidrosolubles y, por ello, no difusibles a través de los lípidos celulares.

El grado de ionización de los electrolitos es función del pH del medio y de su propio pKa (igual al logaritmo negativo de la constante de disociación).

La concentración relativa de las formas ionizadas y no-ionizadas de una sustancia en disolución viene dada por las ecuaciones de Henderson-Hasselbach.

Para un ácido débil:

$$\log \frac{[\text{no-ionizado}]}{[\text{ionizado}]} = \text{pKa} - \text{pH}$$

Para una base débil:

$$\log \frac{[\text{no-ionizada}]}{[\text{ionizada}]} = \text{pH} - \text{pKa}$$

Consecuentemente, un ácido débil que está poco ionizado en medio ácido, se difundirá a partir de un medio a pH ácido; por el contrario, una base débil, poco ionizada a pH alcalino, será más liposoluble cuando se encuentre en un medio a pH alto. Por las mismas razones, una sustancia ácida débil se concentrará en medios acuosos neutros y las sustancias básicas en los medios ligeramente ácidos.

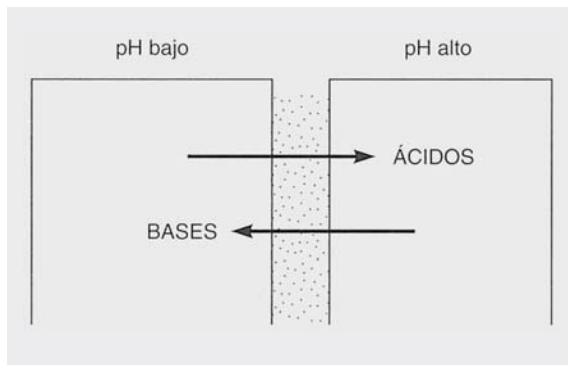


Figura 3.5. Paso de un compartimiento a otro, según el pH.

La diferencia de pH entre el del plasma (7,4) y el del jugo gástrico (1) o el del contenido intestinal (5-7-8) rige el paso de electrolitos débiles (ácidos o bases débiles) desde el estómago o intestino al plasma y viceversa (Fig. 3.5 y 3.6).

En la práctica, la mucosa gastrointestinal es impermeable a las formas ionizadas de ácidos o bases débiles, pero no lo es a las formas no-ionizadas, que atraviesan la mucosa con velocidad proporcional a su liposolubilidad, hasta alcanzar el

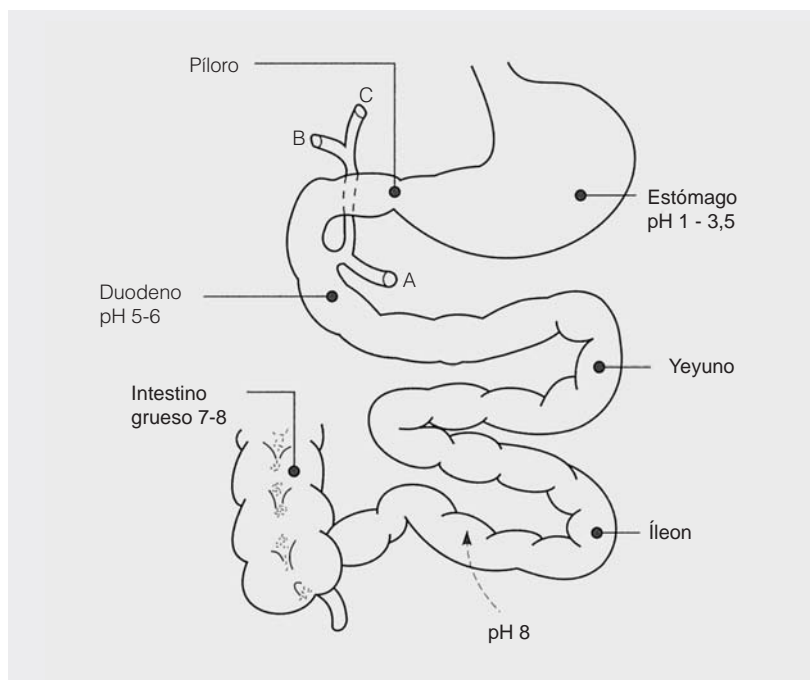


Figura 3.6. Variaciones del pH a lo largo del tubo gastrointestinal.

equilibrio. Entonces, la concentración de la sustancia no-ionizada será igual a ambos lados de la mucosa; pero la cantidad total de xenobiótico será mayor en el lado donde esté más ionizado.

Si llamamos pK_a al log negativo de la constante de disociación del ácido (pK_a es el pH al que hay tanta sustancia ionizada como sin ionizar),

$$pH = \log \frac{[base]}{[ácido]} + pK_a$$

$$\log \frac{[base]}{[ácido]} = pH - pK_a$$

$$\frac{[base]}{[ácido]} = \text{antilog} (pH - pK_a)$$

Si a un lado (I) y otro (II) de una membrana, los pH son pH_I y pH_{II} , y R es la razón de las concentraciones totales de fármaco a ambos lados:

$$R = \frac{[ácido_I] + [base_I]}{[ácido_{II}] + [base_{II}]}$$

Como:

$$\log \frac{[base]}{[ácido]} = pH - pK_a$$

y

$$\frac{[base]}{[ácido]} = 10^{(pH - pK_a)}$$

$$[base] = [ácido] \times 10^{(pH - pK_a)}$$

Sustituyendo en R :

$$\begin{aligned} R &= \frac{[ácido_I] + [ácido_I] \times 10^{(pH_I - pK_a)}}{[ácido_{II}] + [ácido_{II}] \times 10^{(pH_{II} - pK_a)}} \\ &= \frac{[ácido_I] \times 10^{(pH_I - pK_a)}}{[ácido_{II}] \times 10^{(pH_{II} - pK_a)}} \end{aligned}$$

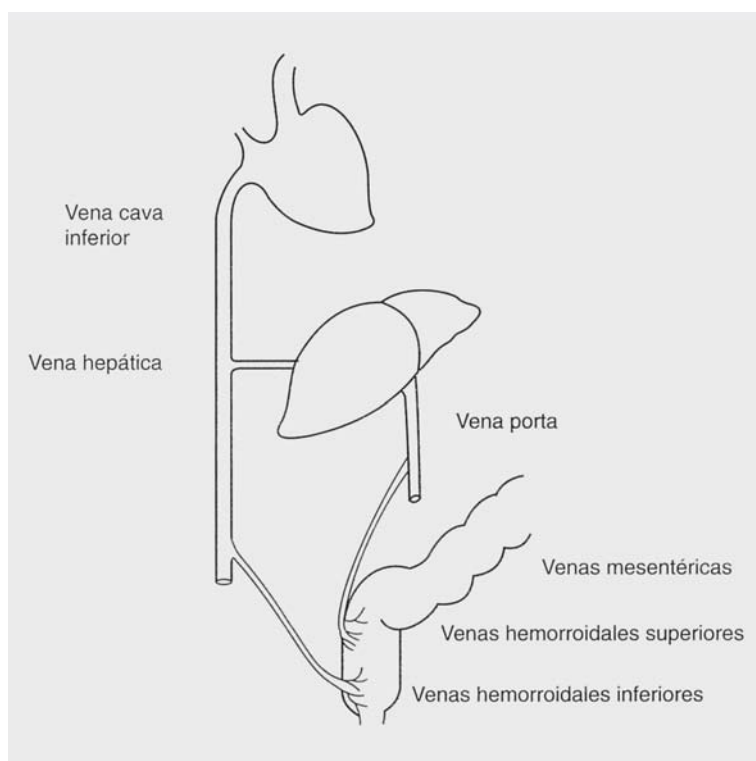
En el equilibrio,

$$[ácido_I] = [ácido_{II}],$$

luego

$$R = \frac{1 + 10^{(pH_I - pK_a)}}{1 + 10^{(pH_{II} - pK_a)}}$$

Figura 3.7. La absorción por vía rectal es más rápida y efectiva en la proximidad del ano, pues el plexo venoso hemorroidal inferior evita el paso por el hígado.



de donde, habrá mayor cantidad de producto total donde la diferencia $\text{pH} - \text{pK}_a$ sea mayor, o (para un mismo pK_a) donde el pH sea más alto.

Igualmente, para las bases, se obtiene que:

$$R = \frac{1 + 10^{(\text{pK}_a - \text{pH})}}{1 + 10^{(\text{pK}_a - \text{pH}_\text{II})}}$$

por lo que habrá más base total donde la diferencia $\text{pK}_a - \text{pH}$ sea mayor, o, lo que es igual, donde el pH sea más bajo.

Para un ácido débil, $\text{pK}_a = 3$, luego en el plasma $\text{pH} - \text{pK}_a$ será 4,4 y en el estómago -2 .

Un ácido orgánico estará muy poco ionizado en el estómago, por lo cual será rápidamente absorbido, pero un ácido fuerte, con pK_a inferior a 1, no será bien absorbido desde el estómago. Por ello, el barbitúrico ($\text{pK}_a = 7,8$) se absorbe mejor que el salicílico ($\text{pK}_a = 3,5$).

Las bases débiles serán absorbidas débilmente (cafeína $\text{pK}_a = 0,8$, antipirina 1,4, aminopirina $\text{pK}_a = 5$) (Fig. 3.8).

Las bases fuertes se acumulan en el estómago, incluso pasando a él desde la sangre.

Lógicamente, todo se invierte cuando se cambia el pH gástrico, por ejemplo, alcalinizando con bicarbonato sódico; entonces el salicílico es menos absorbido, y la antipirina o la quinina, más, porque aquél estará totalmente ionizado y éstas muy poco.

En el intestino, al crecer el pH hasta casi la neutralidad, los ácidos son pobremente absorbidos y las bases lo son mejor.

Sin embargo, el fenómeno, en general, no es matemático, porque la absorción también depende de la liposolubilidad (coeficiente de partición lípido/agua) de la forma no ionizada.

Además, estos factores de dependencia del pK_a no son los únicos que intervienen en la absorción por difusión a través de una membrana. Así, por ejemplo, en medio acuoso los iones pueden formar *hidratos de gran tamaño* que impiden su paso a través de la membrana o pueden formar *in situ* pro-

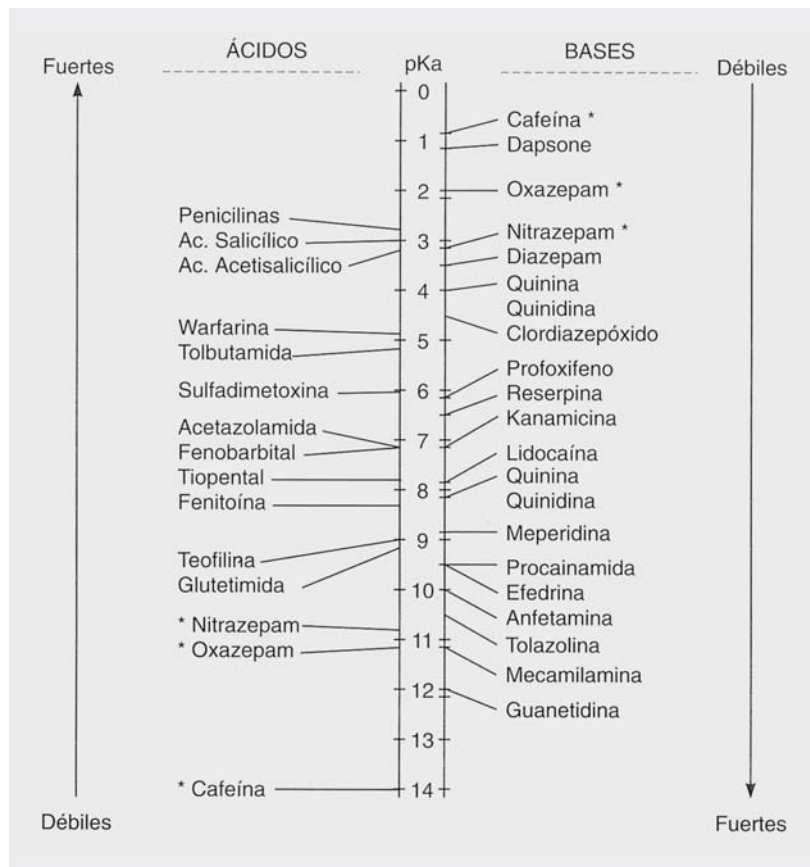


Figura 3.8. Valores aproximados de pK_a de algunos ácidos y bases. Las sustancias marcadas con asterisco son anfóteras. (Tomado de Rowland y Tozer).

ductos *complejos con los mucopolisacáridos* de la propia pared, impidiendo la difusión.

Así, en el estómago, el tóxico puede reaccionar con sustancias contenidas en él, como partículas de alimentos, medicamentos (gel de aluminio), o secreciones, como mucina, pepsina, renina, lipasa, etc. Cuando los productos neoformados se ponen en contacto con el jugo pancreático, pueden originarse otros nuevos, o liberarse los primitivos. Todo ello modifica la absorción y toxicidad de una sustancia.

Distribución

Aunque grasas y proteínas pueden ser transportadas por el sistema linfático, el papel principal lo juega la sangre.

Una vez el tóxico en la sangre, ésta lo distribuye por todo el cuerpo. Como un adulto tiene seis litros de sangre y el volumen minuto cardíaco es aproximadamente de seis litros, resulta que en un minuto

toda la sangre ha recorrido, al menos una vez, todo el sistema vascular.

Algunos xenobióticos se pueden transportar disueltos en el agua plasmática. Otros van unidos a proteínas (especialmente, 50 por 100, albúmina de $P_m = 69.000$) que se unen a iones y moléculas pequeñas. Las moléculas apolares o liposolubles se unen a las lipoproteínas α y β por disolución en el componente lipídico (Fig. 3.9). Otras sustancias y elementos, como el plomo, se transportan fijados al estroma de los hematíes.

Los grupos ionizados de las proteínas, preferentemente la albúmina y también las globulinas, pueden reaccionar tanto con iones positivos como negativos (básicos o ácidos), a pesar de que al pH plasmático (7,4) tienen carga netamente negativa, pero se producen uniones iónicas muy débiles y reversibles. En esta forma de unión proteínica, los fármacos no son activos, sino que tienen que liberarse para poder actuar sobre los receptores. Así, el déficit de proteínas

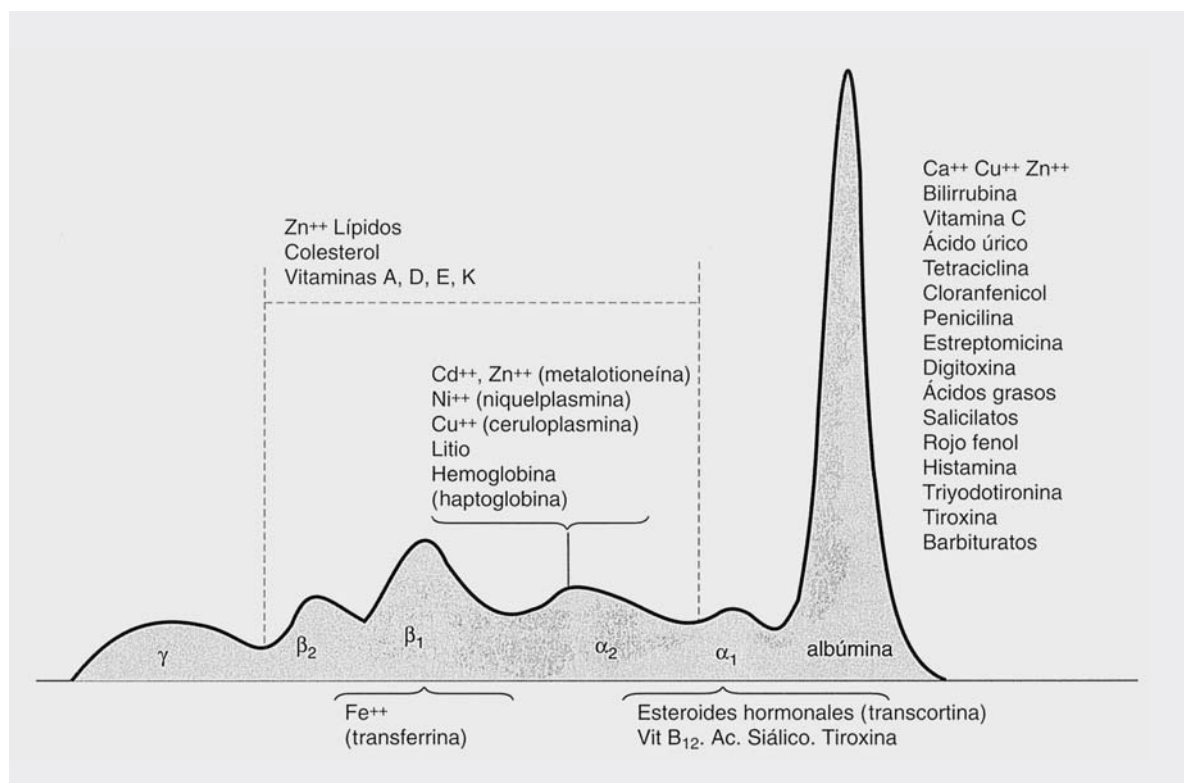


Figura 3.9. Interacción de sustancias endógenas y exógenas con las proteínas plasmáticas transportadoras.

circulantes, como en caso de enfermedades hepáticas o renales, malnutrición, infecciones sépticas o quemaduras extensas, mantiene en forma libre a mayor proporción de fármaco incrementando sus efectos tóxicos.

Las proteínas plasmáticas (circulantes) y las tisulares (tanto de superficie como intracelulares) fijan la mayoría de los xenobióticos por absorción, mediante enlaces estables pero reversibles, de carácter iónico, enlaces de hidrógeno, ion/dipolo, fuerzas de Van der Waals (al igual que unen a los receptores). En Toxicología tienen especial interés las proteínas *ceruloplasmina* (Cu), *transferrina* (Fe), *metalotioneína* (Cd, Zn, Pt, etc.), *niquelplasmina* (macroglobulina). De acuerdo con Mercer (2002), el cobre de la dieta atraviesa la membrana plasmática gracias a la intervención de una enzima ATPasa tipo P (ATP7A) y penetra en la vena porta que lo lleva al hígado. El déficit de ATP7A, también simbolizada como MNK, provoca la pérdida de cobre con las heces o su acumulación en intestino y deficiencia en el feto, para cuya penetración se precisa dicha enzima y, consecuentemente, retraso mental y anomalías en tejido conjuntivo, originándose lo que se conoce como *enfermedad de Menkes*. En el hígado hay una ATP7B que participa en la salida del ion hacia la bilis y la sangre; en ésta, el cobre es transportado por la ceruloplasmina y circula en el cerebro gracias a la ATP7A y en la glándula mamaria por la ATP7B; la deficiencia de ATP7B da lugar a acumulación, por retención, en hígado, y degeneración hepática y neuronal, en lo que se conoce como *enfermedad de Wilson* o *degeneración hepatolenticular*. Por tanto, cuando por causas genéticas, hereditarias, un individuo posee insuficiente dotación de las citadas proteínas, el cobre absorbido normalmente con los alimentos (sin que se trate de una sobredosis o intoxicación) no se transporta apropiadamente, y se deposita en distintos órganos, ocasionando las enfermedades citadas, que pueden tratarse con la administración de quelantes (penicilamina) que extraen y favorecen la excreción urinaria del metal, aunque no pueda repararse el daño celular previamente ocasionado.

De la transferrina se han identificado varios haplotipos que poseen distinta capacidad transportadora del hierro.

Las metalotioneínas (MT) forman una familia de isoformas proteicas con gran capacidad de

unión para los metales, gracias a sus grupos tioles; aunque su función fisiológica no es bien conocida, se sabe que participan en la homeostasis de cobre y cinc, y participan en el transporte y eliminación de cadmio y cinc. La síntesis de las MT es inducible por distintos metales y arsénico, glucocorticoides, citoquinas y endotoxinas. Se ha propuesto utilizar el aumento de MT como biomarcador de la contaminación por metales, aunque según lo expuesto, no puede considerarse como un indicador específico. Su síntesis en hígado y riñón se incrementa grandemente en la intoxicación por cadmio.

Los lípidos intra y extracelulares (triglicéridos, fosfolípidos, esteroides), retienen o transportan xenobióticos por disolución, conforme a su coeficiente de reparto, e intervención de enlaces no iónicos y fuerzas de Van der Waals.

Algunos xenobióticos hidrosolubles que no atraviesan las membranas celulares (iones, inulina, etc.) se retienen en el plasma y el líquido extracelular.

Los fármacos difusibles (especialmente los ácidos) penetran en los hematíes, cuyo pH interior es más elevado que el del plasma, a consecuencia del exceso de cargas catiónicas de la hemoglobina; de esta forma, los aniones se acumulan en los glóbulos rojos, al igual que los xenobióticos muy liposolubles, como cloroformo, cloruro de etilo, ion plomo, etcétera, que se hallan en los hematíes 3 a 8 veces más concentrados que en el plasma. Los leucocitos participan poco en esto, pero pueden fagocitar partículas insolubles.

La fijación de los xenobióticos a las proteínas plasmáticas es generalmente reversible, porque consiste en uniones de débil energía y muy raramente covalentes, como hemos visto. Aunque suele haber cierta especificidad de fijación de cada sustancia sobre los diferentes constituyentes hemáticos, a dosis elevadas se pierde la especificidad y la fijación se realiza sobre todas las fracciones plasmáticas.

Hay que tener en cuenta que cuando se analiza una sangre se determina el total de xenobiótico presente, pero cuando se hacen bioensayos sólo se valora el xenobiótico libre. Cuando se diluye grandemente la sangre o se desproteíniza, se libera el fármaco.

El principal factor que condiciona la distribución es la diferente irrigación sanguínea de los dis-

tintos órganos. Así, el cerebro, que constituye sólo el 2 % del peso corporal, recibe el 16 % del envío cardíaco.

La velocidad de entrada de un xenobiótico en los diferentes tejidos depende de la velocidad relativa de la sangre a través del correspondiente lecho capilar y de la permeabilidad de éste a las moléculas del tóxico.

En los capilares arteriolas se produce ultrafiltración hacia afuera a consecuencia de la presión hidrostática arterial, mientras que las vénulas recogen solutos del líquido intersticial, conforme a la presión oncótica (coloideosmótica), de esta manera actúa también el sistema linfático.

El paso del xenobiótico desde la sangre a los tejidos se rige por los mismos mecanismos que la absorción, y el equilibrio se establece en sólo unos minutos. La difusión a través de la membrana capilar obedece al gradiente de concentración del xenobiótico libre y a la pequeñez de la molécula. Las moléculas liposolubles pasan merced al coeficiente de partición lípido/agua, y penetran rápidamente en los tejidos.

El paso de las sustancias hidrosolubles depende del gradiente de concentración en ambos lados de la membrana, y del tamaño de la molécula, pues ésta tiene que atravesar los poros, de aproximadamente 30 nm, muy variables de un tejido a otro. La estructura histológica cerebral, equívocamente llamada «barrera hematoencefálica» (véase más adelante y en Cap. 7), reduce drásticamente la entrada de las sustancias hidrosolubles de cualquier tamaño, pero no de las liposolubles. Por el contrario, las estructuras renales poseen grandes poros (75 nm) y tienen gran permeabilidad al agua.

La absorción por el sistema linfático se basa en procesos de pinocitosis.

Los xenobióticos penetran en el SNC por dos vías: líquido cefalorraquídeo y sangre de las arterias carótida y vertebrales que después forman el polígono de Willis, de donde salen los capilares encefálicos.

La difusión no es homogénea por todo el encéfalo, sino que los xenobióticos penetran mejor en la corteza y algunas zonas concretas; esto puede deberse tanto a diferente irrigación como a diferencias en la estructura de los capilares.

Ya hemos apuntado que los capilares cerebrales presentan menos permeabilidad a las disolu-

ciones acuosas que los del riñón o del músculo. Aparte de la mayor proporción de grasa, la membrana basal del endotelio está muy unida a células del tejido conectivo glial (astrocitos), por lo que los fármacos han de atravesar no sólo los poros del capilar, sino también el astrocito. Además, cuando la sustancia llega al líquido intersticial se encuentra con que aquí hay muy pocas proteínas transportadoras. El LCR también tiene gran escasez de proteínas.

Como los colorantes se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas, cuando Ehrlich estudió la penetración de aquéllos en el cerebro y comprobó que no entraban, habló de la «barrera hematoencefálica», que en realidad no existe, ya que los productos liposolubles entran perfectamente, y los hidrosolubles de pequeño tamaño molecular también, pero los restantes hidrosolubles y los ionizados lo hacen muy lentamente. Por ello se acepta hoy que la barrera presenta un carácter más *cuantitativo* que *cualitativo*. Cuando se producen cambios osmóticos o lesiones en los vasos (por tóxicos o anoxia), las células epiteliales se contraen, abriéndose poros que facilitan el tránsito.

Las características histológicas de la placenta hicieron creer que el feto estaba libre de los tóxicos circulantes en la sangre materna. Pero se ha visto que los productos liposolubles (gases anestésicos, por ejemplo) se difunden rápidamente a su través, y el equilibrio en sangre materna y fetal tan sólo está retrasado por el menor flujo placentario (Fig. 3.10). Y como, por otra parte, el feto tiene mayor proporción de lípidos (SNC desproporcionadamente grande) respecto al adulto, puede retener los tóxicos liposolubles y experimentar mayor intoxicación que la madre.

Para el cálculo del reparto de un xenobiótico entre fluidos y tejidos es útil el coeficiente de distribución tisular (CDT):

$$\text{CDT} = \frac{\text{Concentración en tejido}}{\text{Concentración en sangre}}$$

Según Curry y Sunshine (1960) cuando el cociente de barbitúricos en hígado/sangre es mayor que 4, la muerte ocurre normalmente dentro de las 5 horas de la ingestión, pero cuando es menor de 4, no existe relación entre el tiempo desde la ingestión de la droga y la muerte. Por su

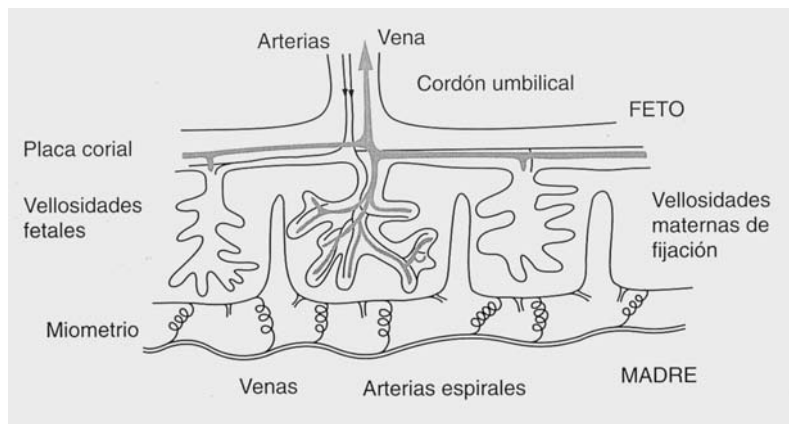


Figura 3.10. Circulación placentaria.

parte, Boratto, McIntyre y Drummer (2002) han demostrado que las concentraciones postmorte de varias benzodiazepinas presentan correlaciones de alrededor de 2 en hígado frente a sangre femoral.

Igualmente puede ser de interés el coeficiente de distribución saliva (s) y sangre o plasma (p):

$$R = \frac{1 + 10^{(pH_s - pK_a)}}{1 + 10^{(pH_p - pK_a)}} \times \frac{\text{Fármaco libre en plasma}}{\text{Fármaco libre en saliva}}$$

En resumen: el paso de los xenobióticos desde el torrente circulatorio a los tejidos depende de: su lipo/hidrosolubilidad, peso molecular y estado de agregación (la unión a macromoléculas proteicas lo reduce).

Las sustancias que mejor se difunden son las de coeficientes de partición lípido/agua alrededor de 1. Sin embargo, hay sustancias que, por un posible mecanismo alostérico, producen un cambio en la permeabilidad de la membrana, bien abriendo los poros, bien modificando los sistemas de transporte, bien actuando sobre enzimas del interior de la membrana (interfiriendo sobre el AMP-c).

Además de todo esto, sigue rigiendo lo ya visto sobre la reducida capacidad de atravesar membranas por las sustancias ionizadas; sólo la fracción no-ionizada al pH del plasma (forma más liposoluble) tiene fácil acceso a los órganos.

Un ejemplo interesante de distribución lo presenta el fármaco metadona (6-dimetilamino-4,4-difenilheptan-3-ona), que se utiliza como sustitutivo en tratamientos de deshabituación de la heroína pero también empleado como droga de abuso por sus

efectos narcóticos de largo tiempo de acción y menor efecto sedativo. Casi el 90 % de la metadona circulante va unida a las proteínas plasmáticas, como lipoproteínas de baja densidad, albúmina y, principalmente, a la α_1 -glicoproteína ácida (α -AGP), cuya concentración varía grandemente dependiendo de numerosos factores, como estrés, inflamaciones, diversas enfermedades, embarazo y distintos fármacos; consecuentemente, pueden originarse grandes cambios en la concentración de droga libre y, por tanto, de su acción sobre los receptores. Ello puede explicar, al menos en parte, los fallecimientos que ocurren entre los drogadictos (generalmente internados en centros penitenciarios) en tratamiento con este fármaco a dosis normales (véase apartado siguiente).

Localización, acumulación o fijación

La sangre distribuye a los xenobióticos por todos los tejidos del organismo, que, de acuerdo con sus afinidades fisicoquímicas, los retienen en mayor o menor grado. Esta retención puede ser de dos tipos:

- En los tejidos sensibles al fármaco, o lugares de acción (localización).
- En tejidos de acumulación o almacenamiento, lo que supone una retención que impide ejercer la acción principal del fármaco; por ejemplo, el flúor acumulado en los huesos no actúa como tóxico enzimático o cardíaco, pero provoca fragilidad ósea.

La irrigación es fundamental para la recepción de los fármacos por un órgano. Así, la sustancia blanca cerebral recibe menos sangre que el córtex; por autorradiografía se ve que a éste llega más fármaco que a aquélla.

Hay algunos capilares (los del glomérulo renal o del hígado) que son más permeables que los musculares. Pero en el cerebro los capilares son mucho menos permeables para las sustancias hidrosolubles.

Un efecto de esto, por ejemplo, es la rápida penetración en el cerebro de los anestésicos (liposolubles) como el ciclopropano o el óxido nitroso. El tiopental es el barbitúrico con más alto coeficiente de partición, y por ello pasa más rápido al cerebro que su homólogo oxigenado, el pentobarbital, de menor coeficiente de partición. Ambos son de similar potencia hipnótica: a igual concentración en cerebro producen el mismo grado de anestesia, pero el tiopental es mucho más instantáneo en su acción, aunque también es más rápida la recuperación (modelo de acción ultracorta) a causa de su biotransformación.

La sangre arterial aporta el xenobiótico a los órganos, y la venosa los extrae, aunque cada tejido puede retener determinadas cantidades, y se alcanza un estado estacionario o de meseta.

Las propiedades físicas, como el coeficiente de partición, o las químicas, como la afinidad, dan lugar a una acumulación selectiva de los diferentes tóxicos en los distintos órganos. Así, los productos organoclorados y disolventes apolares se retienen en tejido nervioso y tejido adiposo, por la liposolubilidad; el plomo y el flúor en los huesos, por interferencia con el ion Ca; el arsénico en pelos y uñas, por la fijación en sus proteínas con gran proporción de aminoácidos azufrados; el mercurio en el riñón, etc.

Aún rige una mayor especificidad; así, nosotros hemos demostrado que las sales inorgánicas del plomo se acumulan preferentemente en riñón, mientras que los derivados orgánicos de este metal se fijan en cerebro e hígado; posteriormente, cuando estos derivados son metabolizados a sales inorgánicas más hidrosolubles conducen a depósitos renales.

Los pulmones acumulan numerosas sustancias, particularmente las bases débiles lipófilas con valores de pKa superiores a 8, tales como anfetaminas, amitriptilina, imipramina, clorpromazina, metadona, morfina, etc.

La metadona se fija fuertemente a las proteínas tisulares y se acumula en pulmón, riñón, bazo y cerebro (Ellenhorn *et al.*, 1997), con un gran volumen de distribución que, según algún autor (Wolf *et al.*, 1993) puede llegar hasta 13,4 L/kg; esto implica que sólo una pequeña parte (1 %) de la metadona total en el cuerpo se encuentra en la sangre (Meresaar *et al.*, 1981).

El tejido graso, que en un hombre de unos 70 kg no grueso puede ser de unos 13 kg (un 18 % del peso corporal), a pesar de su escasa irrigación sanguínea, acumula gran cantidad de sustancias lipófilas, que pueden movilizarse y pasar de nuevo a la sangre en situaciones de adelgazamiento.

En el esqueleto, que en un adulto supone unos 10 kg, se fijan preferente metales y elementos no metálicos, que o bien se unen a los componentes óseos (como el aluminio en el fluorapatito, o el arsénico) o sustituyendo al calcio, como el plomo, etc.

Se ha sugerido que los tejidos funcionan como reservorio, que acumulan el xenobiótico tras dosis repetidas y realizan un sistema de equilibrio entre la sustancia fijada y la circulante

En resumen: las sustancias liposolubles se depositan y almacenan en tejido nervioso y depósitos grasos; las sustancias coloidales en el sistema reticuloendotelial, y los metales en los huesos y riñón.

Eliminación

La excreción de los tóxicos se efectúa por medio de la orina, bilis, heces y, una proporción de los compuestos volátiles, por el aire espirado. Menores cantidades se eliminan por la leche, el sudor y la saliva, que, aunque cuantitativamente no sean relevantes, en algunos casos, como en el de la leche, tienen importancia y peligro para quienes ingieran esta última como alimento. Este es el caso de leche de madres fumadoras, bebedoras o drogadictas, o de vacas que se alimentan con pastos contaminados.

Ejemplos de excreción por las distintas vías:

Pulmones:

Tóxicos gaseosos y volátiles: hidrocarburos de bajo punto de ebullición, alcoholes, cetonas, CO, CNH, aminas y algunas grasas (colesterol, etc.).

Jugo gástrico:

Bases, alcaloides (nicotina, estricnina, etc.).

Bilis:

Compuestos de alto peso molecular, generalmente como conjugados de sus metabolitos.

Sustancias liposolubles:

emulsionadas,

conjugadas: glucuronatos, sulfatos

Compuestos policíclicos: benzopireno

Colorantes; aminas aromáticas

Leche:

Sustancias liposolubles e hidrosolubles.

Alcohol.

Nicotina.

Aflatoxinas.

Plaguicidas orgánicos.

La leche tiene un pH (7,0) ligeramente más ácido que la sangre (7,4), por lo que las bases débiles tienden a pasar a la leche, al contrario que los ácidos débiles, que son retenidos en el plasma. Algunas sustancias alcanzan en la leche concentraciones superiores a la de la sangre, como los tiouracilos, estreptomycin, sales de litio, iodo, mercuriales, isoniazida, etanol, difenilhidantoína, cloranfenicol, cicloserina, tetraciclinas, etc. Sin embargo, estas últimas, al formar quelatos con el calcio de la leche, no son activas en el lactante. Los esteroides, barbitúricos, salicilatos, antibióticos, clorpromacina, diuréticos, contraceptivos orales y laxantes sólo resultan peligrosos cuando la madre los absorbe en grandes proporciones.

Orina, saliva, lágrimas y sudor:

Sustancias hidrosolubles de bajo peso molecular. Sales metálicas, ácidos, bases, alcohol, cianatos.

Heces:

Compuestos ingeridos pero no absorbidos o los excretados por la bilis; en pequeña proporción, por difusión desde los vasos sanguíneos intestinales.

Pelo:

Xenobióticos (orgánicos e inorgánicos) presentes en la sangre en el momento del nacimiento del pelo se fijan a la matriz de éste, y reflejan un «perfil cronológico» de la exposición o consumo.

Excreción renal

El mejor de los sistemas de eliminación es, con mucho, el filtro renal; en el adulto las arteriolas procedentes de la arteria renal aportan un flujo de 1,2-1,3 litros por minuto (aproximadamente el 25 por 100 del volumen minuto cardíaco), es decir, un promedio de 1.800 litros de sangre al día. Esta sangre experimenta un primer proceso de filtración a una velocidad de 130 ml/min (unos 190 l/día) que constituye la orina primaria; de ella sólo el 1 por 100 será excretada, porque el resto es recuperada por el proceso de reabsorción, de tal manera que la orina definitiva representa un volumen final aproximado de 1,5 litros al día.

Las condiciones del glomérulo para permitir la salida de sustancias son: tamaño molecular limitado, escasa unión a proteínas y solubilidad en agua (polaridad). Las sustancias con alto coeficiente de partición lípido/agua no pasarán o serán reabsorbidas en el túbulo renal. Esto obliga al organismo, para deshacerse de muchos xenobióticos, a metabolizarlos con la introducción en su molécula de grupos funcionales (especialmente hidroxilos) que aumentan la polaridad, o a copularlos con sustancias portadoras que incrementen su hidrosolubilidad. Al primero de tales objetivos contribuye la gran cantidad de enzimas oxidasas presentes en el tejido renal.

Los poros del glomérulo poseen un diámetro del orden de los 70 nm, que permite el paso de sustancias de peso molecular de hasta 70.000, como la albúmina. Por ello, en condiciones normales, es decir, cuando no hay lesión glomerular, no pueden salir con la orina ni las proteínas plasmáticas, ni los tóxicos, especialmente los metálicos, a ellas unidos; por ello sólo debe filtrarse agua y sustancias disueltas. El proceso de filtración se realiza gracias a que la presión hidrostática de la sangre en los capilares (75 mmHg) es superior a la suma de la presión oncótica (30 mm) y la capsular (20 mmHg).

Por el mecanismo de secreción pasan de la sangre de los capilares peritubulares a la orina numerosas sustancias, fundamentalmente las ácidas y básicas y compuestos metálicos. Se trata de un mecanismo de transporte activo, con consumo de energía (ATP) y participación de sustancias transportadoras. Fundamentalmente ocurre en el tubo

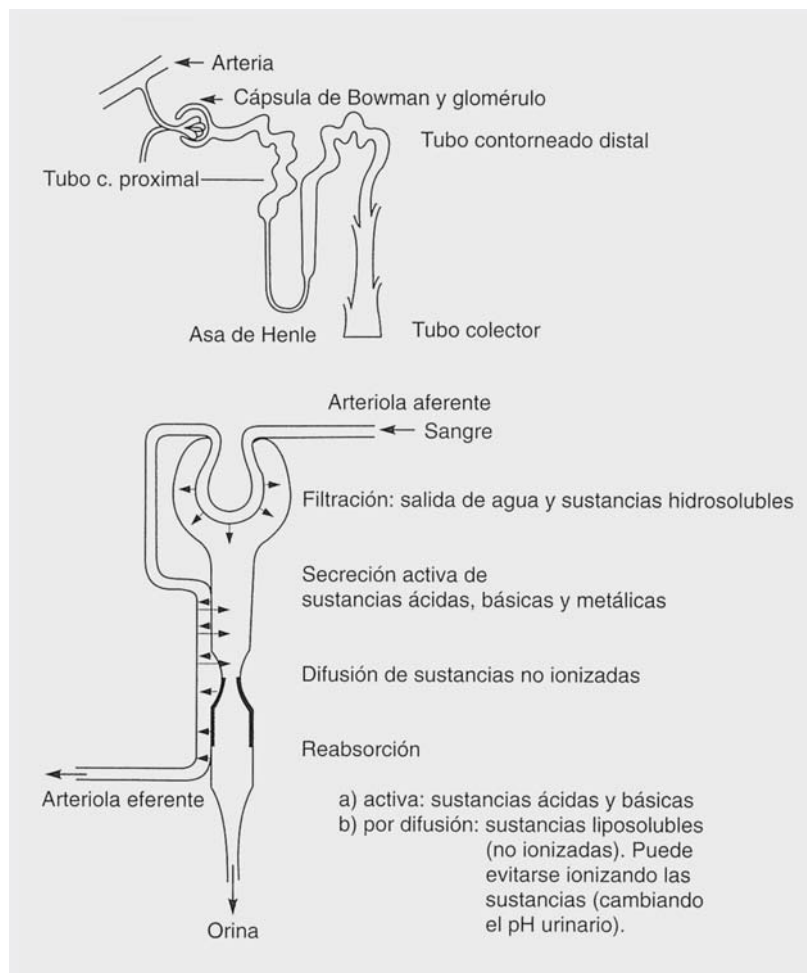


Figura 3.11. Excreción renal.

proximal, aunque el amoníaco se secrete en el distal (Fig. 3.11).

El proceso de reabsorción tiene lugar en los túbulos, preferentemente en el distal, y puede deberse a mecanismos de difusión pasiva o de transporte activo; es muy dependiente del pH.

La reabsorción del agua, para reducir el volumen de orina, se realiza por difusión pasiva en el túbulo proximal; en el túbulo distal depende de la hormona antidiurética (ADH).

Tanto en los túbulos proximales como en los distales pueden desarrollarse procesos de excreción o de reabsorción por difusión pasiva. Éste es un mecanismo potencialmente bidireccional, que se rige por la diferencia o gradiente de concentraciones a cada lado de la membrana; por ello es válido para sustancias no ionizadas o liposolubles.

El pH puede influir en el fenómeno, pero lo hace más en la reabsorción por difusión que en la excreción; esto explica que la eliminación por difusión de xenobióticos ionizables, como los ácidos débiles, sea mayor cuando la orina está alcalina, ya que, entonces, la reabsorción es mínima; ello es aplicable en toxicología clínica (Fig. 3.12). Así, para tratar a un intoxicado por barbitúricos, se alcaliniza con bicarbonato, mientras que para forzar la eliminación de aminas, se acidifica, por ejemplo, con cloruro amónico.

El pH de la orina oscila durante el día; por la noche es más ácida que de día; la producción de metabolitos polares también puede influir en el pH urinario. Todo lo cual supone variaciones en la cinética de la excreción urinaria (Tabla 3.3).

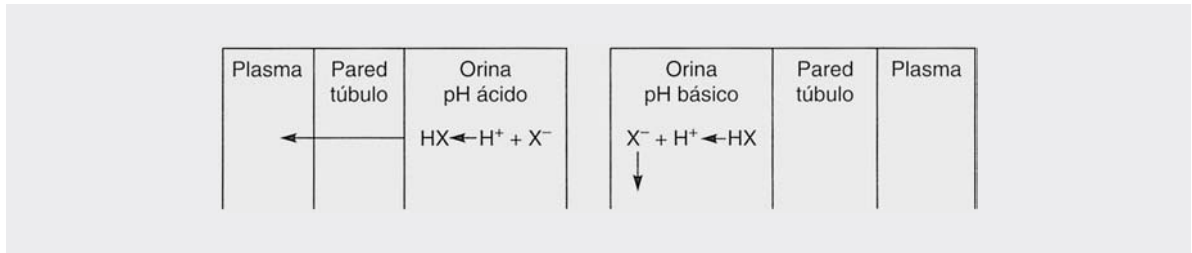


Figura 3.12. Efecto del pH urinario sobre la reabsorción o excreción de una sustancia ácida ionizable; al contrario con compuestos básicos.

Tabla 3.3. Variaciones cinéticas según el pH urinario.

	pH orina	Excreción urinaria	Velocidad metabolización
Para compuestos ácidos	Alto	↑	↓
	Bajo	↓	↑
Para compuestos básicos	Alto	↓	↑
	Bajo	↑	↓

Excreción biliar y ciclo enterohepático

A través de la bilis y merced a sus cualidades tensoactivas, el hígado excreta sustancias de elevado peso molecular (siempre mayor de 300), ya sean polares o apolares, no ionizadas, catiónicas o aniónicas.

Normalmente la excreción se realiza contra un alto gradiente de concentraciones; por un proceso activo (con consumo de ATP y participación de glicoproteínas transportadoras) se logra gran concentración en la bilis donde las sustancias se hallan 20-500 veces más concentradas que en el plasma.

Muchos fármacos se encuentran incambiados en la bilis, pero normalmente están conjugados con los iones glucuronato o sulfato. Sin embargo, el tóxico una vez en el intestino, puede volver a ser absorbido, a veces por liberación de los conjugados por acción de la flora intestinal; se establece así un ciclo (*ciclo enterohepático*) que impide o retrasa la eliminación de la droga por las heces y vuelve a provocar efecto; esta es la explicación del prolongado tiempo de acción de algunos productos, como el flunitrazepam, que a las doce o más horas de la ingestión, pasan nuevamente a la sangre, aunque en menor cantidad pues parte de la dosis se habrá metabolizado, y realizan de nuevo su acción (Fig. 4.19).

Excreción y ciclo salivar

La excreción por vía salivar es un tema de interés recurrente, sobre todo con fines analíticos, tanto con carácter toxicológico como de monitorización, especialmente por la facilidad de obtención de la muestra. En ella se encuentran los fármacos hidrosolubles y en forma libre.

La saliva es un ultrafiltrado del fluido intersticial, cuyo 99 % es agua, con un pH de 5,8-7,0 en la humana, aunque por estimulación de la secreción aumenta la proporción de bicarbonato y sube el pH hasta 8,0. Es producida por distintas glándulas bucales, en diferente proporción: la submandibular secreta un 65 % del total, las parótidas el 23 %, la sublingual el 4 %, y el resto por otras pequeñas glándulas; también la composición varía ligeramente de unas a otras.

La secreción de saliva es incrementada o disminuida por numerosos agentes tanto físicos (calor), químicos (sabores ácidos y salados), farmacológicos (colinérgicos o anticolinérgicos), como psicológicos (visión o imaginación de alimentos o sensaciones agradables o, por el contrario, desagradables, ansiedad o estrés), lo que influye en la concentración de los xenobióticos en ella.

El paso de sustancias desde la sangre a la saliva exige a aquellas atravesar, al menos, cinco barreras

celulares (Haeckel *et al.*, 1989), lo que les impone unas condiciones de tamaño o peso molecular e hidro o liposolubilidad bastante estrictas. Obviamente, como ya hemos visto, la hidro o liposolubilidad depende del grado de ionización, y éste del pH del medio.

En consecuencia de todo ello, la excreción de xenobióticos por la saliva, en relación con la concentración de la fracción libre de los mismos (no de la unida a proteínas) en la sangre, varía mucho de unos a otros y con el pH de la saliva. En condiciones normales, la relación saliva/plasma es menor que 1 para compuestos ácidos (p.ej. fenobarbital), igual a 1 para las neutras o ácidas o básicas débiles (p.ej. etanol, paracetamol) o mayor que 1 para sustancias básicas (p.ej. anfetamina, metadona, codeína) (Haeckel y Häeneckel, 1996).

La presencia en saliva de sales metálicas (de plomo, mercurio, etc.) que forman sulfuros muy estables con ácido sulfhídrico (formado en la putrefacción de restos alimenticios) origina, en personas poco higiénicas, depósitos oscuros en los dientes, conocidos como ribete de Burton, etc.

La deglución de saliva con sustancias disueltas da lugar a una nueva absorción, que establece el llamado *ciclo salivar*, de menor trascendencia cuantitativa que el enterohepático.

Redistribución *post mórtem*

Tradicionalmente se venía asumiendo que en el cadáver no había ni absorción ni desplazamiento de los xenobióticos, pero se ha visto que un líquido introducido en el estómago de un cadáver puede pasar a la sangre, así como sustancias que estaban en la sangre o en los órganos pueden pasar de un compartimiento a otro; la salida a través de las paredes gástricas hacia zonas o tejidos próximos, no por vía hemática, recibe el nombre de *difusión post mórtem*.

Hemos visto que durante la vida, numerosas sustancias se fijan o acumulan en distintos órganos, principalmente los órganos huecos como tracto gastrointestinal, pulmones, miocardio etc. y también hígado, músculos y tejido adiposo, que han sido denominados *reservorios de fármacos* (Hilberg, Bugge *et al.*, 1992; Pelissier-Alicot *et al.*, 2003). Pues después de la muerte, las sustancias pueden emigrar como consecuencia de dos mecanismos de difusión: uno a lo largo de los vasos sanguíneos y otro a través de las paredes de los órganos hacia las zonas próximas.

Desde antiguo se conoce el fenómeno llamado de *hipostasis*, consistente en la sedimentación o acumulación de sangre y plasma y su contenido en las zonas más bajas del cuerpo, según la posición

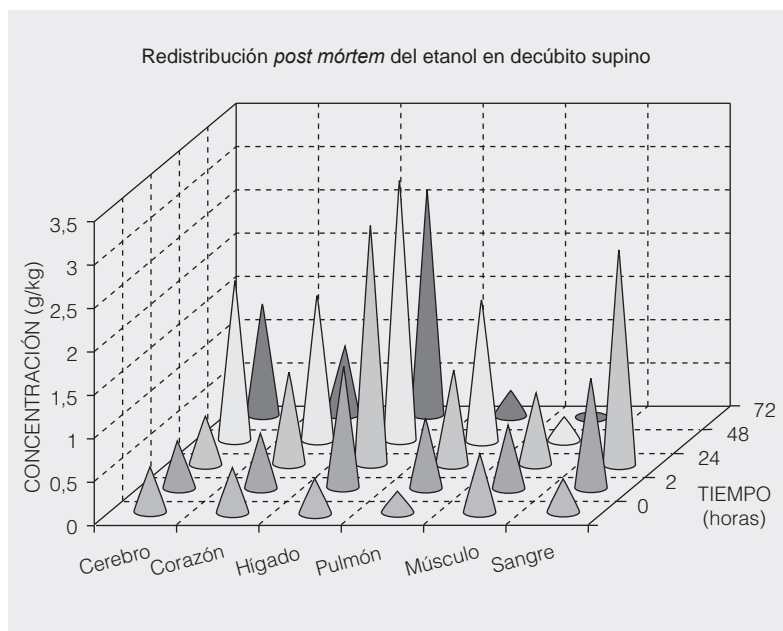


Figura 3.13. Evolución de las concentraciones de alcohol en cadáver de rata con el tiempo (Hidalgo y Repetto, 1998).

del cadáver. Pero además, a lo largo de las primeras 24 horas se instaura el llamado *rigor mortis*, por contracción de los músculos hasta que se consume el ATP, que incluye una contracción o sístole del miocardio ventricular como consecuencia de la cual se producen pequeños movimientos de sangre del corazón hacia la vena cava superior y venas del cuello.

Por otra parte, al iniciarse la putrefacción se origina una presión intraabdominal que obliga a la sangre presente en la aorta abdominal a refluir hacia la aorta torácica, pasando por la vena cava inferior, aurícula derecha, vena cava superior, cavidades derechas del corazón y venas pulmonares. Posteriormente, cuando desaparece el rigor mortis, los gases de la putrefacción distienden las paredes abdominales y el diafragma, lo que induce un reflujo de sangre hacia las venas periféricas. Todo este fenómeno ha sido denominado incorrectamente *circulación sanguínea post mórtem*, y aunque no sea demasiado intenso puede ser capaz de inducir desplazamientos de los fármacos.

Además, la putrefacción provoca una progresiva destrucción y aumento de la permeabilidad de las membranas tisulares (Luna, 1989).

Las sustancias presentes en el estómago del cadáver se difunden rápidamente hacia las cavidades cardíacas izquierdas, aorta, cavidades cardíacas derechas y vena cava inferior. Y a través de las paredes del estómago pueden difundirse hacia el lóbulo inferior del pulmón izquierdo, margen izquierdo posterior del hígado e incluso hasta la parte posterior del lóbulo derecho, cuando el cadáver está en posición supina. También pueden alcanzar al líquido pericárdico y al miocardio (Hidalgo y Repetto, 1998) (Fig. 3.13).

Los pulmones, que ya vimos que acumulan bases débiles lipófilas que reciben desde el ventrículo derecho, hacia las dos horas tras la muerte provocan un aumento de las sustancias en las cavidades cardíacas y en los vasos torácicos. Además, las vías aéreas pueden contaminarse durante el vómito o por regurgitación durante la agonía e incluso en el cadáver o por relajación del esfínter gastroesofágico (cardias) al tiempo del rigor mortis, lo que se favorece con la posición supina del cuerpo. Esta contaminación puede ocasionar un aumento de las concentraciones en sangre, como se ha descrito para etanol, paracetamol y propoxifeno (Pounder y Yonemitsu, 1991).

Los fármacos acumulados en el hígado pueden redistribuirse a través de las venas hepáticas a la vena cava inferior y de ahí a las cavidades cardíacas y venas pulmonares o a la sangre periférica. Por su parte, como vimos más arriba, el hígado del cadáver recibe sustancias por redistribución desde el tracto gastrointestinal que le queda muy próximo.

También sabemos que los compuestos muy lipófilos (como los orgánicos volátiles y anestésicos) se acumulan en vida en el tejido adiposo, por un simple mecanismo de disolución en las grasas neutras, proceso muy lento a causa del débil flujo de sangre en este tejido, pero el depósito puede continuar después de la muerte y contribuir a la disminución de la concentración en sangre.

Un ejemplo del mayor interés es el de los cambios de las concentraciones sanguíneas postmorte de la morfina y sus glucurónidos. Según Sawyer y Forney (1988) las concentraciones de morfina libre y morfina total en rata aumentan significativamente tras la muerte en sangre cardíaca, tejido cardíaco e hígado, con máximos a las 96 horas.

Una de las razones de estos cambios está en las variaciones que experimenta el pH intracelular y el plasmático. Téngase en cuenta que durante el proceso agónico, al perderse capacidad para el transporte del oxígeno, se inicia la hipoxia tisular, se interrumpen los procesos aeróbicos que se sustituyen por los anaeróbicos, cuya glucólisis conduce a una acumulación de ácido láctico y de fosfato inorgánico, con disminución del pH intracelular. Esta acidificación del medio favorece la acumulación de fármacos básicos en las células.

Al inhibirse, por la hipoxia, la fosforilación oxidativa y la producción de ATP, se paraliza la bomba de sodio, el cual se acumula en la célula al par que se libera potasio; por efecto osmótico, la célula se hincha, estalla y vierte su contenido, liberándose las enzimas lisosomales que emprenden la hidrólisis y digestión de los componentes celulares próximos. Ello conduce a la desintegración (histólisis) de las barreras anatómicas, aumentando la permeabilidad. Posteriormente, cuando los procesos putrefactivos están muy avanzados, el pH vuelve a ascender. Según Drummer (2004), anfetaminas, metadona y otros opioides aumentan su concentración en la sangre post mórtem.

Se estima que el proceso es como un regreso del fármaco al compartimiento central que puede valorarse por el cociente:

Coeficiente de redistribución =

$$= \frac{\text{Concentración en compartimiento central}}{\text{Concentración en compartimiento periférico}}$$

En conclusión, los xenobióticos lipófilos de carácter básico débil con gran volumen de distribución (Vd) son proclives a experimentar redistribución postmorte, a consecuencia de la hipostasia, rigor mortis, histolisis y permeación, cambios del pH y del estado de ionización de los fármacos, etc. Consecuentemente, dependiendo de la concentración de xenobióticos en estómago, pulmones, tejido graso u otros reservorios, y del tiempo transcurrido desde la muerte hasta la toma de las muestras, se producirá mayor o menor redistribución de los xenobióticos, que dificulta la correcta interpretación de los análisis toxicológicos.

Por todas estas razones, a efectos de estudios en Toxicología Forense, se viene proponiendo que las tomas de sangre en cadáveres se realicen de la vena femoral, después de ligarla en la zona inguinal (al objeto de evitar contaminación desde el abdomen), dado que esta vena, por su situación periférica, está relativamente menos afectada por la redistribución. Así mismo, se recomienda el empleo del humor vítreo, dado que su escasa irrigación y la protección que proporciona al globo ocular la estructura ósea del cráneo, preservan bastante tiempo la concentración de los xenobióticos en dicho fluido, muy próxima a la sanguínea sistémica.

TOXICOCINÉTICA

Entendemos por *Toxicocinética* el estudio cuantitativo de los procesos que experimenta, en función del tiempo, un xenobiótico en un organismo vivo. Este xenobiótico, o sustancia extraña al individuo considerado, sufre unos procesos de absorción (o llegada a la sangre), distribución, localización, metabolismo y excreción, susceptibles de un tratamiento cinético o evaluación matemática con relación al tiempo. No se considera, pues, el efecto de ese tóxico sobre el individuo, materia propia de la Toxicodinámica. En síntesis, los procesos farmacocinéticos se resumen en el anagrama LADME propuesto por Ristchell (liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción), integrando lo conocido como disposición o disponibilidad.

Como se deducirá a lo largo del capítulo, existen importantes diferencias entre Farmacocinética y Toxicocinética, especialmente en lo que se refiere a biotransformaciones, distribución, lugares de acumulación o fijación, saturación de mecanismos por las altas concentraciones tóxicas, etc. Debemos advertir que, como se indica en el Glosario, utilizamos el término fármaco en su sentido más amplio, es decir, para referirnos a cualquier producto que puede ser absorbido por un organismo, difundirse en él y producirle cambios, favorables o no, es decir, no solo para aludir a los productos empleados para el tratamiento de enfermedades, o medicamentos.

Los trabajos de Dost (1953) revalorizaron los estudios efectuados por Torson Teorell en 1937 con los primeros tratamientos matemáticos de los procesos que siguen los fármacos en el organismo, y que en la actualidad han cobrado una importancia extraordinaria, no sólo por lo que suponen de avance científico en el conocimiento de los procesos tóxicos en general, sino porque el Consejo de la Unión Europea recomendó que la documentación para el registro de nuevas especialidades farmacéuticas incluyera el estudio farmacocinético de las mismas.

Estos estudios parten del establecimiento de unos *modelos toxicocinéticos*, lo más sencillos posible, y susceptibles de interpretarse matemáticamente.

En estos modelos se considera el organismo dividido en *compartimientos*.

En la Web <http://www.iupac.org/publications>, dentro de *Chemistry and Human Healths*, puede consultarse el glosario de términos usados en toxicocinética, recomendado por la IUPAC (Nordberg *et al.*, 2004).

Modelos compartimentales

Cuando un producto dado no presenta afinidad especial ni es retenido por ningún tejido, sino que se difunde instantáneamente a toda la masa corporal, podemos estimar que el organismo funciona como un único compartimiento (*modelo mono-compartimental*). Por el contrario, cuando el producto se distribuye lentamente y lo hace de forma no homogénea, concentrándose en unos tejidos más que en otros, se deben considerar dos o más compartimientos; de ellos, el *central* canaliza prin-

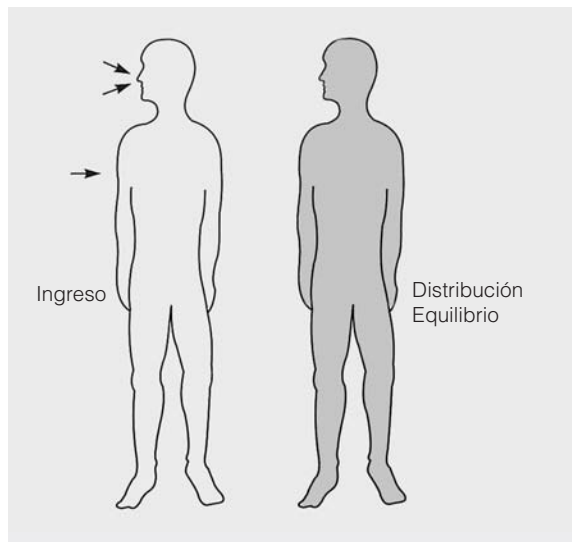


Figura 3.14. Modelo monocompartimental.

principalmente los procesos cinéticos, mientras que el o los compartimientos *periféricos* retienen el tóxico a distintas concentraciones (modelos *bi* o *multi-compartimentales*) (Figs. 3.14 y 3.15).

Habitualmente se trata de reducir el problema a modelos mono o bicompartimentales. Cuando se pretende calcular exactamente las velocidades y volúmenes de distribución es preciso utilizar el modelo correcto, pero cuando lo que interesa es determinar la biodisponibilidad, y el comparti-

miento periférico no es desproporcionadamente mayor que el central, puede usarse un modelo monocompartimental.

Si se producen grandes retrasos en establecer el equilibrio de concentraciones o cuando hay especiales retenciones en algunos tejidos, hay que utilizar el modelo bicompartimental.

El número de compartimientos que pueden considerarse es muy grande, distinguiéndolos según dos criterios fundamentales:

- a) Riego sanguíneo: Como los xenobióticos son transportados por la sangre, los órganos más vascularizados recibirán (y eliminarán) los productos con mayor velocidad y cantidad. Téngase en cuenta que hay tejidos más irrigados que reciben 2 ml sangre/g de tejido/minuto, mientras a otros sólo llega 0,05 ml más o menos.
- b) Características fisicoquímicas de los diferentes tejidos que presentarán distinta afinidad a los tóxicos, dependiendo de los coeficientes de reparto y la capacidad del producto para unirse con proteínas o lípidos tisulares. De forma elemental se pueden tener en cuenta los siguientes compartimientos que hacen de depósito de los xenobióticos:
 1. Proteínas plasmáticas circulantes.
 2. Proteínas tisulares o intracelulares.
 3. Ácidos nucleicos.
 4. Lípidos celulares.

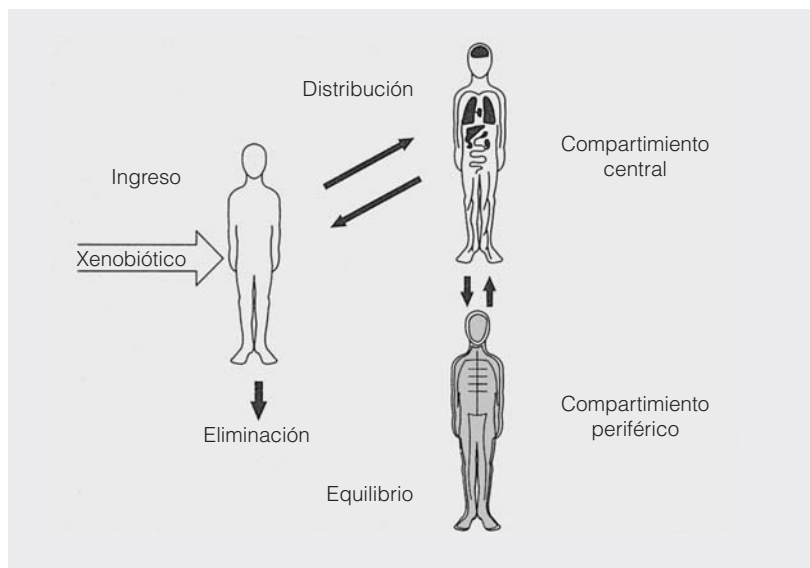


Figura 3.15. Modelo bicompartimental.

Los tres primeros compartimientos retienen xenobióticos por *absorción* mediante enlaces relativamente estables (enlaces iónicos, de hidrógeno, ion-dipolo, dipolo-dipolo, fuerzas de Van der Waals, etc.), pero reversibles. En los lípidos celulares los xenobióticos se disuelven conforme a su coeficiente de reparto y se retienen por enlaces no-iónicos y fuerzas de Van der Waals.

Como continuación de los estudios de Haggard (1920) sobre la absorción, distribución y eliminación del éter etílico, algunos autores (Igari *et al.*, 1982; Gerlowski, 1983), consideran lo que llaman *compartimientos fisiológicos*, referidos a un órgano o tejido, en concreto, con una clara significación anatómica y que, para ellos, supera el error de la farmacocinética clásica de admitir que un compartimiento formado por varios órganos o tejidos es capaz de alcanzar rápidamente el equilibrio de concentraciones. Los compartimientos fisiológicos están formados por tres subcompartimientos:

- a) Sección vascular (arterial, venoso y linfático), que permite la irrigación sanguínea y la excreción.
- b) Contenido intracelular, de las células propias del órgano.
- c) Espacio intersticial, ocupado por líquido acuoso.

Así, se acepta que los modelos verdaderamente fisiológicos describen el cuerpo como constituido por compartimientos realmente anatómicos, es decir, órganos, que ofrecen una unidad de volumen, flujo sanguíneo y características de solubilidad de cada xenobiótico. Según esto, podrían estimarse los siguientes compartimientos:

- Plasma, hematíes.
- Órganos bien irrigados: riñón, corazón, hígado, pulmón y aquellos cuya especial característica es la proporción de lípidos: cerebro y médula espinal.
- Tejidos poco irrigados: piel, músculos, tejido adiposo.
- Tejidos con irrigación mínima: huesos, dientes, pelos, uñas, cartílagos.

Aunque en teoría deberían considerarse tantos compartimientos como tipos de células, en la práctica toxicológica se reducen a 4:

1, *sangre*; 2, *vísceras muy irrigadas*; 3, *tejido adiposo*, y 4, *huesos, pelos y uñas (faneras)*.

Sin embargo, los tejidos con irrigación mínima, de escaso interés en farmacocinética, no pueden despreciarse desde el punto de vista toxicológico, porque actúan como depósito de tóxicos como arsénico (uñas, pelo), plomo (huesos), paraquat (cartílago), organoclorados (tejido adiposo), etc.

El modelo bicompartimental supone un compartimiento *central* y otro *periférico*. El primero está constituido por la sangre y fluidos intersticiales; en él se producen los principales procesos de biotransformación. En conjunto, funciona como un modelo monocompartimental, en cuyo seno la distribución del xenobiótico es instantánea. El compartimiento periférico actúa principalmente como depósito, ya que no se relaciona directamente con el exterior (normalmente no absorbe ni excreta) ni biotransforma, aunque lo depositado en piel, pelo, uñas, etc., se elimine al recambiarse estos órganos.

Aunque no puede establecerse delimitación exacta, se considera que el compartimiento central está integrado por los sistemas digestivo, pulmonar y renal, cerebro, corazón y glándulas de secreción interna; mientras que el tejido adiposo, el muscular y el cutáneo forman el compartimiento periférico (Fig. 3.15).

Desde un punto de vista práctico podemos considerar que:

El *compartimiento central* es aproximadamente el 10 % del peso corporal; está constituido por el agua plasmática intersticial e intracelular fácilmente accesible, y se representa por la sangre circulante.

El *compartimiento periférico*, integrado por el agua intracelular difícilmente accesible y depósitos tisulares, es aproximadamente el 70 % del peso. Puede subdividirse en uno *superficial* (de fácil intercambio) y otro *profundo* (menos permeable al fármaco).

Para los cálculos toxicocinéticos se manejan, además del tiempo, unos parámetros fisiológicos y otros fisicoquímicos entre los que destacan los siguientes:

Parámetros fisiológicos: peso y volumen corporal, volumen del compartimiento, volumen y flujo sanguíneo, ritmo respiratorio.

Parámetros fisicoquímicos: coeficiente de partición del xenobiótico considerado en tejido/sangre y aire/sangre, constantes de absorción, distribución y eliminación y constantes de biotransformación.

Digamos por último, que un compartimiento debería considerarse no como algo homogéneo, sino como un «promedio»; por su parte, un modelo es una abstracción del sistema, en el que se destacan los aspectos más importantes para el investigador, y de forma que se puedan expresar en términos matemáticos. Así el modelo sería la ecuación o serie de ecuaciones capaces de describir el sistema propuesto. Los diagramas no son modelos, sino su representación gráfica.

Aplicaciones de la toxicocinética

Podemos destacar las siguientes:

1. Estimación de las velocidades de absorción, metabolismo y eliminación de los xenobióticos, y del grado de unión de éstos a las proteínas transportadoras, así como elaboración de modelos que permitan interpretar tales datos frente a distintas condiciones fisiológicas, patológicas o ambientales.
 2. Conocimientos que permitan disminuir la biodisponibilidad de los tóxicos absorbidos, para su aplicación terapéutica.
 3. Favorecer la interpretación clínica de las determinaciones de los xenobióticos en muestras corporales, y bases más científicas para la recogida de éstas.
 4. Cálculo de la capacidad límite de metabolismo o excreción de un tóxico.
 5. Estudio de la interacción de xenobióticos entre sí y con los alimentos.
 6. Detección y explicación de algunas reacciones indeseables de los medicamentos.
 7. Predicción de la acumulación y transferencias de compuestos químicos entre los seres vivos y el medio ambiente (ecotoxicología).
- 3) fijación o almacenamiento de muchos tóxicos en ciertos tejidos, como huesos, uñas o pelos, sin interés en Farmacología pero importantes en Toxicología, y
 - 4) que los estudios farmacocinéticos se realizan sobre plasma y orina, mientras que en los toxicocinéticos se usan también la sangre total (porque muchos tóxicos son liposolubles o van unidos a los hematíes), el aire espirado y las vísceras, además de las fanebras citadas de gran interés en toxicología forense.

En relación con las altas dosis propias de los fenómenos y ensayos toxicológicos de carácter agudo, debemos tener en cuenta:

- a) Grandes cantidades de producto pueden presentar problemas de solubilidad, tanto en la preparación como en la administración de las disoluciones, que a veces alcanzan elevados volúmenes, difíciles de administrar o de absorber; igualmente dan lugar a precipitación o inestabilidad de la sustancia en la disolución o en el medio interno.
- b) Las elevadas concentraciones del tóxico suelen lesionar y producir necrosis en los lugares de administración y alterar el proceso de absorción.
- c) Las altas dosis saturan las proteínas plasmáticas y afectan a la distribución del xenobiótico.
- d) Igualmente, la concentración del sustrato puede saturar los mecanismos de biotransformación presistémicos y sistémicos y dar lugar a parámetros de biodisponibilidad muy diferentes de los que se obtienen con concentraciones más bajas.
- e) Asimismo, se satura el aclaramiento, tanto presistémico como el renal (especialmente los de secreción activa) y en los otros órganos. Por ejemplo, cuando la dosis i.v. de dioxano en rata se eleva de 3 mg a 1.000 mg/kg, el área bajo la curva aumenta 5.000 veces.

Diferencias entre farmacocinética y toxicocinética

Como se deducirá a lo largo de este capítulo, existen importantes diferencias entre ambas, que derivan, fundamentalmente, de que las dosis tóxicas son más altas que las terapéuticas, lo que frecuentemente da lugar a:

- 1) Saturación de distintos procesos cinéticos;
- 2) producción de lesiones por los tóxicos en los órganos de absorción, biotransformación o excreción, lo que altera estas funciones;

Pero las principales diferencias se producen en el método y los objetivos de los estudios farmacocinéticos y los toxicocinéticos (Welling, 1995). Mientras que los estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos se realizan conforme a protocolos y «puntos finales» o indicadores bien establecidos, los toxico-

lógicos no pueden disponer de ellos, porque los efectos tóxicos son frecuentemente impredecibles. Por otra parte, los ensayos farmacocinéticos se inician con animales y se terminan en humanos, pero los toxicocinéticos se efectúan casi siempre sólo en animales y raras veces con humanos.

En cuanto a los objetivos, la Farmacocinética persigue contribuir a la óptima definición de la actividad de un medicamento, mientras que la Toxicocinética busca los efectos de la «exposición», y predecir el riesgo y la tolerancia.

CINÉTICA DE LA ABSORCIÓN

Se define la absorción de un xenobiótico como su entrada en el torrente circulatorio, lo que es diferente de la acepción vulgar de la palabra, que la hace sinónima de ingestión o inhalación. En el modelo monocompartimental se estima que es total e instantánea en la inyección intravenosa. Otra vez el xenobiótico debe atravesar varias membranas antes de pasar a la sangre (casos de la administración oral, intramuscular, etc.). La absorción por vía inhalatoria es de tipo intermedio.

Recordemos que las membranas celulares, al estar constituidas por una elevada proporción de lípidos, significan una gran barrera para el agua y los productos hidrosolubles. Por el contrario, las sustancias liposolubles se difunden a través de la membrana con tanta mayor facilidad cuanto mayor es su coeficiente de partición lípido-agua, dentro de unos límites.

Las sustancias que se ionizan se hacen más hidrosolubles, por lo que los cambios de pH del medio que favorezcan la ionización dificultan la absorción. De ahí la diferente facilidad de absorción de una sustancia en diferentes puntos del tracto gastrointestinal.

La velocidad con que se produce la absorción, o sea, la cantidad de producto que pasa a la sangre por unidad de tiempo, puede corresponder a dos órdenes cinéticos diferentes:

a) La velocidad es constante e independiente de la cantidad de producto que queda por absorber: *Cinética de orden cero*.

b) La velocidad es decreciente, pues es función del xenobiótico presente o restante por absorber: *Cinética de primer orden o exponencial*. Es la ciné-

tica cumplida por la mayoría de los xenobióticos. Las farmacocinéticas más frecuentes, tanto en la absorción oral como en la percutánea, pertenecen al orden 1 o exponencial, mientras que la inhalación de gases ambientales o en anestesia, la perfusión gota a gota, la absorción de medicamentos de liberación retardada y las intoxicaciones por dosis altas siguen cinética lineal de orden 0. Si Q_0 es la cantidad de moléculas iniciales, Q la remanente por absorber en cualquier momento y K_a es una constante que incluye las características anatómicas del tejido (irrigación, tipo de pared, etc.), y las fisicoquímicas del producto (solubilidad, etc.), la cantidad de moléculas absorbidas por unidad de tiempo se puede calcular por:

$$\frac{dQ}{dt} = K Q_0^n \quad (1)$$

donde Q_0 es la cantidad inicial de sustancia y Q la remanente, K es la constante del proceso (constante de absorción, K_a) y n es el orden del proceso, de forma que, cuando es de orden cero.

La constante K se puede expresar en mg/h.

$$\frac{dQ}{dt} = K_a \quad (2)$$

y para un proceso de primer orden:

$$\frac{dQ}{dt} = K_a Q_0$$

Como Q va disminuyendo, el proceso tiene signo negativo:

$$\frac{dQ}{dt} = -K_a Q_0 \quad (3)$$

de donde, al tiempo t , la cantidad Q_t en ese momento, será:

$$Q_t = Q_0 \cdot e^{-K_a \cdot t} \quad (4)$$

y el $\ln Q_t = \ln Q_0 - K_a t$, y pasando a log decimales (factor = 2,303):

$$\log Q_t = \log Q_0 - \frac{K_a}{2,303} \cdot t \quad (6)$$

Estas mismas expresiones permiten calcular las concentraciones, sin más que cambiar Q_t y Q_0 por C_t y C_0 .

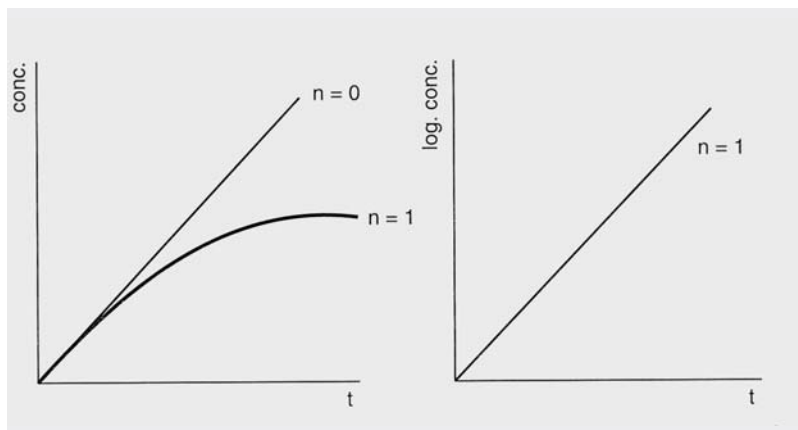


Figura 3.16. La representación gráfica de un proceso de absorción de orden 0 es una recta; de orden 1 es una curva exponencial, cuya representación semilogarítmica la transforma en una recta.

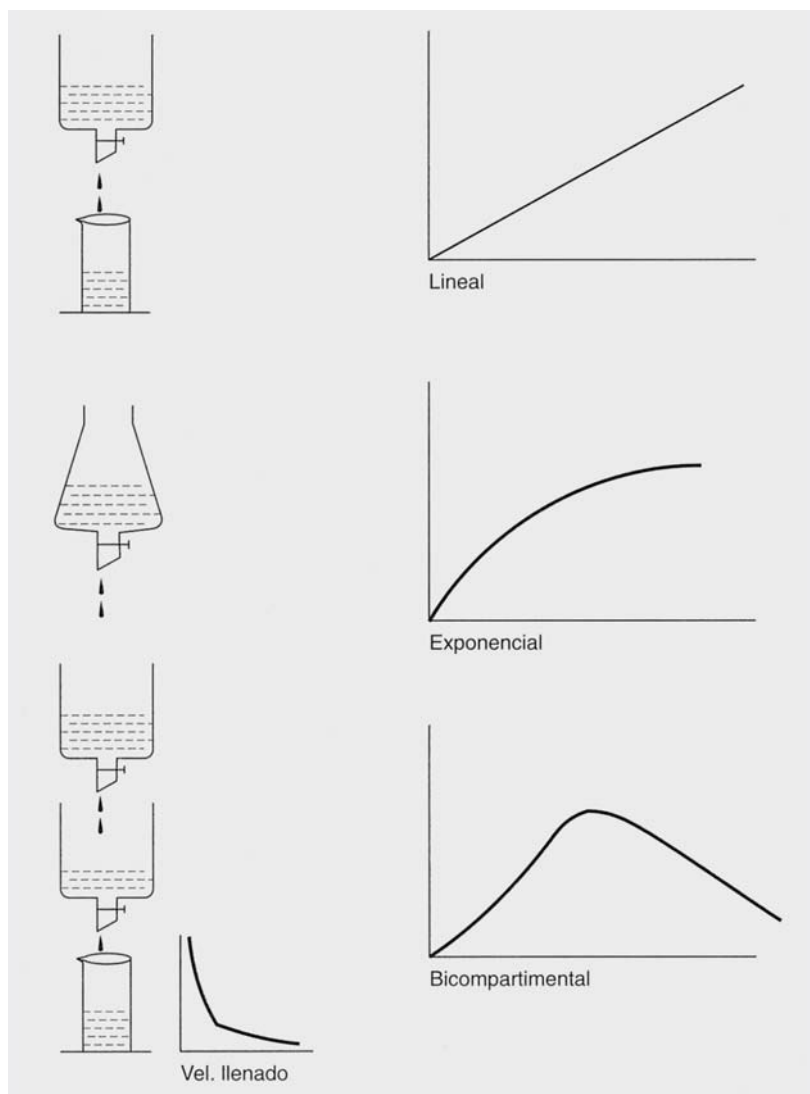


Figura 3.17. Modelos hidráulicos de Garret; sirven para explicar los procesos, considerando la velocidad de disminución de la altura del líquido.

El proceso de absorción puede representarse gráficamente poniendo en ordenadas las cantidades absorbidas, o las concentraciones hemáticas alcanzadas, frente al tiempo en el eje de abscisas. Se obtienen curvas muy diferentes según que el proceso se verifique conforme a una cinética de orden cero o de primer orden.

En el primer caso se obtiene una línea recta. En el segundo caso (el más frecuente, porque la absorción es función del producto restante) la curva es exponencial, que puede transformarse en recta si la representación se realiza en escala semilogarítmica (Fig. 3.16).

La diferencia fundamental entre ambos tipos de procesos se comprende muy bien con los modelos hidráulicos de Garret (Fig. 3.17).

Con frecuencia, las representaciones gráficas reciben el nombre de curvas plasmáticas, lo cual sólo es verdad cuando las determinaciones se realizaron sobre plasma. Pero para este menester, en ocasiones, no es útil ni el plasma ni el suero, sino la sangre total, porque el xenobiótico va unido a los hematíes (caso del plomo y aniones) (véase «difusión»).

Al representar en forma semilogarítmica frente al tiempo estas ecuaciones, se obtienen curvas cuya pendiente es $-K_a/2,30$, correspondiendo a Q_0 el punto de intersección de la recta con el eje de ordenadas. Lógicamente en estas condiciones no se ha tenido en cuenta el retorno de parte del producto al lugar de absorción desde la sangre.

La constante de absorción, K_a , nos informa sobre la velocidad con que se absorbe el xenobiótico (o lo que es igual, la probabilidad que tiene una molécula de absorberse en la unidad de tiempo). Así, si sabemos que dos sustancias tienen sus K_a respectiva-

mente iguales a 0,05/h y 0,5/h, entendemos que de la primera se absorbe en una hora el 5 % de moléculas disponibles, y de la segunda el 50 %; en este caso de $K_a = 1/2$ por hora, al ser el antilogaritmo de $2 = 0,693$, el cociente $0,693/K_a = t_{1/2}$ recibe el nombre de *vida media* o *semivida de absorción*, tiempo que tarda en reducirse a la mitad el número de moléculas disponibles para ser absorbidas.

Cuando se considera una gráfica toxicocinética debe observarse primeramente si la administración se produjo por vía intravascular (i.v.) o extravascular (oral, percutánea, etc.). En el primer caso, al ser la absorción instantánea, la curva se inicia en valores positivos sobre el eje de ordenadas; en el segundo caso, la curva nace del cero de coordenadas y va subiendo hasta alcanzar un máximo. Cuando se admite un modelo monocompartimental donde la absorción y distribución son muy rápidas, este tramo de curva es casi vertical, mientras que en los modelos multicompartmentales está más inclinada.

No es fácil calcular la cantidad que fue absorbida. Cuando el producto se elimina por vía renal totalmente inalterado, se puede calcular estimando la cantidad excretada a lo largo de 5 vidas medias. En otros casos se expresa mediante el área bajo la curva de niveles hemáticos o de excreción urinaria.

Sistema cerrado de dos compartimientos

Si están comunicados dos compartimientos, A y B, y por gradiente de concentraciones pasa, por difusión, un producto del A al B, la evolución de las respectivas concentraciones en el tiempo será el representado en la Figura 3.18.

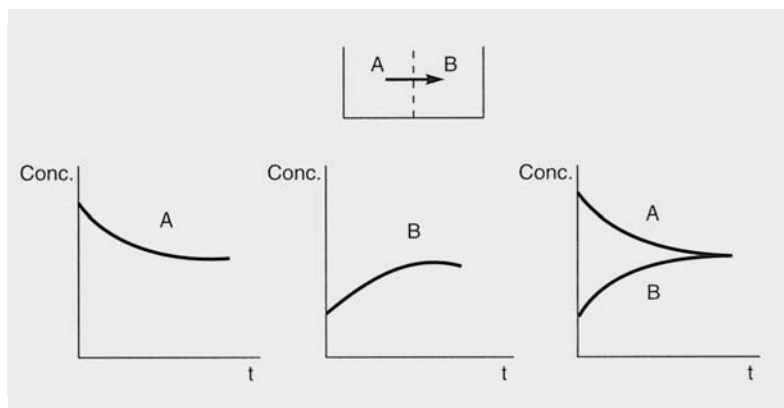


Figura 3.18. Evolución de concentraciones entre dos compartimientos cerrados, hasta alcanzar el equilibrio.

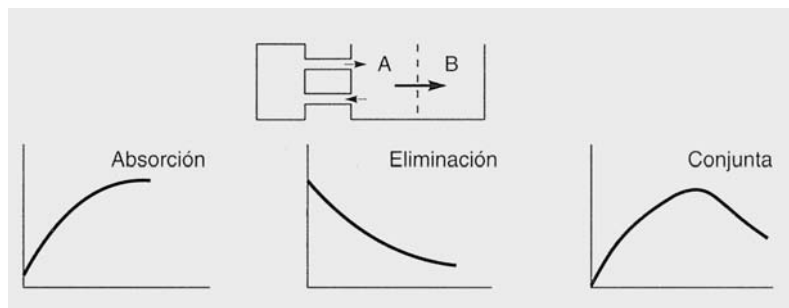


Figura 3.19. Evolución de concentraciones en un sistema abierto (con eliminación).

Sistema abierto de dos compartimientos

Sea ahora un modelo de dos compartimientos (Fig. 3.19), pero en sistema abierto, es decir, hay pérdidas por eliminación, por lo que no llega a alcanzarse el equilibrio entre A y B.

CINÉTICA DE LA DISTRIBUCIÓN O TRANSPORTE

Una vez que el xenobiótico está en la sangre, ésta lo transporta y distribuye por todos los tejidos corporales, de acuerdo con la irrigación de éstos y en función del coeficiente de reparto de la sustancia.

En el modelo monocompartimental abierto, el más sencillo, se acepta que la distribución del xenobiótico se produce instantáneamente a todos los fluidos y tejidos del organismo, y, aunque no se presupone que la concentración sea homogénea en todos ellos, se considera que los cambios en la sangre se reflejan cuantitativamente en los otros fluidos y tejidos. La complejidad de un modelo multicompartimental se evidencia en la Figura 3.20.

La difusión del xenobiótico viene afectada por el «el volumen de distribución» (véase más adelante).

En los procesos reversibles de primer orden, la transferencia de un fármaco obedece a la primera ley de Fick, según la cual el flujo, es decir, la cantidad de sustancia que se difunde por unidad de tiempo a través de una unidad de área colocada perpendicularmente a la dirección de la difusión, es directamente proporcional al gradiente de concentraciones.

La Ley de Fick se expresa matemáticamente como:

$$\frac{dQ}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dC}{dx} \quad (7)$$

donde dQ es la cantidad de xenobiótico difundido (o salido del compartimiento) por unidad de tiempo.

D = Coeficiente de difusión.

A = Área en que se produce la difusión.

$\frac{dC}{dx}$ = Gradiente de concentración en función de la distancia, dx .

Cinética general en modelo monocompartimental

Consideremos un tóxico en la sangre en una cantidad Q , que se está eliminando o desapareciendo de ella a una velocidad constante K_{el} :



Se acepta que las transferencias de xenobióticos entre los diferentes compartimientos se realizan según una cinética de primer orden (Swin-tosky, 1956). Según esto, la cantidad que sale de un compartimiento o se elimina (sale del organismo) por unidad de tiempo es función (o proporcional) de la cantidad Q que quede, de forma que:

$$\frac{dQ}{dt} = -K_{el} \cdot Q_0 \quad (8)$$

con signo negativo para significar que se trata de un proceso de eliminación. De (8)

$$\frac{dQ}{Q_0} = -K_{el} \cdot dt$$

$$\int_{Q_0}^Q \frac{dQ}{Q_0} = -K_{el} \int_0^t dt, \quad \text{de donde:}$$

$$Q = Q_0 \cdot e^{-K_{el} \cdot t} \quad (9)$$

donde Q_0 es la cantidad inicial, y e es la base logarítmica.

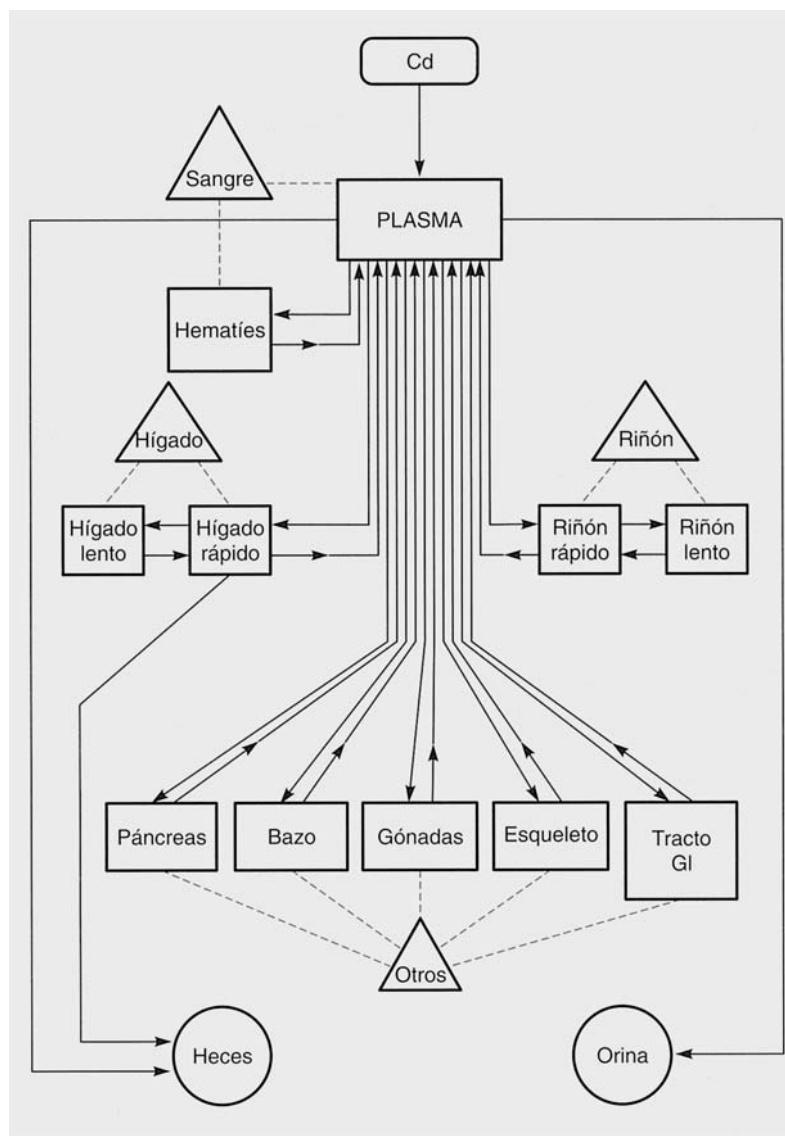


Figura 3.20. Modelo multicompartimental para el cadmio, según Marcus, 1982.

Por otra parte, si determinamos un xenobiótico en la sangre, su concentración C es proporcional a la cantidad del mismo en todo el organismo, y podríamos aceptar que su disminución con el tiempo será:

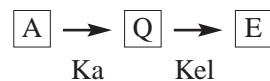
$$\frac{dC}{dt} = -K_{el} \cdot C_0$$

y

$$C = C_0 \cdot e^{-K_{el} \cdot t} \quad (10)$$

En la administración i.v., C_0 es la concentración teórica en $t = 0$, o momento de la inyección, y se obtiene por extrapolación en la representación semilogarítmica; pero en las administraciones extravasales es un valor hipotético.

Estudiando las administraciones extravasales (inhalatoria, oral, percutánea, rectal, etc.) en modelos monocompartimentales, tendríamos:



donde A, Q y E representan, las cantidades o concentraciones que se absorben, están en el compartimiento o se eliminan en un mismo momento.

La cantidad absorbida por unidad de tiempo será dA/dt , siendo A_0 la dosis o cantidad administrada:

$$\log A = \frac{-K_a \cdot t}{2,303} + \log A_0$$

donde A puede ser la cantidad que en cada momento hay en el lugar en que se produce la absorción (zona de la inyección, estómago, duodeno, etc.) y que en animales puede, a veces, medirse directamente.

Pero la Q que hay en el organismo en un momento dependerá de la A que queda por absorber y la de Q que se elimina:

$$\frac{dQ}{dt} = K_a \cdot A - K_{el} \cdot Q$$

que por integración nos lleva a:

$$Q = A_0 \frac{K_a}{K_a - K_{el}} (e^{-K_{el} \cdot t} - e^{-K_a \cdot t}) \quad (11)$$

o

$$C = C_0 \frac{K_a}{K_a - K_{el}} (e^{-K_{el} \cdot t} - e^{-K_a \cdot t}) \quad (12)$$

Siendo K_{el} la constante de eliminación, tenemos en las expresiones anteriores que, la pendiente de la curva en el tramo de eliminación viene dada por $e^{-K_{el}}$; representa la fracción de xenobiótico que queda en la sangre en un momento dado, respecto de lo que había una hora antes.

Así, $K_{el} = 0,266$, $e^{-K_{el}} = e^{-0,266} = 0,77$.

Esto significa que en cada momento queda el 77 % del xenobiótico que había antes, o lo que es lo mismo, que en cada hora desaparece un 23 % de la concentración que queda.

Cuando las curvas se transforman en rectas al dibujarlas de forma semilogarítmica, la inclinación de la recta es: $-K/2,303$ (Fig. 3.21).

Cuanto más pequeña sea K y $-K/2,303$, y más próxima a 1 sea $e^{-K_{el}}$, más lenta es la eliminación. Ésta será más rápida para valores $e^{-K_{el}}$ pequeños y para los otros dos parámetros superiores a 1.

La evolución de la concentración del producto en la sangre, a lo largo del tiempo, puede calcu-

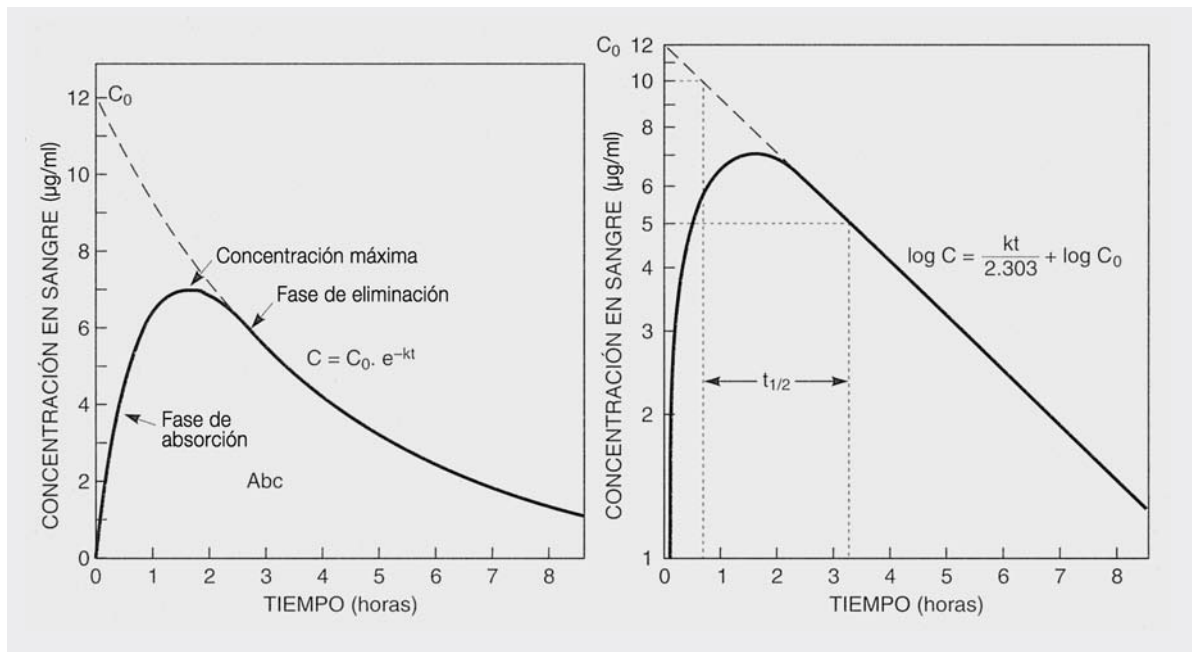


Figura 3.21. Curva de nivel hemático, por vía oral, modelo monocompartimental, y su representación en papel semilogarítmico.

larse por integración del producto $C \cdot dt$, lo que matemáticamente es el área del espacio comprendido entre la curva de la representación gráfica de dicha evolución y el eje de abscisas; es lo conocido como *área bajo la curva* (Abc, en inglés AUC).

$$Abc = \int_0^{\infty} C dt \text{ mg/ml/h} \quad (13)$$

El modelo monocompartimental es especialmente útil para el análisis farmacocinético de los datos de concentración en sangre, plasma o suero y de excreción urinaria de aquellos fármacos que se distribuyen rápidamente entre los fluidos y tejidos del organismo.

En un modelo monocompartimental cualquier cambio de concentración en el plasma refleja cuantitativamente los cambios experimentados en las concentraciones tisulares.

Por otra parte, en el modelo monocompartimental, la eliminación de un xenobiótico se realiza mediante una cinética de primer orden, o sea, que la velocidad de eliminación es, en todo momento, proporcional a la cantidad de producto presente en el organismo.

La filtración glomerular y la difusión pasiva biliar son procesos de primer orden, mientras que la biotransformación, la secreción tubular y secreción biliar son procesos activos que sólo a concentraciones bajas cumplen cinéticas de primer orden.

La representación gráfica semilogarítmica de la variación en el tiempo de la concentración hemática en un modelo monocompartimental se corresponde con la concentración del mismo producto en los tejidos de una forma paralela.

Cinética en modelo bicompartimental

La principal característica diferencial entre los modelos monocompartimentales y los multicompartmentales es la siguiente: en los primeros, la distribución del xenobiótico es *instantánea* (t_0), y tanto la absorción como la eliminación (o disminución de la concentración del producto) es lineal (aunque pueda ser línea recta o exponencial según que el proceso sea de orden cero o de primer orden). Por el contrario, en los sistemas multicompartmentales hay una fase distributiva, de difusión del fármaco a la sangre y de ésta a los

otros compartimientos, y después de retorno, y finalmente, de eliminación; cada una de estas fases se desarrolla a distinta velocidad, regida por diferentes constantes. La expresión matemática del proceso total viene dado por la suma algebraica de las fases parciales.

La distribución del xenobiótico en los órganos constituyentes del compartimiento central es rápida, mientras que es lenta en el compartimiento periférico.

Un sistema bicompartimental puede esquematizarse como se representa en la Figura 3.22:

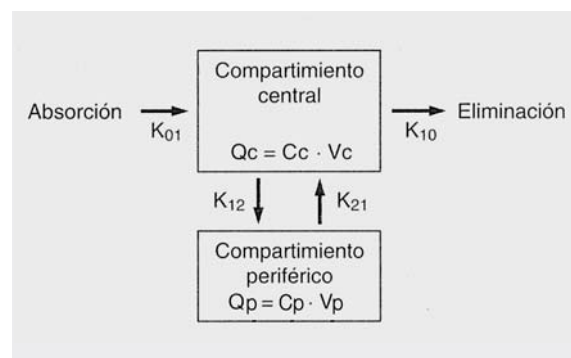


Figura 3.22. Distribución de un xenobiótico en un sistema bicompartimental.

donde Q_c y Q_p son las cantidades de xenobióticos en cada compartimiento, C_c y C_p las concentraciones respectivas y V_c y V_p los correspondientes volúmenes de distribución ocupados por el producto en cada compartimiento. Las constantes K , que se suponen de primer orden, rigen respectivamente la absorción (K_{01}) cuando la administración es extravascular, distribución (K_{12}), retorno (K_{21}) y, eliminación o excreción (K_{10}).

Estas constantes no pueden determinarse directamente a partir de los niveles sanguíneos o urinarios, por lo que se manejan unas constantes híbridas (α y β) de distribución y eliminación, proceso total denominado *disposición*.

Tras la absorción de un xenobiótico, en el modelo bicompartimental se aprecia un retardo en el establecimiento del equilibrio de distribución, porque al principio la concentración sanguínea baja rápidamente, debido a la suma de la distribución y la eliminación (que comienza desde el primer momento) pero, cuando se alcanza el equilibrio de concentraciones entre los dos compartimientos, la

disminución de la concentración sanguínea es más lenta, pues sólo depende de la eliminación (metabolismo y excreción), fase irreversible que es una función exponencial simple del tiempo.

Efectivamente, como veremos en las gráficas, las curvas de concentración hemática en sistemas bicompartimentales presentan tres fases: una de absorción y dos en el tramo de eliminación; de estas dos, la primera es de velocidad rápida, representativa del proceso de distribución en que el fármaco pasa del compartimiento central al periférico, y la segunda, más lenta, se desarrolla cuando se alcanza el equilibrio entre los compartimientos. Ambas fases están regidas por las constantes híbridas α y β que pueden relacionarse por las siguientes expresiones:

$$\alpha + \beta = K_{12} + K_{21} + K_{13}$$

$$\alpha \cdot \beta = K_{13} \cdot K_{21}$$

La Figura 3.23 representa la evolución de las concentraciones hemáticas tras administración intravenosa, en los distintos modelos compartimentales; y la Figura 3.24 refleja las concentraciones hemáticas de un mismo xenobiótico, según sea la vía de absorción.

El tramo de curva correspondiente a la fase de distribución, cuya recta representativa esté próxima a la vertical, sugiere gran velocidad en la disminución de la concentración hemática en sistemas multicompartimentales (pero no por eliminación sino por distribución a los órganos de acción y de acumulación), y es causa de frecuentes discordancias entre el estado clínico de un individuo y la concentración en sangre, lo que tiene gran importancia en la interpretación de resultados analíticos con fines forenses, clínicos y de monitorización terapéutica.

Cuando se representa en forma semilogarítmica las concentraciones hemáticas obtenidas experimentalmente tras una absorción oral frente al tiempo, cada punto supone la resultante entre la cantidad absorbida y la eliminada hasta ese momento; en el tramo ascendente, que corresponde a la fase distributiva, la absorción supera a la eliminación, mientras que, a partir del máximo, refleja la fase de eliminación. Cuando la curva se refiere a un modelo monocompartimental, el tramo de eliminación es prácticamente recto, pero en un modelo bicompartimental presenta una zona cóncava ini-

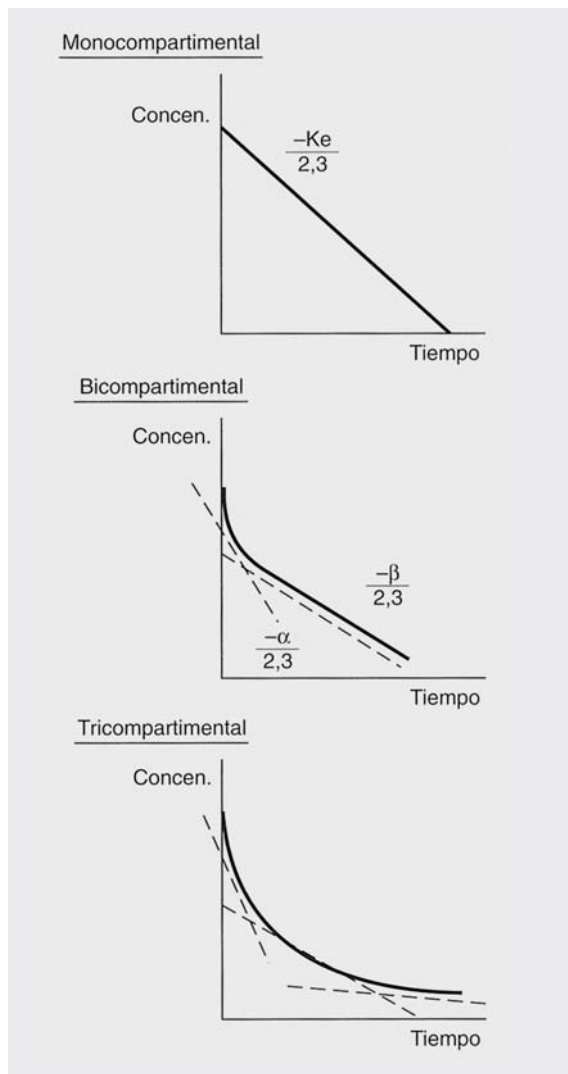


Figura 3.23. Evolución de las concentraciones hemáticas tras absorción i.v., en los distintos modelos compartimentales. Las curvas presentan una o varias pendientes.

cial por no haberse establecido aún el equilibrio entre los compartimientos (Figs. 3.25 y 3.26). La extrapolación de la recta de eliminación hasta cortar el eje de abscisas señala la concentración en el tiempo cero (C_0), y la pendiente de esta recta se conoce como β , que es la constante «híbrida» representativa de todo el proceso de desaparición del xenobiótico.

Para calcular el valor de la constante general o híbrida que rige el proceso de absorción hay varios

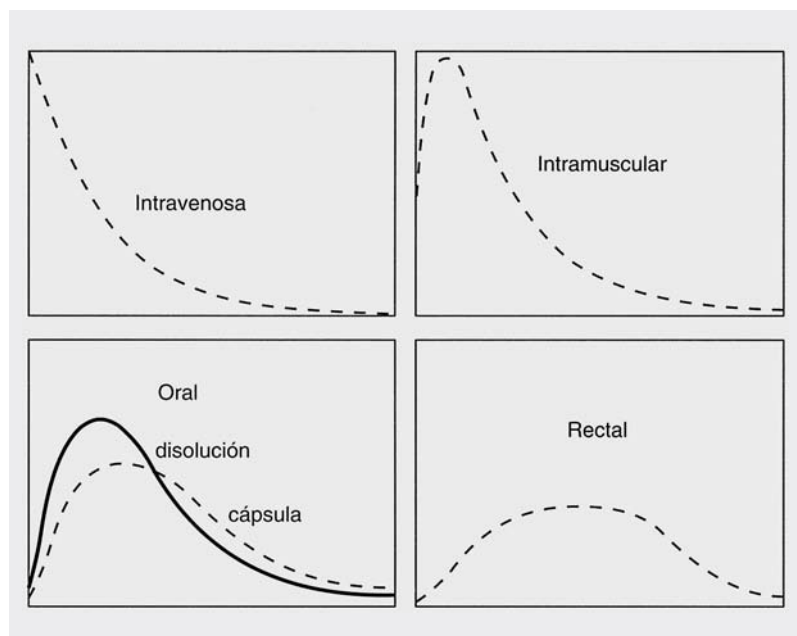


Figura 3.24. Curvas hemáticas de un mismo xenobiótico según la vía de administración.

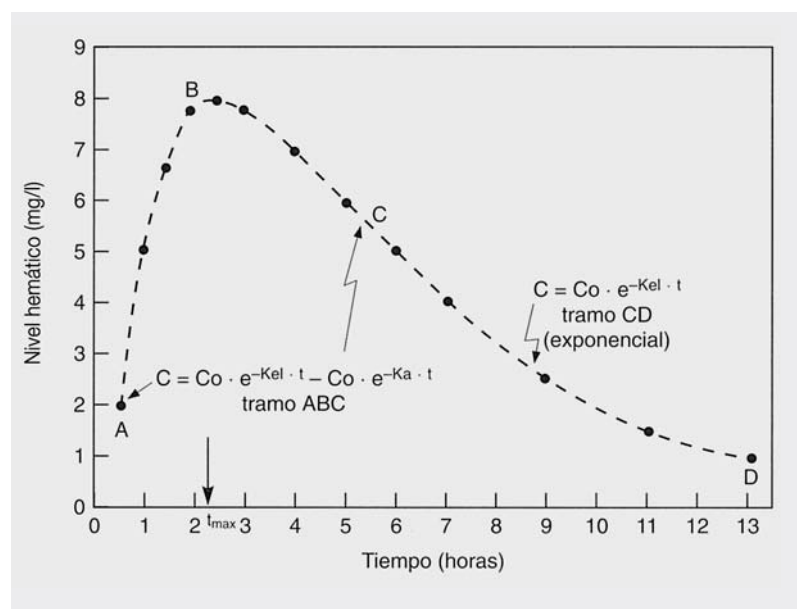


Figura 3.25. Curva de nivel hemático, tras administración oral.

procedimientos. Uno de ellos se conoce como «método de los valores residuales» y se realiza como sigue: sobre la recta obtenida por extrapolación se proyectan (círculos blancos) los valores experimentales del tramo curvo (círculos negros), para los tiempos respectivos. Se tienen así dos

valores de concentración para cada tiempo, cuya diferencia da un valor «residual» que en el tiempo respectivo produce un punto artificial representativo de las concentraciones que quedan en el punto de absorción; uniendo todos ellos tenemos una nueva recta que refleja la cinética de la desaparición.

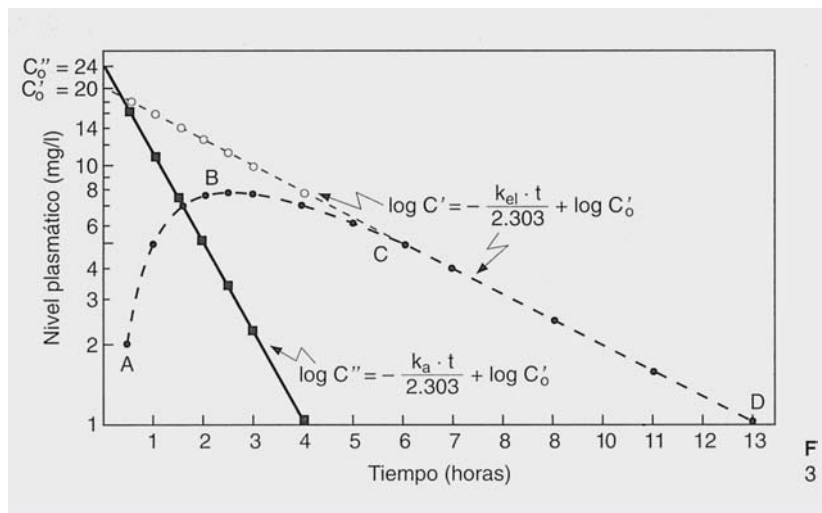


Figura 3.26. Curva de la Figura 2.25 en forma semilogarítmica.

ción del producto del lugar de absorción, y cuya pendiente es α (Fig. 3.26). Actualmente se utilizan programas informatizados para todos estos cálculos.

Como se ha indicado ya, las curvas de evolución de la concentración en sangre presentan un tramo ascendente, representativo del proceso de absorción, y otro descendente, que engloba la difusión y la excreción o eliminación; cuando esas curvas se transforman en rectas mediante su representación semilogarítmica, la pendiente o inclinación del tramo de absorción se simboliza por la letra griega α , y la pendiente del segundo tramo por β ; ambas son constantes híbridas que incluyen todos los procesos de difusión, retorno, metabolismo y excreción, por lo que se les denomina «*constantes de disposición o disponibilidad*».

El cálculo puede hacerse matemáticamente, o por representación gráfica de la fórmula que nos da el valor de C_0 , pero, por estar sobre papel semilogarítmico, $C_0 - B = A$. Uniendo A con t, tenemos una recta cuya pendiente es α .

Por tratarse de dos curvas exponenciales, sus expresiones matemáticas son:

$$B = B_0 \cdot e^{-\beta t}$$

$$A = A_0 \cdot e^{-\alpha t}$$

A representa el exceso de producto que existe, en cualquier momento, en el compartimiento central, antes de establecerse el equilibrio; A_0 es el

que había en el tiempo 0; B se refiere al compartimiento periférico.

La concentración real en cualquier momento, C, es la suma de las concentraciones en los dos compartimientos.

$$C = A + B$$

luego:

$$C = A_0 \cdot e^{-\alpha t} + B_0 \cdot e^{-\beta t} \quad (14)$$

Ésta es la ecuación general de las curvas de nivel hemático en papel no logarítmico para xenobióticos cuya disponibilidad biológica se hace conforme un modelo bicompartimental. En esta representación no logarítmica, el área bajo la curva (Abc) es siempre la misma cualquiera que sea la vía de absorción, para dosis iguales y cuando la absorción es completa. Si la absorción es incompleta, se puede calcular la fracción absorbida (F) según:

Fracción dosis absorbida

$$\frac{\text{Area b.c. problema}}{\text{Area b.c. completa}}, \quad (15)$$

o bien:

$$F = \frac{\text{Abc en admón. oral}}{\text{Abc en admón. iv.}}, \quad (16)$$

cuando las dosis son iguales, o bien:

$$F = \frac{A_{bc} \text{ (oral)}}{(A_{bc} \text{ (iv)})} \times \frac{\text{dosis iv.}}{\text{dosis oral}} \quad (17)$$

Si queremos calcular las pérdidas de concentración del tóxico en el compartimiento central con respecto al tiempo, tendremos:

$$\frac{dC}{dt} = - \underbrace{\text{Pérdidas por distribución al C. Periférico}}_{\text{regido por } K_{12}} - \underbrace{\text{Pérdidas por eliminación (biotransf. + excrec.)}}_{\text{regido por } K_{10}} + \underbrace{\text{Ganancia por retorno al C. Central}}_{\text{regido por } K_{21}}$$

luego:

$$\text{de } \frac{dC}{dt} = -(K_{12} - K_{10}) C + K_{21} \cdot P$$

$$K_{21} = \frac{A_0 \cdot \beta + B_0 \cdot \alpha}{C_0}$$

$$K_{10} = \frac{C_0 \cdot \alpha \cdot \beta}{A_0 \cdot \beta + B_0 \cdot \alpha}$$

cuya integral es justamente:

$$C = A_0 \cdot e^{-\alpha t} - B_0 \cdot e^{-\beta t}$$

podemos llegar a deducir los valores de las 3 K:

$$K_{12} = \frac{A_0 \cdot B_0 \cdot (\alpha - \beta)^2}{C_0 (A_0 \cdot \beta + B_0 \cdot \alpha)}$$

Cuando la administración no es intravascular, sino extravascular, hay que considerar el fenómeno de la absorción, que es no reversible, porque se hace a favor de gradientes.

La dQ/dt de desaparición de producto en el compartimiento central, siendo A la cantidad remanente en el lugar de absorción y K_{01} la constante de absorción:

$$\frac{dQ_c}{dt} = + \underbrace{\text{Ganancia por absorción}}_{(K_{01} \cdot A)} - \underbrace{\text{Pérdida por distribución}}_{(K_{12} \cdot Q_c)} - \underbrace{\text{Pérdida por eliminación}}_{(K_{10} \cdot Q_c)} + \underbrace{\text{Ganancia por retorno}}_{(K_{21} \cdot Q_p)}$$

y puede llegarse a

$$C = C_0 \cdot K_{01} \left(\frac{K_{21} - \alpha}{(K_{01} - \alpha)(\beta - \alpha)} \cdot e^{-\alpha t} - \frac{K_{21} - \beta}{(K_{01} - \beta)(\alpha - \beta)} \cdot e^{-\beta t} + \frac{K_{21} - K_{01}}{(\alpha - K_{01})(\beta - K_{01})} \cdot e^{-K_{01} t} \right)$$

que permite calcular la concentración plasmática del producto en cualquier momento, siendo C_0 la concentración inicial en la administración i.v.

Podemos calcular la cantidad de sustancia Q o su concentración presente en el sangre:

de donde:

$$Q = Q_0 \cdot K_{el} \quad (19)$$

$$C = C_0 \cdot K_{el} \quad (20)$$

$$\frac{dQ}{dt} = K_a \cdot A - K_{el} \cdot Q, \text{ o bien: } \frac{dQ}{dt} = -K_{el} \cdot Q$$

BIODISPONIBILIDAD

Los términos de biodisposición y biodisponibilidad se usan para indicar la velocidad y cantidad relativa del fármaco que alcanza intacto la circulación general.

Por tanto, señala:

- La cantidad de principio activo disponible en el lugar de acción.
- La velocidad con que se hace disponible en este lugar.

La *biodisponibilidad absoluta* de un producto se determina comparando los niveles sanguíneos y la excreción urinaria, después de una administración.

Para determinar la *biodisponibilidad relativa*, se comparan dichos niveles hemáticos y/o urinarios de un producto con los de otro, absorbido por la misma vía. Cuando dos productos, administrados en la misma dosis, presentan la misma biodisponibilidad, se dice que son *bioequivalentes*.

Consecuentemente, se define la biodisponibilidad como la fracción de la dosis absorbida que, en forma incambiada, alcanza los lugares de acción (receptores) o según Bender (1989), el *porcentaje del xenobiótico absorbido capaz de ser utilizado*, de forma que la biodisponibilidad B es:

$$B = D \cdot \sum (F/I) TU$$

donde D es el porcentaje de la dosis que puede transformarse en especies absorbibles; $\sum (F/I)$ es la relación de sustancias que favorecen o inhiben la absorción, T el tanto por ciento del xenobiótico que es transportado, y U el porcentaje del transportado que es utilizado.

Asimismo es igual a la fracción que ya hemos simbolizado con F, que puede tomarse como igual a 1 en la vía intravenosa, pero no en la vía oral y que disminuye después del primer paso metabólico.

Ya hemos visto (16) que en sangre puede calcularse

$$F = \frac{Abc \text{ (oral)}}{Abc \text{ (i.v.)}}$$

También puede calcularse F a partir de las concentraciones en orina del producto original, cuando éste se elimina incambiado:

$$F = \frac{\% \text{ en orina de dosis oral}}{\% \text{ en orina de dosis i.v.}} \quad (21)$$

En caso de que el xenobiótico se absorba totalmente y se elimine fundamentalmente por biotransformación hepática, tendremos:

$$F = \frac{\text{Dosis oral}}{Abc \text{ oral} - Cl} \quad (22)$$

siendo Cl el aclaramiento intrínseco hepático.

Volumen aparente de distribución

Se ha definido como un espacio virtual de distribución homogénea, donde un fármaco desarrolla una cinética idéntica.

Este hipotético concepto trata de significar la cantidad de agua corporal o de sangre que sería precisa para contener el fármaco presente en el cuerpo si éste estuviese repartido uniformemente a la misma concentración. Pero, como se sabe que la concentración varía mucho de un tejido a otro, el citado volumen es sólo aparente, aunque se exprese en litros o ml, y sería la relación entre la cantidad de xenobiótico en el cuerpo y su concentración en la sangre o en el plasma.

Por ello no es más que un factor que, al multiplicar por la concentración de fármaco en la sangre, da la cantidad total de producto en el cuerpo:

$$Q = V_d \cdot C; \quad V_d \frac{Q}{C} = \frac{\text{mg}}{\frac{\text{mg}}{1}} = [L] \quad (23)$$

El volumen de distribución depende de:

- a) El volumen de líquido en que se disuelve el xenobiótico, por lo que depende de cada producto y cada individuo.
- b) La fijación a los tejidos, con lo que la concentración será baja, pero el volumen grande. Así en la digoxina puede llegar a 400 litros.

Cuando se construye experimentalmente una curva de concentraciones hemáticas o plasmáticas, tras una sola administración, y se prolonga hacia detrás la rama de eliminación, hasta que corte el eje de ordenadas en un punto que sería C_0 teórica en el

momento de la administración (Fig. 3.20), y se divide por esa concentración C_0 no la cantidad total de sustancia, Q , sino la dosis administrada, expresada en kg de peso corporal, lo que se obtiene es un factor (coeficiente de V_d o de reducción del peso corporal) que al multiplicarlo por éste nos da el volumen de distribución V_d , diferente para cada xenobiótico.

$$\text{Coef. } V_d = \frac{\text{Dosis}}{C_0} \text{ y } V_d = \text{coef. } V_d \times K_g \quad (24)$$

Si en un momento dado (t) se conoce Q_t , (xenobiótico total en el cuerpo) y su concentración en sangre:

$$V_d = \frac{Q_t}{C_t} \quad (25)$$

Otro procedimiento para calcular V_d es utilizando el valor del área bajo la curva (Abc).

Después de una administración intravenosa, en un modelo monocompartimental, con cinética de primer orden, tenemos una curva hemática exponencial que, con los ejes, limita una zona que recibe el nombre de área bajo la curva (Abc). Esta superficie, desde el tiempo 0 al infinito, es una función lineal de la dosis, o de las concentraciones.

Como:

$$\frac{dQ}{dt} = -K_e \cdot Q$$

y aplicando la expresión (25),

$$\frac{dQ}{dt} = -K_e \cdot V_d \cdot C \quad (26)$$

y la cantidad de producto que desaparece entre los tiempos t_1 y t_2 será:

$$Q_{12}^{tl} = K_e \cdot V_d \int_{t_1}^{t_2} C_{dt} = K_e \cdot V_d \cdot Abc$$

pues la expresión $\int_{t_1}^{t_2} C_{dt}$ equivale al área bajo la curva (Abc) entre los tiempos t_1 y t_2 (13).

Si se integra entre t_0 y t_∞ , se tendría la Q total que se elimina:

$$V_d = \frac{Q}{K_e \cdot Abc} \quad (27)$$

Esta ecuación sirve para cualquier vía de administración que permita una absorción completa de la dosis. Pero debe tenerse presente que el V_d cambia con las características fisicoquímicas del producto, unión a proteínas, función renal, metabolismo, etc.

El concepto de área bajo la curva también resulta útil para el cálculo del aclaramiento (véase más adelante).

El área bajo la curva puede calcularse por varios procedimientos:

- Usando un planímetro.
- Dividiéndola, por líneas verticales, en una serie de trapezoides y calculando el área según:

$$A = \frac{1}{2} (c + d)a$$

- Por integración de C o de Q , entre $t = 0$ y $t = \infty$;

$$Abc = C_{dt} = \frac{C}{K_e}$$

- En un modelo bicompartimental, donde la evolución de C es

$$C = A_0 e^{-\alpha t} + B_0 e^{\beta t}$$

el área resulta ser:

$$Abc = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta}$$

Y como:

$$V_c = \frac{Q_c}{C}, \quad \text{y} \quad V_p = \frac{Q_p}{C}$$

$$\text{y en } t = 0, \quad V_c = \frac{\text{Dosis}}{C_0}$$

en el estado de equilibrio, siempre que sea un proceso de primer orden:

$$K \cdot Q_c = K_{12} \cdot Q_p \quad \text{luego}$$

$$K \cdot C V_c = K_{21} \cdot Q_p \quad \text{y por tanto}$$

$$\frac{Q_p}{C} = V_c \cdot \frac{K_{12}}{K_{21}}, \quad \text{y esto es igual a } V_p.$$

En un modelo bicompartimental, en el estado de equilibrio, el volumen de distribución total es:

$V_T = V_c + V_p$, luego:

$$V = V_c + V_c \frac{K_{12}}{K_{21}} = V_c \left(1 + \frac{K_{12}}{K_{21}}\right), \text{ de donde}$$

$$V_T = V_c \frac{K_{12} + K_{21}}{K_{21}}$$

expresión que permite calcular el volumen de distribución total a partir de las curvas de nivel. De la fase exponencial (último tramo) de estas curvas puede calcularse de forma simplificada V_d extrapolando dicho tramo hasta el eje, para obtener un valor de concentración B_o , y

$$V_d = \frac{\text{Dosis}}{B_o}$$

Un hombre de 70 kg de peso corporal tiene aproximadamente

5,5 l de sangre,
3 l de plasma sanguíneo,
12 l de plasma extracelular y
42 l de agua corporal.

Según las características fisicoquímicas de los xenobióticos, podemos distinguir tres grupos de éstos, en cuanto a su comportamiento en la fase de distribución.

- Productos muy hidrófilos (grupo pequeño), que una vez en la sangre no tienden a pasar al compartimiento periférico, quedándose en el central (sangre), con una distribución prácticamente monocompartimental ($V_c > V_p$).
- Grupo mayoritario de productos que pasan al compartimiento periférico en escasa proporción y no se fijan allí (consecuentemente su coeficiente de retorno K_{21} es mayor que K_{12}); experimentan una distribución bicompartimental en la que se alcanza rápidamente el equilibrio de concentraciones ($V_c \geq V_p$).
- Productos que se reparten entre ambos compartimientos, con K de distribución y retorno similares, y con poca fijación en tejidos peri-

féricos ($K_{12} \approx K_{21}$); experimentan también distribución bicompartimental ($V_c \leq V_p$).

- Productos que pasan fácilmente a compartimientos periféricos ($K_{12} > K_{21}$) y se retienen allí en depósitos no acuosos en varios niveles; para ellos el volumen de distribución es superior al volumen de agua del organismo, y la evolución de las concentraciones hemáticas se corresponde a un modelo tricompartmental ($V_c \ll V_p$).

CINÉTICA DE LA ELIMINACIÓN

Este concepto incluye todos los procesos que contribuyen a disminuir la concentración de los xenobióticos en el organismo.

Estos procesos abarcan: la destrucción por biotransformación (fundamentalmente hepática) del tóxico y su excreción por orina, heces, aliento, etc.

Normalmente los mecanismos de eliminación siguen una cinética de primer orden (exponencial), pero cuando las concentraciones del tóxico son grandes y saturan los mecanismos de eliminación (altas concentraciones tubulares o biliares), se cumple una cinética de orden cero (velocidad constante).

Para la eliminación exponencial se aplica la ecuación general (4), llamando Q_o a la cantidad total del xenobiótico en el organismo en el tiempo t_o , Q la correspondiente a tiempo t y K_e la constante de eliminación.

$$Q = Q_o \cdot e^{-K_{et}}$$

$$\log Q = \log Q_o - \frac{K_{et}}{2,303}$$

que es la ecuación de una recta donde

$$\frac{-K_e}{2,303} = \beta$$

siendo β la pendiente de la recta en representación semilogarítmica de base 10.

Si se dispone de la recta, se calcula β a partir del intervalo entre dos puntos:

$$\beta = \frac{-K_e}{2,303} = \frac{\log Q_1 - \log Q_2}{t_2 - t_1}$$

Ahora bien, la cantidad de xenobiótico que en t hay aún en el cuerpo será

$$\frac{Q}{Q_o} = e^{-K_{et}t}$$

por lo que si Q_e es la cantidad acumulativa eliminada hasta un momento t

$$\frac{Q_e}{Q_o} = 1 - \frac{Q}{Q_o}$$

$$\ln \left(1 - \frac{Q_e}{Q_o} \right) = -K_{et}t$$

$$\log \left(1 - \frac{Q_e}{Q_o} \right) = -\frac{K_{et}}{2,30}$$

Cuando Q_e se ha determinado solamente en una excreta (aire exhalado, orina, etc.), pero el xenobiótico puede eliminarse además por otra vía, el cálculo no será correcto. Si se representa en coordenadas semilogarítmicas la disminución de Q frente al tiempo, se tiene una recta que permite calcular la velocidad de eliminación y el tiempo medio.

En resumen, para una eliminación con cinética de primer orden, el tiempo de eliminación (o de permanencia) es proporcional al logaritmo de la cantidad absorbida.

Vida media de eliminación

La K_e o constante de eliminación que hemos visto significa la fracción de fármaco que queda en el cuerpo después de cada unidad de tiempo. Es directamente proporcional a la velocidad de desaparición del fármaco. Pero, por ser esta K_e un concepto muy abstracto, se suele utilizar el de «vida media de eliminación».

Mal llamada, de acuerdo con Curry, «vida media biológica», supone el tiempo necesario para que la Q o C se reduzcan a la mitad. Sirve para cuantificar la permanencia de un xenobiótico en el organismo. Se representa como $t_{1/2}$.

Debe referirse a fase de eliminación o exponencial en que no hay absorción. Se calcula por:

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K_e}$$

y también gráficamente. Conociendo $t_{1/2}$ de un tóxico se puede saber el tiempo necesario para que

se elimine un determinado porcentaje del mismo, mediante el diagrama de Wagner (Fig. 3.27).

Tomando logaritmos en la anterior expresión (20) para C ,

$$\ln C = -K_e \cdot t + \ln C_o \quad (28)$$

o en lg decimales ($\ln X = 2,303 \log C$)

$$\log C = -\frac{K_e \cdot t}{2,303} + \log C_o, \quad \text{de donde}$$

$$t = \frac{2,303}{K_e} \cdot \log \frac{C_o}{C}$$

y como, por definición $C_o = 2 C$, la vida media ($t_{1/2}$)

$$\begin{aligned} t &= \frac{2,303}{K_e} \cdot \log 2 \frac{C}{C} = \\ &= \frac{2,303}{K_e} \cdot \log 2, \quad t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_e} \\ t_{1/2} &= \frac{0,693}{K_e} = \frac{0,693}{\beta} \quad (29) \end{aligned}$$

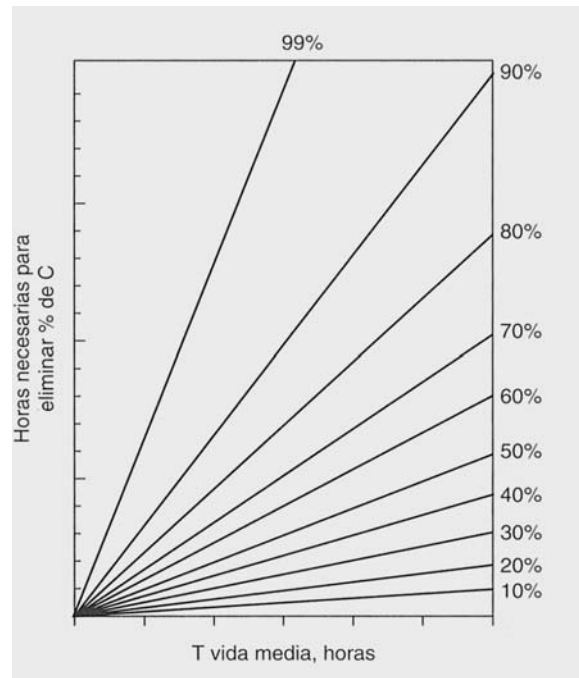


Figura 3.27. Diagrama de Wagner. Indica el tiempo necesario para la eliminación de un porcentaje de producto según su vida media.

Como aplicación práctica, aunque la mitad del xenobiótico se elimine en $t_{1/2}$, la excreción de la totalidad del producto requiere n veces $t_{1/2}$, lo que debe tenerse presente en la recogida de muestras urinarias. El valor de n es variable pero puede estimarse suficiente como igual a 5.

Curvas de excreción urinaria

Se realizan a partir de muestras de orina tomadas a intervalos fijos, en las que se determina la cantidad de xenobióticos o metabolitos presentes y no su concentración.

Cuando en ordenadas se representan las cantidades excretadas por unidad de tiempo, y en abscisas el tiempo se obtienen las *curvas directas* o de nivel urinario, a veces equivalentes a las de nivel hemático, ya que la cantidad excretada en un instante o un intervalo de tiempo es una función lineal de la cantidad que existe en el plasma en ese tiempo. Ambas curvas son superponibles y sus constantes son iguales.

$$U_t = U_{to} \cdot e^{-K_{ut}}$$

$$\log U_t = \frac{K_{ut}}{2,303} + \log U_{to}$$

Sin embargo, para numerosos productos la excreción varía mucho a lo largo del día por múltiples razones.

Por otra parte, si se llevan a ordenadas las cantidades totales excretadas a intervalos de tiempo, obtenidas sumando al valor hallado en cada determinación todos los anteriormente obtenidos (valores acumulados), se tiene una *curva acumulativa*; son ascendentes cuya pendiente disminuye con el tiempo hasta hacerse asintóticas y no rectifican al llevarlas a papel semilogarítmico. Su ecuación es:

$$U = U_m (1 - e^{-K_{ut}})$$

siendo U_m la cantidad máxima excretable y U la de un instante.

Las curvas acumulativas experimentan menos error en la determinación de K_a ; son muy útiles para el cálculo de la disponibilidad y de la cantidad total de producto en el organismo en función del tiempo.

Principio de la meseta

Si se consideran simultáneamente los procesos de absorción (A) y eliminación (E) puede llegarse a interesantes conclusiones toxicológicas, porque se verá si el xenobiótico se acumula y cuándo esta acumulación lleva a concentraciones en el medio biológico que lleguen a ser tóxicas.

La acumulación de un xenobiótico en un compartimiento que no participe en su metabolismo ni en su eliminación, supone que la cantidad de producto que entra por vía arterial en un intervalo dt , debe ser igual a la cantidad retenida (dQ) más la que sale por la sangre venosa. Siendo C_a la concentración en sangre arterial, C_v en la sangre venosa y F el flujo, tendremos:

$$F \cdot C_a \cdot dt = dQ + C_v \cdot dt$$

$$\frac{dQ}{dt} = F (C_a - C_v)$$

Podrían darse varios tipos de combinaciones, siendo los más sencillos:

- Absorción y eliminación de orden cero.
- Absorción de orden cero y eliminación de primer orden.
- Absorción y eliminación de primer orden.

En el caso *a)* las velocidades de entrada y salida serían independientes de la cantidad de sustancia y sólo se produciría acumulación si, cuando se establezca el equilibrio de flujos de absorción y eliminación, K de entrada sea mayor que K de salida. Según la relación de velocidades se podrá conseguir una concentración interna estacionaria o en meseta, que es muy útil en terapéutica y muy peligrosa en toxicología (Fig. 3.28).

- A y E, de orden 0; K_a y K_e = ctes; cuando $K_a > K_e$. Figura 3.28.
- $$\left. \begin{array}{ll} A = \text{orden } 0 & K_a = \text{cte.} \\ E = \text{primer orden} & K_e = f(Q) \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{cuando} \\ K_e < K_a \end{array}$$

el esquema es el mismo, es decir, con meseta; pero cuando $K_e > K_a$, no hay meseta.

- A y E de primer orden

$$t_{\text{máx}} = \frac{1}{K_e} \quad (30)$$

luego el resultado final del proceso depende de K_e .



Figura 3.28. Principio de la meseta.

En el caso *b*) la velocidad de entrada seguía siendo constante, K entrada (bien por inhalación de un ambiente, por infusión o repetición de dosis a tiempos), pero la velocidad de salida será proporcional a la Q' o cantidad acumulada en el momento del equilibrio de flujos. Lógicamente, el que se produzca o no acumulación dependerá, en definitiva, de la velocidad de salida (que sea menor o no que la de entrada, que es constante).

En el caso *c*) tanto la absorción como la eliminación son de primer orden; es el caso más frecuente representado por la administración de una sola dosis.

Una larga serie de consideraciones matemáticas nos lleva a que

$$t_{\text{máx}} = \frac{1}{K_e}$$

de forma que el tiempo en que se consigue una concentración máxima en el organismo no depende de la dosis absorbida, sino de la constante de eliminación. Por otra parte, en el caso de que K_a sea igual a K_e el nivel máximo que se alcanza en el organismo es el 37 % de la dosis.

Cuando un producto P , una vez absorbido, se metaboliza en otro R , a una velocidad K_p (transformación de primer orden) y R se elimina a una velocidad K_e , también de primer orden, su cinética se corresponde a este grupo que estamos considerando, con una única diferencia: como si se absorbiese más lentamente.

No todos los xenobióticos caben en modelos lineales con cinética de primer orden. Esto sólo es

válido para los procesos fisicoquímicos de absorción, distribución y excreción renal sin consumo de energía, pero no sirve para los fenómenos que requieren energía, como el metabolismo hepático, la excreción biliar y el transporte activo en el túbulo renal, porque estos procesos son dosis-dependientes, no reversibles, y pueden llegar a saturar los grupos activos de los sistemas enzimáticos, cuya actividad puede ser descrita por la ecuación de Michaelis-Menten.

En estos procesos rige una cinética de orden cero, donde la disminución de la concentración en un órgano o en la sangre es de acuerdo con la ecuación de Michaelis-Menten:

$$V = -\frac{dC}{dt} = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (31)$$

donde

$-dC/dT$ = velocidad de desaparición de la concentración del xenobiótico.

C = concentración del xenobiótico en el tiempo t .

V_m = velocidad máxima del proceso.

K_m = constante de Michaelis-Menten; equivale a la concentración en que la velocidad V es la mitad de V_m ($V_m/2$) (Fig. 3.29).

Pueden darse dos casos límite, cuya consideración permite aproximarnos al concepto de *aclaramiento metabólico* (velocidad de la disminución de la concentración de un xenobiótico en la sangre, por unidad de tiempo), que se abordará en el apartado siguiente.

a) Cuando C es mucho más pequeña que K_m ($C \ll K_m$), sería despreciable como sumando en el denominador, y tendríamos que:

$$V = -dC/dt = V_m \cdot C/K_m$$

expresión que resulta igual a la $dQ/dt = -K_e \cdot Q$, que ya vimos (8), similar a $dC/dt = -K_e \cdot C$ y que describe la cinética de eliminación lineal de primer orden en el modelo monocompartimental, en que la velocidad de eliminación es proporcional a la concentración.

b) Cuando C es muy grande, mucho mayor que K_m , resulta que $-dC/dt = V_m$, porque las enzimas se saturan y V_m se hace máxima, constante e independiente de C , y el proceso se desarrolla con cinética lineal, de orden cero.

El etanol es un ejemplo típico de tóxico que se elimina fundamentalmente por biotransformación (muy escasa proporción de la dosis (un 10 %) se excreta incambiado), con cinética de orden cero, a una K_m aproximada de 0,15 g/L.

En definitiva: en las intoxicaciones se suelen saturar los mecanismos, por lo que se comportan como de orden cero y son no-lineales. Pero cuando son de primer orden (lineares), la absorción, el área bajo la curva, las concentraciones máxima y mínima, etc., son directamente proporcionales a las dosis (hay linealidad frente a la dosis).

Como aplicaciones prácticas simplificadas de lo expuesto tenemos que, cuando sabemos que una dosis D de un medicamento origina una concentración hemática apropiada a la acción terapéutica, que se desea mantener, debería administrarse $D/2$ a intervalos menores a $t_{1/2}$, mientras que para evitar que se alcancen las concentraciones tóxicas (críticas), debe evitarse que se absorba la mitad de la dosis tóxica a intervalos menores de la vida media $t_{1/2}$.

Aclaramiento (*clearance*)

Es un concepto que expresa la capacidad del cuerpo para eliminar un xenobiótico (Benet *et al.*, 1995); puede referirse a cada uno de los compartimientos corporales. Refleja la capacidad de excreción de cada vía o cada órgano, y es un importante parámetro farmacocinético (Figs. 3.30, 3.31 y 3.32).

Por definición, aclaramiento (*clearance*) renal es la cantidad de plasma (en ml) que contiene la misma cantidad (en mg) de producto eliminado por la orina en un minuto. Dicho de otra forma, es la cantidad de sangre o plasma liberada completamente del xenobiótico, en la unidad de tiempo. Se calcula como la relación entre la cantidad de sustancia eliminada por unidad de tiempo y la concentración sanguínea. Para la orina será:

$$Cl = \frac{C_u \cdot V}{C_p} \quad (32)$$

C_u = concentración en orina.

C_p = concentración en plasma.

V = volumen en orina por minuto.

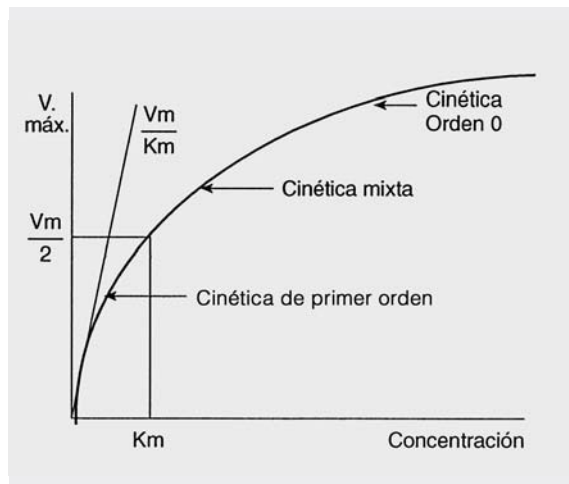


Figura 3.29. Según la cinética de Michaelis-Menten, la relación entre la velocidad de biotransformación (cantidad de sustancia metabolizada por unidad de tiempo) y la concentración es hiperbólica (cinética de orden cero); a concentraciones inferiores a la constante de Michaelis, K_m , la velocidad es aproximadamente lineal respecto a C (cinética de primer orden).

La expresión (32) nos da el aclaramiento renal.

Ahora bien, $C_u \cdot V$ es la cantidad eliminada por minuto (Q_e), luego, teniendo en cuenta las expresiones (8), (24) y (27):

$$Cl = \frac{Q_e}{C_p} = \frac{K_e \cdot Q_o}{C_p} = K_e \cdot V_d = \frac{Q_o}{Abc} \quad (33)$$

Por lo que aclaramiento se define como la cantidad de producto que se elimina en la unidad de tiempo, de un volumen de distribución y sus unidades son mg/min/ml.

Esta fórmula nos permite valorar la capacidad de excreción de un órgano para un producto, en función del volumen de distribución o del área bajo la curva.

Se ha demostrado que para cualquier órgano el aclaramiento viene dado:

$$Cl = F \frac{Cl_{int}}{F + Cl_{int}}$$

donde:

F = flujo sanguíneo en el órgano.

$Cl_{intrínseco}$ = aclaramiento máximo del órgano.

En general, el Cl depende del flujo y de la concentración del producto en la sangre a la entrada y a la salida; cuando el coeficiente de reparto es $> 0,8$, la dependencia es fuerte, pero cuando el coeficiente de reparto es $< 0,2$, es independiente. La capacidad de un órgano para extraer o eliminar (E) una sustancia, siendo C_A su concentración en sangre arterial y C_V en la venosa, sería:

$$E = \frac{F (C_A - C_V)}{F \cdot C_A} = \frac{C_A - C_V}{C_A}$$

Y el aclaramiento:

$$Cl = F \cdot E = F \cdot \frac{C_A - C_V}{C_A}$$

Para los xenobióticos que realizan un primer paso por el hígado, el aclaramiento puede ser un índice del funcionamiento hepático.

El Cl total de un individuo es la suma de sus Cl parciales:

$$Cl_{\text{sistémico}} = Cl_{\text{hepático}} + Cl_{\text{renal}} + Cl_{\text{pulmonar}} + Cl \dots$$

En el estado estacionario, la velocidad de entrada es igual a la de eliminación, el producto de Cl total por la concentración plasmática, en el equilibrio, da la Q total eliminada por la unidad de tiempo y, consiguientemente, la Q que debe absorberse para que se mantenga la meseta.

A partir del Cl también puede calcularse $t_{1/2}$, que cambia en función de Cl y de V_d

De (29) y (33).

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K_e}, \quad \text{y como } K_e = \frac{Cl}{V_d} \quad (34)$$

$$t_{1/2} = \frac{0,693 \cdot V_d}{Cl}$$

Esta expresión es exacta en modelos monocompartimentales y aproximada en los bicompartimentales.

En definitiva,

$$Cl_{\text{total}} = K_e \times V_d \times \text{Peso corporal} \quad (35)$$

Formas prácticas para calcular K_e , K_a y $t_{1/2}$

A un ser vivo se administra una dosis del producto por la vía elegida y a diferentes tiempos se le extrae sangre, que se analiza.

Las concentraciones halladas se representan frente al tiempo en papel semilogarítmico. Se obtendrá una gráfica con una primera parte «a», representativa de la absorción, hasta su máximo «m», y otro tramo, recto, «b», representativo de la eliminación. Se extrapola ésta hasta obtener C_o , en el eje de ordenadas; la pendiente de la recta, calculable del gráfico, es K_e . De este valor C_o se restan varios valores correspondientes al tramo «a», y las diferencias se marcan como puntos a los correspondientes tiempos. Se tendría así una recta cuya pendiente, también calculable por triangulación en la gráfica, es K_a .

Asimismo, K_e y K_a se pueden deducir matemáticamente a partir de las correspondientes ecuaciones de las rectas:

$$\log C = -\frac{K_{at}}{2,303} + \log C_o, \quad \text{de donde}$$

$$K_a = \frac{2,303}{t} \cdot \log \frac{C_o}{C}$$

o por la aplicación de otras expresiones más complejas, mediante el uso de ordenadores.

Finalmente,

$$t_{e\ 1/2} = \frac{\ln 2}{K_e} = \frac{0,693}{K_e} \quad \text{al igual que}$$

$$t_{a\ 1/2} = \frac{0,693}{K_a}$$

Otros datos prácticos

Cálculos

a) Cantidad de producto en compartimiento central: Q_c

$$Q_c = C \cdot V_c \quad \text{y}$$

$$Q_c = D \frac{C}{C_o}$$

$$\text{puesto que } V_c = \frac{D}{C_o}$$

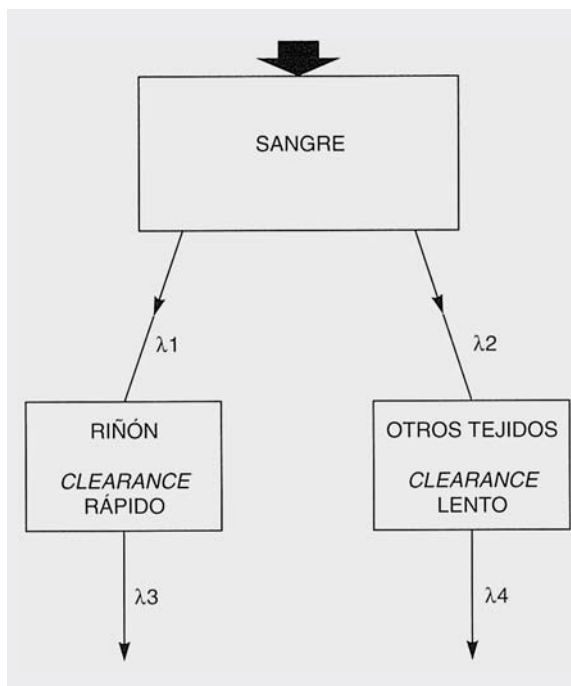


Figura 3.30. Modelo sencillo de *clearance*.
S. Thorne *et al.*, 1986.

b) Cantidad de producto eliminado: Q_{el}

$$\frac{dQ_{el}}{dt} = K_{13} \cdot Q_c = K_{13} \cdot C \cdot V_c, \quad \text{integrando}$$

$$Q_{el} = K_{13} \cdot V_s \int_0^t C \cdot dt \quad \text{y también}$$

$$Q_{el} = \frac{\int_0^t C \cdot dt}{\int_0^\infty C \cdot dt} \cdot D$$

donde el numerador es *Abc* entre el origen de coordenadas y t ; el denominador *Abc* total, y la fracción de dosis eliminada =

$$\frac{Q_{el}}{D} = \frac{\int_0^t C \cdot dt}{\int_0^\infty C \cdot dt}$$

que se transforma en % de dosis si se multiplica por 100.

c) Cantidad de producto en compartimiento periférico: Q_p

$$Q_p = D - Q_c - Q_{el} \quad \text{luego:}$$

$$Q_p = D - D \cdot \frac{\int_0^t C \cdot dt}{\int_0^\infty C \cdot dt} - D \frac{C}{C_0} =$$

$$= D \left(1 - \frac{\int_0^t C \cdot dt}{\int_0^\infty C \cdot dt} - \frac{C}{C_0} \right)$$

como arriba (en *b*), se puede calcular la fracción de la dosis que está en compartimiento periférico.

$$\text{Fracción } D = \frac{Q_p}{D} = 1 - \frac{\int_0^t C \cdot dt}{\int_0^\infty C \cdot dt} - \frac{C}{C_0},$$

$$\text{que } \times 100 = \%$$

Retención selectiva

Muchos xenobióticos se acumulan en distintos tejidos, por diferentes causas:

1. Los productos lipófilos, en el tejido adiposo, por alto coeficiente de reparto lípido/ plasma.
2. Formación de complejos de absorción por determinadas proteínas tisulares, bastante estables, aunque reversibles.

Estas retenciones modifican los cálculos anteriores en dos aspectos:

- a. Aumento del volumen de distribución periférico aparente, que llega a hacerse superior al volumen total del organismo.
- b. Disminución al mínimo de la constante de retorno K_{21} , por lo que K_{12}/K_{21} resulta siempre superior a 1.

El cociente K_{12}/K_{21} refleja la intervención del compartimiento periférico. Así, cuando su valor es > 1 , indica una retención selectiva por depósitos no acuosos (proteínas o lípidos), y exige un tratamiento bicompartimental.

Cuando el cociente es ≈ 1 , indica que el producto está retenido por el agua intracelular; y como el volumen del compartimiento periférico es muy grande, también hay que dar un tratamiento bicompartimental.

Pero cuando K_{12}/K_{21} es < 1 , refleja ausencia de afinidad del producto por el compartimiento periférico, con un volumen de distribución periférico muy bajo; y la cinética dependerá de la eliminación o de K_{10} .

Así, cuando K_{12}/K_{10} es muy pequeño, quiere decir que el producto se metaboliza y excreta a mayor velocidad que la que precisa para distribuirse, y puede ocurrir que no se dé tiempo a que llegue a los compartimientos periféricos. Entonces puede usarse un modelo monocompartimental.

Las concentraciones de un xenobiótico en un medio biológico (sangre, orina, tejido) no reflejan específicamente la concentración en el lugar de acción.

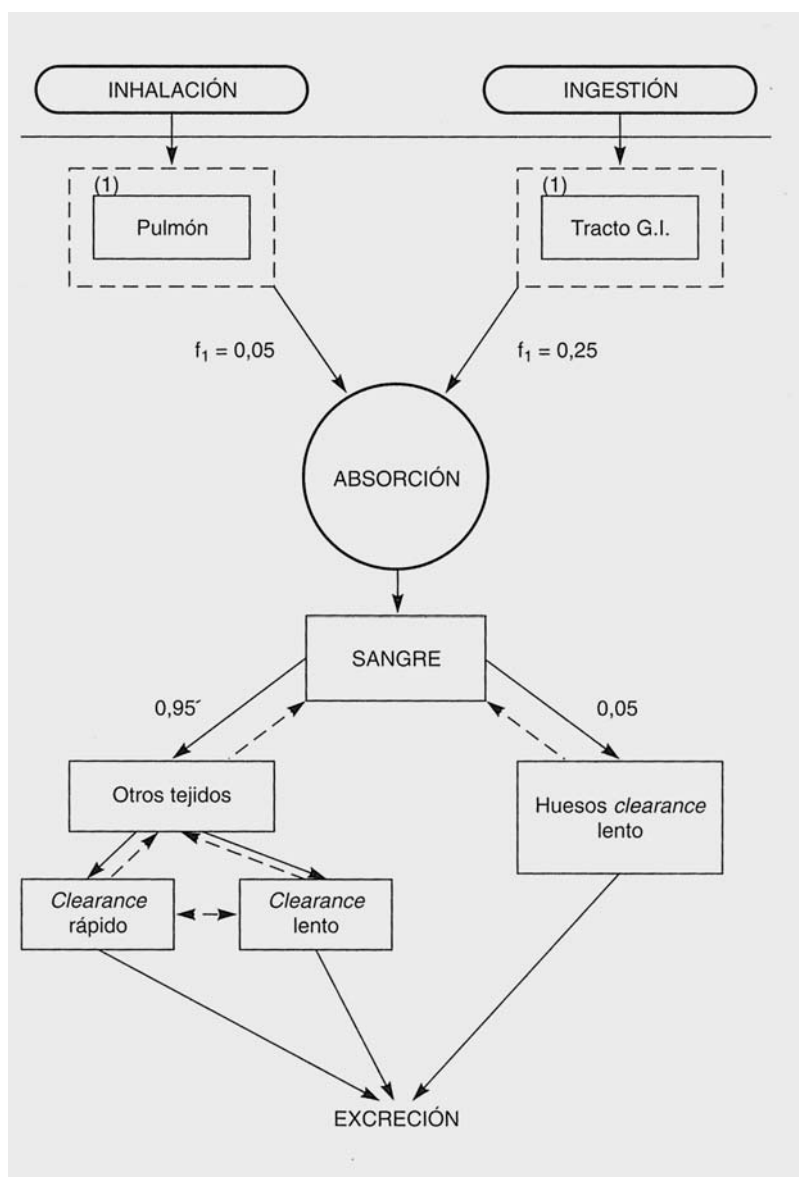


Figura 3.31. Tránsito del Cr^{+++} en el hombre. S. Thorne *et al.*, 1986.

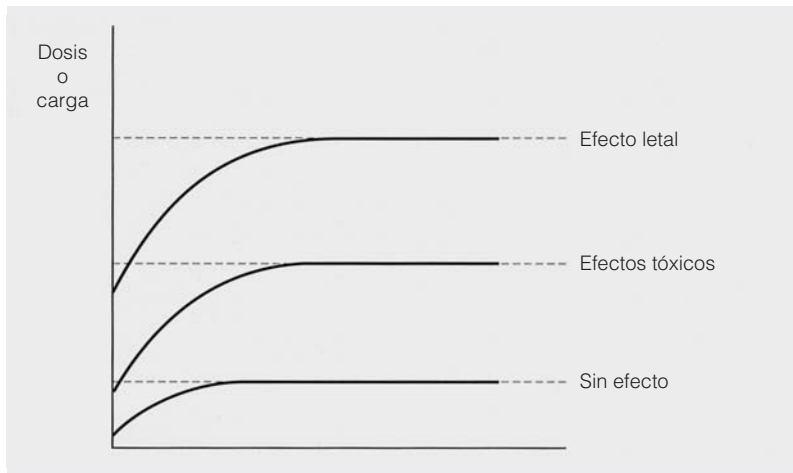


Figura 3.32. Curvas de bioacumulación y sus efectos, según la dosis y consiguiente carga corporal.

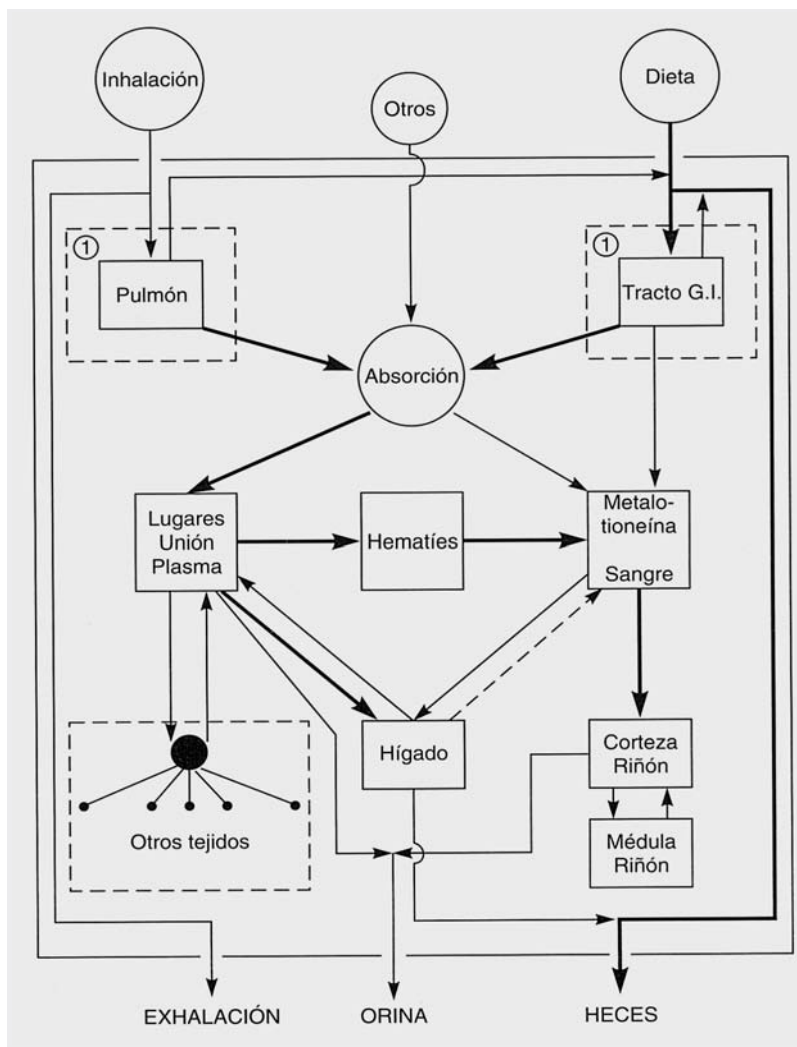


Figura 3.33. Tránsito del Cd en el hombre. S Thorne *et al.*, 1986.

Puede ocurrir que el producto llegue fácilmente a los receptores y se retenga allí, con lo que a bajos niveles plasmáticos se corresponderá buena respuesta.

Pero, si el producto accede difícilmente a los órganos diana, harán falta niveles plasmáticos altos para obtener respuesta.

En todo caso, la velocidad de absorción y de eliminación del producto determinará la duración del efecto (Tablas 3.4, 3.5 y 3.6).

Concepto de carga corporal (*body burden*) o xenobiótico retenido en el cuerpo:

$$B = \text{Dosis} \times \frac{t_{1/2}}{\ln 2} \times \text{fracción absorbida}$$

$$B = \frac{\text{Dosis}}{K_e} (1 - e^{-K_e \cdot t})$$

es 1 para una absorción del 100 por 100 de la dosis, la fracción de la dosis retenida en el cuerpo, y es acumulativa con dosis sucesivas.

Tras sucesivas dosis en n días:

$$B = B_0 \sum e^{-(n-1)K_e}$$

y cuando n es infinito:

$$B = B_0 \frac{1}{1 - e^{-K_e}}$$

siendo B_0 la carga corporal por una dosis.

La Agencia de Protección Ambiental (EPA, EE UU) ha desarrollado modelos informatizados con fórmulas matemáticas para calcular, rápida y aproximadamente, la cantidad de sustancia que se absorbe por las diferentes vías, tras la exposición a los productos comerciales, así como la carga corporal que el xenobiótico puede alcanzar en el individuo.

CASOS PARTICULARES DE CINÉTICAS

Absorción percutánea

La cinética de la absorción percutánea es un proceso de primer orden.

Para su estudio se establece primeramente la cinética de la sustancia por su administración i.v., determinando K_{el} y $t_{1/2}$.

Recordemos que $-K_{el}$ es la pendiente de la recta en representación semilogarítmica de la concentración frente al tiempo, y $t_{1/2} = \ln 2 / K_{el}$.

Cuando se aplica un producto por vía dérmica y se analiza la sangre a tiempos, se tiene también una gráfica y después, por el procedimiento de sustracciones, una recta que representa la fase de absorción cuya pendiente es K_a .

Si se conoce la constante de evaporación del compuesto (K_{ev}) la

$$\begin{aligned} \text{Fracción absorbida} &= \frac{K_a}{K_a + K_{ev}} = \\ &= \frac{\text{Abc dérmica}}{\text{Abc intraven.}} \end{aligned}$$

La biodisponibilidad = % absorbido =

$$= \frac{\text{Abc dérmica/dosis tópica}}{\text{Abc intraven./dosis i.v.}} \times 100$$

La absorción percutánea es un proceso de difusión pasiva a través del estrato córneo y cumple la ley de Fick:

$$A = K_d \cdot C_p \frac{\Delta C}{d}$$

siendo:

A = flujo o cantidad absorbida por unidad de tiempo/área.

K_d = cociente de difusión.

C_p = coeficiente de partición entre vehículo y estrato córneo.

ΔC = diferencia de concentraciones.

d = espesor de la piel.

Absorción de gases o vapores

Los alveolos pulmonares (véase estructura anatómica en el Capítulo 7) son, junto con la mucosa del intestino delgado, las vías de absorción más importantes del organismo; con una superficie aproximada de 100 m^2 , la mucosa epitelial de los alveolos permite una velocidad y cantidad de absorción casi similar a la de la administración intravenosa, aunque la distribución del aire inhalado no es homogénea por todo el pulmón, ni siquiera en los jóvenes sanos.

Por el pulmón se absorben preferentemente gases y líquidos liposolubles volátiles (aunque también agua) mediante un mecanismo de transporte pasivo por simple difusión según el gradiente o diferencia de presiones del soluto entre el aire alveolar y la sangre de los capilares (Repetto, 1978).

La ventilación alveolar puede asimilarse al lavado de un recipiente de capacidad igual al volumen residual (V_R) con un volumen de aire (V_E) efectivo, una serie de veces ($V_E \times$ frecuencia). La cinética de las concentraciones en el alveolo (C_a) y en el aire inspirado (C_i) será:

$$C_a = C_i (1 - e^{-t/\tau})$$

$$\text{donde } \tau = \frac{V_R}{V_E \times f}$$

representa el tiempo necesario para que la concentración en el aire alveolar alcance el 63 % de la concentración del aire inspirado.

Por tanto, la absorción de gases o vapores presenta dos características especiales: a) absorción cíclica, b) eliminación pulmonar.

a) La absorción está regida por un proceso cíclico, la respiración, con un ritmo de alrededor de 20 veces/minuto. Un volumen corriente (V_c) de aire con el producto entra por boca y nariz, a su paso por las vías respiratorias se calienta hasta 37 °C y se humedece, y una parte de aquel V_c llega a los alveolos, donde este volumen efectivo (V_E) se diluye con el aire residual. Con cada respiración este aire se irá enriqueciendo en el gas. Se calcula que para que alcance aquí el 63 % se requieren 30 segundos, en un hombre normal, en reposo, en el caso de que el gas sea insoluble en el tejido pulmonar y en la sangre; si no el tiempo será mayor.

El paso del gas a la sangre depende de:

1. Características y estado de las membranas alveolocapilares.
2. Caudal sanguíneo (irrigación pulmonar y frecuencia cardíaca).
3. Características fisicoquímicas del gas (coeficiente de difusión a través de la membrana alveolocapilar y coeficiente de reparto sangre-aire).
4. El gradiente de presiones entre el aire en los alveolos y la sangre capilar, conforme a la ley de Henry, y cuando se inhala una mezcla de gases, la absorción de cada uno de ellos se realiza de forma independiente, en función de la presión parcial individual (ley de Dalton; véase Glosario).

En el equilibrio se cumple que:

$$\frac{\text{Conc. en sangre}}{\text{Conc. en aire}} = \frac{\text{solubilidad en sangre}}{(\text{coeficiente de Ostwald})}$$

5. Gradiente de concentraciones del gas entre aire-sangre. Esto supone que la absorción es máxima al principio, pero se hace menor conforme aumenta la carga corporal.

Como la difusión de sustancias liposolubles a través de la membrana alveolar es más rápida que el paso de la sangre por los capilares pulmonares, se puede aceptar que ésta sale saturada, es decir, con concentración en equilibrio con la sangre alveolar. En otras palabras, el gas de los alveolos se equilibra instantáneamente con la sangre capilar-pulmonar. Como el lecho capilar pulmonar representa un flujo de 5 l/minuto, el agua corporal es de 41 litros, podría calcularse, con error por varias causas, que el gas en el agua corporal alcance el equilibrio con aire alveolar en aproximadamente 8 minutos. Sin embargo, al aproximarse el equilibrio, la velocidad se hace menor, por lo que se acepta que el tiempo real para alcanzar el 90 por 100 del equilibrio son 21 minutos. Como la sangre se lleva todo el gas que puede, en cada ocasión, a mayor flujo, mayor transporte, por lo que el flujo sanguíneo (volumen minuto cardíaco) será el factor limitante para el establecimiento del equilibrio en gases de baja solubilidad. En agentes muy solubles, todo el inhalado de cada vez pasa a la sangre y a los tejidos, y hasta que éstos están saturados, la sangre vuelve sin gas al pulmón, por lo que en este caso, el tiempo para lograr el equilibrio será muy superior, y como la sangre se lleva, cada vez que pasa por los pulmones, todo el gas que hay, el flujo no será el factor limitante, sino la frecuencia respiratoria.

De todo ello podemos deducir que la absorción por vía inhalatoria de gases o vapores liposolubles depende en definitiva de:

- a) Su solubilidad en la sangre.
- b) Estado funcional ventilatorio del sistema respiratorio.
- c) Volumen minuto cardíaco.

Cuando la sangre distribuye el gas por el organismo, aquel será retenido por los distintos tejidos, según también las anteriores características. La parte de gas que no es retenida vuelve a los pulmones.

Tabla 3.4. Ejemplos toxicocinéticos

Fármaco	Absorción Vía	Transporte por	Metabolismo		Excreción			
			Lugar	Metabolito pral.	T _{1/2}	Vía	Metabolito	% incamb.
Acetilsalicílico	GI, rápido	Proteínas		Hidrólisis. Hidroxilados	24 h	Orina	Varios	
Alcohol etílico	GI, inhalat.	Plasma	Hígado	Acetaldehído	5 h	Aire, orina		10
Aminofenazona	GI		Hígado		3 h	Orina		5
Anfetaminas	GI, fumada		Hígado	Oxidación Varios	3-30 h	Orina	Varios	30
Cannabis	Fumado, GI	Lipoproteínas	Hígado	Varios. THC-COOH	10 d	Orina	Varios, Glucur.	
Clopromazina	GI, i.m.	80% proteínas	Hígado Riñón	Varios		Orina	Varios	20
Cocaína	Mucosas, fuma.		Hígado Plasma	Benzoilecgonina	1-3 h	Orina	Varios	1-5
Fenacetina	GI			Varios	3 h	Orina	Aceraminofeno	
Haloperidol	GI	Proteínas	Hígado	Varios	5 d	Orina Bilis	Varios	40 15
Meprobamato	GI					Orina		90
Morfina	Subcut., i.m. GI incompleta	Proteínas	Hígado	N-desmet., O-metil	3 h	Orina Bilis, leche	Glucurónidos	7
Organofosforados	GI, Inh., cután.		Hígado Plasma	Oxida. (microsóm.) Hidrol. (esterasas)	4-40 d (a pH 8,5)	Orina Heces		

Tabla 3.5. Ejemplos farmacocinéticos de barbitúricos

Fármaco	Transporte	Acción	Metabolismo		Excreción			
			Lugar	Metabolito pral.	T/2 horas	Vía	Metabolito	% incamb.
Fenobarbital	40 % albúmina	Larga			35-95	Orina		30
Alilbarbitúrico		Media				Orina		20
Amobarbital		Media	Hígado	Oxi., Hidroxi Inactivos		Orina	50 % amb.	5
Heptobarbital		Corta	Hígado	Hidroxi Inactivos		Orina	Hidroxi	0
Pentobarbital	50 % proteína muy liposoluble	Corta	Hígado	80 % hidrolíc. inactivo	9	Orina	Hidroxi	0
Tiopental	Proteínas	Ultracorta				Orina		

Tabla 3.6. Ejemplos farmacocinéticos de benzodiazepínicos

Fármaco	Absorción	Metabolismo	Excreción		
			Vía	Tiempo	Metabolismo % incamb.
Clorazepato	GI, IV	Desmetil-Diazepam (en estómago)			
Diazepam	GI		Orina	3 días	75
Flurazepam	GI	Muy rápido a Hidroxietil- y N-Desalquil-		100 horas	0
Lorazepam	GI		Orina	3 días	
Nitrazepam y	GI		Orina		5
Flunitrazepam	GI, IV	varios	Leche Bilis	Ciclo enterohepático Sedación secundaria a 12 h.	

La absorción por el tejido dependerá del gradiente de concentraciones en sangre (C_s) y tejido (C_t), de la perfusión sanguínea (V_s), del volumen del tejido (V_t) y del coeficiente de partición tejido-sangre (λ). Una vez que la C_s permanece constante, C_t varía en función del tiempo, según:

$$C_t = \lambda \cdot C_s (1 - e^{-t/\tau})$$

donde

$$\tau = \frac{V_t \cdot \lambda}{V_s \cdot f}$$

representa el tiempo necesario para que C_t alcance el 63 por 100 de C_s .

Cuando en el aire que se respira deja de haber el gas o vapor que se estuvo inhalando hasta alcanzar el equilibrio, el gas comienza a pasar de la sangre al aire y de los tejidos a la sangre, con la misma cinética con que se absorbió.

Los gases poco solubles se liberan en cuanto la sangre los lleva al pulmón; los muy solubles sólo se liberan en pequeña proporción en cada paso por el pulmón, por lo que los factores limitantes son la frecuencia respiratoria y el volumen minuto.

El desprendimiento de un gas a partir de un líquido se realiza conforme a la llamada tensión parcial del gas en ese líquido, que es la presión ejercida por las partículas gaseosas sobre las moléculas del líquido que, a su vez, influyen sobre aquellas con la presión hidrostática; cuando ambas se igualan, las partículas gaseosas pasan a la fase gaseosa. Estas circunstancias deben ser tenidas en cuenta al realizar análisis del llamado *espacio en cabeza* (véase Capítulo 15, Sistemáticas analíticas toxicológicas).

En resumen, las curvas de eliminación o desequilibrio son las curvas de absorción o equilibrio invertidas.

Se admite que en la absorción continuada se alcanza el equilibrio en un tiempo 5-7 veces $t_{1/2}$, que es también el tiempo en que se elimina una dosis.

Control de la exposición

Para detectar la posibilidad de intoxicación por absorción de gases, y especialmente por vapores de disolventes, se pueden seguir varios métodos:

a) Análisis de sangre o de orina en muestras tomadas al final de la semana de trabajo.

b) Determinación de metabolitos urinarios de los gases en cuestión.

c) Estudio de las curvas de eliminación pulmonar, que puede reflejar la carga corporal acumulada después de un tiempo de exposición. Se ha visto que para mayor representatividad, las muestras de aire exhalado deben tomarse por lo menos unas seis horas después de terminar la absorción, y preferiblemente por la mañana antes de someterse a nueva exposición; esto nos daría la descarga de los tejidos grasos, reflejo de la acumulación.

La solubilidad de los gases en los lípidos se puede calcular por experimentación con un aceite vegetal o con n-octanol, y se expresa como el coeficiente de partición entre grasa y sangre a 38 °C:

$$S_L = \frac{S_G}{S_S}$$

A efectos de cálculos se considera que un individuo normal, no grueso, tiene de grasa el 15 por 100 de su peso. Para ver la equivalencia de esta grasa en su actuación como sangre:

$$10 \text{ kg de grasa} \times S_L = n \text{ litros de sangre.}$$

Experimentalmente se ha visto que cada individuo en reposo o en ejercicio físico retiene diferentes cantidades de los diferentes gases o vapores, y que estas retenciones son función de la ventilación pulmonar, o volumen de aire respirado. Este factor es más decisivo para los productos más solubles en sangre, por lo que el esfuerzo físico modificará más la concentración alveolar de acetato de etilo que la de benceno, por ejemplo.

Se ha propuesto que la concentración de equilibrio en el aire alveolar, C_{∞} :

$$C_{\infty} = \frac{C_i}{1 + \frac{M}{V_A}}$$

donde C_i es la concentración en el aire inspirado; V_A = ventilación alveolar y $M = \lambda \cdot V$, siendo, λ el coeficiente de reparto aire-sangre y V la *clearance* metabólica total del organismo, por lo que M es un parámetro peculiar de cada sustancia denominado *clearance metabólica aparente* (Droz y Fernández, 1977).

M depende de la solubilidad en la sangre, de las propiedades del tejido donde se metaboliza y de las características metabólicas.

Retención corporal de los disolventes (gases y vapores)

Hemos visto que la solubilidad de un gas en los lípidos corporales viene dada por su coeficiente de partición lípido/sangre a 38 °C:

$$S = \frac{S_L}{S_S}$$

Cuando la sangre y el agua corporal tengan una concentración C_s , de equilibrio, los depósitos grasos orgánicos tendrán:

$$C_L = S \cdot C_s$$

O sea, que si para un gas el coeficiente de partición S es 2, un volumen de lípidos tendrá en el equilibrio dos veces la concentración del gas en la sangre, o lo que es igual, un litro de grasa tendrá tanto gas como dos litros de sangre.

Para un valor alto de S , el gas en la sangre pasará rápidamente a los tejidos grasos, hasta que éstos consigan su concentración de equilibrio C_L ; al principio de la inhalación la sangre venosa que sale de los tejidos tendrá muy poco gas liposoluble, pero lentamente irá creciendo su concentración cuando el depósito graso vaya alcanzando su equilibrio o saturación.

Ahora bien, el flujo sanguíneo por la generalidad de los depósitos grasos es tan sólo una fracción muy pequeña del volumen minuto cardíaco (3 por 100). Realmente, la distribución del producto se hace de acuerdo con la irrigación de cada órgano. Por ello, la sangre, el agua corporal y el cerebro alcanzan el equilibrio con el gas en los alveolos, cuando los depósitos grasos aún están muy por debajo de él. Igualmente, cuando se interrumpe la absorción, una vez que la sangre y el agua han eliminado el gas, se produce una lenta salida desde los depósitos grasos, tanto más lenta cuanto mayor sea la liposolubilidad del producto.

Por otras razones, la eliminación de disolventes presenta dos curvas: la primera corresponde a la solubilidad en los órganos muy vascularizados, en el agua y en la sangre, y la segunda corresponde a la descarga de los depósitos grasos.

FACTORES QUE AFECTAN A LA TOXICOCINÉTICA

Los parámetros que definen la toxicocinética de una sustancia no dependen sólo de ésta, sino también del individuo, de su especie, disposición genética, sexo, edad, enfermedades, etc., así como de influencias externas, como dieta, exposiciones a xenobióticos (medicamentos, drogas de abuso, contaminantes, etc.), circunstancias climáticas, etc., todo lo cual justifica la reconocida *variabilidad interindividual*.

Las diferencias en algunos parámetros son más trascendentes que en otros; así, por ejemplo, las variaciones en el aclaramiento son de mayor importancia que las del volumen de distribución, porque los márgenes de variabilidad del aclaramiento (por situaciones de cansancio, ingesta de líquidos, funciones hepática o renal, etc.) son mucho más amplios y frecuentes que los del volu-

men de distribución; además, del aclaramiento depende que los tóxicos se acumulen y se incrementen su vida media y la carga corporal.

A pesar de los esfuerzos realizados, la farmacocinética y la toxicocinética distan mucho de ser ciencia exacta, matemática, pues sus distintas fases pueden ser afectadas por numerosos factores; veamos algunos (Tabla 3.7).

Los fármacos que precisan ser hidrolizados en el cuerpo para activarse, dependen de la actividad de las esterasas sanguíneas. En los niños prematuros y en los recién nacidos la actividad de estas enzimas es el 50-64 % de la de los adultos.

En el embarazo la distribución de los fármacos está afectada porque también lo están las proporciones de agua intra y extracelular. Además, el volumen minuto cardíaco está aumentado, lo que igualmente eleva la perfusión hepática y renal. Generalmente esto contribuye a elevar la «clearance», reduciendo tanto las concentraciones en suero como la acción de los fármacos. Los cambios hormonales también afectan la actividad enzimática (tanto por estimulación como por inhibición) y esto repercute en el aclaramiento.

Cuando el feto se desarrolla, aumenta el volumen de distribución de la madre, así como la capacidad metabólica del feto y de la placenta.

También la fase del ciclo menstrual, como el uso de anticonceptivos hormonales, o los estados de menopausia o andropausia pueden alterar las concentraciones de los fármacos en el suero.

La mayor proporción de tejido adiposo y más bajo peso corporal diferencia el volumen de distribución de la mujer.

Otro factor que afecta grandemente es la absorción concomitante de distintas sustancias, sean otros tóxicos, medicamentos, drogas de adicción, contaminantes, etc. Véase el capítulo sobre factores que modifican la toxicidad.

Tabla 3.7. Factores que afectan a la toxicocinética.

En la absorción

- Compliance o adaptabilidad (cambio de volúmenes ante cambios de presión interior y exterior en víscera hueca)
- Ruta de administración y técnica seguida
- Cinética de absorción
- Estado del fármaco
- Sustancias concomitantes

Distribución (volumen aparente de distribución)

- Edad, sexo, peso o superficie corporal
- Patologías
- Sustancias biógenas o exógenas concomitantes
- Metabolismo «primer paso»

Eliminación (velocidad de)

- Cinética de eliminación
- Edad, sexo, peso o superficie corporal
- Sustancias concomitantes
- Tiempo de absorción

Calidad de los análisis

- Momento del muestreo
- Estabilidad de la muestra
- Reproducibilidad del método de análisis

Cinética lineal y no lineal

Cuando las constantes de absorción, distribución y eliminación no varían con la dosis ni con el tiempo se consiguen relaciones lineales entre las dosis administradas y las concentraciones sanguíneas; al elevar aquéllas, se incrementan proporcionalmente éstas. Hablamos entonces de *cinética lineal*.

Pero con frecuencia se presentan en Toxicología *cinéticas no lineales* al ser influidas por diversas variables. Muy a menudo encontramos que, al variar la dosis, se saturan los mecanismos de absorción, o las proteínas plasmáticas, o los mecanismos de biotransformación, o se altera el pH, o al repetir la dosis se produce inducción enzimática, que disminuye la vida media, etc.

CINÉTICA DEL EFECTO

La evolución del efecto a lo largo del tiempo es función, lógicamente, de la concentración del fármaco junto a los receptores. Para relacionar recíprocamente el trinomio *concentración-tiempo-efecto* se elaboran modelos tridimensionales parecidos a los que en Termodinámica correlacionan presión-volumen-temperatura de los gases. Con estos modelos puede abordarse el estudio cinético del efecto de sustancias de acción reversible (como son la mayoría de los medicamentos), pero no de las que forman una unión covalente irreversible con los receptores, como ocurre con muchos tóxicos, tales como los agentes alquilantes, efectos citotóxicos de antibióticos, antimetabolitos, etc. En estos casos se intenta relacionar la fracción de células intactas con la concentración del tóxico en ese lugar y el tiempo.

De todas formas, persisten limitaciones para calcular, a lo largo del tiempo, el efecto después de absorber una sola dosis (relación tiempo-efecto) o para determinar, al cabo de un tiempo dado, el efecto de varias dosis (relación cinética dosis-efecto).

Los modelos propuestos (Tozer) para resolver estos problemas se suelen basar en dos suposiciones:

1.^a Que el efecto sea constante, independiente del tiempo y de la velocidad del metabolismo del tóxico. Es el caso de los efectos irreversibles,

2.^a Caso de los efectos reversibles en que, para los modelos compartimentales lineales clásicos, las concentraciones tisulares del fármaco son lineales con respecto a la concentración sanguínea en la fase β de eliminación. Existen dos tipos de relaciones:

a) El efecto es proporcional a la concentración del complejo receptor-fármaco, de acuerdo con la ley de acción de masas, en que se cumple:

$$K = \frac{[\text{complejo}]}{[\text{receptores}] \times [\text{fármaco}]}$$

b) La concentración del producto en las inmediaciones de los receptores disminuye exponencialmente en el tiempo:

$$[\text{tóxico}] = e^{-kt}$$

Es interesante conocer cómo disminuye el efecto de un fármaco que sufre la eliminación de orden uno.

Sea un modelo abierto, con absorción i.v., en que la intensidad del efecto en un momento dado es función de la cantidad de fármaco presente en ese momento, por encima de una concentración mínima ($C_{\min.}$) y considerando que los metabolitos son inactivos. Admitamos que el producto se elimina por uno o varios procesos exponenciales, siendo K la suma de las constantes de velocidad de eliminación, independiente de la dosis.

Se tiene que:

$$\log C = \log D - \left(\frac{K}{2,303} \right) \cdot t$$

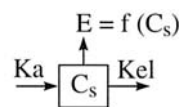
siendo C la concentración de fármaco remanente en el momento t.

En un modelo bicompartimental abierto en fase beta, se tendrían ecuaciones parecidas sustituyendo K por β . El efecto puede relacionarse con la concentración mediante la ecuación no-lineal

$$E = m \cdot \ln C - e$$

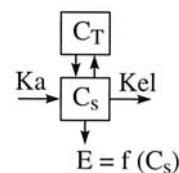
Veamos algunos ejemplos:

Modelo I: monocompartimental abierto



siendo C_s = concentración en sangre, el efecto será: E = función lineal de la concentración en sangre. $E = a + b \cdot C_s$.

Modelo II.a: bicompartimental abierto

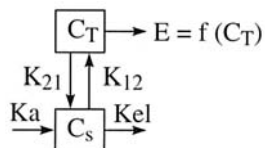


C_s = concentración en sangre.

C_T = concentración en tejido.

$$\%E = 100 - b \cdot C_s$$

siendo E una función lineal de la concentración en sangre (C_s).

Modelo II.b: bicompartimental abierto

$$\%E = 100 - b \cdot C_T$$

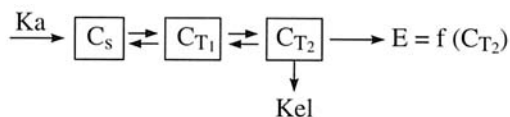
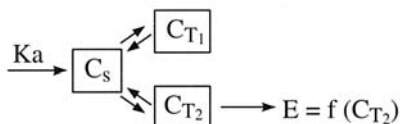
E = función lineal de C_T .

La concentración tisular se puede calcular por:

$$C_T = \frac{K_{12} D}{V_s (\alpha - \beta)} (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t})$$

y la C_s :

$$C_s = M \frac{D}{V_s (\alpha - \beta)} [(K_{12} - \beta) e^{-\beta t} - (K_{12} - \alpha) e^{-\alpha t}]$$

Modelo III.a: tricompartmental abierto**Modelo III.b: tricompartmental abierto****EJERCICIOS PRÁCTICOS DE TOXICOCINÉTICA**

(tomados de Barrios y Repetto, 2006)

1.º Un individuo de 70 kg de peso ingiere 0,4 mg de digoxina. ¿Qué concentración sanguínea alcanzará?

Coef. Vd (hombres) = 0,7 L/kg;

De la fórmula (24): $Vd = 70 \times 0,7 = 49$ L

y de (25): $Vd = Q \text{ (mg)} / C \text{ (mg/L)}$;

$C = Q / Vd = 0,4 / 49 = 0,0081 \text{ mg/L}$

2.º Una mujer de 60 kg ingiere 15 tabletas de fenitoína de 100 mg c.u. Asumiendo una absorción completa, ¿qué concentración sanguínea alcanzará?

Coef. Vd mujeres = 0,6 L/kg.

De las mismas fórmulas: $1500 / 60 \times 0,6 = 41,7 \text{ mg/L}$

3.º Un joven de 20 kg ingiere una cantidad no determinada de ácido acetilsalicílico (AAS); a las 4 horas, la concentración sanguínea era de 1.800 mg/L. ¿Qué cantidad de fármaco ingirió?

Coef. Vd AAS = 0,3 L/kg

$Vd = 20 \times 0,3 = 6$ L

Aplicando (23) $Q = Vd \cdot C$

$Q = 1800 \times 6 = 10,8 \text{ g}$

4.º Las concentraciones hemáticas de una sustancia fueron: a tiempo 0 desde la ingestión = 5 mg/L y a las 8 horas = 2 mg/L. ¿cuál es la Kel?

$t_1 = 0 \text{ hr}$, $C_{s1} = 5 \text{ mg/L}$

$t_2 = 8 \text{ hr}$, $C_{s2} = 2 \text{ mg/L}$

Aplicando la expresión (28)

$$Kel = \frac{\ln(C_{s1}/C_{s2})}{t_2 - t_1}; \frac{\ln(5/2)}{8} = 0,115 \text{ mg/h}$$

5.º Calcular Abc y Kel después de administrar por vía iv 250 mg/kg, en función de los valores de la tabla siguiente:

Tiempos	0	0,5	1,0	2,0	4,0	6,0	9,0	?
Cs	6,78	6,32	5,89	5,12	3,87	2,92	1,92	0

Aplicando las expresiones:

(25) $Vd = Q_0 / C_0$

(28) $Kel = (\ln C_0 - \ln C_t) / t$

y (27) $Abc = Q_0 / Ke \cdot Vd$

Tiempos	Cs	Abc	Kel
0	6,78	0,00	
0,5	6,32	3,27	
1,0	5,89	6,32	
2,0	5,12	11,83	0,14/h
4,0	3,87	20,82	
6,0	2,92	27,61	
9,0	1,92	34,88	
?	0	48,60	

6.º Calcular Kel y Vd tras la administración iv de 800 mg de una sustancia, si las concentraciones hemáticas a las 2 y a las 6 horas fueron:

$$Cs(2h) = 45,5 \text{ mg/L}; \quad Cs(6h) = 35,7 \text{ mg/L}$$

A partir de (28), tenemos que:

$$\ln Cs = \ln Cs(o) - Kel \times t$$

$$-Kel = (\ln 35,7 - \ln 45,5)/(6-2) = (3,58-3,83)/4$$

$$-Kel = 0,24/4 = -0,06$$

$$\ln Cs(2) = \ln Cs(o) - kel \times t$$

$$\ln 45,5 = \ln Cs(o) - 0,06 \times 2$$

$$\ln Cs(o) = 3,82 + 0,12 = 3,94$$

$$Cs(o) = 51,4; \quad \text{y de (25)} \quad Vd = Qt/Cs(t)$$

$$Vd = 800/51,4 = 15,6 \text{ L}$$

$$Y \text{ de (29)} \quad t_{1/2} = 16,5 \text{ h}$$

7.º Después de administrar por vía iv 100 mg de una sustancia, se determinan en el tiempo las concentraciones hemáticas y se construye una gráfica logarítmica de C contra el tiempo, resultando una recta con una pendiente de -0,0751 que intercepta al eje de ordenadas en 1,30. Del gráfico se deduce que corresponde a un modelo mono-compartmental.

Calcular $t_{1/2}$ y Vd.

$$\text{De (29)} \quad t_{1/2} = 0,693/Kel$$

$$\text{De Kel} = -2,303 \times \beta = -2,303 (-0,0751) = 0,173/h$$

$$t_{1/2} = 0,693/0,173 = 4,0 \text{ h}$$

$$Y \text{ de (25)} \quad Vd = Q/C$$

$$Co = \text{antilog de } 1,30 = 20$$

$$Vd = 100/20 = 5 \text{ L}$$

8.º Calcular el aclaramiento renal de un xenobiótico con una vida media de 80 minutos y un Vd de 10 L.

$$\text{De (34)} \quad t_{1/2} = 0,693 \times Vd/Cl; \quad Cl = 0,693 \times Vd/t_{1/2};$$

$$Cl = 0,693 \times 10.000 \text{ mL} / 80 = 86,62 \text{ mL/min}$$

9.º ¿Cuanto alcohol contiene en el cuerpo un individuo de 80 kg de peso y una alcoholemia de 2 g/L?

$$\text{Coef. Vd} = 0,7$$

$$Q = 80 \times 0,7 \times 2 = 112 \text{ gramos}$$

10.º ¿Cuánto alcohol hay en el cuerpo de una persona de 70 kg que al determinarse el alcohol en el aliento dio una concentración de 0,5 mg/L?

Nota.-Las concentraciones de alcohol en el aire espirado, expresadas en mg/L, equivalen aproximadamente a la mitad de las de alcohol en sangre, expresadas en g/L.

$$Q = 70 \times 0,7 \times 0,5 \times 2 = 49 \text{ gramos}$$

11.º ¿Cuál era la alcoholemia 3 horas antes de la toma de la muestra, si la determinación dio 1,8 g/L?

$$\beta = 0,15$$

$$\text{Alcoholemia anterior} = (\beta \times t) + g/L$$

$$(0,15 \times 3) + 1,8 = 2,25 \text{ g/L}$$

12.º ¿Qué alcoholemia alcanzará un hombre de 70 kg a las 2 horas de beber 105 mL de coñac?

$$\text{Coñac} = 46 \% \text{ de etanol.}$$

$$\text{Densidad del etanol} = 0,79, \text{ luego } 105 \text{ mL de coñac} = 105 \times 0,79 \times 0,46 = 38,6 \text{ g de alcohol}$$

$$\text{Coef. Vd} = 0,7$$

$$\text{Alcoholemia} = \frac{\text{g de alcohol}}{\text{Peso corp.} \times 0,7} =$$

$$= \frac{38,6}{49} = 0,79 \text{ g/L}$$

13.º ¿Cuánto tiempo tardará un individuo con una alcoholemia de 1 g/L en metabolizar todo el alcohol (llegar a 0 g/L)?

$$\beta \text{ oscila entre } 0,1-0,2; \text{ tomando } 0,15 \text{ g/L}$$

$$N.º \text{ de horas} = \frac{\text{alcoholemia}}{\beta} = \frac{1}{0,15} = 6,6 \text{ horas}$$

14.º ¿Qué cantidad de etanol es capaz de metabolizar una persona normal (hombre) de 70 kg de peso?

$$\beta = 0,15 \text{ g/L/hora}$$

$$\text{Por hora: } 0,15 \times 70 \times 0,7 = 7,35 \text{ g de etanol/ hora}$$

$$\text{Por día: } 7,35 \times 24 = 175 \text{ g/día}$$

BIBLIOGRAFÍA

- Barrios C, Repetto M. Toxicocinética. En: M. Repetto (ed.) *Toxicología de Postgrado-06*. Área de Toxicología Univ. Sevilla, 2006.
- Baselt R. *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*, 4.ª ed. Foster City, California. Chemical Toxicology Institute, 1995.
- Benet LZ, Zia-Amirhosseini P. Basic principles of pharmacokinetics. *Toxicologic Pathology*, 1995; 23, (2): 115-230.

- Boratto M, McIntyre IM, Drummer OH. The correlation between postmortem benzodiazepines blood and liver concentrations. *Proceedings 40th International Meeting*. The International Association of Forensic Toxicologists. Paris. 2002.
- Calabresse F. *Pollutants and high-risk groups*. Nueva York: Macmillan Pub. Co., 1975.
- Clark B, Smith D. *An introduction to pharmacokinetics*. Oxford: Blackwell Sc. Pub., 1981.
- Curry H, Sunshine I. The liver/blood ratio in cases of barbiturate poisoning. *Toxicology and Applied Pharmacol.* 1960; 2, 5: 602-605.
- Dos Santos AC. *La microextracción en fase sólida en la determinación de metadona y su principal metabolito en plasma y saliva*. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 1999.
- Ellenhorn MJ, Schonwald S, Ordog G, Wanerberger J. (eds.). *Ellenhorn's Medical toxicology: diagnosis and treatment of human poisoning*. 2.^a ed. London: Williams & Wilkins, 1997.
- Fichtl B. Principles of toxicokinetics. En: Marquardt, Schäfer, McClellan y Welsch (eds.). *Toxicology*, San Diego, Academic Press, 1999.
- Flórez J, Martínez-Lage JM. *Neurofarmacología fundamental clínica*. Pamplona, Ed. Universidad de Navarra, 1983.
- Ford MD, Delaney K, Ling L, Erikson T. *Clinical toxicology*. Philadelphia. Saunders Company. 2001.
- Garret E. En: Chamberlain J. *Analysis of drugs in biological fluids*. Florida, C.R.C. Press, 1985.
- Gibaldi M, Perrier D. *Farmacocinética*. Barcelona: Ed. Reverté, S. A., 1982.
- Gut I, Cikrt M, Plaa GL. *Industrial and environmental xenobiotics*. Berlín, Springer-Verlag, 1981.
- Hayes AW. *Principles and methods of toxicology*. 3.^a ed. New York. Raven Press, 1994.
- Haeckel R, Hänecke P. Application of saliva for drug monitoring: an in vivo model for transmembrane transport. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1996; 34: 171-191.
- Haeckel R, Walker RF, Colic D. References ranges for mixed saliva collected from the literature. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1989; 27, 4: 249-252.
- Hidalgo E, Repetto M. Difusión, distribución y redistribución postmorte de tóxicos. Estudio experimental. *Cuadernos de Medicina Forense*. 1998; 11:11-30
- Hilberg T, Bugge A, Beylich KM *et al*. Diffusión as a mechanism of postmortem drug redistribution: an experimental study in rats. *Int J Leg Med.* 1992; 105:87-91.
- Jurado C, Giménez MP, Menéndez M, Repetto M. Simultaneous quantification of opiates, cocaine and cannabinoids in hair. *For. Scienc. Int.*, 1995; 70, 165-174.
- Kiechel JR, Laurent S, Lavene D, Lavielle B. *La pharmacocinetique*. Rucil-Malmaison, Cahiers Sandoz, 1980.
- Llanos RM, Mercer JFB. The molecular basis of cooper homeostasis and cooper-diseases. *DNA and Cell Biology*. 2002; 21,4: 259-270.
- Loomis TA, Hayes AW. *Essentials of toxicology*. New York, Academie Press, 1996.
- Luna A. La interpretación de los resultados toxicológicos en el cadáver. *Confluencias temas medico-legais*. Inst. Med. Legal. Coimbra, 1989.
- Lutz E, Heinzl H. Toxicokinetic modeling for environmental health problems. *International Conf. on statistical challenges in environmental health problems*. Fukuoka, 2001.
- Nordberg M, Duffus J, Templeton DM. Glossary of terms used in Toxicokinetics. IUPAC, *Pure App. Chem.* 2004; 76,5, 1033-1082. [Http://www.iupac.org/publications/chemistry and human health](http://www.iupac.org/publications/chemistry_and_human_health).
- Notari R. *Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics*. 3.^a ed. New York: Marcel Decker Inc., 1980.
- Plaa JM, Pozo A. *Manual de biofarmacia*. Barcelona: Facultad de Farmacia, 1974.
- Pelissier-Alicot AL, Gaulier JM, Champsaur P, Marquet P. Mechanisms underlying postmortem redistribution of drugs: a review. *J. of Analytical Toxicology*. 2003; 27:533-544.
- Pounder DJ, Yonemitsu K. Postmortem absorption of drugs and ethanol from aspirated vomitus -an experimental model. *J. Forensic Sci.* 1991;51:189-195.
- Reid E, Wilson J. *Drug determination in therapeutic and forensic contexts*. New York: Plenum Press, 1984.
- Renwick AW. *Pharmacokinetic and toxicokinetic understanding biodisposition data*. London, Taylor & Francis, 1996.
- Repetto M. *Toxicología de los aerosoles*. Sevilla. Ed. Universidad de Sevilla, 1978.
- Rowland M, Tozer TN. *Clinical pharmacokinetics*. 3.^a ed. London. Williams & Wilkins, 1995.
- Sawyer WR, Forney RB. Postmortem disposition of morphine in rats. *Forensic Sci. Int.* 1988; 38:259-273.
- Smith AD, Thorne MC. *Pharmacodynamic models of selected toxic chemicals in man*. (Routes of Intake and Implementation of Pharmacodynamic Models). Vol. 2. Brussels and Luxembourg: 1986.
- Teorell T. Kinetics of distribution of substances administered to body, extravascular modes of administration. *Arch Int Pharmacodyn.* 1937; 57, 205-225.
- Wagner JC. *Biopharmaceutics an relevant pharmacokinetics*. Hamilton, Ill: Drug Intelligence Publications, 1971.
- Welling PC. Differences between pharmacokinetics and toxicokinetics. *Toxicologic Pathology*, 1995; 23, (2), 143-147.
- Wepierre J. *Abregé de pharmacologie generale et moleculaire*. 2.^a ed. Paris: Ed. Masson, 1981.
- Wolff K, Hay AW, Raistrick D, Calvert R. Steady-state pharmacokinetics of methadone in opiods addicts. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1993; 44,2: 189-194.

4

BIOTRANSFORMACIONES DE LOS TÓXICOS

El término *biotransformación* ha sido definido como cualquier transformación química de una sustancia producida por organismos vivos o por preparaciones obtenidas de estos (Nagel, 1991), mientras que *metabolismo* es la suma de todos los procesos químicos y físicos que tienen lugar en un organismo; en sentido más estricto, cambios físicos y químicos que sufre una sustancia en un organismo. Incluye la incorporación y distribución en el organismo de los componentes químicos, los cambios (biotransformaciones sufridas) y la eliminación de los compuestos y de sus metabolitos (OMS / WHO, 1989^a).

Por su parte, *catabolismo* es el proceso de biotransformación de moléculas complejas a otras más simples, lo que proporciona a menudo energía biológicamente disponible. Lo contrario o antagónico, es decir, biotransformar para eliminar, es *anabolismo*.

Consecuentemente, el término de significado más general es metabolismo, y el relacionado, algo más restringido, biotransformación; anabolismo y catabolismo son antagónicos. Como el vulgo suele entender como similares metabolismo y catabolismo (aprovechamiento o asimilación de los alimentos), nosotros preferimos utilizar la expresión *biotransformación de los xenobióticos*, pues los organismos vivos se esfuerzan en transformar las sustancias químicas que absorben, bien para asimilarlas como alimento o bien para eliminarlas, mediante su derivación a productos más fácilmente excretables.

Cuando una sustancia extraña ingresa en el organismo, la biotransformación desempeña un impor-

tante papel en la reducción o en el incremento de posibles efectos tóxicos, de tal forma que, al igual que sustancias nocivas son destoxificadas, o desprovistas de su capacidad lesiva, unos compuestos atóxicos o poco tóxicos pueden ser transformados en otros perniciosos, y quizás éstos sean luego eliminados después de un posterior proceso destoxicante.

Las biotransformaciones de los xenobióticos se pueden realizar por vía puramente química (hidrólisis por la presencia de agua o de cambios del pH, oxidaciones, etc.) o por vía bioquímica, con participación de enzimas, cuantitativamente más importante. Como sabemos, las enzimas son moléculas de proteínas especializadas que, según su propia estructura espacial y distribución electrónica, se unen transitoriamente a otras moléculas (sustrato) para las que tienen gran, pero no absoluta, especificidad; como consecuencia de la unión, el sustrato queda modificado y la enzima se separa intacta y dispuesta para una nueva intervención; esto último y el hecho de que con su acción la reacción de modificación del sustrato se realice a velocidad muy superior a la que se haría si la reacción fuese exclusivamente química, confiere a las enzimas la categoría de *catalizadores*. En su acción suelen estar acompañadas de *coenzimas* (generalmente vitaminas) y de *cofactores* (iones inorgánicos). Contamos con unas doscientas de enzimas que, en general, son catalizadores lentos, muchos de ellos inducibles por el sustrato, y se sabe que ellas no funcionan aisladamente, sino dentro de una organi-

zación con varios niveles de creciente complejidad, como: enzima, complejo enzimático y metabolón, bajo el control de las chaperonas.

Como veremos en el capítulo siguiente, la actividad enzimática puede ser modificada por el propio sustrato o por otras sustancias presentes en el medio, produciéndose un aumento o una disminución de la misma y, consecuentemente, una alteración de las condiciones normales o fisiológicas, lo que supone un proceso patológico o tóxico en el individuo. Por otra parte, comparando unos individuos con otros, se comprueba fácilmente que unos poseen determinadas enzimas con mayor o menor actividad que otros; esa coexistencia de diferentes grado de actividades enzimáticas recibe el nombre de *polimorfismo enzimático*, consecuente con diferente funcionalidad de los genes que codifican, expresan o sintetizan aquella enzima (*polimorfismo genético*). Esta variabilidad, materia de estudio de la Toxicogenética, tiene una gran trascendencia en Toxicología, porque un individuo que biotransforme un xenobiótico a un compuesto inactivo experimentará menor toxicidad que otro individuo que lo haga lentamente o lo biotransforme en otro más tóxico. Los polimorfismos genéticos no solo se manifiestan en la actividad de las enzimas biotransformadoras, sino también en las cascadas bioquímicas, la síntesis de las proteínas transportadoras, la sensibilidad de los receptores, los mecanismos de reparación de moléculas (ADN, etc.) o tejidos dañados, etc.

Los procesos bioquímicos que se desarrollan durante una intoxicación son, en gran parte, paralelos a la farmacocinética de cualquier sustancia de procedencia exógena, siguiendo una serie de etapas en las vías metabólicas.

Una sustancia externa llegada al ser vivo puede seguir varios caminos: a) puede ser eliminada sin

sufrir alteración alguna; b) puede experimentar transformaciones que hagan más fácil su eliminación; c) puede experimentar modificaciones estructurales que aumenten, disminuyan o cambien su cualidad tóxica (Fig. 4.1).

Además del camino o vía metabólica seguida, es decisivo el *factor tiempo*. Si un compuesto es metabolizado a otro más tóxico, cuanto más rápidamente se realice esta transformación, más peligroso será el proceso, pues no se dará tiempo a los fenómenos destoxicativos, y la acumulación del catabolito de toxicidad exacerbada multiplicará el peligro.

Según Paton, el efecto de un tóxico no depende sólo de la proporción de receptores ocupados por aquél, sino también de la velocidad con que esto ocurre. Por tanto, es importante el tiempo que requieren los procesos de difusión y las biotransformaciones, ya que una vez que el tóxico ha sido absorbido comenzarán los procesos de modificación de su molécula, en los que «la forma de transporte» se metabolizará a formas tóxicamente activas, incluso aún más activas, o bien a metabolitos de toxicidad diferente (metanol a formaldehído, como se representa en la Figura 4.4), o bien a sustancias atóxicas y, finalmente, a productos eliminables. Recuérdese que metabolismo no es sinónimo de destoxicación.

En un momento dado, podremos encontrar en el líquido extracelular las siguientes formas del xenobiótico (Fig. 4.2):

- a) Compuesto primitivo libre.
- b) Compuesto primitivo unido a proteínas (forma de transporte).
- c) Compuesto en una o varias formas activas.
- d) Derivados inactivos.
- e) Derivados excretables.

Figura 4.1. Posibilidades metabólicas.



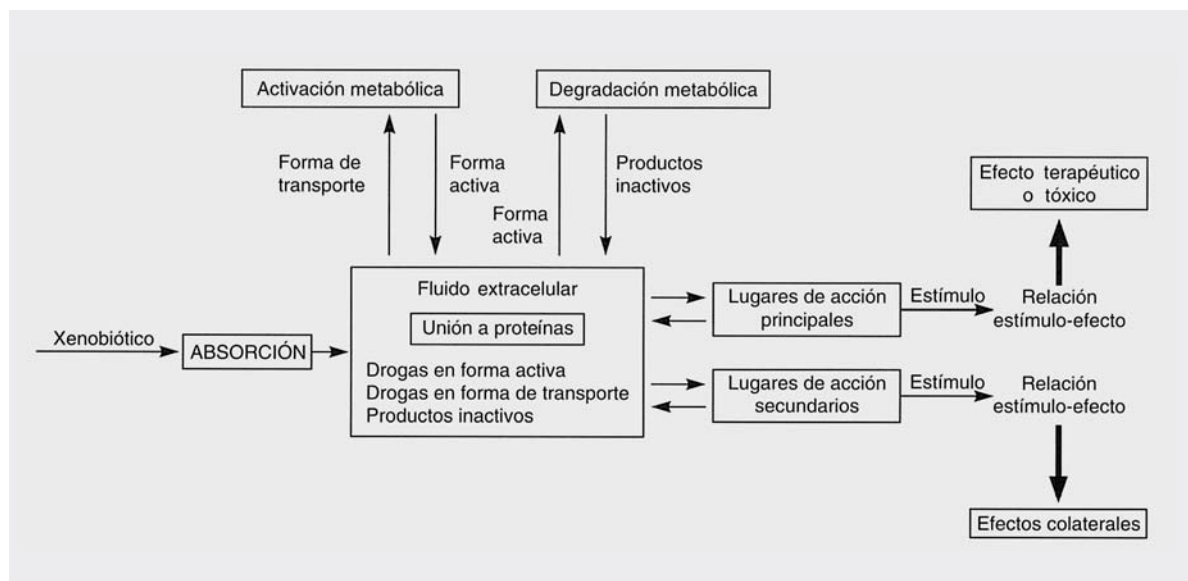


Figura 4.2. Formas del xenobiótico en el líquido extracelular.

La mayor parte de los xenobióticos de interés toxicológico son lipófilos, cualidad que les permite atravesar las membranas biológicas, y por esta misma razón son difícilmente eliminables por la principal vía de excreción, que es la orina. Al objeto de incrementar esta posibilidad, el organismo somete al xenobiótico a una serie de transformaciones que fueron clasificadas por Williams (1969) en dos grupos:

Fase I.- Comprende aquellas biotransformaciones que aumentan la hidrosolubilidad del compuesto mediante la introducción de grupos o funciones de carácter polar, como OH^- , NH_2^+ , COH , COOH , SH^- , etc. que, además, por ser más reactivos, capacitan al compuesto para experi-

mentar la fase siguiente; generalmente, de un mismo compuesto se derivan varios metabolitos, algunos de los cuales son más tóxicos que el compuesto original.

Fase II.- Está constituida por las reacciones de conjugación, en las que sustancias con los grupos polares aludidos se unen a reactivos endógenos para formar derivados aún más hidrosolubles; sólo en algunos casos, como en la acetilación de ciertas sulfamidas, el derivado es menos hidrosoluble y cristaliza en el riñón.

Según exponemos en la Tabla 4.1, las sustancias hidrosolubles muy polares, se excretan directamente por la orina; las poco polares

Tabla 4.1. Posibilidades toxicocinéticas de las sustancias.

Biotransformación	Producto hidrosoluble		Producto liposoluble		Alquilante
	Muy polar	Poco polar	Metabolizable	Poco metabolizable	
FASE I (Polarización)	—	—	X	X	
FASE II (Conjugación)	—	X	X		
Eliminación	X	X	X	Secuestro fisicoquímico	Secuestro químico

requieren ser conjugadas previamente. Por su parte, los xenobióticos liposolubles metabolizables han de experimentar las reacciones de las Fases I y II, en tanto que los poco biotransformables quedan retenidos en los lípidos del organismo y sólo serían excretables con la bilis por las heces y en menor proporción por la leche. Finalmente, las sustancias (sean primitivas o sus metabolitos) muy reactivas se unirán químicamente, por un tiempo variable, a moléculas orgánicas.

También es posible una Fase III, cuando se biotransforman de nuevo los conjugados formados en la Fase II.

BIOTRANSFORMACIONES EN LA FASE I Ó DE PRIMER PASO

Consisten fundamentalmente en reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, catalizadas por diferentes enzimas (Tabla 4.2) que, aunque son más abundantes en el hígado, se hallan repartidas por todo el organismo y presentan especial actividad en algunas localizaciones, como se esquematiza en la Figura 4.3 y se representa en las Figuras 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.11 y 4.14.

Otras biotransformaciones de gran interés toxicológico, como la transtiolación, se verán en el capítulo de *Mecanismos de toxicidad*.

Tabla 4.2. Reacciones de Fase I y enzimas implicadas

Reacción	Enzimas	Ejemplos
1. Oxidación	a. Deshidrogenasas b. Oxidasas c. Oxigenasas d. Ciclooxygenasas	Alcoholdehidrogenasas Monooxygenasas (MFO) Dioxigenasas
2. Reducción	Reductasas	Aminorreductasas Glutación reductasas Nitrorreductasas Quinonarreductasas
3. Hidrólisis	Hidrolasas	Esterasas Carboxilesterasas Colinesterasas Fosfatasas Lipasas Amidasas
4. Desalquilación	Desalquilasas Oxidasas	
5. Hidratación	Hidratasas	Epóxido hidrolasas
6. Isomerías		

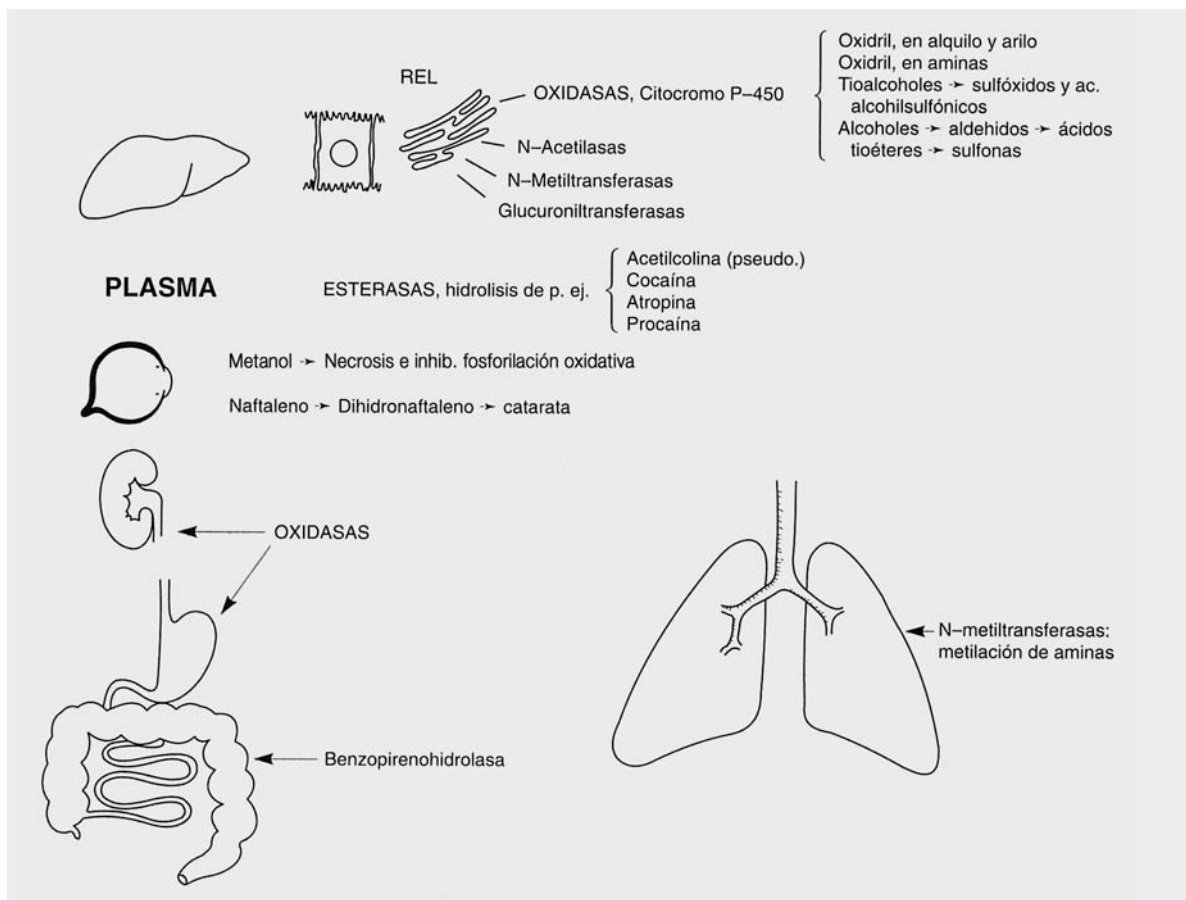


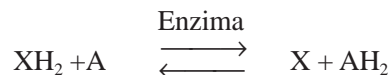
Figura 4.3. Localización de algunas transformaciones enzimáticas. Aunque las enzimas están distribuidas por todo el organismo, en algunos tejidos y particularmente en determinados lugares de los mismos existe mayor actividad de ciertas enzimas.

I.1. Reacciones de oxidación

Puede afirmarse que las más importantes biotransformaciones que experimentan los tóxicos se basan en reacciones de oxidación y de reducción, que siempre se producen emparejadas, ya que para que una molécula se oxide otra se debe reducir, y esto puede volver a repetirse, por lo que reciben el nombre de reacciones de oxidación-reducción y ciclos redox. Se desarrollan bien por introducción de oxígeno o eliminación de electrones (hidrógeno) en el sustrato, con participación de donadores o aceptores de los mismos.

Estos procesos bioquímicos oxidativos son catalizados por tres grupos principales de enzimas:

a) *Deshidrogenasas*: La reacción catalizada por ellas puede representarse como sigue, simbolizando por X al sustrato, por XH_2 al sustrato reducido, por A al aceptor de electrones, y por AH_2 el compuesto que queda reducido:



Como ejemplos tenemos la oxidación de etanol a acetaldehído, y la de metanol a formaldehído (Fig. 4.4).

b) *Oxidasas*: Catalizan oxidaciones en las que el oxígeno es el aceptor de electrones y resulta reducido a agua, o bien transformado en peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) o en radical superóxido.

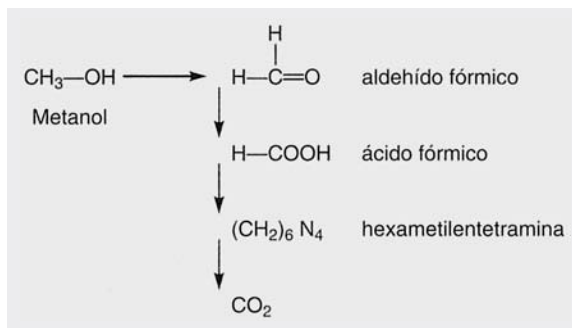
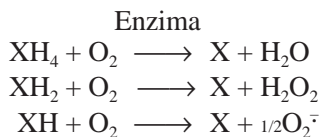
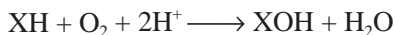


Figura 4.4. Exarcebación de la toxicidad. El metanol se metaboliza pasando por formaldehído y ácido fórmico; en el ojo, el proceso desacopla la fosforilación oxidativa en la retina, y origina floculación de proteínas con necrosis del nervio óptico y ceguera.



c) *Oxigenasas*: Catalizan la incorporación de oxígeno al sustrato; se subdividen en:

1. *Monooxigenasas*: se denominan también hidroxilasas y *oxidadas de función mixta* porque del oxígeno molecular llevan un átomo para formar agua (como las oxidadas) y otro al sustrato; originan grupos alcohol y epóxido.



Los epóxidos (Fig. 4.5) son muy tóxicos y cancerígenos, por su gran reactividad con lípidos, proteínas y ADN. (véase Cap. 7).

2. *Dioxygenasas*: incorporan los dos átomos de oxígeno al sustrato, por lo que también reciben el nombre de oxígeno-transferasas:

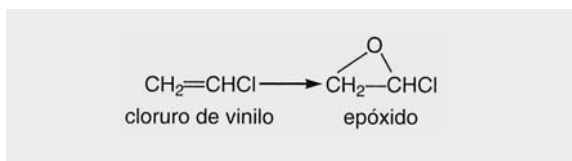


Figura 4.5. Formación de un epóxido cancerígeno.

Las monooxigenasas son microsómicas y no microsómicas (véanse a continuación los apartados c.1 y c.2); precisan la participación de un segundo sustrato o cosustrato que cede electrones para reducir el átomo de oxígeno, que se reduce a agua; normalmente el cosustrato es NADH o NADPH.

Consideremos las oxidaciones con más detalle:

c.1. *Oxidaciones microsómicas de función mixta (MFO)*

Estas oxidaciones están catalizadas por un sistema multienzimático no específico, constituido por diferentes monooxigenasas (véase párrafo anterior), localizadas en el retículo endoplásmico. Este sistema se simboliza con las siglas MFO, que significan *oxidadas de función mixta*.

En el interior de la célula, bañado por el citoplasma, está el retículo endoplásmico o ergastoplasma, consistente en un laberinto de tubos comunicados por los que circulan las sustancias que se van a metabolizar. El ergastoplasma aparece al corte como membranas o vesículas de dos tipos, denominados retículo endoplásmico liso (REL) y retículo endoplásmico rugoso o granular (RER), así denominado por mostrar en su superficie los ribosomas, encargados de la síntesis proteica; en las membranas del REL se hallan las enzimas metabolizadoras.

Parece que cuando llega una sustancia al citoplasma, el RER sintetiza las enzimas necesarias y los ribosomas que intervienen se desprenden, con lo que el RER se transforma en REL; por ello, si la sustancia que llegó fue un inductor enzimático, el REL experimenta una notable proliferación. Una vez que se desarrollan las reacciones enzimáticas metabólicas, el aparato de Golgi se encargará de excretar los productos fuera de la célula.

Los microsomas son fracciones de retículo endoplásmico, y pueden separarse mediante homogeneización de un tejido y centrifugación fraccionada. Si se prepara un homogeneizado en sacarosa 0,25 M y se centrifuga a $700 \times G$ durante 10 min, se separan las células intactas, núcleos y restos; el sobrenadante se centrifuga ahora a $15.000 \times G$ durante 10 min, y se separan las mitocondrias; después se centrifuga el sobrenadante (que ahora recibe el nombre de fracción postmitocondrial) a $100.000 \times G$ durante 60 min y se logra

decantar los microsomas, que representan un 15-20 por 100 de la masa celular total.

Los constituyentes microsómicos (solubles o no) que rigen los procesos de oxidorreducción son:

Cosustratos:

NAD y NADH
NADP y NADPH
FAD y FADH
FMN y FMNH

Enzimas oxidasas:

Sistemas MFO - cit P-450 reductasa
MFO - FAD

Enzimas acopladas:

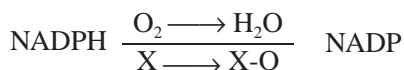
NADPH - cit P-450 reductasa

Estos constituyentes no sólo se encuentran en el hígado, sino en otros tejidos como el riñón, pulmón, corteza suprarrenal, mucosa intestinal, etc. Recordemos en que consisten:

NAD⁺ y *NADH* (Nicotinamida-adenín dinucleótido difosfato y su forma reducida). Intervienen fundamentalmente en los procesos respiratorios.

NADP⁺ y *NADPH* (Nicotinamida-adenín dinucleótido trifosfato y su forma reducida).

Es un derivado de la vitamina PP e interviene como coenzima o cosustrato de las enzimas oxidasas u oxigenasas, según el esquema:



FAD (Flavín-adenín dinucleótido).

Se reduce a *FADH*

FMN (Flavín-mononucleótido): Derivado de la vitamina B₂ (riboflavina). Se reduce a *FMNH*.

cit P-450 (citocromo P-450). La P significa pigmento, y el 450 es la longitud de onda donde tiene su absorción espectral máxima el complejo que este citocromo forma con el monóxido de carbono.

Los citocromos son enzimas oxidasas, constituidas por proteína con hierro ligado (porfirina, hemoproteína o hemotiolato de proteína); están presentes en los microsomas y en las mitocondrias y juegan el papel principal en la actividad de la mayoría de las MFO. Son las oxidasas terminales de las cadenas de oxidorreducción para la mayoría de los xenobióticos; mediante el cambio reversible de su hierro de ferroso a férrico, favorece el intercambio de electrones. Los electrones necesarios para su posterior reducción son suministrados por la enzima acoplada *NADPH*-citocromo *P-450 reductasa*, flavoproteína que transfiere dos electrones al cit P-450 desde la *NAD (P) H*.

De este citocromo se han identificado diversas isoenzimas que tienen actividades específicas sobre distintos sustratos y presentan diferencias electroforéticas y espectrales (los máximos de absorción del complejo con CO están a 446, 448, etc.), por lo que se dice que forman una superfamilia de enzimas, cuya síntesis está regida por más de 100 familias de genes, con sus correspondientes subfamilias y variedades individuales; esta diversidad explica, en gran medida, las variaciones en la biotransformación y toxicidad de muchos xenobióticos frente a las diferentes especies e incluso los distintos individuos, y ha sido preciso elaborar una nomenclatura y simbología para dominar esta clase de *polimorfismo enzimático*.

Así, para aludir a la familia se propuso utilizar los ordinales romanos: I, II, III, IV, XI, XVII, XIX, XXI, etc. (aunque muchos usan actualmente los números arábigos), seguidos de letras mayúsculas, de la A a la E, para señalar la subfamilia, y por números arábigos que indican el gen individual que ordena la síntesis. Así, el citocromo

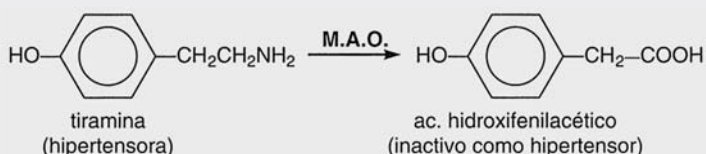


Figura 4.6. Inactivación de aminas.

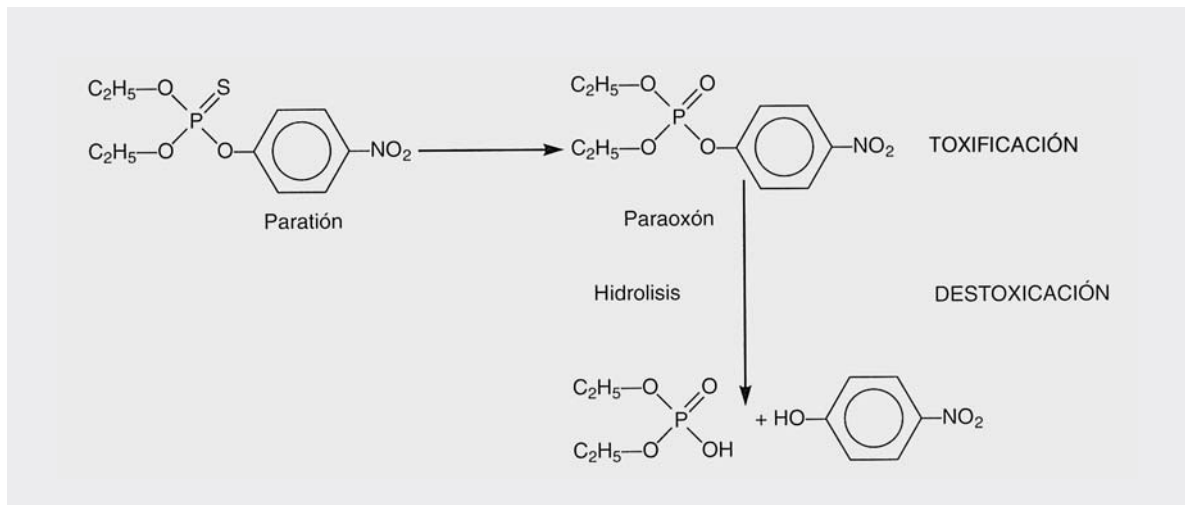


Figura 4.7. Mecanismos de aumento y de disminución de la toxicidad del plaguicida organofosfato paratión, primero por desulfuración oxidativa y después por hidrólisis.

designado antes como cit P-480, se denomina ahora cit P-450 IA 1, y el gen que lo sintetiza como CYP1A 1, si bien algunos autores simbolizan con CYP al citocromo. Las familias 1, 2 y 3 de CYP constituyen los principales biotransformadores de xenobióticos en mamíferos. Puede consultarse una lista completa de CYPs en la página Web: <<http://drnelson.utmem.edu/cytochromeP450.html>>.

Como hemos indicado, los citocromos tienen sustratos específicos. Así, por ejemplo:

Entre las isoformas de CYP, la CYP2E1 juega importante papel en la biotransformación y activación de compuestos lipófilos a intermediarios tóxicos o carcinógenos.

El cit CYP1A 1 oxida los hidrocarburos policíclicos, que son moléculas grandes, rígidas, con anillos heteroaromáticos coplanares, y son buenos acepto-

res de electrones. La familia CYP1 es más abundante en pulmón, linfocitos y placenta que en hígado; la CYP1A2 constituye el 10% del CYP hepático. La síntesis de las isoenzimas PIIB es inducida por el fenobarbital; sus sustratos son moléculas globosas, no planares, con gran flexibilidad conformacional, y son pobres aceptores de electrones; esta CYP2 es la familia CYP más frecuente en mamíferos y es activadora de carcinógenos (Tabla 4.3).

La subfamilia cit PIIC de los humanos participa en el metabolismo de numerosos xenobióticos; así, el cit P II C8 interviene en la hidroxilación aromática de warfarina y fenitoína; el cit P II metaboliza la tolbutamida y algunos antiinflamatorios no esteroideos; el cit P II C 18 hidroxila la S-mefenitoína y, al contrario que el anterior, no es inhibido por sulfafenazol. Los sustratos de las isozimas del cit P II D son moléculas con un grupo básico nitrogena-

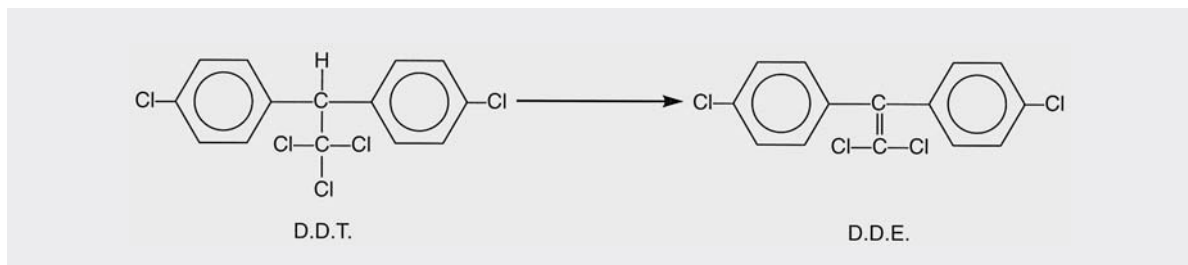


Figura 4.8. La intervención de una enzima desclorhidrasa transforma el DDT en DDE, menos tóxico.

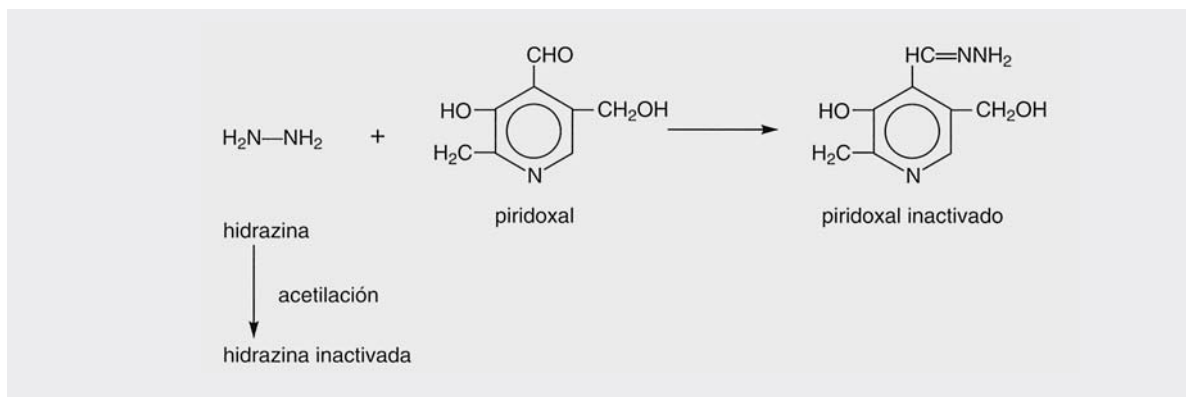


Figura 4.9. Inactivación de aminas.

do, especialmente los que se ionizan a pH fisiológico, como por ejemplo, debrisoquina, esparteína, propranolol (que sufren hidroxilación aromática), metoprolol (hidroxilación alifática), amiflamina (N-desalquilación), etc. Se inhiben por quinina y su diastereoisómero quinidina.

También la familia cit P III A interviene en el metabolismo de numerosas sustancias, fundamentalmente liposolubles y globosas, como la ciclosporina A, nifedipina, verapamilo, etc.

La función del cit P-450 (CYP) es la de transportar un átomo de oxígeno desde la molécula de éste hasta el sustrato; el O remanente se reduce a agua, con intervención de reductores equivalentes del cofactor NADPH y, en ocasiones, de NADH.

Parece que el CYP forma un complejo multimérico en la membrana endoplásmica con la flavoproteína NADPH-reductasa. Después de las transferencias electrónicas, queda un complejo ($\text{Fe}^{2+}-\text{O}_2^-$) altamente activado, que puede transferir O al sustrato o liberar especies activas de oxígeno, como peróxido de hidrógeno y otras (Fig. 4.10).

Se acepta que la escisión heterolítica del enlace O-O y la unión de dos protones origina una molécula de agua y $(\text{FeO})^{3+}$ intermediario, con gran potencial de transferencia de O, que pasa al sustrato.

El esquema de una cadena de oxidorreducción microsómica lo podemos ver en la Figura 4.10.

Tabla 4.3. Principales isoenzimas del citocromo P 450 en humanos.

Isoenzima	Ejemplos de sustrato	Toxifica	Destoxica
CYP 1A1	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).	Benzopireno	Cafeína
CYP 1A2	Aminas aromáticas, cafeína, fenacetina, warfarina, aflatoxinas.	2-aminofluoreno	Cafeína
CYP2A6	Nitrosaminas, cumarinas, aflatoxinas.	Nitrosodietilamina	Cafeína
CYP 2B6	Nicotina, ciclofosfamida.	6-aminocrisina	Nicotina
CYP 2C8	Retinoides.		
CYP 2C9	Diclofenaco, ibuprofeno, fenitoína, tolbutamida.		
CYP 2C19	Mefenitoína, omeprazol.		
CYP 2D6	Debrisoquina, dextrometorfan, propranolol.		
CYP 2E1	Benceno, dimetilnitrosamina, etanol.	Acetaminofeno	Etanol
CYP 3A4	Acetaminofeno, aflatoxinas, hormonas esteroides.	Aflatoxina B Estatinas Antidepresivos ISRS	Eritromicina

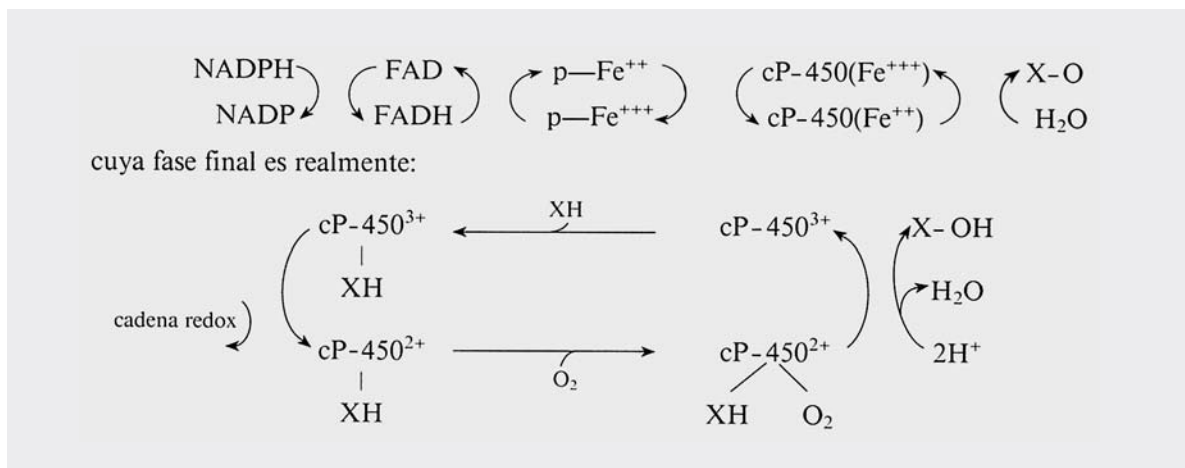


Figura 4.10. Cadena de oxidación-reducción microsómica respiratoria.

Los metabolitos activos que se producen pueden dar lugar, como se verá, a dos tipos de reacciones:

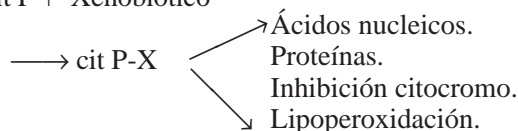
1° Uniones covalentes a otras biomoléculas, incluida la inactivación de la propia enzima que los produce (cit P-450), en lo que se conoce como *reacción suicida*.

2° Peroxidación de los lípidos celulares.

Según:

Uniones covalentes a:

cit P + Xenobiótico



El sustrato XH se une al P-450 y finalmente es hidroxilado (XOH), al tiempo que la NAD^+ pasa a $\text{NADH} + \text{H}$.

p-Fe. Es otra proteína con hierro, hasta ahora poco estudiada.

La presencia de carbonos quirales da lugar a enantiómetros de diferente toxicidad: así cuando el 3,4-benzopireno (considerado procarcinógeno) es oxidado por las MFO, dependientes del cit P-450, a (+) 7R,8S epóxido, con formación del anillo, triangular entre los carbonos 7 y 8 y un oxígeno, se convierte en carcinógeno; el anillo puede ser hidrolizado posteriormente por enzimas epoxidohidrolasas o epoxidrasas (EH) a (-)benzopireno, 7R,8R dihidrol (véase apartado I.5); el epóxido es cancerígeno, pero el dihidrol no lo es; sin

embargo, éste puede ser nuevamente oxidado a (+)benzopireno, 7R, dihidrol, 9S, 10R epóxido, que posee los grupos hidroxilos y el epóxido en posición *trans*, y que resulta más tumorígeno que otros enantiómeros que también se forman; igualmente, el (-)benzopireno, 7R,8R dihidrol es diez veces más carcinógeno que el enantiómero (+)-7S,8S dihidrol.

FAD (flavin-adenin-dinucleótido). Constituye el grupo prostético de la segunda familia de enzimas oxidantes *flavin mono-oxigenasas*, por su actividad en la biotransformación de xenobióticos, integrantes de los sistemas de oxidasas microsómicas de función mixta (MFO).

El FAD se reduce a FADH_2 por NADPH, que pasa a NADP^+ y permanece unido a la enzima. Cuando el FADH_2 se une al oxígeno, se forma el hidroperóxido $\text{FADH}_2\text{-O-OH}$; ahora la enzima transfiere el O al sustrato, se libera agua y FAD y se disocia NADP^+ .

El potencial oxidativo de esta MFO con FAD es menor que el de los CYP; sus sustratos son «blandos», con átomos de N, S (heteroátomos), y forman óxidos de N o de S. Un sustrato característico es la tiourea y sus derivados (tiocarbamatos) en que se oxida el grupo SH formando un sulfinato (SO_2H) reactivo que lesiona los tejidos en que se origina (preferentemente pulmón) si no encuentra suficiente glutatión para conjugarse, como ocurre con el paracetamol (véase más adelante).

Hay descritos cinco miembros de esta familia en humanos, cuyas isoenzimas comparten el 50-60%

de las secuencias de aminoácidos. No parece que sean inducibles.

c.2. Oxidaciones no microsómicas

Hay otras oxidorreductasas que no se encuentran en el retículo endoplásmico y por tanto no pertenecen al sistema microsómico de función mixta (MFO), sino que se hallan en las mitocondrias y fracción soluble del citoplasma (citósol) que queda sobrenadante después de centrifugar a 100.000 x G

homogeneizados de diversos tejidos (SN, riñón, mucosa intestinal, etc.).

Entre ellas están las alcoholdehidrogenasas, que oxidan los alcoholes a aldehídos y cetonas; las aldehído oxidasas, que oxidan los aldehídos a sus correspondientes ácidos, y las amino oxidasas (monoamino y diamino oxidasas, MAO y DAO), que transforman en aldehídos y amoníaco (por desaminación oxidativa) aminas alifáticas primarias, secundarias o terciarias, pero no aquellas que tienen un sustituyente en el carbono adyacente (como la anfetamina o la efedrina). Como ejemplo

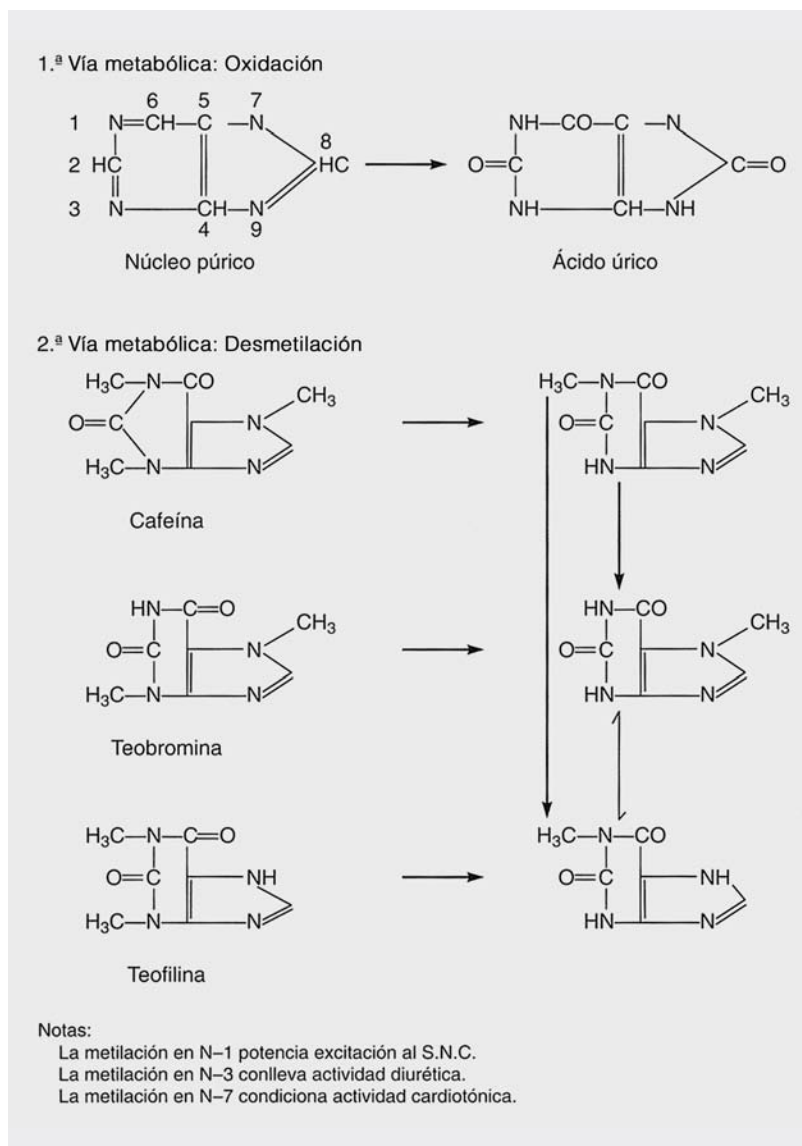


Figura 4.11. Metabolismo de las bases púricas.

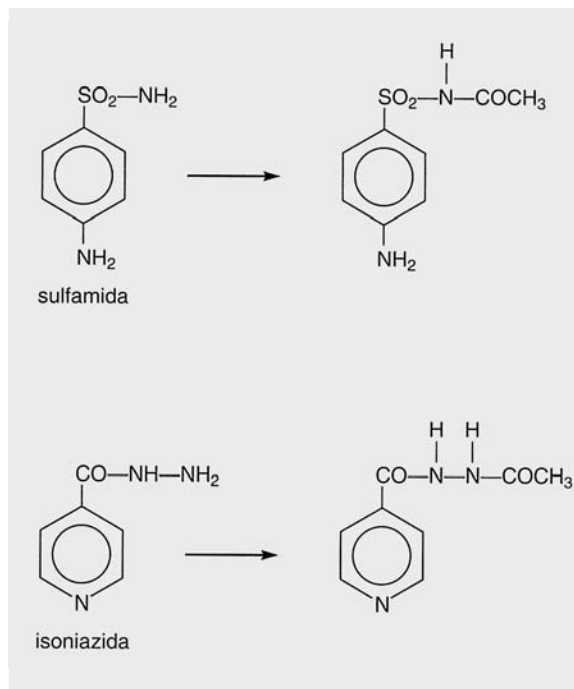


Figura 4.12. Ejemplos de acetil-conjugación.

de desaminación oxidativa de amina primaria tenemos el paso de mecalina a ácido fenilacético; la histamina es degradada por DAO.

c.2.1. Alcoholdehidrogenasas (ADH)

Son enzimas no microsómicas muy repartidas por todo el organismo, principalmente presentes en hígado, mucosa gástrica, testículos, etc., cuya función es la de hidroxilar a compuestos endógenos y exógenos, como por ejemplo, las hormonas sexuales y alcoholes como el etílico, metílico, etc.

c.2.2. Monoaminoxidasas (MAO)

Son flavoproteínas localizadas en el exterior de la membrana mitocondrial, muy ubicuas en los mamíferos; existen en las formas MAO-A y MAO-B.

Su actividad fisiológica principal es la inactivación de neurotransmisores como adrenalina, serotonina, dopamina etc., por desaminación oxidativa, por lo que la inhibición de la enzima por xenobióticos puede conducir a situaciones patológicas.

También oxidan a gran número de xenobióticos con grupos aminas primarias, secundarias o terciarias, originando aldehídos, amoniaco u otras aminas, más agua oxigenada (Figs. 4.6, 4.7, 4.11, 4.13). Existen, igualmente, las diaminoxidasas (DAO) que oxidan compuestos con dos funciones amina (Figs. 4.6, 4.7, 4.11, 4.13, 4.14).

d. Ciclooxygenasas (COX)

Se encuentran unidas a la membrana del retículo endoplásmico. Son enzimas sintetizadas de prostaglandinas y compuestos relacionados (prostanoides), sustancias de carácter hormonal que modulan la actividad de otras hormonas y también participan en la contracción uterina durante el parto y en las reacciones inflamatorias. La síntesis de los prostanoïdes se produce a partir del ácido araquidónico mediante reacción en dos pasos; primeramente, la ciclooxygenasa forma un endoperóxido (-OOH), originando la prostaglandina PG G₂; en el segundo paso, la enzima actuando como hidropoxidasa reduce dicho grupo a hidroxilo y forma PG H₂, para lo cual utiliza como aceptores de oxígeno o donantes de electrones a sustratos lipofílicos con bajo potencial redox, como fenoles o aminas aromáticas (benzopirenos, paracetamol, etc.) que pudieran estar presentes, que pueden pasar a quinonas. Actúan así como oxidantes de xenobióticos sin participación directa del oxígeno, proceso que se conoce como *co-oxidación*; en el proceso también se pueden generar radicales libres.

Las COX están presentes en la mayoría de los tejidos, principalmente en riñón y vejiga, lo que hace pensar en que participen en la activación de carcinógenos de estos órganos.

I.2. Reacciones de reducción

Son catalizadas por reductasas microsómicas y citosólicas y por las de las bacterias intestinales.

Existen nitrorreducciones capaces de llevar sucesivamente grupos nitro a nitroso y a amina (ejemplos, nitrobenzeno y nitrazepam). Se pueden saturar dobles enlaces (-C = C-), llevar a aminas primarias los -N = N-, como el del prontosil o reducir grupos carbonilos.

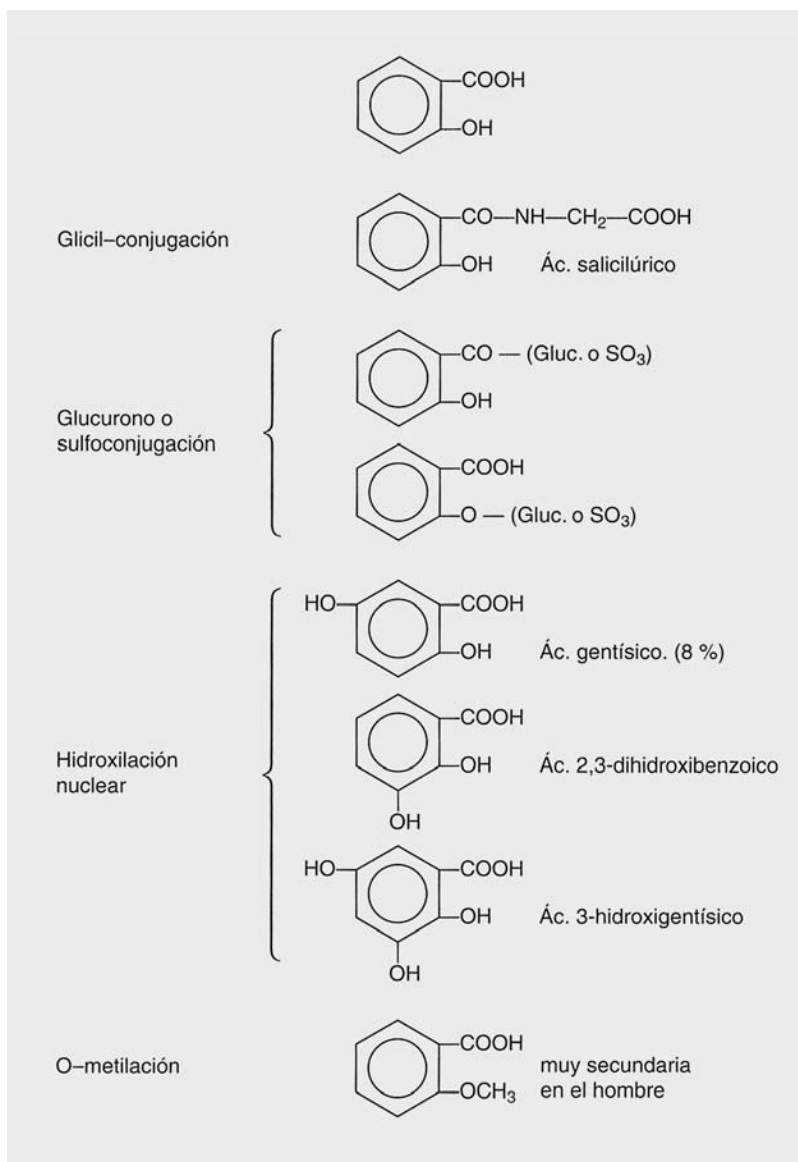


Figura 4.13. Metabolitos del ácido salicílico.

Por reducción también se eliminan átomos de halógeno.

Asimismo, los compuestos metálicos pueden ser reducidos u oxidados. Por ejemplo, el cromo se absorbe principalmente en forma de Cr(VI) que, por la acción aislada o combinada de la citocromo P-450 reductasa y el citocromo b5, es reducido a Cr(V), Cr(IV) y Cr(III), los tres muy reactivos, especialmente el último que, junto con especies reactivas de oxígeno que se liberan en el proceso, es citotóxico, mutagénico y carcinógeno.

Una interesante variedad de reducciones es la que pueden experimentar las quinonas que, según la enzima que participe, siguen una de estas dos vías (Fig. 4.15):

1. reducción por un único electrón, mediante la cit-P-450-reductasa, con formación de un anión superóxido y consiguiente aumento de la toxicidad y carcinogenicidad.
2. reducción por dos electrones por intervención de una enzima quinona-reductasa (por ejem-

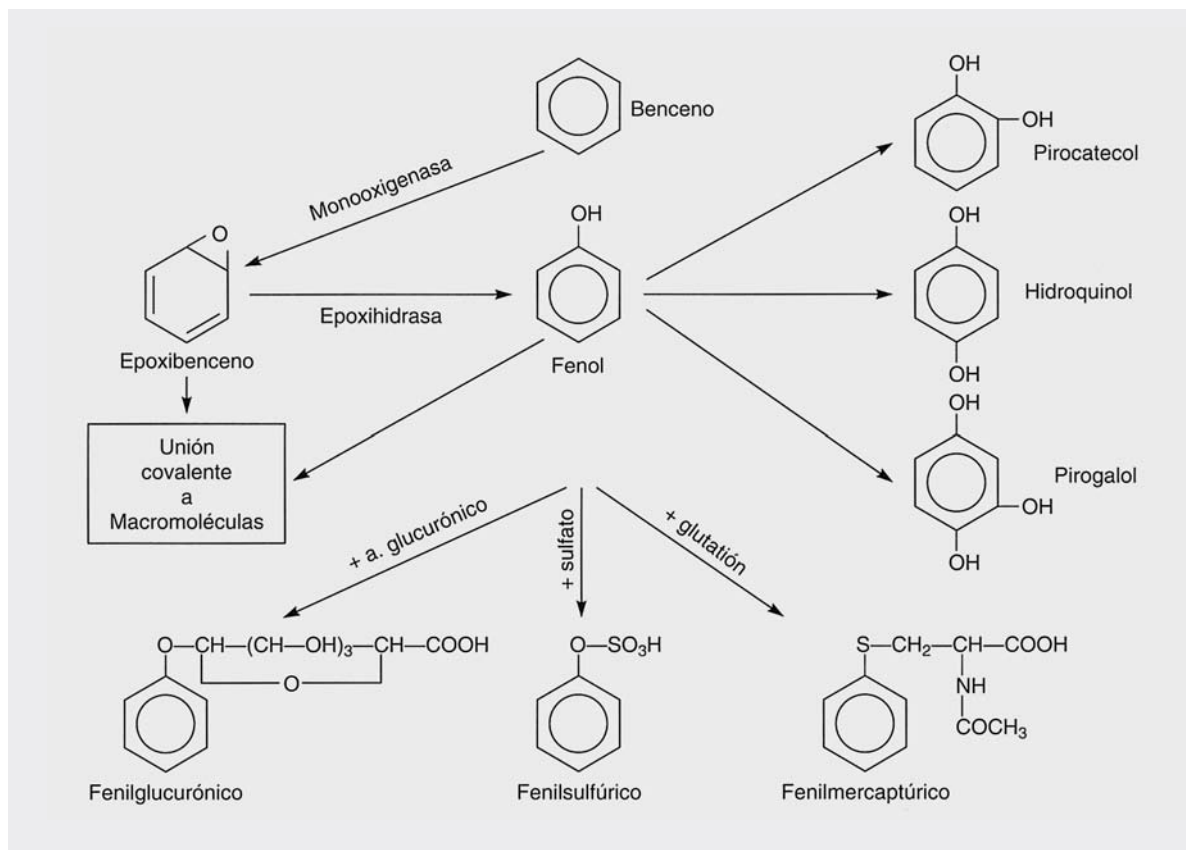


Figura 4.14. Exarcebación de la toxicidad. Metabolismo del benceno. Cuando la oxidación de éste a fenol tiene lugar en la médula ósea, se produce lesión caústica en ella y anemia aplásica.

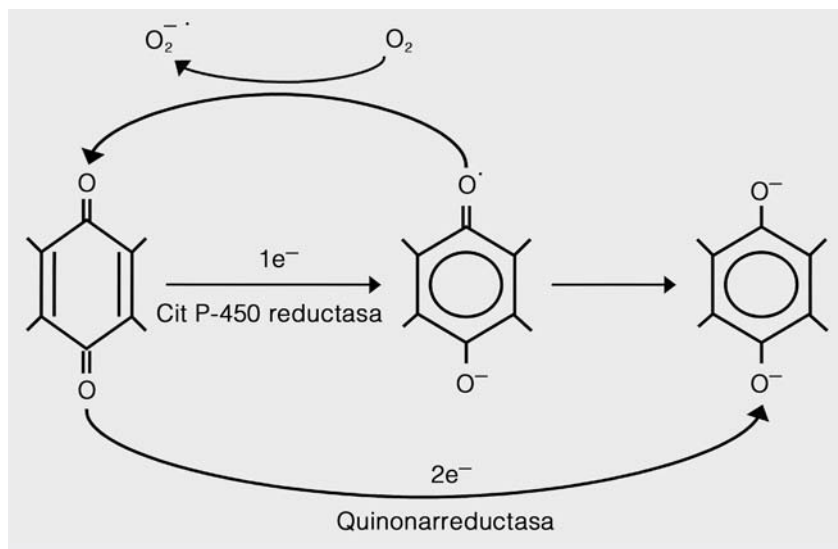


Figura 4.15.
Quinonarreductasa.

plo, la DT-diaforasa), con formación de hidroquinona, hidrosoluble y que forma fácilmente conjugados, y resulta poco tóxica.

Las especies reactivas de oxígeno, formadas en la primera de las vías citadas, son capaces de activar a una secuencia del ADN, llamada por Rushmore y Pickett en 1990 *elemento de respuesta antioxidante* (ARE), y aumentar la expresión del m-ARN quinona-reductasa, como una actuación de tipo defensivo; los xenobióticos que inducen esta enzima también lo hacen con la glutatión-transferasa (véase más adelante). Se ha visto que el ARE responde también al metilcolantreno y otros ligandos del receptor Ahr.

Entre las quinona-reductasas, la DT-diaforasa, que actualmente se denomina NAD(P)H quinona-oxido-reductasa (NQOR), es una flavoproteína dimérica. Su cinética se conoce como de mecanismo «ping-pong» por la formación de dos complejos binarios; actúa por transferencia de dos electrones y formación de una semiquinona muy reactiva y tóxica.

Se inhibe por grandes concentraciones de sustrato o de cofactor, y por las cumarinas, y se induce por las dioxinas (TCDD).

1.3. Hidrólisis

La hidrólisis de numerosos ésteres, amidas y compuestos sustituidos es efectuada por hidrolasas o esterasas separables tanto en la fracción microsómica como en la soluble; hay en el plasma (colinesterasa y otras), en los eritrocitos y tejido nervioso (acetilcolinesterasa), y en otros tejidos (carboxilesterasas, lipasas, fosfatasas, amidasas, etc.). Las amidasas son menos activas que las esterasas.

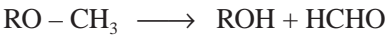
Las hidrolasas llevan, por ejemplo, la heroína a morfina, la cocaína a ecgonina. En el intestino, la beta-glucuronidasa y la arilsulfatasa hidrolizan a los conjugados, lo que permite el ciclo enterohepático.

Las proteínofosfatasas son enzimas citosólicas que catalizan la desfosforilación por hidrólisis de las proteínas fosforiladas.

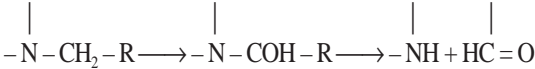
1.4. Desalquilación

Supone la ruptura de la molécula con separación de grupos arilo o alquilo con liberación de la función que enlazaba, principalmente con partici-

pación de átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre; el proceso suele incluir uno o dos pasos de oxidación, generalmente con participación del citocromo P-450 (oxidasas de función mixta, MFO); así, por ejemplo, los compuestos alquílicos alifáticos forman un alcohol y un aldehído, y los ésteres aromáticos se transforman en fenoles, y el grupo alquilo se oxida a aldehído:



O bien a partir de átomos de nitrógeno o de azufre:



Por procesos similares, normalmente de tipo reductor, se eliminan átomos de halógenos (*deshalogenación*).

1.5. Hidratación

Destaca la experimentada por los epóxidos, que suelen ser cancerígenos, transformándose en dioles (en general inactivos) por las hidratatas microsómicas (epóxido hidrolasas) (véase más adelante).

Tabla 4.4. Características de las enzimas de los procesos oxidativos.

a. Deshidrogenasas:	no microsómicas
b. Oxidasas	microsómicas y mitocondriales
c. Oxigenasas	
c.1.	Monooxigenasas (MFO): microsómicas
c.1.1.	Con Fe
c.1.1.1.	Con grupo hemo: cit P 450-NADPH-óxido-reductasa
c.1.1.2.	Sin grupo hemo.
c.1.2.	Sin Fe
c.1.2.1.	Metaloproteínas, con Cu, Se, Mn, etc.
c.1.2.2.	Flavoproteínas: flavinoxidasas
c.2.	Dioxigenasas: MAO, DAO: no microsómicas; mitocondriales y citosólicas
d. Ciclooxygenasas (COX):	microsómicas
	Actúan sin participación directa del oxígeno
e. DT-diaforasa=NAD (P) H	Quinona-óxido-reductasa (NQOR)

Tabla 4.5. Principales biotransformaciones químicas. Fase I.

Tipo	Variedad	Enzimas	Reacción	Ejemplo
Oxidación	Alifática	Oxidasa, deshidrogenasa	$R-CH_3 \longrightarrow R-CH_2OH$	
	De alcohol/aldehído	Oxidasa, deshidrogenasa	$R-CH_2OH \rightarrow R-CHO \rightarrow RCOOH$	Etanol
	De cadena lateral	Id	$C_6H_5-CH_3 \rightarrow C_6H_5-CH_2OH$	Barbitúrico
	De aminas	MAO, DAO	$R-CH-NH_2 \rightarrow R-CHO$	Serotonina
	De aminas	Id	$R-CH-NH_2 \rightarrow R-C(=O)-CH_3$	Anfetamina
	N-oxidación	Aminooxidasa	$R_3N \rightarrow R_3N=O$	Trimetilamina
	N-hidroxilación	Aminooxidasa	$R_2NH \rightarrow R_2NOH$	Anilina, α -fenilhidroxilamina
	Hidroxilación aromática		$C_6H_5-NH-R \rightarrow p-OH-C_6H_5-NH-R$	Acetanilida
	Desulfuración		$R=S \rightarrow R=O$	Tiopental
	Sulfóxido		$-S- \rightarrow S=O$	Clorpromazina
	N-desalquilación		$R_1-N-R_2 \rightarrow R_1-NH$	Aminopirina, morfina
	O-desalquilación		$R_1-O-R_2 \rightarrow R_1-OH$	Acetofenetidina, Codeína (morfina)
	S-desalquilación		$R_1-S-R' \rightarrow R_1-SH$ $\begin{array}{c} OH \\ \\ H \end{array}$	Metiltiopurina
Reducción		Alcoholdehidrogenasa	$R-C(=O)-H \rightarrow R-C(=O)-OH$	Hidrato de cloral a tricloretanol
	Nitrosorreducción	Nitrorreductasas	$R-NO_3 \rightarrow R-NH_2$	Nitratos
	Nitrosorreducción	Nitrosorreductasas	$R-NO_2 \rightarrow R-NH_2$	Cloranfenicol Nitrobenceno a anilina
Hidrólisis	Azorreducción		$-R=N- \rightarrow 2-NH_2$	Prontosil a sulfanilamida
	De ésteres	Acetilconesterasa	$-COOR \rightarrow -COOH + RH$	Acetilcolina Succinilcolina
Deshalogenación	De amida		$-CONH^+ \rightarrow -COOH + NH_2$	Procaina
			$(Cl-C_6H_5)_2-CH-C-Cl_3 \rightarrow (Cl-C_6H_5)_2-C=C-Cl_2$	Procainamida DDT

Tabla 4.6. Algunos ejemplos de biotransformaciones.

Oxidación:	<i>Microsómica:</i>		
	Clorpromazina	a	Sulfóxido
	Fenobarbital	a	p-hidroxifenobarbital
	Fenacetina	a	N-acetil-p-aminofenol
	Anfetamina	a	Fenilpropanona
	<i>No microsómica:</i>		
Reducción:	Etanol	a	Aldehído y ácido acético
	Mezcalina	a	Ácido fenilacético
	Sulfamildiaminoazobenceno	a	Sulfanilamida
Hidrolisis:	Nitrobencono	a	Fenilhidroxilamina
			Anilina
	Procaína	a	Ácido-p-aminobenzoico y dietilaminoetanol
Conjugación:	Cocaína	a	Ecgonina
	Heroína	a	Morfina
	Fenol		— Fenil-glucuronato
	Fenol		— Ácido fenilsulfúrico
	Ácido benzoico		— Benzoiglucórico
	Ácido benzoico		
	+ glicocola		— Ácido hipúrico
	Sulfanilamida		S acetilada
	Histamina		Metilhistamina → Ácido metilimidazolacético

1.6. Isomerización

Consiste en la transformación de una sustancia en otra que posee la misma fórmula química pero diferente estructura (cambio de estructura *cis* a la *trans*, o viceversa, véase *Glosario*), lo que puede ocurrir por acción de enzimas isomerasas, por simple cambios del pH, por la luz, la temperatura o la presencia de sustancias con superficies activas (catalizadores). Los distintos isómeros poseen distinta toxicidad.

- N-oxidación e hidroxilación.
- Formación de sulfóxidos y sulfonas.
- Desulfuración oxidativa.

Así como:

- Nitrorreducción ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$),
($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_2$).
- Azorreducción ($-\text{N}=\text{N}- \rightarrow -\text{NH}_2 + -\text{NH}_2$).
- Deshalogenación reductora.

Resumen de biotransformaciones Fase I:

- Oxidación e hidroxilación de cadenas alifáticas y alicíclicas.
- Hidroxilación aromática.
- Epoxidación e hidratación del epóxido.
- Hidrólisis.
- Desalquilación.
- Desaminación oxidativa.

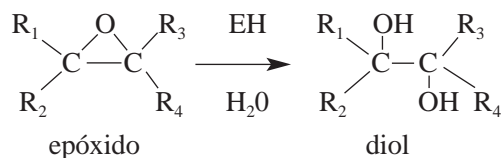
INTERÉS TOXICOLÓGICO DE LOS EPÓXIDOS

Los metabolitos más reactivos producidos en los procesos oxidativos de Fase I son los epóxidos, estructuras químicas constituidas por heterociclos triangulares, en los que el heteroátomo es el oxígeno (Fig. 4.5).

Los dos átomos de carbono del anillo son centros muy electrófilos, que reaccionan fácil-

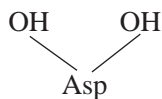
mente con moléculas ricas en electrones, como, por ejemplo, las bases del ADN. Los cuatro sustituyentes en los carbonos modulan la reactividad del epóxido, ya que cuando aquellos son diferentes (sustituciones asimétricas), aumenta la reactividad de uno de los centros electrofílicos; por el contrario, la simetría tiene un efecto estabilizante.

El anillo triangular se rompe por las enzimas epoxidohidrolasas (EH), especializadas en su hidrólisis, originando dioles que carecen de la reactividad de los epóxidos, aunque forman fácilmente conjugados. Sin embargo, algunos dioles producidos en la biotransformación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos son de nuevo oxidados a epóxido, aunque en diferente posición y resultan potentes cancerígenos



Las α y β epoxidohidrolasas constituyen una gran familia de enzimas que actúan en tres pasos:

1. Un resto de ácido aspártico de la enzima interviene como nucleófilo y se une al sustrato.
2. Un resto de histidina sustrae un protón H^+ del agua, con lo que ésta queda activada; el protón realiza un ataque nucleofílico al anillo, con formación de un grupo oxidrilo.
3. Finalmente, el agua hidroliza al complejo enzima sustrato, liberando el diol formado.



BIOTRANSFORMACIONES EN LA FASE II O DE SEGUNDO PASO

Consisten en reacciones de biosíntesis mediante conjugación o adición en las que grupos reactivos (oxidrilo, amino, carboxilo, epóxido, halogenuro, etc.) del xenobiótico o sus metabolitos (productos de la Fase I) se unen a sustancias endógenas para originar compuestos más fácilmente eliminables por la orina o la bilis no sólo porque resultan más

hidrosolubles, sino también porque son más fácilmente reconocidos por las proteínas transportadoras y las que participan en el transporte activo y facilitado. Los compuestos endógenos son iones ácidos como el glucuronato, sulfato, acetato y aminoácidos; también se producen reacciones de alquilación, preferentemente metilación, en átomos de oxígeno, nitrógeno y azufre presentes en el xenobiótico; finalmente deben citarse las conjugaciones con glutatión (Figs. 4.9, 4.12, 4.13, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19 y 4.20).

Las conjugaciones son reacciones que consumen energía, lo que exige que uno de los reactivos, ya sea el xenobiótico o el conjugante, haya sido activado, generalmente con consumo de ATP. También requieren la participación de enzimas transferasas (glucuroniltransferasas, sulfotransferasas y sulfuroniltransferasas, metil o acetiltransferasas, glicin o glutamiltransferasas, glutatión-S-transferasas, etc.). Varias de ellas, como las glucuroniltransferasas son inducibles (véase Cap. 5).

El donador del agente conjugante también es importante: para la acetilación es la acetilcoenzima A (AcCoA), para la metilación la S-adenosilmetionina (sintetizada a partir de L-metionina y ATP) o la vitamina B_{12} , etc. Estos dos donadores de metilos son capaces de producir biometilación de numerosos metales, como mercurio, plomo, estaño, talio, y no-metales, como arsénico, antimonio, telurio y azufre; en general, los derivados metilados son excepción a la regla de metabolitos más hidrosolubles y además presentan una particular neurotoxicidad (Fig. 4.17).

Efectivamente, como se detalla en la Tabla 4.8, los agentes alquilantes, a excepción del glutatión, han de ser activados a expensas de ATP. Así, el ion sulfato (SO_4^{2-}), por acción de la enzima sulfurilasa se transforma en adenosínfosfato (APS) y éste, por

Tabla 4.7. Biotransformaciones Fase II. Requerimientos para las conjugaciones y alquilaciones

Elemento	Procedencia
Metabolito polar	Fase I
Agente conjugante	Un donador
ATP	Fosforilación oxidativa
Enzimas transferasas	

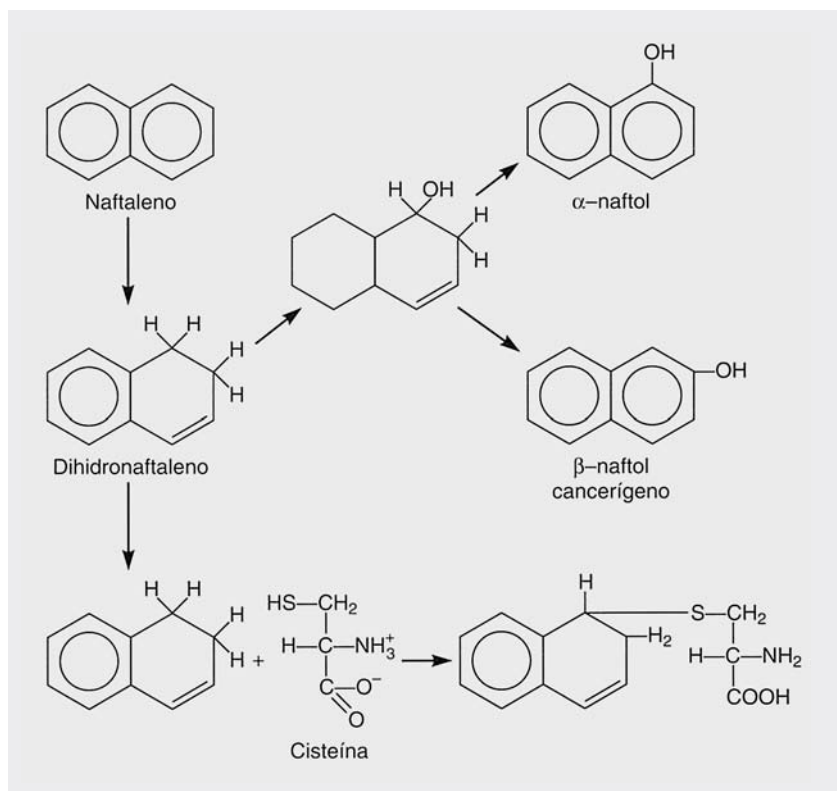


Figura 4.16. Modificación metabólica de la toxicidad del naftaleno, que al reaccionar con la cisteína del cristalino, conduce a cataratas.

la APS-fosfoquinasa, en 3'-fosfadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS) sobre el que actúa la sulfotransferasa (SULT), enzima polimórfica, para llevar al sustrato un grupo SO_3^- . En la acetilación, el grupo acetilo ($\text{CH}_3\text{-COO}^-$) procede de la acetilcoenzima A, en cuya formación se consume ATP. Por su parte, el ácido glucurónico es incapaz de conjugarse si no es biosintetizado, a partir de glucosa, como ácido uridín-fosfoglucurónico activo, según se expone en la Figura 4.18.

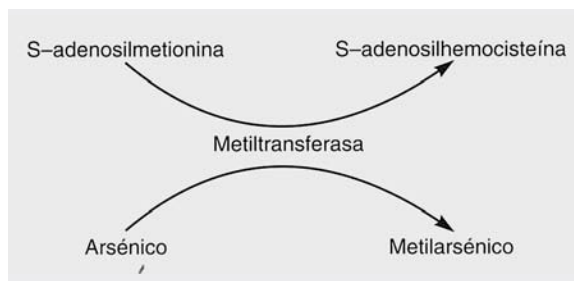


Figura 4.17. Reacción de transmetilación, con S-adenosil-metionina (SAM) como donador.

Es importante tener en cuenta que los seres vivos no siguen una única vía en la biotransformación de los xenobióticos, sino que, a partir de un mismo tóxico, en la Fase I se originan varios metabolitos y en la Fase II distintos conjugados, aunque en diferentes proporciones según las actividades de las enzimas intervinientes.

También debe tenerse claro que los conjugados no siempre son compuestos de menor toxicidad que el xenobiótico originario; así, por ejemplo, los compuestos que contienen un grupo carboxilo (-COOH) forman acil-glucurónidos, que posteriormente pueden sufrir una transesterificación intramolecular con emigración del grupo acilo a hidroxilos en otras posiciones que, a pH alcalinos se unen, a veces de forma irreversible, a proteínas. Al tratar de las conjugaciones con glutatión veremos otras reacciones de toxicación a partir de haloalcanos, haloalquenos e hidroquinonas.

Especial mención requiere la conjugación con glutatión; éste es un tripéptido, concretamente γ -L-glutamyl-L-cisteinil-glicina, con un grupo tiol

Tabla 4.8. Principales mecanismos de conjugación (Adición). Fase II.

Tipo	Enzimas	Reacción	Ejemplos
Sulfatación	1.º Sulfurilasa	$\text{SO}_4^{2-} + \text{ATP} \rightarrow \text{Adenosínfosulfato (APS)}$ (sulfato activado)	p-hidroxiacetanilida
	2.º Sulfotransferasa	$\text{APS} + \text{fenol} \rightarrow \text{sulfato}$	
Acetilación	N-acetiltransferasa	1.º $\text{Enz} + \text{AcCoA} \rightarrow \text{AcEnz} + \text{CoA}$ 2.º $\text{AcEnz} + \text{Substrato} \rightarrow \text{AcSubs} + \text{Enz}$	Sulfanilamida
	UDPG deshidrogenasa	1.º $6\text{-GP} + \text{UTP} \rightarrow \text{UDPG} + \text{P}_2$ 2.º $\text{UDPG} \rightarrow \text{UDP} - \text{ácido glucurónico}$	Ácido benzoico p-hidroxietanilida
Glucuronación	Glucuroniltransferasa	Alcohol 3.º $\text{UDPGA} + \text{OH} \left\{ \begin{array}{l} \text{Fenol} \rightarrow \text{éster glucurónico} \\ \text{Ácido} \end{array} \right.$	Anilida Mercaptobenzotiazol
Mercaptoderivado	Glutathiontransferasa	1.º Activación de glutatión 2.º Conjugación con hidrocarburos aromáticos 3.º Hidrólisis \rightarrow arilcisteína 4.º Acetilación \rightarrow mercaptúrico	Hidrocarburos aromáticos Hidrocarburos halogenados Nitrobenzenos halogenados
Metilación	Catecol-O-metiltransferasa (COMT)	O-Metilación	Metilación de OH fenólicos (adrenalina, serotonina)
	N-metiltransferasa (PNMT + metionina) S-metiltransferasa + S-adenosilmetionina	N-Metilación S-Metilación	Feniletanolamina, histamina BAL
Esteres con aminoácidos Glicina Cisteína		$\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COO} + \text{Gli} \rightarrow \text{HOC}_6\text{H}_4\text{CONHCH}_2\text{COOH}$ hidroxinaftaleno	Naftaleno, organomercurícos

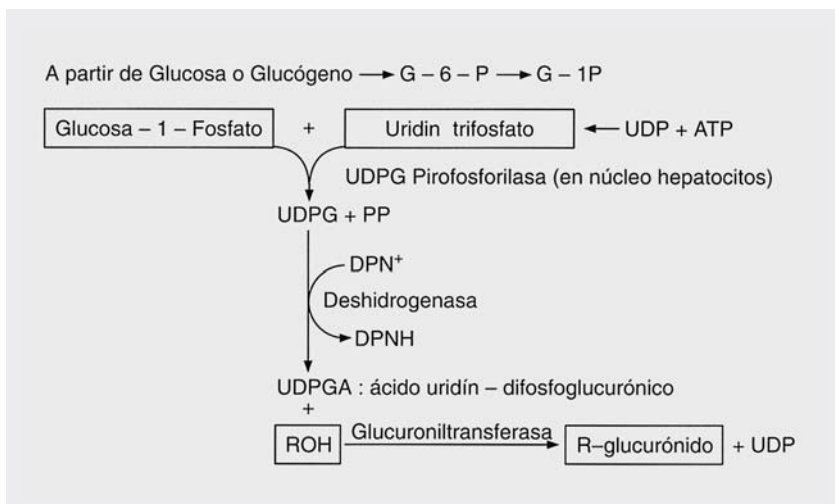


Figura 4.18. Formación de glucurónidos.

(GSH) o mercaptano, cuyo componente fundamental es la función -SH de la cisteína, que desempeña diversos papeles toxicológicos. Por un lado, interviene en las reacciones de oxidación-reducción, ya que por actuación de enzimas glutatión oxidasas se oxida a disulfato (GSSG), reversible por participación de las glutatión-reductasas. Por tanto, es un importante antioxidante, reductor, captador de radicales y cosustrato de las enzimas glutatión transferasa y peroxidasa. Esta es inducida por numerosos xenobióticos.

Puede regenerar proteínas oxidadas mediante reducción de los enlaces disulfuro, en una reacción de dos pasos catalizadas por la tiorreductasa.

La GSH hepática experimenta cambios circadianos, pues su nivel es, en humanos, más alto por la mañana y más bajo al anochecer. Por esta capacidad de oxidación-reducción actúa como protector de las estructuras biológicas en procesos oxidativos y peroxidativos, con participación de dos enzimas glutatión peroxidasas, una de las cuales es selenio dependiente. El mecanismo principal es la reducción del agua oxigenada e hidroperóxidos orgánicos (véase capítulo de mecanismos de toxicidad).

Por otra parte, el glutatión se conjuga con una gran variedad de compuestos lipófilos portadores de un grupo electrófilo, generalmente formado por acción de las monooxigenasas citocromo-P-dependientes; la gran reactividad de estos agentes electrófilos sobre compuestos nucleófilos, como proteínas y ácidos nucleicos, da lugar a necrosis tisulares, lo que puede evitarse en tanto la célula disponga de

glutatión; éste puede consumirse en la conjugación o por la llegada de agentes que producen su drástica depleción, como el dietilmaleato.

Los conjugados del glutatión son aductos de su componente L-cisteína acetilada, con los referidos compuestos electrófilos aniónicos (epóxidos, radicales libres, hidroperóxidos, cloruros de acilo y otros organohalogenados, etc.), que se excretan por bilis y orina como derivados del ácido mercaptúrico. Como procedimiento para estimar la capacidad alquilante de xenobióticos y sus metabolitos, se ha propuesto la determinación del tipo y cantidad de los mercaptúricos excretados. En la formación de estos derivados intervienen varias enzimas, principalmente las glutatión-S-alkil (o aril) transferasas, tanto intra como extrahepáticas.

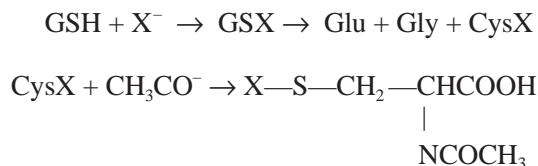
Esta familia de enzimas, que se simboliza como GST, y cataliza el ataque nucleófilo del glutatión sobre los compuestos electrófilos, es de una gran complejidad, ya que existe tanto en el citosol como en los microsomas, es muy polimórfica al estar codificada por ocho familias de genes, y se presenta tanto en forma de homodímero como de heterodímero.

Los individuos expuestos a xenobióticos manifiestan elevación de la GST citosólica, sobreexpresión que tiende a defender al sujeto del tóxico, pero que también disminuye la eficacia de medicamentos quimioterápicos, particularmente de los agentes alquilantes (Pickett, 2001). En respuesta a muchos xenobióticos se activa la transcripción de algunos genes GST, con aumento del m-ARN

seguido de incremento de la enzima y de su actividad; en dicha activación participan las fracciones de ADN llamadas ARE (véase I.2. *Reacciones de reducción. Quinona-reductasa*), y los xenobióticos que elevan las GST también lo hacen con la m-ARN quinona-reductasa.

Un ejemplo de la intervención defensora del GSH lo tenemos en la intoxicación por el analgésico p-acetamol (p-acetilaminofenol). Éste es oxidado en el hepatocito por monooxigenasas dependientes del citocromo P-450, a benzoquinonimina, compuesto electrófilo muy reactivo que es inactivado por el GSH; cuando éste se agota, el metabolito produce necrosis hepática (Fig. 4.19).

Como acabamos de indicar, una vez que el tripéptido glutatión (GSH) se une al grupo reactivo del xenobiótico o de su metabolito, normalmente se separan los restos de glutámico (por acción de la glutamil-transferasa) y de glicina (por la glicil-transferasa) quedando sólo conjugada la cisteína, unida por el grupo sulfhidrilo; este conjugado se puede acetilar a la forma N-acetilcisteína o ácido mercaptúrico:

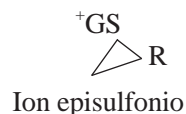


excretable por la bilis y por la orina, pero no siempre es así. Antes de esta acetilación, sobre el conjugado de glicina puede actuar la enzima β -liasa que rompe el enlace C—S, y liberar un grupo tiol muy electrófilo, fundamentalmente nefrotóxico (ver Capítulo 6).

Este tipo de reacción de toxicación se produce en los hidrocarburos alquenos halogenados, como por ejemplo el percloro o tetracloroetileno ($\text{Cl}_2\text{C} =$

CCl_2) que antes se usaba para la limpieza en seco, aplicación desde hace años prohibida.

Los alcanos halogenados, como el disolvente diclorometano ($\text{Cl}_2\text{-CH}_2$) o el ignífugo tris-(2,3-dibromopropil)fosfato, se pueden unir directamente al glutatión, que sustituye a un átomo del halógeno y seguidamente se cicla formando un ion episulfonio, de carga positiva y gran reactividad con ADN y proteínas, con producción de cáncer en hígado, riñón y pulmón.



Finalmente, anotemos que en estudios poblacionales, en los que se hace genotipado por PCR (amplificación de fragmentos de ADN mediante el uso de la enzima polimerasa), se está comprobando que individuos que presentan polimorfismos genéticos, por ejemplo, con genes CYP1A 1 muy activos o inducibles en la síntesis de cit-P, y que por tanto, dan lugar a gran producción de metabolitos oxidados de los xenobióticos pero, por el contrario, poseen genes «nulos» GSTM o NAT, que no «expresan» o sintetizan enzimas defensoras glutatióntransferasas o N-acetiltransferasas, son individuos con mayor susceptibilidad a los tóxicos.

Igual ocurre en polimorfismos genéticos que sintetizan escasa cantidad de epoxihidrolasas (EH).

Por último, y a modo de resumen, insistiremos en que los xenobióticos no siguen un único camino o vía de biotransformación, sino diversas, cuya intensidad y cantidad de productos resultantes depende de la actividad de las diferentes enzimas intervinientes. Como ejemplo, la Figura 4.20

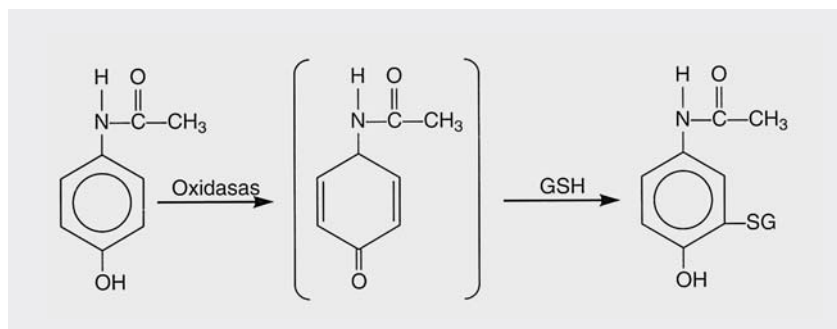


Figura 4.19. Oxidación del p-acetamol y conjugación con glutatión.

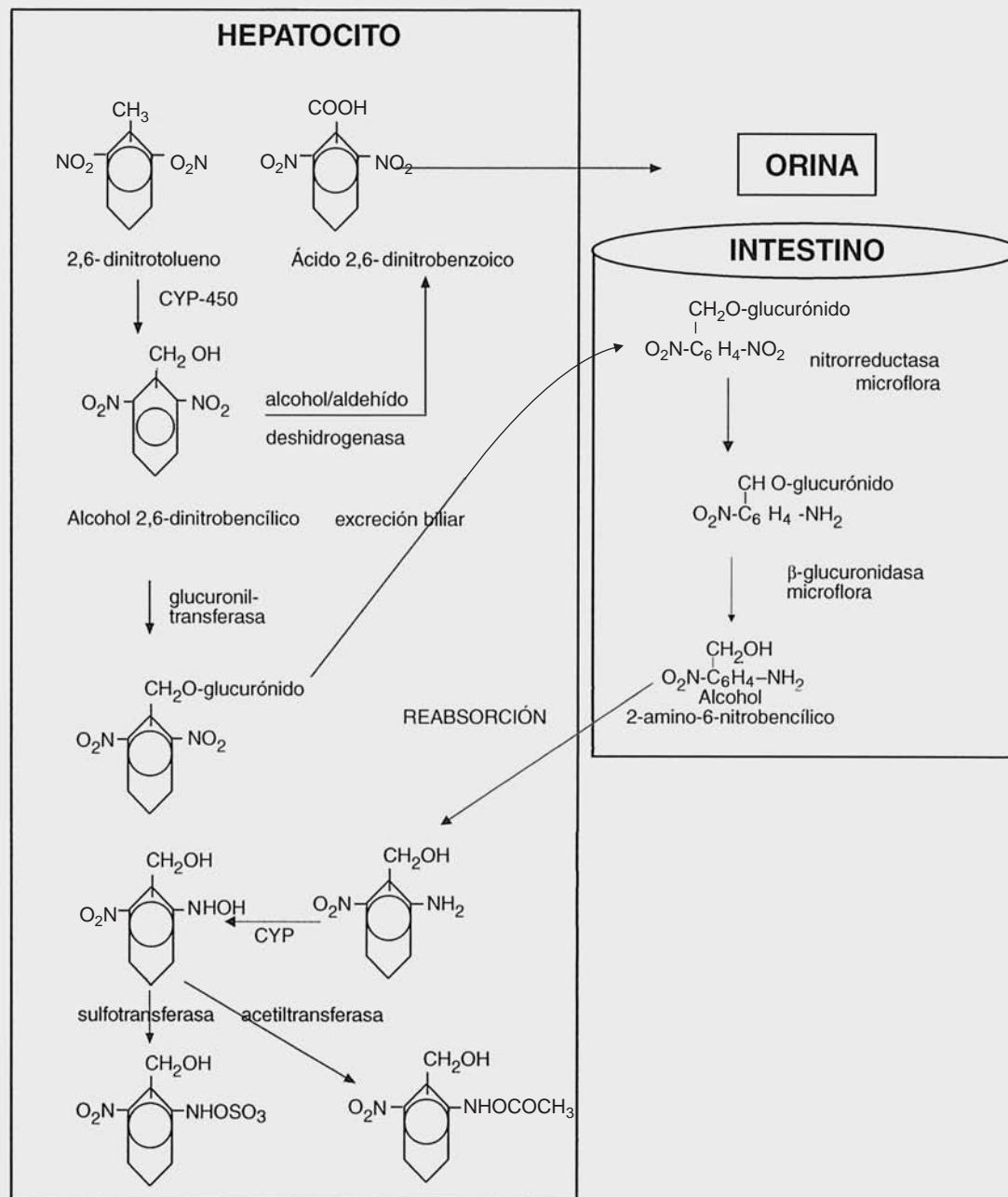


Figura 4.20. Ejemplo de biotransformaciones diversas, en hígado e intestino, por el dinitrotolueno.

representa las transformaciones (oxidaciones, reducciones, conjugaciones, hidrólisis y nuevas reducciones y conjugaciones) que experimenta el

dinitrotolueno, tanto en el interior de la célula hepática como en la luz del intestino, por participación de la microflora intestinal, y la reabsorción

enterohepática que sufren algunos de los metabolitos en lugar de ser excretados.

BIOTRANSFORMACIONES POSTMORTE

La muerte de un ser vivo no significa la paralización de todos los procesos biológicos y bioquímicos. A partir de la muerte, se inicia una serie de modificaciones físicas, químicas, bioquímicas, biológicas y anatómicas, diferentes en animales y vegetales, y que afectan también a los xenobióticos que estuviesen presentes en el cuerpo. Todos estos cambios y procesos, que incluyen autólisis, fermentación y putrefacción, dependen grandemente de las condiciones del sujeto y de las ambientales; la *autólisis* es el más precoz de los procesos destructivos del cadáver y consiste en la ruptura de células y tejidos por enzimas lisosómicas liberadas de las propia células, así como por la acción de productos que se forman en las nuevas condiciones celulares; la *putrefacción* es el proceso de destrucción de la materia orgánica corporal (véase el apartado *Redistribución postmorte*, en Capítulo 3). Concretándonos a los cadáveres animales podemos considerar:

- a. Cambios térmicos: la temperatura de un cadáver humano suele equilibrarse con la ambiental en unas 24 horas.
- b. Deshidratación rápida, dependiente de la humedad del ambiente.
- c. Defecto tisular de oxígeno, en primer lugar por interrumpirse la circulación sanguínea, y en segundo por consumirse el oxígeno disponible como consecuencia de los procesos aerobios que se inician, y que serán seguidos de otros anaerobios. En presencia de oxígeno hay fermentación oxidativa, como la transformación de etanol en ácido acético; en situación anaeróbica se produce la *fermentación*, proceso catabólico de oxidación incompleta en ausencia de oxígeno y sin participación de la cadena respiratoria, por lo que han de intervenir receptores de electrones distintos del O_2 , como son compuestos orgánicos que se reducen a alcoholes, acetaldehído, piruvato, etc. Cuando el sustrato reductor son proteínas el proceso se

denomina *fermentación putrefactiva o putrefacción*, que puede ser catalizada por enzimas, bacterias, hongos e insectos; en una fase inicial aerobia, hasta que se consume el oxígeno tisular. Las bacterias presentes en el tracto gastrointestinal, al aumentar la permeabilidad de las paredes de este a causa de la histólisis, penetran en los vasos sanguíneos y linfáticos y se difunden por todo el cuerpo; inicialmente son *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas sp.*, *Coli putrificus*, *Liquefaciens marnus*, *Vibrio colericus*, etc., y posteriormente, en condiciones anaerobias, los clostridios *welchii*, *putridus*, *gracilis*, *magnus*, etc., productores de gases (sulfhídrico y mercaptanos o tialcoholes), y hongos como *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, etc. Hay factores acelerantes del proceso, como son humedad, temperatura, infecciones previas del sujeto, etc., y factores retardadores, como el uso previo de antibióticos, sequedad ambiental (enterramiento en terreno desértico), etc.

De esta forma se llega a:

- d. Consumo o descomposición de los componentes orgánicos. Es realizado primeramente por las enzimas propias del organismo, y después por las de bacterias y hongos contaminantes. Cabe distinguir:
 - d.1. Biotransformación de los hidratos de carbono, que experimentan glicólisis conducente a los ácidos pirúvico, láctico, acético y carbónico, y agua y a varios alcoholes como etílico, metílico, n-propílico, iso-propílico, n-butanol, sec-butanol, etc., en lo que se denomina “neoformación de alcoholes”; precisamente, la presencia de estos alcoholes sirve en toxicología forense para distinguir si el etanol encontrado en sangre procede de ingestión o de neoformación putrefactiva; también se produce metano. Como consecuencia, los tejidos y fluidos adquieren pH ácido.
 - d.2. Biotransformaciones de las grasas, que son descompuestas por lipasas y esterazas a glicerina y ácidos grasos; los ácidos grasos superiores se saponifican con los

iones alcalinos y alcalinotérreos presentes, constituyendo la llamada *adipocira o jabón cadavérico*.

- d.3. Biotransformación de las proteínas mediante proteólisis por acción de las enzimas proteinasas, con liberación de los aminoácidos constituyentes; éstos son seguidamente descarboxilados para dar las llamadas aminas de la putrefacción o *ptomainas*, como histamina, tiramina, triptamina, cadaverina, putrescina, etc. (véase Tabla 4.9) que, a su vez, son destruidas hasta amoníaco, carbónico y agua. Tanto las aminas como el amoníaco cambian el pH del medio de ácido a alcalino.

Como consecuencia de la liberación de enzimas tisulares y de los cambios de pH comentados, algunos de los compuestos xenobióticos que estuviesen presentes en el cuerpo del sujeto experimentan también cambios en su estructura química, lo que puede alterar grandemente los resultados de los análisis toxicológicos, aunque otros permanecen inalterados; ya el químico toxicólogo alemán C.R. Fresenius (1818-1897) había notado que el alcaloide estricnina resistía la putrefacción hasta once años, mientras que la morfina desaparece rápidamente de los tejidos. Otros muchos investigadores se han ocupado de la estabilidad de tóxicos y medicamentos en cadáveres, pues de este conocimiento depende la correcta interpretación de los análisis toxicológicos, así Steves *et al* (1984), Luna *et al*. (1989), Kawai (1995), McKinney *et al*. (1995), Moriya y Hashimoto (1996, 1999), Drummer y Gerostamoulos (2002), Skopp (2004), Ferrari (2007) etc., llegan a la conclusión de que los cambios autolíticos, fermentativos y putrefactivos, incluso en tejidos conservados en frigorífico, limitan la utilidad de las muestras al haber tanto degradación como neoformación de productos. Por ejemplo, los últimos autores citados demuestran que la síntesis de etilcocaína (por condensación de cocaína y etanol) continúa una hora después de la muerte, y que la hidrólisis de cocaína y del plaguicida diclorvos persiste al menos durante 48 horas, aunque con intensidad decreciente.

Los conocimientos actuales, que han sido revisados por Torres y Escobar (2006), pueden resu-

mirse, desde el punto de vista molecular, como sigue:

1. Son muy lábiles, con poca resistencia a la putrefacción los compuestos con:
 - 1.1. Átomo de oxígeno unido a nitrógeno (como en la nitrobenzodiazepina, que es convertida en su 7-aminoderivado por las aminorreductasas).
 - 1.2. Átomo de azufre unido a carbono (tio-pental) o a fósforo (organofosforados). Por el contrario, el ion cianuro se convierte en tiocianato.
 - 1.3. Anillos heterocíclicos, como:
 - 1.3.1. Anillos con oxígeno o azufre, o ambos en el mismo, como en clorpromazina o tioridazina.
 - 1.4. Presencia de grupos OH y NH₂ en un mismo anillo (aminofenol).

En definitiva, cocaína, heroína, algunos antidepresivos, antipsicóticos y benzodiazepinas presentan menor estabilidad en muestras postmorte que las tomadas a vivos.

2. Son bastante estables compuestos con:

- 2.1. Átomos de oxígeno y nitrógeno unidos a carbonos (fenobarbital).
- 2.2. Grupos N-H ó N-C (amitriptamina, imipramina, clordiazepóxido, alprazolam).
- 2.3. Grupos S-O (sulfamidas, tolbutamida, clorpropamida, etc.).

Como hemos visto, las biotransformaciones postmorte se desarrollan en la sangre y en todos los órganos, dependiendo de la facilidad de acceso de los microorganismos. Por esta razón, en Toxicología Forense se recomienda tomar como muestra analítica sangre de la vena femoral (en la pierna, cerca de la ingle) y se está utilizando cada vez más el humor vítreo dado que, además de estar protegido por la estructura ósea que rodea al globo ocular, su irrigación es escasa lo que le defiende de infecciones vía hemática y también, como carece de glucosa, no permite neoformación de alcohol por fermentación.

Tabla 4.9. Bases putrefactivas (Ptomaínas)

Ptomaína	Fórmula	Enzima	Microorganismo	Aparición a 20°C
Agmatina	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array} > \text{C}(\text{NH}) - \text{C}(\text{CH}_2)_4 - \text{NH}_2$	Arginina descarboxilasa	<i>Clostridium propionicum</i>	2. ^a semana
β-alanina	$\text{HOOC} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Aspartato descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>P. subtilis</i>	1. ^a semana
Ac. γ-aminobutírico	$\text{HOOC}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Glutamato descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i>	1. ^a semana
Ac. β-aminoisobutírico	$\text{HOOC} - \text{CH} - (\text{CH}_3) - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$			
Etanolamina	$\text{HO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Serina descarboxilasa	<i>E. coli</i>	2. ^a semana
Etilamina	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{HN}_2$	Alanina descarboxilasa		
	$\text{HC} - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$			
Histamina	$\begin{array}{c} \\ \text{HC} - \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH} \end{array}$	Histidina descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i>	4. ^a semana
Isoamilamina	$(\text{CH}_3)_2 - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Leucina descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i>	
Isobutilamina	$(\text{CH}_3)_2 - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Valina descarboxilasa	<i>P. vulgaris</i>	
Metilamina	$\text{CH}_3 - \text{NH}_2$	Glicina descarboxilasa	<i>P. vulgaris</i>	
β-metilbutilamina	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - (\text{CH}_3) - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Isoleucina descarboxilasa	<i>P. vulgaris</i>	
Pentametilen-diamina (Cadaverina)	$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_5 - \text{NH}_2$	Lisina descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. cadaveris</i>	3. ^a semana
Feniletilamina	$\text{C}_6\text{H}_5 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Tirosina descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>S. faecali</i>	3. ^a semana
Tetrametilen-diamina (Putrescina)	$\text{H}_2\text{N} - (\text{CH}_2)_4 - \text{NH}_2$	Ornitina descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>B. subtilis</i>	4. ^a semana
Triptamina	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Triptófano descarboxilasa	<i>P. vulgaris</i>	
Tiramina	$\text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$	Tirosina descarboxilasa	<i>E. coli</i> , <i>S. faecalis</i>	2. ^a semana

BIBLIOGRAFÍA

- De Bruin A. *Biochemical toxicology of environmental agents*. Amsterdam: Elsevier, 1976.
- Drummer OH, Gerostamoulos J. Postmortem drug analysis: analytical and toxicological aspects. *The Drug Monit.* 2002, 24, 2: 199-209.
- Drummer OH. Postmortem toxicology of drugs of abuse. *For. Sci. Int.* 2004, 142, 2-3: 101-13.
- Ferrari LA. Aspectos clínicos, histopatológicos, analíticos y forenses en las intoxicaciones masivas por dietilenglicol. *Ciencia forense latinoamericana*. 2007 1,1, 4-15.
- Goldstein A, Aronow L, Kalaman S. *Principles of drug action*. Nueva York: Wiley, 1974.
- Hawkins DR. *Biotransformations, N.* Vols. 1-5. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1988-1993.
- Hayes W. *Essays in toxicology*. Vols. 1-7. Nueva York: Academic Press, 1974.
- Hayes AW. *Principles and methods of toxicology*. 3.^a ed. New York, Raven Press, 1994.
- Hodgson E, Guthrie FE. *Introduction to biochemical toxicology*. Oxford: Blackwell Sc. Pub, 1980.
- Jakoby W, Bend J, Caldwell J. *Metabolic basis of detoxication*. Nueva York: Academic Press, 1982.
- Kawai F. Bacterial degradation of glycol ethers. *App. microbiol. and biotech.*, 1995. 44,3-4, 532-538.
- Luna A. La interpretación de los resultados toxicológicos en el cadáver. En: *Confluenças medico-legais*. Instituto de Medicina Legal. Coimbra. 1989
- McKinney PE, Phillips S, Gomez HF, Brent J, MacIntyre M, Watson WA. Vitreous humor cocaine and metabolite concentrations: do postmortem specimens reflect blood levels at the time of death? *J. Forensic Sci.* 1995; 40:102-107.
- Mehlman, Shapiro, Blumental. *Advances in modern toxicology*. Nueva York: John Wiley & Sons, 1976.
- Moriya F, Hasimoto Y. Postmortem stability of cocaine and cocaethylene in blood and tissues of human and rabbits. *J. Forensic Sci.* 1996; 41:612-616.
- Moriya F, Hasimoto F. Comparative studies on tissue distributions of organophosphorus, carbamate and organochlorine pesticides in decents intoxicated with these chemicals. *J. Forensic Sci* 1999; 44:1131-1135.
- Mutch E, Blain PG, Williams FM. Interindividual variations in enzyrnes controlling organophosphate toxicity in man. *Hum. Exp. Toxicol.* 1992, 11, 109-116.
- Pickett CB. GST induction. *CIIT Activities*. 2001; 21:5-6,2-5.
- Plant N. *Molecular toxicology*. London. BIOS Scientific Publishers. 2003.
- Reid E, Leppard JP. *Drug metabolite isolation and determination*. Nueva York: Plenum Press, 1983.
- Ruckpaul K, Rein H. *Cytochrome, P-450*. Berlín: Akademie Verlag, 1984.
- Sanz P. Los polimorfismos genéticos como causa de la variabilidad individual de la toxicidad. En: Repetto M. *Toxicología avanzada*. Madrid, Díaz de Santos, 1995.
- Sanz P. Toxicogenómica y proteómica. *Ampliación de Toxicología de P. ostgrado*. En M. Repetto (ed). Sevilla, Área de Toxicología. Universidad de Sevilla. CD-ROM. 2007.
- Skopp G. Preanalytical aspects in postmortem toxicology. *For. Sci. Int.* 2004, 142, 2-3: 75-100.
- Steves HM, Patchelor TM, *et al.* The stability of some drugs and poisons in putrefying human liver. *J of Forensic Sci. Soc.* 1984, 24,6: 577-89.
- Timbrell J A. Biotransformations of xenobiotics. En: Ballantyne *et al.* (eds.) *Gener al and applied toxicology*. Basingstoke, Macmillan Press, 1994.
- Torres E, Escobar P. Estabilidad de algunos fármacos en hígado humano a diferentes períodos de putrefacción. *2º Congreso Sudamericano The International Ass. of For. Toxicologists*. Santiago, Chile, 2006.
- Vessell ES. Genetie and environmental factors causing variation in drug response. *Mutation Res*, 1991, 241-257.
- Williams R. The biogenesis of conjugation and detoxication products. En: Benfeld P. (ed.) *Biogenesis of natural compounds*. Oxford: Pergamon Press, 1967.

5

FENÓMENOS DE INHIBICIÓN, ACTIVACIÓN E INDUCCIÓN ENZIMÁTICAS

PRINCIPALES RESPUESTAS FUNCIONALES

Los procesos bioquímicos de los que depende la vida están basados en la actuación de las enzimas, moléculas de proteínas especializadas para actuar como catalizadores, que el organismo sintetiza de conformidad con la carga genética archivada en el ADN individual. Hay unas 200 enzimas diferentes, cuya cantidad y capacidad de intervención (*actividad*) en cada lugar del organismo debe mantenerse entre unos valores óptimos para que los procesos fisiológicos se desarrollen con normalidad. Se conocen diversas enfermedades consecuentes a que el individuo, por defecto genético, no disponga de la isoforma, la cantidad y la actividad precisas de determinadas enzimas.

Pero los xenobióticos son también capaces de modificar (aumentando o disminuyendo) las canti-

dades y las actividades óptimas de ciertas enzimas, y con ello dan lugar a situaciones patológicas, definibles como *intoxicaciones*.

Las actividades enzimáticas son modificables, es decir, son susceptibles de ser aumentadas o disminuidas; el incremento puede deberse a una *activación* (estimulación o aumento de la velocidad de reacción) o a una *inducción* (incremento del número de moléculas de enzima), mientras que la disminución es causada por *inhibición*, destrucción, bloqueo o cambios desfavorables en el medio (Tabla 5.1).

Estas manifestaciones alcanzan especial relieve en lo que se refiere al catabolismo de algunos fármacos y al incremento de la potencial capacidad carcinogénica de otros (Fig. 5.1 y 5.2).

Cuando en un análisis de suero u orina se determina actividad enzimática elevada, la causa suele ser secreción o vertido por lesión celular; en el laboratorio podemos aumentar la actividad de enzimas modificando (optimizando) las condiciones del medio (temperatura, pH, iones, etc.).

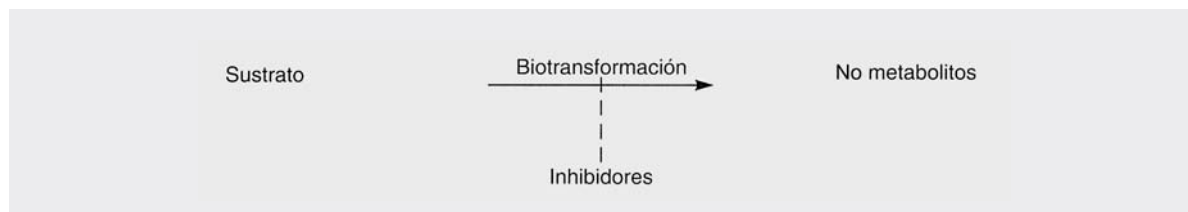


Figura 5.1. Los inhibidores impiden la biotransformación.

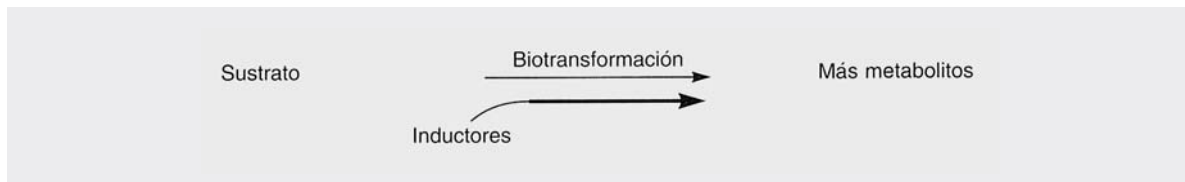


Figura 5.2. Los inductores enzimáticos incrementan la capacidad de biotransformación.

Tabla 5.1. Modificaciones de la actividad enzimática

- | | |
|--------------------------------------|---|
| A. Disminución actividad por: | |
| 1. | Destrucción (pH, temperatura, reacción, etc.). |
| 2. | Inhibición, por: |
| — | Estereoisómeros. |
| — | Elementos tiorprivos. |
| — | Compuestos metalprivos. |
| 3. | Represión génica. |
| B. Aumento actividad. | |
| 1. | Activación de protoenzimas. |
| — | Hidrólisis (proteasas, fosfatasas, fosfolipasas). |
| — | Fosforilación (fosforilasas, quinasas). |
| 2. | Activación alostérica. |
| — | Cambio conformacional por: |
| — | lones metálicos. |
| — | Grupos tioles. |
| — | Radiaciones. |
| — | De proteínas reguladoras. |
| — | (Ca-calmodulina). |
| — | Por mediadores. |
| — | Ca ⁺⁺ , AMP-c, GMP-c, Prot-G |
| — | sobre: quinasas, fosfolipasas, etc. |
| 3. | Inducción enzimática (véase aparte). |
| 4. | Secreción. |
| 5. | Optimización del medio. |

Inactivación de proteínas

Es bien sabido que las proteínas son compuestos muy lábiles, cuya estructura molecular, empujando por su disposición espacial, se altera con facilidad cuando se producen cambios de la temperatura o del pH del medio que se distancien algo de los ordinarios o fisiológicos, e incluso la molécula puede coagularse, destruirse o disolverse. Como consecuencia, se modifican o desapare-

cen las propiedades y capacidades inherentes a estas moléculas, uno de los principales pilares de los seres vivos.

Veamos algunos ejemplos de conocimiento reciente:

La hormona tiroidea T_4 y su derivado T_3 , son importantes reguladores de crecimiento, diferenciación y desarrollo de muchos órganos, como por ejemplo los testículos, ya que hay numerosos receptores tiroideos en las células de Sertoli. Para su transporte precisan de una proteína, la prealbúmina o transtiretina (TTR), que también contribuye al transporte del retinol, al unirse a la proteína unida al retinol. Los bifenilos policlorados (PCB) y sus metabolitos hidroxilados, con cierto parecido estructural con la hormona, poseen gran avidez por la transtiretina y se unen ella desplazando a la T_4 , que queda libre y es eliminada, provocando hipotiroidismo. Como consecuencia, los PCB también son disruptores endocrinos.

Otro ejemplo es la inactivación de las proteínas de reparación del ADN.

Cuando ocurren errores en la replicación del ADN, pueden ser subsanados gracias a la intervención de la ADN polimerasa antes de que se consolide una mutación; el error es reconocido y corregido por la compleja proteína tetramérica MMR.

Pero hay tóxicos, como el cadmio y otros metales, con gran afinidad por los centros nucleófilos de los aminoácidos, particularmente los de cisteína y otros que van unidos al Zn, el cual queda desplazado y bloqueada la acción de la MMR.

Inhibición enzimática

La velocidad de las reacciones enzimáticas puede disminuirse o inhibirse por la intervención de sustancias que bloquean los grupos activos enzimáticos (suelen ser sustancias con gran similitud

estructural con los sustratos fisiológicos de la enzima) o los cationes precisos para la actividad enzimática; también pueden ser modificadores alostéricos de la conformación o estructura tridimensional proteica. Los primeros producen inhibición competitiva (el inhibidor compite con los sustratos fisiológicos por los lugares activos) y responde a la ley de acción de masas, mientras que la inhibición alostérica es no-competitiva, ya que el inhibidor y el sustrato no se excluyen, sino que incluso el inhibidor se une al complejo enzima-sustrato.

La mayoría de las enzimas y otras proteínas contienen grupos sulfhidrilo (SH) en su centro activo o catalítico, el cual es fácilmente bloqueado por compuestos reactivos de tioles y los metales que forman sulfuros estables. Este bloqueo depende grandemente de la concentración del tóxico, ya que, si bien a altas concentraciones se inhiben la mayoría de las enzimas con SH, a bajas exposiciones tan solo se afectan las más sensibles.

La extensa familia de compuestos organofosforados, cuyas moléculas son reconocidos inhibidores de las enzimas esterases presenta una gran diversidad estructural y, consecuentemente, muy diferente electrofilia en sus átomos de fósforo, ya que ésta y la reactividad son grandemente determinadas por los sustituyentes en la molécula; así, si el doble enlace $P=O$ hace al P muy electrofílico, más lo es cuando hidrógenos de la molécula han sido sustituidos por átomos de halógeno.

La inhibición puede ser reversible o irreversible desde el primer momento, o bien transitoriamente reversible, que se hace irreversible más tarde, cuando los enlaces entre el inhibidor y la enzima se refuerzan («envejecen»), como es el caso de los organofosforados con la acetilcolinesterasa, al redistribuirse la carga electrónica de los sustituyentes.

Dado que las enzimas cumplen una misión fisiológica en el equilibrio bioquímico del ser vivo, la inhibición de cualquiera de ellas da lugar a trastornos más o menos importantes, según el mecanismo afectado y sus consecuencias.

Además pueden producirse inhibiciones muy importantes en Toxicología, por exceso de sustrato o del producto de la reacción (éste constituye el sustrato de la reacción en sentido inverso); por ello, en las intoxicaciones, que son situaciones con altas concentraciones tisulares de xenobiótico, se bloquean o saturan mecanismos de biotransformación, y otros cinéticos, como los de eliminación.

Los principales mecanismos de inhibición enzimática se resumen en el Capítulo 6, apartado B.b.2; véase también el apartado c de éste.

Diversos compuestos producen represión génica, lo que disminuye la síntesis de la enzima y, con el tiempo, provoca una disminución global de la misma pero sin afectar a la actividad de cada molécula como ocurre en la inhibición.

Formas de activación enzimática

a) Algunas enzimas se sintetizan en forma de precursor inactivo (protoenzima) que, mediante una hidrólisis, libera enlaces específicos dotados de actividad; según el caso, estas hidrólisis son catalizadas por enzimas proteolíticas, fosfatasa, etc. De especial interés toxicológico son las fosfolipasas (diferenciadas como A_1 , A_2 , B, C y D, según el enlace que hidrolizan), que a su vez han de ser activadas por proteasas. Las enzimas fosfolipasas (fosfatidasas o fosfoesterasas), que hidrolizan fosfolípidos, están presentes en los jugos digestivos y en las toxinas de algunas bacterias, serpientes y las abejas; participan en cascadas de reacciones enzimáticas que generan lípidos muy activos (lisolecitina, lisofosfolípidos), que producen la lisis de hematíes y otras células. Entre los fosfolípidos de membrana celular está el fosfatidil-inositol-bisfosfato (PIP2); la unión de algunos transmisores (p. ej., serotonina) a su receptor produce activación de la fosfolipasa C, que hidroliza al PIP2 con liberación de inositol-trifosfato (IP3) y diglicerol. El IP3 es hidrolizado, a su vez, por una fosfatasa, que se inhibe por el litio; pero el IP3 provoca liberación de Ca^{++} de los reservorios intracelulares, activando la contracción muscular, la ruptura del glucógeno, la exocitosis, etc. En estas acciones participa, de forma sinérgica, el diglicerol citado, que activa a la proteína quinasa C, la cual fosforila restos de serina, treonina y tirosina de muchas proteínas, entre ellas las del citoesqueleto.

Algunos carcinógenos, como los alcoholes policíclicos del aceite de crotón, también activan la proteína quinasa C.

Otros fosfolípidos contienen en C-1 un radical éter en lugar del acilo; estos fosfolípidos gliceril éter poseen especiales actividades biológicas; por ejemplo, uno de ellos es el «factor activador de

plaquetas», que induce la agregación plaquetaria, junto con dilatación vascular. Otros son los plasmalógenos, éteres insaturados (con un grupo de vinilo, son, por tanto, acetalfosfátidos) correspondientes a la fosfatidilcolina, que se forma por acción de una desaturasa, enzima microsómica; estos plasmalógenos, en determinadas condiciones, por ejemplo, por reacción con el metilmercurio, liberan aldehídos grasos de cadena larga (palmitico, esteárico), citotóxicos a su vez.

b) Otras enzimas se activan por fosforilación, introducción de un grupo fosforilo ($\text{O}=\text{P}-\text{O}_2^-$) a determinados aminoácidos, normalmente serina, treonina o tirosina. Esta fosforilación supone una modificación covalente de la proteína enzimática, que puede ser anulada por posterior hidrólisis del éster fosfórico.

c) Las enzimas suelen ser muy sensibles a la presencia próxima de iones metálicos o de otro tipo; en ocasiones, la participación de estos iones (Ca, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Se, Zn, Cl^- , SH^- , etc.) es imprescindible para la función enzimática; algunos de los elementos divalentes pueden sustituirse entre sí, pero generalmente la sustitución por otros (Pb, Ba, Sr, etc.) bloquea a la enzima.

El aumento de concentración de aquellos iones incrementa considerablemente la actividad de amidasas, fosfatasas, peptidasas, etc., al igual que los compuestos portadores de grupos sulfhidrilos (cisteína) favorece la actuación de reductasas y proteasas. No hay una explicación general para estas acciones; no es necesario que el elemento participe en el centro activo enzimático, basta con que produzca modificaciones alostéricas (el término *alostérico*, del griego *allos*, otro o distinto, y *stereos*, lugar, supone una funcionalidad en un lugar distinto del sitio activo enzimático, y corresponde a un cambio en la estructura de la enzima como respuesta a la unión directa o indirecta de ciertos efectores) favorables a la molécula de la enzima; los grupos tioles son propiamente reductores y también se unen a metales u otros elementos (As), impidiendo la actuación inhibidora de éstos. No se sabe por qué las sales de Al, Ca, Mg, Hg, Sn, V, o disolventes como etanol, tolueno, n-hexano, tricloroetileno, cloruro de vinilo, o las radiaciones ionizantes, o los campos magnéticos pulsantes de baja frecuencia y el estrés activan a las colinesterasas.

También hay que incluir entre las causas de aumento de velocidad en las reacciones enzimáti-

cas el incremento de sustrato (hasta ciertos límites, pues sobrepasados éstos se produce inhibición) y de las coenzimas intervinientes en la reacción.

d) Otro grupo de enzimas ve controlada su actividad por *proteínas reguladoras* que, a su vez, son activadas al unirse a átomos de calcio; esto ocurre a la calmodulina (Fig. 5.3), proteína capaz de unirse a cuatro Ca^{++} , lo que le produce un cambio conformacional (por probable rotación de sus hélices) que le confiere gran afinidad hacia otras proteínas diana, cuya conformación modifica, activándolas. El complejo Ca^{++} -calmodulina no posee actividad enzimática por sí mismo, sino que precisa unirse a otras proteínas y enzimas, a las que regula; se conocen numerosos procesos de este tipo, que se denominan «dependientes de Ca^{++} -calmodulina», entre los que destacan aquellos en que intervienen las proteinquinasas

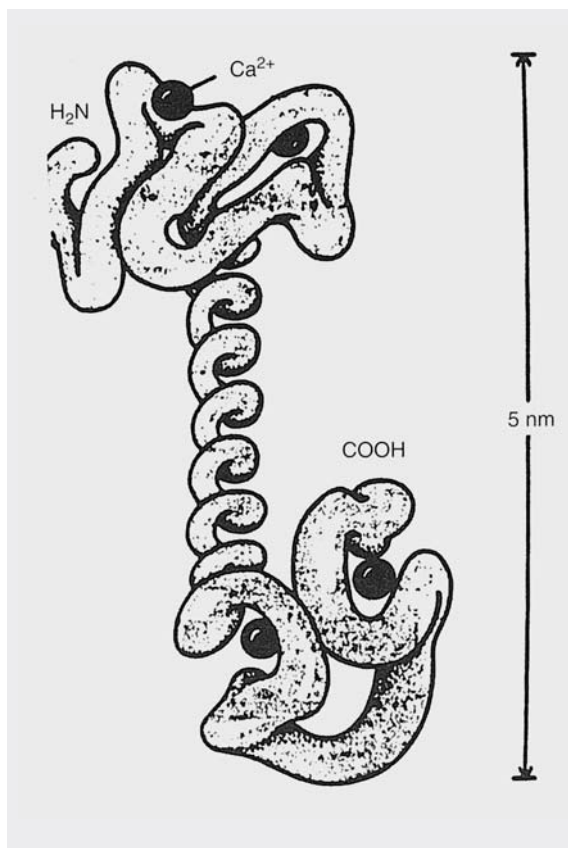


Figura 5.3. Calmodulina activada con cuatro átomos de calcio.

(Ca-quinasas) que fosforilan restos de serina y treonina de proteínas específicas del citoesqueleto, el cual puede resultar dañado por excesiva activación de las quinasas.

e) Además del calcio, son mediadores intracelulares el adenosina monofosfato cíclico (AMP-c) y el guanosina monofosfato cíclico (GMP-c), que se producen tras la activación de receptores situados en la superficie celular. Ambos, como el Ca^{++} , son ejemplos de efectores alostéricos, que activan proteínas específicas, uniéndose a ellas y modificando su conformación; respectivamente son la A-quinasa y la G-quinasa que catalizan la transferencia del grupo fosfato terminal del ATP o del GTP a otras enzimas, a las que activan; y que, a su vez, pueden ser hidrolizadas por fosfodiesterasas, activables por otras proteínas (transducina, etc.) o inhibidas por las xantinas (caféina, teína, etc.).

Una de las enzimas activadas por la A-quinasa es la glucógeno-fosforilasa, encargada de liberar glucosa del glucógeno.

Las acciones del AMP-c han de ser transitorias, por lo que las células deben desfosforilar las proteínas fosforiladas por la A-quinasa; esta desfosforilación es realizada, principalmente, por las *protein-fosfatasa*s, que a su vez pueden ser inactivadas por una proteína específica *inhibidora de la fosfatasa*, la cual es activada por la A-quinasa, en un sistema de autorregulación.

Hay, asimismo, la llamada proteína G (heterotrímero que se presenta con diferentes estructuras y funciones) que actúa como proteína reguladora, tanto de tipo estimulante como inhibidor, en forma intermediaria entre los receptores de la superficie

celular y los canales iónicos o algunas enzimas citoplasmáticas; interviene en la formación del AMP-c y también en la liberación de Ca^{++} desde sus localizaciones intracelulares; y en la activación de la fosfolipasa C. Las actuaciones de las proteínas G son muy sensibles y modificables por toxinas microbianas (cólera, difteria, etc.).

En resumen, existe una cascada de mediadores intracelulares que amplifica las señales recibidas del exterior y regula las respuestas celulares: cuando un ligando se une a un receptor, se activan distintas ciclasas, que a su vez activan enzimas específicas, multiplicando la señal, aunque las células disponen de sistemas de regulación de ésta y de procedimientos de retroalimentación.

Cada tipo de célula posee equipos característicos de proteínas diana, si bien los dos más importantes mensajeros iniciales son el AMP-c y los niveles de Ca^{++} .

Tan larga serie de reacciones enlazadas y entrecruzadas presenta, lógicamente, numerosos puntos sensibles a la intervención de los tóxicos, que desestabilizan el equilibrio dinámico fisiológico y dan lugar a patologías. El estudio y conocimiento de las interacciones de los xenobióticos y los mediadores intracelulares es uno de los objetivos de la Toxicología actual.

Inducción enzimática

A diferencia de la activación, por inducción se entiende un aumento en el número de moléculas de enzima que son sintetizadas; primitivamente se

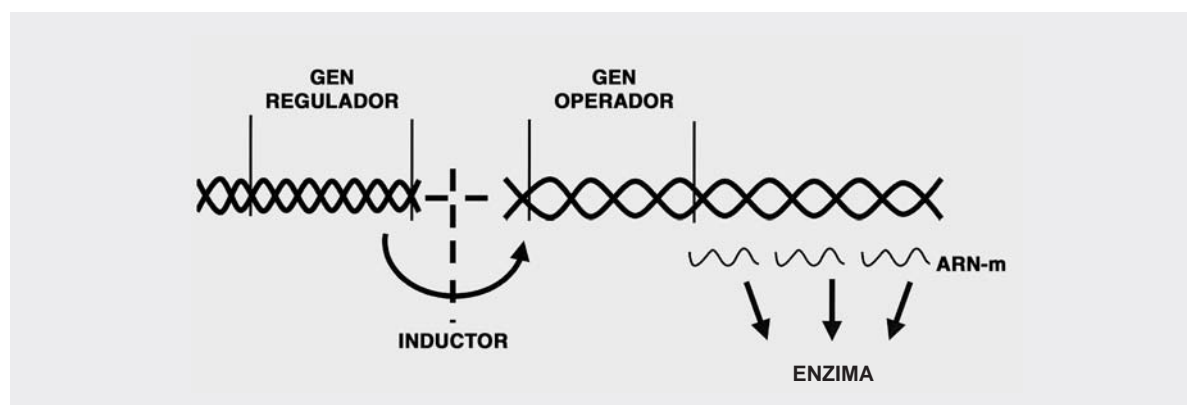


Figura 5.4. Actuación de un inductor, según Jacob y Monod.

pensaba en una adaptación de la enzima al medio, pero se sabe que es distinto.

Este incremento en la síntesis es ocasionado, fundamentalmente, por el propio sustrato sobre el que la enzima actúa; al aumentar los requerimientos de ésta se modifican los mecanismos reguladores de la síntesis proteica, que se incrementa de forma específica, aunque hay enzimas inducibles y otras que no lo son. Una inducción enzimática sugiere la presencia aumentada de determinados sustratos o mecanismos bioquímicos.

Según la teoría de Jacob y Monod, el agente inductor o uno de sus metabolitos se une al llamado gen regulador o represor que controla al gen operador responsable de la síntesis de la enzima; al quedar libre éste se sintetiza más ARN-m y, consecuentemente, mayor número de moléculas de la enzima (Fig. 5.4). La inducción por el sustrato (autoinducción) es uno de los mecanismos del proceso de *tolerancia* a los fármacos. Los fumadores requieren mayores dosis de teofilina o de otros medicamentos, para que les sean efectivos, al igual que ocurre a los alcohólicos con los anticoagulantes orales o la difenilhidantoína. Hoy se conocen muchas interacciones medicamentosas o, al contrario, fallos terapéuticos mediados por mecanismos de inducción enzimática.

Parece ser que no solamente el sustrato xenobiótico o sus metabolitos puede actuar como inductor, sino también otras sustancias y numerosas hormonas, como ACTH, somatotropina, tiroxina, aldosterona, glucocorticoides, andrógenos, estrógenos, progesterona, hormona paratiroide, insulina, eritropoyetina, etc.

También los metales son inductores enzimáticos, como los siguientes ejemplos:

- Inducción de la glutatión peroxidasa, gamma-glutamyl cisteína sintetasa y glutatión-disulfuro-reductasa por el selenio.
- Inducción de la síntesis de metalotioneína por cadmio, zinc y arsénico.
- Inducción de hemooxigenasa por metales como: Co, Cu, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Cd, Hg, Pb y Se, con la consiguiente influencia sobre la síntesis y degradación de metaloporfirinas que controlan, mediante una inicial represión de la ácido gammaaminolevulínico sintetasa (ALA-S) y posterior inducción de la hemooxigenasa.

Muchos de los hallazgos en este campo se han efectuado en el curso de estudios de la nueva rama de la ciencia conocida como Farmacogenética, que se preocupa de conocer las diferencias individuales, genéticamente determinadas, de comportamiento frente a los fármacos. Estas diferencias se manifiestan tanto en cuanto a la actividad terapéutica, como en las respuestas adversas a los medicamentos. El origen de las discordancias puede encontrarse en diferente susceptibilidad de los receptores celulares o en distinta capacidad metabólica, revelada en aspectos cualitativos y cuantitativos, de procesos de transformación y eliminación de sustancias de capacidad farmacodinámica.

Sabemos que la capacidad metabólica está influida por el sexo; pues bien, Wittaker y Evans (1970), efectuando estudios de farmacogenética, mediante determinaciones de la vida media de la fenilbutazona en diferentes sujetos, encontraron marcadas correlaciones entre maridos y mujeres. Esto sugirió la posibilidad de que las enzimas metabolizantes de la fenilbutazona hubiesen estado estimuladas por contaminantes ambientales, insecticidas, aditivos alimentarios, medicamentos y otros posibles inductores enzimáticos, propios de cada ámbito familiar.

Para comprobar el aserto, sometieron a tratamiento a los restantes miembros familiares con fenobarbital, uno de los más potentes inductores conocidos, y se vio que la vida media de la fenilbutazona llegaba a ser prácticamente igual en todos los individuos.

La incidencia de plaguicidas, hidrocarburos policíclicos, aminas policíclicas y numerosos efluvios industriales puede equipararse a la de un tratamiento con inductores enzimáticos que multiplica por un factor hasta de 10 la actividad de las enzimas metabolizantes.

Desde hace tiempo se conocen ejemplos del fenómeno, entre otros, los fallos que la píldora anticonceptiva experimenta en mujeres consumidoras de barbitúricos o especialmente expuestas al DDT, sustancias que activan la eliminación de los estrógenos. Por el contrario, insecticidas del tipo de los arilimidazoles parecen ser los más potentes inhibidores conocidos de la hidroxilación del estradiol y etinilestradiol, por lo que afectan fuertemente a la eliminación de las hormonas estrogénicas (Bolt y Kassel, 1976), incrementando su permanencia en el organismo.

En este mismo orden, en un estudio realizado en Suecia (Birgitta Kolmodin, 1974) se comprobó que en 26 trabajadores expuestos al lindano y al DDT la vida media de la antipirina, la fenilbutazona y el oxacepam era mucho más corta que en individuos controles.

Según Sanders y Kirkpatrick (1975), ratas en cuya dieta había bifenilos policlorados presentaron a las tres semanas aumento de peso del hígado y una reducción del tiempo de sueño debido al pentobarbital. También se ha visto que los PCB son potentes inductores de proliferación del tejido hepático en ratas y de la N-desmetilasa de colorantes azoicos, aunque reprimen fuertemente la dimetilnitrosamina-desmetilasa.

Una interesante influencia en los procesos de hidroxilación del benzopireno y la anilina la ejercen las dietas grasas; así, la presencia de un 10 por 100 de grasas saturadas en la dieta reduce la hidroxilación del benzopireno y la cantidad de citocromo P-450, pero no afecta a la hidroxilación de la anilina. Ésta, sin embargo, es aumentada por el aceite de girasol.

La exposición del ratón durante dos horas a dosis de ozono del orden de 0,2 ppm, que puede encontrarse en las vías urbanas de una ciudad actual, promueve la elevación de la transaminasa glutamicopirúvica en plasma, de fosfatasa ácida, glutatión-peroxidasa y succinato-oxidasa en el pulmón y de ácido ascórbico en el hígado; el mismo efecto parece producirse con dióxido de nitrógeno,

y se estima que esto no deriva de daño celular, sino más bien de la activación de un sistema de oxidación-reducción (Fig. 5.5 y 5.6).

Pequeñas cantidades de múltiples sustancias inducen un incremento en la actividad de las enzimas microsómicas hepáticas, pero, aunque la mayoría de los estudios *in vitro* se efectúan con fracciones microsómicas de homogeneizados hepáticos, también se desarrollan en tejidos extrahepáticos como riñón, intestino, placenta, piel, glándula suprarrenal, etc.; la actividad enzimática parece ser cualitativamente similar en los distintos órganos, aunque sea diferente en el orden cuantitativo.

La multiplicidad de inductores potenciales sugiere una diversidad de lugares de acción o la posibilidad de lugares comunes. Desde el punto de vista morfológico existe evidencia de que los tóxicos incrementan el retículo endoplásmico liso; los niveles de algunos componentes del retículo endoplásmico, como el citocromo P-450, pueden ser proporcionales a la actividad metabólica, y servir para su cuantificación.

Recordemos que la información biológica almacenada (codificada) en el ADN de cada núcleo celular rige la síntesis de proteínas, y por tanto de las enzimas, en un complejo proceso denominado expresión génica, rigurosamente controlado. El primer paso de la expresión es la transcripción, que es regida por los factores de transcripción (TF), proteínas que se acoplan al ADN, ligándose a elementos *cis*-reguladores, cada uno de los cuales



Figura 5.5. Bajas concentraciones de de ozono inducen varias enzimas.

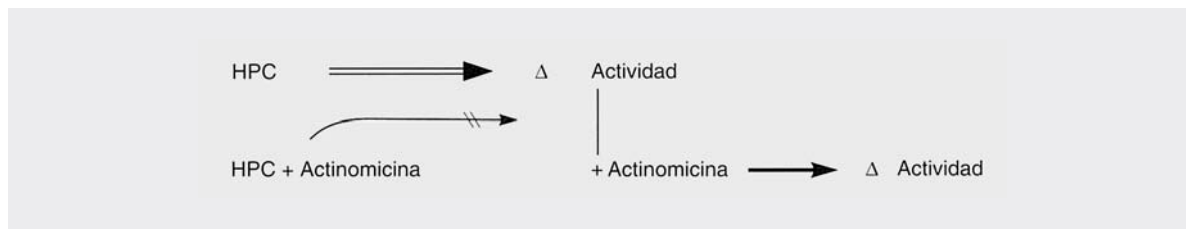


Figura 5.6. La actinomicina impide la acción inductora del hidrocarburo policíclico cuando se administran conjuntamente, pero no por separado.

corresponde a un locus (posición o lugar del cromosoma en que reside un gen, siendo éste un segmento de ADN capaz de originar una cadena polipéptica). Por aquella unión se activa la síntesis, en otro gen, del ARN-mensajero, el cual dará lugar a la traducción, o síntesis proteica en los ribosomas. Concretando: la síntesis de proteínas se resume en dos pasos principales: envío de un mensaje desde el ADN del núcleo celular al ARN-m del citoplasma, lo que se conoce como *transcripción*, y lectura del código del ARN-m por el ARN-t del ribosoma, para ordenar secuencialmente los aminoácidos del nuevo polipéptido, lo que se denomina *traducción* o *transducción*; de las dos bandas del ADN sólo se transcribe una.

El hecho demostrado de que algunos inhibidores de la síntesis proteica a distintos niveles, como la etionina, cicloheximida, puomicina, actinomicina, etc., interfieren el aumento de actividad enzimática tras la aplicación de inductores evidencia que el mecanismo de inducción se basa en un aumento de la síntesis enzimática. Congruente con ello es que los esteroides anabolizantes sean buenos inductores.

Cuando los citados inhibidores se añaden a cultivos al mismo tiempo que un hidrocarburo policíclico, no se produce inducción, pero, si se aplica actinomicina D (que bloquea la ARN-m polimerasa e impide la transcripción; por ello tiene aplicación como antibiótico y antineoplásico) a células que habían sido expuestas previamente al inductor, si se observa incremento de actividad. Esto se ha explicado admitiendo que el inductor estimula primeramente la síntesis de un ARN-m específico que será quien rija la nueva síntesis enzimática (Fig. 5.6).

Si se cultivan células durante 10 horas en presencia simultánea de benzantraceno y cicloheximida (que actúa sobre el ribosoma y bloquea la síntesis proteica en la traducción, por lo que también tiene utilidad como antibiótico) y entonces se

transfieren a un nuevo medio inerte, se produce un inmediato aumento de la síntesis enzimática. Parece, pues, que, al menos en los casos de hidrocarburos policíclicos, la primera fase de la inducción enzimática depende de la transcripción y no de la traducción (Fig. 5.7).

Por otra parte, cuando la actividad de la arilhidrocarburo-hidroxilasa (AHH) se incrementa en un orden de 20, el contenido en protohem aumenta como 2, y en su mayor parte está constituido por citocromo P-450.

También el DDT incrementa la síntesis de ARN-m, tanto *in vivo* como *in vitro*.

Como ejemplos de los mecanismos de inducción de los miembros de la familia de los citocromos P (CYP) (véase Capítulo 4), podemos citar (Boelsterling, 2007):

1. La inducción de CYP1A1, CYP1A2 y CYP1B1 es regulada por la vía del receptor de hidrocarburos aromáticos (AHR) (véase Capítulo 6).
2. El CYP3A es regulado por el receptor de pregnano X (PXR).
3. Otras formas de CYP y de diferentes enzimas son reguladas por factores nucleares en el hepatocito.
4. CYP2B6, CYP3A y CYP2C son inducidos a través del receptor constitutivamente activo (CAR), posiblemente por el fenobarbital.

En general, los mecanismos destoxicantes de mayor importancia son los que se realizan mediante oxidaciones e hidroxilaciones, merced a los sistemas de oxidasas e hidroxilasas.

Como quiera que muchas de estas enzimas intervienen en la biosíntesis de esteroides y de aminoácidos, en la ω -oxidación de los ácidos grasos, etc., es lógico esperar que se produzcan numerosas alteraciones metabólicas como consecuencia



Figura 5.7. La actinomicina impide la transcripción, y la cicloheximida la traducción.

de la estimulación que se pueda realizar sobre tales sistemas enzimáticos.

Ciertamente, muchas de estas enzimas son capaces de actuar sobre multitud de xenobióticos, aunque aún no se sabe si ello es debido a falta de especificidad o a su capacidad de rápida adaptación a sustancias extrañas. Desde hace años se conoce que por tratamiento de animales con algunas de estas sustancias se consigue un gran incremento en la capacidad oxidativa; cuando la inducción se realiza con barbitúrico, se aumenta la oxidación de productos alifáticos, mientras que el pretratamiento con hidrocarburos policíclicos induce la hidroxilación de núcleos aromáticos (Figs. 5.8 y 5.9).

Sabemos que los más importantes sistemas enzimáticos microsómicos son los encargados de oxidar, hidroxilar y desalquilar sustancias tales como los hidrocarburos policíclicos, insecticidas organoclorados, esteroides, etc. El sistema básico requiere fosfato de nicotinamida-adenina dinucleótido reducido (NADPH) y oxígeno, y es inhibido cuando el monóxido de carbono se fija a su componente citocromo P-450.

Cuando un individuo está expuesto a fenobarbital, DDT, hexaclorofeno, hidrocarburos policíclicos, terpenos, etc., se produce un incremento en la síntesis de todos los componentes del sistema, incluyendo citocromo P-450, ARN, proteína, etc. Ya hemos visto que la proporción del citocromo P-450 puede revelar el grado de actividad del siste-



Figura 5.8. El fenobarbital incrementa las oxidaciones de moléculas alifáticas.

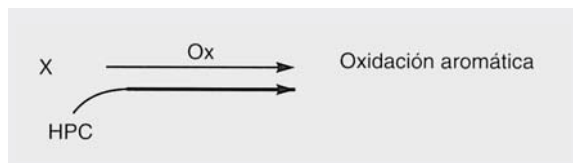


Figura 5.9. Los hidrocarburos policíclicos incrementan las oxidaciones de moléculas aromáticas.

ma, que también puede medirse mediante la desmetilación de la amidopirina (piramidón), oxidación de la anilina, etcétera.

A veces una intensa actividad del sistema resulta conveniente porque da origen a productos menos tóxicos o más fácilmente eliminables, pero en muchas otras ocasiones los productos resultantes son más tóxicos que los primitivos.

Es el caso del tetracloruro de carbono, que resulta 10 veces más tóxico para individuos con el sistema hiperactivo por pretratamiento con inductores que para los que no fueron estimulados, porque el tetracloruro de carbono produce un radical libre Cl_3C^* muy reactivo (Fig. 5.10). Similar mecanismo parece ocurrir con el cloroformo.

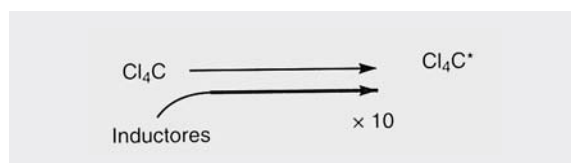


Figura 5.10. Los inductores incrementan la toxicidad del tetracloruro de carbono.

Según Smuckler, Arrhenius y Hultin (1967), existe un notable paralelismo entre los mecanismos hepatotóxicos del tetracloruro de carbono y los de las nitrosaminas.

Estos tóxicos ambientales, procedentes de reducción de los nitroso-compuestos, parecen producir su efecto tóxico primario mediante una deficiencia del transporte de electrones dependientes del sistema NADPH_2 , a nivel del citocromo P-450. Ello da como resultado una reducción del metabolismo microsómico, de donde puede deducirse decremento de la síntesis proteica y degeneración grasa.

Por otra parte, al ser las nitrosaminas compuestos muy electrófilos, se unen covalentemente con el ARN y el ADN, con lo que, además de ser carcinogénicos, resultan mutagénicos.

La inducción de estos sistemas enzimáticos por tratamiento con diversos productos no sólo incrementa la actividad de las enzimas normalmente implicadas, sino que también puede estimular algunos pasos metabólicos determinados. Así, el 2-acetamidofluoreno (Fig. 5.11) es normalmente metabolizado a 5-OH-derivado, 7-OH-derivado y N-OH-derivado, que ha resultado ser hepatocarcinógeno; cuando la administración del producto se hace

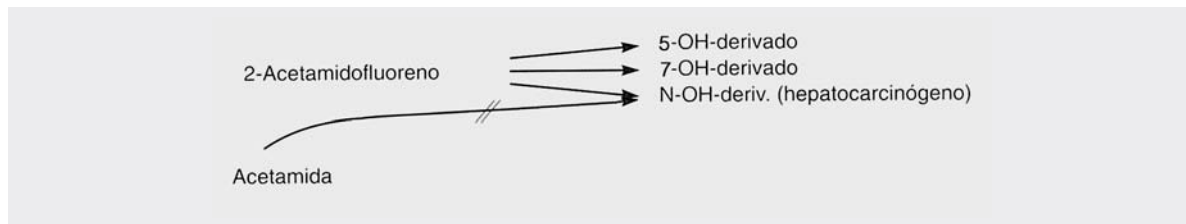


Figura 5.11. La acetamida impide la formación del carcinógeno.

en forma crónica, se incrementa la vía de N-hidroxiación, pero, si se efectúa un pretratamiento con acetamida, resulta inhibida esta vía metabólica en beneficio de las otras dos reacciones, con lo que se logra evidente disminución del riesgo de cancerización.

De la misma manera, el 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) (Fig. 5.12), importante residuo industrial, que además de tumores produce necrosis suprarrenal, al ser metabolizado experimenta hidroxilación en sus dos grupos metilos; el hidroxilado en la posición 12, al igual que los metabolitos con el anillo modificado, son probablemente productos destoxicados, mientras que el 7-hidroximetil derivado ha resultado ser el agente corticoadrenalítico. Si se realiza un pretratamiento con 3-metilcolantreno y otros hidrocarburos policíclicos, se produce una inducción de las

hidroxilasas que actúan preferentemente sobre el anillo, en lugar de sobre los grupos metilos; de ello resulta una protección contra la necrosis suprarrenal citada.

Otro fuerte inductor de la aril- hidrocarburo hidroxilasa ha resultado ser el TCDD, 2,3,7,8-tetracloro- dibenzo-p-dioxina, producto causante de los accidentes tóxicos producidos en la comarca de Seveso, en el norte de Italia. La dosis de TCDD precisa para inducir la hidroxilasa es alrededor de 30.000 veces más pequeña que la de metil-colantreno requerida para el mismo efecto.

Además, el TCDD induce la síntesis hepática de aril-hidrolasa, O-desmetilasa y N-desmetilasa en dos cepas de ratones (B_6 y D_2), mientras que el metilcolantreno solamente lo consigue en una de ellas (B_6) (Fig. 5.13).

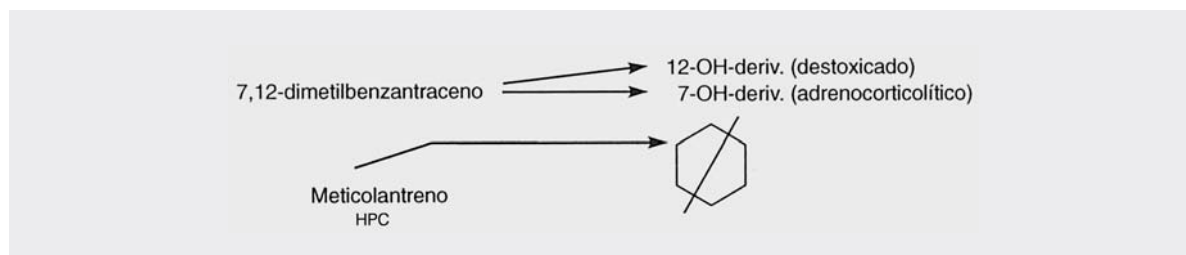


Figura 5.12. Los hidrocarburos policíclicos favorecen la rotura del anillo del 7,12-dimetilbenzantraceno.

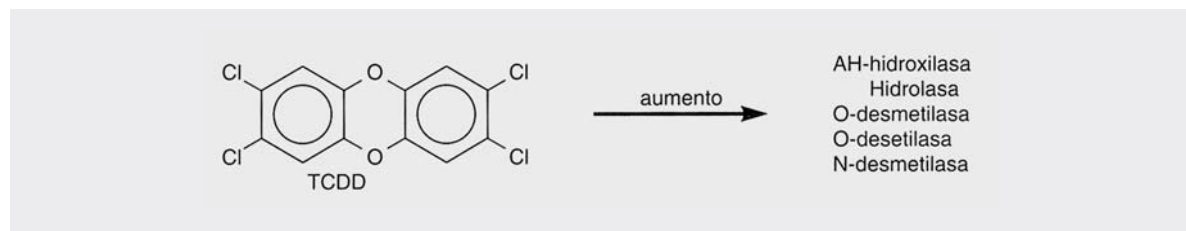


Figura 5.13. Las dioxinas inducen fuertemente la síntesis de numerosas enzimas.

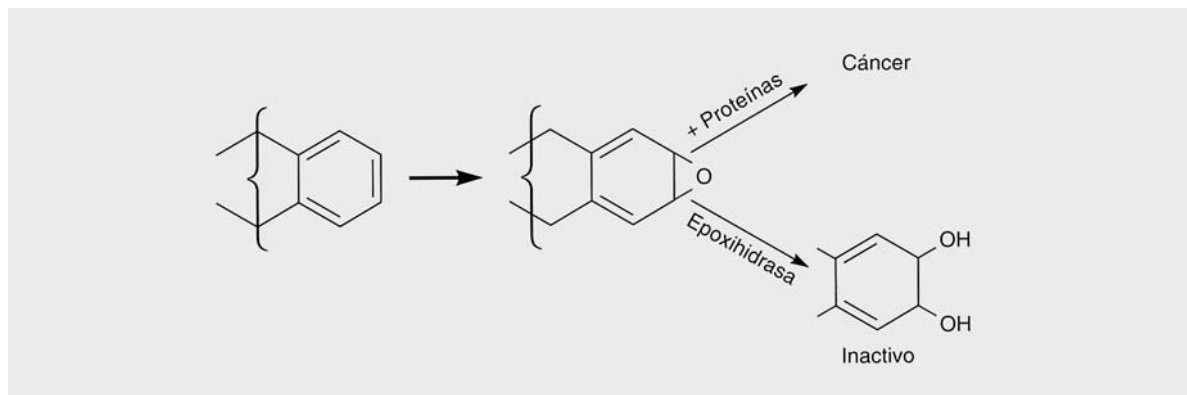


Figura 5.14. La oxidación de hidrocarburos origina epóxidos cancerígenos, inactivables por las epoxihidrolasas.

Los procesos oxidativos se valen normalmente del citocromo P-450, hemoproteico así denominado porque forma un complejo con el monóxido de carbono con un máximo de absorción a 450 nm; justamente, por irradiación a esta misma longitud de onda, se consigue *in vitro* disociar dicho complejo.

Se admite que el citocromo P-450 se une al oxígeno molecular y lo transforma en oxígeno activado, uno de cuyos átomos es transferido al sustrato, mientras el otro es reducido a H_2O . El oxígeno es preferentemente transferido a sistemas de electrones π , con frecuente formación de epóxidos. Ahora bien, éstos no son mucho más polares y excretables que los compuestos primitivos y, en la práctica, suelen resultar metabolitos de toxicidad aumentada, por su capacidad para establecer uniones covalentes.

Los epóxidos de los hidrocarburos policíclicos y bencenos halogenados son las auténticas formas cancerígenas de estas sustancias que, posteriormente, son transformadas en hidroles inactivos por la acción de una enzima epoxihidrasa (Fig. 5.14). Desde el aislamiento de un metabolito dihidrol del 2,5,2',5'-tetrahidrobifenilo, se supone que también es un epóxido el metabolito activo de este BF hepatotóxico.

Cuando se ha administrado 1,1,1-tricloropropénoxido, inhibidor de la epoxihidrasa, se acrecienta la unión de los metabolitos oxidados del metilcolantreno al ADN, y como consecuencia se incrementa la carcinogénesis.

Entre los hidrocarburos aromáticos que más interés han reclamado en el campo de la contami-

nación ambiental, se hallan los hidrocarburos policíclicos, y de ellos el 3,4-benzo-a-pireno (Fig. 5.15) se considera modelo de compuesto carcinogénico. Ciertamente, se sabe que para desarrollar esa propiedad, el hidrocarburo policíclico debe reunir una serie de requisitos, principalmente que una zona de la molécula posea una densidad de carga que la haga especialmente reactiva; en ello influye la disposición relativa de los anillos y el tipo y localización de los sustituyentes que pudiera haber. Ya en 1950 Boylan sugirió que la carcinogénesis podría estar relacionada con la facilidad para formar epóxidos (puente de oxígeno entre dos carbonos contiguos) en la molécula. En la fórmula del benzo-a-pireno se aprecia una zona cóncava que ha recibido el nombre de región L o *bahía*, y otra parte de la molécula con los anillos dispuestos en

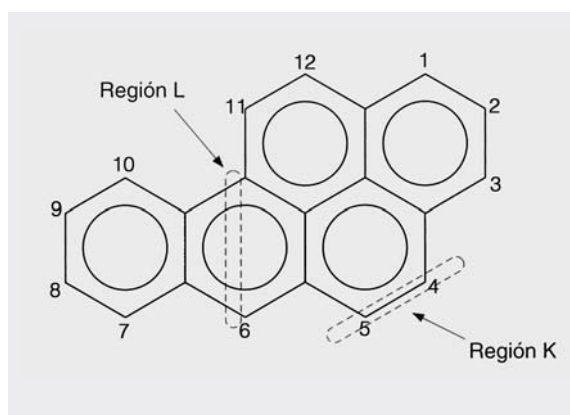


Figura 5.15. 3,4-benzo-a-pireno.

línea recta (*región K* o *nobahia*); en cada una de ellas hay diferente densidad electrónica que influye en su reactividad.

Cuando el benzo-a-pireno es oxidado por las oxidasas de función mixta (MFO), dependientes del citocromo P-450 (cit P450 1A1) y concretamente por la benzopireno-3-monooxigenasa, una AHH muy inducible (véase «oxidaciones microsómicas», Capítulo 4), se forman epóxidos; de éstos, los situados en la región bahía son los más electrófilos y reaccionan con grupos nucleófilos biológicos presentes en proteínas, ácidos nucleicos, etc., lo que origina necrosis, mutaciones, cáncer y malformaciones (teratogénesis).

Recordemos que la destoxicación de los epóxidos con apertura del anillo, se realiza por hidratación y posterior conjugación.

Los epóxidos pueden ser hidratados por las enzimas epoxihidrolasas (EH) a dihidroles, que aún son susceptibles de oxidación por intervención de las MFO que forman nuevo epóxido en otro lugar de la molécula. Los dioles en general, al ser más hidrosolubles, resultan menos tóxicos que los epóxidos, pero cuando aquéllos se epoxidan, y forman, por ejemplo, el 7,8-dihidrodiol-9,10-epóxidobenzopireno, vuelven a ser fuertemente cancerígenos y mutagénicos, especialmente el enantiómero (-)7,8,(-)7R,8R, que es 10 veces más tumorígeno que el (+)7S,8S. Se ve, pues, que el metabolismo hidroxilativo del benzopireno sigue dos caminos, uno que aumenta el poder cancerígeno y otro que lo disminuye; lo interesante sería poder inhibir aquellas hidroxilasas y estimular éstas.

El bromobenceno es oxidado por las MFO y origina dos epóxidos, situados, respectivamente, entre los carbonos 2-3 y 3-4; el primero, aunque se une a hemoglobina y a restos de cisteína, se transforma fácilmente en o-bromofenol, poco tóxico, que se excreta por vía renal. Sin embargo, el 3,4-epóxido es más reactivo y puede seguir tres caminos: a) minoritariamente puede originar p-bromofenol, b) por su gran reactividad se une covalentemente a proteínas tisulares, preferentemente a restos de histidina y otros, produciendo necrosis, c) la epoxidohidrolasa lo transforma en 3,4-dihidrodiol; tanto éste como el epóxido pueden conjugarse con el glutatión, pero (véase Capítulo 6) el conjugado libera tioles reactivos nefrotóxicos.

La formación de los dos epóxidos es susceptible de influirse por pretratamiento con inductores; el

pretratamiento con fenobarbital aumenta la vía del 3,4-epóxido, y por tanto la toxicidad renal y hepática, posiblemente por inducir la síntesis de una isoenzima del P-450, mientras que el pretratamiento con 3-metilcolantreno induce la vía del 2,3-epóxido, con formación de o-bromofenol de menor toxicidad.

Parece ser que la síntesis de las arilhidrocarburohidroxilasas está regida por un solo gen de carácter dominante, y de la misma forma que Evans (1965) propuso dividir a los humanos en dos grupos, acetiladores rápidos y acetiladores lentos, según su capacidad genética para efectuar la destoxicación de numerosos fármacos por acetilación, mediante la N-acetiltransferasa, así Kellerman *et al.* (1973) sugirieron clasificar a las personas en inductoras de AHH (aril-hidrocarburo-hidroxilasa) altos, medios y bajos, conforme a unas pruebas realizadas sobre los linfocitos.

Según estos autores, los individuos que son inductores de AHH altos o medios corren un mayor riesgo de cáncer broncopulmonar que los inductores bajos.

Los sistemas de monooxigenasa son extremadamente sensibles a diferencias de especie, edad e influencias alimentarias y ambientales. Algunos sistemas experimentan un cierto ciclo circadiano, pues su actividad varía hasta cinco veces de la mañana a la tarde.

La inducción por pretratamiento es máxima en individuos jóvenes; las ratas recién destetadas responden mucho mejor que las adultas; los animales bien alimentados reaccionan peor que los hambrientos, siempre que la dieta proteica sea suficiente.

Las diferentes especies responden muy distintamente a los inductores; ello es cierto no sólo desde el punto de vista cuantitativo, sino también desde el cualitativo. El ratón es una de las especies que peor responden; así, el DDT y el benzopireno producen en él un efecto mínimo. Por el contrario, las respuestas de la rata son mucho mejores, en un orden parecido a las humanas.

Se ha visto que en determinadas cepas de ratones, la actividad basal de la aril-hidrocarburo (benzo-a-pireno)-hidroxilasa es detectable en el hígado fetal varios días antes del nacimiento. Si a una hembra gestante se le administra nueve días antes del parto una sola dosis intraperitoneal de 3-metilcolantreno, a las 24 horas ya puede comprobarse

una notable inducción de la enzima en el feto. Esta inducción no se consigue con otras cepas de ratones; pero si ambas cepas se someten a pretratamiento con fenobarbital se logra un incremento de la actividad hidroxilasa en todos los animales. Ello es otra evidencia de que los mecanismos inductivos son diferentes para el metilcolantreno y para el fenobarbital.

Ahora bien, Pelkonen *et al.* (1975), al estudiar la cinética de la benzopirenohidroxilasa en el adulto humano, descubren la existencia de dos enzimas diferentes, mientras que el hígado fetal sólo contiene una sola enzima benzopirenohidroxilante.

Se ha puesto de manifiesto la posibilidad de inducir ocho monooxigenasas en el hígado y riñón de conejo; de ellas, dos N-acetilarylaminooxigenasas son inducibles más del doble por el acetilaminofluoreno y la acetanilida, mientras que otras cuatro monooxigenasas no son inducibles en el hígado, aunque sí en el riñón.

En los últimos años se ha dedicado mucha atención a la formación espontánea de N-nitroso-compuestos por reacción de nitritos con sustancias susceptibles de N-nitrosación, como aminas secundarias y terciarias, entre las que hay algunos medicamentos (aminopirina, antibióticos, etc.), alquilureas y aminoácidos. Muchos productos químicos usados en la agricultura, como los fungicidas, herbicidas e insecticidas carbámicos, fertilizantes ureicos, etc., pueden resultar nitrosados al reaccionar con sustancias con grupos nitrosos.

Residuos de estos productos pueden estar presentes en los alimentos de los animales o el hombre, y sufrir N-nitrosación en el tracto intestinal, y se sabe que las nitrosaminas formadas se metabolizan para originar radicales libres alquilantes de considerable toxicidad. Entre los diversos mecanismos que pueden promover estos procesos químicos hay algunos en los que se ha comprobado la participación de enzimas bacterianas (Hawthornth y Hill, 1971). Varios autores han estudiado la nitrosación en estómago, intestino, vejiga urinaria, etcétera.

Se han encontrado enzimas nitrorreductasas en el hígado y riñón de los mamíferos, donde, en presencia de NADPH y condiciones anaerobias, reducen los grupos nitro de los azocompuestos.

Las nitrosaminas son convertidas, por hidroxilación enzimática, en α -hidroxilnitrosaminas; éstas resultan ser agentes alquilantes que pueden ceder uno o más de sus sustituyentes, bien direc-

tamente o bien a través de un diazoalcano, una sal de diazonio o un ion carbonio. De la alquilación que estos productos pueden originar en el ARN o en el ADN dependerá la carcinogénesis o la mutagénesis.

Algunas nitrosaminas requieren una transformación previa antes de que puedan ejercer sus efectos tóxicos o carcinogénicos; así, la dimetilnitrosamina (DMN) ha de sufrir una desmetilación microsómica. Como consecuencia de esto, en animales deficientes en proteínas, cuyo arsenal enzimático está lógicamente reducido, la DMN es casi la mitad de tóxica para el hígado, pero, por el contrario, al disminuirse, por el mismo motivo, la eliminación del producto, los animales de experimentación presentan mayor incidencia de tumores renales.

También existen numerosas evidencias de procesos de inhibición enzimática originados por contaminantes del medio.

Ratas tratadas con benceno y tolueno muestran un incremento en el peso del hígado, pero experimentan disminución de la fracción proteica sobrenadante a 9.000 G, que es la fracción del homogenado hístico donde se concentra la mayor capacidad activa microsómica.

Se observa también disminución de la actividad de la amidopirina N-desmetilasa y de la capacidad de peroxidar lípidos. Igual efecto produce el tetracloruro de carbono; sin embargo, la diferencia enzimática puede evitarse con pretratamiento con fenobarbital, aunque no con 3-metilcolantreno.

La mayoría de los inhibidores dejan sentir su efecto casi inmediatamente pero se ha visto que algunos, como el ácido p-aminosalicílico o la clorotetraciclina, requieren casi una semana.

El monóxido de carbono inhibe el citocromo P-450, y ocurre que atmósferas con sólo un 2 por 100 de CO bloquean *in vivo* la hidroxilación de la anilina y la desmetilación oxidativa de la amidopirina; ante esto, es lícito pensar en otras numerosas interferencias que la contaminación ambiental ha de producir en los procesos biológicos de oxidoreducción.

Por otro lado, sustancias ambientales de carácter inductor pueden interferir la acción de otros inductores. Así, animales expuestos a insecticidas como el DDT y el clordano pueden no sufrir estimulación al ser tratados con reconocidos inductores; animales enjaulados sobre serrín de pino experimentaron ya inducciones debidas a los productos de la resina,

y responden mal posteriormente; productos originados en el almacenaje del alimento, como derivados peroxidados del colesterol y otros esteroides, pueden actuar de inductores insospechados, y al igual que los restos de insecticidas pueden provocar trastornos en el metabolismo de los esteroides.

Se ha visto que la capacidad inductora de muchas sustancias es superada por la de sus derivados metilados; así:

anfetamina	<	metanfetamina
cumarina	<	4-metilcumarina
pirazol	<	4-metilpirazol
alcohol hidroxibutiltolueno	<	metil éter-O-hidroxibutiltolueno

formación de esta última en la membrana celular, mediante la administración de donadores de metilos, puede suponer un efecto citoprotector en intoxicaciones por etanol, paracetamol, galactosamina, etinilestradiol, etc., ya que se ha comprobado que la dieta deficiente en grupos metilo reduce el contenido en fosfolípidos de las membranas de los hepatocitos.

Durante la preñez, el alto contenido de metabolitos reducidos de la progesterona parece reducir las actividades enzimáticas.

Se conocen numerosos casos de inducción de las enzimas metabolizadoras de medicamentos, que son causa de fallos de la dosificación (Tablas 5.3, 5.4, 9.4, 9.6 y 9.10). (Véase Interferencias en la biotransformación, Cap. 9.).

En resumen, la inducción enzimática tiene lugar en todos los tejidos, y podemos reconocer cuatro grandes grupos de inductores (Tabla 5.2), que se

Este efecto es paralelo al aumento de la actividad de la metiltransferasa y la incorporación de grupos metilo a moléculas de interés biológico. La transmetilación juega un importante papel en la actividad celular y concretamente en la defensa de la acción de los tóxicos. Por metilación se transforma la noradrenalina en adrenalina, la serotonina en melatonina, la fosfatidiletanolamina en fosfatidilcolina, etc. La estimulación de la

denominan según la sustancia más representativa del grupo: barbitúricos, hidrocarburos policíclicos, estrógenos, y otros diversos:

Tipo I. La inducción cuyo agente *tipo* es el *fenobarbital*, y que son moléculas globosas, después de un tiempo medio de actuación de una hora a pocos días, origina las siguientes respuestas anatómicas o funcionales:

- Aumento del tamaño de las células.
- Gran aumento del peso del hígado.
- Incremento del tamaño y actividad del retículo endoplásmico liso (REL).
- Aumento muy general de actividades de enzimas oxidasas, pero puede ser bloqueado por posterior exposición a inductores del tipo II (HPC).
- Gran inducción de la subfamilia citocromo P-450II B1, y consecuentemente de las enzimas MFO que dependen de este citocromo. Ello es evidenciable por la oxidación de hidrocarburos alifáticos y derivados (tetracloruro de carbono, cloroformo, nitrosaminas, etc.).
- La inducción se valora midiendo la actividad de las oxidasas microsómicas.

Tipo II. Los agentes tipos son *hidrocarburos policíclicos* (HPC), como el 3,4-benzopireno, 3-metilcolantreno, las dioxinas, y también compuestos nitroderivados aromáticos (*azocolorantes*); todos ellos son moléculas planares, aromáticas, productos liposolubles que originan:

Tabla 5.2. Tipos de inductores enzimáticos.

TIPO I:	Fenobarbital
TIPO II	Hidrocarburos policíclicos Nitroderivados aromáticos
TIPO III:	Esteroides Hormonas diversas
TIPO IV:	Diversos PCB Etanol PUFA Humos Cannabinoides

- Poco aumento de tamaño de células ni de órganos (hígado).
- Escasa alteración del retículo endoplásmico liso (REL).
- Pequeña variación de las proteínas microsómicas.
- Disminución de algunas enzimas, pero aumento de otras, oxidasas y epoxidasas de hidrocarburos aromáticos (arilhidrocarburo hidroxilasas, AHH) y de arilaminas, dependientes del citocromo P-450I A1 y A2; disminuye el P-450II B1.
- Esta inducción es más especializada que la del tipo fenobarbital.
- El tiempo requerido para la inducción es menor que el preciso con el tipo fenobarbital.

La inducción tipo II:

- Bloquea la capacidad inductora del fenobarbital, pero éste favorece la acción de los HPC.
- Suele conducir a carcinogénesis.

Para medir el mecanismo inductivo de los HPC, primitivamente se valoraba la actividad de la, arilhidrocarburo hidroxilasa (AHH), pero como ésta origina diversos metabolitos, se prefiere actualmente determinar la desalquilación oxidativa efectuada por otras monooxigenasas como la 7-etoxiresorufina-O-desetilasa (7-EROD), 7-pentoxiresorufina-O-desalquilasa (7-PROD), 7-etoxicumarina-O-desetilasa (7-ECOD), etc., las dos primeras producen 7-hidroxiresorufina, y la tercera 7-hidroxicumarina, que se cuantifican por espectrofluorometría. Las tres monooxigenasas citadas pueden ser inhibidas con alfa-naftoflavona o con metirapona.

Tipo III. Está constituido por compuestos con estructura *esteroide*, presente en numerosas hormonas, que ya hemos citado. La mayoría de las hormonas corticoides, somatotropina y sexuales son estimuladores de la síntesis proteica, en general, y de diversas enzimas, en particular. Como ejemplo, citemos a la pregnolona, que induce la síntesis del cit P-450III A1, y de la NADPH-oxidoreductasa.

Es un grupo poco estudiado aún.

IV. Grupo misceláneo. Podríamos incluir aquí distintos compuestos que actúan como inductores de *tipo I* o *tipo II* o *de ambos*. Ejemplo de este últi-

Tabla 5.3. Inducción enzimática en el metabolismo de fármacos

Fármacos cuya biotransformación es estimulada	Inductores
Alcohol	Fenobarbital
Anticoagulantes orales	Alcohol (crónico) Barbitúricos Carbamacepina Glutetimida Griseofulvina Rifampicina
Antidepresivos tricíclicos	Barbitúricos
Carbamacepina	Difenilhidantoína Fenobarbital
Corticosteroides	Difenilhidantoína Fenobarbital Rifampicina
Difenilhidantoína	Alcohol (crónico) Barbitúricos Difenilhidantoína
Digitoxina	Fenilbutazona Fenobarbital Rifampicina
Estrógenos	Antiepilépticos Rifampicina
Teofilina	Barbitúricos
	Tabaco (productos de la combustión)

mo son los bifenilos policlorados (PCB), que inducen las dos subfamilias de citocromos y que son carcinógenos.

Otros, como los constituyentes del humo del tabaco o de los gases de escape de los motores de explosión, y presentes en los alimentos asados y ahumados, así como los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), integrantes de los aceites de maíz, cacahuate, lino, etc. (C 18:2) son *multiinductores*, aunque fundamentalmente actúan como los del tipo II.

El etanol, que preferentemente es metabolizado por la alcoholdehidrogenasa (ADH) citosólica y, sólo ante gran consumo, por las MFO dependientes de cit P-450II E, es un fuerte inductor de este citocromo. Como se detalla en el Capítulo 9, Tabla 9.10, el alcohol etílico presenta tres tipos de inte-

racciones enzimáticas con otras sustancias; en el bebedor ocasional, el etanol experimenta una competencia metabólica con fármacos que son biotransformados por las mismas enzimas que él, como deshidrogenasas, oxidasas, MFO, interfiriéndose mutuamente la eliminación, y ocasionando un alargamiento de la vida media y el efecto de ambos; por otro lado, compuestos como el disulfirán (antabus), cianamida, cloramfenicol, cefalosporinas, antifúngicos (tipo ketoconazol), etc., inhiben a la aldeshidó deshidrogenasa, interfiriendo la eliminación de este metabolito del alcohol; finalmente, el bebedor habitual o crónico, pero con un hígado normal, ha inducido diversas enzimas oxidasas que aceleran la biotransformación, con disminución de la vida media y efectividad de diversos fármacos.

Ante fármacos multiinductores se observa una gradación de efectos que, de más a menos inducción, puede esquematizarse como sigue:

$$P-450III A 1 > P-450I A 2 > P-450II E = \text{óxido reductasa.}$$

Algunos tóxicos poseen un efecto bifásico: primero son inhibidores y posteriormente actúan como inductores. Otros, como los cannabinoides, inhiben o reducen determinadas enzimas e inducen otras (inhiben G-6-Pasa, desmetilasas, peroxidasas, AHH, MFO, bloqueando incluso el efecto inductor del fenobarbital, ATPasa, MAO; a dosis bajas inducen la síntesis de adenilciclaza, que inhiben a dosis altas, por lo que afectan, en cascada a los niveles de AMP-c, proteinquinazas, metabolismos del glucógeno, etc.). También inducen la cannabinol hidroxilasa.

El efecto máximo requiere cierto tiempo, variable en cada caso, después de administrado el inductor. Si se aumenta la dosis, podrá incrementarse el efecto hasta cierto límite.

Cuando se administran simultáneamente dos inductores, el resultado puede ser mayor, posiblemente por inducción de diferentes mecanismos.

Se ha propuesto, y aplicado en algunos casos, el uso de inductores de mecanismos enzimáticos en terapéutica clínica. Citemos algunos ejemplos:

A un niño con hiperbilirrubina neonatal se le administró fenobarbital en dosis de 15 mg, dos veces al día, y 0, 1 mg de testosterona al día, desde el tercero al duodécimo mes de vida; se consiguió

Tabla 5.4. Medicamentos inductores o inhibidores enzimáticos.

Inductores	Inhibidores
Barbitúricos (expto. Butalbital)	Cimetidina
Carbamacepina	Cloranfenicol
Glucocorticoides	
Griseofulvina	Eritromicina
Fenilbutazona	Isoniazida
Hidantoínas	Quinina
Rifampicina	Disulfiram
Estrógenos	Valproico
	Verapamilo

bajar hasta la normalidad los niveles de bilirrubina, que volvieron a subir al interrumpir el tratamiento.

A un grupo de doce mujeres embarazadas se le administraron dosis diarias de barbitúricos, que oscilaron entre los 30 y 120 mg, durante las dos semanas anteriores al parto; en todos los casos los recién nacidos presentaron bilirrubinemia muy baja.

El uso experimental de procesos de inducción o inhibición enzimáticas permite, en ocasiones, profundizar en el conocimiento del mecanismo y localización de fenómenos tóxicos (Roth *et al.*, 1992). (Véase Cap. 7, Fig. 7.25.)

BIBLIOGRAFIA

- Alberts B, Bray D, Lewis J *et al.* *Molecular biology of the cell*. 2ª ed. New York, Garland Publications Inc. 1989.
- Bolt HM, Kassel H. Effects of insecticide synergists on microsomal oxidation of estradiol and ethynylestradiol and on microsomal drug metabolism. *Xenobiotica*. 1976 Jan;6(1):33-38.
- Cornish-Bowden AJ, *Fundamentals of enzyme kinetics*. (3rd edition), UK, Portland Press. 2004.
- De Bruin A. *Biochemical toxicology of environmental agents*. Amsterdam: Elsevier, 1976.
- Desvergne B, Michalik L, Wali W. Transcriptional regulation of metabolism. *Physiol. Rev*. 2006; 86: 465-514.
- Dragani TA, Sozzi G, Della Porta G. Effect of enzymatic induction and inhibition on cyclophosphamide-induced sister chromatid exchange in vivo. *Carcinogenesis*. 1983;4(1):83-6.
- Eisenthal R, Danson MJ (eds). *Enzyme assays: A practical approach*. Oxford. Oxford University Press. 2002.

- European Nordik Group. *EU maximum levels for dioxins and dioxin-like PCBs*. 2008. <http://norden.org/pub/miljo/miljo/uk/TN2008531.pgf>.
- Evans, DAP, White TA. Human acetylation polymorphism. *J. Lab. Clin. Med.* 1964. 63:394-401.
- Evans DAP. Genetic factors in drug therapy. In: *Clinical and Molecular Pharmacogenetics*. Cambridge: Cambridge University Press; 1993.
- Flores J, Mediavilla A, Armijo JA (eds). *Farmacología humana*, 4ª ed. Barcelona. Masson. 2003.
- Gilbert SF. *Developmental Biology*, 8ª ed., Sunderland, MA, EE.UU. Sinauer Ass. Inc. 2006.
- Hawsworth G, Hill MJ. The formation of nitrosamines by human intestinal bacteria *Biochem. J.* 1971; 122, 28-30.
- Hogson E, Guthrie FE. *Introduction to biochemical toxicology*. Oxford: Blackwell Sc Pub. 1980.
- IUPAC. Biological monitoring for exposure to volatile compounds (VOCs). *Pure Appl. Chem.* 2000, 72, 3, 385-436.
- Kolmodin B. *Drugs interactions*. New York: Raven Press, 1974.
- Mounie J, Goudonnet H, Prevost C, Champion L, *et al.* Nutritional factors of microsomal enzymatic induction : influence of lipidic components of the diet. *Eur. J. drug metab. pharmacokinet.* 1990, 15, 4, 265-271
- Pelkonen O, Kaltiala EH, Karki NT, Jalonen K, Pyorala K. Properties of benzpyrene hydroxylase from human liver and comparison with the rat, rabbit and guinea-pig enzymes. *Xenobiotica*. 1975; 5(8):501-9 .
- Regoli F, Winston GW, Gorbi S, Frenzilli G, *et al.* Integrating enzymatic responses to organic chemical exposure with total oxyradical absorbing capacity and dna damage in the european eel *anguilla anguilla*. *Environ. Toxicol. and Chem.* 2007, 22, 9, 2120-2129.
- Rose P, Whiteman M, Moore PK, Yi Zhun Zhu. Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents. *Biological Psychiatry*. 1997, 4, 814-826.
- Roth J, Hardison RD, James RC *et al.* Cocaine hepatotoxicity: influence of hepatic enzyme inducing and inhibiting agents on the site of necrosis. *Hepatology*, 1992; 15, 5: 934-940.
- Salazar E, Pimentel E. Interacciones entre alimentos y fármacos. *Acta Odontológica venezolana*, 2002, 40.
- Sanders OT, Kirkpatrick RL. Effects of a polychlorinated biphenyl (PCB) on sleeping times, plasma corticosteroids, and testicular activity of white-footed mice. *Environ Physiol Biochem.* 1975;5(5):308-313.
- Shao J, Zhou B, Zhu L, *et al.* *In vitro* characterization of enzymatic properties and inhibition of the p53R2 subunit of human ribonucleotide reductase. *Cancer Research*, 2004, 64, 1-6.
- Shen WW. The metabolism of psychoactive drugs: A review of enzymatic biotransformation and inhibition. *Nat. Prod. Rep.*, 2005, 22, 351-368.
- Smuckler EA, Arrhenius E, Hultin T. Alterations in microsomal electron transport, oxidative N-demethylation and azo-dye cleavage in carbon tetrachloride and dimethylnitrosamine-induced liver injury. *Biochem J.* 1967; 103(1): 55-64.
- Whittaker, JA, Evans, D.A.P. Genetic control of phenylbutazone metabolism in man. *Brit. Med. J.* 4, 323-328 (1970).
- World Health Organization. WHO-ECEH/IPCS; *Consultation on assessment of health risk of dioxins: re-evaluation of daily tolerable intake (TDI)*, Geneva: WHO, 1998.

6

MECANISMOS DE TOXICIDAD

El lema del Congreso de la Asociación Europea de Toxicología (EUROTOX), celebrado en Basilea (Suiza) en 1994, fue *Toxicología en transición*; con él se quiso destacar el cambio de orientación experimentado por esta ciencia, desde un enfoque descriptivo a uno mecanicista, es decir, se considera de mayor interés y trascendencia el conocimiento de los mecanismos a través de los cuales se desarrollan los procesos tóxicos, que el estudio de las patologías producidas por las distintas sustancias o familias de compuestos químicos, lo que parece propio de diccionarios o enciclopedias; dado que muchas sustancias siguen caminos similares en la producción de sus efectos tóxicos, se estima más inteligente conocer básicamente estos caminos o procesos y aplicar como ejemplos las sustancias que los desencadenan.

Tras las fases Toxicocinéticas de absorción, distribución y biotransformación, la molécula tóxica en forma activa está en disposición de unirse a estructuras biológicas; cuando la afectación de esta estructura es trascendente, se inicia el proceso tóxico, en caso contrario no se apreciará daño.

Si contemplamos la unión de la molécula del tóxico con una biomolécula estamos elaborando Toxicología molecular. En el caso de que las biomoléculas sean los ácidos nucleicos, ADN o ARN y, consecuentemente, los genes, estaríamos en la Genotoxicología (véase Capítulo 7), que nos puede conducir a una Toxicología de poblaciones. Pero también podemos detenernos en los efectos del tóxico sobre orgánulos o constituyentes subce-

lulares (toxicología celular) o en los efectos específicos sobre determinados órganos (toxicología órgano-específica), y finalmente en los efectos globales sobre el individuo. Por su parte, denominamos Toxicogenética al estudio de la participación de los genes en los efectos de los tóxicos, a consecuencia de variaciones genéticas, en los procesos toxicocinéticos, incluida la biotransformación, y en las características de los receptores y su respuesta (toxicodinámica).

Por otra parte, cuando alguien se plantea el hecho de que una sustancia produzca efectos nocivos en los seres vivos, puede aproximarse al conocimiento intentando alcanzar diferentes niveles de profundidad, fundamentalmente los siguientes:

a) En un nivel superficial atendemos sólo a los síntomas o daños que se aprecian, es decir, nos conformamos con decir, por ejemplo, que el tetracloruro de carbono produce una hepatopatía, o que el metilmercurio o el n-hexano inducen neuropatías periféricas; constatamos o diagnosticamos *qué ocurre*.

b) Si pretendemos conocer algo más y nos interesamos por los mecanismos fisiopatológicos (véase capítulo siguiente), indagamos *cómo* un individuo que estaba normal (estado fisiológico) pasa a experimentar una enfermedad (patología).

c) Pero podemos profundizar más, intentando encontrar los mecanismos básicos o moleculares de reacción entre el tóxico y las biomoléculas orgánicas, tratando de explicarnos *el porqué* en términos de toxicología bioquímica.

Intentaremos resumir en forma inteligible los más importantes de estos mecanismos según los conocimientos actuales, aunque, como dice Boels-terli (2007), es difícil realizar una clasificación de respuestas tóxicas desde un punto de vista mecanístico, pues un determinado mecanismo puede conducir a muy diversas respuestas; así la formación de aductos con las bases del ADN, daños oxidativos sobre el ADN o la disrupción hormonal pueden contribuir a la inducción de tumores, etc. Por otra parte, no debemos olvidar que los sistemas biológicos tienden siempre a mantener la *homeostasis* o equilibrio en sus componentes, estructuras y funciones, por ello en el proceso tóxico intervienen sucesos previos o pro-tóxicos, pero también otros procesos defensivos que, en ocasiones son, paradójicamente, favorecedores del daño.

Los mecanismos de toxicidad generalmente incluyen más de un acontecimiento bioquímico o molecular; suelen consistir en secuencias de pasos o cascadas de reacciones, con complejos sistemas de retroalimentación que constituyen una entramada red de reacciones moleculares, de los que en nuestros días se trata de llegar a conocer a los genes implicados.

Podríamos esquematizar que todos los procesos profundos de acción tóxica pueden resumirse en dos grupos principales, según consistan en afectación de la integridad de la *estructura* celular o bien en la alteración de la *función* celular. Sin embargo, no debe olvidarse que una afectación puede conducir a

la otra y viceversa, porque una lesión celular llevará normalmente pareja un déficit funcional, en tanto que una alteración funcional podrá acabar afectando a la integridad estructural (Figura 6.1).

Los efectos nocivos que se derivan de la unión de una sustancia química con las biomoléculas pueden ser de dos clases:

a) Potencialmente reversibles, de carácter subletal, generalmente de tipo funcional.

b) Irreversibles, normalmente letales para la célula, que se expresan como alteraciones estructurales. Los investigadores aún no han encontrado el indicador que marca el punto de no retorno, es decir, el momento preciso en que se produce la necrosis (muerte celular), y tampoco han sido capaces de explicar por qué una célula muere mientras otras próximas no se afectan.

Aunque aún quedan muchos puntos oscuros en el intento de explicar los procesos tóxicos en términos de toxicología molecular, cada vez es mayor la información disponible, que frecuentemente nos obliga a reestructurar nuestros conocimientos previos.

Se sabía que las características fisicoquímicas de cada sustancia condicionan su tropismo hacia diferentes órganos o tejidos, que servirán como dianas de su acción o como simples lugares de almacenamiento. Dentro de cada órgano diana la sustancia selecciona los grupos celulares según la constitución de éstos y de su disposición topográfi-

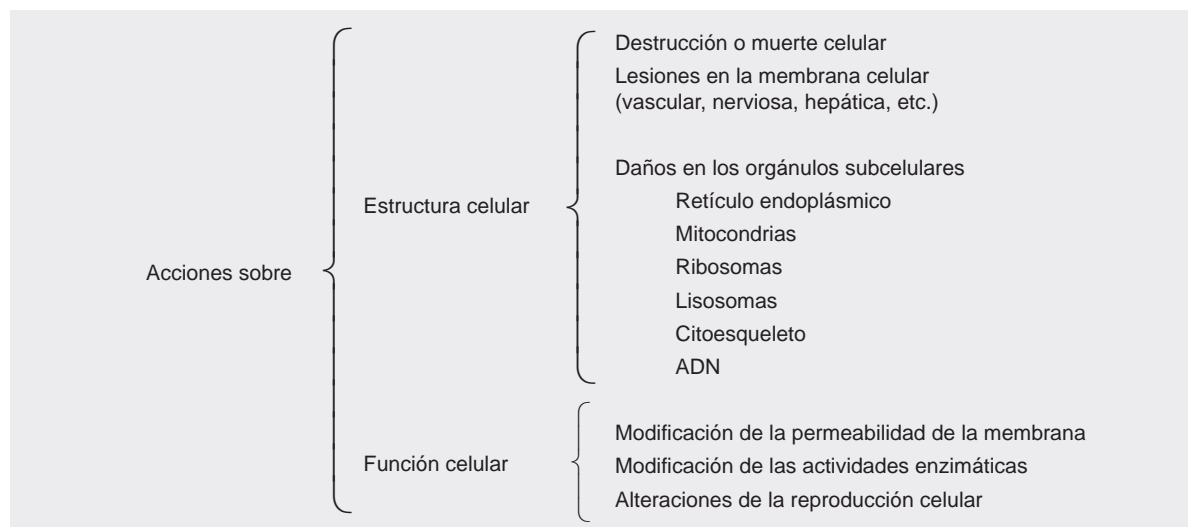


Figura 6.1. Mecanismos básicos de toxicidad.

ca, normalmente en relación con su proximidad a los vasos sanguíneos. A su vez, los distintos constituyentes de las células serán, en razón de sus integrantes químicos, la diana u objetivo de los diferentes agentes químicos.

Dado que la biotransformación de los xenobióticos puede producir metabolitos activos, los grupos celulares cuyo nivel de enzimas metabolizantes es capaz de dar lugar a mayor proporción de dichos metabolitos experimentarán, en cada caso, mayores efectos nocivos.

Un primer mecanismo de acción tóxica se inicia en la alteración, tanto por inhibición como por activación o por inducción, de enzimas de interés fisiológico que participan en procesos ya sean de carácter energético como plástico. Así, una disminución de ATP deteriora las bombas de Na^+ y de Ca^{++} e irá acompañado de un aumento de ion lactato y consecuentemente de acidosis intracelular. Una alteración de las enzimas que regulan la homeostasis intracelular del calcio desencadenan importantes mecanismos tóxicos, como se verá más adelante.

Otro mecanismo, que preferentemente da lugar a efectos retardados, consiste en alteraciones de los sistemas de señales celulares.

Por otra parte, en la biotransformación de xenobióticos se pueden originar dos tipos de metabolitos especialmente reactivos: los *agentes alquilantes* o *arilantes* y los *radicales libres*, capaces de establecer enlaces covalentes con biomoléculas celulares, y las especies de oxígeno activo, formadoras de peróxidos a partir de lípidos celulares, principalmente fosfolípidos de membrana. Ambos mecanismos están regulados por los niveles de glutatión (GSH) y otros proteintioles que, como agentes nucleófilos pueden neutralizar a los radicales libres, y como compuestos oxidables pueden reducir especies oxidantes, en tanto el organismo disponga de suficiente reserva de dichos tioles.

Un último mecanismo a considerar es el que engloba a los procesos de carácter inmunitario.

A) AFECTACIÓN DE LA ESTRUCTURA CELULAR

Los mecanismos tóxicos que lesionan la arquitectura celular pueden consistir en alteraciones más o menos profundas de las estructuras proteicas

que conducen a destrucción total de la célula (causticación, necrosis), o solamente de la membrana celular, lo que originará la salida de su contenido. Una afectación más selectiva puede lesionar sólo estructuras u órganos subcelulares, como el retículo endoplásmico, las mitocondrias, los ribosomas, los lisosomas, que respectivamente darán lugar a trastornos en las futuras actividades metabólicas y energéticas (disminución de ATP, junto con incremento de lactato y consecuente incremento de la acidez intracelular, ya comentado), en la síntesis de proteínas o a sucesivas destrucciones tisulares al liberarse las enzimas productoras de lisis, que se hallan almacenadas en los lisosomas (proteasas, lipasas, etc.).

La integridad celular no sólo se afecta por procesos destructivos más o menos extensos, sino también por la absorción de xenobióticos o retención de metabolitos o excretas que modifiquen la arquitectura, composición química o características fisicoquímicas de la célula o de sus constituyentes.

Muerte celular

Tradicionalmente, la muerte de la célula se ha denominado *necrosis* (del griego *necro*, muerte), pero en los últimos años se utilizan también otros dos términos: *oncosis* y *apoptosis*; el primero procede del griego *onkos*, hinchazón, y se ha propuesto en sustitución del de necrosis para situaciones patológicas en que la principal característica de la célula enferma es su inflamación o balonamiento, seguido de formación de vesículas y estallido (Magno y Joris, 1995). El segundo se aplica a la muerte destinada al recambio celular fisiológico, que elimina las células dañadas, precancerosas o en número excesivo (como un antónimo de mitosis); pero se ha visto que la apoptosis también puede inducirse por xenobióticos (Fawthrop *et al.*, 1991).

La forma de muerte celular que hoy conocemos como apoptosis fue ya intuida por el patólogo alemán Virchow (1821-1902), y se confirmó posteriormente por los hallazgos ultraestructurales con microscopía electrónica que indujeron a denominarla «necrosis por encogimiento o contracción»; esto hace que la célula afectada muera pero, a diferencia de la necrosis, como veremos luego, no se

lesionan los tejidos vecinos y no hay respuesta inflamatoria.

El término apoptosis se utiliza en griego para designar la caída de los pétalos de las flores o las hojas de los árboles, con un sentido de renovación natural.

Fue aplicado por Kerr *et al.* (1972) para aludir a un fenómeno biológico básico de cinética de la renovación celular; es decir, aunque supone una forma de muerte y eliminación de células, la arquitectura del tejido se conserva. Participa ampliamente en la organogénesis, en la resolución de procesos inflamatorios, en el control del crecimiento tumoral, en los procesos inmunitarios, en la defensa ante los virus, etc.

Es también el mecanismo por el cual los animales no plantígrados pierden la membrana interdigital que poseen en la época embrionaria.

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

Se considera actualmente (Alison y Sarraf, 1995) como un mecanismo de respuesta biológica cuando la célula percibe un conflicto entre las señales que recibe, procedentes del interior o del exterior. Por ello, no es correcto interpretar la apoptosis exclusivamente como «muerte celular

programada», ya que también es inducida por agentes externos.

Así, parece que, cuando radiaciones, hipertermia o compuestos citotóxicos dañan gravemente a las células, se produce directamente la muerte de éstas (necrosis), pero cuando la afectación es más suave se induce la apoptosis; en los tejidos se puede presentar mezcla de células afectadas por una o por otra.

Se ha visto que algunas sustancias, por ejemplo 2,3-dimetil-1,4-naftoquinona, a bajas concentraciones (10 μM) inducen proliferación celular, mientras que a concentraciones medias (30 μM) producen apoptosis, y a concentraciones altas (100 μM) originan necrosis. En un individuo, durante un mismo proceso tóxico pueden encontrarse células en necrosis y en apoptosis, e incluso en lo que ha sido llamada *necrosis secundaria* (Guille, 1997) o intermedia.

La necrosis es un fenómeno pasivo; no está programada genéticamente. Se inicia por un aumento de la permeabilidad de la membrana celular, que se traduce en entrada de agua e iones acompañada de disminución de la capacidad para bombear iones, lo que lleva a hinchazón y posibilidad de rotura. Tiene lugar un considerable incremento de la concentración citosólica de calcio (véase más adelante), el cual activa las fosfolipasas que, a su vez, degradan a los fosfolípidos y se produce rotura de membranas y fragmentación de orgánulos, con hinchazón y estallido celular, cuyo contenido (enzimas lisosómicas) afecta a las células vecinas lo que induce una respuesta inflamatoria en el tejido (Tabla 6.1).

En contraste con la necrosis, la apoptosis es un fenómeno activo que supone la activación de determinados genes («genes de muerte») cuya expresión da lugar a la síntesis de varias proteínas que pueden actuar bien como reguladores de la transcripción y frenando la proliferación celular o bien como activadores de enzimas proteolíticas (endonucleasas, caspasas, topoisomerasas, transglutaminasas, etc.), que alteran o fragmentan proteínas y ADN. Se han descubierto también genes que frenan la apoptosis actuando sobre aquéllos, y que, a su vez, pueden ser inhibidos, con lo que quedan libres de actuar los apoptóticos (Tabla 6.2). Diversas proteínas se unen al xenobiótico y defienden al ADN de la apoptosis y de la cancerogénesis; una de ellas es la proteína p53, fosfoproteína de vida media corta que se sintetiza en el núcleo de la mayoría de las

Tabla 6.1. Formas de muerte celular

Causa	Denominación	Mecanismo	Agentes
Genética (Natural)	Apoptosis	Endonucleasa ↓ ADN	Dioxinas Corticoides T-Butilestaño
Tóxica	Oncosis	Peroxidación ↓ GSH ↓ ATP ↑ Ca ⁺⁺ ↓ RUPTURA DE MEMBRANAS Y CITOESQUELETO	Cl ₄ C Quinonas Peróxidos Cistamina Faloidina Paraquat

Tabla 6.2. Diferencias entre apoptosis y necrosis/oncosis.

Variable	Apoptosis	Necrosis/Oncosis
Origen	Programación genética	Accidental
Especificidad celular	Si	No
Proceso	Activo. Consume energía	Pasivo
Tamaño celular	Disminuye. Condensación núcleo	Aumenta. Balonamiento
Membrana plasmática	Se conserva, aparecen vesículas	Se desintegra
Orgánulos	Se conservan	Se desintegran
Cromatina	Se agrega a membrana	Flocula
ADN	Fragmentación a nucleosomas*	Roturas al azar
Cuerpos apoptóticos**	Se forman	No; lisis total

* Oligonucleosomas, por endonucleasas.

** Son trozos de cromatina rodeados de membrana.

células tras inducción de señales de estrés, y que a su vez induce la expresión de numerosos genes, como el gen p53, localizado en el brazo corto del cromosoma 17, y que es uno de los genes más comúnmente mutados en el cáncer humano; tras una señal de diferentes clases de estrés, como una alerta tumoral, estrés mecánico o térmico, radiaciones, hipoxia o numerosos xenobióticos, es activado por el factor Arf y expresa la proteína p53; como consecuencia, se activa la apoptosis o bien se produce una parálisis (*senescencia*) del ciclo celular, con lo que se opone a la generación de tumores.

Las enzimas que parecen jugar el papel principal en la apoptosis son las proteasas denominadas *caspasas*; otras proteasas diferentes que también participan en la apoptosis son las calpaínas (que fueron las primeras enzimas reconocidas como implicadas), catepsinas, granzimas, serina-proteasas, proteasosomas, etc. Las caspasas constituyen una familia de proteasas capaces de hidrolizar un residuo de aspartato, bajo la catálisis de la cisteína.

Consecuentemente, las caspasas son aspartasas C-cisteína; es decir, cortan a las proteínas por el ácido aspártico, y tienen cisteína en el centro activo de la enzima. La caspasa-1 es una enzima convertidora de interleuquina-1 β . El nombre de caspasa proviene de las iniciales de la expresión *cysteine-dependent aspartate specific protease*; es homóloga de la proteína de muerte CED-3 del gusano *C. Elegans* (ver más adelante).

Se sintetizan en forma inactiva, como *procaspasas* que han de ser activadas por las caspasas inductoras, para iniciar lo que se conoce como *cas-*

cada proteolítica, en la que participan también otras proteínas como la p-53, las Apf (factor activador de proteasa apoptótica, que son homólogas a las CED-4 del gusano), las FAS, las Bax, etc., que son proapoptóticas, y las Bcl (expresadas por protooncogenes del cromosoma 18), que son antiapoptóticas; las proteínas Bcl-2 incluyen inhibidores de la apoptosis (Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1 y A1) y también promotores de la apoptosis (Bax, Bad y Bcl-X_S); son dímeros (homodímeros o heterodímeros). Se conocen actualmente casi 15 caspasas que se dividen, según su intervención en la cascada proteolítica, en tres grupos: *inductoras*, *ejecutoras* e *inductoras-ejecutoras*. También pueden ser iniciadas por el citocromo c liberado al citosol desde las mitocondrias.

El primer cambio bioquímico en la apoptosis es la modificación del potencial de membrana mitocondrial, con liberación de citocromo c. La presencia de éste en el citosol activa a distintas enzimas proteasas como las caspasas y las endonucleasas; el citocromo c se compleja con el Apf-1, y el complejo formado se une a la procaspasa-9, que se activa, transformándose en la caspasa-9, la cual realiza una activación proteolítica de la procaspasa-3 (Fig. 6.2).

Una vez activadas, las caspasas ejecutoras fragmentan el citoesqueleto y el núcleo; en esto último colabora una *endonucleasa* (ADNasa) activada.

Otra enzima que participa en estos procesos es la *topoisomerasa*, capaz de cortar una o dos hebras del ADN, lo que permite un giro o relajación transitoria de la doble hélice que favorece el acceso a la información genética; ello da lugar a una sobre-

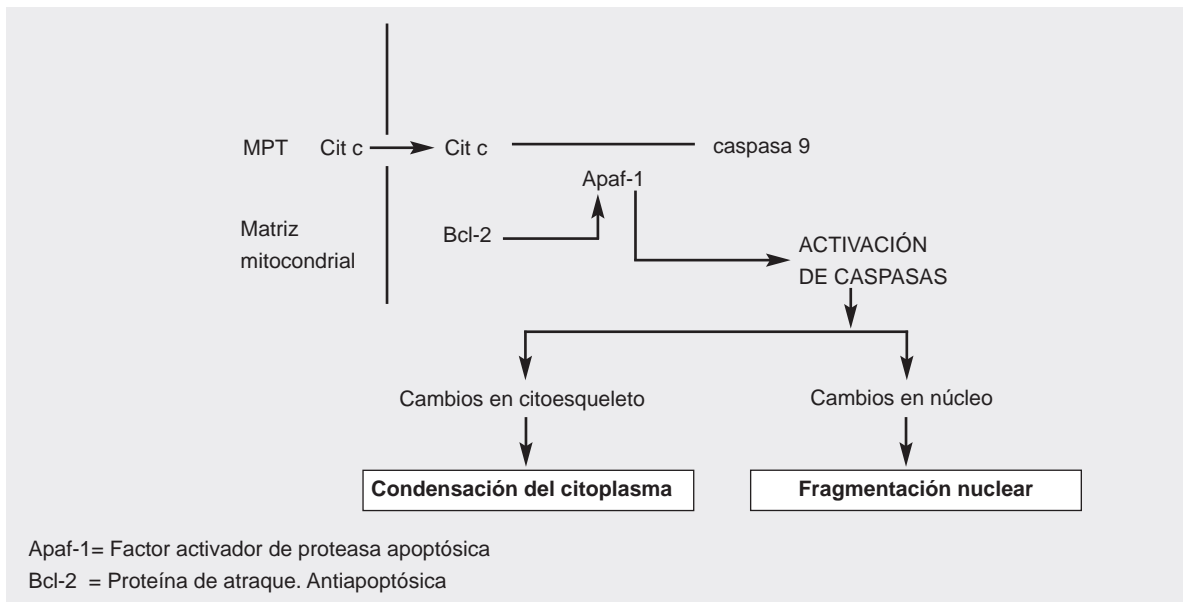


Figura 6.2. Desarrollo de la apoptosis.

expresión de las caspasas y otras proteínas con inducción de la apoptosis.

La detección de la producción de apoptosis en un órgano por estudio histológico es difícil, porque no se produce inflamación y los cuerpos apoptóticos son rápidamente fagocitados, de forma que el proceso de la apoptosis se desarrolla entre 2 y 6 horas. Algunos laboratorios siguen para estudiarla dos sistemas: uno que detecta la iniciación y otro la ejecución; los métodos actuales son los siguientes:

a) *citometría de flujo* para el recuento de células apoptóticas

b) *cuantificación inmunoquímica* de fragmentos nucleosómicos y de caspasas mediante anticuerpos fluorescentes

c) técnica de cuantificación histoquímica conocida como T.U.N.E.L., consistente en la hibridación *in situ* de secuencias nucleotídicas específicas de rotura del ADN; se marcan los extremos rotos de las fibras de ADN.

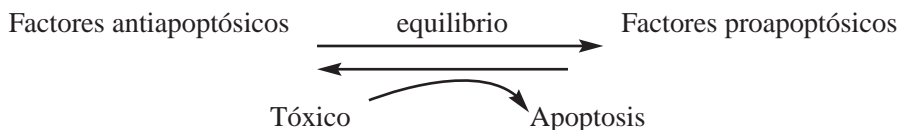
d) Revelado, mediante un colorante, del desplazamiento de fosfatidilserina. Como se expuso en el Capítulo 3, este fosfolípido está en la capa interna de la bicapa lipídica de la membrana de las células vivas; cuando éstas mueren, moléculas de fosfatidilserina pasan de la capa interna a la externa y son

sustituidas por moléculas de un colorante (APO-PercentageTM, 2004).

e) Por otra parte, mediante electroforesis en geles de agarosa se obtiene la escalera de ADN, lo cual no es totalmente específico, al contrario que la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que consigue la amplificación de segmentos polimórficos del ADN, cada uno de los cuales es útil como marcador genético.

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

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



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

En el nematodo *C. elegans* se identificaron dos genes proapoptóticos o de muerte, denominados *c. elegans death* simbolizados por *ced*, los *ced-3* y *ced-4*, que están contrarrestados por el *ced-9*, antiapoptótico. Paralelamente, en los mamíferos, en el linfoma de células B (*B-cell lymphoma*, *Bcl*) se encontró el gen *Bcl-2*, equivalente al *ced-9*, que al impedir la apoptosis favorece el desarrollo tumoral. Frente al gen *Bcl-2*, los mamíferos tienen el p-53 que expresa la proteína p-53, de 53 kilodaltons de peso molecular que, al igual que otras similares, es proapoptótica y además se enlaza al xenobiótico y defiende al ADN de la carcinogénesis.

Se ha visto que cada región del sistema nervioso sigue un patrón temporal característico de muerte celular programada, que puede ser alterado por tóxicos, como el metilmercurio (CH_3Hg), que incrementa la fragmentación del ADN.

Los melanocitos (véase Capítulo 7) tienen niveles altos de *Bcl-2* para defender la piel de las agresiones físicas y químicas, pero eso favorece el cáncer llamado melanoma.

Como ejemplos de inducción de apoptosis por xenobióticos podemos citar:

- El trióxido de arsénico induce la expresión y la activación de las caspasas 1 y 3 en distintos tipos de células cancerosas, probablemente a través de un efecto tóxico sobre la mitocondria.
- El *acetaminofeno* provoca apoptosis por una acción directa sobre el ADN a través de la pérdida de regulación del calcio intracelular. Otras sustancias, como dicloroetileno, dimetilnitrosamina o tioacetamida participan en un mecanismo similar, provocando

muerte celular por oncosis o por apoptosis dependiendo de la concentración.

- El plomo actúa de forma análoga a como lo hace una sobrecarga de Ca^{2+} , ya que el Pb^{2+} se une a la proteína MTP que forma los poros de la membrana mitocondrial interna, con lo que sale al citosol el citocromo c y se inicia la cascada de activación de caspasas.

Algunas sustancias, como las microcistinas secretadas por microalgas verdeazuladas como las cianofíceas, son capaces de conducir tanto a apoptosis como a tumores. Estas toxinas penetran en el hepatocito gracias a un transportador de sales biliares, donde inhiben tanto a las fosfatasa tipo 1 (PP-1) como a las tipo 2A (PP-2A); esta inhibición da lugar a un aumento de proteínas fosforiladas (que no son hidrolizadas), lo que activa la cascada de las caspasas y consiguiente apoptosis (Hooser *et al.*, 2000), pero al propio tiempo pueden quedar fosforiladas proteínas supresoras de tumores (véase capítulo siguiente), lo que no impide la proliferación celular y el desarrollo de tumores (Carmichael, 1992).

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

B) ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN CELULAR

Pueden resumirse en tres:

- b. 1. Modificaciones de la permeabilidad de la membrana, que no sólo afectarán la entrada y salida de nutrientes, fármacos y excretas, sino también las de los iones Na, K y Ca, responsables de los fenómenos de polarización y despolarización de la

membrana y, en definitiva, de la transmisión eléctrica del impulso nervioso.

b.2. Modificación de la actividad enzimática, por afectación de una enzima o sistema enzimático (coenzima, etc.) con alteración de los procesos respiratorios, energéticos, nerviosos, catabólicos etc., en que aquélla interviniera. Aparte de las sustancias desproteinizantes, que también lesionan la estructura proteica de las enzimas, los principales tóxicos enzimáticos son:

1) Moléculas orgánicas que por su estereoisomería bloquean los lugares activos de la enzima; un ejemplo típico es el de la inhibición de la acetilcolinesterasa por los compuestos organofosforados (véase Fig. 10.3). 2) Elementos metálicos que bloquean los grupos tioles (-SH) enzimáticos; se denominan elementos tiolprivos: As, Hg, Pb, Cu, Ag, Mn, que inactivan enzimas tan importantes en la respiración celular como las deshidrogenasas. 3) Sustancias que se copulan con los elementos metálicos indispensables para la función enzimática, como Mg, Mn, Fe, Cu, Se; son el SH₂, CHN, CO, etc., que se han denominado sustancias metalprivas que inactivan a los citocromos respiratorios y a la superóxido dismutasa y la glutatión reductasa, protectoras de la peroxidación lipídica.

Un caso particular de inhibición enzimática lo presentan las toxinas de la seta *Amanita phalloides*, conocidas como faloidinas, amatoxinas o amanitinas; son octapéptidos bicíclicos que se unen a la enzima ARN-polimerasa II, lo que bloquea la síntesis del ARN-mensajero; de esta forma, se impide la transcripción, y con ello la síntesis proteica, por lo que la célula muere. Dado que para este proceso es preciso que la toxina penetre en la célula, esto sólo ocurre en las células en que es posible esa entrada, especialmente en las del epitelio intestinal, hígado y riñón, que disponen de un sistema multiespecífico de transporte a través de membrana. También los radicales libres y otros compuestos reactivos, como los alquilantes, pueden reaccionar con las enzimas e inhibirlas de forma irreversible.

Frente a estos fenómenos de inhibición hay que considerar los de activación y los de inducción enzimática, que suponen un incremento en la actividad de algunas enzimas como consecuencia de la absorción de determinados xenobióticos; aunque este aumento de actividad suele ser beneficioso, al

permitir más rápido metabolismo del inductor, muchas veces el producto de la biotransformación posee mayor toxicidad que la sustancia absorbida o bien la enzima activada desencadena un proceso patológico (véase Cap. 5).

b.3. Modificaciones de la reproducción (sea de la célula o del individuo) como consecuencia de la acción del tóxico sobre:

b. 3. 1. El material no genético, provocando alteraciones epigenéticas o citotóxicas que afectan la propia división celular (mitosis), como ocurre con la colchicina, que impide la formación del huso acromático, con lo que se interrumpe la distribución de cromátidas.

b.3.2. el material genético (ácidos nucleicos) y consecuentemente a la síntesis de proteína, y puede dar lugar a:

b.3.2. 1. Alteraciones transmisibles a la descendencia si se afecta el ADN en las células germinales (mutagénesis, teratogénesis).

b.3.2.2. Alteraciones no transmisibles a la descendencia si se afecta el ADN de las células somáticas (teratogénesis, cancerogénesis), o el ARN o la transcripción en la síntesis de proteínas (cancerogénesis, teratogénesis u otras).

Tanto la teratogénesis como la cancerogénesis pueden tener otros mecanismos de origen.

Las acciones de los tóxicos sobre el material genético celular son el objeto de la Genotoxicología (Capítulo 7).

Sin embargo, debemos realizar aquí algunas consideraciones. La secuencia completa del genoma de los animales y del hombre proporciona el catálogo de las funciones mediadas por proteínas en los sistemas vivos.

Las nuevas técnicas analíticas y los bancos de datos computarizados han impulsado la llamada *proteómica*, dedicada al estudio del *proteoma* (la parte proteica del genoma), de la misma forma que la *genómica funcional* se preocupa de asignar funciones a los genes.

Estas nuevas ramas de la Biología molecular están ayudando a comprender mecanismos moleculares de toxicidad, por ejemplo en la identificación de dianas proteicas para los agentes químicos, o las funciones de complejos multiproteínas y para el desarrollo de biomarcadores, etc.

Se ha visto que las proteínas de superficie de las células juegan un papel muy importante en el reconocimiento y en la adhesión celular. Estas moléculas (como las cadherinas, integrinas, ocludinas, etc.) establecen las uniones célula-célula y célula-sustrato, y también intervienen en la transmisión de señales intracelulares y como reguladoras de funciones.

Con estas propiedades son capaces de participar en una serie de procesos fisiológicos como desarrollo de tejidos, barrera epitelial, aprendizaje y memoria y respuesta inmunitaria. Pero algunos metales y otras sustancias pueden afectar estos procesos cuando se unen a las citadas proteínas, que actúan como dianas de la toxicidad de esos agentes químicos. Así, el cadmio y otros metales divalentes se unen a la E-cadherina en las células epiteliales, lo que aumenta la permeabilidad del epitelio y alteración de las vías de señales intracelulares.

Aunque los metales son significativamente tóxicos, son también cofactores esenciales para muchas actividades biológicas; esta dualidad ha provocado el desarrollo de mecanismos de transporte y de regulación homeostática. Así, las células disponen de un complejo abanico de transportadores, chaperonas, factores de transcripción y captadores destoxicantes (metalotioneínas, metalochaperonas, etc.) para sobrevivir a las ingerencias tóxicas.

Actualmente se sabe que:

- a. Los iones metálicos realizan una estimulación directa o indirecta sobre la transcripción genética.
- b. Los sistemas de transporte permiten a las células adquirir metales esenciales y evitar los efectos tóxicos de los iones tanto esenciales como no-esenciales.
- c. Las chaperonas metálicas intracelulares dirigen la distribución de los iones a enzimas, transportadores y factores de transcripción, al mismo tiempo que protegen a las moléculas sensibles y a las funciones celulares de la toxicidad inducida por los metales.
- d. Los metales de la dieta, principalmente el cinc, participan en la modulación de la expresión de genes implicados en la homeostasis de los metales en general, y en la respuesta al estrés causado por éstos.

CLASES DE MECANISMOS

Si deseamos conocer más profundamente cómo ocurren estos procesos, tendremos que buscar los mecanismos moleculares en que se fundamentan. Básicamente, todos ellos se inician con la unión de un número suficiente (número *crítico*) de moléculas del tóxico con otras tantas estructuras del ser vivo, que se conocen como *órganos o moléculas diana*, a partir de cuya unión se suceden procesos de transducción de señales que acaban afectando a la vida celular. De acuerdo con Rang *et al.*, 2004, estas dianas suelen ser proteínas clasificables como:

- receptores (véase apartado de *Toxicidad selectiva*),
- canales iónicos,
- enzimas,
- moléculas transportadoras.

Consecuentemente, los mecanismos de toxicidad pueden resumirse en los siguientes (Tabla 6.3):

- a) Mecanismos mediados por receptores: son de acción específica.
- b) Mecanismos no mediados por receptores: poseen acciones específicas e inespecíficas.
- c) Procesos desencadenados por reacciones inmunitarias, a través de mecanismos mediados y no mediados por receptores y con acciones específicas e inespecíficas.

Veámoslos con algún detalle:

- a) Mecanismos de acción mediados por receptores, que son siempre de carácter específico, y sobre los que actualmente existe un gran caudal de investigaciones e información (véase Toxicidad selectiva).
- b) Mecanismos no mediados por receptores, que a su vez pueden ser:
 - b. 1. Acciones específicas basadas en:
 - b. 1.1. Interacción con moléculas pequeñas e iones, con formación de quelatos.
 - b. 1.2. Reemplazo o sustitución de constituyentes celulares por xenobióticos (K por Li, Cl por Br, Ca por Pb, fosfolípidos extraños).
 - b. 1.3. Suplantación de metabolitos por antimetabolitos, que interrumpen procesos metabólicos o

los desvían hacia productos o funciones «erróneas»; son, por ejemplo, los análogos de bases púricas o pirimidínicas o de aminoácidos.

b.2. *Acciones inespecíficas*, como las siguientes:

b.2.1. Alteraciones de la permeabilidad de la membrana consistentes en interacciones de tipo fisicoquímico, por disolución en sus componentes, desorganización de sus micelas, modificación de su fluidez, etc.

Pueden ser más o menos reversibles: corresponden a la acción de los anestésicos generales volátiles que, según Ferguson, interfieren el equilibrio termodinámico de la biofase de forma transitoria, mientras su concentración en el organismo sea suficiente.

A veces la reversibilidad es más lenta, por mayor desorganización micelar, como ocurre con

Tabla 6.3. Clasificación de los principales mecanismos de toxicidad.

A. MECANISMOS DE TOXICIDAD MEDIADOS POR RECEPTORES O DIANAS ESPECÍFICAS:

1. Modificaciones enzimáticas: (Ver Capítulo 5)

A.- Disminución de la actividad enzimática:

A.1.- Represión génica, genes deficitarios y silentes

A.2.- Destrucción por pH, temperatura, etc.

A.3.- Inhibición:

- 1. Unión al sitio activo, en forma competitiva: esteroisómeros; ej. colinesterasas por organofosforados, PCBs- O-desmetilasa
- 2. Unión al sitio alósterico, no competitiva: Elementos tóxicos: As, Hg, Pb, Cu, Ag, Mn
- 3. Eliminación de cofactores: Compuestos metalprivos; SH_2 , CNH, CO.

B. Aumento de la actividad enzimática

B.1. Activación de protoenzimas; ej., proteasas por Ca-calmodulina

- Hidrólisis: proteasas, fosfatasa, fosfolipasas
- Fosforilación: fosforilasas y quinasas

B.2. Activación alostérica:

1. Cambio conformacional:

- Iones metálicos sobre: fosfatasa, amilasas
- Compuestos con grupos tioles: reductasa y proteasas
- Radiaciones: colinesterasas

2. Activación de proteínas reguladoras (ej. Prot-G, calmodulina)

3. Activación por mediadores: Ca, AMPc, GMPc, sobre: quinasas, fosfolipasas, etc.

B.3. Secreción, ej.: transaminasas de hepatocitos a sangre

B.4. Optimización del medio: cambios en pH, temperatura, sales

B.5. Inducción enzimática:

- Tipo I, Fenobarbital: gran inducción enzimática generalizada, y particularmente de la subfamilia P-450II B1; hidrocarburos alifáticos y derivados: CCl_4 , cloroformo, nitrosaminas
- Tipo II, Hidrocarburos policíclicos (benzopireno, metilcolantreno, dioxinas) y nitroderivados aromáticos (azocolorantes); inducción específica de oxidasas de hidrocarburos aromáticos y de arilaminas, dependientes del citocromo P-450I A1 y A2
- Tipo III: Esteroides y Hormonas diversas
- Tipo IV: Diversos: PCB, etanol, ácidos grasos poliinsaturados, humos, cannabinoides

2. Activación de receptores:

- Comunes: Ach, adrenergéticos, GABA, glicina, etc. (Ver Capítulo 6)
- Complejos: AH, PPA, NMDA, etc.

3. Bloqueo de receptores: Fe^{++} de hemoglobina por CO; Fe^{++} de citocromos por CNH (Ver Capítulo 7)

(continúa)

Tabla 6.3. Clasificación de los principales mecanismos de toxicidad. (*Continuación*)**B. MECANISMOS DE TOXICIDAD NO MEDIADOS POR RECEPTORES:****1. ACCIONES ESPECÍFICAS**

1. Quelación
2. Sustitución de constituyentes celulares: K por Li, Cl por Br, Ca por Pb, fosfolípidos por compuestos extraños, etc.
3. Suplantación de metabolitos por antimetabolitos

2. ACCIONES INESPECÍFICAS:**2.1. Alteraciones reversibles sobre:**

- 2.1.1. La permeabilidad de la membrana celular
- 2.2.2. La estabilidad de la membrana
- 2.2.3. Tesaurosismos

2.2. Alteraciones irreversibles:

- 2.2.1. Causticación
- 2.2.2. Unión con reactivos electrofílicos: Alquilación. Arilación. Estrés oxidativo

1. Reacciones radicalarias
2. Reactivos de óxido nítrico
3. Tioles activos

- 2.2.3. Alteración de la homeostasis del calcio: facilitación de la entrada (glutamato, lindano), bloqueo de la salida (paracetamol, CCl_4)

C. MECANISMOS MIXTOS:**1. Alteraciones inmunitarias:****1. Hipersensibilización**

- 1.1. Reacciones anafilácticas
- 1.2. Reacciones citotóxicas
- 1.3. Por inmunocomplejos
- 1.4. Mediadas por células

2. Inmunodepresión**3. Autoinmunidad****2. Modificación de la reproducción celular e individual y de la diferenciación: (Ver Capítulo 6)****1. Mecanismos epigenéticos (mitogénéticos)****2. Mecanismos genotóxicos:****2.1. Afectación del ADN:**

- 2.1.1. de células germinales (gametos) o heredables: mutagénesis o teratogénesis
- 2.1.2. de células somáticas o no heredables: teratogénesis, carcinogénesis

2.2. Afectación del ARN: cancerogénesis, teratogénesis, otras

agentes tensioactivos, algunos antibióticos y los anestésicos locales, alcoholes, etc.

Los disolventes orgánicos, las aminas cuaternarias de cadena larga y demás compuestos lipófilos pueden disolverse en los lípidos de las membranas biológicas, o extraer los mismos por disolución.

Sustancias como el éster polioxietilénico tritón, usado como agente no emulsionante, se acumulan

en la membrana celular, alterando su tensión superficial y llegando a impedir la vida de las bacterias.

La presencia del xenobiótico en la membrana bifásica, por simple disolución o por alguna forma de combinación química, puede modificar la orientación espacial de las moléculas de la membrana o producir cambios en la concentración de sus componentes, por agrupar micelas.

Los polielectrolitos cargados positivamente reaccionan con cargas negativas de la superficie de la membrana, aumentando su permeabilidad, al igual que ocurre con los compuestos donadores de hidrógeno cuando establecen puentes de hidrógeno con constituyentes biológicos.

Otros compuestos como el ácido tánico, los dicromatos, percloratos, etc., denominados «rompedores de estructuras», introducen regiones planares en la estructura tetraédrica del agua modificando la permeabilidad, al igual que, por mecanismo inverso, hacen los «agentes formadores de estructuras», del tipo polietilenglicol, la polivinilpirrolidona (PVP), etc.

En definitiva, tanto la separación de componentes de la membrana como la inclusión de un xenobiótico por disolución o reacción con aquellos, alteran las funciones de la membrana, especialmente la permeabilidad de la misma y su constante dieléctrica, factor fundamental en la transmisión nerviosa y en el intercambio de la célula con su medio.

Estos mecanismos de alteración de la membrana celular han cobrado nuevo interés, al estimarse el papel de muchos xenobióticos que realizan una acción no específica sobre la estabilidad de la membrana, como la efectuada por los anestésicos locales, quinidina, etc. Consiste en una acción estabilizante de la membrana (MSA), tipo quinidina, que inhibe su despolarización (entrada de Na^+) y por tanto el potencial de acción de las células excitables: ya que el bloqueo de los canales de sodio conduce también al bloqueo de los canales de potasio y de calcio; se ha observado esta actividad sobre el sistema nervioso central y periférico y sobre miocardio, en casos de sobredosis de alcoholes, barbitúricos, dextropropoxifeno, antidepresivos tricíclicos, antagonistas betaadrenérgicos, fenotiazinas, etc. (Henry y Cassidy, 1986).

Otra forma de interferencia se produce por almacenamiento (tesaurismosis) de xenobióticos líquidos o sólidos (colorantes, materia particulada, tintas de tatuaje, etc.), que pueden penetrar en la célula por endocitosis (o sea, fagocitosis, pinocitosis o endocitosis mediada por receptor) y desplazar de su posición fisiológica a los constituyentes celulares.

b.2.2. *Alteraciones irreversibles*: cuando consisten en acciones destructivas de carácter cáustico u oxidante por formación de combinaciones químicas estables (generalmente por establecimiento de

enlaces covalentes) del tóxico con moléculas constituyentes de la membrana o de componentes subcelulares (biomoléculas); estas alteraciones estructurales pueden conducir a funciones defectuosas o a la muerte celular (necrosis).

Según se sabe, hasta el momento, se producen por alguno de los siguientes procesos:

1. Causticación, que supone la desnaturalización de proteínas y de lípidos celulares.

2. Uniones con reactivos electrófilos (alquilación, arilación), producidos en reacciones radicalarias, en procesos de oxidación-reducción (conocidos como de *estrés oxidativo*), liberación de grupos reactivos, por ejemplo, por transtiolación, etc. Los agentes más importantes son:

- 2.1. Radicales libres y peróxidos.
- 2.2. Reactivos de óxido nítrico.
- 2.3. Tioles reactivos.

3. Alteración de la homeostasis del calcio y consecuentes activaciones enzimáticas.

1. Causticación

La causticación supone una desorganización de los componentes tisulares. Básicamente es una quemadura química, muy diferente de la térmica, producida en el lugar de contacto del tóxico con el tejido orgánico, tanto en piel, mucosas externas y en vías digestivas y respiratorias, así como en riñón, médula espinal, nervio óptico, etc., donde llegan o se concentran determinados xenobióticos o se originan metabolitos para los que resultan especialmente sensibles los tejidos locales (fenol, formol, tricloroacético, etc.).

Los agentes cáusticos son sustancias productoras de pH ácido o básico distante del fisiológico, o bien oxidantes o deshidratantes, disoluciones de algunos cationes orgánicos o inorgánicos, aniones aromáticos (como el ácido salicílico), detergentes catiónicos, etc., que destruyen o al menos desorganizan la arquitectura celular al desnaturalizar las proteínas.

Se denomina *desnaturalización* al efecto de los agentes físicos o químicos que alteran la estructura de la molécula proteica sin romperla, es decir, sin proteólisis, que puede ser un paso posterior.

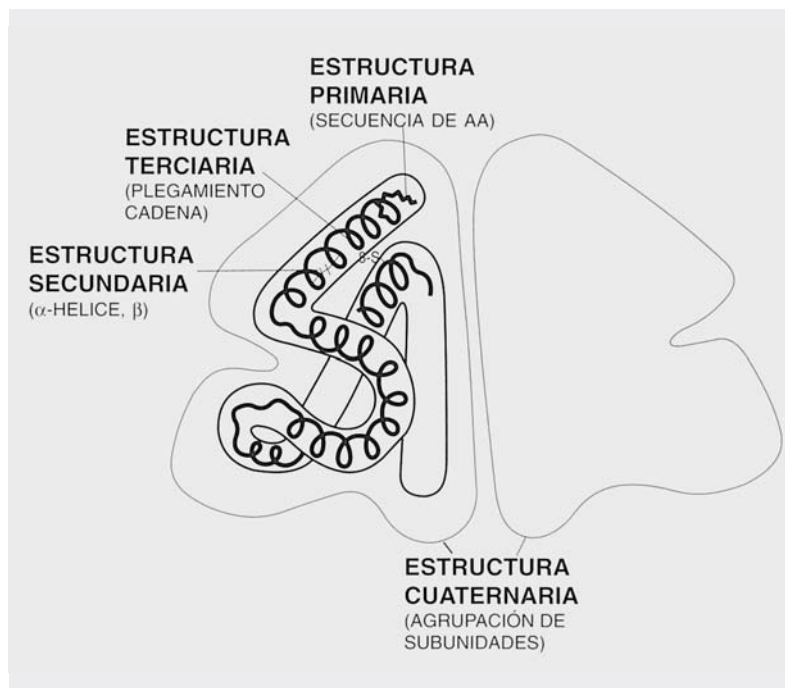


Figura 6.3. Estructuras de las proteínas

De las cuatro clases de estructuras que configuran las proteínas, la estructura primaria, es decir, la constituida por la secuencia lineal de los aminoácidos, unidos mediante enlaces covalentes, es la más resistente. Pero las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, mantenidas por enlaces mucho más débiles, como los puentes de hidrógeno o de disulfuro y fuerzas de Van der Waals, respectivamente, son más fácilmente atacadas (Fig. 6.3).

Se acepta (Wu, 1931) que el proceso de desnaturalización consiste esencialmente en el despliegue de las cadenas peptídicas de su enrollamiento específico; con ello se desorganiza la estructura de la proteína, y se liberan grupos funcionales como sulfhidrilos, disulfuros, fenoles, etc., que participan en los puentes responsables de mantener la disposición específica de cada molécula proteica.

Cuando un agente coagula las proteínas, se estima que la desnaturalización se sigue de una agregación de las moléculas desnaturalizadas.

Con la desnaturalización se pierden, normalmente de forma irreversible, las capacidades biológicas de las proteínas como las enzimas, las hormonas, antígenos, agentes infecciosos (virus), al propio tiempo que se modifican sus propiedades fisicoquímicas, como por ejemplo la hidrosolubilidad.

El efecto agresivo puede incidir sobre las proteínas del citoplasma, de los orgánulos o de las membranas, y puede conducir a la necrosis o muerte celular. A idéntico resultado conduce la acción de los cáusticos sobre los lípidos de membrana, que experimentan hidrólisis, esterificaciones o formación de sales (saponificación). La muerte celular por cáusticos alcalinos se denomina necrosis colicuvativa, pues va acompañada de reblandecimiento y licuefacción (tumefacción y colicuvación) del tejido, mientras que los ácidos producen coagulación, endurecimiento o fijación.

2. Establecimiento de uniones químicas persistentes entre el xenobiótico y las macromoléculas biológicas: alquilación y arilación

En general, la unión de un fármaco con sus receptores es altamente reversible, lo que favorece la caducidad de la acción y la intervención de los antagonistas. Ello indica que las fuerzas de unión xenobiótico-receptor son bastante débiles,

del tipo de puentes de hidrógeno, dipolo-dipolo o interacciones de dispersión (de Van der Waals). En algunos casos se ha mostrado un mecanismo de transferencia de carga, mediante la cesión parcial de un electrón por parte de un xenobiótico a la biomolécula. De esta manera se altera la actividad biológica de la misma o se modifica el comportamiento químico de las moléculas implicadas, lo que puede dar lugar al establecimiento de otros tipos de enlaces. Parece que mecanismos de esta clase intervienen en la acción de compuestos alucinógenos, como la LSD, hidrocarburos carcinógenos, anestésicos locales, antipsicóticos tipo fenotiazinas, etc.

Pero las modificaciones más importantes de los receptores se producen cuando el xenobiótico establece con ellos uniones químicas mediante enlaces covalentes. Entonces, mediante el sistema de compartir dos electrones, que proporciona máxima energía a la unión, ésta adquiere un carácter generalmente irreversible; supone todos aquellos casos en los que las biomoléculas experimentan reacciones de alquilación o arilación, según que el reactivo sea lineal o cíclico, muy frecuentes en procesos tóxicos en los que homólogos naturales son sustituidos por xenobióticos que se fijan fuertemente.

Los compuestos reactivos pueden ser los propios xenobióticos procedentes del exterior, pero generalmente se originan dentro del organismo en los procesos de biotransformación, que se desarrollan en el retículo endoplásmico, fundamentalmente, o en los orgánulos subcelulares o incluso en las membranas plasmáticas, en procesos de óxido-reducción en que participa el citocromo P-450 y la flavoproteína NADPH- citocromo c reductasa, normalmente con intervención del sistema microsómico oxidante de función mixta (MFO) y, en algunos casos, de enzimas citosólicas. De esta forma se originan compuestos con estructura electrófila (deficiente de electrones) de gran reactividad con los compuestos nucleófilos (ricos en electrones) como por ejemplo los aminoácidos, en sus átomos de S, N y O, o las bases de ADN y ARN, en sus átomos de N y O.

Se constituyen así los *aductos*, productos (generalmente macromoléculas), de gran interés en Toxicología, formados por la unión de dos sustancias (por ejemplo, un compuesto activo y una molécula biológica) sin que ninguna de ellas sufra pérdidas de trozos moleculares.

Los reactivos alquilantes son capaces de actuar sobre cualquiera de los componentes químicos celulares. Así, establecen enlaces covalentes con los aminoácidos proteicos, del hem (sobre la lisina) y sobre las bases de los ácidos nucleicos (ADN y ARN) con los que forman aductos, y sobre los componentes del esqueleto celular (miofibrillas). Al incidir sobre los lípidos de la membrana (fosfatidilcolina), especialmente a través de reacciones radicalarias de peroxidación, se forman óxidos y peróxidos de los ácidos grasos insaturados (sobre todo de los poliinsaturados, PUFA), con liberación de alcanos, alquenos, hidroxialdehídos, productos de polimerización, etc. En estas reacciones (al igual que realiza la enzima fosfolipasa A, presente en algunas biotoxinas) por hidrólisis de la fosfatidilcolina se libera lisofosfatidilcolina fuertemente citotóxica.

Los metabolitos reactivos han sido clasificados (Castro, 1988) según su tiempo de existencia libre, que es inverso a su reactividad en:

- a) *De vida ultra corta*: reaccionan con la propia enzima que los forman en lo que se ha denominado «suicidio enzimático». Y normalmente tienen funciones autorreguladoras.
- b) *De vida corta*: tienen tiempo para reaccionar con otros constituyentes de la misma célula en que se originan.
- c) *De vida larga*: pueden alcanzar la vía sistémica, distribuirse y actuar sobre otros tejidos.

Reactivos electrófilos y nucleófilos

Las moléculas electrófilas poseen centros con baja densidad electrónica, por lo que preferentemente se unen a otras moléculas con centros de alta densidad electrónica, que son las nucleófilas. El tipo de éstas es determinado por el tamaño molecular, la densidad de carga y el grado de polarización del electrófilo. Un electrófilo con elevada carga positiva, como los iones de alquil-carbonio, se denomina «duro», mientras que los que tienen una carga positiva baja, como las quinonas o la acrilamida, se denominan «blandos». De la misma manera, un nucleófilo duro posee alta electronegatividad, como el oxígeno de las bases de ADN, mientras que un nucleófilo blando tiene baja electronegatividad, como los grupos -SH. De esta forma, un electrófilo duro reacciona

preferentemente con nucleófilos duros. Así, compuestos carbonilos no saturados o quinoídes reaccionan preferentemente con grupos sulfhidrilos de aminoácidos o péptidos, mientras que carbocationes alifáticos o aromáticos reaccionan con el oxígeno de las bases de purina y pirimidina.

Los compuestos nucleófilos más frecuentes y destoxicantes son el agua, el glutatión y las proteínas, aunque la alquilación o arilación de estas suele ir unida a toxicidad.

Las dianas nucleófilas de las proteínas son los grupos sulfuro de sus aminoácidos azufrados, como cisteína y metionina, o el nitrógeno de histidina y lisina.

Los factores que determinan el ataque de una proteína por un metabolito reactivo son:

1. La reactividad del metabolito, que es, obviamente, inversamente proporcional a su vida media, que cuanto más corta es se corresponde con mayor reactividad, pues reacciona con el compuesto más próximo.
2. La concentración del reactivo.
3. La presencia local de mecanismos defensivos antielectrófilos, como captadores o *scavengers*.

Consideremos un par de ejemplos:

- El acrilonitrilo, componente de plásticos y resinas, es un nitrilo α - β -no saturado que no necesita ser activado, pues actúa como electrófilo blando con los grupos sulfhidrilo.
- La acetaminofenona, p-acetamol o p-amino-fenol, antitérmico muy utilizado, es oxidado por CYP a N-acetil-p-benzoquinonimina, electrófilo, pues arila un gran número de proteínas del hígado, presentes en el retículo endoplásmico, mitocondrias y citosol; también induce un estrés oxidativo masivo y oxidación de proteínas, y transactiva genes implicados en la respuesta inmediata al estrés.

Entre las especies reactivas cabe destacar a los radicales libres (que se referirán más adelante), a los epóxidos, los iones carbonio, los carbenos, el azufre atómico y algunos compuestos oxidados de éste, etc.

Los epóxidos se forman por oxidación de un doble enlace entre dos átomos de carbono; se consi-

tituye así en la molécula un anillo triangular con dos C en sendos vértices y un oxígeno en el restante.

Por la distribución de las cargas, los C del epóxido son muy electrófilos, lo que suele conferir a la nueva molécula propiedades muy tóxicas y especialmente cancerígenas; muchas sustancias consideradas pro-carcinógenas (como benzopireno, aflatoxinas, heptaclor, etc.) requieren su oxidación a la forma epóxido, para actuar.

En la ruptura heterolítica (véase 2.1) de un enlace por un proceso de ionización se forman los carbocationes y los carbaniones, mientras que por ruptura homolítica se originan los carbenos y los radicales libres.

El ion carbonio o carbocatión o radical catión (RR^+) es una estructura molecular que contiene un C con tres sustituyentes y pérdida de uno o dos electrones, lo que le confiere carga positiva, por lo que es muy electrófilo, reactivo e inestable; produce adiciones electrófilas, eliminación de protones con formación de doble enlace, transposiciones de carga intra e intermoleculares, etc. Siguen este mecanismo, paraquat ($PQ^{++}-1e \rightarrow PQ^+$), dimetilnitrosamina, 2-acetamidofluoreno, dimetilbenzantraceno, etc.

Los carbaniones han ganado dos electrones, por lo que adquieren carga negativa: se producen a partir de compuestos betadicarbonílicos (acetilacetona, etc.), algunos aromáticos, etc.

Los carbenos poseen un C con dos sustituyentes y dos electrones desapareados, con idéntico o diferente *spin*, y aunque tienen carácter neutro, resultan muy electrófilos; son ejemplos, monóxido de carbono ($C=O$), metileno ($:CH_2$), isocianuros ($R-N=C$), etc.

El azufre atómico presenta una configuración electrónica en su capa externa similar a la de los carbenos; se forma por acción de las MFO y reacciona con las proteínas inmediatas, al parecer sobre sus grupos tioles formando disulfuros ($R-SSH$), y eliminándose como tiocianato.

Por oxidación de tioles ($R-SH$), tioamidas ($R-S-NH_2$), tioureas ($NH_2-SC-NH_2$), etc., se forman sulfinos, sulfenos, ácidos iminosulfínicos e iminosulfénicos, etc., también electrófilos, y tanto más reactivos cuanto más oxidados sean; originan aductos con los aminoácidos y las bases de ácidos nucleicos.

Se forman así metabolitos fuertemente alquilantes, que lesionan las estructuras del hígado, pul-

món, riñón, etc. Un interesante ejemplo lo constituye el medicamento p-aminofenol, que es oxidado en el hígado, cuando éste no dispone de suficiente glutatión (que actúa de reductor), a una benzoquinonimina capaz de unirse covalentemente a constituyentes de la membrana del hepatocito con subsiguiente necrosis de éste.

Los principales procesos que originan metabolitos reactivos son: a) reacciones radicalarias y estrés oxidativo, b) reactivos de óxido nítrico, e) alteración de la homeostasis del calcio, d) liberación de tioles reactivos.

2.1. Reacciones radicalarias

Durante los últimos veinte años, se viene explicando el mecanismo de acción de numerosos tóxicos mediante la actuación de radicales libres, que originan reacciones radicalarias o en cadena y la situación conocida como estrés oxidativo.

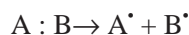
Para su mejor comprensión, conviene repasar algunos conceptos de Química atómica.

Recordemos que los átomos y moléculas estables no poseen carga eléctrica ni propiedades magnéticas (son diamagnéticos); en su capa externa tienen completo el número de electrones de valencia que les corresponde, todos ellos formando parejas cuyos integrantes tienen un giro o *spin* con sentido contrario, con lo que los campos magnéticos que producen se anulan o compensan.

Cuando un átomo o una molécula pierde o gana un electrón, se forma un ion positivo o negativo; pero cuando un átomo se une a otro sin perder ni ganar electrones, sino cediendo uno para que gire en la capa externa de otro átomo, que a su vez aporta un electrón para que haga lo mismo en el primer átomo, se establece el llamado *enlace covalente* o de *electrones compartidos*, que dan a la molécula una gran estabilidad. A pesar de ello, y por las causas que ahora veremos, esta unión puede romperse y dar lugar a dos tipos de especies químicas:

a) Ambos electrones quedan en una parte de la molécula, que se carga negativamente, mientras la otra adquiere carga positiva. Se forman, pues, dos iones $A: B \rightarrow A^- + B^+$.

b) Con cada parte de la molécula va un electrón, formándose dos radicales libres.



Esta escisión homolítica (frente a la heterolítica anterior) puede producirse por la incidencia de radiaciones térmicas o electromagnéticas (luz visible, luz UV, RX, radiaciones ionizantes, partículas α , β , neutrones, protones, etc.), que, respectivamente, originan moléculas fotosensibles, excitadas o ionizadas; o bien en procesos metabólicos con reacciones de óxido-reducción que impliquen que en la capa electrónica de un átomo quede un electrón desapareado (octeto incompleto). En estas mismas circunstancias se pueden formar radicales libres cuando una especie química neutra cede o capta un electrón; así el tetracloruro de carbono forma el radical triclorometilo, mientras que el paraquat origina un radical libre catiónico.

Por definición, un *radical libre* (R^\bullet) es la especie química que posee uno o más electrones desapareados o desacoplados en un orbital atómico o molecular, por lo que puede tener carga positiva, negativa o neutra; el *spin* del electrón desapareado origina el momento magnético del radical, que se comporta como *paramagnético* (es atraído o repelido por los imanes) y puede ser detectado por la espectrometría de resonancia magnética del *spin* del electrón (ESR). Son extraordinariamente reactivos, aunque pueden estabilizarse por resonancia del electrón.

Concretando, los procesos de producción de radicales libres, son:

a. *Termolisis* de enlaces inusualmente débiles, cuya ruptura requiere aplicar baja energía, en sustancias que reciben el nombre de *iniciadores* de reacciones radicalarias.

b. *Radiolisis*, por radiaciones ionizantes, que inicialmente dan lugar a radicales catiónicos y electrones, y seguidamente originan un radical neutro y un sustrato cargado.

Ejemplos: la radiolisis del agua y sustancias disueltas, con liberación de un átomo de hidrógeno y de un radical hidroxilo, ambos muy reactivos; iniciación de la llamada auto-oxidación de los lípidos, *in vivo*.

c. *Fotolisis* o *fotodisociación*; la luz visible (solar) o la luz ultravioleta rompen dobles enlaces u otros débiles, con producción de radicales libres y oxidaciones, que en el ser vivo provocan pigmentación, envejecimiento, porfiria, cáncer, etc.

d. *Oxidantes*:

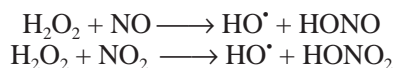
d.1. *Ozono*. Niveles normales de ozono en el aire (0.01-0.02 ppm) son suficiente para iniciar la

autooxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) *in vivo*, y producir tanto daño biológico (medido por roturas de cromosomas) que las radiaciones.

El ozono reacciona con cualquier molécula orgánica (alcanos, alcoholes, aldehídos, aminas, PUFA, tioles, silanos, etc.) e inicia la producción de radicales.

d.2. *El singlete o singulete de oxígeno y el anión superóxido* (véase más adelante) actúan de forma similar al ozono, y dan lugar a radicales o a sus precursores, a través de reacciones no enzimáticas.

d.3. *Óxidos de nitrógeno*: NO, NO₂; son ya radicales libres bastante estables, que reaccionan con las olefinas por adición, catalizan la isomerización de los ácidos grasos insaturados de las membranas biológicas y pueden iniciar la autooxidación. Con el agua oxigenada dan radical hidroxilo y peroxinitrito o peroxinitrato (reacción de Fenton):



e. *Iones de metales de transición* (hierro, cobre, manganeso, cromo, níquel, etc.); cambian su estado de valencia por pérdida o ganancia de un electrón, mediante reacciones de oxidación-reducción, y provocan transferencia del electrón, dentro del ciclo de Haber-Weiss, que explica la reacción de Fenton (véase más adelante), en que el Fe²⁺ cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno a radical hidroxilo (HO[•]) y anión oxidrilo (HO⁻).



Este mecanismo parece que participa en la eliminación de bacterias fagocitadas por los leucocitos polimorfonucleares y los macrófagos, que liberan HO[•] y otros radicales.

f. *Mecanismos enzimáticos*, fundamentalmente dentro de los procesos redox respiratorios, en los que xenobióticos se transforman en radicales libres, como por ejemplo:

- el disolvente tetracloruro de carbono origina el radical triclorometilo: Cl₃C[•],
- el herbicida bipyridílico paraquat (PQ⁺⁺) es reducido al radical catión: PQ^{•+},
- el alcohol etílico forma el radical α-hidroxi-etilo: CH₃-[•]CHOH, etc.

En estos procesos interviene el citocromo P450 y las enzimas con él relacionadas, como xantina oxidasa, aldehído oxidasa, alcohol deshidrogenasa, u otras como NADPH-citocromo c reductasa, NADPH-citocromo b reductasa, etc.; paralelamente, el oxígeno molecular se reduce a anión superóxido y se forma agua oxigenada y radical hidroxilo (véase más adelante).

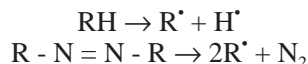
g. *Sustancias diversas*, como asbestos, resinas, humo del tabaco, etc., que inducen a los fagocitos a producir anión superóxido y peróxido de hidrógeno.

Los radicales libres originan reacciones en cadena, cuyas principales características son:

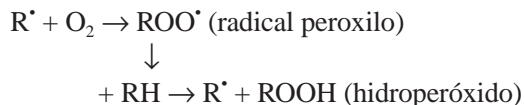
2.1.1. Mecanismos de las reacciones radicalarias

Una reacción radicalaria consta de varias fases o etapas:

a) *Fase de iniciación*. Conforme acabamos de ver, se rompe un enlace molecular y se forman los radicales libres:



b) *Fase de propagación*. Los radicales libres son fuertemente reactivos, y pueden originar nuevos radicales, en una reacción en cadena o cascada:



El hidroperóxido (ROOH) puede presentarse como radical hidroperóxido (ROOH[•]).

Algunos hidroperóxidos son poco estables y se descomponen espontáneamente en compuestos oxigenados; también se producen otras reacciones (cadena ramificada) que aceleran la oxidación.

c) *Fase de terminación*. La reacción radicalaria se puede interrumpir por varias causas:

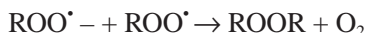
c.1. Interacción de dos radicales libres (formación de polímeros).



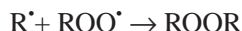
c.2. Bloqueo por reacción con alguna sustancia captadora o *scavenger*; tipo vitaminas E y C, selenio, glutatión, antioxidantes sintéticos (BHT), manitol, etc., que interrumpen los procesos de óxido-reducción por ser aceptadores de electrones.

Los radicales nitroxilo (nitróxidos: $R_2N-O\cdot$) reaccionan con otros radicales libres y adquieren una estabilidad que les permite su uso para el estudio del *spin*.

c.3. Combinación de dos radicales peroxilos:



c.4. Combinación de un radical libre y un peroxilo:



2.1.2. Propiedades de los radicales libres

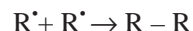
1. Paramagnetismo: el electrón desapareado les confiere susceptibilidad magnética, que les permite ser determinados por técnica de espectroscopía de resonancia del spin del electrón (ESR), también

conocida como espectroscopía de resonancia paramagnética del electrón (EPR); para ello se pueden estabilizar por reacción con los compuestos conocidos como *spin-trap*, de los que los más usados son nitrosoalcanos y nitrosobencenos y los nitrona, con formación de radicales nitróxido.

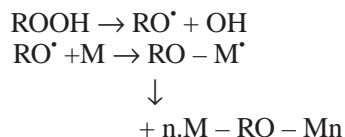
2. Adición a dobles enlaces, y formación de radicales libres secundarios y, a su vez, de reacciones en cadena, a partir de anillos aromáticos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Reactividad con grupos nucleófilos (aminas, tioles, etc.).

3. Abstracción de átomos de hidrógeno de biomoléculas.

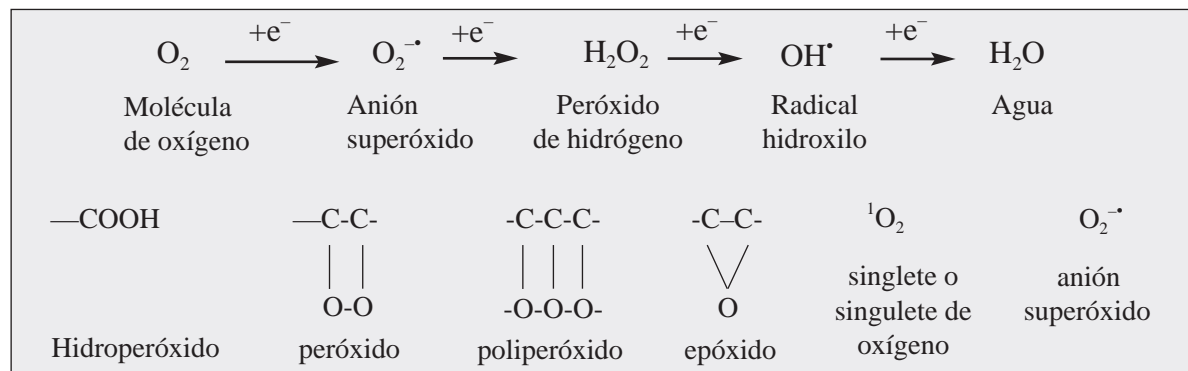
4. Formación de dímeros y polímeros



o bien; actuando sobre monómeros:



5. Formación de moléculas oxidadas y especies de oxígeno activo, como:



Especies reactivas de oxígeno

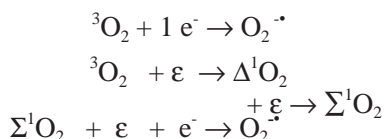
La molécula de oxígeno (O_2) en estado natural o básico es un birradical ($O-O\cdot$) bastante estable; cada uno de sus orbitales moleculares más externos ($2p\pi^*$) posee un electrón desapareado, y ambos tienen spines paralelos,



lo que configura la forma de triplete, que se simboliza por 3O_2 o por Σ^3O_2 , y da tres picos o señales en el espectro de ESR. Consecuentemente, el O_2 no es muy reactivo porque solo uno de los dos electrones puede establecer un enlace covalente con otro electrón. Si uno de los electrones absorbe energía cambia el spin; este oxígeno excitado constituye el *singlete* o singlete de oxígeno (1O_2), mucho más reactivo y oxidante porque sus dos electrones, con spines opuestos, pueden reaccionar con otro par de electrones.

Por otra parte, el oxígeno molecular puede ser reducido parcialmente por reacciones enzimáticas o no enzimáticas, lo que permite la producción de otras especies reactivas como anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo, que reciben el nombre de *especies reactivas de oxígeno* (ROS), también conocidas como radicales libres de oxígeno, aunque no todas ellas son radicales (por ejemplo: H_2O_2). En el interior de la célula se producen constantemente ROS y son destruidas en lo que constituye un ciclo redox.

Efectivamente, sin embargo el oxígeno es activado en el medio biológico, pues a través el oxígeno es activado en el medio biológico, pues a través de ciclos redox puede recibir energía y electrones; con un cuanto de energía pasa al estado de singulete Δ^1O_2 , y con más energía al singulete Σ^1O_2 ; estos singuletes de oxígeno, cuyos dos electrones citados han adoptado spins opuestos, y dan un único pico en ESR, aunque no son radicales libres, son muy oxidantes y reactivos; así, por ejemplo, con las olefinas producen hidroperóxidos. Con más energía y un electrón se transforman en el radical anión superóxido $O_2^{\cdot-}$, que puede actuar como oxidante débil o reductor fuerte.



Por otra parte, también se puede formar el singulete por acción de los metales de transición, que pueden invertir el spin de uno de los electrones desapareados en la molécula de oxígeno.



Así, cuando una molécula de oxígeno O_2 toma un electrón, se reduce relativamente y origina el anión superóxido $O_2^{\cdot-}$, que químicamente actúa como:

- Base fuerte y puede extraer protones.

- Potente reductor: pasa quinonas a semiquinonas e iones de metales de transición a sus formas reducidas.

- Oxidante débil: inicia reacciones de oxidación.

- Agente nucleófilo que reacciona con los compuestos electrófilos.

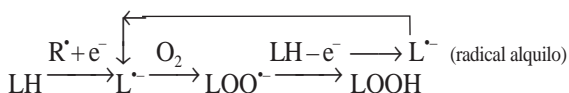
- Se dismuta a peróxido de hidrógeno y oxígeno. El agua oxigenada, por acción de los iones metálicos, pasa a radical oxidrilo e ion hidroxilo (véase más adelante).

Todo esto significa que la molécula de oxígeno es un oxidante débil, pero puede transformarse en singulete de oxígeno, anión superóxido, agua oxigenada y radical oxidrilo, fuertemente reactivos y lesivos para la integridad de los sistemas vivos.

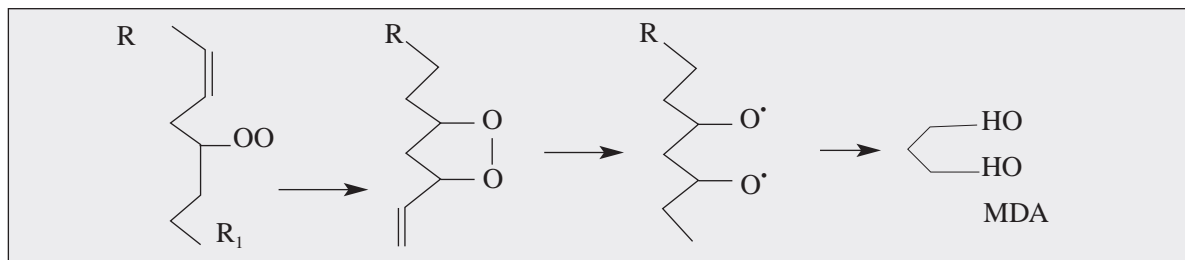
La geometría orbital del anillo epóxido le proporciona muy alta energía y reactividad alquilante, de gran importancia en toxicología.

6. Oxidación de lípidos de membrana: Lipoperoxidación

Al actuar un radical libre sobre un ácido graso insaturado (LH), le sustrae un electrón, formando un radical alquilo L^{\cdot} ; éste suma un oxígeno y da un radical peroxilo LOO^{\cdot} , que, a su vez, sustrae un electrón de un ácido graso próximo (LH), originando un hidroperóxido $LOOH$, pero un nuevo radical alquilo mantiene la cadena de reacción.



Por su interés biológico, destaca la capacidad oxidante de los radicales libres sobre los lípidos celulares, y especialmente sobre los ácidos grasos insaturados. Así, sobre el ácido linoleico (9,12-octadecanoico) el grupo hidroperoxilo se puede unir al azar a cualquier carbono del 8 al 14, originando desplazamiento de los dobles enlaces y producción de un puente de peróxido, y posterior rotura de la molécula con liberación de malondialdehído (MDA):



A partir de los ácidos grasos se originan también diferentes alcanos, cetonas y alquenes, éstos muy electrófilos, que fácilmente alquilan a nucleófilos celulares (grupos tioles).

2.1.3. Radicales libres en el medio biológico

Recordemos que en la respiración celular el oxígeno no oxida directamente a los sustratos, sino que de éstos, y por acción de las enzimas deshidrogenasas situadas en la cara interna de la membrana de las mitocondrias, se separan electrones, en forma de hidrógeno, que reducen al oxígeno molecular. En el proceso intervienen las coenzimas transportadoras de electrones. Igual ocurre en las biotransformaciones oxidativas, con participación del cit-P-450.

Para reducir una molécula de O_2 se precisan 4 electrones; cuando no se dispone de ellos, o la reacción no es total, se pueden formar derivados del oxígeno de gran reactividad (oxígeno activado, reducido) y toxicidad sobre las moléculas biológicas.

La reducción de O_2 por $1 e^- \rightarrow O_2^{\bullet -}$ (radical superóxido).

La reducción de O_2 por $2e^- \rightarrow H_2O_2$

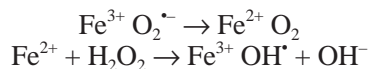
Por otra parte, la formación de un radical libre da lugar a la formación de radical superóxido (que se simboliza también por $O_2^{\cdot -}$ o por $O^{\cdot -}_2$) y dos moléculas de éste, por dismutación, a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Figura 6.4).

También los metales con electrones desaparecidos en el orbital d los ceden fácilmente al oxígeno.

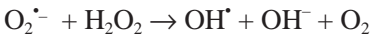
El peróxido de hidrógeno puede ser reducido por el ion ferroso (según la *reacción de Fenton*), por la catalasa, o por otros metales (cobre, etc.).



El ion ferroso libre, requerido para la reacción de Fenton, es muy escaso en el interior de las células, donde se encuentra unido a las hemoproteínas o, como ion férrico unido a la ferritina; en la sangre, el Fe II está en la hemoglobina, y el Fe III es transportado por la transferrina, y como tal penetra en las células y es almacenado; allí se libera por el pH ácido y por proteólisis. Entonces, cuando se forma ion superóxido, ocurre:



que, en conjunto, constituye la *reacción de Haber-Weis*, en que el Fe^{3+} actúa de catalizador para:



Frente a ellos las células poseen varios mecanismos defensivos. Las células aeróbicas contienen en la mitocondria o en el citosol varias formas de la enzima *superóxido dismutasa* (SOD) (metaloenzimas con Cu, Zn-Cu, Mn, Fe), que transforma el superóxido en peróxido de hidrógeno. Es un importante grupo de metaloenzimas que pueden ser citosólicas, mitocondriales o extracelulares. Su síntesis es codificada por tres genes: SOD1, para la SOD-Cu,Zn, citosólica, SOD2, para la SOD-Mn, mitocondrial, y SOD3, extracelular.

La dismutación supone la reacción de dos moléculas de la misma especie; así la SOD cataliza la reacción de dos moléculas de anión superóxido, tras la que una molécula sale oxidada en forma de oxígeno molecular (O_2), y la otra reducida, como peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La SOD puede ser inducida por exceso de radicales libres y, en los pulmones, por el oxígeno hiperbárico; por el contrario, algunas sustancias son inhibidoras de la SOD, como disulfiram, aminotriazol, etc., que refuerzan el proceso oxidativo. Por su parte, en los peroxisomas hay *catalasa* para descomponer el agua oxigenada. Además la célula dispone de un sistema de reducción, denominado del glutatión, integrado por las enzimas *glutatiónperoxidasa*, *glutatiónreductasa* (dependiente de selenio) y *glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa* (G-6-P).

Así, para combatir el H_2O_2 que se forma continuamente en los peroxisomas, se dispone de 2 enzimas, la catalasa y la glutatión peroxidasa (GS-Px), cuyo producto final es el radical hidroxilo, extremadamente reactivo, originado en la reacción de Fenton catalizada por hierro.

La presencia de cantidad suficiente de selenio es imprescindible para la actividad óptima de la glutatiónreductasa, de la cual se han identificado 4 variedades: GSHPx-1, GSHPx-2, GSHPx-3 y GSHPx-4

Las metalotioneínas no se limitan al transporte de metales, sino que también, al unirse a ellos, les impiden formar radicales libres peligrosos. Así, el cadmio y el mercurio que, por su afinidad con los compuestos nucleófilos se unen a los grupos tioles presentes en albúmina, cisteína, homocisteína, glu-

tatión, metalotioneína, etc, inactivándolos y transportándolos, se liberan con relativa facilidad de la mayoría de dichas moléculas excepto de las metalotioneínas.

Las formas moleculares oxidadas y las que venimos denominando de oxígeno activo integran las llamadas *especies reactivas de oxígeno* (ROS), de la misma manera que hay *especies reactivas de nitrógeno* (RNS), de cloro (RClS), etc., expresiones que abarcan no sólo a los radicales libres sino también a otras moléculas oxidantes o que pueden convertirse fácilmente en radicales (véase Tabla 6.4).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se producen habitualmente en todos los organismos aerobios, en los que los agentes tóxicos, incluidos los contaminantes ambientales, perturban el equilibrio redox celular y conducen a una alteración de las funciones biológicas normales. Este desequilibrio contribuye al envejecimiento, a la producción de enfermedades (patogénesis), al cáncer y a cambios en la expresión de diferentes genes

Tabla 6.4. Resumen y nomenclatura de las especies reactivas ordenados según crece su actividad

Radicales libres	No radicales
De oxígeno	De oxígeno
Superóxido, $\text{O}_2^{\bullet -}$	Peróxido de hidrógeno, H_2O_2
Hidroxilo, OH^{\bullet}	Ozono, O_3
Hidroperoxilo, HO_2^{\bullet}	Singlete de oxígeno, $^1\text{O}_2$
Peroxilo, RO_2^{\bullet}	Peróxidos orgánicos, ROOH
Alcoholilo, RO^{\bullet}	De nitrógeno
De nitrógeno	Ácido nitroso, HNO_2
Óxido nítrico, NO^{\bullet}	Catión nitrosilo, NO^+
Dióxido de nitrógeno, NO_2^{\bullet}	Anión nitroxilo, NO^-
De cloro	Catión nitrilo (nitronio), NO_2^+
Cloro atómico, Cl^{\bullet}	Peroxinitrito, ONOOR
De bromo	Cloruro de nitrilo (nitronio), NO_2Cl
Bromo atómico, Br^{\bullet}	De cloro
	Gas cloro, Cl_2
	Ácido hipocloroso, HOCl
	Cloraminas
	De bromo
	Ácido hipobromoso, HOBr

Según Whiteman, 2003.

(véase Genotoxicología). Podemos señalar algunos ejemplos:

En el metabolismo de alimentos, medicamentos, productos industriales y contaminantes se producen numerosos compuestos fenólicos, algunos de los cuales son extremadamente tóxicos, mientras que otros parecen actuar como protectores celulares, e incluso otros son importantes constituyentes intracelulares. Los compuestos fenólicos juegan un papel crítico en las reacciones redox intracelulares y también reaccionan con los receptores de estrógenos.

En las reacciones redox, tanto enzimáticas como no-enzimáticas, se producen radicales fenoxilo ($C_6H_5O^\bullet$), de gran reactividad y que adicionan compuestos electrófilos en las posiciones orto y para. De esta reactividad, que dificulta su detección y determinación, depende que el compuesto sea citotóxico, protector antioxidante o catalizador selectivo; así se dice que los radicales fenoxilo pueden actuar como antioxidantes o como pro-oxidantes.

La formación de radicales tirosilo por la mieloperoxidasa constituye una vía de peroxidación de lípidos y de proteínas en los procesos que conducen a la aterogénesis; el radical tirosilo también interactúa con el óxido nítrico.

La oxidación de estrógenos y antiestrógenos da lugar a radicales quinoides que participan en la cancerogénesis.

Para contrarrestar los efectos oxidantes y restaurar la homeostasis redox, las células pueden adaptar sus parámetros críticos y establecer un nuevo estado estacionario. El desequilibrio entre la producción de especies reactivas y la defensa antioxidante, a favor de los primeros, ha sido definido como *estrés oxidativo*, y supone una potencialidad de daño que puede ir desde un intento de adaptación por parte de la célula, una alteración de su fisiología (liberación de iones Ca^{++} , activación de proteasas, etc.), a lesiones o muerte celular.

Los cambios producidos por el daño oxidativo y la restauración de la homeostasis dan lugar, a menudo, a la activación o represión de genes que codifican factores reguladores de transcripción, enzimas antioxidantes defensivas y proteínas estructurales. Actualmente interesa grandemente conocer los mecanismos seguidos por las ROS para modular las cascadas de señales de transducción y la expresión de los genes.

El proceso fisiopatológico se puede desarrollar por los siguientes mecanismos:

1. El radical libre del producto primitivo puede alquilar diferentes componentes tisulares (membranas celulares, retículo endoplásmico, enzimas, etc.), produciendo necrosis o déficit metabólico o de defensa, o trastornos en la reproducción celular (cáncer) por alteración de los ácidos nucleicos.

2. Las formas de «oxígeno activado» actúan preferentemente oxidando fuertemente los lípidos celulares (especialmente los lípidos insaturados) y también los compuestos con grupos SH (glutación, etc.), iniciando lo que se conoce como *estrés oxidativo*, que da lugar a procesos inflamatorios y citotóxicos. Precisamente, los fagocitos activados, en su función bactericida, liberan $O_2^{\bullet-} + H_2O_2$

Estrés oxidativo

Se reconoce como un mecanismo fundamental en la toxicidad de muchos xenobióticos y que también está implicado en la patogénesis de numerosas enfermedades, y el culpable de que el oxígeno, indiscutido como indispensable para la vida, haya sido denominado *elemento paradójico* a causa de sus efectos nocivos. El estrés oxidativo se puede definir como una situación de desequilibrio entre la producción de moléculas oxidantes frente a la presencia de antioxidantes, a favor de los primeros; actúa no sólo en procesos de oxidación-reducción, sino también en señales de regulación y transducción en la expresión de genes a través de mecanismos redox (Boelsterli, 2007).

Ejemplo de agente causante de estrés oxidativo es la DMNQ (2,3-dimetil-1,4-naftoquinona); en concentraciones intermedias (30 mM), menores de las que producen muerte celular por necrosis oncolítica (100 mM), este compuesto bloquea a la ornitina descarboxilasa, interrumpe la proliferación celular y activa las endonucleasas responsables de la fragmentación nucleosómica y de la apoptosis. También son agentes activadores directos de endonucleasas, el TCDD y el tributilestaño (pero no el trimetil o el trifenilestaño).

Las endotoxinas de bacterias Gram negativas (lipopolisacáridos, LPS), que en la sangre se unen a proteínas (LPS-BL), son potentes activadores de

las células de Kupffer del hígado, las cuales liberan ROS y citoquinas proinflamatorias, incluyendo el factor de necrosis tumoral alfa-TNF; el principal ROS producido es el anión superóxido, que se dismuta a peróxido de hidrógeno. Si este no es rápidamente inactivado por la catalasa y GS-Px; se puede agravar el estrés oxidativo.

Los lípidos peroxidados forman hidroperóxidos lipídicos que pueden seguir dos caminos (Figuras 6.5 y 6.6).

a) Formar radicales libres lipídicos que peroxidan, a su vez, a otros lípidos, entre ellos a los constituyentes de la membrana celular. Esta peroxidación puede ser interferida por la vitamina E; como resultado de la peroxidación se produce lesión de la membrana y liberación de malondialdehído.

b) Ser reducido por la enzima glutathionperoxidasa (selenio dependiente) y el concurso de glutatión, glutathionreductasa, NADPH y G-6-Pdeshidrogenasa, a alcoholes grasos. La GS -peroxidasa se encuentra en el citosol y en las mitocondrias.

En consonancia con esto, se sabe que los animales con dieta deficiente en vitamina E o selenio

experimentan con mayor gravedad las reacciones radicalarias. En éstas, por otra parte, se manifiesta inducción de las enzimas superóxido dismutasa, glutathionreductasa y G-6-P-deshidrogenasa.

La *lipofuscina* se ha denominado también *lipocromo* o *pigmento del envejecimiento*, que aparece en el citoplasma en forma de gránulos de color marrón amarillento; consiste en polímeros de lipoperóxidos formados en la peroxidación de lípidos y fosfolípidos insaturados de las membranas de los orgánulos celulares. No es dañina por sí misma, pero es un signo revelador de la actuación de radicales libres y de peroxidación lipídica; se observa muy abundantemente en hígado o corazón de ancianos, de enfermos de cáncer o de malnutrición y en algunos intoxicados.

Resumiendo la acción fisiopatológica de los radicales en el medio biológico, tenemos:

Algunos xenobióticos, como paraquat, aloxano, bromobenceno, compuestos quinoides (menadión, adriamicina, p-acetamol), alcohol alílico (que se convierte en acroleína), etc., pueden experimentar una oxidación microsómica por distintas

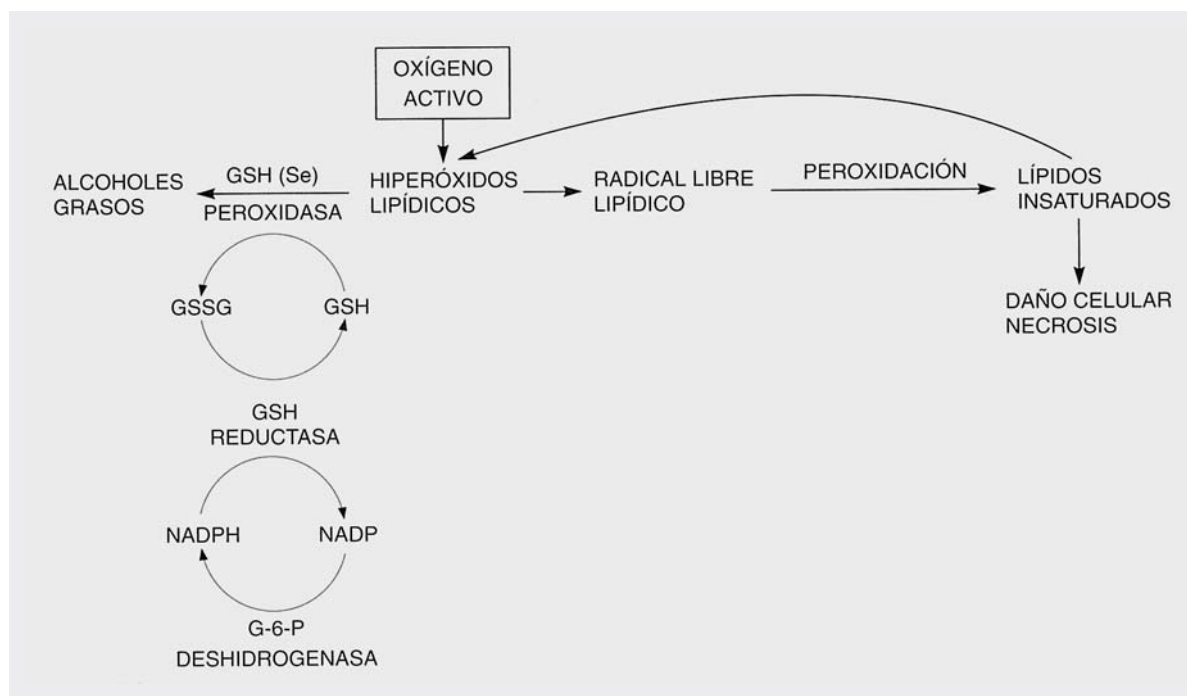


Figura 6.5. Reacción en cadena o interrupción de la peroxidación lipídica.

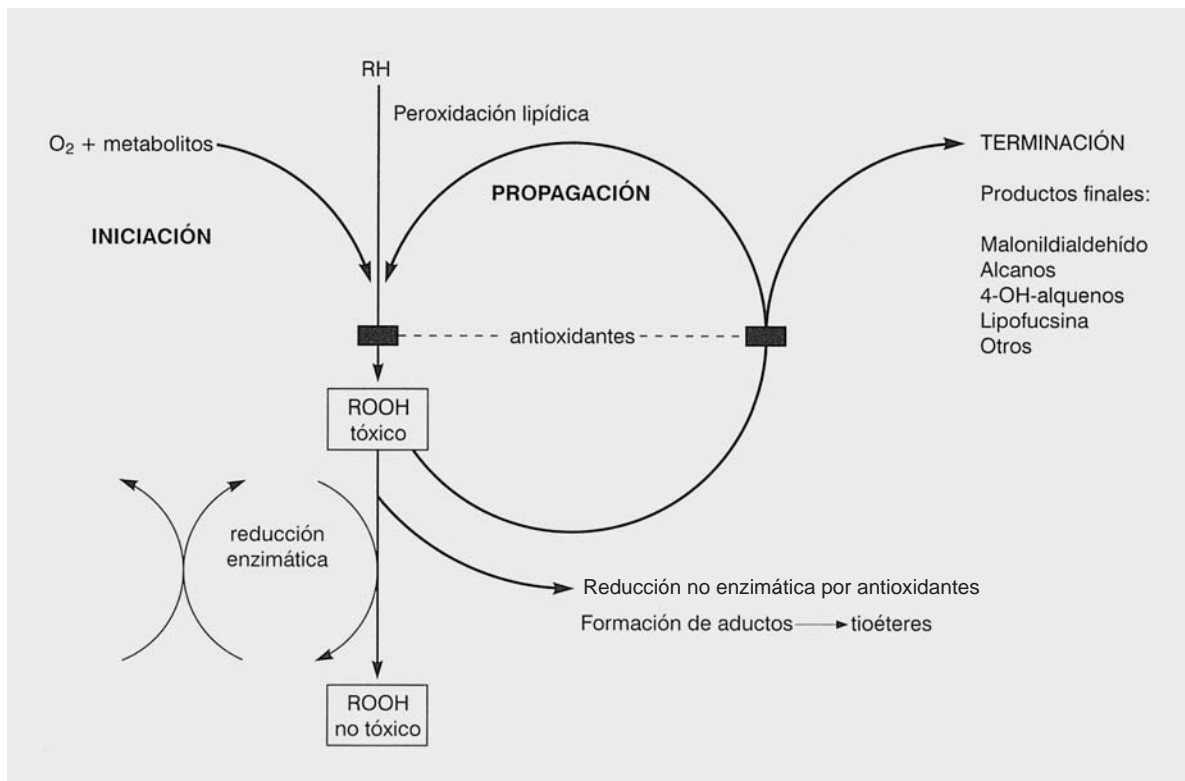


Figura 6.6 Metabolismo de hidroperóxidos.

oxidasas (citocromo P-450, xantinoxidasas) conducida por NADPH, o por ciclos redox, perdiendo un electrón y originando un radical libre (P^\bullet). Simultáneamente se produce una activación del oxígeno molecular que se transforma en radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$).

Este puede dismutarse espontáneamente, dando lugar al singlete de oxígeno ($1/2 O_2$), que también posee gran capacidad oxidante, pues en la membrana forma un hidroperóxido ($-ROOH$); además, el radical superóxido puede ser destruido por la enzima superóxido dismutasa, en un intento de protección biológica, pero produciendo agua oxigenada, también lesiva para las estructuras biológicas, lo que obliga a actuar a las catalasas para destruirla; por otra parte, el H_2O_2 , puede reaccionar con el radical superóxido y originar un radical hidroxilo (OH^\bullet) y un ion oxidrilo (OH^-).

De gran interés clínico es la formación de radicales libres cuando, después de una isquemia cerebral, se reanuda la circulación sanguínea (lo que se denomina *reperusión*), y que agrava el daño tisular.

Esquemáticamente, a través de reacciones de biotransformación se producen (Figura 6.7).

- A. Alquilación de elementos celulares nucleofílicos.
 - Necrosis.
 - Déficit.
 - Metabólico.
 - Defensivo.
 - Cáncer.
- B. Peroxidación de lípidos celulares y oxidación de GSH y proteíníoles.
 - Rotura de membrana.
 - Inhibición enzimática.

Pero además, compuestos como los radicales superóxido e hidroxilo, el peróxido de hidrógeno, etc., conocidos también como *compuestos intermedios de oxígeno reducido* (ROI) ceden electrones al citocromo c, provocando la apoptosis; por el contrario, las condiciones anaerobias, los antioxidantes y la N-acetilcisteína (que capta ROI) disminuyen la apoptosis.

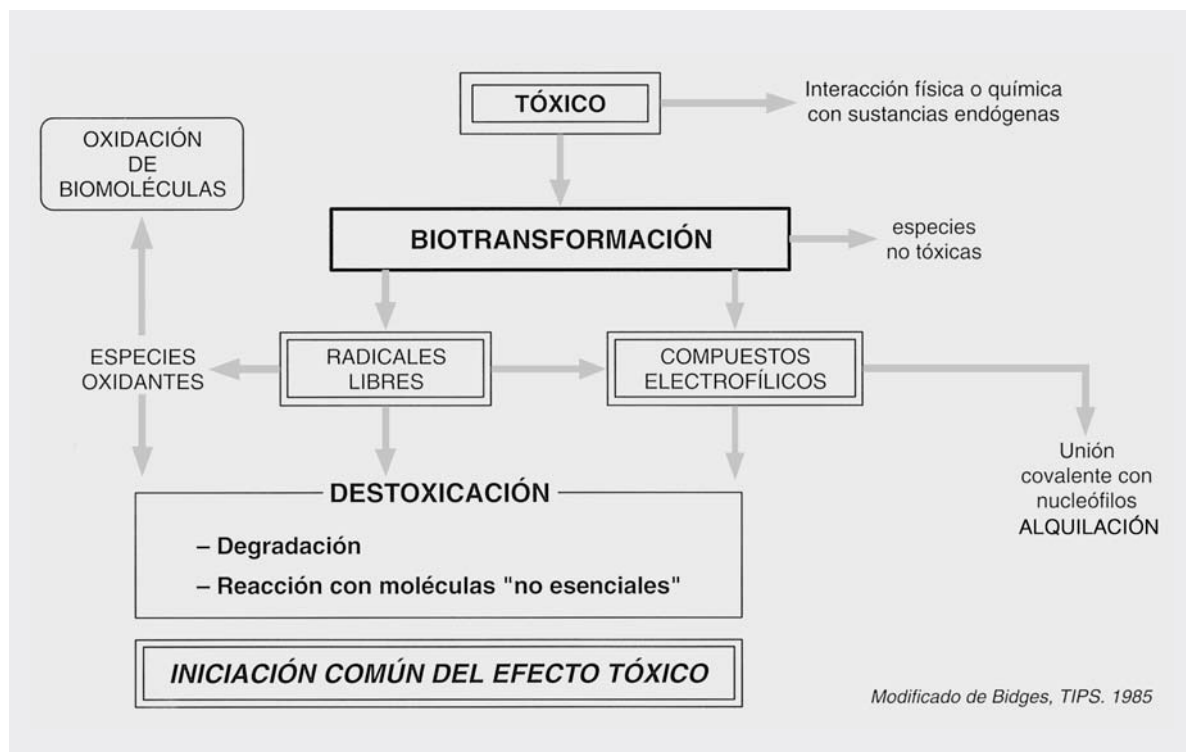


Figura 6.7. Consecuencias de la biotransformación.

Hay una lista creciente de sustancias (como los ftalatos y otros plastificantes, los medicamentos hipolipemiantes de la familia de los fibratos, herbicidas difeniléter, etc.) conocidas como proliferadoras de peroxisomas (PP), que son capaces de activar un receptor llamado de proliferación de peroxisomas (α -PPAR) y que, al menos en roedores, incrementan el número de estos orgánulos intracelulares, las peroxidaciones y el cáncer (véase más adelante y la Figura 6.23). Se piensa que la diferente respuesta inter-especies a los PP pueda estar en los niveles de α -PPAR en sus tejidos; los humanos poseen en el hígado muchos menos de estos receptores que los roedores.

Actualmente se investigan las interrelaciones de las citoquinas y las llamadas *proteínas quinasas activadas por mitógenos* (MAP-quinasas o MAPK) con los citados receptores, y se buscan otras proteínas que puedan regular a éstos.

* * *

La investigación de los procesos de peroxidación de lípidos se efectúa por diversos métodos analíticos, algunos poco sensibles o específicos y otros más o menos complejos. El más difundido consiste en determinar cuantitativamente la liberación del malondialdehído (MDA) originado, que forma un compuesto coloreado (base de Schiff) con el ácido tiobarbitúrico, pero frente a su sencillez de ejecución se oponen los errores por pérdidas y por interferencias debidas a reacción con aminos biológicas y otros componentes biológicos que no tienen relación con la peroxidación lipídica, de tal manera que ha sido considerado (Halliwell y Whiteman, 2004) como un método inaceptable en la investigación moderna. Realmente, al no existir en el momento actual un método totalmente convincente, se usan otros como: la determinación en el aire exhalado y en fluidos corporales, mediante espectrometría de masas, de isoprostanos, productos originados en la peroxidación de lípidos insaturados, como el ácido araquidónico y relacionados; también en el aliento es posible la determinación

cromatográfica de etano y pentano liberados en la rotura de los ácidos grasos; menos extendido, por su laboriosidad y requerimientos técnicos, es la cuantificación de hidroperóxidos mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas; la valoración del singlete de oxígeno por medición de la quimioluminiscencia es sencilla pero sujeta a interferencias.

En síntesis, podemos distinguir cuatro fases en los mecanismos radicalarios: 1) formación de radicales libres; 2) estrés oxidativo; 3) formación de metabolitos electrófilos, y 4) alteración de la homeostasis del calcio y activaciones enzimáticas destructoras.

Ya hemos visto que el denominado estrés oxidativo es una situación desencadenada por acumulación de especies de oxígeno parcialmente reducido o sus equivalentes como singlete o singulete de oxígeno, anión superóxido, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, óxido nítrico, etc., que se generan en ciclos redox, en los que intervienen compuestos

quinoides o cicloaromáticos. Por interacción del ion superóxido con el óxido nítrico se origina otro agente oxidante, el peroxinitrito. (Véase más adelante, y Figuras 6.8 y 6.11).

Los procesos oxidativos también dan lugar a compuestos electrófilos, alquilantes o arilantes, cuya reactividad sobre los elementos nucleófilos celulares puede ser contrarrestada por agentes reductores, antioxidantes (vitaminas E y C, N-acetilcisteína), o quelantes del hierro (desferroxiamina); pero también puede ser incrementada por los inhibidores del sistema glutatiónreductasa/peroxidasa o por déficit de selenio. Un compuesto orgánico de éste (el ebselen) también protege a los compuestos nucleófilos de las especies oxidantes (Figura 6.8).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden oxidar a las proteínas celulares, en particular las cadenas laterales de los aminoácidos, con formación de *cross-links* proteína-proteína y fragmentación de proteínas; los aminoácidos cisteína

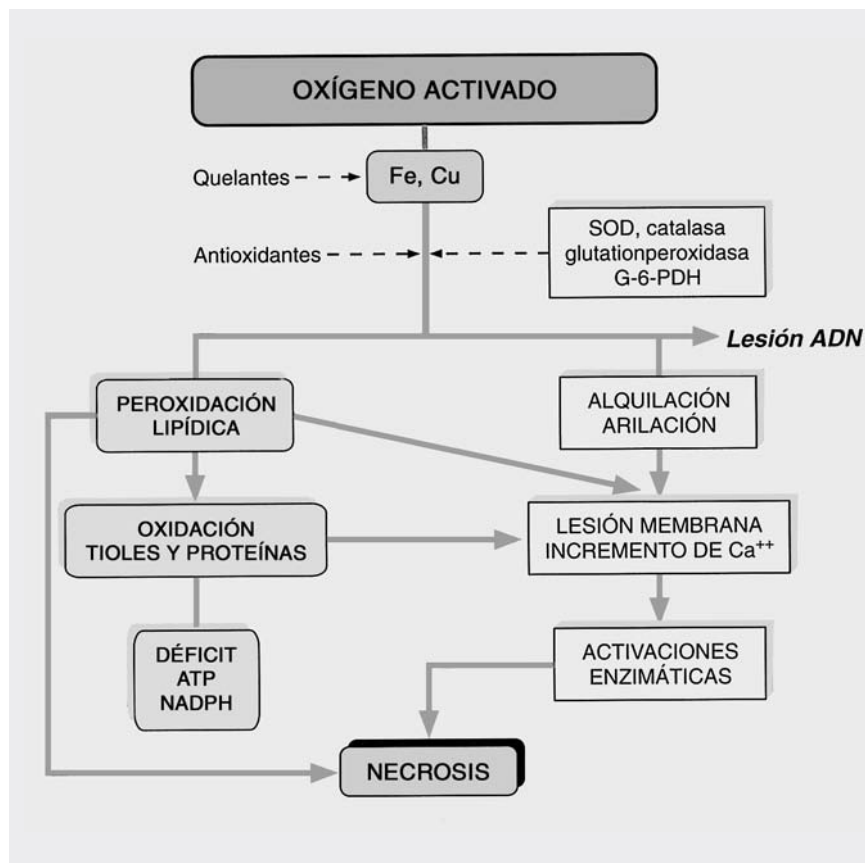


Figura 6.8.
Estrés oxidativo.

y metionina, con grupos sulfuro, son oxidados a disulfuro o sulfóxido. Una posible consecuencia de todo esto es la formación de grandes agregados de proteínas, que resultan tóxicos al acumularse en las células.

La mayoría de las alteraciones en los aminoácidos son irreversibles; las proteasas los degradan en los lisosomas o en el proteosoma, a excepción de los sulfhidrilos oxidados, que pueden ser reducidos.

Reacciones con el ADN

Las ROS oxidan a los ácidos nucleicos, oxidación que es diferente en el ADN nuclear y en el mitocondrial. En el nuclear se oxidan preferentemente las bases; pero en el mitocondrial (mtADN), al disponer de menos histonas que hagan de protectores, y la proximidad a la generación de las ROS, en la propia mitocondria, el daño es mayor.

Los metabolitos electrófilos de los agentes carcinógenos provocan mutaciones en el ADN, activan protooncogenes entimulantes de la proliferación celular e inactivan genes supresores de la proliferación, como *p53* (véase Cap.7). En consecuencia las sustancias inductoras de apoptosis en distintos puntos del proceso pueden ser promotores agentes anticancerosos (por ejemplo los *inhibidores de las topoisomerasas*).

A pesar de su popularidad, si se considera cuantitativamente la unión covalente con el ADN es muy minoritaria (porque el ADN representa solo el 0,2% del peso), pero cualitativamente es de la mayor trascendencia al ocasionar mutación y cáncer. Las cuatro bases y el oxígeno del fosfato pueden reaccionar con los compuestos electrófilos; la guanina es la base más atacada. La situación y extensión de la reacción depende del tamaño y reactividad de las especies electrófilas y de factores electrostáticos y estéricos.

La actividad catalítica de los metales Fe, Cu, Cr, Ni, etc. (con la excepción del berilio) en la formación de radicales hidroxilo favorece la lesión del ADN y aparición de cáncer.

La producción de malonildialdehído (MDA), o de 4-hidroxinonenal ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_4\text{-CH(OH)-(CH}_2)_2\text{-CHO}$), que se simboliza como 4-HNE, a partir del etanol, no solo son biomarcadores, como se les ha considerado hasta ahora, sino que, como reactivos electrófilos, reaccionan con proteínas o

el ADN, principalmente con la desoxiguanosina, para formar aductos.

El proceso tóxico que primeramente fue explicado como debido a reacciones radicalarias fue el del tetracloruro de carbono; posteriormente, se aplicó al paraquat, lo que significó una auténtica revolución en la Toxicología, y actualmente se acepta para otros muchos tóxicos.

Toxicidad del tetracloruro de carbono

Es un ejemplo típico de xenobiótico cuya toxicidad se incrementa al ser metabolizado:

Presumiblemente el Cl_4C se compleja con el citocromo P-450, y el complejo es deshalogenado y reducido por la cit-P-450 reductasa y NADPH (Fig. 6.9).

Hoy se sabe que, en condiciones de baja presión parcial de oxígeno (pO_2), el tetracloruro de carbono experimenta una biorreducción catalizada por CYP2E1 a radical triclorometilo ($\text{CCl}_3\cdot$), el cual abstrae un átomo de hidrógeno a un ácido graso de la membrana celular, iniciando una reacción en cadena de lipoperoxidación. Pero cuando la presión de oxígeno es alta, se forma radical triclorometil peroxilo ($\text{OO-CCl}_3\cdot$) que, en una reacción tipo suicida, inactiva al CYP2E1, terminando el efecto.

El radical libre formado (tricloruro de metilo o de carbonio) no sólo lesiona el hígado, como se

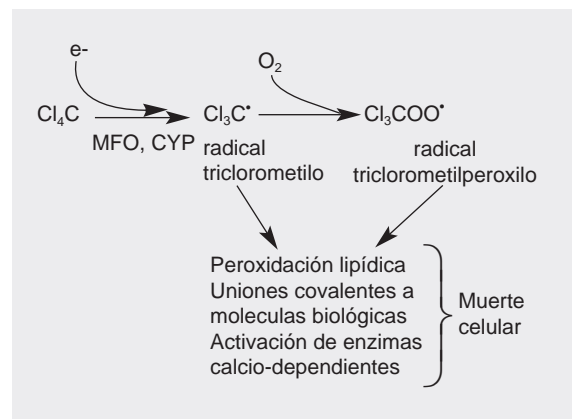


Figura 6.9. Toxicación del tetracloruro de carbono; idéntico proceso siguen otros haluros de carbono, como bromometano, bromoetano, cloro-bromo-trifluoroetano (halotano), etc.

sabe de antiguo, sino también otros tejidos, como el pulmón.

Parece que los tejidos más afectados por diferentes productores de radicales libres son:

Diana	Tóxico
Hepatocito	C ₁₄ C
Neumocito	Paraquat
Células endoteliales vasculares	Alcaloides de pirrolizidina
Células bronquiales	Compuestos furánicos (4-ipomeanol, etc.) C ₁₄ C, bromobenceno

Los procesos tóxicos por mecanismos radicalarios requieren un tiempo para su desarrollo y la aparición de efectos; en algunos casos como con el tetracloruro de carbono el plazo es corto, pero en otros como con el paraquat se precisan hasta dos semanas.

En las reacciones hepatotóxicas por tetracloruro de carbono se distinguen dos fases: en la fase temprana o precoz, antes de la primera hora tras la exposición, tiene lugar la aparición de los metabolitos reactivos (tricloruro de metilo, C₁₃C' y tricloroperoximetilo C₁₃CO'), seguido de la peroxidación de lípidos y las uniones covalentes a los receptores nucleófilos. Después de la sexta hora se aprecian los fenómenos consecuentes a acumulación intracelular de calcio, a causa de los mecanismos que se verán a continuación. (Figura 6.15).

Conforme se expuso en el Capítulo 4, el glutatión es un importante reactivo que, en el medio biológico desempeña dos funciones protectoras de gran importancia: por un lado defiende a las estructuras biológicas de procesos oxidativos, por su capacidad reguladora de la oxidación-reducción, y por otro, al ser un compuesto nucleófilo, reacciona con las moléculas electrófilas, evitando el ataque de éstas sobre las biomoléculas. Así, y de todo lo visto, podemos resumir con Comporti (1989), que hay tres clases de compuestos reactivos según su comportamiento con el glutatión (GSH) en el mecanismo tóxico:

a) Agentes alquilantes que no producen depleción de GSH, aunque actúan tanto por establecimiento de uniones covalentes como mediante

peroxidación lipídica. Como ejemplos tenemos el tetracloruro de carbono (CCl₄), bromoformo (CHBr₃), iodoformo (CHI₃, cloruro de vinilo (CH₂ = CH - Cl), halotano o fluotano (CF₃ - CHBrCl), etc.

b) Compuestos electrófilos, más alquilantes que oxidantes, y que consumen GSH, el cual actúa como protector celular. Se originan a partir del p-acetamol, alcohol alílico, acrilamida, acrilonitrilo, cloroformo, bromobenceno, cloruro de bencilo, hexaclorociclohexano, diclorvos, nitrobutano, quinonas, etc.

c) Metabolitos no alquilantes, que producen especies de oxígeno activo, a través de ciclos redox, e inducen fundamentalmente peroxidación lipídica, en cuya iniciación puede participar el hierro, pues se interrumpe por el quelante desferrioxamina, por lo que se dice originan «necrosis hierro-dependientes». Son tóxicos típicos de este mecanismo, paraquat, diquat, adriamicina, bleomicina, hidrazina y derivados, nitrofurantoína, etc. En la activación de menadiona (2-metil-1,4-naftoquinona) interviene la DT-diaforasa.

Otro ejemplo de interés es la formación de radicales libres a partir del alcohol etílico (Figura 6.10).

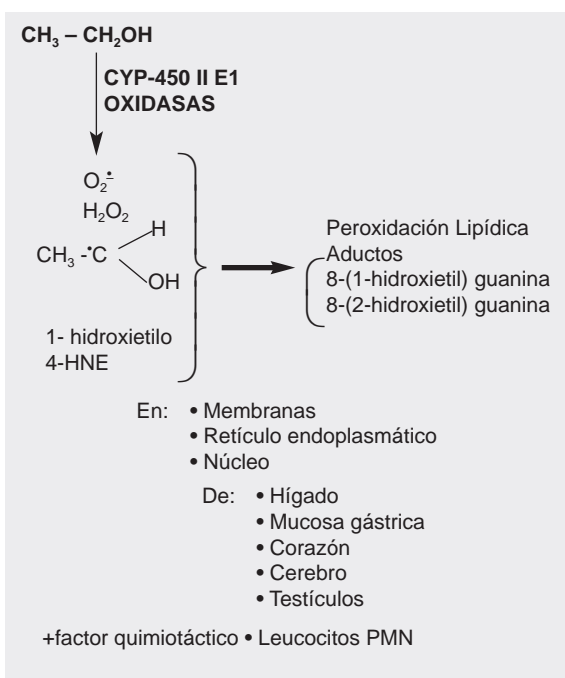


Figura 6.10. Radicales libres de etanol y sus acciones.

2.2. Reactivos de óxido nítrico

Los macrófagos y otras células producen unas moléculas oxidantes que poseen efectos citotóxicos sobre células tumorales, células huésped, hongos, protozoos, etc., son los reactivos derivados del nitrógeno. Moncada *et al.* (1989) descubrieron que en las células del endotelio se libera óxido nítrico (NO), que actúa como factor de relajación del músculo liso (parece que los nitrovasodilatadores liberan NO), como estimulante de las acciones citotóxicas de los macrófagos, como intermediario de la neurotoxicidad del glutamato, y que inhibe la agregación de las plaquetas y la coagulación sanguínea, etc.

El óxido nítrico (NO) intracelular se forma a partir de donadores, como los nitratos orgánicos, nitroglicerina, etc., por mecanismos redox o por acción de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) que convierte la arginina en citrulina y NO. La enzima NOS tiene que ser activada por la calmodulina, activada a su vez por iones de calcio, aunque hay otra forma de NOS que no es calcio-dependiente sino inducible por un proceso inmunitario (inducción transcripcional). La entrada de calcio en las neuronas se produce cuando se abren los canales de membrana para el calcio, al actuar el glutamato (neurotransmisor excitador) sobre los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA); el NO estimula la formación de guanosina monofosfato cíclico (GMP-c), que como segundo mensajero es relajante muscular.

Aparte del cerebro, la NOS se encuentra en las células endoteliales de los vasos sanguíneos, y se distinguen tres isoformas de NOS, además de su origen neuronal y endotelial. Véase más información en *Alteración de la respiración celular y Patologías tóxicas del pulmón*.

El tiempo de vida del óxido nítrico oscila entre 6-10 segundos; reacciona con el oxígeno y el agua y se transforma en nitrito y nitrato; de acuerdo con Lipton *et al.* (1993), el óxido nítrico o monóxido de nitrógeno (NO) puede originar una forma reducida, radical óxido nítrico (NO^\bullet) y una forma oxidada, el radical nitrosonio (NO^+). Además la molécula NO^+ puede recibir un segundo electrón procedente de la dismutación del anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) por la enzima superóxido dismutasa (SOD), con lo que se transforma en el radical peroxinitrito (ONOO^-), que parece ser el verdadero agente citotóxico y peroxidante lipídico. El peroxinitrito puede descomponerse en el radical dióxido de nitrógeno (NO_2^\bullet) y el ion nitronio (NO_2^+), igualmente citotóxicos (Figura 6.11.)

Pero también el NO posee cualidades citoprotectoras, al regular y disminuir la actividad del receptor NMDA neuronal, por nitrosilar los grupos tioles del receptor, aunque esta intervención depende de las condiciones redox del medio.

Las sustancias inhibitoras (como nitroarginina, monóxido de carbono, etc.) de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) impiden la formación del NO y sus acciones tanto beneficiosas (fisiológicas) como tóxicas.

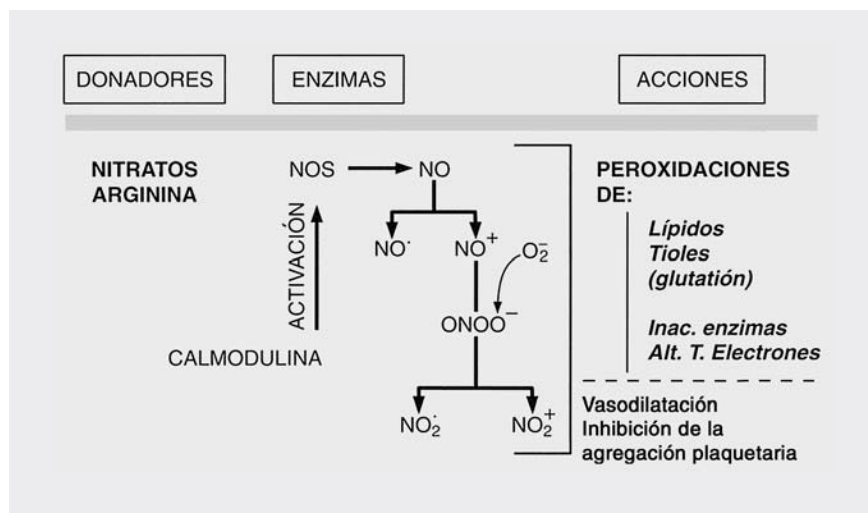


Figura 6.11. Reacciones por óxido nítrico.

En resumen, los mecanismos tóxicos inducidos por el NO, y generados por compuestos tan diversos como la metaanfetamina o el etanol, consisten en peroxidaciones de lípidos y tioles (glutación, etc.), inactivación de enzimas, alteración del transporte de electrones, etc., conducentes a la muerte celular, mientras que en el endotelio tiene una acción protectora, al producir vasodilatación e inhibición de la agregación plaquetaria. Actualmente se trata de obtener fármacos inhibidores selectivos del NOS neuronal, que respeten la isoforma endotelial.

2.3. Compuestos reactivos de azufre

Durante los proceso de biotransformación de compuestos con azufre, pueden generarse moléculas reactivas, unas oxidadas y otras reducidas.

2.3.1. Por oxidación de tioalcoholes o mercaptanos, de fórmula general $R-SH$, se forman compuestos como:

$R-S-OH$	(ácidos sulfénicos)
$R-S-O_2H$	(ácidos sulfinicos)
$R-S-O_3H$	(ácidos sulfónicos)
$R=C=S=O$	(sulfenos)
$(R)_2-SO$	(sulfóxidos)
$(R)_2-SO_2$	(sulfonas)

todos ellos muy oxidantes frente a las biomoléculas.

2.3.2. Liberación de tioles ($-SH$) a partir de glutatión, por transtiolación

Aunque poco investigado, se sabe desde hace tiempo (Stockman, 1916; Mickinney *et al.*, 1957; Schultze *et al.*, 1959; Buckberry *et al.*, 1993) que por un procedimiento calificado de anormal o aberrante, se hidrolizan conjugados con glutatión que, por transtiolación, libera productos con grupos tioles (SH) muy reactivos que producen daño tisular en riñón, hígado, hematíes, pulmón, etc.

Tras exposición a hidrocarburos halogenados, cloruro, bromuro o yoduro de metilo, etilo, etc., o, por ejemplo, por ingestión de semillas de soja desengrasadas con tricloroetileno, se forman conjugados de sus metabolitos con el glutatión, mediante unión del S de la cisteína al lugar que ocupaba un átomo de halógeno; posteriormente el conjugado pierde sus grupos de glutámico y glicina, por acción de la glutamil y la gliciltransferasas, quedando en forma de cisteinil-conjugado. La vía normal de eliminación de éste es por acetilación (formación de mercaptúricos), pero también puede servir de sustrato a la enzima β -liasa, presente en mitocondrias y citosol de la mayoría de los tejidos, pero fundamentalmente en el riñón. Esta enzima, dependiente del piridoxal, rompe el enlace S-C del S con el resto de cisteína, liberando un grupo tiol en el resto de la molécula halogenada. Este $-SH$ es muy electrófilo y se une al ADN y a otros nucleófilos tisulares; como esta liberación es más intensa en el riñón, los xenobióticos citados resultan muy nefrotóxicos (Figura 6.12).

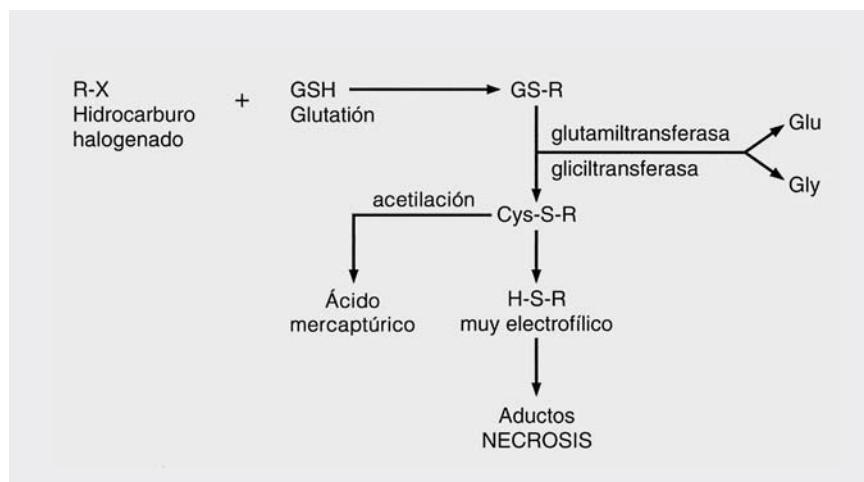


Figura 6.12.
Tioles reactivos.
Por transtiolación.

3. Alteración de la homeostasis del calcio

Actualmente se considera que la alteración de las proteínas que regulan el calcio intracelular es el eslabón entre los mecanismos alquilantes o los oxidantes con la muerte celular.

Se acepta que la concentración de calcio en el citosol regula diversas funciones celulares; a su vez esta concentración, que es extraordinariamente más baja que la del plasma, es regulada por tres mecanismos: *a*) entrada y salida de iones calcio (Ca^{++}) en la célula a través de la membrana plasmática, con intervención de la bomba de calcio; *b*) captación de Ca^{++} por el retículo endoplásmico, y *c*) captación por las mitocondrias. Consecuentemente, la peroxidación de lípidos de la membrana o la lesión de las bombas de Ca^{++} en membrana, mitocondria o retículo, puede elevar considerablemente los niveles de Ca^{++} intracelulares, por mayor entrada a la célula o por salida al citosol desde las vesículas del retículo endoplásmico, o bien por insuficiencia de la bomba de Ca^{++} a causa de déficit de ATP por lesión mitocondrial.

En esta situación, el Ca^{++} citosólico activa a distintas enzimas proteasas y fosfolipasas que participan directamente en la muerte celular (Figura 6.13).

Entre las proteasas activables por el calcio destacaremos la *endonucleasa*, que fragmenta al ADN, lo que conduce a la muerte celular, y las caspasas cuya activación produce daños en el citoesqueleto, por disociación de los microfilamentos de actina.

También se estimula la *calmodulina*, proteína presente en células animales y vegetales, que cuando se une a cuatro iones de calcio por cada molécula, modifica su conformación y activa, a su vez, a otra enzima, la *proteínquinasa*, que fosforila a la fosforilasa, que participa en la degradación del glucógeno; la calmodulina también afecta al citoesqueleto (microtúbulos) y a la división celular. (Fig. 6.14).

Por otra parte, entre las fosfolipasas activables por Ca^{++} está la *fosfolipasa A₂* (PLA₂) que acelera la hidrólisis de los fosfolípidos de membrana, con liberación de ácidos grasos y *lisofosfolípidos*, que a su vez son citotóxicos.

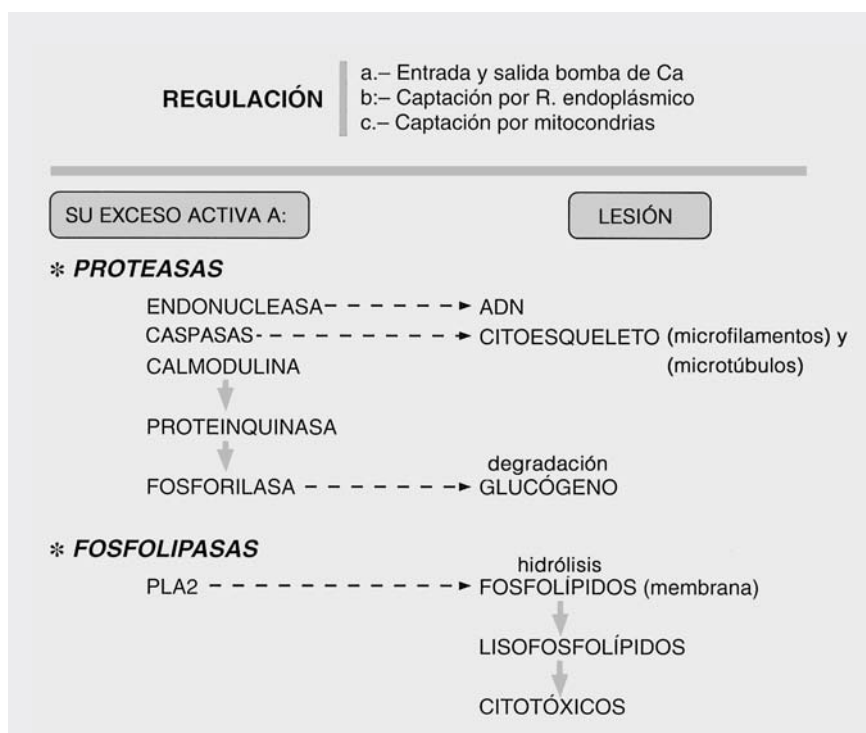


Figura 6.13. Alteración homeostasis del calcio.

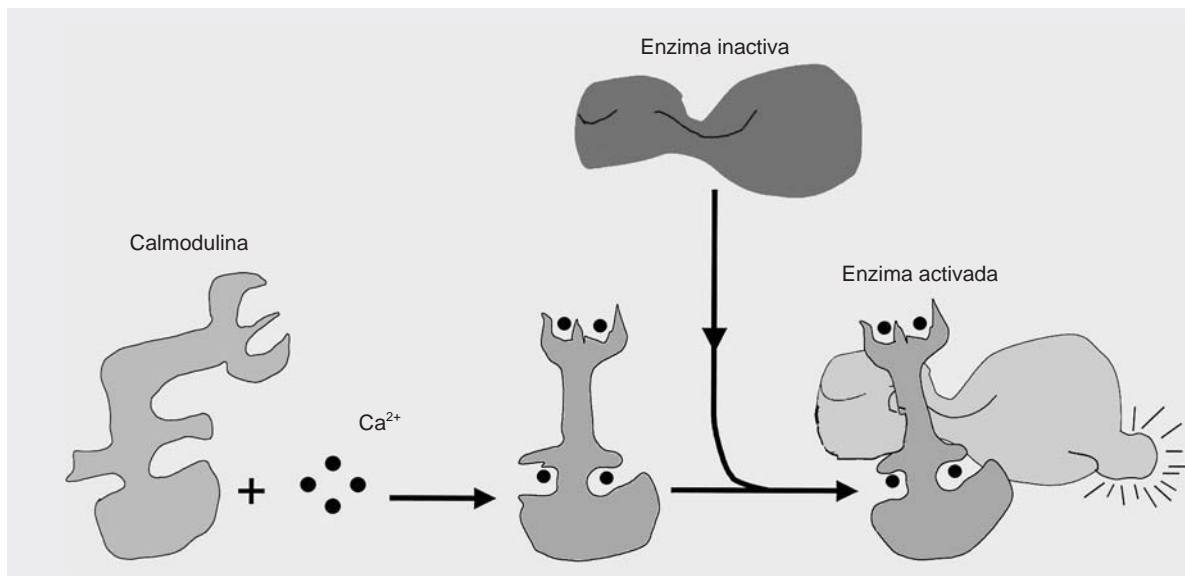


Figura 6.14. Activación de calmodulina y una enzima.

A través de estas acciones, aparecen vesículas en la membrana que, o se separan de ella o se rompen o se fusionan entre sí, lo que conduce a la ruptura de aquélla; a su vez, la disminución del potencial de membrana mitocondrial se traduce en un déficit de ATP, lo que da lugar a acumulación de ácido láctico, y descenso del pH citosólico.

Con todo ello se llega a disrupción de la membrana plasmática y del citoesqueleto, con disolución de la actina y dispersión de los microtúbulos, más una disminución del pH intracelular, por acumulación de ácido láctico consecuente a la lesión mitocondrial, desasople de la fosforilación oxidativa y déficit de ATP (Fig. 6.15).

Aunque, como se ha dicho anteriormente, muchos tóxicos pueden producir necrosis o apoptosis, según la concentración en que se hallen, se discute actualmente cuáles son los tóxicos que producen directamente la muerte de la célula (*necrosis*) y los que actúan acelerando el proceso natural, genéticamente programado de muerte celular (apoptosis). Como agentes activadores de la endonucleasa se reconocen a glucocorticoides, 2, 3, 7, 8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD), tributilestaño (pero no trimetil ni trifenilestaño), y se admite que todos ellos son inductores de apoptosis; también se acepta que los activadores de endonucleasa intervienen en la muerte de los macrófagos expuestos a estrés oxidativo.

Como agentes necrosantes, o productores de metabolitos que lo sean, se reconocen a tetracloruro de carbono, cistamina, quinonas, t-butilhidropéroxido, etc. Además de actuar por mecanismos peroxidativos, estos agentes consumen glutatión (GSH), disminuyen ATP y favorecen la elevación de calcio libre (Ca^{++}) en el citosol, con sus efectos activadores consiguientes. Se consideran sustancias disruptoras del esqueleto celular a la faloidina (amanitotoxina), citocalasinas, cistamina, paraquat, diquat, etc.

En resumen, los mecanismos de toxicidad generalmente incluyen más de un acontecimiento bioquímico o molecular; suelen consistir en secuencias de pasos o cascadas de reacciones, con complejos mecanismos de retroalimentación que constituyen una entramada red de reacciones moleculares, de las que en nuestros días se trata de llegar a conocer los genes implicados.

La necrosis, la oncosis y la apoptosis son el «punto final» o «punto sin retorno» de la lesión celular, al que se llega por múltiples mecanismos, que incluye producción de metabolitos reactivos, estrés oxidativo, enlaces covalentes, activación de señales desde los receptores, lesión mitocondrial, etc.

La necrosis es «muerte pasiva accidental» caracterizada por inflamación de los orgánulos, picnosis del núcleo con fragmentación, condensa-

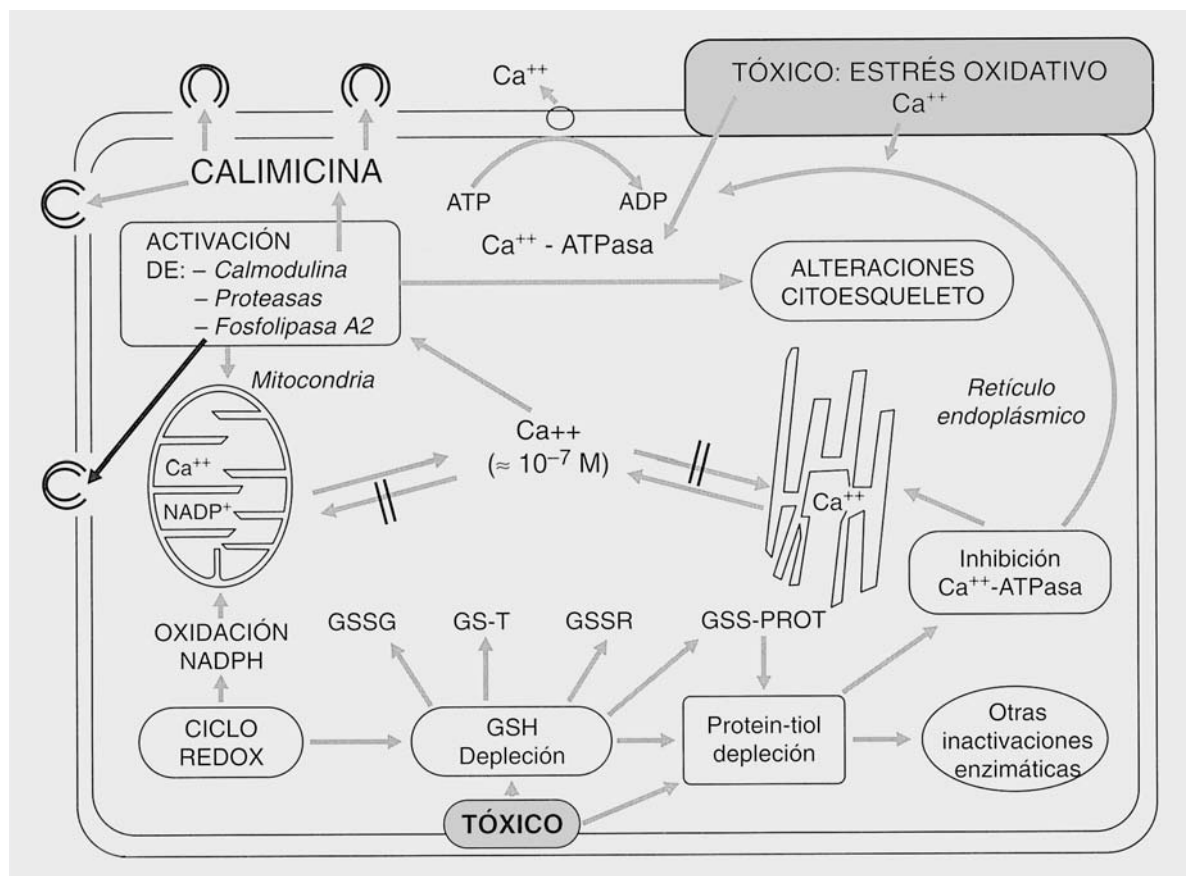


Figura 6.15. Interacción del tóxico con la homeostasis del calcio y los constituyentes celulares.

ción y lisis, formación de vesículas en la membrana y rotura total.

Sus mecanismos son: estrés oxidativo, lesión mitocondrial, depleción de ATP, activación de proteasas dependientes de Ca^{2+} , de fosfolipasas y de endonucleasas. La insuficiencia de ATP inactiva las bombas de iones de la membrana plasmática y del retículo endoplásmico, lo que causa rápida alteración de la homeostasis de Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} .

Tiene dos fases: la de iniciación, en que el tóxico reacciona con algún componente celular, y la de progresión, en que el daño se propaga por el tejido circundante, lo que puede llevar horas o días. La fase de progresión se debe a la liberación de enzimas proteolíticas y lipolíticas al espacio extracelular; entre estas enzimas, las calpaínas son activadas por proteasas y entonces atacan al citoesqueleto. Estas enzimas reciben el nombre de «proteínas de muerte».

La apoptosis supone un proceso altamente organizado que incluye la activación de genes.

Comienza por la activación de unas proteasas específicas, las caspasas (cisteína aspartato proteinasas específicas), aunque en algunos mecanismos no intervienen las caspasas. Estas son de dos clases: una es de activadoras de las segundas, que son las ejecutoras, activan a endonucleasas que fragmentan al ADN. La iniciación es realizada por numerosos xenobióticos, entre ellos diversos metales, incluyendo compuestos como dimetil y trimetilarsina, capaces de generar ROS.

En la apoptosis se describen los siguientes pasos:

1°. Ciertos receptores de membrana, de las superfamilias TNF (factor de necrosis tumoral), DR, etc., que poseen un dominio extracelular rico en cisteína, reciben una señal, la cual experimenta

una transducción. También participan otras proteínas extracelulares, como la APO o Fas, que por agregación y trimerización desencadenan la cascada de caspasas.

2°. Las mitocondrias liberan factores de activación.

3°. Las caspasas inician, propagan y ejecutan la apoptosis.

4°. El proceso puede ser controlado por otros factores como las proteínas Bcl-2

Por su parte, el calcio es un metal que no interviene en los procesos redox y no participa en el estrés oxidativo, aunque este altera de forma muy importante la homeostasis del metal, lo que conlleva graves consecuencias para la célula, porque el Ca^{++} activa numerosas enzimas y proteínas y actúa como segundo mensajero. La concentración de iones Ca^{++} en el citosol y en las mitocondrias es regulado por la bomba de calcio y por las vesículas del retículo endoplásmico; cuando algún tóxico, como el teracloruro de carbono o el tributil estaño (u otros alquilestaño con cadena más larga), lesiona a estos elementos, generalmente por unión a sus grupos tioles, la concentración citosólica se incrementa y se inicia una cascada de activaciones de proteasas, endonucleasas y lipasas con deterioro de la célula.

Unas de las proteasas más interesantes son las *calpainas* (proteínas de cisteína dependientes de calcio), que se implican en la destrucción del citoesqueleto. Son enzimas proteolíticas no lisosómicas que, en presencia de calcio, se transforman en heterodímeros activos. Contribuyen a la apoptosis al colaborar con las caspasas en el proceso proteolítico.

La activación de endonucleasas calciodependientes conduce a la rotura del ADN y la muerte celular, y en la mitocondria, el exceso de calcio depleciona la NAD^+ y el ATP y colapsa el potencial de membrana mitocondrial, que lleva a la muerte de la célula.

Defensa celular contra el estrés

Ante la acción de agentes que induzcan estrés (temperatura, radiaciones, sustancias reactivas, etc.) la célula trata de activar unos mecanismos defensivos o de *respuesta al estrés* mediante la

síntesis de determinadas proteínas. De ellas, las más conocidas son las *proteínas del shock térmico* (hsp), llamadas también chaperonas moleculares, que se clasifican conforme a su masa molecular; son las encargadas del plegamiento de las proteínas y del transporte de los nuevos polipéptidos. Las hsp60 Da realizan la proteólisis de proteínas anormales y pueden ejercer una acción defensiva de tipo inmunitario. Sin embargo, algunos xenobióticos o sus metabolitos pueden inactivar las proteínas del estrés y anular sus propuestas defensivas.

MECANISMOS INMUNITARIOS

Desde hace años se está desarrollando vigorosamente la llamada *inmunotoxicología*, rama científica que estudia varios tipos de procesos patológicos producidos por las sustancias tóxicas, con un enfoque propio de la Inmunología.

El sistema inmunitario, a diferencia de otros sistemas orgánicos del cuerpo, no está confinado en uno o varios órganos, sino que está distribuido a lo largo del cuerpo en multitud de órganos linfáticos; hay órganos linfáticos primarios, como la médula ósea y el timo, y órganos linfáticos secundarios, como los nódulos o ganglios linfáticos y el bazo o el hígado; además hay células inmunitarias circulando por todo el cuerpo o fijas en todos los tejidos; estas células son linfocitos y “células dendríticas”. Las células dendríticas reciben su nombre por poseer unas protuberancias en forma de dedos, y son las células más eficientes en presentar antígenos; circulan en la sangre y son atraídas hacia tejidos periféricos por las citoquinas.

Desde el punto de vista filogenético o evolutivo, puede distinguirse un sistema inmunitario primitivo o innato, que funciona solo en los invertebrados, y que consiste en células que realizan funciones de fagocitosis, liberación de sustancias proinflamatorias y mediadores de señales. Estas células son leucocitos, macrófagos, asesinas naturales (NK), y linfocitos T, que no reaccionan estrictamente ante antígenos específicos, sino ante un amplio rango de estímulos.

Por el contrario, el sistema inmunitario más evolucionado, de animales superiores, responde de forma específica para determinados antígenos con infinitas respuestas específicas, y es capaz de

distinguir entre lo propio y lo extraño, al diferenciar unas proteínas, el *complejo mayor de histocompatibilidad* (MHC) presente en la superficie de las células y que es diferente, por causa genética, en cada individuo.

El sistema inmunitario realiza una misión defensiva del individuo mediante la identificación de estructuras propias y detección de las extrañas, contra las que reacciona.

Esta defensa tiene dos modalidades, una natural, innata, de carácter inespecífico, y otra adquirida, específica al agente que la provoca, cuyos estímulos sucesivos incrementan la respuesta.

Los xenobióticos son capaces de modular la función del sistema inmunitario de tres formas diferentes:

- a) pueden bloquearlo, en lo que denominamos *inmunodepresión* e *inmunosupresión*,
- b) pueden estimularlo, provocando la *hipersensibilidad* o *alergia*, y
- c) pueden distorsionarlo originando la *autoinmunidad* o reacciones contra el propio cuerpo.

Como hemos dicho, el sistema inmunitario está integrado por varios órganos y por unas células periféricas. Estas son leucocitos diferenciados (linfocitos, macrófagos, micrófagos, etc., (véase clasificación de los leucocitos en la Figura 7.11).

La médula ósea es el órgano de producción de los linfocitos a partir de las células pluripotentes, y en ella se produce la maduración de los linfocitos B; los linfocitos T maduran y se diferencian en el timo. El bazo y los ganglios linfáticos (incluidos los presentes en intestino, pulmón y piel) son órganos secundarios de diferenciación (Figura 6.16).

Macrófagos y micrófagos son fagocitos; los primeros suelen estar unidos a los tejidos corporales, mientras los segundos (granulocitos neutrófilos) circulan en la sangre.

Las células periféricas se difunden a todos los tejidos a través del flujo sanguíneo y regresan por un sistema vascular propio, el sistema linfático, que finalmente vierte su contenido a la sangre en las venas subclavias a través del conducto torácico.

Los linfocitos no son todos iguales, no forman una población homogénea, sino varias subpoblaciones constituidas por células que, gracias a dife-

rentes receptores de superficie, poseen distinta reactividad y funciones. Pueden distinguirse usando citometría de flujo y anticuerpos monoclonales. Estas clases son: los linfocitos B, inmaduros, recién formados en la médula ósea; los linfocitos T, madurados o diferenciados en el timo, que a su vez son T *helper* o ayudantes, encargados de coordinar la respuesta defensiva, y los T *killer* o asesinos, ejecutores, liberadores de sustancias activas o mediadores. Además, los linfocitos polimorfonucleares (PMN), tienen por misión principal la de fagocitar a microorganismos invasores; cuando son dañados o activados por xenobióticos, liberan citoquinas, enzimas proteolíticas y ROS, que pueden producir lesiones en el huésped (véase Cap. 7, Hígado); además son capaces de metabolizar xenobióticos merced a sus enzimas mieloperoxidasas. Es decir, los linfocitos que circulan derivan de células precursoras existentes en la médula ósea, y se dividen en dos clases: los linfocitos T, que pasan por el timo en su trayecto a los tejidos, y los linfocitos B, que no lo hacen. Aunque no se distinguen por su forma, sólo las células B y su progenie segregan anticuerpos, mientras que las T, si bien poseen anticuerpos, no los liberan, sino mediadores, y tienen además la misión de estimular o reprimir la actuación de las B.

Hoy se sabe que, tanto la eliminación en el timo de los linfocitos inmaduros, como de los linfocitos circulantes con receptores anómalos, como la actuación de los linfocitos asesinos (que mediante *perforinas* abren poros en las células que atacan) tienen lugar mediante procesos de *apoptosis*, tras activación de caspasas, algunas de las cuales intervienen como enzimas convertidoras (activadoras) de interleuquinas o *interleucinas* (ICE) (véase más adelante).

Tan sólo un 2 por 100 de los linfocitos segregan anticuerpos; son linfocitos pequeños, cuya membrana externa presenta moléculas de anticuerpos, receptores dispuestos a ajustarse con un antígeno; los antígenos para los receptores de los linfocitos B son moléculas complejas, normalmente glucoproteínas, mientras que los linfocitos T pueden reconocer péptidos pequeños, con 9-11 aminoácidos. Cuando se produce esta unión, el linfocito puede resultar estimulado o paralizado; si se estimula, empieza a producir más anticuerpos idénticos al que se unió al antígeno, y además crece y se divide y subdivide, dando lugar a una prole o línea

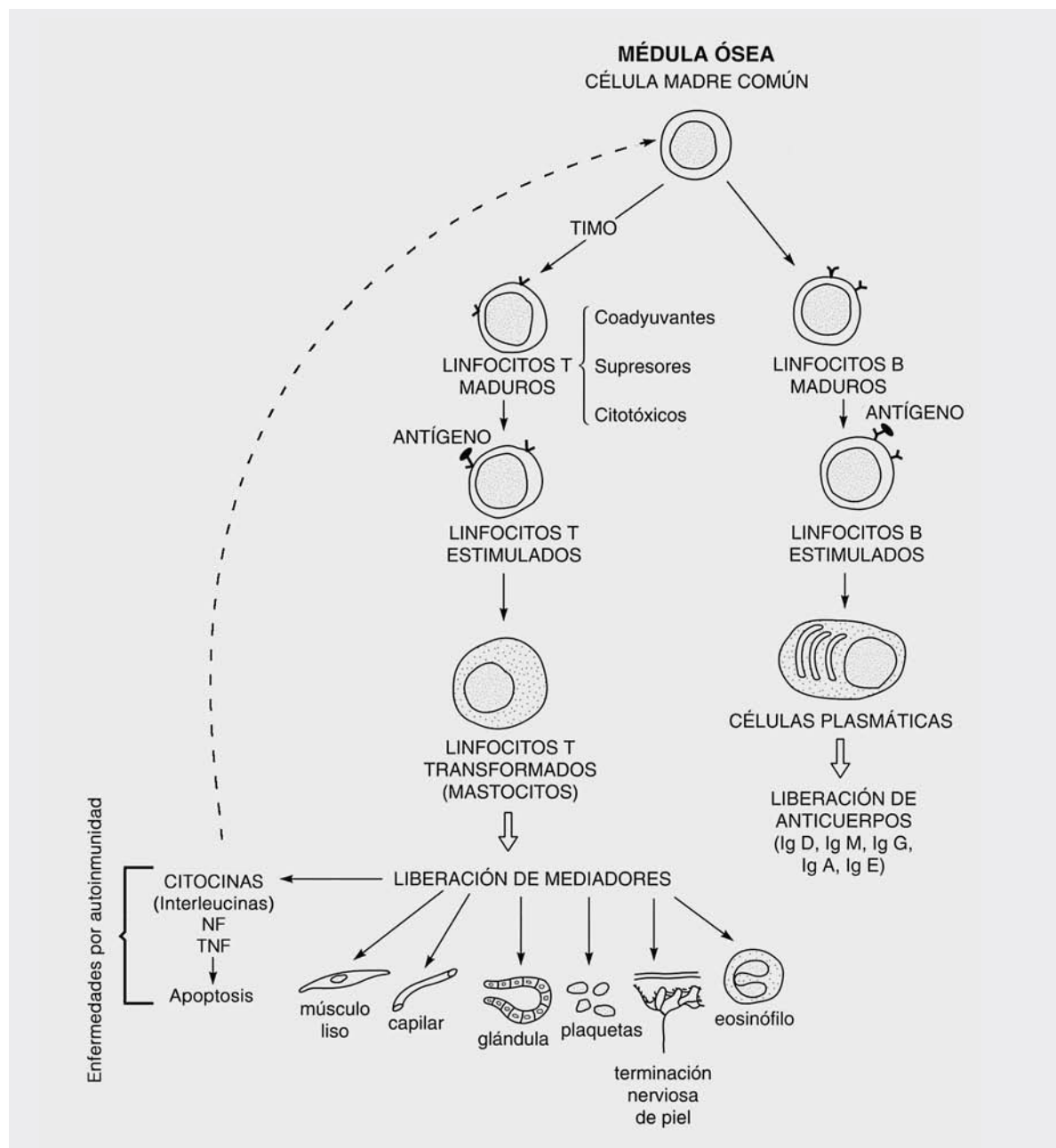


Figura 6.16. Diferenciación y función de los linfocitos.

de células genéticamente idénticas que recibe el nombre de clon. Estas células hijas, dedicadas a producir el mismo tipo de anticuerpos, reciben el nombre de *células plasmáticas* o *plasmocitos*. Algunas de estas células vuelven al estado de reposo y representan la «memoria» del suceso,

permaneciendo dispuestas a reiniciarlo a la nueva llegada del mismo antígeno. En los tejidos, a partir de los linfocitos T, se diferencian las *celulas cebadas* o *mastocitos*.

Hay también otras poblaciones de células linfoides, derivadas de los mismos precursores medula-

res, entre las que destacamos las conocidas como K y como NK; las células K (del inglés *killer*, asesinas o agresivas) son linfocitos grandes, granuloso que cuando se les unen IgG específicas presentes en la superficie de otras células, provocan la lisis de éstas. Las células NK (agresoras-naturales) son linfocitos no dependientes de anticuerpos, que realizan una defensa inespecífica contra células infectadas por virus, contra células neoplásicas, o con el ADN alterado.

Los linfocitos NK intervienen también en la inmunidad innata, y se les considera un eslabón entre los sistemas inflamatorio e inmunitario.

Los linfocitos T activados secretan también citocinas (interleucinas), polipéptidos que transportan señales entre células y que, a su vez, estimulan la reproducción clonal de los linfocitos T y el aumento de eosinófilos, y están presentes en las enfermedades autoinmunitarias. Igualmente son citocinas el factor de necrosis (NF) y el factor de necrosis tumoral (TNF) que favorece la destrucción de las células cancerosas; ambos participan en la apoptosis desencadenada por tóxicos. El receptor del factor de necrosis tumoral (TNF-R) es activado por las α -TNF y β -TNF y juega múltiples papeles en inmunidad, inflamación y regeneración tisular.

Debe recordarse que las relaciones entre las células se producen por dos vías: contacto célula-célula, o liberación de mediadores que reciben el nombre de hormonas y, en inmunología, *citocinas* o *citoquinas*. Estas son pequeñas moléculas de polipéptidos que intercambian información dentro de la misma célula, a otra célula próxima o a células situadas a cierta distancia, y sus funciones son quimiotáxicas y reguladoras; se sintetizan no sólo dentro del sistema inmunitario, sino también en otros tejidos. Las citoquinas producidas por los linfocitos se denominan *linfoquinas*.

Hay tres clases principales de citoquinas:

a. Factores de crecimiento. Se producen en la médula ósea, células endoteliales, fibroblastos y linfocitos B y T.

b. Mediadores en la inflamación:

– Interferón Tipo I (IFN- α , IFN- β), generados por linfocitos y fibroblastos.

– Factor de necrosis tumoral (TNF- α), liberado por macrófagos estimulados por bacte-

rias. Su sobreproducción puede conducir a shock y muerte.

– Interleuquina-1 (IL-1 α , IL-1 β); son pirógenos.

– Interleuquina-6.

c. Citoquinas inmunomoduladoras. Son también interleuquinas IL, de las que se conocen más de 18. Actúan como factores de activación, maduración y diferenciación de los linfocitos

Ante concentraciones muy altas de determinantes antigénicos, o la persistente llegada de muy pequeñas concentraciones, por debajo del umbral de estimulación, se puede inducir tolerancia inmunitaria o bien producir parálisis de la actividad linfocitaria, con disminución de la capacidad de respuesta inmunitaria; esto también ocurre con los tóxicos que atentan a la vida y multiplicación del linfocito.

La llegada de un antígeno a un individuo con anticuerpos contra éste puede producirle dos tipos de reacciones, una de *tipo inmediato*, que aparece y desaparece pronto, de carácter alérgico y no-alérgico, y otra llamada *retardada*, que se presenta horas después del contacto y persiste durante varios días.

Si se inyecta suero de un animal alérgico (que reacciona patológicamente a determinados antígenos) a otro, éste queda sensibilizado temporalmente y responde a pruebas cutáneas con reacciones de tipo inmediato, pero no de tipo retardado. Sin embargo, puede transferirse hipersensibilidad retardada por medio de células linfáticas, leucocitos o células reticuloendoteliales, que nunca transfieren la sensibilidad inmediata.

En términos de inmunotoxicología podemos distinguir diferentes formas de actuar de los xenobióticos:

1. El xenobiótico tiene como órgano diana el sistema inmunitario (sean sus órganos o sus células periféricas), con lo que su función normal puede resultar aumentada o disminuida. En el primer caso la *inmunoestimulación* puede deberse a una proliferación de células, con o sin estimulación en la síntesis de anticuerpos. En el segundo caso la *inmunodepresión* e incluso *inmunosupresión* pueden deberse a que el tóxico elimine poblaciones de células o impida su maduración o inhiba directamente a los anticuerpos.

La exposición crónica o subcrónica a las sustancias químicas, a dosis incluso inferiores a las consideradas tóxicas, puede afectar a los diferentes cons-

tituyentes del sistema inmunitario. Así, pueden observarse alteraciones en el peso, celularidad e histología estructural de los órganos linfoides, cambios en el número de los linfocitos circulantes y en las proporciones de inmunoglobulinas, todo lo cual puede reflejarse en reacciones anormales a dichas sustancias o a otras relacionadas con ellas (reacciones cruzadas) o bien como un aumento de la susceptibilidad frente a las infecciones oportunistas.

Las células inmunocompetentes requieren una continua renovación, pero son muy sensibles a los agentes tóxicos para la proliferación celular, por lo que la incidencia de aquellos conduce fácilmente a la *inmunodepresión*.

Existe abundante bibliografía actual sobre la capacidad inmunodepresora de derivados orgánicos o sales inorgánicas de Pb, Cd y Hg, cuya administración a animales en proporciones no tóxicas disminuye sus defensas a las infecciones cuando posteriormente se les inoculan virus y bacterias. Efectos similares producen la p-dioxina, los políclorobifenilos, el DDT, dieldrin, metilparatión, carbaril, etc.; así, las tetraclobenzo-p-dioxinas (TCDD) y otros compuestos pueden suprimir la maduración y el desarrollo de las células inmunitarias y causar inmunosupresión. No solo inhiben la diferenciación de las células T en el timo, e incluso causan la atrofia de este órgano, sino que también desencadenan autoinmunidad. (Véase Tabla 6.5).

Se ha observado que la exposición al Pb^{2+} , desacelera la síntesis de anticuerpos, al parecer por afectación de las células de memoria.

Aunque no se ha logrado evidencia directa, se supone que los efectos inmunosupresores de los cationes Pb^{2+} , Cd^{2+} y $MeHg^+$ se deben a su capacidad para formar ligandos con las proteínas antigénicas.

La hidrosolubilidad de las sales metálicas permite su reacción con las proteínas séricas para formar antígenos y modificar la inmunidad humoral, en tanto que la liposolubilidad de los compuestos orgánicos permite su transporte a través de las membranas y su acumulación en timo y linfocitos, y afectación de su función, con modificación de la CMI (inmunidad mediada por células). Parece que algunos disolventes orgánicos halogenados actúan de esta manera.

Sustancias como la 6-mercaptopurina, y sus derivados como la azatioprina, juegan un papel de antimetabolitos al sustituir a las bases púricas en el ADN, interrumpiendo la división celular, por lo que son utilizados en el tratamiento del cáncer; por el mismo mecanismo inhiben la síntesis de anticuerpos y producen inmunodepresión.

En general, puede decirse que la capacidad inmunosupresora de los xenobióticos es la cualidad inmunotóxica más fácilmente detectable (Descotes, 1992).

Se ha descrito un fenómeno de gran interés denominado *tolerancia or al*, que supone que sustancias inmunógenas administradas por vía oral, en lugar de originar una respuesta inmunitaria dan lugar a tolerancia, al parecer por participación de células supresoras de aquella (Boelslerli, 2007).

Tabla 6.5. Ejemplos de agentes inmunodepresores.

Agente	Acción
Agentes alquilantes	Interferencia síntesis ADN y ARN
Cefalosporinas	Inhibición de linfocitos T, por bloqueo señal de transducción de linfocitos T-helper
Dioxinas	Disminución de linfocitos T y B Nuevo efecto tras vacunación antitetánica
Glucocorticoides	Interferencia en la transcripción
Luz ultravioleta	Lesión ADN
Organoestánicos	Inhibición proliferación de timocitos por di, tri y octilbutil estaño; pero mono y tetrabutyl estaño no lo hacen
Talidomida	Inhibición de la expresión moléculas de adhesión en superficie de hematíes. Inhibe angiogénesis

2. El xenobiótico actúa como antígeno o como hapteno, desencadenando lo que se conoce como *alergia*. En ella se distinguen tres fases: 1.^a de reconocimiento del xenobiótico, 2.^a de respuesta de efectores, y 3.^a de reacción antígeno-anticuerpo y producción de efectos. Se admite que actualmente es alérgico el 20 por 100 de la población.

En ocasiones el xenobiótico puede actuar directamente como antígeno o, en otros casos, como hapteno. Los haptenos son sustancias de bajo peso molecular que forman enlaces covalentes con proteínas transportadoras u otras macromoléculas; la molécula resultante es considerada por el organismo como extraña, y actúa como antígeno al inducir la formación de anticuerpos. Como ejemplos de haptenos pueden citarse varios metales (níquel, cobalto, cromo), aldehídos, quinonas, acrilatos (resinas), fenoles, pirocatecoles, cumarinas, alquitranes, etc. Los metales, que son causantes de muchas alergias, oxidan a proteínas para formar con ellas unos quelatos, con múltiples puntos de unión; así el níquel se une a tres restos de histidina y a uno de cisteína. Muchos haptenos se absorben como protohaptenos, que han de ser activados por efecto metabólico o de la luz.

Se admite (Amos, 1993) que prácticamente todas las sustancias químicas son capaces de estimular la producción de anticuerpos, aunque las sustancias de bajo peso molecular no actúan propiamente como antígenos, sino como haptenos, que han de unirse de forma covalente a una macromolécula portadora. La potencialidad de los compuestos de bajo peso molecular es directamente proporcional a su reactividad con grupos nucleófilos de proteínas u otras macromoléculas.

Dos compuestos alergénicos de gran incidencia en nuestros días son el látex y la insulina, aunque para ambos se dispone de sustancias desensibilizadoras («vacunas») muy efectivas.

Hay compuestos capacitados intrínsecamente para originar estas unidades inmunogénicas, pero la mayoría ha de adquirir reactividad por degradación, biotransformación o polimerización.

La penicilina y otros antibióticos betalactámicos no son antigénicos ellos mismos, sino sus productos derivados, como el obtenido por anhidrización, el ácido penicilénico, que reacciona rápidamente con restos de lisina de las proteínas, formando el peniciloil-conjugado, fuertemente

inmunógeno, aunque parece que a través del anillo betalactámico puede reaccionar directamente con proteínas.

Se ha comprobado que el halotano (hidrocarburo fluorado usado como anestésico por vía inhalatoria), se biotransforma a metabolitos, radicales libres, hepatotóxicos y antigénicos; el betabloqueante cardiosselectivo practolol, que en algunos pacientes produce manchas en los ojos y la piel (síndrome oculomucocutáneo), ha originado *in vitro*, por oxidación microsómica, un producto que en animales induce la formación de anticuerpos. En otras biotransformaciones inmunogénicas tiene que participar otro compuesto exógeno, como ocurre con el antimicrobiano tópico clorhexidina, que necesita reaccionar con cloro (procedente del agua clorada) para formar una cloramida capaz de provocar síntesis de IgE en modelos animales.

Existen otras hipótesis, como la basada en un daño celular previo o la llamada de interacción farmacéutica y otra que combina varias de ellas (Utrecht, 2005).

Generalmente, el antígeno es procesado por los macrófagos antes de sensibilizar a los linfocitos T, que, una vez activados inducen a los B a transformarse en células plasmáticas, encargadas de producir los anticuerpos. Otros linfocitos T intervienen para frenar la excesiva estimulación de los B.

Los linfocitos conocidos como facilitadores o colaboradores (*helper*, Th) modulan las funciones de los linfocitos B y de los macrófagos; se diferencian en tres subpoblaciones: Th 0, Th 1 y Th 2.

- los Th1, que inducen a los B a producir IgG, secretan interferón IFN- γ y el factor de necrosis tumoral TNF- β que activan a los macrófagos y actúan en las reacciones de hipersensibilidad retardada.

- los Th2 liberan interleuquinas IL-4, IL-5, IL-10 y IL-13, responsables de la proliferación y diferenciación de los linfocitos B en células plasmáticas y células de memoria, por lo que conducen a fuertes reacciones antígeno-anticuerpo.

- los Th0 expresan ambos tipos de citoquinas.

Los linfocitos T producen una serie de mediadores de la inmunidad celular, como factores activadores de los macrófagos, factores estimulantes de la mitosis y factores sensibilizantes de otros linfocitos, una citoxina que lesiona diferentes células, factores quimotácticos, que atraen a neutrófilos,

eosinófilos, linfocitos y macrófagos en zonas con inflamación, factores que aumentan la permeabilidad cutánea y del endotelio vascular y, por tanto, contribuyen a la inflamación, etc.

Entre los anticuerpos producidos por las células plasmáticas (linfocitos B) se han separado cinco glucoproteínas, conocidas como inmunoglobulinas. Las principales son: IgA, IgE, IgD, IgG e IgM.

Si se digieren los anticuerpos con la enzima papaína, se liberan dos fragmentos proteicos; uno de ellos cristaliza fácilmente, por lo que se denomina fragmento cristizable (Fc), sin apenas capacidad de reacción con los antígenos, pero que se fija a la membrana de mastocitos y basófilos para activarlos. El otro fragmento, que es reactivo, se conoce como fragmento de unión a antígeno (Fab) y está especializado en el reconocimiento y fijación de éstos; por ello tiene algunas aplicaciones como antídoto. La zona de la molécula del antígeno por la que posee afinidad el Fab se denomina epítipo, y algunos antígenos tienen varios epítipos; cuando otro antígeno porta un epítipo muy parecido puede producirse lo que se denomina *alergenicidad cruzada* (reacción similar frente a un antígeno diferente).

En la membrana de las distintas células hay receptores antigénicos específicos para las diferentes inmunoglobulinas; así, los basófilos, las células cebadas o mastocitos los poseen para la IgE, los eosinófilos para IgG e IgE, los hematíes para IgG, IgM y el antígeno Rh, etc., dispuestos para una reacción antígeno-anticuerpo y correspondiente liberación de mediadores o de anticuerpos.

Parece que los radicales libres, las especies reactivas de oxígeno y algunas formas de radiaciones pueden liberar anticuerpos y provocar reacciones alérgicas.

La reacción antígeno-anticuerpo también activa el llamado *sistema complemento*, constituido por más de veinte enzimas y proteínas séricas que se activan en cascada (muchos de los integrantes son proteasas de serina, que se activan secuencialmente) y participan en la desgranulación de mastocitos y liberación de mediadores, cambios conformacionales y formación de poros en membranas, con lisis celulares, recubrimiento de células extrañas y bacterias por anticuerpos y macrófagos (opsonización) antes de la fagocitosis, etc.

Las reacciones alérgicas se dividen convencionalmente en cuatro tipos: los tres primeros se desarrollan por anticuerpos circulantes, mientras que el

cuarto está mediado por el ataque de células propias a la molécula antigénica.

En el tipo I, anticuerpos IgE y a veces IgG fijados a la superficie de las células cebadas, al reaccionar con sus antígenos específicos, provocan la liberación de los mediadores almacenados en los gránulos de los mastocitos y los basófilos (Tabla 6.6).

En la membrana de los mastocitos y de los basófilos existen receptores de gran afinidad para la porción Fc de la IgE, dos moléculas de la cual fijadas a la membrana, en una exposición posterior, son unidas por una molécula de antígeno, que forma un puente entre aquellas, lo que activa a las células, que liberan a sus mediadores. Se produce entonces una *reacción alérgica inmediata*, que cuando es sistémica se denomina *anafiláctica*.

La sobreproducción de eosinófilos en los procesos de hipersensibilidad y alergia es una característica de los mismos; en el asma alérgica y otros procesos alérgicos crónicos, este incremento de eosinófilos se manifiesta a través de su transformación en los llamados *cristales de Charcot-Layden*, que se observan en las preparaciones microscópicas de esputos, aspirado bronquial, y tejido bronquial, alveolar y miocárdico de las personas afectadas.

Cuando antígenos como: pólenes de árboles o gramíneas, ácaros, algunos alimentos, medicamentos como el ácido acetilsalicílico, las penicilinas, productos industriales como las resinas de urea-formaldehído, isocianatos empleados en la fabricación de poliuretano, ácido ftálico y otros productos y derivados de la industria de resinas epoxi, etanolamina, etilendiamina y en especial los productos orgánicos de núcleo aromático con sustituyentes en posición para, como la p-fenilendiamina, entre las anilinas, y el 2,4-dinitroclorobenceno, los colorantes diazoicos, etc., se unen al menos a dos moléculas de IgE específico para cada uno, ligados a la membrana de un mastocito, se produce la liberación de los mediadores. Esto se realiza sin lisis celular, sino por un proceso bioquímico de formación de prostaglandinas y aumento de la permeabilidad celular.

Los principales mediadores químicos que se liberan son:

a) Histamina: que produce aumento de la secreción mucosa, contracción del músculo liso (broncoconstricción) etc.

b) Serotonina: mitógena, estimula musculatura lisa (vasoconstricción), disminuye las secreciones mucosas.

Tabla 6.6. Tipos de reacciones de hipersensibilidad.

Tipos	Bases mecanismo	Ejemplos de patologías
Tipo I Inmediato o anafiláctico	IgE Mastocitos y basófilos Liberación aminas	Anafilaxia Asma, rinitis, conjuntivitis, urticaria Fiebre del heno
Tipo II Citotóxico	IgM, IgG Activación del complemento Lisis celular	Hemolisis, anemia Agranulocitosis Trombocitopenia Anemia hemolítica autoinmunitaria
Tipo III. Reacción de Arthur Precipitación de inmunocomplejos circulantes	IgA, IgM, IgG Activación del complemento	Alveolitis, neumonitis Glomerulonefritis Enfermedad del suero Lupus erimatoso
Tipo IV Hipersensibilidad retardada	Linfocitos T Liberación de linfocinas	Dermatitis de contacto

Fuente: Dayan *et al.*, 1990, modif.

c) Factores quimiotáxicos de los eosinófilos (ECF-A) y de los neutrófilos (NCF-A).

d) Enzimas diversas.

e) Heparina: anticoagulante

f) Calicreína y bradiquinina: vasodilatadores

g) Prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos (SRS-A), etc.

Todos estos mediadores contribuyen a procesos inflamatorios internos y externos, insuficiencia respiratoria por broncoconstricción y encharcamiento pulmonar, alteraciones de la motilidad intestinal, lo cual, unido al exceso de permeabilidad, provoca diarreas, afectaciones nerviosas centrales y periféricas, con dolor y picor, hemolisis, etc. Cuando los mediadores no se originan en los procesos indicados, sino que un individuo los absorbe directamente, por ejemplo en alimentos, bebidas o medicamentos que los contienen o los liberan, el fenómeno se denomina *pseudoalergia* o anafilactoide.

Otro mecanismo consiste en la fijación del xenobiótico o su derivado al complemento inmunitario C_3 , formando unas moléculas llamadas *anafilatoxinas* que reaccionan con los mastocitos y liberan los mediadores.

La reacción aguda se conoce como *shock anafiláctico* o *anafilaxia generalizada*, que puede ser mortal. La sintomatología de esta reacción inmediata a la absorción del antígeno al que se está sensibilizado consiste en: grave dificultad respiratoria consecuente a espasmo bronquial y edema de glotis, acompañada de hipotensión; además se presenta edema de cara, urticaria, dolores abdominales, sudoración y sensación de angustia. La muerte puede sobrevenir en unos minutos.

La reacción alérgica tipo II es la conocida como *citotóxica*; los anticuerpos circulantes (humorales), generalmente IgM e IgG, reaccionan con antígenos unidos a la superficie de ciertas células (hematíes, leucocitos, plaquetas) y fijan moléculas de complemento, lo que produce la destrucción de tales células; sus síntomas principales son la anemia y la trombocitopenia. Es la típica reacción postransfusión.

En el proceso de citolisis interviene decisivamente el llamado complemento, ya citado, complejo grupo de enzimas circulantes en el suero normal que son activadas cuando los anticuerpos identifican el antígeno. Cuando sobre dos moléculas de antígeno fijadas en situación muy próxima

sobre una membrana celular se unen dos IgG, se activa el complemento, que perfora la membrana; por el orificio penetran iones y agua que hacen estallar la célula y salir a los mediadores que almacenaba. Así liberan histamina los mastocitos, leucocitos y plaquetas.

Otra clase de reacción alérgica, conocida como de tipo III, consiste en una precipitación de complejos formados por el antígeno y los anticuerpos IgE o IgG, con la colaboración de las precipitinas, que son inmunoglobulinas IgG o IgM.

Parece que la reacción inmediata tipo I, al aumentar la permeabilidad capilar, facilita el paso de antígenos al interior de los órganos donde se produce la reacción III con precipitación de complejos inmunitarios (*inmunocomplejos*) en las membranas endoteliales, (vasculitis). Estos complejos provocan citolisis y la obstrucción de pequeños vasos, que revisten especial significado en los del glomérulo renal.

La conocida como reacción tipo II o dual corresponde a la producción de I + III.

La reacción tipo IV tiene el carácter de hipersensibilidad retardada o celular, (o mediada por células). Los macrófagos actúan como células presentadoras de antígenos, que provocan proliferación de *T-helper* y liberación de interleuquinas, activación de NK, etc.; las células hipersensibilizadas son lesionadas por el antígeno; al parecer liberan entonces anticuerpos no combinados que atraen a leucocitos y macrófagos; las células dañadas segregan sustancias tóxicas para otros tejidos, en los que producen inflamación y citolisis, llegando a necrosis local o a *shock* sistémico.

Se denominan de *hipersensibilidad retardada*, porque su presentación se inicia después de al menos 12 horas del contacto con el agente. Son ejemplos, la dermatitis de contacto por objetos de cromo o níquel, cosméticos, detergentes, medicamentos etc. (Tabla 6.7).

3. Finalmente citaremos como otra posibilidad inmunotoxicológica la siguiente: en un primer paso, el tóxico lesiona un órgano, el cual produce o libera moléculas propias que actúan como antígenos capaces de desencadenar una posterior respuesta inmunitaria contra ellos. Este mecanismo engloba procesos conocidos como *autoinmunitarios*, y hay numerosas sustancias, de muy diversa estructura química, incluidos medicamentos, que los producen.

Tabla 6.7. Ejemplos de alteraciones inmunitarias por metales, sus sales o compuestos orgánicos.

1. Reacciones de hipersensibilidad

Tipo I: cobalto, cromo, níquel, platino.

Tipo II: oro.

Tipo III: oro, mercurio.

Tipo IV: berilio, circonio, cobalto, cromo, mercurio, níquel, oro.

2. Incremento, en general: cinc, manganeso, selenio

3. Reacciones de autoinmunidad: mercurio, oro.

4. Inmunodepresión: cadmio, cobalto, mercurio, plomo, compuestos órgano-estánicos [óxido de bis (tri-n-butilestano)]

Fuente: Dayan *et al.*, 1990.

Estas sustancias que inducen o exacerban enfermedades autoinmunitarias en individuos susceptibles suelen ser compuestos de bajo peso molecular (entre 100-500 daltons), que generalmente no se consideran inmunógenos, ya que las moléculas de éstos son de más de 10.000 daltons. A pesar de la diversidad de estructuras, en general son compuestos heterocíclicos y/o contienen, al menos, un anillo aromático. (Kammüller *et al.*, 1989); sin embargo, estas estructuras no son imprescindibles pues, por ejemplo, el cloruro de vinilo y el tricloroetileno producen esclerodermia.

Si bien en las reacciones de hipersensibilidad que hemos descrito, prevalecen las de los tipos I y IV, las de autoinmunidad se corresponden más con las de los tipos II y III (Neubert, 1999).

Las *enfermedades autoinmunitarias* se clasifican en dos grupos: respuestas organoespecíficas y respuestas sistémicas.

Las organoespecíficas consisten en la reacción del anticuerpo directamente, o mediado por células, sobre un antígeno específico localizado sobre una célula, un tejido o un órgano. Son ejemplos clínicos la anemia hemolítica autoinmunitaria por autoanticuerpos eritrocíticos, la miastenia gravis por autoanticuerpos contra el receptor de la acetilcolina, la diabetes tipo I (insulinodependiente) autoinmunitaria contra las células beta pancreáticas, etc.

En las enfermedades sistémicas autoinmunitarias, las lesiones se presentan en múltiples tejidos cuando, sobre éstos o sus vasos, se depositan los inmunocomplejos formados por el autoanticuerpo

y los antígenos solubles procedentes del núcleo o del citoplasma de las células dañadas. Ejemplos de estas enfermedades generalizadas son discrasias sanguíneas, vasculitis, lupus eritematoso, artritis reumatoide, esclerodermia, dermatomiositis, polimiositis, neuropatías, neuroesclerosis, glomerulonefritis, etc.

Se acepta que en la génesis de los trastornos autoinmunitarios participan los polimorfismos enzimáticos, que dan lugar a metabolitos diferentes o distintas cinéticas de eliminación. Hasta hace pocos años, las reacciones de autoinmunidad se consideraban raras, pero un gran número de ellas se han reproducido en modelos animales.

En los enfermos se encuentran anticuerpos (autoanticuerpos) contra los distintos constituyentes de las diferentes células (núcleos, nucléolos, orgánulos citoplasmáticos, membranas, etc.).

Un ejemplo de enfermedad mediada por reacción inmunitaria es el *Síndrome del aceite tóxico*, aparecido en España en 1981 y que afectó a más de 20.000 personas (véase en el Prefacio, *Desastres tóxicos*). Aunque no se ha llegado a demostrar el mecanismo de toxicidad, epidemiológicamente se comprobó que el agente causal se encontraba en un aceite de colza importado de Europa Central para usos industriales, al que, con el fin disminuir la tasa

arancelaria se añadió anilina para desnaturalizarlo, pero que fue desviado por desaprensivos a consumo alimentario humano. En cuanto el mecanismo, se manejan varias hipótesis: a). que la anilina se oxidó espontáneamente o por los CYP a N-hidroxianilina, a nitrosobenceno y a quinonimina, que formaron aductos con restos sulfhidrido de aminoácidos. b). la anilina formó anilidas al reaccionar con los ácidos grasos del aceite; estas anilidas sustituyen a lípidos de la membrana celular y provocan numerosos cambios bioquímicos; y por último, c). la anilina se unió a los grupos OH de la glicerina de los aceites, formando glicéridos de los que el más estable es el 3-(N-fenilamino)-1,-propanodiol (PAP). Al parecer, la formación de estos productos tiene lugar en médula ósea, sistema inmunitario, piel y eritrocitos, pero no en hígado. Cualesquiera de estos productos, al reaccionar con las proteínas corporales dieron lugar a péptidos modificados que sensibilizaron a los linfocitos T y desencadenaron reacciones de hipersensibilidad y autoinmunidad. La principal dificultad en el trabajo experimental es que las distintas especies animales ensayadas responden de muy diferente manera, presentando unos u otros síntomas pero no el síndrome completo de los humanos, cuando recibieron los aceites o los productos incriminados, que fueron sintetizados.

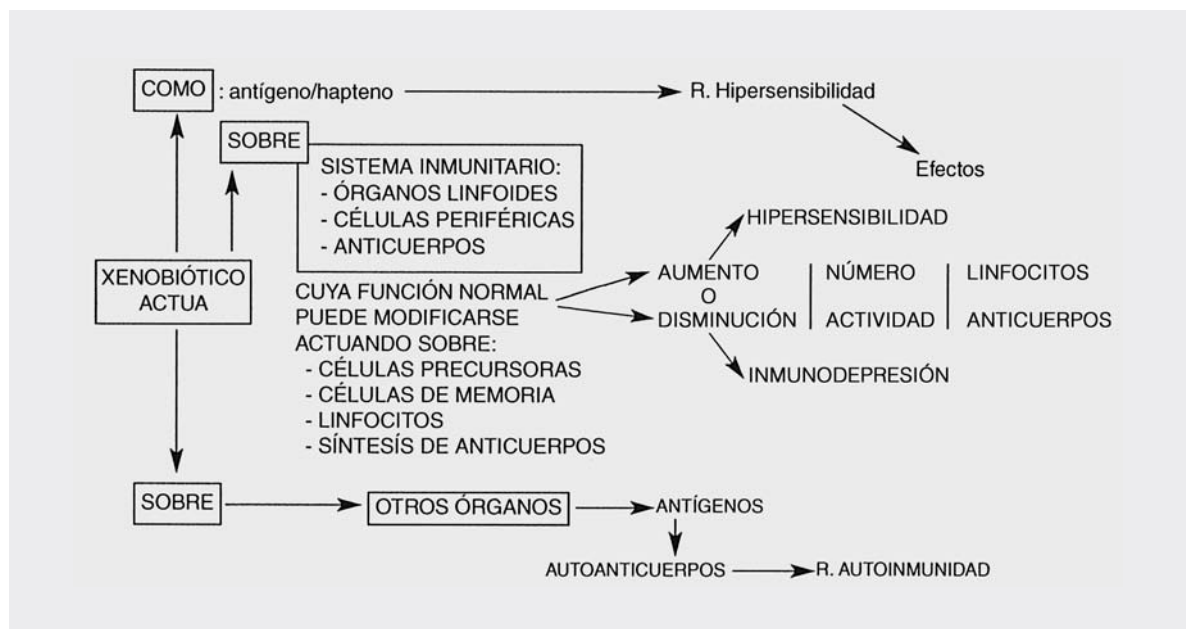


Figura 6.17. Resumen de los mecanismos inmunitarios.

Por último, anotemos que los agentes inmunógenos, en general, pueden a su vez interferir las biotransformaciones de los xenobióticos, como se ve en personas recientemente vacunadas contra gripe, hepatitis, etc., en las que se mantienen altas las concentraciones sanguíneas de medicamentos, quizás por una depresión transitoria de la actividad monooxigenasa dependiente del citocromo P-450, como también ocurre con la administración de inductores de interferón.

Por otra parte, existen importantes relaciones (aún insuficientemente conocidas) entre los sistemas inmunitario y nervioso, mediadas principalmente por citoquinas. Así, se sabe que el estrés psíquico y las drogas excitantes alteran los niveles de hormonas, mediadores y linfocitos, mientras que opiáceos y cannabis provocan deficiencias en linfocitos B, T, NK y macrófagos.

La Figura 6.17 ofrece una visión esquemática y de conjunto de los mecanismos inmunitarios y el origen de las reacciones de hipersensibilidad, inmunodepresión y autoinmunidad.

TOXICIDAD SELECTIVA

El concepto de Toxicidad selectiva alude a las diferentes respuestas de las distintas estructuras celulares a los agentes químicos. Refleja una capacidad del tóxico para actuar selectivamente sobre las diferentes células. Esta teoría procede de los conceptos de Ehrlich (1854-1915) sobre los grupos «toxóforos» (zona activa del tóxico que se une a un receptor), modificados por Albert, Ariens y otros.

El fenómeno de toxicidad selectiva exige, al menos, dos condiciones básicas:

A) Existencia de órganos diana susceptibles al tóxico (receptores).

B) Existencia de mecanismos que modifiquen las concentraciones del agente en forma activa, en la proximidad de los lugares efectores. Estos mecanismos han de modificar la molécula para originar un producto más tóxico, o liberarlo de su unión con las proteínas transportadoras. Además, la cuantía del efecto no sólo dependerá del número de receptores afectados, sino, muy especialmente, de la velocidad o intensidad con que esto ocurra.

En contraste con la acción de los agentes cáusticos, el resto de las sustancias químicas producen una acción suficientemente selectiva capaz de originar trastornos en lugares biológicos específicos, a concentraciones muy por debajo de las precisas para verificar la destrucción celular. Esto supone que en los componentes celulares, o en sus membranas, existen unos lugares u órganos diana o receptores capaces de reaccionar selectivamente.

Los receptores

El concepto de receptor fue introducido por Langley (1905) para designar un factor de reconocimiento y anclaje de un efector (fármaco) cuya unión origina un efecto biológico. Posteriormente, los efectores se han denominado *ligandos* o *agonistas* y se estima que un auténtico receptor debe poseer las siguientes características:

a) Especificidad: que significa no sólo que cada receptor debe tener afinidad por un tipo de ligando, sino también que el efecto biológico que se genera con esta unión debe ser idéntico para cada pareja.

Sin embargo, la especificidad no es absoluta, porque al aumentar la dosis de efector este puede unirse a otras dianas y provocar efectos secundarios. Pero la especificidad es tal que les permite distinguir, y responder o no, a los diferentes isómeros de un compuesto, mediante mecanismos basados en la presencia en éstos de carbonos asimétricos y en la distribución espacial de los constituyentes de la molécula (estereoselectividad).

b) Reversibilidad: la unión ligando-receptor puede ser transitoria, es decir, disociable y capaz de liberar al receptor en su estado primitivo, con capacidad para uniones posteriores.

La reversibilidad es propia de la acción benéfica de los medicamentos; cuando la unión es irreversible suelen producirse efectos tóxicos.

c) Saturabilidad: al existir un número finito de receptores, éstos pueden saturarse con la llegada del fármaco, por lo que la curva dosis-efecto no es lineal ni única.

Se han propuesto numerosas definiciones de los receptores; la más concreta los describe como *macromoléculas diferenciadas cuya interacción con un fármaco da lugar a un efecto biológico*.

La intensidad de dicho efecto depende del número de receptores afectados, que es función tanto de su abundancia como de la cantidad de sustancia, en forma activa, que llegue hasta ellos. En los distintos tejidos del organismo hay diferente densidad de cada tipo de receptor, lo que explica que un mismo ligando produzca mayor efecto en unos tejidos que en otros.

Los receptores más importantes son proteínas, en forma de enzimas, porciones de membrana muy especializadas, constituyentes de canales iónicos, etc. Desde la década de 1970, el conocimiento sobre los receptores ha crecido extraordinariamente sobre todo por la aplicación de los nuevos métodos de biología molecular y, especialmente por la clonación (Rang *et al.*, 2004). A veces los investigadores se han encontrado con «receptores inesperados» (como lo fue el de los cannabinoides), o los que recibieron el nombre de «receptores huérfanos» cuya función fisiológica se desconoce. Algunos receptores están acoplados a las proteínas G (estas proteínas, así llamadas por su interacción con los nucleótidos de guanina, están ancladas por el interior de la membrana y son capaces de interactuar sobre diferentes receptores, principalmente las enzimas adenilatociclase y fosfolipasa C y los canales de sodio y potasio; realizan un importante papel en la transducción de señales) y participan en numerosos procesos hormonales y de transmisión nerviosa; otros están ligados a determinadas enzimas, como las quinasas. Los llamados *receptores nucleares* se encuentran realmente en el citosol, pero influyen sobre el ADN del núcleo a través de proteínas translocadoras que se unen a los llamados *fragmentos sensibles del ADN* lo que conduce a una alteración en la síntesis de proteínas; ejemplos de receptores nucleares los tenemos en los *receptores Ahr* de los hidrocarburos aromáticos, que se verán inmediatamente, y los PPAR, *receptores activados por los proliferadores de peroxisomas* (véase Hepatopatías tóxicas).

Transmisión de señales celulares. Clases de receptores

Lo anteriormente expuesto es la base del sistema de relaciones existente entre los estímulos

exteriores, incluidos los xenobióticos, y las células, y entre las propias células.

Para este sistema de señales se precisan de tres componentes básicos. Un estímulo que, para ser percibido, requiere un sensor o *receptor*, acoplado a un *efector*, en lo que se llama sistema de *transducción de señales* o *cascadas*, que ordinariamente no son lineales sino ramificados o interconectados en diferentes direcciones (Boelsterli, 2007). Los xenobióticos pueden activar o inhibir los sistemas fisiológicos de señales, causando trastornos o toxicidad.

Por otra parte, un receptor recibe continuamente numerosas señales, pero debe elegir las convenientes e ignorar las inconvenientes. La alteración de las señales fisiológicas conduce a efectos tóxicos como interrupción del ciclo celular, apoptosis, disregulación de la proliferación celular o neoplasia.

Como se ha indicado, hay receptores unidos a las membranas celulares y receptores solubles, presentes en el citosol o en el núcleo.

Receptores de membrana

Entre ellos citaremos a los siguientes:

1. Receptor acoplado a la proteína G (así llamada por la participación en la interacción de nucleótidos de guanina, GPT y GDP); constituyen una superfamilia que puede activar numerosos canales o enzimas.

2. Receptores unidos a quinasas. Las quinasas son enzimas que unen covalentemente restos de fosfato a serina, treonina o tirosina de proteínas específicas. Estos receptores desencadenan cascadas de quinasas, que terminan alterando la transcripción de genes, tras su iniciación por factores de crecimiento, citoquinas, hormonas, lipopolisacáridos bacterianos, especies reactivas de oxígeno (ROS), etc. que, en conjunto, reciben el nombre de *factores de estrés*, que incluye a numerosos xenobióticos.

3. Ligandos de canales iónicos, que modifican la permeabilidad al correspondiente ion.

Receptores solubles o nucleares

Hay unos receptores intracelulares de gran afinidad, disueltos en el citosol en una forma inactiva, que, a través de una serie de pasos de transmisión de señales, llegan a actuar sobre el ADN. Son

moléculas solubles que se unen a un ligando, migran al interior del núcleo y reaccionan con elementos genómicos de respuesta. Constituyen diversas superfamilias, entre las que destacan, por su interés toxicológico, los receptores de hormonas esteroides y los receptores proteínas PAS.

Los receptores de hormonas esteroides forman una gran familia (véase apartado de Disruptores endocrinos, Capítulo 7), constituyen dímeros, bien homodímeros o bien heterodímeros; en éstos la molécula acompañante es el *receptor retinoico X* (RXR), que une al ácido 9-*cis*-retinoico. Entre los receptores de esteroides cabe destacar al *receptor de estrógenos* (ER), *receptor de andrógenos* (AR), el *receptor activado proliferador de peroxisomas* (PPAR), etc. El receptor pregnano X (PXR) se expresa en hígado, intestino delgado y colon. Induce la síntesis de CYP3A, en particular CYP3A4.; tiene gran avidez para unirse a hormonas esteroides (progesterona, estrógeno y corticosterona) o sus metabolitos; también forma heterodímeros con el ácido retinoico, y puede ser inducido por activación de otros receptores, como el receptor de glucocorticoide, GR, (lo que explica que los glucocorticoides induzcan indirectamente la transcripción de CYP3A4), pero es disregulado por las citoquinas, por cuya causa, algunas citoquinas disminuyen diversos P450.

Entre los PAS destaca el *receptor de arilhidrocarburos* (HR) que reacciona ante compuestos como las dioxinas, dibenzofuranos, bifenilos, etc. policlorados.

En algunos casos los receptores de esteroides se mantienen inactivos al estar unidos a proteínas de shock (hsp90), chaperonas. Al unirse al ligando, el receptor experimenta un cambio conformacional y se disocia de la chaperona, se dimeriza, penetra en el núcleo y se une a elementos de respuesta localizados en la región del ADN promotora de agentes específicos.

Los receptores proliferadores de peroxisomas (PPAR) son activados por ácidos grasos y algunos metabolitos de ecosanoides, así como los compuestos hipolipemiantes tipo fibrato, plastificantes como di-(2-etilhexil)ftalato, algunos disolventes, etc. de los que requieren concentraciones relativamente altas; existen varios subtipos; el más estudiado es el PPAR α , abundante en hígado de roedores en los que produce hepatomegalia por hiperplasia e hipertofia; algunos ligandos son pro-

motores de tumores, pero no parece que sean genocarcinógenos.

Las proteínas receptores PAS se sirven de *factores de translocación* para entrar en el núcleo; así el receptor de hidrocarburos aromáticos (AH o Ah) utiliza el factor ARNT; el dímero formado se une a un segmento del ADN conocido como elemento aumentador de respuesta XRE, o en su caso, elemento de respuesta a la dioxina, DRE, localizados en la proximidad de la región promotora de genes específicos que son activados por este tipo de señales. La actividad del AhR es posteriormente regulada por la presencia de un represor (AhRR), otra proteína de la familia PAS. Los principales genes afectados son los CYP1A1, CYP1A2, y CYP1B1, que expresan enzimas de la fase I de biotransformación (Boelsterli, 2007).

La unión fármaco-receptor se produce por diferentes clases de enlace químico; normalmente se inicia con uno o varios enlaces iónicos, y después se refuerza con otros enlaces accesorios. Sin éstos, la energía térmica a 37° rompería la unión, que no se mantendría el tiempo necesario para la acción; pero después de ésta, es preciso que las dos moléculas se separen para interrumpir la acción y se regenere el receptor, para que pueda volver a actuar; cuando la unión se establece por enlaces covalentes, es irreversible. En general, la interacción de fármacos y receptores obedece a la ley de acción de masas.

Todos los fármacos, y por tanto los tóxicos, capaces de producir un efecto al unirse a receptores, por lo que reciben el nombre de *agonistas*, deben poseer dos cualidades:

a) *Afinidad* con el receptor, que les lleve a unirse al mismo. Esta cualidad depende de una concordancia fisicoquímica y espacial, que les atraiga mutuamente y les permita encajar uno con el otro.

b) *Eficacia*, también conocida como actividad intrínseca, que es la capacidad para, tras unirse al receptor, iniciar acciones o cambios en el mismo que se manifestarán como *efectos*.

De ambas cualidades depende la *potencia* del tóxico o fármaco, pero la intensidad del efecto es función del número de receptores y de la velocidad a que estos son afectados. Las moléculas de los tóxicos se unen a receptores que ordinariamente

cumplen una función fisiológica con agonistas endógenos, pero les provocan bien una estimulación excesiva o bien un bloqueo en su función de lo que se deriva el efecto nocivo, a veces de forma definitiva al unirse por enlace covalente; cuando un medicamento se absorbe en cantidad elevada, el número de receptores estimulados es grande, y el efecto es tóxico.

La estimulación continuada o muy repetida de determinados receptores da lugar a una desensibilización o taquifilaxia, o tolerancia de los mismos, así denominadas según el tiempo necesario para ello, de menos a más. Esta pérdida de función puede deberse a varias causas, como son:

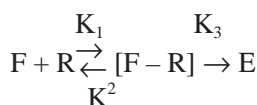
- alteraciones de los receptores, bien porque se les produzca un cambio en su configuración, bien porque experimenten una fosforilación estable, mecanismo que inicia la intervención de los segundos mensajeros, etc.

- modificación de la estructura del receptor a consecuencia de una alteración de la expresión génica inducida por el xenobiótico.

- pérdida o disminución del número de receptores, lesionados o necrosados por la estimulación abusiva, que suelen ser reabsorbidos al interior de la célula por endocitosis.

- agotamiento de las reservas de mediadores, como ocurre tras el abuso de anfetamínicos, en que se vacían los depósitos de las aminas neurotransmisoras.

Ariens *et al.* aplicaron a las interacciones fármaco-receptor las leyes de Michaelis y Menten para las reacciones enzimáticas, basadas en:



donde $[F - R]$ es el complejo activo formado entre receptor y ligando, y E el efecto producido; las velocidades a que se desarrollan cada uno de los pasos vienen dadas por las constantes K_1 , K_2 , K_3

La constante K_3 que rige la aparición del efecto, valora la actividad intrínseca. Cuando $K_3 = 1$, el efecto es el máximo posible ($E_{\text{máx}}$), y la sustancia se comporta como un *agonista total*. Cuando $K_3 < 1$, el efecto es menor que el máximo, por lo que el fármaco actúa como *agonista parcial*; mientras que si $K_3 = 0$, el fármaco no produce efecto y ade-

más bloquea al receptor para que no le afecten otras sustancias, por lo que se denomina a aquél *antagonista específico*.

La expresión $K_2 + K_3/K_1 = K_m$ o simplemente $K_2/K_1 = K_m$, nos permite calcular la afinidad, como $1/K_m$, representando K_m la concentración de fármaco que provoca un efecto mitad del máximo posible.

Si se representa gráficamente $1/E$ en ordenadas, frente a $1/[F]$ en abscisas, se tiene una recta cuya pendiente es $K_m/E_{\text{máx}}$, que corta el eje de ordenadas en $1/E_{\text{máx}}$ y el de abscisas en $-1/K_m$ (Fig. 6.18).

La constante K_2 , representativa de la velocidad de disociación del complejo $[F - R]$, influye decisivamente en la efectividad, ya que a mayor valor de K_2 menos efectivo será el complejo.

Algunos receptores, sobre todo los correspondientes a membranas celulares, no cumplen la cinética de Michaelis-Menten, y su comportamiento se trata de explicar por la *teoría alostérica*. Ésta supone que, en ausencia del fármaco, el receptor posee dos estados conformacionales en equilibrio; un estado es de reposo y el otro de activación.

La llegada de un agonista desplaza el equilibrio hacia la forma activa, mientras que los antagonistas lo harían hacia la forma inactiva; agonistas y antagonistas actuarían en diferentes puntos del receptor, mientras que los agonistas parciales tendrían afinidad por ambos estados conformacionales.

Se piensa también que los receptores poseen varios lugares de acción que no funcionan independientemente, sino que la fijación de un fármaco en un punto produce cambios conformacionales que modifican la fijación de otros agonistas o antagonistas en otros lugares.

Estas dianas pueden ser lugares vitales, cuya alteración, por la reacción con el agresor químico, conduce a la muerte celular, o pueden ser lípidos o

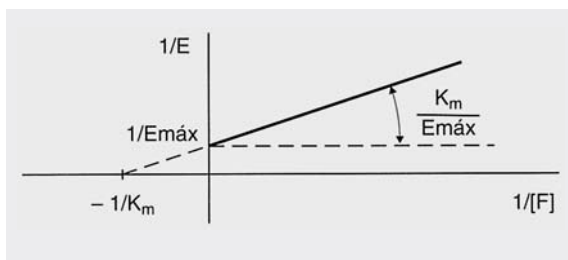


Figura 6.18.

proteínas, cuya modificación no altera directamente las funciones celulares.

Algunas veces, tales receptores pueden llegar a ser claramente definidos, pero en ocasiones no pasan de ser elementos hipotéticos, situados dentro o sobre la célula o en una molécula de proteína circulante.

Receptores de interés toxicológico

Los grupos sulfhidrilos de los sistemas enzimáticos son receptores específicos para los metales pesados; igualmente la acetilcolinesterasa es el receptor específico para los compuestos organofosforados, la hemoglobina y el citocromo P-450 lo son para el monóxido de carbono y la citocromo oxidasa para el ion cianuro; también se conocen los receptores de los opiáceos endógenos (endorfinas) y exógenos, y para los cannabinoides y su equivalente endógeno, la anandamida (Mechoulam, 1992), que es la etanolamida del ácido araquidónico o O-araquidonil-etanolamida (AEA). Posteriormente se han descubierto otros cannabimiméticos endógenos derivados de ácidos grasos poliinsaturados, como son el noladin eter, la homo- γ -linolenil-etanolamida, N-araquidonildopamina (NADA) y la docosatetranil-etanolamida (DEA), y un endocannabinoide que no es una amida, el 2-araquidonil-glicerol (2-AG). Como se ve, todos ellos son compuestos lipófilos y derivados del ácido araquidónico, precursor en la biosíntesis de las prostaglandinas y mediador en los procesos inflamatorios. Recuérdese que en la degradación

de los fosfolípidos se forma ácido araquidónico, el cual puede actuar directamente como mensajero intracelular o salir de la célula y actuar sobre las vecinas, o también, metabolizarse a anandamida y eicosanoides, a su vez, mensajeros intracelulares.

En diferentes regiones del cerebro o de otros tejidos, como la placenta, se han localizado unos *receptores de cannabinoides* que se han designado como CB₁ que se acoplan a diversas proteínas G o segundos mensajeros y median muy distintos efectos.

En tejidos periféricos y especialmente en los del sistema inmunitario se localizó otro tipo de receptor que se denominó CB₂; esta localización sugiere que el CB₂ puede ser el mediador de la bien conocida capacidad inmunosupresora del cannabis.

Por su parte, la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) es el miembro más tóxico de los hidrocarburos aromáticos halogenados, particularmente de la familia de las dioxinas o policlorodibenzodioxinas (PCDD); es también el mayor inductor enzimático conocido al provocar sobreexpresión de proteínas, es cancerígeno y realiza una fuerte acción sobre el sistema inmunitario.

Aunque el mecanismo molecular de esta actividad no está totalmente aclarado, se conoce la participación del *receptor de arilhidrocarburos (AhR)*, y resulta ser un importante ejemplo de Toxicidad Selectiva (Figuras 6.19, 6.20 y 6.21).

El AhR es un factor de transcripción activable por ligandos que une la dioxina a elementos de respuesta (DRE) presentes en la región de promoción/aumento de los genes diana.

En el núcleo de las células diana, la dioxina (TCDD) o el metilcolantreno y otros compuestos

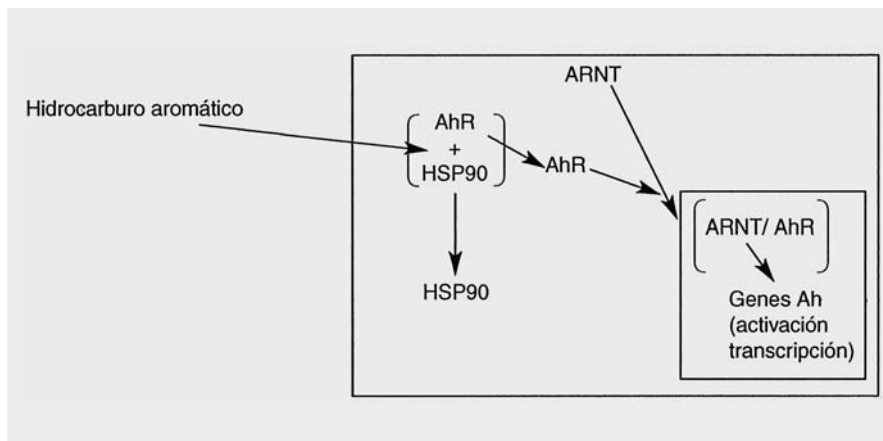


Figura 6.19 Receptor nuclear de hidrocarburos aromáticos (AH). El hidrocarburo aromático penetra en la célula y se une al receptor específico AhR, que ahora se disocia de la chaperona HSP90 con la que formaba un dímero. Seguidamente el AhR activo se une a la proteína translocadora ARNT que permite su entrada en el núcleo y acceso a los genes Ah.

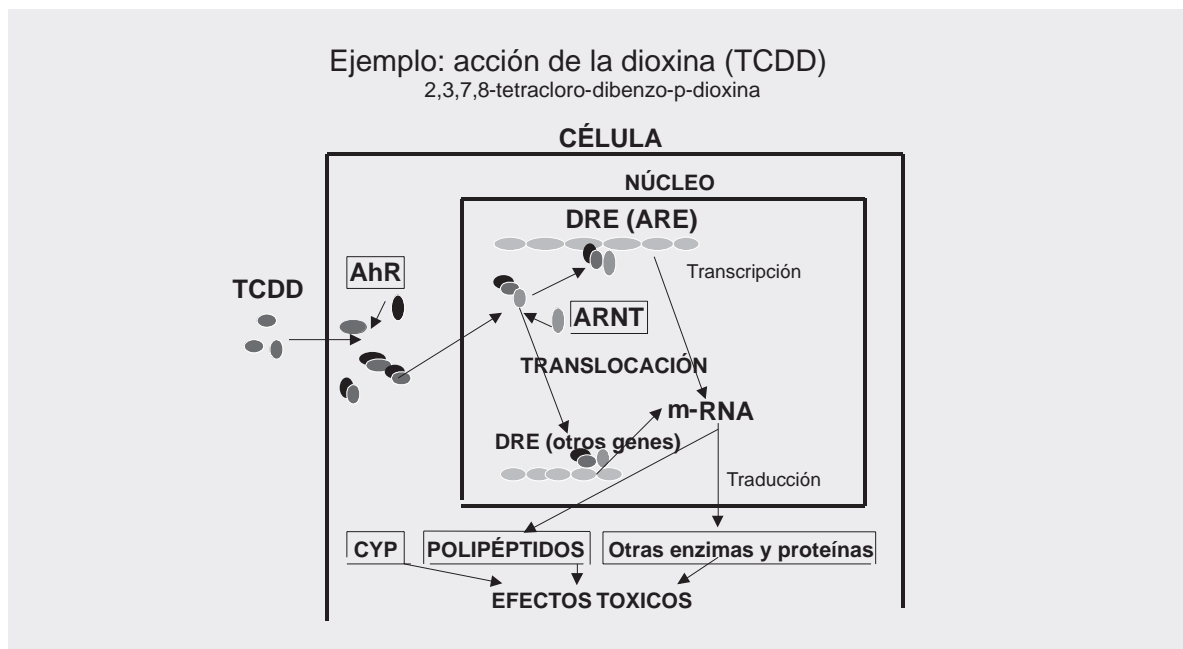


Figura 6.20. Aplicación el esquema de la Fig. 6.19 a la entrada y acciones de la dioxina en el núcleo celular.

relacionados se unen inicialmente al receptor de hidrocarburos aromáticos (AhR), el cual acumula en el núcleo un complejo con una proteína translocadora (ARN_t). Este complejo actúa como factor de transcripción que al unirse a la correspondiente región del ADN conocida como sensible activa varios genes (aumenta su expresión) que rigen la síntesis de diferentes enzimas, como: CYP1A1,

CYP1A2, aldehído deshidrogenasa, glutatióntransferasa, glucuroniltransferasa, NAD (P)H-quinasa óxido-reductasa, etc., aunque al propio tiempo se puede inhibir o disminuir la síntesis de otras proteínas y enzimas.

La clonación del gen AhR facilita el mapeo de las vías de señales intracelulares que se activan por ligandos Ah exógenos, y que conducen a lesiones biológicas. Se ha visto que, tras la unión del receptor a sus ligandos, se produce elevada expresión del AhR en células en crecimiento rápido, activación del AhR en células en suspensión, participación del AhR en el ciclo celular y en la apoptosis, asociación del AhR con otros factores de transcripción en ausencia de xenobióticos, etc., lo que sugiere que la activación del AhR puede afectar a insospechadas actividades celulares.

Un posible mecanismo de la inmunotoxicidad mediada por TCDD consiste en la producción de cambios funcionales en la actividad de las proteínas reguladoras y en las señales celulares, que parecen ocurrir independientemente de los pasos de transcripción mediados por DRE. Esta modulación de la cadena de señales celulares y genes diñna por la TCDD parece controlar la diferenciación de los leucocitos.

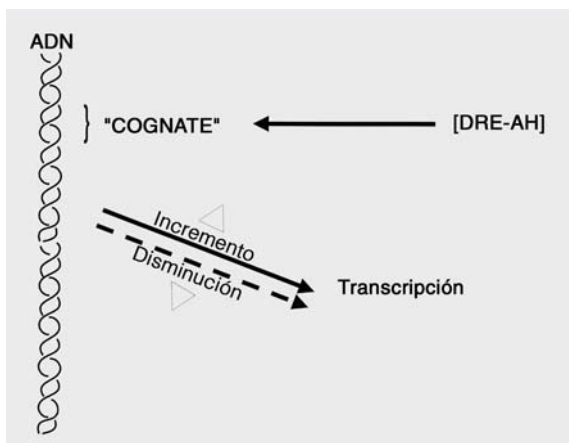


Figura 6.21. Fragmento sensible o *cognate* del ADN, activado por los AH.

El sistema nervioso es sede de receptores muy especializados cuya activación desencadena un efecto específico (véase capítulo siguiente), así:

a) los receptores adrenérgicos provocan estimulación nerviosa, hiperactividad, elevación de la presión sanguínea, etc.

b) el sistema dopaminérgico afecta al comportamiento, la autogratificación, las adicciones; se conocen varios subtipos (receptores D_1 a D_4) todos los cuales intervienen en la esquizofrenia. El D_3 regula la hiperactividad locomotora y el D_1 es la diana de los medicamentos neurolépticos antipsicóticos.

c) el serotoninérgico participa en las alucinaciones;

d) entre los receptores de opiáceos,

d.1) el mu (μ) y el delta (δ), aunque presentes en distintas zonas del cerebro, son los que participan en la acción analgésica, eufórica y narcótica y, también, en los efectos indeseables, como depresión respiratoria, reducción de la motilidad intestinal y la dependencia;

d.2) el receptor kappa (κ), que se encuentra en la médula espinal, media también en la analgesia y sedación; y

d.3) el sigma (σ) interviene en las reacciones de alucinación, disgusto y desagrado.

e) el receptor del glutamato y su subtipo N-metil-D-aspartato (receptor NMDA) participan en la protección y en la degeneración neuronal, memoria y conocimiento. El NMDA está implicado en la fisiopatología de importantes desórdenes neurológicos y neuropsiquiátricos, como Enferme-

dad de Parkinson, Corea de Huntington, esquizofrenia, etc. Está compuesto por heterodímeros, y regula el transporte de iones Na^+ , K^+ y Ca^{++} ; el receptor NMDA es estimulado por el glutamato y otros agonistas, pero la sobreestimulación puede dar lugar a producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, activación proteínquinasa C, de la ADNasa, fosfolipasa, calpaína, etc. que se manifiestan con daños celulares, cambios en la expresión de genes y patologías como las citadas (Figura 6.22).

Distribuidos por todo el cuerpo, en el núcleo de las células integrantes del sistema endocrino, hay receptores de esteroides (de andrógenos o de estrógenos), proteínas específicas que, al unirse a un esteroide, sufren un cambio de conformación, se activan y se unen a determinados lugares del ADN sobre el que estimulan la transcripción genética y la proliferación celular (véase Disruptores endocrinos, Cap. 7).

Una variedad es la constituida por los receptores de esteroides activados por proliferadores de peroxisomas, también receptores nucleares que, con participación de un mecanismo epigenético (véase Genotoxicidad, Cap. 7), pueden llevar a promoción de tumores y cáncer (Figura 6.23); son ejemplos de proliferadores de peroxisomas medicamentos de la familia de los fibratos.

Aunque en muchos casos el receptor no haya sido dilucidado aún, esta teoría nos ayuda a explicar, y predecir, numerosos mecanismos de acción farmacológica y tóxica.

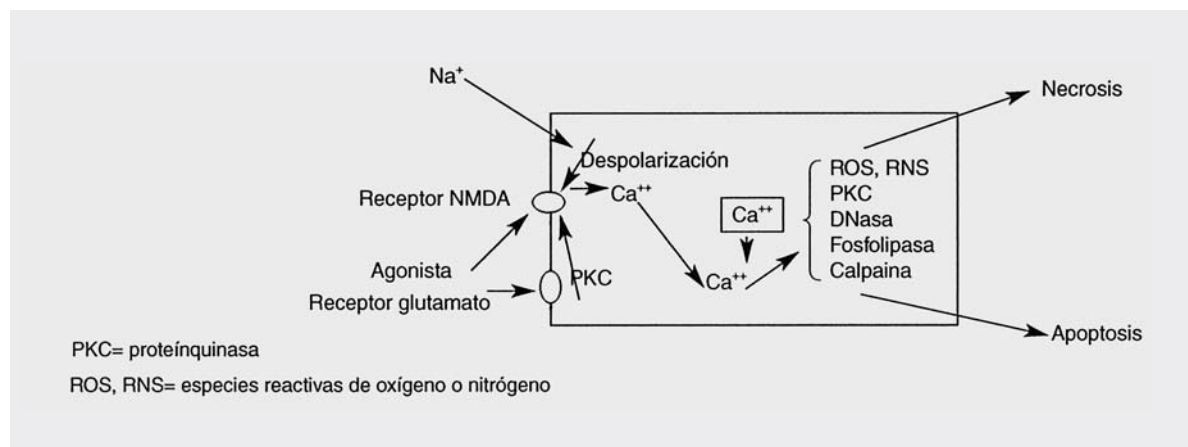


Figura 6.22. Toxicidad mediada por el receptor NMDA (Lynch y Guttman, 2002).

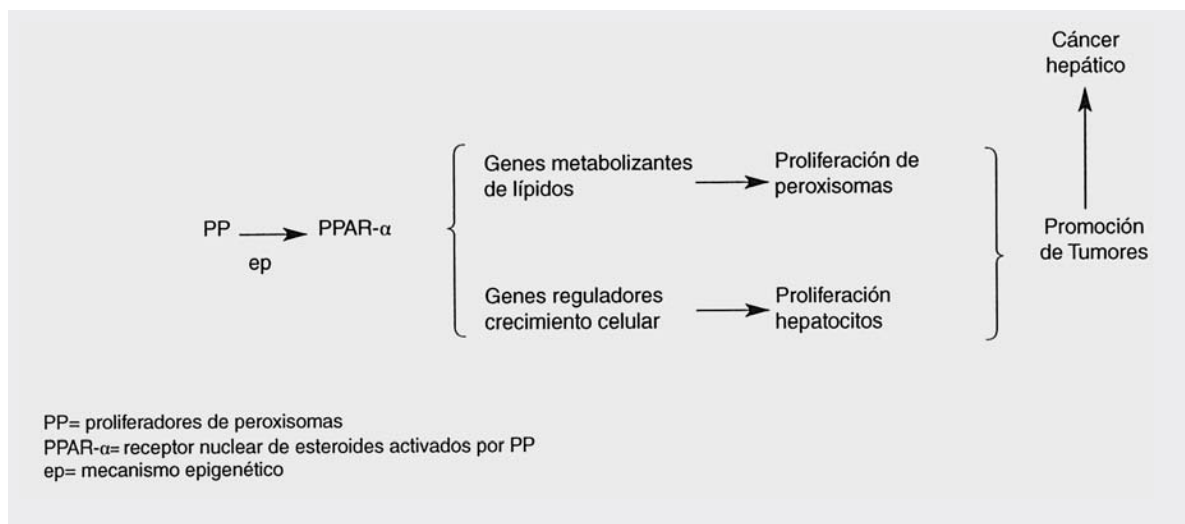


Figura 6.23. Receptores nucleares de esteroides activados por proliferadores de peroxisomas.

El grado de especificidad de los receptores es tal, que incluso llegan a diferenciar a los estereoisómeros de una sustancia; por ejemplo, la l-adrenalina resulta 20 veces más activa en elevar la presión sanguínea que su isómero dextro. Actualmente tiene gran interés en toxicología la diferencia de efectos de los compuestos quirales.

A veces, la acción tóxica de un producto se basa en la ocupación por éste de un receptor que, fisiológicamente, se combina con sustancias endógenas, hormonas o neurotransmisores. De esta forma, el efecto letal de la d-tubocurarina se debe a la parálisis de los músculos esqueléticos, consecuente al bloqueo selectivo de los receptores fisiológicos para la acetilcolina, en la sinapsis o placa neuromuscular. Tal acción es específica para el músculo estriado y no afecta la musculatura lisa o cardíaca.

Muchas reacciones de toxicidad selectiva se basan en la inhibición competitiva con enzimas importantes en procesos fisiológicos. Así, los productos organofosforados y carbámicos, que inhiben la acetilcolinesterasa, o el fluoracetato, que interrumpe el ciclo de Krebs al bloquear el paso citrato-isocitrato por inhibición de la aconitasa. Otro ejemplo sería la competición del dicumarol con la vitamina K en los procesos hepáticos de síntesis de protrombina; el proceso es reversible ante la abundante administración de vitamina K.

RELACIONES ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

Ya en 1868, Crum-Brown y Fraser, de la Universidad de Edimburgo, se preocupaban por encontrar una relación entre la estructura química de las sustancias y su actividad farmacológica y tóxica.

Las investigaciones en este sentido han sido profusas y poco definidas, a causa de diversos motivos:

a) No se encuentra correspondencia entre las propiedades fisicoquímicas de algunas sustancias y su comportamiento en el medio biológico.

b) En muchas ocasiones la actividad que se estudia se debe a un metabolito de la sustancia en cuestión, y la producción de aquél puede depender de numerosas variables (especie animal, inducción enzimática, etc.).

c) Influencia de factores farmacocinéticos o toxicocinéticos variables de una sustancia a otra de estructura incluso similar (absorción, unión a proteínas transportadoras, fijación a receptores o a tejidos inertes, eliminación, etc.).

d) La denominada *paradoja estructural* que se presenta entre sustancias con esqueleto químico parecido pero con actividades y toxicidades muy diferentes, como por ejemplo distintas fenotiazinas, entre las que hay unas con actividad antipsicótica (clorpromacina), antihistamínica (fenérgán), antitúxigena, antiespasmódica, antihelmíntica, etc.

Cuando se modifican las zonas o grupos químicos activos sobre las moléculas biológicas, denominadas desde Ehrlich *farmacóforos* o *toxóforos*, puede ocurrir que:

1. Un cierto número de alteraciones no haga variar la actividad. El conjunto de zonas o grupos de la molécula en que esto ocurre se llama *mitad no crítica* y no interviene en la acción.

2. Existan grandes zonas apolares, necesarias para la actividad, pero que pueden modificarse algo sin alterar la actividad. Es la región de *libertad estática*.

Ninguna de estas zonas es fundamental para prejulgar o interpretar la actividad.

3. Haya grupos que influyen grandemente en la relación lipofilia/hidrofilia (coeficiente de reparto lípido/agua) o en el establecimiento de enlaces con los receptores. Recordemos que en los ácidos y bases débiles, su pK frente al pH del medio determina la proporción de sustancia sin disociar, o sea, la que puede atravesar membranas.

4. En las series homólogas se produzca una relación parabólica, ya que la actividad puede aumentar con el número de átomos de C (o de metilenos), porque incrementa la lipofilia, pero cuanto ésta alcance ciertos valores (se hace muy grande) la sustancia se acumulará en los lípidos fijos sin llegar a los receptores.

5. Un 25 % de los productos sintéticos, y por tanto de los medicamentos, son racémicos (mezcla de isómeros). Cuando una sustancia tiene un átomo con cuatro sustituyentes diferentes, aquel se denomina centro quiral (del griego *kiro*, mano), porque da origen a dos estereoisómeros, llamados *enantiómeros*, que no son superponibles, sino que uno es como la imagen del otro en un espejo, y poseen muy diferentes propiedades fisicoquímicas (hidro/liposolubilidad, rotación de la luz polarizada hacia la derecha o hacia la izquierda, que antes se designaban como *d* o *l* y actualmente con (+), (-) o con R, S,) y también bioquímicas; varían grandemente en cuanto a sus moléculas transportadoras, a las enzimas que les usen como sustratos, a sus receptores, etc., por lo que se habla de una cinética y una dinámica estereoselectiva, ya que, al tener las moléculas biológicas estructura quiral (los aminoácidos y proteínas son S, y los hidratos de carbono R), presentan diferente actividad, según el número de enlaces que establezcan con el receptor. Los

lugares diana son biomoléculas quirales que enlazan preferentemente con uno de los dos enantiómeros. De cada pareja de enantiómeros (estereoisómeros), el más activo se denomina *eutómero* y el menos activo *distómero*. Así, una serie homóloga de estereoisómeros puede dividirse en una serie eutomérica y otra distomérica; ahora bien, cuando se absorbe un compuesto racémico, aunque el isómero específicamente activo sea el eutómero, el distómero también puede agredir al organismo en otros lugares diana, y lo obliga a su biotransformación y eliminación, por lo que en caso de medicamentos lo ideal es no administrar el compuesto racémico sino solamente el isómero eutómero aislado, para evitar los efectos indeseables que pudiera ejercer el distómero; ejemplo típico de la peligrosidad de un racémico se tiene en la talidomida, cuyo enantiómero teratogénico es el *d* ó R.

En el caso del alcohol etílico ocurre todo lo contrario; al no poseer el etanol ningún carbono asimétrico carece también de receptores biológicos específicos que permitan contemplar una interacción ligando-receptor, lo que ha dificultado explicar el mecanismo de toxicidad de esta sustancia.

Con arreglo a la teoría de la toxicidad selectiva, la copulación de un posible tóxico con su respectivo receptor dependerá de las características fisicoquímicas y estructura molecular del compuesto. Empíricamente se sabe que en la toxicidad influyen:

1. El peso atómico o molecular. Tanto los elementos inorgánicos como las moléculas orgánicas son más tóxicos cuanto mayor es su peso atómico o molecular. En los halógenos es a la inversa porque la toxicidad del $F > Cl > Br > I$.

2. La valencia o grado de oxidación (por tanto, *especie química*) de la que depende la hidro o liposolubilidad de los compuestos y, consecuentemente de su facilidad para atravesar las membranas celulares. Así, el cloruro de mercurio I ($HgCl$) es prácticamente insoluble en agua y muy poco tóxico por vía oral, a diferencia del cloruro de mercurio II ($HgCl_2$), aunque el Hg^+ lentamente se oxida a la forma Hg^{2+} . En forma elemental Hg^0 no es demasiado tóxico por vía oral, salvo cronicidad, pero extraordinariamente lesivo si se inhalan sus vapores; los compuestos organomercurícos, como el metilmercurio, son fuertemente neurotóxicos.

El arsénico se presenta en especies con diferente grado de oxidación, de los que nos interesan más en Toxicología los As^{3+} y As^{5+} . El arsénico elemental (As^0) posee escasa toxicidad por su baja solubilidad; los As^{3+} en su forma de arsina (AsH_3) y As^{+3} (arsenitos) son altamente tóxicos por su gran apetencia por los grupos SH. La captación celular de los As^{3+} es mayor que la de los compuestos de As^{5+} (arseniatos) que, dentro de la célula, se transforman en As^{3+} ; el As^{5+} no se une a los SH sino que sustituye al ion fosfato y desacopla la fosforilación oxidativa (Figura 6.24); la vida media de los As^{5+} es mayor que la de los As^{3+} , pero la toxicidad de éstos es mayor que la de aquellos, lo que ya fue observado por Ehrlich.

Por su parte, el cromo puede actuar con las valencias 2, 3 y 6 positivas con diferente toxicidad; el Cr^{3+} (en forma de sales) es metal esencial, pero es poco permeable para las membranas biológicas, al contrario que el Cr^{6+} (dicromatos), que dentro de la célula se reduce a Cr^{3+} (Figura 6.25). Este último (en el que también se transforma, por oxidación, el Cr^{2+}) reacciona con numerosos constituyentes celulares y posee mucha mayor toxicidad que los compuestos de Cr^{6+} que, sin embargo, es carcinó-

geno (Soria *et al.*, 1995), (Herce-Pagliai *et al.*, 1998); además, en la reducción de Cr^{6+} a Cr^{3+} , pasando por Cr^5 y Cr^4 , que también son reactivos, se originan especies reactivas de oxígeno (ROS), muy activas sobre las moléculas biológicas.

3. Naturaleza química.

Dado que muchos fenómenos tóxicos se deben a que un agente bloquea los grupos funcionales de las proteínas celulares (grupos aldehído, amino, sulfuro y oligoelementos), serán tóxicas todas las sustancias capaces de reaccionar de esta forma. Por ejemplo: la fenilhidracina y la hidroxilamina, para los aldehídos, metales pesados con los sulfuros y, a su vez, aldehídos o ácidos con las aminas, o sulfuros y tioles para los oligoelementos.

Según Richet, las sales de los metales son tanto más tóxicas cuanto más raros sean éstos en la Naturaleza (suelo, aguas y organismos vivos).

Las modificaciones de la estructura química se reflejan en la toxicodinamia, así:

a) La toxicidad de una sustancia orgánica aumenta al adicionarse átomos de halógenos. El metano es poco tóxico, pero sus derivados mono, di, tri y tetrahalogenados son cada vez más tóxicos, irritantes, lacrimógenos y sedantes.

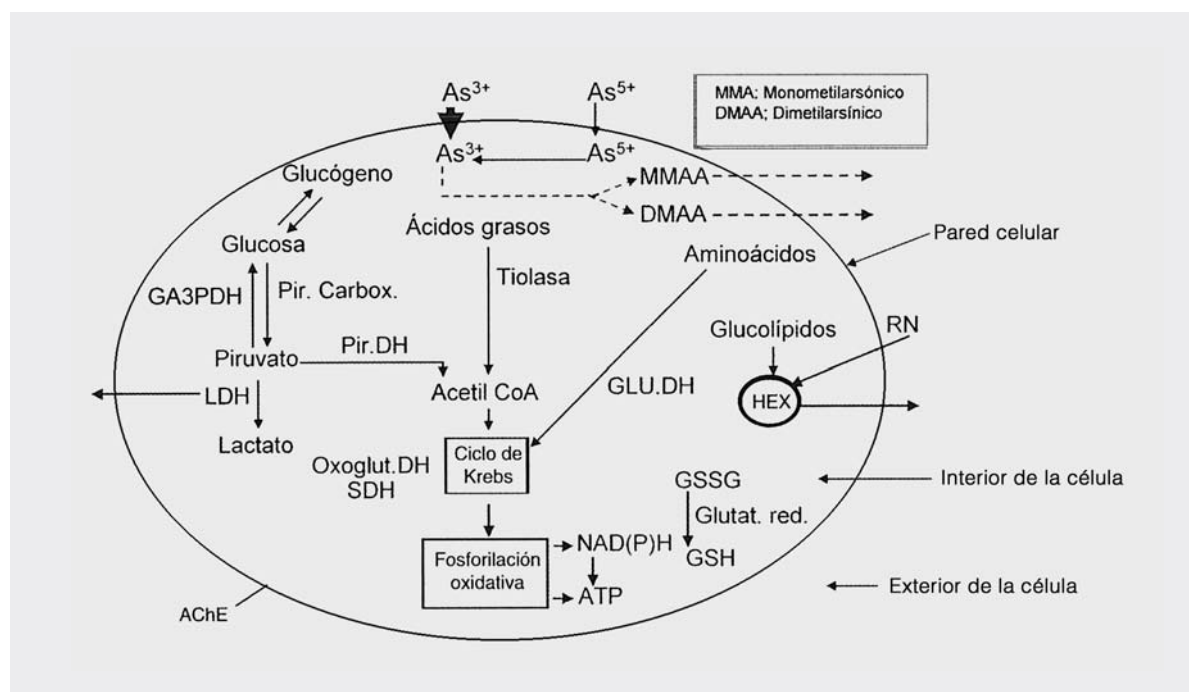


Figura 6.24. Mecanismos de acción de los iones de arsénico.

orto aumentan la combustión celular, los meta y para la disminuyen y producen descenso de la temperatura, enlentecimiento de la respiración y vértigos.

- σ) En la isomería geométrica, los compuestos simétricos suelen ser más tóxicos que los asimétricos.
- ε) En los isómeros ópticos la actividad biológica corresponde a los levógiros, siendo menor en los dextro y los racémicos.
- ζ) Las formas estereoisómeras *cis* son más tóxicas que las *trans*.

RELACIONES CUANTITATIVAS (QSAR)

Hacia principios de 1960, Corwen Hansch desarrolló una metodología con aplicación de computadoras para el estudio de lo que fue conocido como «relaciones cuantitativas estructura-actividad» (QSAR). Este método asigna parámetros a los grupos químicos, de forma que puede valorarse (al modificar la estructura química de una sustancia) la contribución de cada grupo a la actividad del fármaco. Los parámetros más empleados son los de carácter electrónico, estérico y de solubilidad, y existen tablas con los valores de estos parámetros para numerosos grupos funcionales que pueden actuar como sustituyentes en la estructura básica del compuesto.

En definitiva, los estudios tradicionales de QSAR utilizan descriptores obtenidos experimentalmente que, fundamentalmente, representan las propiedades fisicoquímicas de las sustancias, como son el coeficiente de partición ($\log P$ octanol/agua) y los de Hammett, Taft, Sterimol, etc.

Actualmente se está intentando obtener parámetros basados en la química cuántica, mediante cálculos por ordenador. De esta forma, y a partir de la estructura química de un compuesto, es posible calcular parámetros que cuantifiquen la reactividad relativa del xenobiótico.

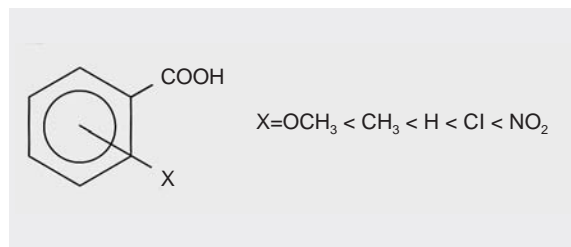
Algunos de estos parámetros son las energías y la distribución de los orbitales frontera en situación natural o excitada (HOMO y LUMO) relacionadas directamente con la reactividad nucleofílica y electrofílica, respectivamente; además, pueden calcularse los momentos dipolares, la distribución de los radicales, los volúmenes de Van der Waals y otros parámetros.

Estos métodos computarizados son aplicables al tratamiento de los datos toxicológicos, toxicocinéticos e incluso de la biotransformación de los xenobióticos (Rietjens *et al.*, 2000).

Parámetros electrónicos

Se utilizan para medir la capacidad para donar o para captar electrones; cuando la densidad electrónica de un grupo disminuye, será objeto de más fuerte atracción electrostática por el receptor.

Hammett estableció en 1940 que un grupo captador de electrones unido al anillo aromático del ácido benzoico incrementa la fuerza ácida del grupo carboxilo, y cuanto mayor sea el poder de captación de electrones, mayor será el incremento de la acidez. La constante de Hammett para sustituyentes es $\alpha = \log (K_x/K_o)$, siendo K_o y K_x las constantes de ionización cuando $X = H$ y cuando está sustituido. Cuando se cambia X en la estructura de la metadona, se aumenta su capacidad analgésica en el orden:



Por su parte, Fukata y Metcalf (1956) comprobaron que los insecticidas organofosforados fenil-dietilfosfatos aumentan su toxicidad como anticolinesterásicos sobre la mosca doméstica con la densidad electrónica del anillo aromático al variar X ; lo mismo ocurre con los carbamatos, y propusieron que:

$$\log (1/DL-50) = 1.963 \sigma - 3.030$$

Posteriormente se han propuesto otras constantes como la que mide los efectos inductivos, aplicables a los compuestos alifáticos, y la de Taft, que valora los efectos polares de los sustituyentes al producirse hidrólisis de los ésteres.

Parámetros de sustituciones estéricas

Consisten en la medida del tamaño o del volumen del grupo sustituyente y su influencia sobre la perfección del contacto xenobiótico-receptor, tratando de obtener una información tridimensional y su relación con el efecto.

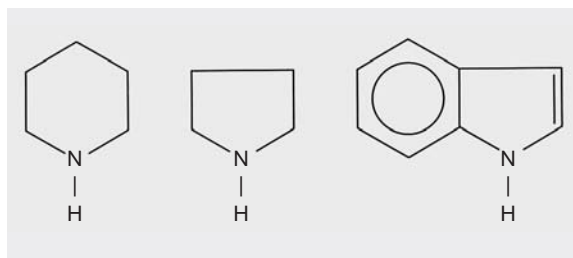
Se utiliza una constante de Taft derivada de la anterior, y el volumen y el radio de van der Waals, entre otros descriptores.

Parámetro de la mínima diferencia estérica (MSD)

Para determinarlo, se sobreponen las fórmulas de los compuestos que se comparan y se señalan las partes que no se solapan, de acuerdo con las siguientes reglas:

1. Se ignoran los átomos de hidrógeno.
2. Se asignan los siguientes valores a los elementos que sobresalen, según la posición en el sistema periódico:
 - 2.1. Elementos del segundo periodo: valor 1.
 - 2.2. Elementos del tercer periodo: valor: 1,5.
 - 2.3. Elementos en periodos sucesivos: valor 2.

Así, el MSD entre la piperidina y la pirrolidina es 1, y entre ésta y el indol es 4.



Como los grupos químicos son generalmente asimétricos, el radio de Van der Waals depende del eje de la molécula sobre el que se mide, por lo que se definen tres radios: el menor, el mayor y el que mide la distancia que sobresale desde el volumen de la molécula madre.

Una variación de este radio fue propuesta por Charton, al corregirlo con el radio del hidrógeno (1.20).

Como parámetro estérico puede usarse también la *conectividad molecular*, que se obtiene asignando valores a los enlaces de la molécula.

Coefficiente de partición

Los coeficientes de partición (véase Capítulo 3) son constantes de equilibrio y, por tanto, están relacionados logarítmicamente con la energía libre.

Una vez obtenidos los coeficientes de partición o reparto (P) en sistemas n-octanol-agua del compuesto no sustituido H y del sustituido X, se tiene la constante de Hansch:

$$\pi = \log (P_X/P_H)$$

Valores cromatográficos

Cuando la solubilidad de un soluto es considerablemente mayor en una fase que en otra, puede resultar difícil calcular experimentalmente el coeficiente de partición. Entonces puede ser útil el valor del Rf cromatográfico que se relaciona con el coeficiente de partición P, a través de:

$$\log P = R_m + Cte; \quad \text{y } R_m = \log (1/R_f + 1)$$

Para sustancias altamente lipófilas, en que Rf es muy alto, se utiliza cromatografía sobre papel en fase reversa; o de capa fina impregnada con parafina, desarrollando con mezclas de acetona-agua.

Posteriormente, se usan tiempos de retención en cromatografía de líquidos.

RELACIONES BIOLÓGICAS

Las primeras relaciones entre actividad biológica y energía libre fueron encontradas por Ferguson al notar en la literatura que el logaritmo de las concentraciones tóxicas de la serie de alcoholes alifáticos normales varía con el número de átomos de carbono y está relacionado con la energía libre o actividad termodinámica.

La teoría termodinámica de Ferguson es aplicable a anestésicos muy variados y a la actividad anti-

microbiana de los fenoles, pero no en relación con las series homólogas, a las que, según hemos visto, habría que aplicar un factor de sobresaturación.

Hansch y Fujita propusieron varias modificaciones a la teoría de Ferguson y un sistema de análisis matemático demostrativo de que el efecto Ferguson es cierto en la parte izquierda de la parábola antes referida, en que la relación es aproximadamente rectilínea, pero que falla al progresar la serie homóloga.

Una alternativa al análisis de Hansch es la desarrollada por Free y Wilson, quienes logran expresar las actividades de compuestos antimicrobianos en función de los grupos constituyentes de las moléculas.

Mediante el estudio informatizado de estas teorías se está logrando la aproximación teórica al conocimiento de las actividades farmacológicas y tóxicas de los compuestos químicos, en términos cuantitativos, para lo que se proponen continuamente nuevos programas informatizados con la pretensión de obtener cada vez mejores conclusiones de la comparación de los distintos parámetros.

BIBLIOGRAFÍA

- Albert A. *Selective toxicity*. Londres, Methven-Co., 1975.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Molecular biology of the cell*. 2ª ed. New York, Garland Pub, Inc, 1989.
- Alison MR, Sarraf CA. Apoptosis: regulation and relevance to toxicology. *Human Experimental Toxicol*, 1995; 14:234-247.
- APOPercentage™ Assay. Biocolor, Ltd. UK. 2004.
- Avendaño MC. *Introducción a la Química Farmacéutica*. Madrid. McGraw-Hill-Inter-Americana. 1993.
- Ballantyne B, Marrs T, Turner P. *General and applied toxicology*. Wimbledon, MacMillan Press, 1993.
- Boelsterli UA. *Mecanistic toxicology*. 2ª ed. Boca Raton. CRC Press, 2007.
- Buckberry LD, Blagbrough IS, Bycroft BW, Shaw P. Bovine pulmonary, hepatic and renal tissues; models for the study of mamalian C-S 1 yase enzimes. *Atla*, 1993; 21:36-270.
- Carmichael WW. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. *J App Bacteriol*. 1992; 72: 445-459.
- Castro GD, Castro JA. Formación de especies químicas reactivas en la biotransformación de xenobióticos y toxicología. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 1988; 2:221-238.
- Corcoran GB, Fix L, Jones DP, Moslen MT, Nocotera P, Oberhammer FA, Buttyan R. Apoptosis: molecular control point in toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1994; 128; 169-181.
- Chambers PL, Gusnzl P. *Mechanism of toxic action on some target organs*. Berlín, Springer-Verlag, 1979.
- Comporti M. Three models of free radical-induced cell injury. *Chem Biol Interactions*, 1989; 711-56.
- Davies MJ, Dean RT. *Radical-mediated protein oxidation*. Oxford. Oxford University -Press, 1997.
- Dayan AD, Hertel RF, Heseltine E, Kazantzis G, Smith EM, et al. *Immunotoxicity of metals and immunotoxicology*. ICPS, New York, Plenum Press, 1990.
- Dean JH. Immunotoxicology: an overview. *Toxicology in vitro*, 1994, 8(5):933-937.
- Dean JH, Munson AE. *Immune toxicology*. New York, Raven Press, 1980.
- Dean JH, Luster MI, Munson AE, Kimber 1. *Immunotoxicology and Immunopharmacology*. 2. ed. Raven Press, New York, 1994.
- Descotes J. Immunosuppression: current strategies. *J of Toxicol Clin et Exper*. 1992; 12(617):421-427.
- Descotes J. *Immunotoxicology of drugs and chemicals*. Amsterdam, Elsevier, 1985.
- Descotes J, Vial TH. Immunotoxic effects of xenobiotics in humans. *Toxicology in vitro*, 1994; 8(5):963-966.
- Fawcett DW, Newberne JW. *Workshop on cellular and molecular toxicology*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1980.
- Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British J. of Pharmacology*. 2004; 142: 231-255.
- Hathway DE. *Molecular aspects of toxicology*. Bristol, The Royal Society of Chemistry, 1984.
- Henry J, Cassidy S. Membrane stabilising activity. *The Lancet*, junio 1986; 21:1414-1417.
- IUPAC. *Clinical chemistry and chemical toxicology of metals*. Amsterdam, Elsevier, 1977.
- Herce-Pagliai C, Cameán A, Repetto M. Interés toxicológico de la especiación del arsénico. *Rev. de Toxicología*. 1998; 15:1, 3-12.
- Hooser SB. Fulminant hepatocyte apoptosis *in vitro* following microcystin-LR administration to rats. *Toxicol Pathology*. 2000; 28: 726-733.
- Kammüller ME, Bloksma N, Seinen W. *Autoimmunity and toxicology*. Amsterdam, Elsevier, 1989.
- Kier L. *Molecular orbital theory in drug research*. Nueva York, Academic Press, 1974.
- Kyde ME, Farber JL. Biochemical mechanisms of toxic cell injury. En: *Handbook of toxicology pathology*. New York, Academic Press, 1991.
- Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurologic disorders. *New Eng J Med*, 1994; 330(9):613-622.

- Lipton SA, Yun-Beom Chol *et al.* A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, 1993; 364:626-631.
- Lynch DR, Guttman RP. Excitotoxicity: perspectives base on N-metil-D-aspartate receptor subtypes. *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics*, 2002; 300:717-723.
- Miller K, Turk JL, Nicklin S. *Principles and practice of immunotoxicology*. Oxford, Blackwell Sc., 1992.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 1991;43(2):109-142.
- Plant M. *Molecular toxicology*. London. BIOS Scientific Publisher. 2003.
- Pryor WA. *Free radicals in biology*. Vols. 1-4. New York, Academic Press, 1999.
- Rang HP. *Drug Receptors*. Londres, Macmillan Press, 1973.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Farmacología*. 5ª ed. Madrid, Elsevier, 2004.
- Reiners JJ, Cantu AR, Pavone A, Smith SC, Gardner CR, Laskin DL. Fluorescence assay for estimation of cytochrome P-450 dependent monooxygenase activities. *Analytical Biochem*, 1990; 188:317-324.
- Rhodes ChJ. *Toxicology of the human environment*. London, Taylor & Francis, 2000.
- Rietjens I, Soffers A, Boersma M, Vervoort J. *Computer modelling based QSARs for analysing experimental data on biotransformation and toxicity*. Actas Congreso - INVITOX, Alicante, 2000.
- Sanz F, Giraldo J, Manaut F. *QSAR and molecular modelling*. Barcelona, JR Prous Science Publications, 1995.
- Shultze MO, Klubes P, Perman V, *et al.* Blood dyscrasia in calves induced by S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine. *Blood*, 1959; 14:1015-1025.
- Smith J, Williams H. *Introduction to the principles of drug design*. Bristol, John Wright and Sons Ltd., 1983.
- Snyder SH. Janus faces of nitric oxide. *Nature*, 1993; 364, 557.
- Snyder SH, Bredt DS. Funciones biológicas del óxido nítrico. *Investigación y Ciencia*, 1992; julio, 12-20.
- Soria ML, Repetto G, Repetto M. Revisión general de la toxicología de los metales. En: M. Repetto, (ed.) *Toxicología avanzada*. Madrid, Díaz de Santos, 1995.
- Stockman S. Case of poisoning in cattle by feeding on meal from soya bean after extraction of the oil. *J. Comparative Path and Ther*. 1916; 29:95-107.
- Stryer L. *Bioquímica*. Barcelona, Ed. Reverté, 1988.
- Uetrecht J. Role of drug metabolism for breaking tolerance and the localization of drug hypersensitivity. *Toxicology*, 209, 2,113-118, 2005.
- Vos JG, van Loveren H. Immunotoxicology: immunotoxic effects and immunotoxicity mechanisms. En: Niesink RIM, de Vries H, Hollingen MA. (eds.) *Toxicology. Principles and applications*. Boca Raton. CRC Press, 1996.
- Walsh CT, Schwartz-Bloom RD. *Levin's Pharmacology*, 7º ed. New York, London. Taylor & Francis. 2005.
- Yagi K. *Lipid peroxides in biology and medicine*. New York, Academic Press, 1982.
- Zinke S, Gerner I. A computer-based structure-activity relationship method for predicting the toxic effects of organic chemicals. *ATLA*, 28,4, 609-621, 2000.

7

PROCESOS FISIOPATOLÓGICOS DE ORIGEN TÓXICO

RESUMEN GENERAL

NOTA.—Los símbolos químicos de los elementos que siguen aluden, en general, a compuestos de tales elementos, y no a la forma metálica o elemental, muchas veces poco tóxica.

1. Irritación, causticación

Dermatitis, conjuntivitis, bronquitis, necrosis. Es decir, irritación, erosión (necrosis focal del epitelio y del estroma superficial), inflamación, rotura y muerte celular. (Véase el apartado Patologías tóxicas de la piel).

Agentes: gases, vapores, polvos y líquidos cáusticos: ácidos, álcalis, NO_x , SO_x , halógenos y sus óxidos, fosgeno, derivados de As, P, aldehídos: formaldehído, acroleína; alquitranes, diazometano, metilisocianato. Estos mismos agentes, y las saponinas, ricino, toxinas bacterianas, sales de Hg, Pb, Bi, etc., producen irritación y causticación gastrointestinal.

2. Alteraciones de la permeabilidad capilar

Arsénico, fósforo, colchicina, mostaza, cantáridas, alcaloides del cornezuelo del centeno (ergoto-

xinas), monóxido de carbono, toxinas bacterianas, alcaloides pirrolizidínicos; edema, petequias, hemorragias, diarreas. Vasoconstricción (gangrena). Vasculitis.

3. Alteración de la respiración celular

3.1. *Anoxia:* por disminución de la presión parcial de oxígeno: CO_2 , nitrógeno, metano, propano, butano.

3.2. *Asfixia.*

3.2.1. Interferencia del transporte de oxígeno.

3.2.1.1. Bloqueo de la hemoglobina: CO.

3.2.1.2. Transformación de la hemoglobina en metahemoglobina, por oxidación de Fe^{++} a Fe^{+++} : oxidantes débiles, nitritos, aminas.

3.2.1.3. Reducción de la presión sanguínea: nitrobenzeno.

3.2.2. Inhibición de la oxidación: inactividad de las enzimas respiratorias (citocromos): CNH, nitrilos, iones sulfuro y fosfuro.

4. Alteraciones hemáticas

4.1. *Afectación medular:* anemias: citopenia, leucopenia, trombopenia; granulopenia: radio, benceno, nitrobenzeno, aminas y amidas (sulfamidas, piramidón, anilina, fenacetina), cloranfenicol, As.

4.2. *Hemolisis*: ácido acético, oxálico, fenoles, sulhídrico, oxidantes. Arsina, estibimina.

4.3. *Alteración de la hemo globina*: CO, CN⁻, SH₂, oxidantes, amidas (metahemoglobilizantes), Pb, Cu, nitrobenzeno, anilina, nitroglicerina.

4.4. *Alteraciones plasmáticas*: desequilibrio acidobásico: acidosis. Cloroformo, éter, metanol, ácidos. Salicílico.

5. Alteraciones dérmicas

Irritantes, cáusticos, corrosivos.

Eccemas: disolventes, detergentes, lejías, enzimas, metales, radiaciones. Níquel.

Acné: organoclorados alquitrán, dioxinas, aerosoles de grasas y taladras.

Despigmentación: quinonas, fenoles, As, Hg.

Pigmentación: As, organohalogenados, Ag, Bi, tetraciclina.

Fotosensibilización y fotoalergia: alquitranes, tetraciclina.

Cáncer cutáneo: As, Ni, radiaciones, luz solar, rayos PUVA.

6. Patologías tóxicas en el aparato digestivo

Irritantes, cáusticos, corrosivos; sustancias que modifican la permeabilidad capilar. Estimulantes e inhibidores del sistema nervioso vegetativo. Eméticos, laxantes, toxinas bacterianas, toxinas del fitoplancton (DSP), metales, As.

7. Trastornos de la conducción nerviosa

Por alteración de la irrigación, fosfolípidos, transmisores químicos y/o enzimas, se produce:

7.1. *Aumento*: neuritis, temblores, convulsiones: Pb, Ta, Mn, Ba, fosfatos orgánicos.

7.2. *Disminución*: depresión, anestesia, parálisis: hidrocarburos y sus halógenos. La depresión del SNC también deprime la respiración y la circulación. Pueden quedar secuelas permanentes por desmielinización, etc.

Los trastornos tóxicos de la conducción nerviosa pueden ser:

a) Afectación de las conexiones con la musculatura lisa: por acción de sustancias como:

α) Mediadores del sistema simpático; fenilaminas; adrenalina, amfetamina, mezcalina, ergotoxina, yohimbina.

β) Mediadores del sistema parasimpático: muscarina, pilocarpina, atropina, hioscina, escopolamina.

b) Afectación de las conexiones con la musculatura estriada. Acción:

α) *Excitante*: derivados nicotínicos.

β) *Paralizante*: curare, cicuta, aconitina.

c) Afectación de las sinapsis intraganglionares vegetativas: nicotina, cicutina, que en pequeñas dosis son excitantes y en grandes dosis son paralizantes.

d) Afectación de la capa de lípidos (vaina de mielina) envolvente de las conducciones y estructuras nerviosas, con modificación de su constante dieléctrica: hidrocarburos, cloropirina, plaguicidas clorados, tetracloruro de carbono, CO₂. Son los anestésicos y depresores del SNC. Pueden producir vacuolas irreversibles en el tejido nervioso, con graves secuelas de parálisis.

e) Afectación de los mecanismos enzimáticos responsables de la síntesis y destrucción de los mediadores químicos, especialmente MAO y acetilcolinesterasa (plaguicidas organofosfatos y carbámicos). Afectación de otras enzimas (NTE).

En resumen: neuronopatía, axonopatía, mielino-patía, afectación transmisión, miopatía y vasculopatía.

8. Alteración de la función pulmonar

8.1. Alteración de la permeabilidad alveolar: por edema, fibrosis, enfisema, neumoconiosis, fiebre del soldador, cáncer: gases, vapores y polvos múltiples. Vapores metálicos. Hidrocarburos halogenados, hidrocarburos policíclicos. SH₂, NH₃, O₃, carbonilo de níquel. Irritantes. Fosgeno. Formaldehído.

8.2. Alteración de la tensión superficial: colapso alveolar: grasas, disolventes, detergentes.

8.3. Alteración de los mecanismos de limpieza pulmonar.

8.3. 1. Acción sobre el moco: espesamiento: SO₂.

8.3.2. Deterioro de los cilios: SO₂, NO₂, aldehídos, metales.

8.4. Depresión del centro nervioso respiratorio: morfina, toxina botulínica, hidrocarburos.

8.5. Inhibición vagal: olores pestilentes, SH₂ (muerte fulminante).

8.6. Tetanización de la musculatura respiratoria: estricnina, toxina tetánica.

8.7. Disnea (dificultad respiratoria): oxidantes, ozono, gases asfixiantes.

8.8. Disnea psicógena: por olores diversos, perfumes, ambientadores.

8.9. Disnea por broncoconstricción: asma; olores, polvos, vapores, gases irritantes, alergizantes, aminas, isocianatos (resinas, pegamentos).

8. 10. Tos, bronquitis: fase precoz de los procesos anteriores.

9. Alteraciones hepáticas

Alteración del metabolismo, adiposis, atrofia, ictericia, cirrosis, cáncer: alcoholes, tetracloruro de carbono, compuestos orgánicos halogenados, de fósforo o de arsénico, cloruro de vinilo monómero; setas de la especie *phalloides*. Esteroides. Acetaminofeno. Pirrolizidinas. Aflatoxinas. Cocaína.

10. Alteraciones renales

Nefritis, nefrosis, anuria, uremia: fósforo, mercurio, plomo, oxálico, glicoles, fenoles, fenacetina, lacas. Tumores de vejiga por aminas. Nefropatías directas (por contacto u obstrucción) y alérgicas. Cd. Hidrocarburos halogenados.

11. Alteraciones de la función cardíaca

Fluoruros orgánicos e inorgánicos, freones, digital, estrofantó, nicotina, emetina, aconitina. Biotoxinas. Cafeína. Alcohol. Anfetaminas. Cocaína. Antidepresivos tricíclicos. Cobalto.

12. Alteraciones gonadales

Originadas por afectación del eje neuroendocrino, a cualquier nivel, o de las propias gónadas, por psicofármacos, esteroides, ésteres del ácido metanosulfónico, ésteres glicídicos, nitroderivados aromáticos, derivados de la urea, antimitóticos, trietilmetileno, metales como Cd, Pb, etc. Gosipol. Dibromocloropropano. Ciproterona, espironolactona. Hormonas sexuales, aceites esenciales vegetales, insecticidas, ergotoxinas, P, Pb.

13. Alteraciones auditivas y del equilibrio

Lesión sobre el nervio auditivo: Hg, Pt, oxidantes (bromatos). Afectación de la linfa: diuréticos (etacrínico, furosemda), cloroquina, fenotiazinas. Lesión del nervio vestibular: quinina. Ambos nervios: antibióticos aminoglucósidos.

14. Alteraciones oculares

Polvos, irritantes, metanol, plomo, talio, toxina botulínica, atropina. Afectación en: conjuntiva, cristalino, nervio óptico y nervios de la acomodación. Visión doble o borrosa, ceguera. Nistagmo.

15. Alteraciones en el sistema musculoesquelético

Debilidad muscular y parálisis: As Pb, Ta, mercuriales orgánicos, organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretroides. Diuréticos, laxantes en exceso. Toxina botulínica, saxitoxina, PSP.

Temblores musculares: Mn, Pb, organofosforados.

Artralgias: As, Pb.

Osteoesclerosis, osteomalacia: F, Cd.

Osteonecrosis: P.

Ostrosarcoma: radiaciones ionizantes.

FISIOPATOLOGÍA GENERAL DE CAUSA TÓXICA

Los mecanismos bioquímicos de toxicidad molecular que hemos considerado pueden afectar las estructuras biológicas mediante más de un proceso y tanto de forma intracelular como extracelular, pero con determinada selectividad hacia ciertos órganos o sistemas. El paso del estado normal o fisiológico al de afectación o patológico se conoce como *proceso fisiopatológico*, que presenta diferentes características según el sustrato anatómico o sistema fisiológico alterado.

Además, hay que tener en cuenta que una vez que se produce la lesión celular, si ésta no es reversible, la célula puede desarrollar una respuesta intracelular o, por el contrario, puede producirse una respuesta extracelular a la célula dañada. La respuesta intracelular puede ser de tipo *degenerativo* o de tipo *proliferativo*; en el primer caso disminuye el tamaño de las células y el tamaño y número de sus orgánulos; en el segundo caso se produce un aumento de ellos. A veces, las células dañadas pueden ser sustituidas por otras de su misma clase, en un proceso de *regeneración* dentro del de proliferación; esta capacidad es muy diferente de un tejido a otro; así, es muy grande en la mucosa intestinal y es posible en el hígado, pero es raro en las neuronas o en las fibras miocárdicas.

La respuesta extracelular es una reacción del tejido sano para expulsar o reparar las células dañadas; comienza por la inflamación (edema) y aumento de permeabilidad, etc., y puede terminar con la modificación del tejido.

Cuando no es fácil o posible la regeneración, ya sea porque la lesión fue muy grande o porque las células dañadas son muy especializadas y no se regeneran suficientemente, se desarrolla un nuevo tejido conectivo, conjuntivo o de sostén. En la inflamación, especialmente en la crónica, se acumulan fibroblastos, las células encargadas de formar las fibras de colágeno del tejido conjuntivo; posteriormente, los fibroblastos se transforman en fibrocitos inactivos y el colágeno se retrae, contrayendo la zona como en las cicatrices, lo cual puede originar trastornos funcionales; el proceso denominado *fibrosis* rellena el espacio de las células dañadas, sin recuperar su función.

En realidad todas las células y tejidos de un ser vivo son susceptibles a la acción nociva de los

tóxicos, aunque en la práctica se observe que ciertos órganos experimentan más intensamente las acciones de unas sustancias que otros; por ello se distinguen *órganos diana* para cada tóxico. Esta *organoespecificidad* puede explicarse atendiendo a varios factores o circunstancias, como son:

a) Lugares de entrada, salida y más intensa biotransformación de los xenobióticos, porque allí el tóxico está en mayores concentraciones y persistirá mayor tiempo en contacto con los tejidos.

b) Factores que dependen de las características fisicoquímicas del xenobiótico o sus metabolitos (como pKa, liposolubilidad, reactividad con proteínas transportadoras, etc.), todos los cuales influyen en la cinética de distribución, tropismo de cada tóxico hacia órganos determinados (lo que depende de la afinidad del tóxico por los componentes mayoritarios del órgano; así los compuestos lipófilos se acumularán en los tejidos grasos, mientras que los hidrófilos se excretan fácilmente por la orina, etc.).

c) Diferencias en la trascendencia del papel fisiológico que juegan algunas biomoléculas o enzimas en unos u otros tejidos, y que al ser afectadas por los tóxicos producen más o menos daño en cada órgano; así la alteración de los fosfolípidos de las neuronas es más nocivo que en otras células, al igual que la causticación de las proteínas de la papila óptica, la lesión de las células hematopoyéticas medulares, la reacción con xenobióticos de la cisteína del cristalino o la melanina del iris, etc.

d) Actividades propias o fisiológicas de cada órgano o tejido: la intensa actividad metabólica ordinaria del hígado también favorece la generación local de metabolitos reactivos; las funciones secretoras y de reabsorción de los túbulos renales permite el contacto con altas concentraciones de tóxico; los tejidos con gran intensidad de renovación celular (frecuencia de mitosis), como las células tumorales, las de la médula ósea, los folículos pilosos, las del epitelio gastrointestinal, etc., son más sensibles a los compuestos antitumorales.

e) Diferencias locales orgánicas en la intensidad de la biotransformación de un xenobiótico a metabolitos más o menos tóxicos (toxificación o destoxicación), intensidad que puede variar de una zona a otra de un mismo órgano. Esto depende de la actividad de las enzimas locales y de particulares vías metabólicas más activas en un lugar que en otro;

también influye el que las enzimas hayan sido activadas, inducidas o inhibidas por otros xenobióticos.

f) Disponibilidades locales de moléculas (como glutatión, proteíntioles, etc.) con capacidad defensiva frente a los reactivos electrofílicos.

g) Lesiones previas de origen tóxico, infeccioso o traumático en algún órgano.

h) Distinta capacidad regenerativa de los órganos o tejidos.

CICLO CELULAR

Incluye la mitosis o división celular, para el crecimiento o reemplazo de las células eliminadas por apoptosis, y la proliferación, que pretende la reparación y regeneración del tejido dañado.

Abarca todo el proceso de la división celular, tanto en núcleo como el transporte de señales desde los receptores de la membrana plasmática al citoplasma, y de allí al núcleo, donde se activan genes relacionados con el proceso. El ciclo celular incluye distintas fases: la G_0 es de descanso o quiescencia; en la fase G_1 la célula se prepara para la síntesis de ADN, lo que hace en fase S; en la G_2 la célula se prepara para la mitosis, y en la M se produce la mitosis o separación de dos células hijas. En el proceso, la célula tiene tres alternativas: se divide, se paraliza la división (*senescencia*) o se produce apoptosis. Los xenobióticos pueden influir en estos procesos bien inhibiéndolos o bien estimulándolos.

Los receptores de membrana funcionan con tirosina quinasas, y las señales del citoplasma al núcleo por las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP); posteriormente intervienen las quinasas dependientes de ciclina (CDK), a su vez controladas por ciclinas. El ciclo es controlado en distintos puntos específicos y cuando se detecta una señal de alarma se interrumpe. Las citadas quinasas son enzimas que atacan covalentemente y fosfatan a restos de serina, treonina o tirosina de proteínas específicas, con lo que desencadenan cascadas de acontecimientos bioquímicos; sus iniciadores pueden ser citoquinas, factores de crecimiento, xenobióticos y especies reactivas de oxígeno (ROS), todos los cuales han sido denominados *factores de estrés* (hay estrés oxidativo y otras formas de estrés).

La iniciación de la cascada comienza a menudo por la dimerización de una quinasa que, a su vez,

fosforila a otra inactiva, que se activa y a su vez activa a otra. Al final de la cascada, las quinasas reciben el nombre de *proteínas quinasas mitógeno activadas* (MAPK).

Por inactivación de las fosfatasa se activan indirectamente las cascadas de proteína quinasas; el equilibrio entre fosforilación y desfosforilación es mantenido por la familia de proteína fosfatasa, cuyo centro activo posee un resto de cisteína. El correspondiente grupo sulfhidrilo de la tirosina fosfatasa es diana de los compuestos orgánicos de estaño que, al bloquear a aquel dispara la actividad de las quinasas.

La intervención de xenobióticos puede desequilibrar la vía de transmisión, lo que se manifiesta como toxicidad al promover proliferación celular, interrupción del ciclo celular, apoptosis o iniciación neoplásica. Un xenobiótico que puede servir de ejemplo es el plastificante dietil-(2-etilhexil)ftalato (DEHP) capaz de activar distintos mecanismos de toxicidad, el más importante de los cuales lleva a la atrofia testicular, pues el metabolito monoetil-(2etilhexil)ftalato lesiona las células de Sertoli y células germinales y atrofia los tubos seminíferos.

La disrupción de las funciones del factor de transcripción también puede ser realizada por metales no esenciales que actúan sobre el *sensor de metales*. Este sensor es miembro de la familia de factores de transcripción y realiza una función protectora de la toxicidad de los metales.

Los metales esenciales son constituyentes de las proteínas y también están unidos a las metalotioneínas (MT), pero pueden resultar tóxicos cuando en la célula se encuentren como iones en estado libre y superen determinadas concentraciones críticas; esto ocurre, por ejemplo, con el cinc que llega a activar al sensor de metales o factor de transcripción unido al elemento de respuesta a metales (MTF-1), que emigra al núcleo y activa a genes implicados en la homeostasis de metales, al expresar sustancias tales como la metalotioneína, MT.

Pero otros metales, como el cadmio, pueden desplazar al cinc de sus sitios de unión, que tienen para el Cd mucha mayor afinidad que para el Zn; el Zn^{2+} liberado activa los MTF-1, que induce la respuesta al estrés; de esta forma, el MTF-1 actúa como un sensor de metales tóxicos.

FISIOPATOLOGÍA TÓXICA EN LOS VASOS SANGUÍNEOS

La figura 7.1 resume el esquema de la circulación sanguínea. Desde el ventrículo izquierdo la sangre es bombeada a las arterias, arteriolas y capilares desde los que el plasma sanguíneo pasa a los tejidos; esta salida se realiza gracias a la presión hidrostática (la que un fluido ejerce sobre las paredes de la vasija que lo contiene) de la sangre, y se produce hasta que se equilibra con la del líquido intersticial. A la inversa, las proteínas del plasma ejercen una atracción o presión oncótica o coloidesmosmótica sobre el líquido intersticial (del espacio entre las células propias del tejido), que determina el regreso del agua y solutos desde los tejidos a la sangre a través de capilares, vénulas y venas que la conducen a la aurícula derecha del corazón.

Todo este entramado de vasos sanguíneos, que recibe en su conjunto el nombre de *lecho vascular*, forma un sistema cerrado de conductos que funciona como circuitos en paralelo, y cuya integridad juega un papel primordial en la salud.

Recordemos que los vasos sanguíneos capilares (arteriolas y vénulas) tienen una estructura bastante uniforme, con paredes constituidas por dos capas: el

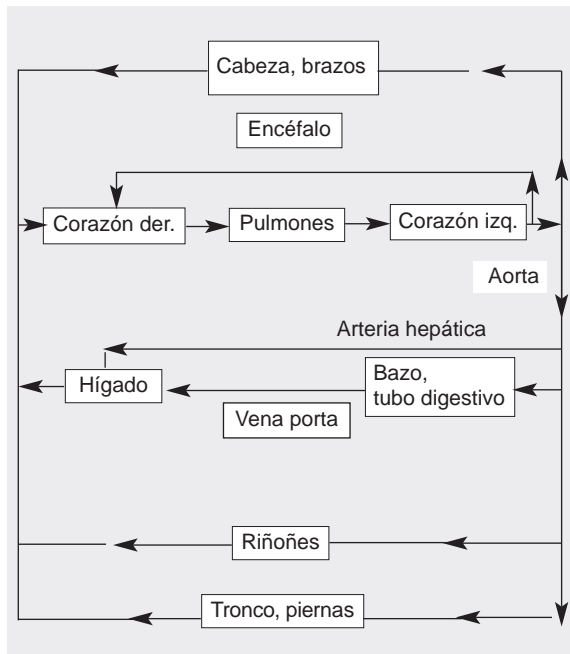


Figura 7.1. Esquema de la circulación sanguínea.

endotelio, que es un epitelio plano muy delgado, con una única capa de células, generalmente de forma romboidal, y una membrana basal, conectiva elástica, rodeada de una vaina de fibrillas de reticulina dispuesta circularmente alrededor del vaso.

Por su parte, la estructura de las arterias, y sobre todo de las venas, es menos uniforme y puede variar en los distintos órganos, pero fundamentalmente están compuestas por tres capas: 1° la *íntima* o endotelial, en contacto con la sangre, 2° la capa *media*, resistente y con componentes musculares y 3° la *externa* o *adventicia*, con pocas fibras musculares, que conecta el vaso con el tejido conjuntivo circundante.

Las vasculopatías más importantes son las vasculitis, la obstrucción, la rotura y el aumento de la permeabilidad, y de menor entidad, la vasoconstricción, el vasoespasmo y la vasodilatación, y dado que la irrigación sanguínea aporta a todos los órganos y tejidos el oxígeno y nutrientes imprescindibles, cualquiera de aquellas alteraciones se puede traducir en importantes patologías estructurales y funcionales para cada órgano.

La *vasculitis* o inflamación de las paredes de los vasos puede ser originada por infección, patología inmunitaria (depósito de inmunocomplejos), agentes físicos (radiaciones, traumatismos) o agentes químicos (tóxicos), y puede dar lugar a muy diversas manifestaciones clínicas en los diferentes órganos. Cuando la vasculitis es intensa se dificulta el riego sanguíneo que, como ocurre con la obstrucción, puede ocasionar infarto o necrosis en la zona que queda sin irrigación (Fig. 7.2).

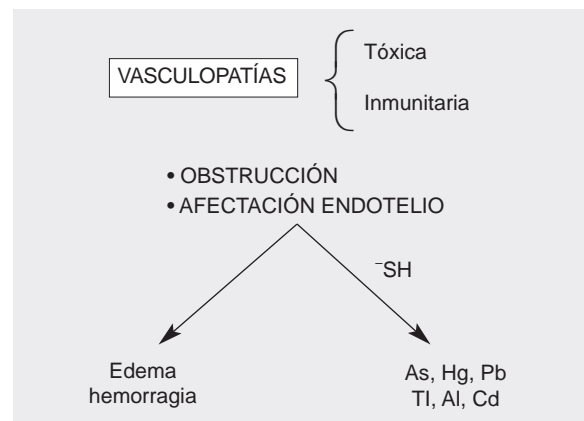


Figura 7.2. Vasculopatías de causa tóxica.

Los agentes adrenérgicos o estimulantes provocan vasoconstricción (conducente a dificultad de riego e hipertensión) al actuar sobre la musculatura de las paredes de los vasos, mientras que los agentes relajantes dan lugar a vasodilatación. Las sustancias irritantes y los compuestos de metales que forman sulfuros estables (arsénico, cadmio, mercurio, plomo, etc.) con los grupos tioles de las células del endotelio, abren poros en las paredes de los vasos produciendo un aumento de la permeabilidad; según el tamaño del poro puede salir de la sangre simplemente plasma, lo que da lugar a edemas en los lugares donde se acumula el líquido, o también hematíes que forman petequias o punteados hemorrágicos, e incluso salida de sangre total orinando hemorragias. El aumento de la permeabilidad en los vasos del intestino por sustancias irritantes, biotoxinas alimentarias, alergenicos y otros muchos tóxicos, permite la salida de gran cantidad de plasma, que origina diarreas y disminución del volumen de la sangre circulante (hipovolemia), que conduce a hipotensión y a choque o shock.

Particular interés presentan las lesiones vasculares que aparecen en los principales órganos (corazón, cerebro, pulmón, riñón, etc.) de los consumidores de drogas de adicción. Como consecuencia del efecto adrenérgico de la cocaína y de los compuestos de la familia de las anfetaminas, se produce vasoconstricción y vasoespasmo en los vasos cerebrales y coronarios, que pueden conducir a infartos.

Los dos principales metabolitos de la cocaína, la benzoilecgonina (que se forma por hidrólisis química espontánea de la cocaína) y la ecgonina-metiléster (originada por hidrólisis enzimática) son inactivos a efectos de drogadicción, pero se ha visto que la benzoilecgonina altera el flujo del calcio a través de las membranas y también origina vasoespasmo, y dado que tiene una larga vida media en el organismo, se la considera culpable del infarto de miocardio que se presenta, a veces, horas después del consumo de la droga (Karch, 1996).

En cadáveres de intoxicados por cocaína o derivados anfetamínicos se puede ver vasculitis; las células endoteliales se agrandan, y pueden romperse una o varias capas de las paredes arteriales y pasar sangre a los espacios entre las capas, o bien romperse todas ellas y producirse hemorragias. En arteriolas y vénulas puede aparecer *necrosis fibrinoide* de las capas íntima y media, así como infiltrados celulares formados por linfocitos, neutrófilos y macrófagos espumosos.

ALTERACIONES DE LA RESPIRACIÓN CELULAR. GASES DE ESPECIAL INTERÉS TOXICOLÓGICO

El proceso respiratorio de las células se realiza gracias al oxígeno transportado por la hemoglobina de la sangre, que debe ser activado por los citocromos a partir de la forma molecular O_2 . Por tanto, los elementos indispensables son: suficiente concentración (expresada como *presión parcial*, pO_2) de oxígeno en el ambiente, riego sanguíneo y hemoglobina, y citocromos funcionantes; la alteración de alguno de estos elementos puede dar lugar a las siguientes situaciones patológicas:

1. Anoxia

Del griego, falta de oxígeno. Se produce como consecuencia de disminución de la presión parcial del oxígeno por cualquiera de las siguientes causas:

1.1 Encontrarse a gran altura sobre el nivel del mar, con baja presión atmosférica (alta montaña, avión con cabina sin acondicionar, etc.).

1.2 Consumo del oxígeno ambiental, por causas respiratorias de plantas o animales o por combustiones, o bien por su dilución, particularmente en un recinto cerrado, a consecuencia de la acumulación de gases relativamente inertes, como nitrógeno, dióxido de carbono, metano, propano, butano, etc.

El dióxido de carbono o anhídrido carbónico es poco tóxico, forma parte de nuestra atmósfera natural, y permite la vida mientras la concentración no sea muy alta; es, incluso, estimulante del centro nervioso respiratorio. El metano se forma en la fermentación de la celulosa, por lo que se conoce como *gas de los pantanos* y de las minas (*grisú*), donde su acumulación provoca explosiones; se puede vivir en atmósferas con el 80 % de metano y 20 % de oxígeno. Propano y butano son también poco tóxicos (excepto cuando su combustión es incompleta, véase más abajo), y sólo ligeramente neurodepresores; sin embargo, la inhalación deliberada de altas concentraciones de butano, como por ejemplo, la que se produce en una bolsa

al vaciar la carga de un encendedor o mechero con fines de drogadicción, puede provocar infarto de miocardio y daño cerebral (Nelson, 1998).

Estos gases son denominados por algunos autores *asfixiantes simples*.

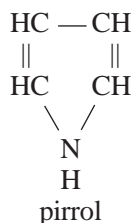
2. Asfixia (Hipoxia)

Consecuente con alguno de los siguientes mecanismos:

a. Interferencias en el transporte del oxígeno

a.1. *Bloqueo de la hemoglobina.* La hemoglobina es el pigmento rojo de los hematíes; está constituida por la porfirina conocida como hemo unida a moléculas de la proteína globular globina.

Las porfirinas son compuestos planos formados por la asociación de cuatro anillos de pirrol (heterociclos pentagonales con un átomo de nitrógeno)



enlazados por grupos metilénicos ($-\text{CH}=\text{}$); se unen a metales formando las metaloporfirinas, que en caso del hierro se conoce como *hem* o hemo, grupo prostético que al unirse a globina forma la *hemoglobina*. Los cuatro pirroles se disponen en un plano alrededor del átomo de hierro, al cual se enlazan a través de los átomos de nitrógeno, mediante valencias primarias o mediante enlaces coordinados. En situación fisiológica el átomo de hierro es bivalente (Fe^{++}).

Derivados porfirínicos son la *protoporfirina*, la *uroporfirina* y la *coproporfirina*, que en pequeñas cantidades se eliminan ordinariamente tanto por orina como por las heces. La eliminación se hace mayor tras la exposición a diversos metales (plomo, arsénico, cobalto, mercurio, oro, etc.) o a tóxicos orgánicos como benceno, hexaclorobenceno, cloruro de metilo, tetracloruro de carbono, barbitúricos, cloroquina, estrógenos anovulatorios, griseofulvina, sulfamidas, etc. como consecuencia de que estas sustancias originen interferencia en la

síntesis del hem (inducción o por el contrario inhibición de alguna de las enzimas que intervienen en la síntesis, y por tanto aumento de la síntesis o bien interrupción del proceso con acumulación de las porfirinas intermedias) o causen lesión hepática. El incremento de la presencia (en excretas, tejidos, piel, huesos, dientes) y eliminación de las porfirinas, en ocasiones por causa genética, se denomina *porfiria*, y se manifiesta clínicamente con dolores abdominales, alteraciones nerviosas centrales, vegetativas y psiquiátricas, manchas dérmicas, fotosensibilidad cutánea, etc. (véanse los apartados de patologías tóxicas de hígado y de piel).

Por tanto, la hemoglobina es una proteína globular formada por cuatro unidades de *hemo*, que es un derivado de la porfirina, unidas a cuatro moléculas de polipéptidos conocidos como *globina*; cada unidad de hemo está constituida por un anillo pentagonal heterocíclico de pirrol, con un átomo de nitrógeno. Las cuatro unidades de hemo se disponen en un plano alrededor de un átomo de hierro, al cual se enlazan a través de los átomos de nitrógeno, mediante valencias primarias o mediante enlaces coordinados. En situación fisiológica el átomo de hierro es bivalente (Fe^{++}), constituyendo una ferrohémoglobina (Hb), y se une a una molécula de oxígeno, en proporción 1:1, formando oxihemoglobina ($\text{O}_2\text{-Hb}$) mediante oxigenación, que no es una oxidación, pues el hierro permanece bivalente. En el músculo existe una cromoproteína similar a la hemoglobina, que recibe el nombre de *mioglobina*. Cuando se eleva la temperatura o la acidez (baja del pH por efecto del anhídrido carbónico, CO_2), se disocia y libera el oxígeno.

Algunas sustancias, como el monóxido de carbono, son capaces de unirse fuertemente al hierro bivalente y bloquear la capacidad de la hemoglobina para transportar el oxígeno. Posee algunas características comunes con el óxido nítrico (NO) (véase a continuación), aunque éste no se une al hierro, sino a la globina.

Por esta razón, el monóxido de carbono (CO) es la principal causa de mortalidad por intoxicación en numerosos países.

Este gas se origina en la combustión incompleta, por falta de apropiada mezcla con el oxígeno, de compuestos orgánicos sólidos, líquidos o gaseosos (carbones, gasolinas, propano/butano, etc.); cuando para la combustión hay suficiente propor-

ción de oxígeno (una molécula de éste por cada átomo de carbono) se origina dióxido de carbono:

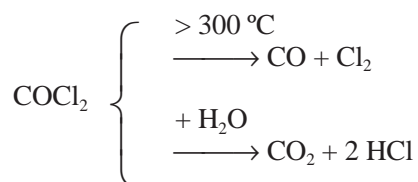


pero cuando la proporción es menor, se produce el monóxido:



El CO estaba presente en alta proporción en el antiguo *gas urbano o gas ciudad*, usado para calefacción e iluminación, obtenido por destilación del carbón, pero no en el llamado gas ciudad actual, que es una fracción del petróleo. También se forma en reacciones químicas (por ejemplo del ácido sulfúrico sobre el formaldehído), o en el metabolismo de sustancias como el diclorometano (cloruro de metileno), líquido muy volátil que se absorbe fácilmente tanto por vía respiratoria como cutánea, y puede llegar a originar concentraciones de carboxihemoglobina de hasta el 50 %. La enzima hemoxygenasa, presente en neuronas y otras células puede liberar CO.

El *fosgeno* ($COCl_2$), que ha sido usado como gas de guerra, puede romper su molécula por calor o por hidrólisis; en el primer, caso origina monóxido de carbono y, en el segundo, dióxido:



Tradicionalmente se ha considerado un único mecanismo de acción tóxica que se inicia por la unión del CO con el hierro bivalente de la hemoglobina su sustrato fisiológico, con la que tiene una afinidad casi 250 veces mayor que la del oxígeno, y origina un *carbonilo de hierro*; se forma así *carboxihemoglobina* (COHb), que impide que la hemoglobina transporte el oxígeno desde el pulmón hasta los tejidos, en forma de oxihemoglobina, con producción de una hipoxia tisular, que ha sido denominada «anemia funcional».

Pero se sabe hoy que el proceso es más complejo, con participación de otros mecanismos que se desarrollan tanto en fase de asfixia como en la pos-

terior de reperfusión, lo que dificulta el pronóstico del intoxicado. Cuando tras la asfixia o la interrupción de llegada de sangre, oxígeno o nutrientes a un tejido, vuelve a haber irrigación, lo que se conoce como *reperfusion*, no se produce una simple vuelta a la normalidad, porque se provoca una liberación de radicales libres, con situación de estrés oxidativo, inflamación y lesiones en membranas celulares, proteínas y ADN.

Un factor de confusión es la gran variabilidad individual de la vida media de la COHb, que en voluntarios mantenidos a presión atmosférica ordinaria oscila entre 2 y 7 horas (media 5), por lo que los nomogramas existentes no permiten predecir la evolución. En el feto la vida media es 3.5 veces mayor que en la madre, y la concentración de COHb en ésta no es representativa de la del hijo.

Los mecanismos que principalmente se consideran hoy son los siguientes:

a. La presencia del CO provoca una disminución del contenido de oxígeno en la sangre arterial, aunque exista una adecuada presión parcial de oxígeno (pO_2); además, altera la curva de disociación de la oxihemoglobina, con disminución de la liberación de oxígeno desde la OHb en los tejidos. Esto puede ser debido a una disminución de la concentración de 2,3-difosfoglicerato en los hematíes.

b. El 15 % del CO retenido en el cuerpo no está en la sangre porque, en condiciones de hipoxia y de hipotensión, se une a otras proteínas distintas de la hemoglobina.

En baja proporción se une a la citocromo-oxidasa mitocondrial, pero además desplaza al óxido nítrico (NO) de las plaquetas, el cual, en la fase de recuperación del efecto inicial, se oxida a peroxinitrito, que es productor de radicales libres e inhibidor de dicha enzima.

Como consecuencia de esta inhibición se lesiona el endotelio de los microvasos cerebrales, lesiones que atraen leucocitos, que se adhieren al endotelio; los leucocitos liberan proteasas que activan a la xantina-oxidasa, la cual favorece la formación de radicales libres de oxígeno, que dan lugar a peroxidación lipídica en las células de la sustancia blanca cerebral.

c. El CO también se une a la mioglobina (hemoproteína similar a la hemoglobina, aunque incolora, presente en el músculo, al que transfiere

el oxígeno); la formación de carboximioglobina, y particularmente la de carboximiocardioglobina, incluso frente a niveles de sólo 6 % de COHb, en individuos con trastornos cardíacos previos, puede originar alteraciones de ritmo e isquemia de miocardio. De hecho, se admite que la mortalidad aguda por CO se debe normalmente a disritmias ventriculares.

La afectación muscular se detecta en el análisis clínico por elevación en suero de la creatinquinasa (CK); en ocasiones se produce rabdomiolisis.

d. El CO actúa como neuromensajero y activa a la guanilciclase, que participa en la relajación del músculo liso, y se produce vasodilatación. También, como hemos dicho, libera al NO de las plaquetas, que es un potente vasodilatador. Como consecuencia de ambas acciones, tiene lugar hipotensión arterial, que puede originar síncope, pérdida de consciencia y empeoramiento del intoxicado.

Mediante experimentación con animales se ha encontrado mejor correlación entre las lesiones en la sustancia blanca cerebral y la hipotensión que con el porcentaje de COHb. La peroxidación lipídica en las células cerebrales se desarrolla una hora después de superado el síncope y la hipotensión, tiempo necesario para que el estrés oxidativo, que se inicia con la reperusión, se manifieste con destrucción de mitocondrias.

Además, el CO provoca un incremento de glutamato, aminoácido excitador del SNC, el cual induce liberación del calcio intracelular, que desencadena la cascada de daño retardado neuronal.

Las secuelas retardadas (semanas después de la exposición) incluyen lesiones en la sustancia blanca cerebral, que pueden objetivarse por tomografía axial computarizada (TAC) y en la autopsia, donde pueden apreciarse zonas de necrosis. Los individuos sobrevivientes de intoxicaciones graves suelen presentar secuelas retardadas neurológicas y neuropsiquiátricas.

Se consideran factores de riesgo la edad temprana (niños pequeños) y la superior a 50 años, así como enfermedades cardiovasculares y pulmonares.

La determinación analítica de carboxihemoglobina en sangre total puede realizarse por espectrofotometría visible y por coximetría (en el análisis general de oxihemoglobina, metahemoglobina, etc.); mediante acidificación de la muestra de san-

gre se libera el CO, que se puede valorar mediante espectrofotometría infrarroja o por cromatografía gaseosa.

Una correlación aproximada entre la concentración de carboxihemoglobina, expresada como porcentaje en relación con la hemoglobina total, y la situación circunstancial y clínica del sujeto, es la siguiente:

- < 2 %: no fumadores, vecinos rurales,
- 2-4 %: fumadores pasivos,
- 5-10 %: fumadores,
- 12-20 %: intoxicación leve a moderada; cefaleas, etc. (simula gripe),
- 20-30 %: intoxicación aguda (simula intoxicación etílica),
- 50-70 %: coma,
- >70 %: muerte rápida.

En los cadáveres de los quemados con frecuencia no se encuentra una carboxihemoglobina alta, como sería de esperar, en cuyo caso la muerte suele atribuirse a inhibición respiratoria o a shock.

El mejor procedimiento terapéutico de la intoxicación por CO, después de separar al intoxicado de la atmósfera contaminada y hacerle respirar aire rico en oxígeno, es introducirle en una cámara hiperbárica (*pulmón de acero*), con alta presión de oxígeno para que desplace al CO, conforme a la ley de acción de masas.

a.2. *Formación de metahemoglobina.* Los oxidantes débiles (como los nitritos y las aminas) son capaces de oxidar el hierro bivalente (Fe^{2+}) de la hemoglobina y pasarlo a trivalente (Fe^{3+}), dando lugar a la *metahemoglobina* (MetHb). Esta forma de hemoglobina no es útil para el transporte de oxígeno, por lo que las células del organismo experimentarán hipoxia. Normalmente, a causa de los tóxicos que se absorben, en el ser humano hay un 2 % de hemoglobina en forma de metahemoglobina.

a.3. *Rotura de hematíes: hemólisis.* La formación de metahemoglobina por los oxidantes y la alteración del equilibrio de oxidación-reducción dentro del glóbulo rojo pueden conducir a la rotura de éste, y por tanto a su incapacitación para transportar el oxígeno.

Esto ocurre, por ejemplo, en la intoxicación con arseniuro de hidrógeno o arsina (AsH_3), cuyo mecanismo de toxicidad es diferente al de los restantes

compuestos de arsénico. La arsina es fijada por la hemoglobina y oxidada a dihidruro de arsénico y seguidamente a arsénico elemental (As^0). La formación de sulfuro de arsénico por los grupos tioles (SH^-) disminuye la formación de $\text{ATPase Na}^+\text{K}^+$ necesaria para la estabilidad de la membrana, que se rompe y lleva a una *anemia hemolítica*.

Esta también ocurre en el *fabismo*, denominado así porque se presenta en algunos individuos tras la ingestión de habas, e incluso por la aspiración de su polen o del polvo de la planta durante recolección; también aparece a consecuencia de la absorción de sustancias como antipirina, fenacetina, nitrofurantoína, primaquina, quinina, quinidina, sulfamidas, etc. Los sujetos de esta reacción adolecen de insuficiencia genética de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH), cuya síntesis es regida por un gen del cromosoma X, por lo que la deficiencia, como la hemofilia, se presenta sólo en varones (en la hembra, cuyo par de cromosomas sexuales es XX, la mutación en un X, culpable de la deficiencia, es compensada por el otro X, lo que no es posible en el varón, cuyo par es XY); la enzima es indispensable para reducir el glutatión, necesario para mantener el equilibrio de oxidación-reducción del hematófite, que en otro caso se rompe. Otros individuos experimentan una hemólisis similar por un proceso alérgico de base genética.

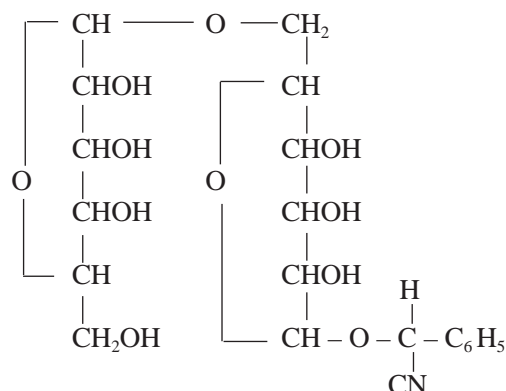
a.4. Disminución de la presión sanguínea. Los productos vasodilatadores y los que disminuyen la potencia cardíaca, así como situaciones de pérdidas copiosas de sangre o de agua plasmática provocan hipotensión y disminución de la irrigación y, por tanto, del aporte de oxígeno a los tejidos.

b. Inhibición de la oxidación: Bloqueo de los citocromos.

Recordemos que el oxígeno molecular no interviene directamente en el proceso respiratorio que se desarrolla en las mitocondrias para la producción de energía (ATP), sino que ha de ser activado por la cadena de citocromos, en los que juega un papel fundamental la enzima *citocromo-oxidasa*, metaloenzima con hierro trivalente (véase Cap. 4, Figura 4.10). Cuando esta enzima es inhibida se interrumpe la respiración celular; entre los tóxicos que realizan esta inhibición destacan los ácidos cianhídrico y sulfhídrico, el fosforo de hidrógeno, etc.

El *ion cianuro* presente en las sales del ácido cianhídrico, se libera por acidificación, incluso por los ácidos débiles, en forma de dicho ácido, poco disociable y por tanto liposoluble. Como ácido libre se emplea como insecticida y en las llamadas «cámaras de gas»; en forma de sales tiene aplicaciones en los laboratorios, en fotografía y en galvanotecnia. Se libera en la combustión de materiales tanto naturales (lana, seda), como sintéticos (caucho, poliuretano, nitrocelulosa, etc.), lo que supone un importante riesgo de la incineración de plásticos. Los nitrilos, como el *acetónitrilo*, utilizado como disolvente y, como tal, en los quitaesmaltes de las uñas, son biotransformados con participación del citocromo P-450 en ion cianuro. El nitroprusiato sódico o potásico utilizado como fármaco vasodilatador también se metaboliza a CN^- , y origina intoxicaciones cuya sintomatología puede tardar semanas en aparecer.

Los huesos o semillas de diversas frutas como albaricoque, pera, ciruela, así como la almendra amarga, la mandioca, etc., contienen *glucósidos cianogénicos*, entre los que sobresale la *amigdalina* (D-mandelonitrilo- β -d-glucósido) que, por hidrólisis ácida (en el estómago) o por la enzima β -d-glucosidasa o emulsina (presente en el producto vegetal), liberan cianhídrico.



La fórmula anterior corresponde al glucósido amigdalina, cuya hidrólisis produce dos moléculas de glucosa y una benzaldehidocianhidrina; ésta, a su vez, libera aldehído benzoico y ácido cianhídrico (HCN).

Como consecuencia de su liposolubilidad y bajo peso molecular el ácido cianhídrico se absorbe por todas las vías, y resulta letal para un adulto en una dosis oral de 200 mg, o en una concentración en el

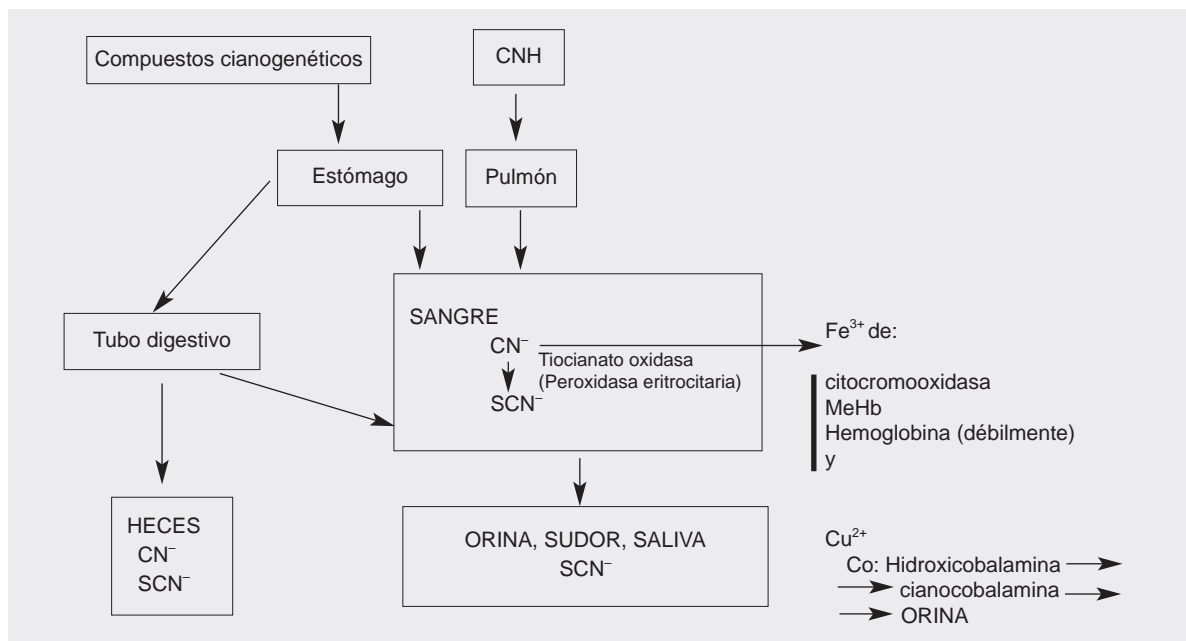


Figura 7.3. Absorción, biotransformación, excreción y acciones del ion cianuro.

aire de 270 ppm. Se puede producir intoxicación crónica en trabajadores y fumadores (Fig. 7.3).

Su mecanismo de toxicidad se basa en la capacidad de actuar como inhibidor enzimático no específico (sobre succínico deshidrogenasa, catalasa, glutatión reductasa, glutatión oxidasa, superóxido dismutasa, anhidrasa carbónica etc.) y particularmente sobre la citocromooxidasa, uniéndose al hierro trivalente del citocromo aa_3 , lo que interrumpe la fosforilación oxidativa. La inhibición de las enzimas defensoras de la peroxidación, conduce a peroxidación lipídica y lesiones en sistema nervioso, principalmente (Kerns y Kirk, 1998).

La inhibición de la citocromooxidasa es reversible, como defensa fisiológica, por acción de las enzimas sulfotransferasas, principalmente la *cianiotiocianatosulfotransferasa* o *rodanasa*, que transforma de forma irreversible el grupo CN en SCN (tiocianato), poco tóxico y fácilmente excretable. El tratamiento clínico tradicional consiste en provocar la formación de metahemoglobina, por administración de un nitrito, para que el Fe^{3+} bloquee al CN; para esta quelación se propone actualmente el edetato dicobáltico (EDTA- Co_2) y la hidroxicoBALAMINA (precursora de la vitamina B_{12}), dado que el ion cobalto se une fuertemente al CN.

El *sulfuro de hidrógeno* o ácido sulfhídrico (SH_2) está presente en los gases volcánicos y otros gases naturales; se produce en la descomposición bacteriana (putrefacción) de las proteínas y en la hidrólisis ácida de los sulfuros; se utiliza o se libera en reacciones químicas de laboratorio o de la industria.

Es un gas de fuerte olor a huevos podridos, muy liposoluble, por lo que atraviesa fácilmente la membrana alveolar y pasa a la circulación sistémica. Como el CNH, es un potente inhibidor de la citocromooxidasa al unirse al hierro trivalente de la citocromo aa_3 , lo que lleva a hipoxia celular y, rápidamente a la muerte, aunque la unión al átomo de hierro es más fácilmente reversible que con CO o con el CNH.

Sus órganos diana son el centro nervioso respiratorio y el sistema nervioso central. A causa de su lipofilia es absorbido selectivamente por el centro nervioso respiratorio situado en el bulbo raquídeo, al que paraliza, provocando la muerte. Sobre el sistema nervioso provoca una hiperpolarización neuronal a través de los canales de potasio, y también altera la liberación y contenido de neurotransmisores. Se ha postulado que al inhalar de improviso una gran dosis de ácido sulfhídrico, por ejemplo al

penetrar en una bodega o bajar a un pozo con alto contenido del gas (pozos negros o lugares con detritus en putrefacción), se puede producir parálisis de los nervios vago y frénico, del sistema vegetativo, con inervaciones en pulmón, corazón y diafragma, conducente a muerte fulminante.

El ácido sulfhídrico se une también al Fe^{3+} de la metahemoglobina, para formar sulfometahemoglobina; pero en la sangre de cadáveres recientes no se encuentra ni sulfometahemoglobina ni apenas sulfohemoglobina.

Concentraciones tan bajas como 0,02-0,12 ppm en el aire son detectables por el olfato.

Superiores a 50 ppm producen parálisis del sentido del olfato.

De 50-100 ppm provocan irritación de las mucosas

De 200-300 ppm, edema pulmonar por la causa anterior.

Superiores a 500 ppm, toxicidad sistémica, con hipotensión, taquicardia, depresión miocárdica, inhibición vagal y muerte súbita en un 6 % de los casos.

Superiores a 700 ppm, rápida inconsciencia y parada cardiorrespiratoria; en estos casos, el análisis toxicológico no consigue revelar la presencia de ácido sulfhídrico ni de sus derivados en la san-

gre, a causa de lo fulminante de la muerte y de la escasa cantidad de tóxico absorbida.

El *fosfuro de hidrógeno o fosfina* (PH_3) se libera en la hidrólisis, simplemente por la humedad, de fosfuros metálicos, de sodio, aluminio, cinc, etc., y se usa como insecticida y raticida en silos o almacenes de granos, aunque ello está prohibido por su peligrosidad. Es otro inhibidor de la citocromooxidasa, y genera radicales libres que inician peroxidación lipídica celular.

Su olor en el aire se detecta a concentraciones de 2 ppm, pero el TLV, límite permisible en el ambiente laboral, está establecido en sólo 0,3 ppm.

Otros gases de gran interés por su participación en los procesos circulatorios y respiratorios son los *óxidos de nitrógeno* (NO_x), que poseen múltiple interés en Toxicología y son citados en distintos párrafos de este libro.

El nitrógeno, junto con fósforo, arsénico y antimonio, constituye el Grupo Vb del Sistema periódico de los elementos químicos; por su proximidad con el oxígeno, grupo VIb, comparte con él algunas propiedades, como su afinidad por los grupos hem. Por oxidación puede dar lugar a distintos compuestos:

Óxido nitroso N_2O	Óxido nítrico N_2O_2 ó NO	Trióxido de nitrógeno N_2O_3
Tetróxido o dióxido de nitrógeno N_2O_4 ó NO_2		Pentóxido de nitrógeno N_2O_5

Todos ellos son oxidantes e irritantes; nitratos y nitritos orgánicos e inorgánicos son metahemoglobinizantes. El N_2O , por inhalación, produce relajación o embriaguez, por lo que se denominó *gas hilarante* y es uno de los primeros compuestos usados como anestésico; NO y NO_2 tienen en conjunto un número par de electrones y se consideran como radicales nitroxilo y nitrilo, respectivamente. El óxido nitroso se forma en la descomposición por el calor de nitrato amónico, y el dióxido de nitrógeno de cualquier otro nitrato, por lo que ambos pueden liberarse en incendios. Por el contrario, el óxido nítrico (NO) se forma en la atmósfera durante las tormentas con componente eléctrico, y sólo se obtiene por medios químicos mediante reducción del ácido nítrico por metales como

cobre, mercurio o plata, pero en medio biológico es sintetizado por las enzimas *NO sintetetasas* (NOS), de las que se conocen tres isoenzimas: una forma inducible, simbolizada por iNOS o NOS-II (que se expresa en macrófagos, células de Kupffer, neutrófilos, fibroblastos, músculo liso vascular y células endoteliales como respuesta a estímulos patológicos) y dos formas llamadas constitutivas por formarse fisiológicamente en el endotelio vascular principalmente, la eNOS o NOS-III, o en las neuronas, la nNOS o NOS-I; las NOS constitutivas son activadas por Ca-calmodulina tras aumento de la concentración de Ca^{++} ; el NO no se almacena sino que se libera conforme se forma; tanto la deficiencia como el exceso de NO dan origen a patologías. La participación del NO en la vaso-

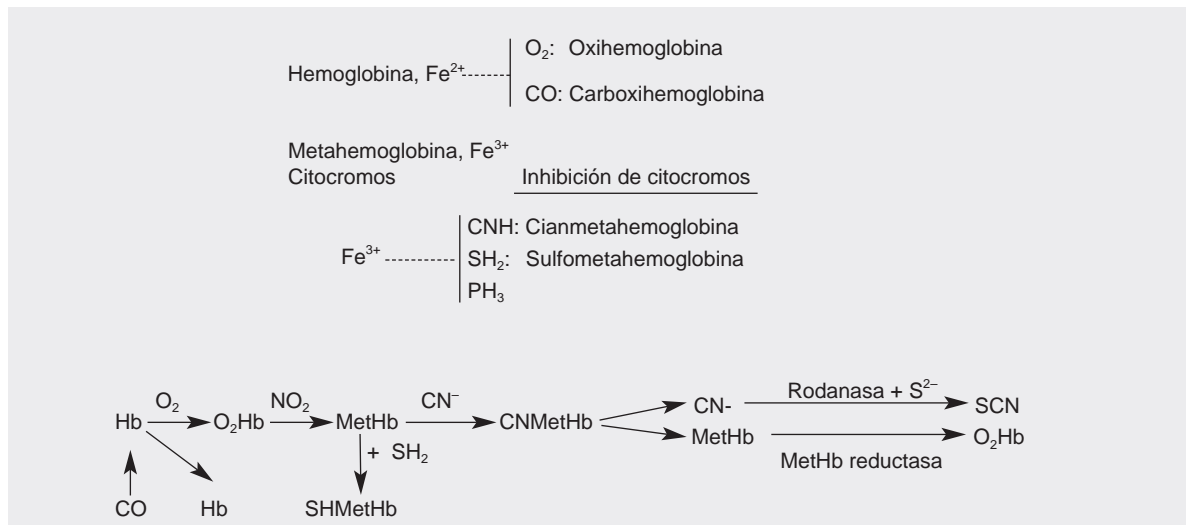


Figura 7.4. Hemoglobina, reacciones y derivados de interés toxicológico.

dilatación es decisiva y también es un neurotransmisor.

La actividad de las NOS es bimodal, oxidasa o reductasa, y la de la inducible, iNOS, es 1.000 veces mayor que la de las otras, y conduce a la liberación de NO a partir de L-arginina o de otros donantes, como nitroderivados orgánicos vasodilatadores (nitroglicerina, S-nitrosoglutatión, etc.) o nitroprusiato. El NO es muy reactivo; la hemoglobina tiene por él una afinidad 10.000 veces mayor que por el oxígeno, uniéndose en forma reversible al tiol de la cisteína en la globina, formando hemoglobina S-nitrosilada; también se une a grupos hemo de los citocromos. Por otra parte, da origen a radicales libres.

La liberación de grandes cantidades de NO en el cerebro, por inducción de NOS o por estimulación excesiva de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), conduce a destrucción neuronal, bien por acción directa o después de su oxidación a peroxinitrito.

La inhalación de óxidos de nitrógeno, por penetrar profundamente (a diferencia de los óxidos de azufre, SO_x , que por su avidez por la humedad quedan retenidos en el tramo superior del árbol respiratorio), provoca edema agudo de pulmón tras intensa vasodilatación pulmonar. Esto ocurre a concentraciones de NO superiores a 300 ppm, aunque a bajas concentraciones reduce la hiperten-

sión y se utiliza en pacientes con déficit respiratorio.

El mecanismo de acción del NO es doble: Por activación de la guanilatociclasa produce GMPc, participa en cascadas de fosforilación, que conducen a vasodilatación; y por reacción con el radical superóxido forma peroxinitrito, muy oxidante y lesivo para las estructuras celulares. Se piensa que el NO participa en la muerte neuronal por isquemia, y en los procesos degenerativos de la enfermedad de Parkinson, la demencia senil y la esclerosis lateral amiotrófica, en este caso a través de una mutación del gen que codifica a la enzima superóxido dismutasa (SOD) (Rang *et al.*, 2004).

La síntesis de NO está reducida en individuos con colesterol alto, en diabéticos y en fumadores.

El sildenafil potencia la acción del NO en los cuerpos cavernosos del pene, al inhibir la fosfodiesterasa facilitando la vasodilatación y llegada de sangre para la erección.

Véase más información sobre los óxidos de nitrógeno en el Capítulo 6, apartado de *Reactivos de óxido nítrico* y en este capítulo, apartado de *Fisiopatología tóxica pulmonar*.

En la figura 7.4 se recogen los derivados de la hemoglobina de mayor interés toxicológico.

FISIOPATOLOGÍA TÓXICA DEL SISTEMA NERVIOSO

Elementos anatomofisiológicos

Anatómicamente podemos distinguir el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El primero está integrado por el encéfalo (cerebro), que lleva adosado el cerebelo, el tallo cerebral con el bulbo, y la médula espinal, localizada en la columna vertebral; el encéfalo de un hombre de 70 kg pesa aproximadamente 1,5 kg, de los cuales 980 g son grasa y 13 g fosfolípidos. Las estructuras más internas del encéfalo son las de carácter más animal, como el rinoencéfalo (el cerebro más primitivo) o el sistema límbico. Este último regula las actividades instintivas, los procesos emocionales y los comportamientos motivados (estimación del tiempo, alimentación, bebida, comportamiento social y el reproductor, etc.), y está funcionalmente asociado con el sistema endocrino y el sistema nervioso autónomo; se admite que participa en el procesamiento de los fenómenos de *recompensa*, activado por las drogas de abuso, y en el establecimiento del hábito adictivo, así como que es sede de lesiones y neuroadaptaciones tras el consumo de drogas. Un importante componente del sistema límbico es el hipotálamo, que integra el sistema nervioso vegetativo o autónomo con el sistema nervioso central; está constituido por varios núcleos con diversas funciones y conexiones a diferentes estructuras; el hipotálamo regula o participa en la regulación de numerosas funciones vegetativas, como la temperatura, ciclo sueño-vigilia, memoria, apetito, diuresis, presión arterial, homeostasis, etc. y segrega hormonas liberadoras de otras hormonas desde distintos órganos, principalmente de la hipófisis, a la que está directamente conectado.

Por su parte, la capa más externa o corteza cerebral ha experimentado un desarrollo distintivo del hombre, y en ella se producen los procesos intelectivos y de la mente; se dice que durante la evolución y la selección natural, el cerebro del hombre se ha desarrollado hacia funcionar como una computadora de carácter predictivo, es decir, recoge información y la procesa para predecir lo que puede ocurrir. El SNP está formado por los nervios sensitivos (que recogen los estímulos de los órganos de los sentidos) y por los nervios motores (que llevan las órdenes a los músculos) (Figs. 7.5 y 7.6).

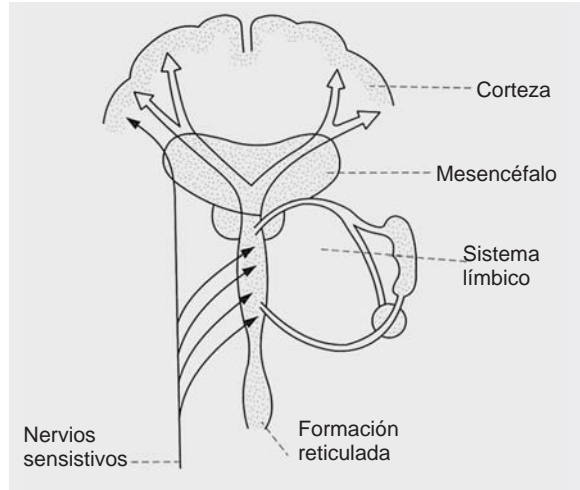


Figura 7.5. Esquema general del SN con las aferencias sensitivas al SNC e intervención del sistema reticular activante.

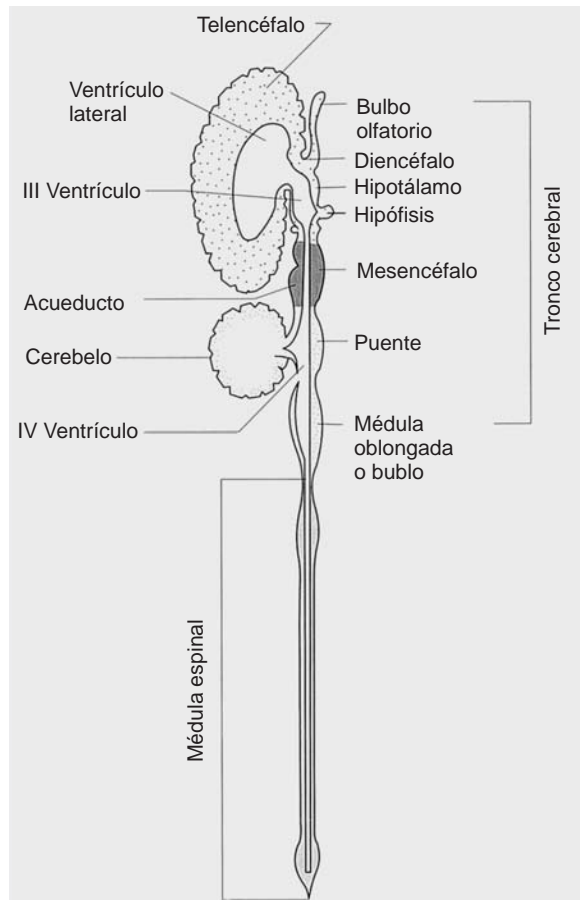


Figura 7.6. Representación esquemática del SNC.

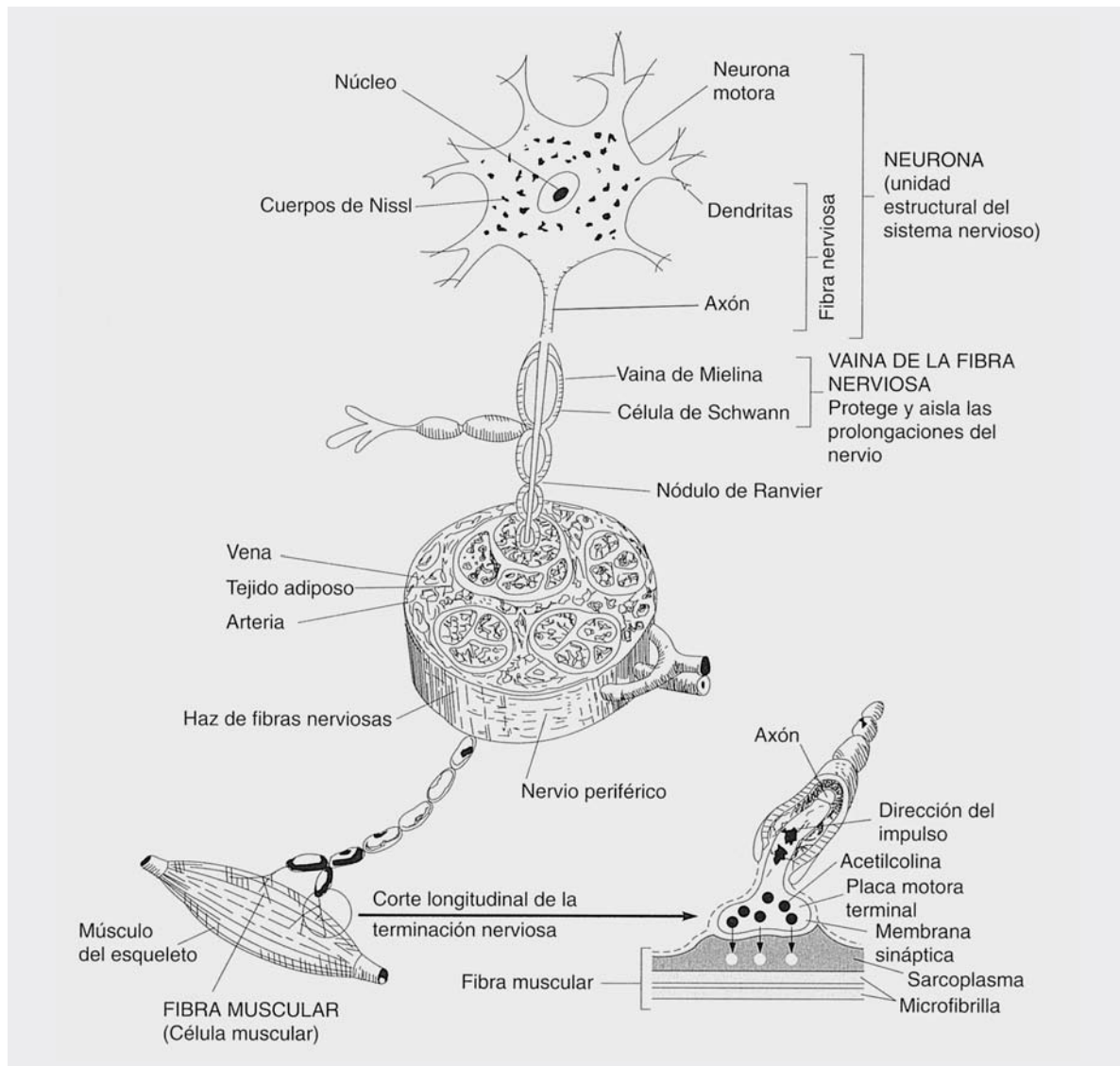


Figura 7.7. Neurona, nervio y sinapsis.

Cada nervio está formado por un haz de neuronas, junto con vasos sanguíneos y tejido de sostén. Los nervios más largos del hombre son los de las extremidades inferiores.

La unidad funcional del SN es la neurona, célula muy especializada, en la que cabe distinguir el cuerpo celular o pericarion, las dendritas y el axón. El axón termina en el pie o botón presináptico, cuya disgregación *in vitro* origina los sinaptosomas (Fig. 7.7).

El axón de una neurona está separado de la que le sigue por la hendidura o espacio sináptico, que debe ser atravesado por las sustancias conocidas como neurotransmisores, forma química de comunicar el impulso nervioso. Este impulso normalmente excita la neurona siguiente, pero en ocasiones tiene un efecto inhibitorio o modulador; en cada caso se denomina a la neurona anterior como excitadora o inhibitoria.

Los procesos metabólicos, tanto energéticos como de síntesis, se desarrollan fundamentalmente

en el cuerpo neuronal y también en el botón sináptico; el metabolismo energético es extraordinariamente intenso, con consumo exclusivo de glucosa y oxígeno (a diferencia de otras células que pueden obtener energía de otros azúcares, de aminoácidos o de lípidos); la dependencia del oxígeno es tal, que breves interrupciones en su suministro o aprovechamiento (por causa tóxica: CO, CN⁻) originan lesiones fácilmente permanentes.

Los productos metabólicos se desplazan hasta el botón sináptico a lo largo del axón por los microtúbulos y microfilamentos formados por polímeros de la proteína tubulina, cuya despolimerización se regula por la presencia de las llamadas proteínas asociadas a los microtúbulos (MAP).

Por ser dianas de interés toxicológico, nos detendremos brevemente en las citadas estructuras:

Los neurofilamentos son componentes de los axones periféricos, formados por proteínas filamentosas ricas en lisina; se sintetizan en el cuerpo neuronal y son transportados al axón por un mecanismo activo, con consumo de ATP. Tóxicos específicos de estas estructuras son la gamma-dicetona y la acrilamida. La γ -dicetona o 2,5-hexandiona se forma por oxidación del n-hexano; sus carbonos carbonílicos son lugares electrófilos que reaccionan con el nitrógeno de la lisina, originando un aducto formado por un pirrol dimetilado. Esto ocasiona la polimerización y acumulación en los nódulos de Ranvier, que obstruye el paso por este lugar que es más estrecho; también, tras autooxidación de los pirroles, provoca *cross-links* de unos neurofilamentos con otros.

Los microtúbulos son filamentos huecos formados por polímeros de dímeros de α y β -tubulina y proteínas asociadas, en cuyo plegamiento participan las chaperonas. Los microtúbulos participan en la mitosis, en el citoesqueleto, en el transporte intracelular y el axónico, etc.

El axón termina en la llamada *membrana presináptica* que queda ligeramente separada de una estructura especializada (*membrana postsináptica*) de una célula receptora; el conjunto de ambas membranas y el espacio intermedio recibe el nombre de *sinapsis*.

Las sustancias más importantes de entre las sintetizadas por las neuronas son las encargadas de transmitir el impulso nervioso de una neurona a otra o a una fibra muscular, por lo que reciben el nombre de *neurotransmisores*.

Se ha venido admitiendo que, normalmente, cada tipo de neurona sintetiza una sola clase de neurotransmisor, que se acumula en las vesículas sinápticas, pero ahora se sabe que las neuronas pueden liberar distintos neurotransmisores dependiendo de diferentes circunstancias, y que neuronas muy próximas no liberan el mismo neurotransmisor.

Cuando llega un impulso nervioso al extremo del axón o membrana presináptica, se abren canales específicos para el ion calcio (Ca⁺⁺) que penetra en el terminal y favorece que las vesículas, en número proporcional a la intensidad del impulso, se aproximen a la membrana, se fundan con ella y viertan su contenido de moléculas de neurotransmisor a la hendidura o espacio sináptico.

El axón está normalmente rodeado o revestido por células de Schwann, que, dejando el núcleo a un lado, se enrollan sobre el axón; la membrana de estas células contiene una gran cantidad de lípidos (colesterol, fosfolípidos, especialmente fosfatidilcolina y glicolípidos, entre ellos el cerebrósido, con galactosa), y constituye la llamada *vaina de mielina*, de función electroaislante. Entre cada dos células de Schwann queda un pequeño espacio sin mielina denominado *nódulo de Ranvier*.

Las fibras sin mielina conducen el impulso nervioso de manera continua, pero lenta, mientras que en los axones miélinicos, los nódulos de Ranvier realizan un efecto de condensador que retiene las cargas eléctricas hasta un valor determinado, en cuyo momento se produce una progresión o salto del impulso, con velocidad mayor que en la conducción continua; se conoce el fenómeno como *conducción saltatoria*, que permite que la velocidad de transmisión pase de 0, 3 a 100 m/seg. Los trastornos que afectan la mielina, como la incidencia de disolventes orgánicos, disminuyen o anulan esta propiedad, y dan origen a importantes fenómenos patológicos, a veces irreversibles.

La composición del medio interno de una neurona es muy similar a la de otras células, pero posee 10 veces más potasio y 10 veces menos sodio que el medio externo. Esta peculiaridad origina una diferencia de potencial, entre el interior y el exterior del axón, de -70 milivoltios, conocido como *potencial de reposo*, que se expresa como negativo porque así está el interior de la membrana respecto del exterior. Se dice que la membrana está *polarizada*.

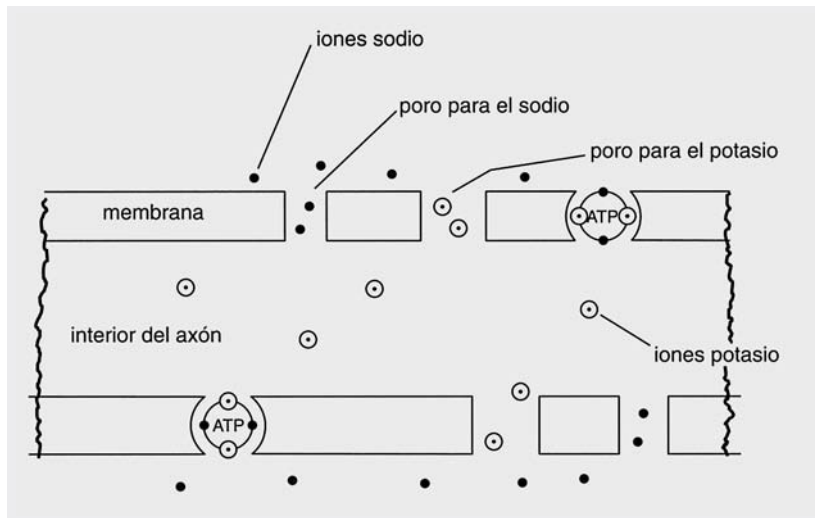


Figura 7.8. Entrada y salida de sodio y potasio del axón.

Cuando una señal eléctrica entra por la dendrita, en el nacimiento del axón se produce una disminución local de la diferencia de potencial a través de la membrana a -10 mV. Esto hace que en las proximidades se abran unos poros o canales que posee la membrana para permitir la entrada de iones sodio, obligando a iones potasio a salir por otros poros específicos; con ello cambia la polaridad intermedia de negativa a positiva y se invierte la diferencia de potencial a unos $+50$ mV (*potencial de acción*), que supone la despolarización de la membrana.

Los canales iónicos son macroproteínas que atraviesan la membrana, y que están constituidas por varias subunidades proteicas dispuestas alrededor de un eje central hueco; con la llegada de una señal eléctrica, química, térmica o mecánica, se produce un cambio de conformación en la proteína que pasa de un estado cerrado a abierto, y permite que, selectivamente, pasen a su través determinados iones.

Esta apertura de los canales tiene lugar a lo largo del axón por la llegada del impulso eléctrico, pero en la membrana postsináptica se requiere la actuación de un neurotransmisor, sustancia química liberada por el terminal axónico a la llegada del impulso eléctrico.

La sustancia transmisora, al alcanzar la membrana postsináptica (dendrita de otra neurona o la placa neuromuscular), se une a proteínas de los canales de sodio y potasio, que se abren y permiten

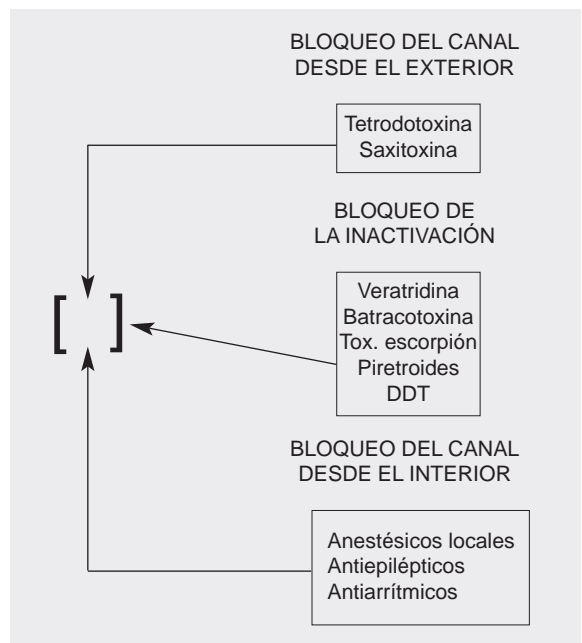


Figura 7.9. Lugares de acción de distintos tóxicos sobre los canales de sodio.

el intercambio de iones y, con, ello, el nacimiento de nuevo pulso nervioso. En el proceso permeabilizante interviene la proteína G y otras proteínas especializadas cuya activación inicia varias cascadas de pasos bioquímicos con participación de la enzima adenilciclase, que sintetiza el AMP-cíclico, denominado segundo transmisor.

Para recuperar el equilibrio iónico deben salir los iones sodio, que se intercambian por los de potasio (en proporciones de 3:2); esto requiere consumo de energía, suministrada por ATP, en lo que se llama bomba de sodio; con ello se consigue la *repolarización* de la membrana y la diferencia de potencial inicial (Figs. 7.8 y 7.9).

Una misma sinapsis puede actuar como facilitadora o excitadora o bien como inhibidora de la transmisión nerviosa, de esa o de otra neurona, según que el neurotransmisor despolarice o hiperpolarice la membrana receptora.

Una vez que actúa el neurotransmisor, debe ser destruido por enzimas específicas o recaptado por el terminal axónico, pues en caso contrario se produ-

ría una hiperpolarización causa de patologías. Los neurotransmisores que son aminas son destruidos por las enzimas monoaminooxidasas (MAO); cuando se absorbe un inhibidor de éstas (IMAO), no se elimina el transmisor y se producen trastornos por el exceso de conducción (Fig. 7.10). Otros mediadores de tipo éster son hidrolizados por esterases como la acetilcolinesterasa, que hidroliza la acetilcolina y es inhibida por organofosfatos y carbamatos; o la fosfodiesterasa, que degrada el AMP-c, y es inhibida por las xantinas (cafeína) (Fig. 7.11).

El mecanismo de la transmisión sináptica es el mismo cualquiera que sea el neurotransmisor, pues éste se limita a condicionar la apertura de los canales. Cuanto mayor sea el número de moléculas de

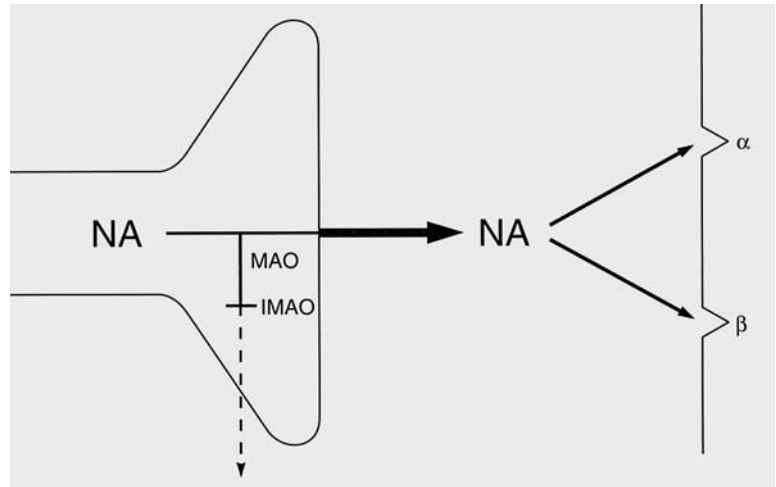


Figura 7.10. Acción de los inhibidores de MAO: impiden la destrucción del neurotransmisor.

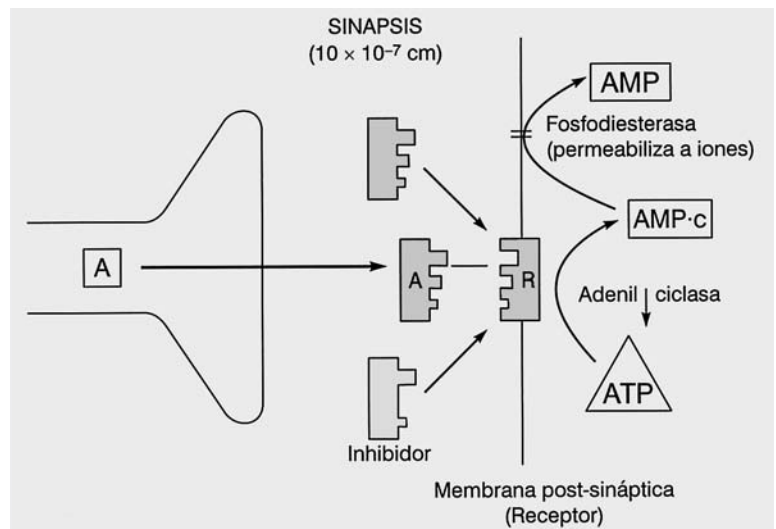


Figura 7.11. Acción de aminas neurotransmisoras.

transmisor liberadas más canales se abrirán y mayor será el potencial producido. La presencia de Ca^{++} extracelular hace más estable la membrana, y su defecto la hace más excitable.

Se conocen unas 30 sustancias que actúan como neurotransmisores, aunque unas poseen actividad excitadora y otras son inhibidoras.

Los neurotransmisores más conocidos son acetilcolina, noradrenalina, adrenalina, dopamina y serotonina, pero también se conocen importantes papeles desempeñados por otros mediadores como el glutamato, glicina, aspartato, etc., que participan en fenómenos fisiopatológicos de origen tóxico (Figs. 7.12 y 7.13), como por ejemplo:

a) *Actividad ordinaria*: acetilcolina, adrenalina, noradrenalina, dopamina y serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT).

b) *Actividad excitadora*: aspartato, glutamato, cisteato.

c) *Actividad inhibidora*: alanina, gamma-aminobutirato (GABA), glicina, taurina.

Estos neurotransmisores de origen endógeno, así como sus equivalentes exógenos, reciben el nombre genérico de *agonistas*, porque actúan sobre su receptor, mientras que se denominan *antagonistas* aquellas sustancias que bloquean a los receptores al unirse a ellos.

Las neuronas en cuya transmisión interviene la adrenalina se denominan *adrenérgicas*, cuando es



Figura 7.12. Regulación de la transmisión sináptica.

Principales transmisores: acetilcolina (1), noradrenalina, adrenalina, dopamina (2), serotonina.

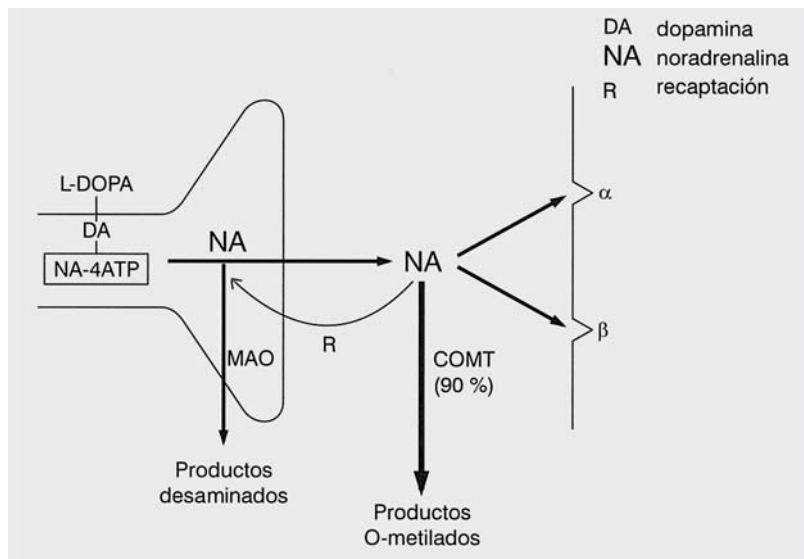


Figura 7.13. Síntesis de noradrenalina a partir de L-dopa y destrucción por las enzimas MAO y COMT

la dopamina son *dopaminérgicas*, si es serotonina serán *serotoninérgicas*, etc.

En el capítulo de Mecanismos de Toxicidad, al hablar de los receptores, se relacionan las actividades de los receptores neurofisiológicos conocidos de mayor interés toxicológico, como los adrenérgicos, dopaminérgicos, de opiáceos, del glutamato y su subtipo N-metil-D-aspartato (NMDA) y de los cannabinoides (CB₁ y CB₂) (Tabla 7.1).

El glutamato es un importante excitante de la conducción nerviosa (llega a producir necrosis neuronal), mientras que su producto de descarboxilación, el ácido gamma-aminobutírico (GABA) es inhibidor; el primero permite la despolarización de la membrana postsináptica, el segundo origina hiperpolarización, posiblemente por aumento de conductancia del K⁺ y del Cl⁻, por lo que resulta más difícil excitar la membrana postsináptica en presencia de GABA. El mismo tipo de papeles juegan los ácidos aspártico y cisteico (estimuladores), frente a sus descarboxilados, alanina y taurina, que, como la glicina, son inhibidores.

Los alcaloides picrotoxina y bicuculina son antagonistas de los receptores de GABA, y producen convulsiones; de la misma manera que la estricnina compite con la glicina en sus receptores de las sinapsis espinales, hay evidencia de que la toxina tetánica inhibe la liberación de glicina de las neuronas.

Por otra parte, se sabe que los benzodiazepínicos son capaces de desplazar la estricnina de los receptores de la glicina, y mimetizan la acción inhibitoria de ésta, por lo que se produce relajación muscular. Se piensa que la acción fisiológica del GABA sobre sus receptores es incrementada por los benzodiazepínicos.

Un derivado del GABA, que ha alcanzado cierta difusión en el campo de la drogadicción, es el gamma-hidroxibutirato (GHB, o gamma-OH)), normalmente usado como sal sódica del ácido γ -hidroxibutírico, que se produce como metabolito del ácido gamma-aminobutírico (GABA) y de los aminoácidos al sustituir el grupo amino por un hidroxilo; funciona como neurotransmisor que actúa sobre las neuronas inhibitorias de la transmisión. Fue estudiado por Laborit (1962) para compararlo con el GABA, viendo que, a diferencia de éste, atraviesa la barrera hematoencefálica (penetra en el cerebro), y en Alemania se intentó aplicar como anestésico, pero se descartó por producir delirios y epilepsia. En la década de los 80 se prohibió en EE UU.

Se ha vendido para reducir el peso y como estimulante del desarrollo muscular y se ha ensayado en el tratamiento de la fibromialgia. A dosis bajas produce euforia e incluso agitación y agresividad; a dosis altas induce somnolencia, alucinaciones y pérdida de conciencia.

Algunos autores postulan la existencia de receptores específicos para el GHB distintos de los del GABA y otros piensan que actúa a través de los receptores de opiáceos, los muscarínicos, los nicotínicos, y en general, sobre la mayoría de los receptores monoaminérgicos. Es un agonista débil de los receptores de GABA.

Al parecer, el GHB origina una respuesta bifásica de la dopamina, ya que a dosis bajas reduce la liberación de ésta, mientras que a dosis altas la aumenta; también inhibe la recaptación presináptica de dopamina.

El etanol, a pesar de que, como hemos anotado, por no poseer ningún carbono asimétrico, no

Tabla 7.1. Receptores y actividad de las drogas de abuso

Droga	Actividad
Alucinógenos	Agonista parcial en receptores 5-HT 2A
Anfetamínicos	Agonista indirecta sobre los receptores de DA, NA, SE. Liberación de DA
Cannabinoides	Agonista sobre receptores CB ₁ y CB ₂
Cocaína	Agonista indirecta en receptores de DA, NA, SE. Inhib. recaptación de DA, etc.
Etanol	Facilita GABA _A e inhibe función receptores glutamato NMDA
Fenciclidina	Agonista receptores glutato NMDA
Nicotina	Agonista en receptores acetilcolina, nicotina, NMDA
Opiáceos	Agonista en receptores μ , δ y κ

DA: dopamina. NA: noradrenalina. NMDA: N-metil-D-aspartato. SE: serotonina. De: Nestler, 2004, modificado.

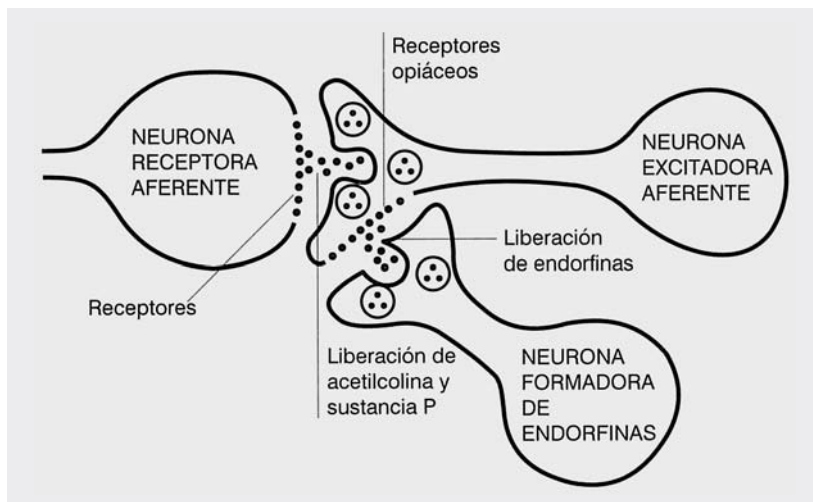


Figura 7.14. Modulación de la señal dolorosa transmitida por la sustancia P, mediante las endorfinas, que inhiben la liberación de P.

dispone de un receptor específico, a través de una acción indirecta bloqueante de los receptores NMDA y activadora de receptores GABA, interfiere en la llegada de señales a las células neurales durante la sinaptogénesis y provoca la neurodegeneración que conduce al *síndrome alcohólico fetal*. Este mismo mecanismo lo comparten algunos medicamentos y drogas de abuso.

En cuanto a la acción de la LSD, se pensaba que, por su anillo indólico, podría antagonizar o bien mimetizar la serotonina, pero recientes experiencias sugieren un antagonismo para los receptores de la dopamina en el núcleo estriado.

Por otra parte, en las sinapsis de algunas neuronas actúan otras neuronas para facilitar o inhibir la transmisión de la primera. Así, podemos decir que hay unas neuronas inhibitorias que actúan despolarizando los axones de otras, impidiendo que se libere el mediador químico en la sinapsis de éstas. También hay neuronas que producen hiperpolarización de la membrana postsináptica en la conexión de otras neuronas, interrumpiendo la transmisión entre éstas, por mantenimiento de la polarización; estas neuronas inhibitorias hiperpolarizantes son estimuladas por la estricnina y la toxina tetánica, lo que explica que en la intoxicación por estas sustancias predominen los fenómenos de contracción muscular prolongada.

Las neuronas sensitivas primarias receptoras del dolor utilizan el neuropéptido conocido como sustancia P (constituido por 11 aminoácidos) como transmisor en sus sinapsis con las neuronas del

asta dorsal de la medula espinal. Pero aquí existen también otras neuronas internunciales que producen unos polipéptidos denominados *encefalinas*, también conocidos como *endorfinas* o morfina endógenas, cuya presencia inhibe la liberación de la sustancia P por la neurona sensitiva, por lo que las neuronas sensitivas secundarias captan menos señal dolorosa; como consecuencia, el cerebro percibirá menor sensación de dolor. Se sabe que los opióceos se unen a los receptores de encefalina desocupados, imitando los efectos supresores del dolor de la encefalina (Fig. 7.14).

Se piensa que algunos procedimientos analgésicos, como la acupuntura, la hipnosis, etc., incrementan la liberación de encefalinas.

Investigando sobre la forma de actuar de los cannabinoides endógenos se ha descubierto una forma de neurotransmisión que se ha denominado *señalización retrógrada*. Se había visto que los receptores CB1 se encuentran preferentemente cerca de las sinapsis de las neuronas liberadores de GABA (cuyas moléculas, como hemos visto, inhiben que una neurona que las reciba transmita las señales excitadoras que también le lleguen); pero la liberación de GABA, a su vez, puede ser inhibida por la llegada a los receptores CB1 de endocannabinoides como el 2-araquidonilglicerol (2-AG) procedente de la neurona postsináptica (Nicoll y Wilson, 2001); se trata, por tanto, de un *proceso retrógrado de supresión transitoria de la inhibición*. Por el momento no se conocen otros casos de neurotransmisión retrógrada.

El sistema nervioso vegetativo o autónomo presenta importantes ejemplos de toxicidad selectiva.

Como sabemos, el sistema simpático y el parasimpático son fisiológicamente similares hasta el ganglio de conexión o recambio de la primera neurona con la segunda. Los ganglios simpáticos están situados paralelamente a la columna vertebral, formando la llamada cadena simpática paravertebral; mientras que los ganglios parasimpáticos se hallan sobre las propias vísceras. En ambos tipos, la sustancia fisiológica neurotransmisora es la misma, la acetilcolina; puede actuar también la nicotina cuando llega en pequeña proporción; como inhibidores o gangliopléjicos pueden intervenir la nicotina en exceso y las sales de amonio cuaternario.

Pero la sinapsis formada por la segunda neurona funciona con diferente neurotransmisor en el simpático (adrenérgico) y en el parasimpático (colinérgico). En este último sistema, el mediador fisiológico es la acetilcolina, y pueden actuar como estimulantes y producir intoxicaciones por exceso de transmisión los alcaloides muscarina, pilocarpina y nicotina, y los inhibidores de la acetilcolinesterasa, la enzima encargada de destruir el mediador fisiológico. Asimismo, son inhibidores de la transmisión en este lugar y producen intoxicación o estado patológico por defecto de función la atropina, la escopolamina y los excesos de acetilcolina y de nicotina; en la sinapsis muscular el curare, que se fija sobre el receptor de la placa motora e impide la actuación de la acetilcolina fisiológica.

Por su parte, la sinapsis periférica del simpático presenta dos tipos de receptores, los alfa y los beta.

Los receptores alfa son estimulados por la noradrenalina y, en menor proporción, por la adrenalina y la fenilefrina; las anfetaminas liberan noradrenalina de los depósitos, por lo que actúan como simpaticomiméticos indirectos, y por ello no son efectivas después de un tratamiento con reserpina, que vacía los depósitos (Figs. 7.15, 7.16, 7.17 y 7.18).

La estimulación de los receptores alfa excita la musculatura lisa (bronquial, vascular e intestinal), produciendo vasoconstricción e hipertensión; estos receptores son bloqueados por la ergotamina, la fentolamina y la yohimbina.

En cuanto a los receptores beta, de actividad más compleja, son estimulados por la adrenalina y el isoproterenol (isopropilnoradrenalina), y son bloqueados por el dicloroisoproterenol y el propranolol. Su estimulación produce excitación de la musculatura estriada (miocardio) y del metabolismo, y relajación de la musculatura lisa (bronquial, intestinal, pulmonar).

En estos niveles (sinapsis periférica del simpático) se desarrolla la actividad de la cocaína, que posee doble acción: impermeabiliza la membrana de las células almacenadoras de adrenalina, por lo que, al principio, no habrá recaptación de ésta y, por tanto, ligera estimulación, y después no saldrá adrenalina de los depósitos y, por ello, habrá inhibición. La misma acción impermeabilizante ejerce la cocaína para los simpaticomiméticos indirectos, por lo que éstos no producen la acción estimulante.

La mayoría de los estimulantes y de los depresores del sistema nervioso central ejercen su acción al modificar las condiciones fisiológicas del

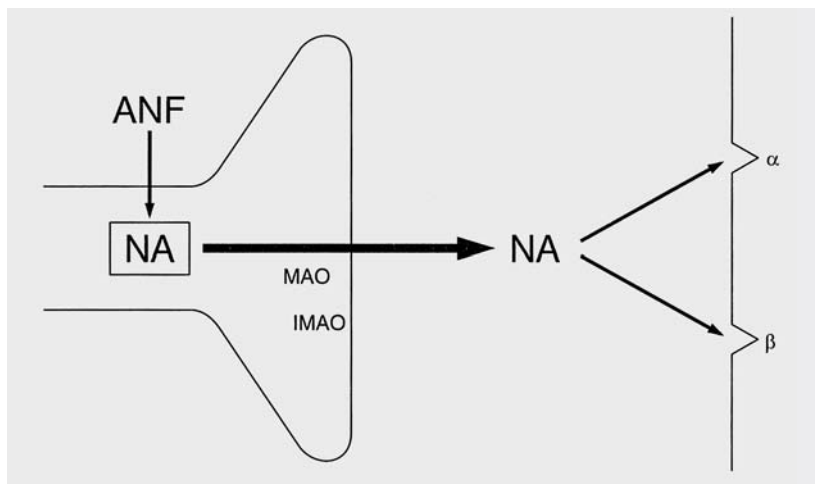


Figura 7.15. Acción de las anfetaminas: liberación de noradrenalina; también impiden la recaptación.

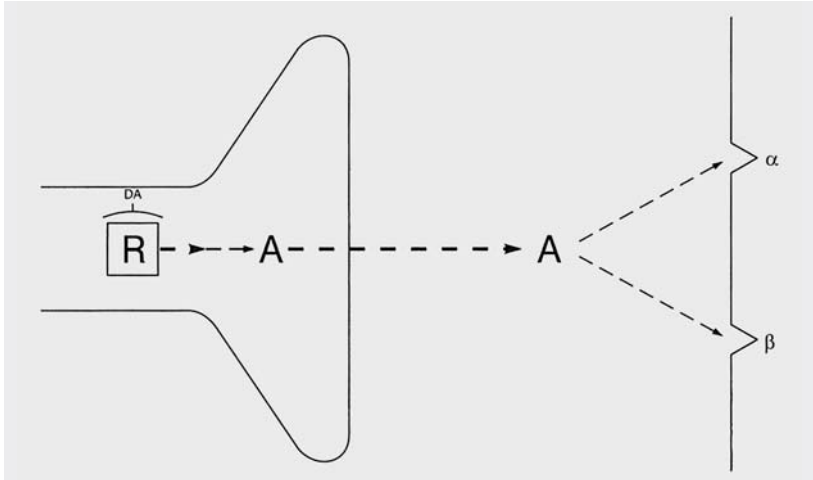


Figura 7.16. Acción de la reserpina: vaciamiento de las reservas de transmisor.

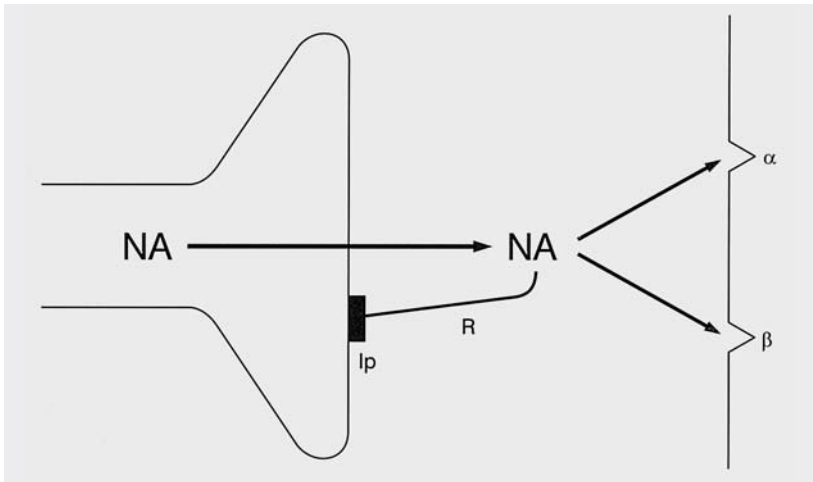


Figura 7.17. Acción de la imipramina: impide la recaptación del transmisor.

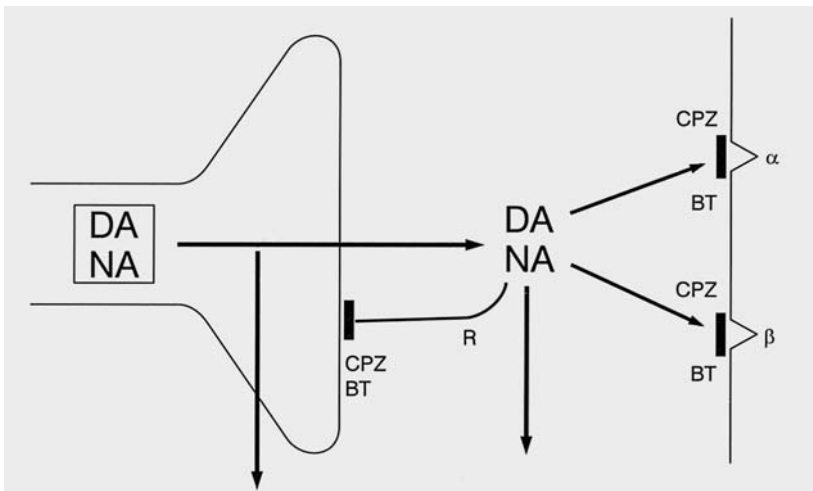


Figura 7.18. Acción de la clorpromazina y butirofenonas: bloqueo de los receptores y de la recaptación de los transmisores.

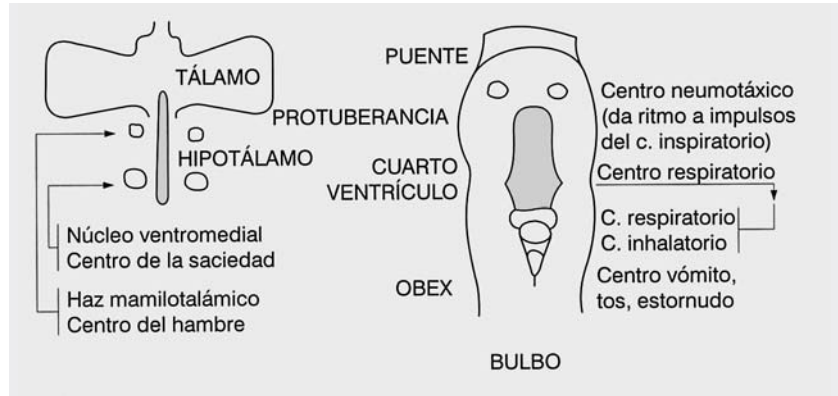


Figura 7.19. Localización de los centros bulbares e hipotalámicos.

llamado sistema reticular activante (SRA), constituido por la «formación reticular», integrada por miríadas de pequeñas neuronas conectadas entre sí, formando complejas redes entrelazadas; el sistema se inicia en el tallo cerebral, va desde el bulbo raquídeo hasta el mesencéfalo, y su misión fundamental es la de mantener el estado de alerta y el de sueño, porque contiene componentes ascendentes y descendentes, de función estimulante y depresora. Dentro del SRA se encuentran centros que regulan la respiración, presión sanguínea, función cardíaca, vigilia, hambre, etc. (Fig. 7.19). También interviene en la regulación de los impulsos sensoriales la formación de los reflejos condicionados, el aprendizaje y el estado de conciencia. La afectación de la regulación de éste provoca el coma, en sus diferentes grados de profundidad, según la desconexión que presente el sujeto con el mundo exterior (responda o no a los estímulos sonoros, táctiles o dolorosos).

Barrera hematoencefálica

Es famosa la experiencia de Ehrlich en la que descubrió que un colorante hidrosoluble como el azul tripán, cuando se inyecta i.v., penetra en muchos tejidos pero no en el cerebro. De aquí surgió la idea de una «barrera hematoencefálica», cuya explicación fisicoquímica se encuentra en el alto contenido lipídico del tejido nervioso y en la estructura de los capilares sanguíneos que irrigan el cerebro, más complicada que la de otros vasos. La pared del capilar cerebral está formada, de dentro a fuera, por una *capa endotelial*, constituida por célu-

las hexagonales muy juntas entre sí (a menos de 20 Å). Las células son muy delgadas, lo que permite ser atravesadas por las sustancias en ambas direcciones, mediante procesos de difusión pasiva y activa; para estos últimos la membrana de estas células endoteliales posee una gran carga enzimática, agentes de elevada actividad metabólica. Cubriendo el endotelio está la *membrana basal*, formada por colágeno, glucoproteínas y mucopolisacáridos; es hidrófila y puede ser atravesada por moléculas grandes. Sobre la membrana basal hay un revestimiento discontinuo formado por los *pericitos*, células con forma de araña, cargados con lisosomas y vesículas de pinocitosis y plasmalémicas (respectivamente, en el citoplasma o en la membrana citoplasmática), indicativos de una actividad fagocitaria. Finalmente, hay un revestimiento glial formado por los pies de los astrocitos, que los separan de las neuronas (Fig. 7.20).

Como consecuencia de esta disposición morfológica, los capilares poseen una permeabilidad muy selectiva que sólo permite el paso desde la sangre al tejido nervioso y viceversa de gases, pequeñas moléculas muy liposolubles y sustancias e iones de bajo peso molecular (glucosa, aminoácidos, etc.) que precisan el transporte activo. En el caso de edema cerebral, se ha visto que aumenta el número de vesículas plasmalémicas, que llegan hasta fusionarse y formar canales que aumentan notablemente la permeabilidad capilar.

La hipertensión y las soluciones hiperosmóticas también incrementan la permeabilidad.

La generalidad de los capilares sanguíneos son muy permeables para moléculas polares de p.m. < 30.000, mientras que para p.m. superiores el paso

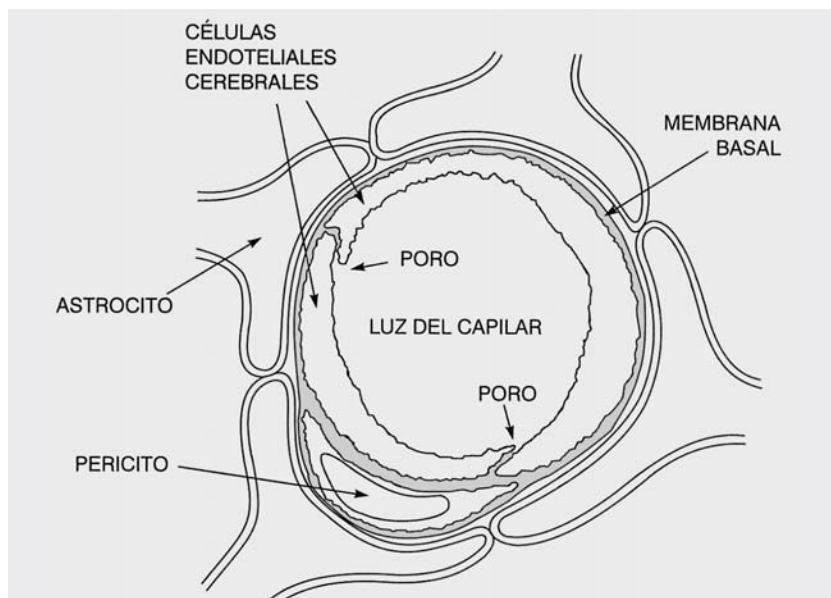


Figura 7.20. Barrera hematoencefálica, de permeabilidad selectiva.

puede ser lento (horas) o casi nulo; sin embargo, las moléculas apolares, liposolubles de cualquier tamaño, atraviesan la pared rápidamente.

Además, las sustancias que se disuelven en el líquido cefalorraquídeo (LCR) se eliminan pronto, por la continua dilución y renovación de éste.

NEUROTOXICOLOGÍA

En la producción de procesos tóxicos sobre el SN podemos distinguir tres niveles de fenómenos fisiopatológicos, según su localización.

I. Fenómenos localizados *preferentemente* en el sistema nervioso central; son producidos por fármacos psicotropos, hidrocarburos, sulfuro de carbono, alquilmercurio, bromuro de metilo, barbitúricos, etc.

II. Fenómenos localizados *preferentemente* en el sistema nervioso periférico, producidos por compuestos organoplúmbicos y organoestánicos, organofosforados, talio, acrilamida, disolventes lipófilos y procesos inmunitarios.

III. Fenómenos neurotóxicos acompañados de alteraciones en otros órganos y sistemas, producidos, por ejemplo, por tetracloruro de carbono, monóxido de carbono, etc.

Es obvio señalar que los productos indicados no actúan «exclusivamente» en los diferentes niveles, sino sólo «preferentemente».

Desde el punto de vista orgánico, también hay que distinguir dos formas de afectación:

- A) Trastornos funcionales sin lesión permanente.
- B) Lesiones estructurales persistentes, sean o no posteriormente reversibles.

Por otra parte, podemos encontrar localizada la lesión, especialmente en los primeros momentos, en los siguientes puntos: *a)* cuerpo neuronal; *b)* axón; *c)* neuroglia (astrocitos y oligodendrocitos); *d)* sinapsis; *e)* músculo, y *f)* vasos sanguíneos (Fig. 7.21).

Como consecuencia, distinguimos las siguientes patologías:

1. Neuronopatías, por afectación del cuerpo celular o neuronal.
2. Axonopatías (que pueden ser distales o proximales, según que la lesión se produzca lejos o cerca del cuerpo celular).
3. Mielinopatías, por deterioro de la vaina de mielina.
4. Afectación transmisional, ya sea a lo largo del axón o en la sinapsis.
5. Miopatías o afectación muscular derivada de trastornos en la inervación del paquete muscular.
6. Vasculopatías del sistema nervioso.

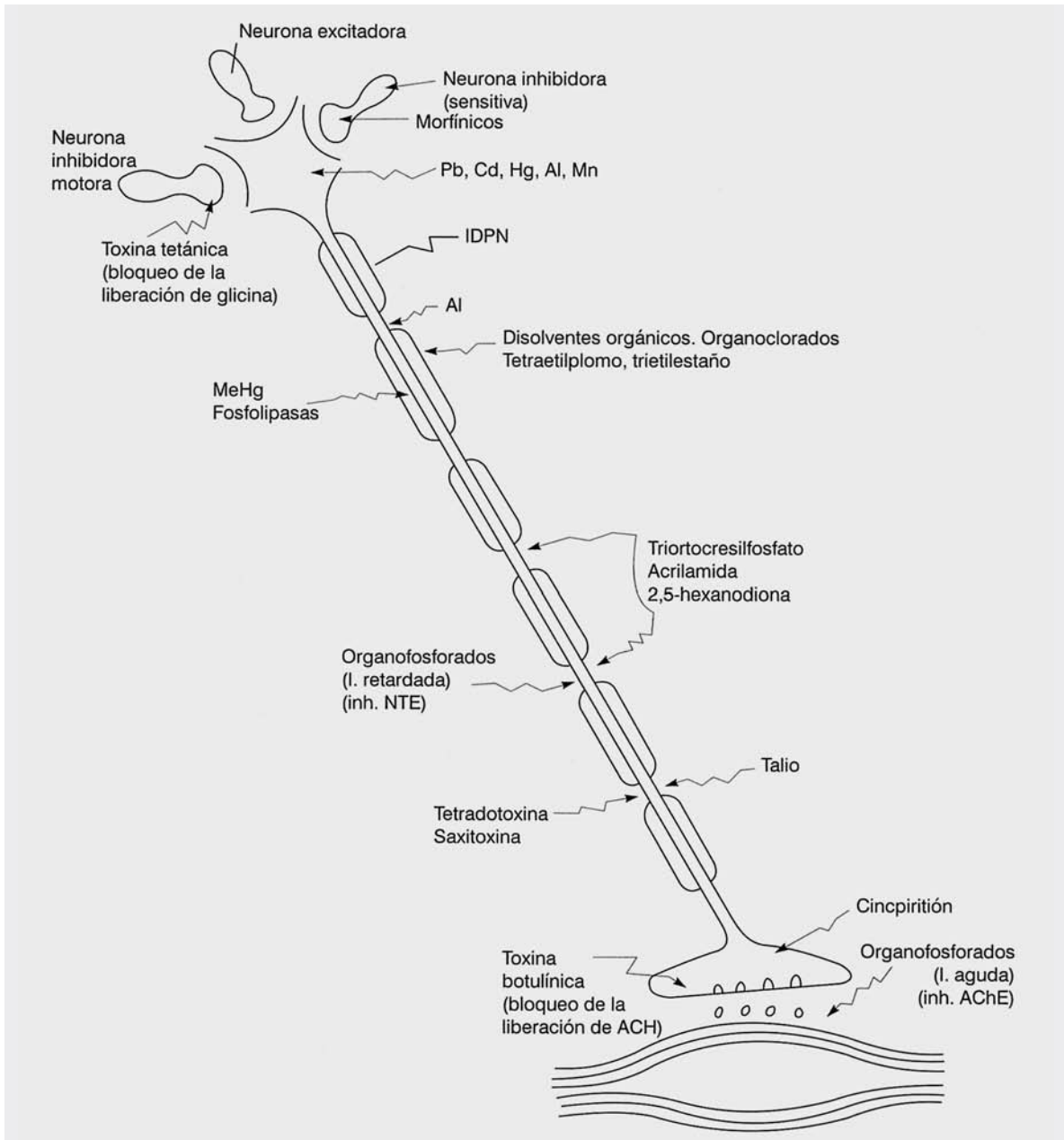


Figura 7.21. Localización de acciones neurotóxicas.

Neuronopatías

Como se ve, distinguimos la neuronopatía (alteración del cuerpo celular neuronal) de la neuropatía (afectación de cualquier elemento de la neurona).

La parte más sensible de una neurona es, lógicamente, el cuerpo celular (pericarion) y, dentro de éste, el núcleo, cuya afectación es absolutamente irreversible.

Se produce ésta, fundamentalmente, por causa nutricional o respiratoria (deterioro de la irrigación

Por su parte, el segmento proximal del axón, comprendido entre la lesión y el cuerpo neuronal, puede experimentar la llamada *degeneración retrógrada*, en la que el cabo se retrae hasta formar un corto muñón, y puede afectar la célula, que se tumefacta y redondea, desplazándose el núcleo hacia la periferia (células en ojo de pez). Además, los grupos de Nissl, que las neuronas intactas revelan al ser teñidas con azul de toluidina, no se colorean (cromatolisis). Si el cuerpo neuronal no se lesiona, puede producirse regeneración axonal en el SNP, aunque no en el SNC. La degeneración del axón suele afectar secundariamente la vaina de mielina y a la inversa.

La mayor parte de los axonotóxicos actúan bien primariamente sobre el cuerpo celular y secundariamente sobre el axón, bien directamente en la porción distal del axón, seguido de progresión retrógrada; se conocen pocas sustancias, como el β , β' -iminodipropionitrilo (IDPN) y el aluminio, que afecten inicialmente la porción proximal. El IDPN da lugar al llamado «síndrome del vals», porque altera el mantenimiento del equilibrio del individuo al producir degeneración de los neurofilamentos del epitelio ciliado vestibular (véase ototoxicidad); también lesiona al neuroepitelio olfatorio.

Sustancias como el sulfuro de carbono, la acrilamida, los metabolitos de los hidrocarburos de 6 y 7 átomos de carbono, dicetonas, etc., actúan sobre la porción distal del axón afectando los neurofilamentos, que se compactan e interrumpen el transporte axoplásmico; otras sustancias como el triortocresil fosfato (fosfato de triortocresilo, TOCP) y el dipiritionato de cinc producen lesiones tubulovesiculares en el retículo endoplásmico liso de la porción distal.

Hemos visto que, en condiciones de reposo, la membrana del axón está altamente polarizada, con carga positiva en la cara exterior, gracias a la presencia de iones Na^+ , y negativa en la interior, por los iones K^+ ; a la llegada de un estímulo, la membrana abre los canales de Na^+ , que permiten la entrada de sodio y se despolariza; pues las toxinas tetrodotoxina (TTX) y saxitoxina, que se encuentran en ciertos peces y moluscos, bloquean, mediante su grupo guanidinio, el canal de sodio impidiendo la entrada de éste. Por el contrario, los insecticidas DDT y piretroides se unen a los canales de sodio abiertos y evitan que se cierran, por lo que no puede producirse la repolarización, prolongándose la despolarización y ocasionándose hiperexcitación.

La lesión de los axones de los nervios periféricos se manifiesta como neuritis o neuropatías.

Se conoce como *neuritis*, en sentido estricto, la inflamación del nervio periférico, aunque a veces se aplica a otras lesiones nerviosas, por lo que algunos autores prefieren denominar *neuropatía periférica* a las patologías de causa no inflamatoria.

Se distinguen la *mononeuritis* y la *polineuritis*; si la afectación es en la raíz nerviosa, a la salida del nervio de la médula, se denomina *radiculitis*. Las etiologías más frecuentes son la infección, la compresión (por tejidos duros o inflamados) o la intoxicación. En ocasiones se debe a carencia vitamínica, normalmente de aneurina, tiamina o vitamina B_1 , y en ocasiones (tras administración de isoniazida o gran consumo de etanol) de piridoxina o B_6 .

La sistomatología comienza con hormigueos (parestesias) y continúa con dolor, anestesia, pérdida de reflejos, hipotonía, paresia, parálisis y atrofia de los músculos inervados por el nervio afectado.

En las intoxicaciones es más frecuente y lógica la polineuritis que la mononeuritis. Aquella supone la afectación simétrica y distal de un nervio, es decir, se presenta en el mismo nervio de ambos brazos o piernas, y normalmente con alteración tanto sensitiva como motora y vegetativa; en el hombre se afectan más frecuentemente los miembros inferiores que los superiores.

En los brazos se producen temblores y torpeza para los movimientos finos (abrocharse un botón), mientras que en las piernas suele afectarse el grupo muscular anteroexterno, lo que deja a los pies colgando, péndulos, y obliga a levantar exageradamente la rodilla al andar.

Los principales tóxicos polineuríticos son: Pb, Cu, As, Bi, Cr, Tl y disolventes orgánicos.

La mielina y los axones pueden regenerarse, pero las lesiones con destrucción de neurona son irreversibles; sin embargo, la gran cantidad de neuronas en el SNC y su plasticidad permiten que, al cabo del tiempo, su función pueda ser realizada por otras neuronas que adquieren tal capacidad. De esta forma es posible la recuperación de las funciones orgánicas cuando la destrucción neuronal no ha sido excesivamente numerosa.

Mielinopatías

La afectación de la vaina de mielina puede ir acompañada o no de lesión axonal. Si primero se pro-

duce ésta y después aquella, hablamos de desmielinización secundaria. Otras veces hay desmielinización y alteración funcional, sin que se alteren los axones. Esto es lo que ocurre, por ejemplo, en la enfermedad conocida como esclerosis múltiple o en placas, así llamada por la aparición de placas cicatriciales en la sustancia blanca, a consecuencia de la sustitución de células de oligodendroglia por astrocitos.

En las neuropatías desmielinizantes se produce primeramente una retracción de la célula de Schwann; esto ocurre normalmente en algunas células de Schwann distribuidas al azar, por lo que recibe el nombre de *degeneración segmentaria*, que se suele presentar en las fibras más largas, con predominio distal, aunque a veces hay una selección de segmentos radiculares, como ocurre en las neuropatías alérgicas. Los nervios sensitivos son más sensibles que los motores.

Después de una dilatación o tumefacción de la mielina próxima a los nódulos de Ranvier, se produce la disociación de la vaina con formación de masas redondeadas y desintegración de los lípidos en sus grasas neutras (detectables por coloración con sudán III y rojo escarlata); por fagocitosis y arrastre de los restos grasos se originan unos espacios o vacuolas, que posteriormente pueden rellenarse de líquido.

Cuando este proceso se desarrolla en los nervios periféricos o en sus raíces se producen polineuropatías desmielinizantes, una de cuyas formas más interesantes es el síndrome de Guillain-Barré, cuadro paralítico simétrico que comienza con parestias y debilidad en los pies, que asciende hasta llegar a los nervios craneales y a veces con debilidad respiratoria. Su aparición se relaciona con infecciones víricas y con exposición a diferentes tóxicos, especialmente metales pesados (plomo), pero su mecanismo parece de base inmunitaria, pues los nervios se infiltran con linfocitos y neutrófilos, y hay destrucción segmentaria de la mielina. La desmielinización y vacuolización de las neuronas del SNC originan las encefalopatías conocidas como «degeneración esponjosa», como la producida en cerebro y cerebelo por el etanol.

A veces no es necesaria una destrucción de la mielina, ya que basta con que el tóxico se disuelva en ella, alterando la disposición espacial de sus micelas, para que se modifique la capacidad dieléctrica de esta cobertura aislante y, consecuentemente, la velocidad del impulso nervioso.

Si la neurona no pierde su vitalidad, puede restaurarse posteriormente el daño merced a procesos proliferativos de las células de Schwann, que se dividen y forman cadenas conocidas como bandas de Hanken-Bünger; esta restitución puede ocurrir en el SNP pero no en el SNC.

Como consecuencia de la desmielinización, los axones afectados conducen mal los impulsos nerviosos; lo hacen por el sistema de conducción continua o lenta; como la desmielinización se produce por etapas y en diferentes sectores del axón, al principio del cuadro tóxico la conducción es mezcla de saltatoria y continua, conforme el impulso pasa por sectores intactos o sin mielina; esto también puede ocurrir durante la recuperación parcial.

La etiología de estas afectaciones puede ser viral, inmunitaria o tóxica. Puede decirse que los tóxicos desmielinizantes son productos muy liposolubles de gran afinidad por los lípidos y membranas celulares, y por ello destacan como tales los disolventes orgánicos, especialmente los hidrocarburos halogenados y los productos organoclorados de empleo como insecticidas (DDT, clordano, HCH, etc.). Se sabe que el hexaclorofeno, usado como desinfectante, la acetil-tetrametil tetralina, empleada como odorizante de cosméticos, la triaquinina y los compuestos orgánicos de plomo y estaño, etc., producen tumoraciones y disrupción de la mielina, que también se presenta tras reacciones antígeno-anticuerpo. Conocemos casos de afectación humana, con postración de los afectados a un estado de vida vegetativa.

Afectación transmisional del impulso nervioso

En la fisiopatología de los procesos de la conducción nerviosa podemos distinguir varios mecanismos bioquímicos consecuentes a diferentes lugares de acción.

Los principales son:

- a) En la sinapsis.
 - a.1. Modificación en los niveles de neurotransmisor.
 - a.2. Interacciones con el receptor.
 - a.3. Interferencia con los nucleótidos cíclicos.
- b) En el axón.

- b.1. Alteración de la mielina.
- b.2. Disregulación del balance iónico y energético. Afectación de los canales iónicos.

Veamos brevemente en qué consisten estos procesos fisiopatológicos.

a.1. Modificación en los niveles de neurotransmisor

Puede tener varios orígenes:

1.1. Bloqueo de la síntesis del transmisor. Ello puede ocurrir por:

1.1.1. Insuficiente aporte de las sustancias precursoras para la síntesis; puede tener una causa alimentaria, o bien deberse a que un tóxico (como los alquilmercurio) altere la membrana del extremo presináptico e impida la captación del precursor.

1.1.2. Sustancia precursora falsa o inapropiada. Es el caso de la absorción de alfa-metil-p-tirosina, que desplaza la tirosina en la síntesis de catecolaminas, conduciendo a unos productos inútiles como neurotransmisores.

1.1.3. Deficientes niveles de las enzimas sintetizadoras de catecolaminas (tirosina-hidroxilasa, que se inhibe por Mn, por ejemplo) bien por causa genética o por inhibición por tóxicos; así, la dopamina-beta-hidroxilasa, sintetizadora de dopamina, se inhibe por CO₂, Pb, Mn.

1.1.4. Depleción de los transmisores contenidos en los botones sinápticos. El alcaloide reserpina produce el vaciamiento de las vesículas con desperdicio de las catecolaminas.

1.1.5. Inhibición de las enzimas destructoras del transmisor, como por ejemplo, los organofosforados y los carbamatos, que bloquean la acetilcolinesterasa, encargada de eliminar la acetilcolina para interrumpir su acción. Igualmente los inhibidores de las monoaminooxidasas o de las catecoloximetiltransferasas. Al no destruirse secuencialmente el transmisor se multiplica el estímulo.

1.1.6. Presencia de sustancias que impiden la recaptación del transmisor por el terminal presináptico (cocaína, clorpromazina, imipramina, butirofenona); como en el caso anterior, quedará un exceso de transmisor en las sinapsis, aunque no actúan cuando hay bloqueo del receptor.

1.1.7. Bloqueo de liberación, por ejemplo, de acetilcolina (ACh) por toxina botulínica, o de glicina por toxina tetánica o tetanosospasmina.

a.2. Interacciones con el receptor

Se trata de una acción de tipo antagonista, en la que el tóxico ocupa receptores y órganos diana de sustancias fisiológicas. En el caso del transporte de oxígeno por la hemoglobina tenemos su bloqueo por el CO, y en el terreno neurológico recordemos que los opiáceos (morfina y homólogos) ocupan los receptores propios de las encefalinas.

El insecticida diisopropil-fosorofluoridato (DFP), además de inhibir a la acetil-colinesterasa (AChE) y la NTE (véase más adelante), se une al receptor nicotínico y bloquea directamente la transmisión.

a.3. Interferencia con los nucleótidos cíclicos

Se sabe que tanto el AMP-c (adenosinmonofosfato cíclico) como el GMP-c (guanosinmonofosfato cíclico) desempeñan importantes papeles en la transmisión del impulso y en su control por retroacción. Algunas sustancias modifican la síntesis o la destrucción de los nucleótidos; así, las metilxantinas (cafeína y teofilina) inhiben las fosfodiesterasas que degradan el AMP-c a 5'-AMP y el GMP-c a 5'-GMP, prolongando la acción de los nucleótidos y, por tanto, la estimulación.

b.1. Alteración de la mielina

Cuando se produce una alteración de la estructura y capacidad aislante de la vaina de mielina, como ya hemos visto, la transmisión del impulso nervioso se hace muy lenta, como en los nervios sin mielina.

b.2. Disregulación del balance iónico y energético. Afectación de los canales iónicos

La propagación del impulso se basa en los intercambios de los iones Na⁺ y K⁺, a través de la membrana, y a la posterior recuperación del equilibrio, mediante la bomba de sodio, con consumo de energía (ATP) y la intervención de la enzima Na⁺, K⁺-ATPasa. El proceso resulta afectado por todos aquellos tóxicos que alteran la fosforilación oxidativa, como el metanol, la ouabaína, los iones flúor o plomo, etc. Parece que el mercurio orgánico impide la participación de las flavoproteínas en el metabolismo energético neuronal.

Otras sustancias, como la tetrodotoxina y las ficotoxinas, poseen un grupo guanidinio, que mimetiza el sodio bloqueando su canal y produciendo parálisis neuromuscular junto con depresión cardíaca; la tetrodotoxina se encuentra en los peces globo (*tetraodontidae*) como el fugu, que es comido por los japoneses después de quitarle la glándula con el tóxico; las ficotoxinas son, producidas por dinoflagelados, constituyentes del plancton marino, que, cuando por condiciones ecológicas especiales (temperatura, contaminación, etc.) proliferan en exceso, originan las llamadas mareas rojas; al ser concentrada por los moluscos, éstos transmiten al hombre que los ingiere la toxina bajo el nombre de mitilotoxina (toxina del mejillón), con producción de trastornos gastrointestinales y musculares por afectación nerviosa.

Se han caracterizado cerca de 100 especies de microalgas unicelulares productoras de ficotoxinas, de las que también se ha identificado un buen número, distribuidas en dos grupos: las conocidas por el acrónimo inglés PSP (*paralytic shellfish poison*) que son paralizantes, y las DPS, diarreicas; todas ellas se encuentran no sólo en el mejillón, almejas y demás moluscos bivalvos, sino que también pueden hallarse en crustáceos, aunque los primeros, que se alimentan filtrando grandes cantidades de agua, retienen las toxinas y las acumulan en el hepatopáncreas en cantidades peligrosas para el consumidor, si no se han mantenido en viveros depuradores.

De las toxinas PSP, producidas por los géneros *Gonyaulax*, *Gymnodinium*, *Alexandrium*, etc., se conocen más de 12, unas con radical carbamato, otras sin él, y otras con sulfocarbamato, pero todas con el núcleo imidazol guanidínico que es el que bloquea, de forma reversible, el receptor 1 del canal de sodio de las neuronas, por lo que produce, según la dosis, dificultad de movimientos, parálisis muscular progresiva, depresión cardíaca, y puede llegarse a muerte por parada respiratoria. Se distinguen las toxinas tipo saxitoxina (STX) y gonyautoxina (GTX).

En el caracol de mar se ha identificado un péptido, ω -conotoxina (CTX), que bloquea los canales de calcio.

Las toxinas DSP son segregadas, fundamentalmente, por los géneros *Dinophysis* y *Prorocentrum*, y su acción específica es inhibir distintas fosfatasa implicadas en la transducción de señales; el

efecto más llamativo es la diarrea, aunque también algunas son cardiotoxinas, hepatotóxicas o tumorígenas. Las más estudiadas son el ácido okadaico, yesotoxina y dinofisistoxinas.

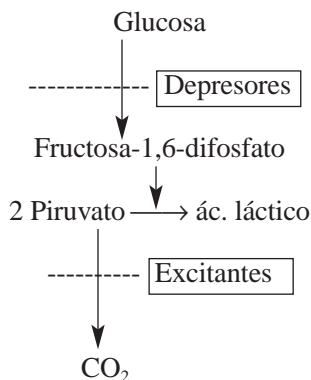
Hacia 1990 se encontró en moluscos un aminoácido tóxico, el ácido domoico producido por unas diatomeas, cuya ingestión origina trastornos nerviosos y gastrointestinales junto con pérdida de memoria, por lo que se le denomina *toxina amnésica* (ASP), pero su mecanismo no es el aquí considerado, sino uno excitatorio y citotóxico neuronal similar al del ácido glutámico.

Los productos que actúan como anestésicos locales (cocaína, etc.) evitan la despolarización del axón, bloqueando la conductancia del sodio en los nervios sensitivos.

Los insecticidas piretroides, a grandes dosis, bloquean igualmente la excitabilidad, pero a dosis menores retrasan el cierre de los canales de sodio, de la misma manera que los compuestos organoclorados tipo DDT, lo que produce una corriente residual que se manifiesta como hiperexcitación nerviosa y convulsiones. Por el contrario, el alcaloide grayanotoxina abre los canales de sodio. Además los piretroides y otros organoclorados (lindano, ciclodienos) antagonizan la acción del GABA disminuyendo el flujo de Cl^- y de Ca^{2+} .

Entre los trastornos de carácter funcional hemos de destacar los que consisten en una alteración del metabolismo de la glucosa. Efectivamente, se ha visto que en muchas intoxicaciones los niveles de glucosa en el cerebro se mantienen muy altos (del orden del 50 % del normal, en intoxicaciones por éter, cloroformo, trietilestano, tetraetilplomo, barbitúricos y clorpromazina), lo que puede deberse a una disminución de la fosforilación. Se ha visto que la incorporación de fósforo marcado (^{32}P) en diversos componentes cerebrales, como son los fosfolípidos, disminuye claramente, produciéndose simultáneamente un decremento de la temperatura corporal (hipotermia) y del consumo de oxígeno, lo que supone una clara inhibición del metabolismo cerebral.

Esto parece ser cierto para algunos tóxicos depresores del SN, en tanto que para los tóxicos estimulantes se supone que hay un bloqueo de la oxidación del piruvato en el ciclo de los ácidos tricarbónicos, porque se encuentran altas concentraciones de ácido láctico. El mecanismo puede representarse como sigue:



También existe abundante información sobre la modificación de las concentraciones cerebrales de aminoácidos en animales tratados con diversas sustancias. Así se sabe que las sustancias depresoras del SNC disminuyen los niveles cerebrales de los ácidos glutámico y gamma- aminobutírico, en tanto que los excitantes elevan el contenido de alanina. Estos hallazgos pueden estar relacionados con las citadas alteraciones metabólicas, pues, si la alanina se obtiene por aminación del ácido pirúvico, se explica fácilmente el aumento de aquélla al elevarse el piruvato.

Miopatías

Las lesiones nerviosas acaban por afectar los músculos que debieran recibir la inervación correspondiente. En el músculo hay una zona especializada, llamada placa motora, a la que llega el nervio motor. Cuando en el terminal del axón se libera el transmisor (acetilcolina), éste provoca la despolarización de la membrana con liberación del potencial de acción que contrae el músculo; esta contracción facilita la llegada de sangre y la nutrición muscular, por lo que cuando un músculo no recibe estímulos se debilita y atrofia; por el contrario, cuando recibe estímulos exagerados, por la presencia de tóxicos excitantes, permanece hiperpolarizado y mantiene su contracción.

Las lesiones motoras son prontamente objetivables mediante técnicas electromiográficas (EMG). (Véase apartado de Rabdomiolisis en el Capítulo 16).

Vasculopatías tóxicas

En ocasiones la afectación del tejido se produce secundariamente a una alteración del endotelio de

los vasos sanguíneos que lo riegan. Los derivados de arsénico, aluminio, cadmio, mercurio, plomo, talio, estaño, etc., se unen a los grupos tioles de las células endoteliales y aumentan la permeabilidad de la pared de los vasos, lo que permite la salida al espacio extracelular de sangre (hemorragia) o plasma (edema), originando una encefalopatía con muerte de neuronas. La falta de oxígeno (anoxia), por ejemplo en intoxicación por CO, también produce lesión endotelial y edema.

También producen edema cerebral el etanol, ciclohexanona, metilsulfoxina, monóxido de carbono, ácido cianhídrico, etc.

Las vasculopatías de origen inmunitario (reacciones de hipersensibilidad) pueden afectar el endotelio vascular y originar edemas o producir obstrucciones por los complejos antígeno-anticuerpo, y alterar el riego sanguíneo del tejido, con la consecuente afectación neurológica. (véase el apartado anterior de Fisiopatología de los vasos).

Neuropatías tóxicas de especial interés

a) *Intoxicación por organofosforados*. Puede presentarse en una forma aguda, por inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), lo que origina un síndrome muscarínico y otro nicotínico, según sean antagonizables o no por la atropina; al no destruirse la acetilcolina en las sinapsis hay una sobreestimulación con hipersecreciones, temblores y convulsiones.

Pero también puede presentarse como una toxicidad retardada que producen algunos de estos compuestos, incluido el triortocresilfosfato, que no se debe a este mecanismo, sino más bien a un fenómeno de degeneración retrógrada, que comienza en las fibras sensibles del huso muscular (como en la deficiencia de tiamina) y progresa afectando las fibras motoras, alcanzando la médula espinal, el romboencéfalo, núcleos cerebelosos, etc., donde se puede encontrar necrosis generalizada de la sustancia blanca. (Repetto *et al.*, 1995.).

Los síntomas se presentan en forma retardada, 8-14 días después de una absorción del compuesto, incluso una vez que el individuo se recuperó de la intoxicación aguda; se produce debilidad, ataxia y hasta parálisis en las extremidades inferiores, y a veces en las superiores. La lesión primaria se origina en el axón, al bloquearse el transporte axonal

retrógrado, con desmielinización secundaria, y progresa en forma retrógrada desde el lugar de afectación hacia el cuerpo neuronal. El mecanismo no se conoce en su totalidad. Parece que determinados compuestos inhiben una esterasa de la membrana del axón, que ha sido denominada NTE (esterasa de implicación neurotóxica); se piensa que el bloqueo de la enzima desencadena un mecanismo probablemente inmunitario que lesiona el axón. Johnson *et al.* (1975) encontraron que esto se produce con algunos organofosforados (OF), pero no con otros, por lo que se define a la NTE como una fenilvalerato-esterasa sensible al mipafox pero resistente al paraoxón.

Sin embargo, según Abou Donia (1990) la degeneración del citoesqueleto axonal ocurre cuando el OF activa a la calcio-calmodulinaquinasa y se fosforilan las tubulinas y las MAP.

La extensa familia de compuestos organofosforados presenta una gran diversidad estructural y, consecuentemente, muy diferente electrofilia en sus átomos de fósforo, ya que ésta y la reactividad son grandemente determinadas por los sustituyentes en la molécula; así, si el doble enlace $P=O$ hace al P muy electrófilo, más lo es cuando hidrógenos de la molécula han sido sustituidos por átomos de halógeno.

b) En la *afectación por metilmercurio* se producen grandes cambios histológicos en toda la fibra, posiblemente a consecuencia de desorganización de la síntesis proteica. Se ha visto que el metilmercurio reacciona con un grupo de fosfolípidos propios de las células nerviosas, llamados plasmalógenos. Estos fosfolípidos tienen un enlace viniléter ($CH_2 = CH - O -$), en lugar de los enlaces éster de la mayor parte de los lípidos. Parece que el alquilmercurio, al reaccionar con el plasmalógeno, rompe el enlace viniléter y lo hidroliza con liberación de aldehídos esteáricos y palmíticos, tóxicos a su vez, y que contribuyen a alterar la estructura de la membrana y a la lisis celular. Concluye con degeneración neuronal, especialmente en corteza visual, cerebelo y ganglios nerviosos. En cierto modo este mecanismo de acción es similar al del veneno de serpientes, que contiene fosfolipasas que hidrolizan los plasmalógenos con producción de otras sustancias tóxicas. El metilmercurio también inhibe la captación de precursores y la liberación de ACh.

c) La *neurotoxicidad de los hidrocarburos* requiere especial atención. Tradicionalmente se consideraba que los hidrocarburos alifáticos, por ser moléculas relativamente inertes («parafínicos»), poseían baja toxicidad, reducida a fenómenos de anestesia o narcosis transitoria, al aumentar la fluidez de la membrana, aunque en menor medida que los hidrocarburos aromáticos. Pero se ha comprobado que la acción metabólica de los sistemas enzimáticos microsómicos sobre los alcanos origina productos de gran neurotoxicidad, por un mecanismo similar al visto anteriormente.

Las primeras neuropatías de este tipo se descubrieron en trabajadores expuestos a n-hexano en imprentas, fábricas de zapatos y sandalias, de pinturas de muebles, etc. El síntoma inicial es de carácter sensitivo, y progresa a sensoriomotor en las extremidades, de forma simétrica, con una distribución tipo «calcetín-guante». El cuadro aparece entre los meses primero y décimo de iniciada la exposición, normalmente hacia el tercer mes.

Posteriormente, la afectación se extiende al SNP y SNC, con debilidad muscular, parestesias, fatigabilidad, visión borrosa, dolor de cabeza, atrofia musculares, reflejos hipo-hiperactivos, dolores y cuadriplejia flácida, en los casos severos. La biopsia de nervios periféricos muestra destrucción de la vaina de mielina y degeneración del axón; al producirse disminución de la velocidad de conducción, se origina atrofia muscular correspondiente a una denervación, como se demuestra por electromiografía y electroneurografía.

En estos estudios, y en otros efectuados con individuos que utilizaban colas sintéticas para su trabajo o como drogadicción (*sniffing*), se vieron anomalías histológicas y síntomas no distinguibles de las producidas por el triortocresilfosfato (TOCP) y la acrilamida. El primero ha originado intoxicaciones masivas por su presencia en alcohol y en aceites adulterados y por su uso como plastificante en papel de envolver mantequilla, en tanto que la acrilamida ($CH_2 = CH - CO - NH_2$) utilizada en preparados floculadores de sistemas acuosos, es absorbida a través de la piel. Se produce pérdida de sensibilidad, debilidad en las extremidades y ataxia; por la similitud con la neuropatía por deficiencia de tiamina, se pensó que la lesión se inicia en el pericarion o cuerpo celular con posterior afectación del transporte axonal. La gallina es el animal que, tras la administración de bajas dosis de trior-

tocresilfosfato (TOCP), más pronto evidencia signos de intoxicación, de una forma similar a como ocurre en el hombre. Hacia los 8 días aparecen (en ambas especies) parálisis motora en las piernas (parálisis flácida de los músculos extensores) y fuerte ataxia; en algunos casos también se ha observado parálisis en brazos de humanos, pero no se detectó afectación de alas o colas de las aves. Posteriormente se han observado idénticas neuropatías en individuos y animales expuestos a heptano, metiletilcetona (MEC) y metil-n-butilcetona (MNBC). Mediante experimentación animal se ha comprobado que tanto el n-hexano como las dos cetonas citadas poseen metabolitos comunes, 2,5-hexanodiona, 5-hidroxi-2-hexanona y 2-hexanol; administrados estos y otros productos relacionados a ratas, se encontró que tanto la 2,5-hexanodiona como el 2,5-hexanodiol son los agentes neurotóxicos.

En pacientes con antecedentes de uso de pinturas y lacas con tinner (disolvente técnico con acetona, n-hexano, xileno, isopropanol y ésteres isopropílicos, isobutanol y ésteres isobutílicos y 2-heptanona), se ha encontrado, además de desmielinización segmentada o generalizada, inflamación de los axones, algunos de los cuales aparecen rellenos de neurofilamentos. Esta masiva hiperplasia de microfilamentos, observada en los ensanchamientos paranodales de los axones de los nervios sural, tibial y otros, parece ser el primer paso de la neuropatía por disolventes, del que secundariamente deriva la destrucción de la mielina, desencadenándose una degeneración retrógrada. Al parecer, el metabolito tóxico penetra por el nódulo de Ranvier en el axón y lesiona por contacto los neurofilamentos, obstruyéndolos e interrumpiendo el flujo axoplásmico, lo que produciría la degeneración distal en SNP y SNC. Se acepta este mecanismo para el n-hexano y la acrilamida, sin embargo, el TOPC además de inhibir a la colinesterasa, basa su acción en la inhibición de la NTE que hemos visto en el apartado a).

d) La absorción de manganeso produce encefalopatía, con degeneración neuronal en varios núcleos de encéfalo y cerebelo (células de Purkinje) y producción de síntomas extrapiramidales y de parkinsonismo. También inhibe varias enzimas sintetizadoras de neurotransmisores (catecolaminas y dopamina) (véase apartado a. 1. 1. 3).

Se asocia con trastornos psíquicos como inestabilidad emocional, alucinaciones, etc. La administración de L-dopa mejora la sintomatología.

Un compuesto mal denominado «heroína sintética», el 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) también produce un síndrome parecido al Parkinson. En su metabolismo se origina un ion piridinio que penetra y degenera las neuronas dopaminérgicas de la *sustancia nigra* y del *locus ceruleus*. El metabolito formado es el 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺), que utiliza el transportador de la dopamina y penetra y se acumula en la matriz mitocondrial de las células gliales del cerebro, donde interrumpe la cadena de transporte de electrones y la producción de ATP, con incremento de los niveles de TNF- α , citoquina proinflamatoria, conduciendo a atrofia neuronal.

La 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) presente como impureza en la meperidina, utilizada como heroína, se transforma en el cerebro, en los astrocitos, por oxidación, en 1-metil-4-fenilpiridina (MPP⁺) que genera especies reactivas de oxígeno, las cuales pueden provocar necrosis celular. La MPTP, como otras moléculas que contienen piridina o isoquinolina, y los derivados de la β -carbolina, son análogos al neurotransmisor dopamina y pueden utilizar el mismo transportador que ésta para penetrar en las neuronas dopaminérgicas, lesionarlas y provocar una forma de enfermedad de Parkinson. Así, la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (TIQ), que se encuentra en los opiáceos y como contaminante en algunos alimentos, se metaboliza en el cerebro por la 2-metiltransferasa a 2-metil-TIQ, la cual produce sobre las células dopaminérgicas gliales del cerebro el mismo efecto que la MPTP. También, el insecticida agrícola de origen vegetal rotenona (véase capítulo 2, Toxicidad de sustancias naturales) interrumpe la cadena electrónica, degenera las neuronas pigmentadas dopaminérgicas y provoca acumulación de α -sinucleína, conocida como cuerpos de Lewy, signo clásico de las neuronas del Parkinson.

e) La intoxicación por plomo presenta muy diferente cuadro según que el agente se encuentre en forma de compuesto inorgánico (sal u óxido) o en forma orgánica (tetraetilplomo). Los primeros originan, fundamentalmente, lesión hepática y renal, y secundariamente neuropatía y encefalopatía. Las formas orgánicas, por su liposolubilidad,

afectan el SNC y el SNP. El cerebro inmaduro de los niños es particularmente sensible y la encefalopatía suele transcurrir con daño cerebral permanente, tras la aparición de edemas, necrosis laminar y desmielinización. Como secuelas pueden quedar deficiencias sensoriales, incluida ceguera y pérdida de audición, y dolores erráticos.

f) El trietilestaño origina importantes lesiones en la sustancia blanca cerebral y en los axones periféricos, aunque parece ser más tóxico para la glía y mielina del SNC que para las neuronas. Se supone que ejerce su efecto por inhibición de la ATPasa de la astrogliya y de los túbulos axonales; origina extenso edema intersticial, vacuolización y degeneración esponjosa.

Por su parte, el trimetilestaño es más neuronotóxico, ya que lesiona a los cuerpos neuronales del SNC además de a la glía. La degeneración neuronal se desarrolla a través de apoptosis, con fragmentación del ADN, que parece ser exacerbada (Galli *et al.*, 1996) por una fracción proteica, el «factor antitumoral» liberado por el trimetilestaño de las células gliales.

g) El *sulfuro de carbono*, disolvente industrial de amplio consumo, da origen en el hombre a polineuritis, temblores y psicosis, con trastornos que recuerdan los de la deficiencia de tiamina y responden a la administración de ésta, aunque la absorción crónica produce lesiones orgánicas evidentes, pudiendo observarse mayor afectación del axón que de la vaina de mielina. Al igual que las dicetonas antes citadas, el sulfuro de carbono (S₂C) forma un entrecruzamiento (*cross-linking*) con las proteínas axonales, originando un ditiocarbamato al unirse a la lisina.

h) Los compuestos *arsenicales* (pero no la forma elemental), y especialmente de las especies químicas con arsénico trivalente, son ampliamente tóxicos para diferentes tejidos, por su afinidad con los grupos tioles de las proteínas. Bloquean varias enzimas como la piruvato y succinato oxidasas, implicadas en el metabolismo energético; esto origina una neuritis distal de tipo sensitivo. En la intoxicación severa aparecen parálisis motoras que afectan primeramente los músculos peroneos y extensores de los dedos de los pies, a diferencia de las neuritis periféricas por plomo o alcohol, que

afectan primero los flexores de los pies y extensores de las manos. La neuritis también es muy similar a la producida por deficiencia de tiamina (vitamina B₁) que, como se sabe, es coenzima esencial en la oxidación del pirúvico y cuyo déficit interrumpe el ciclo de Krebs.

i) *Encefalopatía hepática*. Es un síndrome con afectación cerebral producido como consecuencia de una insuficiencia hepática. Anatomopatológicamente consiste en una proliferación difusa y agrandamiento de los astrocitos en cerebro y cerebelo, de carácter muy específico, no observado en otras afecciones. Inicialmente no se aprecian lesiones neuronales, aunque pueden extenderse a la médula, donde se produce desmielinización y destrucción de axones. La sintomatología clínica es muy compleja y variada e incluye alteraciones psiquiátricas, con cambios de la personalidad, humor, sueño, capacidad intelectual, y neurológicas, con temblores, hiperreflexia (rueda dentada y Babinski) y coma (*coma hepático*), situación extrema de esta patología, con disminución de la conciencia, de los restantes reflejos y de las respuestas a los estímulos.

Se produce cuando, por causa aguda o crónica, el hígado no puede metabolizar y detoxicar los compuestos endógenos y exógenos, especialmente los nitrogenados, amoníaco, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina). La insuficiencia renal contribuye por retener compuestos amoniacales.

j) *Encefalopatías anfetamínicas*. Tras la absorción de derivados anfetamínicos como el éxtasis o MDMA y otros, se produce liberación de serotonina con bloqueo de su recaptación, lo que desencadena un *síndrome hipertérmico* (véase Capítulo 16).

En animales se ha visto una degeneración de terminales de neuronas serotoninérgicas en varios lugares del cerebro; en periodo de abstinencia se encuentran en el hombre bajos niveles de este transmisor, y dado que el mismo participa en la regulación de la conducta, puede temerse la aparición de depresión y conductas suicidas entre los usuarios de la droga.

Por otra parte, la MDMA provoca liberación de la hormona antidiurética (ADH) por la hipófisis, lo que conduce a oliguria, y ésta a una dilución de electrolitos, que se ha visto origina una *encefalopatía hiponatémica*, que se favorece con la exce-

Tabla 7.2. Efectos neurológicos de algunos medicamentos

Medicamentos neurotóxicos	Depresores del SNC	Estimulantes del SNC	Reacción extrapiramidal
Aminoglucósidos	Alcohol	Anfetaminas	Antidep. tricíclicos
Cloranfenicol	Antidepresivos	Anestésicos locales	Haloperidol
Cisplatino	Antihistamínicos	Anoréxicos	Loxapina
Cicloserina	Antipsicóticos	Broncodilatadores	Metildopa
Disulfiram		(xantinas)	Fenotiazinas
Etambutol			Metoclopramida
Lindano			Rauwolfia
Piridoxina (g. dosis)			
Quinacrina			
Vacuna DTP			

Nota.- En el sistema nervioso se distingue una *vía piramidal*, que conecta la corteza cerebral con la médula espinal, y una *vía extrapiramidal*, que parte de los núcleos basales del encéfalo y cuya alteración por neurolepticos, anticonvulsivantes, antiarrítmicos, etc. produce unos síndromes hipertónico-hipocinético o a la inversa hipotónico-hipercinético, con disminución de fuerza y tono muscular, movimientos involuntarios (alteraciones posturales, temblores, etc.) como los típicos de la enfermedad de Parkinson.

siva ingesta de agua, estimulada por la hipertermia y la actividad física (baile).

Las acciones, algunas muy complejas, de diversos medicamentos sobre el sistema nervioso se recogen en la Tabla 7.2.

PATOLOGÍAS TÓXICAS DE LA FUNCIÓN PULMONAR

Elementos anatomofisiológicos

Cada uno de los pulmones de un hombre de 70 kg pesa unos 500 g.

Al igual que otros órganos en contacto más o menos directo con el exterior, como la piel, el estómago, etc., el pulmón realiza diversas funciones en relación con los xenobióticos, que podemos resumir así:

a) Es vía de entrada y salida de sustancias: los dos pulmones presentan, globalmente, una superficie mucosa de 100 m² de contacto con el aire; a su través se absorben gases (O₂, CO, CO₂, CNH, etc.) y vapores (éter, etanol, benceno, etc.), preferentemente liposolubles, y se eliminan los mismos y algunos de sus metabolitos, así como excretas metabólicas, como vapor de agua, dióxido de carbono, más ciertos compuestos lipídicos y aminos.

b) Es lugar de acción tóxica por contacto de sustancias irritantes y cáusticas o corrosivas (amoníaco, halógenos, óxidos de azufre o de nitrógeno, etc.).

c) Es órgano diana de tóxicos que circulan por vía sistémica (p. ej., paraquat) e incluso metabolitos de xenobióticos que han sido toxicados en otros órganos (p. ej., los alcaloides de pirrolizidina, activados en el hígado). Se dice que estas sustancias poseen una *capacidad selectiva de daño* pulmonar.

d) Tiene gran actividad de biotransformación (toxificación o destoxicación) de distintos tipos de sustancias, que después pueden producir lesiones locales o sistémicas.

e) Es capaz de retener y acumular diferentes compuestos, especialmente lipófilos y aminos (p. ej., etanol, morfina, etc.), cuya concentración tisular puede aumentar incluso después de la muerte.

El sistema respiratorio está integrado por el árbol o vías respiratorias, pulmones, músculos, nervios y vasos sanguíneos y linfáticos; posee unos 40 tipos diferentes de células, aunque las lesiones tóxicas pueden producirse, o al menos iniciarse, en sólo algunos de ellos.

El aire penetra por la orofaringe (vía nariz o boca) y, tras pasar por la tráquea, se encuentra con el árbol bronquial (bronquios y bronquiolos), que termina en los alveolos, sacos aéreos cuyo diáme-

tro es tan pequeño, que sus paredes se atraen, y según la ley de Laplace, quedarían adheridas y el alveolo colapsado si no fuera porque la pared está embadurnada por dipalmitato de lecitina (dipalmitoilfosfatidilcolina), agente surfactante o tensioactivo; los niños que nacen sin capacidad para segregar esta sustancia no pueden llegar a respirar; las personas que aspiran hidrocarburos, aceites o detergentes, sustancias que neutralizan la actividad del palmitato de lecitina, experimentan una *neumonitis lipídica*, con aguda y grave disminución de la capacidad respiratoria.

La entrada de aire en los pulmones es un proceso activo, en el que los músculos intercostales y el diafragma aumentan el volumen pulmonar; los tóxicos que contracturan o tetanizan esta musculatura (toxina tetánica, estricnina), o los que deprimen el centro nervioso bulbar que rige los movimientos respiratorios, como la toxina botulínica, los anestésicos, hipnóticos, tranquilizantes y todos los depresores del SNC, incluido el etanol a grandes dosis, pueden producir insuficiencia o paro respiratorio. Determinados olores, como el ácido sulfhídrico, pueden inhibir el nervio vago con paro diafragmático y muerte súbita.

Todo el árbol respiratorio, a excepción de los bronquiolos y alveolos, está cubierto de epitelio ciliado vibrátil; las paredes de los alveolos poseen un epitelio formado principalmente por unas células grandes, escamosas, conocidas como neumocitos tipo I, y en menor proporción por otras más pequeñas, cuboidales, los neumocitos tipo II, más las de tipo III en algunas especies animales, que se hallan dispersos entre los primeros. Las células I son planas, forman la pared del alveolo y permiten el intercambio de gases entre el espacio aéreo y la sangre de los vasos; las células tipo II son redondeadas y se localizan en el margen del alveolo con la función de segregar el surfactante fosfatidilcolina, el transporte activo de agua e iones y la regeneración del epitelio; la fosfatidilcolina disminuye la tensión superficial para mantener desplegado el alveolo y para proteger al tejido de la acción directa de los tóxicos por contacto.

Bajo esta «barrera epitelial» se encuentra el endotelio y el intersticio. Éste está formado por una mezcla compleja de proteína soluble, proteína estructural insoluble (colágeno, elastina, proteoglicanos), células contráctiles, fagocitos, fibroblastos y metabolitos celulares difusibles; las macromoléculas intersticiales y el sistema linfático juegan un

papel muy importante en el movimiento y retención de líquidos y solutos. En el último tramo de los bronquiolos disminuye el epitelio vibrátil, que es sustituido por células epiteliales granulosas, de gran actividad metabólica y secretora, conocidas como células de Clara. Estas células no ciliadas del epitelio bronquiolar; expresan altos niveles de CYP por lo que se consideran como el principal lugar de biotransformación de xenobióticos en los bronquiolos (Figs. 7.23 y 7.24).

Unas glándulas situadas en la capa submucosa de la tráquea y grandes bronquios segregan un moco, bajo un control parasimpático colinérgico; la estimulación física o por fármacos parasimpaticomiméticos, como acetilcolina, pilocarpina, metacolina, organofosforados, etc., aumenta la secreción y el contenido en glucoproteína; estos efectos pueden ser bloqueados por anticolinérgicos como la atropina. Sustancias irritantes como NH_3 , SO_x , O_3 , cromatos, etc., incrementan la secreción y pueden espesarla, pero sustancias como el cloruro amónico disminuyen la viscosidad por hidratación o disociación de enlaces.

Por procesos fisicoquímicos de gradientes de densidad y por el empuje de los cilios vibrátiles, el moco sube hasta la garganta, por lo que recibe el nombre de moco escalador, y puede ser expulsado junto con sustancias extrañas que hubiese retenido y arrastrado.

Los pulmones disponen de dos grupos funcionales de macrófagos. El primer grupo corresponde a los alveolares, que se desplazan por la capa de agente surfactante que cubre el alveolo y fagocitan las partículas inhaladas que llegan hasta aquí; son expulsados al exterior con el moco escalador o absorbidos por el sistema linfático. El otro grupo de macrófagos reside en el tejido conectivo.

Diseminadas por el pulmón hay también células neuroendocrinas que, en determinadas circunstancias (hiperoxia, tumor), segregan hormonas.

Procesos tóxicos en el pulmón

Las lesiones tóxicas pulmonares se pueden producir tanto cuando los agentes llegan por vía inhalatoria como cuando lo hacen por vía sistémica; en ellas podemos distinguir dos grandes grupos: las que afectan a las vías aéreas y las que lesionan el tejido o parénquima pulmonar (Figs. 7.25 y 7.26).

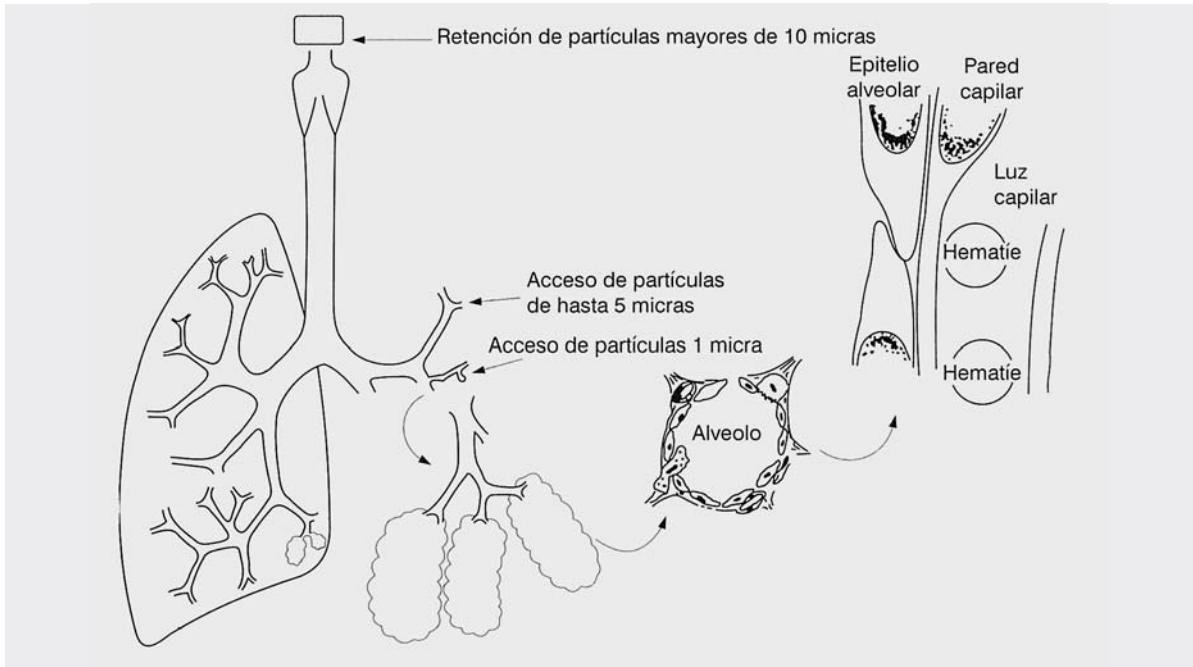


Figura 7.23. Aparato respiratorio.

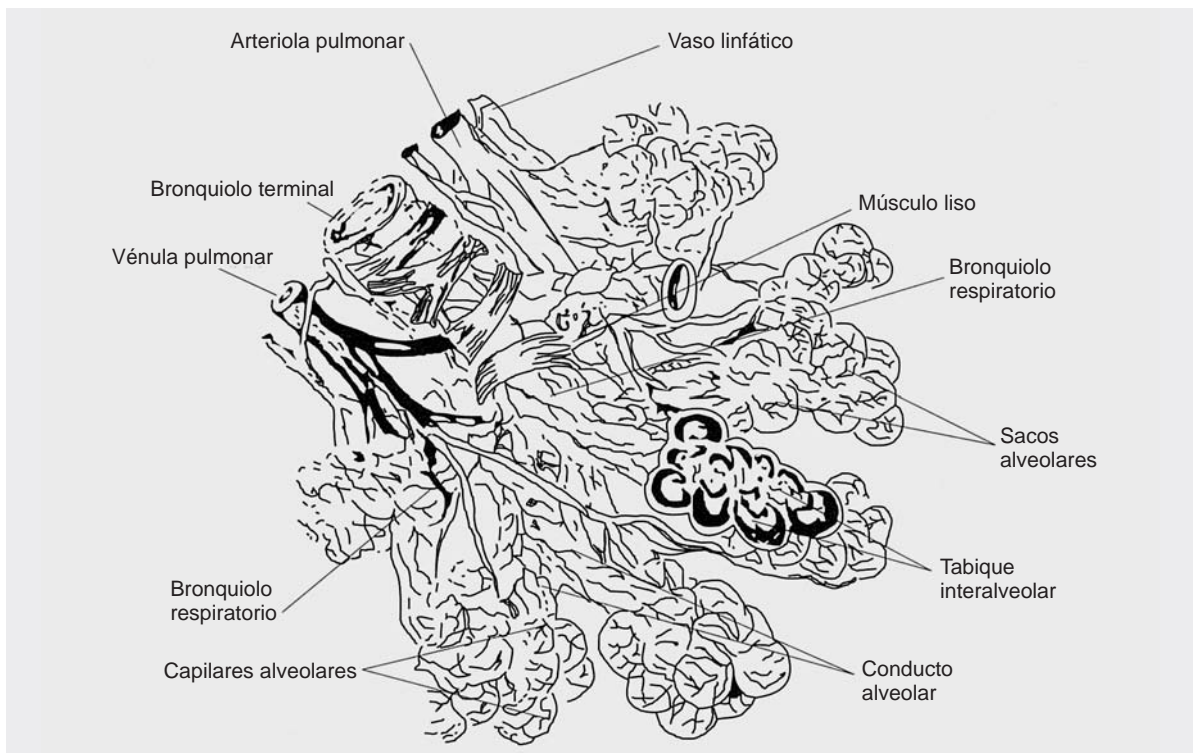


Figura 7.24. Fondo pulmonar.

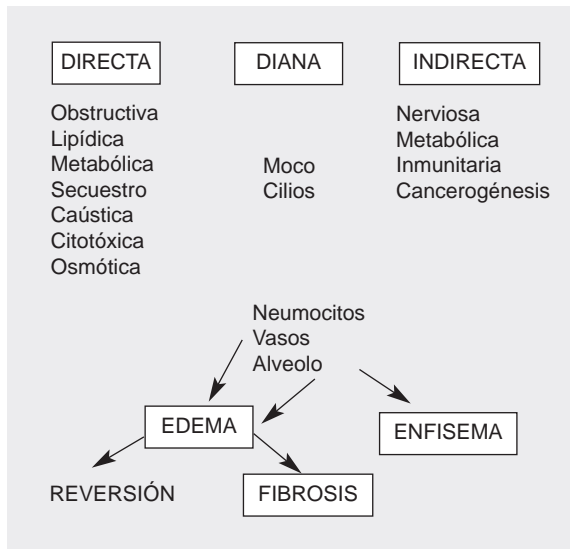


Figura 7.26. Mecanismos y dianas de las patologías tóxicas pulmonares

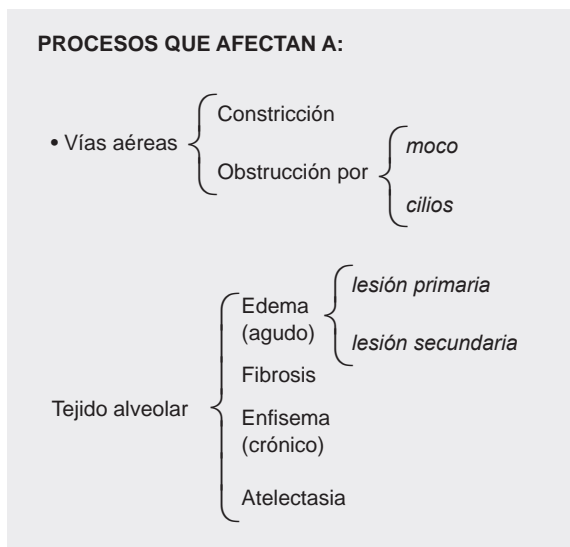


Figura 7.25. Tipos de procesos tóxicos del pulmón.

Las vías aéreas pueden experimentar constricción (por irritación del nervio vago que hace contraerse al músculo liso que rodea al bronquio) como respuesta a agentes físicos o químicos, con lo que, al disminuir su diámetro, se dificulta el tránsito del aire.

Una reacción de este tipo se presenta en los procesos asmáticos. Los irritantes y las reacciones

inmunitarias pueden originar además edema laríngeo y laringoespasma que causa asfixia.

Por otra parte, los agentes tóxicos pueden ocasionar en bronquios y bronquiolos procesos obstructivos por afectación del moco y de los cilios vibrátiles. Los irritantes provocan hipersecreción de moco que dificulta la aireación; algunas sustancias, como SO_2 , reaccionan con el moco, espesándolo directamente o haciendo a su glucoproteína ácida resistente a la sialidasa, enzima que normalmente lo fluidifica; todo lo cual interfiere su escalada. En los bronquios, los elementos más vulnerables son las células ciliadas; numerosas sustancias, como SO_x , NO_x , formaldehído, trazas de vapores de metales (Cd, Cr, Ni), y humos, como el del tabaco, que las contiene, resultan ciliotóxicas. En primer lugar se produce parálisis de la vibración (ciliostasis) y posteriormente la rotura y desaparición del cilio, que cae a la luz de la vía.

Por su parte, en el alveolo, las células más sensibles a los agentes inhalados o a los sistémicos son los neumocitos epiteliales tipo I y las endoteliales de los vasos; los neumocitos tipo II, las células de Clara y los macrófagos alveolares son más resistentes. Cuando se lesionan y destruyen los neumocitos tipo I, los del tipo II resisten, proliferan y cubren las áreas privadas de aquéllos.

Por vía inhalatoria los SO_x afectan el tramo superior del tracto respiratorio, mientras que los halógenos, fosgeno, NO_x , O_2 puro y O_3 penetran hasta los bronquiolos terminales y sus alveolos. Por vía sanguínea el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT), la bleomicina, el metilisocianato, el N-nitroso-N-metiluretano, el paraquat, etc., lesionan primariamente el epitelio alveolar, y probablemente afectan también el endotelio vascular e intersticio, en grado variable. Las alteraciones en la estructura y función de la membrana epitelial o de la microvascular permiten el paso de líquidos y solutos e incluso sangre entre los compartimientos vascular, intersticial y alveolar, originando edema, y posteriormente fibrosis, que puede ser progresiva.

Como otros ejemplos de *alveolitis irritativas*, citaremos:

El fosgeno (COCl_2) se hidroliza en CO_2 y ClH ; éste lesiona las células alveolares y produce edema, aunque al ser la lesión mucho mayor que cuando se inhala ClH , se piensa en un mecanismo radicalario.

Altas concentraciones de oxígeno, el ozono y los óxidos de nitrógeno causan peroxidación lipídica en las membranas celulares.

El percloroetileno origina radicales libres que también dan lugar a edema.

El asma es una dificultad respiratoria consecuente a la contracción de la musculatura lisa bronquial; puede deberse a varios mecanismos, principalmente a irritación, alergia o a trastornos en la liberación de los mediadores fisiológicos.

El asma irritativo se origina por la exposición a gases y vapores, incluso por aerosoles cosméticos; se acepta que se produce por un reflejo vagal que libera acetilcolina, la cual contrae la musculatura lisa bronquial. Otros gases, como los isocianatos, poseen actividad adrenérgica; las fibras de algodón inhaladas inducen liberación de mediadores como la histamina y la SRS-A, lo cual enlaza este asma con la alergia.

El asma alérgico encaja en los tipos I y III de reacciones de hipersensibilidad; numerosos polvos orgánicos y partículas vegetales y microhongos desencadenan reacciones de tipo I con liberación de histamina por acción de la IgE e inmediatamente se produce rinitis y broncoespasmos, con vasodilatación, edema, secreción mucosa aumentada e infiltración de eosinófilos, y llega a la insuficiencia respiratoria e hipoxemia. Las reacciones tipo III son más difíciles de diagnosticar por ser retrasadas.

Desde hace años se están produciendo afecciones respiratorias y dérmicas (véase apartado Patologías de la piel) consecuentes al empleo, hoy prohibido, de resinas de urea-formaldehído como barnices y como espumas aislantes en las paredes de los edificios, originadas tanto por la resina como por la lenta liberación del exceso de los reactivos.

El edema pulmonar se origina por el paso a los espacios alveolares de líquido seroalbuminoso que trasuda de los capilares. El líquido inunda los alveolos y bronquios, reduciendo el espacio aéreo y produciendo insuficiencia respiratoria. Al mezclarse el líquido con el aire se forma espuma muy persistente.

En general, los edemas se producen por diversos procesos hipertensivos, disminución de la presión oncótica del plasma y por aumento de la permeabilidad de los capilares. Ésta se origina en procesos inflamatorios pulmonares infecciosos, alérgicos y

por inhalación de gases o vapores irritantes o cáusticos, como halógenos (cloro, bromo), fosgeno, ozono, óxidos de azufre o de nitrógeno, amoníaco, bromuro de metilo, metilisocianato, etc., y vapores metálicos y también tras la anoxia producida por los depresores del centro respiratorio.

Se ha visto que en muchos edemas tóxicos de pulmón están implicados procesos de lipoperoxidación consecuentes a la intervención de O_2 , O_3 , formas de oxígeno activo y reacciones por radicales libres, desencadenadas por paraquat, nitrofurantoína, etc.

Este aumento de la permeabilidad o de la difusión puede deberse a disminución de la resistencia osmótica, a ruptura anatómica o a destrucción del endotelio vascular, del intersticio o del epitelio alveolar, por ejemplo, por anafilaxia o anoxia, como las producidas por la heroína, frecuente causa de muerte de drogadictos («pulmón de heroínomano»), que presenta también restos de contaminantes de la droga.

Una forma de medir el edema pulmonar en toxicología experimental consiste en determinar gravimétricamente el agua de los pulmones, o un trozo de ellos, antes y después de desecarlos en una estufa o en un desecador, expresando el agua como $\% = (\text{peso húmedo} - \text{peso seco}) \times 100 / \text{peso húmedo}$.

Además de estas etiologías irritativas, cáusticas u oxidativas, que pueden considerarse causantes de la lesión primaria o directamente tóxica del edema pulmonar y de la *neumonitis intersticial*, también debe tenerse en cuenta una etiología inmunitaria con su habitual cascada de acontecimientos y liberación de mediadores que incrementan la permeabilidad. El proceso, según su intensidad, puede ser reversible o irreversible y letal, constituyendo lo que se denomina *neumonitis por hipersensibilidad o eosinofílica*; se desencadena por productos muy diversos, como formaldehído, morfina o heroína, penicilamina, bleomicina, betabloqueantes (que pueden ocasionar severo broncoespasmo), metotrexato, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), etc. En todos los procesos irritativos o por hipersensibilidad, el primer síntoma es la tos, que puede hacerse crónica.

Como proceso reparativo de estas lesiones se producen alteraciones del colágeno del parénquima, que se transforma en tejido fibrótico, causante de una fibrosis residual o en su caso progresiva. Esto da lugar a engrosamiento de la pared alveolar,

lo que impide la hematosiis, y a la aparición de un exudado fibrinoso intraalveolar, junto con modificaciones del colágeno intersticial.

Numerosos medicamentos como ergotamina, metilsergida, hidralazina, sulfamidas y antibióticos, esteroides, anfetaminas, penicilina, bleomicina, etc., originan por vía sistémica fibrosis en distintos órganos.

Las bronconeumopatías crónicas obstructivas se asocian a la formación de *enfisema*; éste consiste en la aparición de espacios aéreos producidos por dilatación de los alveolos o por desaparición de sus tabiques; estos espacios o sacos no son funcionantes. El enfisema se produce con gases y vapores tóxicos en cantidades mucho menores que las necesarias para originar edema, pero absorbidas de forma crónica; otra diferencia con el edema es que éste produce fibrosis mientras que el enfisema no. Uno de los agentes de enfisema más frecuentes es el humo del tabaco, que contiene elevado número de irritantes orgánicos e inorgánicos; otros agentes muy potentes son los óxidos de nitrógeno. El mecanismo de formación del enfisema es el siguiente: los compuestos aludidos atraen a los macrófagos o fagocitos alveolares, incrementando su número y estimulándolos a producir enzima elastasa, proteasa capaz de digerir las paredes de los alveolos; su actividad es regulada por otra enzima, la alfa-1-antitripsina. La exposición crónica a humos irritantes inhibe la α -1-antitripsina, con lo que la elastasa queda libre para hidrolizar las paredes alveolares; el tejido afectado en el enfisema es el conectivo, especialmente el elástico.

El 3 % de la población presenta el genotipo Z con baja actividad de α -1-antitripsina, por lo que está predispuesta al enfisema.

Inversamente, cuando los alveolos pierden su espacio por colapso de sus paredes al destruirse el surfactante, o por relleno por tejido fibrótico, neoplasias, sarcoidosis, tapones mucosos, etc., el proceso se denomina *atelectasia*.

Recordemos que los pulmones representan una importante vía de absorción, no sólo para gases sino también para esteroides, plaguicidas, medicamentos, etc.

También se ha visto que diversas sustancias se acumulan preferentemente en el pulmón, alcanzando concentraciones superiores a las de la sangre. Principalmente son aminas lipófilas, con $pK_a > 8$, imipramina, metadona, morfina, nicotina, anfeta-

minas, flufenazina, paraquat, amiodarona, etc. Parece que el grupo catiónico de la amina reacciona con los grupos negativos de los fosfolípidos; este tropismo también tiene lugar en el cadáver.

Por esta causa, la absorción crónica de dichas aminas conduce a una fosfolipidosis consistente en un aumento de los fosfolípidos en los macrófagos alveolares, que adquieren la apariencia de «células espumosas». Éstas también las produce el colesterol, y se visualizan en el lavado broncoalveolar.

Por otra parte, la acumulación de estas sustancias en el pulmón perjudica el *clearance* de sustancias vasoactivas, como la 5-hidroxitriptamina o la noradrenalina, bien por acción sobre el sistema de transporte y/o el metabólico de degradación.

Se ha visto que, de forma recíproca, tanto las sustancias vasoactivas como las aminas citadas parecen disminuir la absorción de paraquat por el pulmón.

Además, el tejido pulmonar posee una gran actividad metabólica, que probablemente no se diferencia de la hepática más que en relación con el sistema citocromo; el sistema de oxidasas de función mixta (MFO) hepático responde mejor a los inductores que el pulmonar, cuya actividad cuantitativa es menor; los sistemas epoxi-hidrasa y glutatión-S-transferasa de ambos órganos son menos inducibles que el MFO del hígado.

Esta gran actividad bioquímica interviene en la biotransformación de xenobióticos, bien para detoxicarlos, bien para incrementar la actividad neumotóxica. Consecuentemente el pulmón puede resultar lesionado por sustancias tóxicas inhaladas, por sustancias que han sido activadas en el hígado o por sustancias relativamente inertes que son activadas en el propio pulmón. Ejemplo de estas dos últimas son:

I. *Activación hepática*: como ejemplo tenemos la que sufren los derivados de la pirrolizidina, sustancias poco reactivas que se encuentran en numerosas plantas, especialmente de las familias Boraginácea (*Borago officinalis*, *Heliotropium europaeum*, etc.), Asterácea (senecios) y Fabácea (crotonarias), algunas usadas como medicinales o para infusiones o alimento del ganado. Poseen naturaleza alcaloide, con una estructura básica de dos anillos de cinco miembros, que comparten un N en posición 4 (Fig. 7.27), esterificados con ácidos mono o dicarboxílicos; por biotransformación hepática, mediante las MFO, experimentan deshidrogenación nuclear, originando

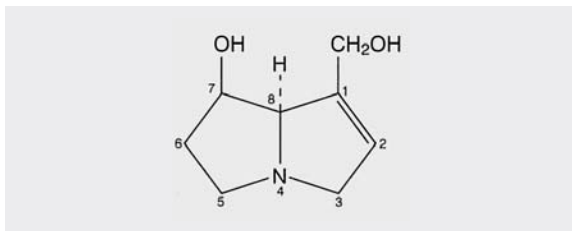


Figura 7.27. Estructura de pirrolizidina.

un ion carbonio muy electrófilo, alquilante de moléculas nucleófilas de hígado y pulmón. Producen así teratogénesis y carcinogénesis, pero muy particularmente afectación del epitelio vascular, por lo que se les ha denominado *angiotoxinas*; dan lugar a una remodelación de los vasos de los citados y de otros órganos, con aumento de la musculatura de arterias y arteriolas, hipertrofia del epitelio y aumento generalizado de las paredes vasculares, que conduce al *síndrome venooclusivo*, con aumento de la resistencia a la circulación sanguínea, hipertensión, edemas, «cor pulmonale», necrosis hemorrágica y muerte. A pesar de que el tóxico se elimina de la sangre en aproximadamente 24 horas, la sintomatología no se manifiesta hasta días o semanas después.

II. *Activación pulmonar de sustancias relativamente inertes*: presentaremos dos ejemplos muy significativos:

Ila. *4-Ipomeanol* (Fig. 7.28). Es una hidroxipentanona derivada del furano que se ha aislado originalmente de las batatas (*Ipomea batatas*) contaminadas por el hongo *Fusarium solana*. Es extraordinariamente organotrópica hacia el pulmón, donde produce edema y hemorragia, después de ser biotransformado en las células de Clara por oxidación mediante CYP4B1 (en roedores) a un α,β -dialdehído insaturado, muy reactivo que forma

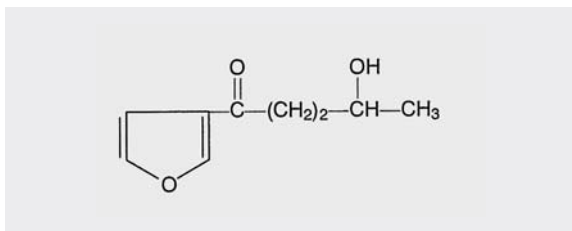


Figura 7.28. Ipomeanol.

aductos covalentes con las proteínas titulares. Tras absorción por vía oral o parenteral es oxidado por las monooxigenasas dependientes del citocromo P450, a un epóxiderivado muy reactivo que se une covalentemente, alquilando las proteínas microsómicas de pulmón y riñón; el mismo efecto ejercen el antiséptico nitrofurantoína y otros furanos.

Este proceso (metabólico y alquilante) ocurre preferentemente en las células de Clara, del epitelio no ciliado de los bronquiolos terminales, cuyas monooxigenasas-cit. P-450 poseen gran actividad. Por esta causa las células de Clara resultan más susceptibles al tetracloruro de carbono, a hidrocarburos aromáticos y sus derivados halogenados y a nitrosaminas.

El mecanismo parece que puede ser detenido por el glutatión (GSH), que reacciona con el metabolito electrófilo alquilante produciendo conjugados solubles en agua, y evitando el ataque a las macromoléculas biológicas. En el proceso interviene la enzima glutatiónreductasa, que puede ser inhibida por sustancias como el anticanceroso N,N-bis(2-cloroetil)-N-nitrosourea (BCNU); este quimioterápico alquilante origina displasia (anomalías) en el epitelio alveolar y fibrosis intersticial y pleural.

Activaciones similares a la citada son experimentadas por 3-metilfurano, BHT, naftaleno, paraquat, etc.

Iib. *Paraquat*. Este bipyridilo (Fig. 7.29), base de amonio cuaternario empleado como herbicida, resultó ser un extraordinario revulsivo en los conocimientos toxicológicos, no sólo por convertirse en el modelo de los mecanismos de toxicidad basados en las reacciones radicalarias (Capítulo 6), sino porque, dado que estas reacciones no son inmediatas, pues a veces requieren hasta 15 días, hubo que ampliar el plazo de espera de presentación de intoxicaciones agudas (tras una dosis única), y valorar el concepto de «tiempo de latencia». Sus células diana preferentes son los neumocitos I y II y las de Clara.



Figura 7.29. Paraquat.

El paraquat se acumula en los pulmones en concentraciones 6-7 veces superiores a las de la sangre, gracias a la actuación de unas proteínas transportadoras que también favorecen la entrada de poliaminas en el tejido pulmonar, específicamente en las células tipo I y tipo II; estas poliaminas se asemejan al paraquat en que en sus moléculas poseen dos átomos de nitrógeno cuaternario separados por una cadena alquílica, de dos a cuatro grupos metilénicos, o anillos aromáticos. El paraquat daña a los neumocitos tipo I pero no a los de tipo II; posteriormente se instaura una fibrosis en intento de reparar el daño.

Aspiración de partículas

La inhalación de materia particulada presenta especial interés. Las partículas con un diámetro

aerodinámico superior a 10 micras alcanzan hasta el principio de los bronquiolos, y sólo las de un tamaño comprendido entre 1 y 2 micras llegan a los alveolos; las partículas menores entran y salen del pulmón sin ser retenidas (Fig. 7.30).

Las partículas depositadas en los alveolos pueden penetrar en la membrana y ser fagocitadas o quedar secuestradas en el tejido originando *neumoconiosis*, enfermedades pulmonares específicas según la naturaleza de la partícula; así las de carbón producen *antracosis*, las de hierro *siderosis*, las de berilio *beriliosis*, las de cáñamo *cannabiosis*, las de polvo de caña de azúcar *bagazosis*, las de sílice *silicosis*, etc. Estas enfermedades pulmonares son reconocidas como enfermedades profesionales por la legislación laboral; su gravedad es mayor en los casos en que se acompañan de fibrosis, como en la silicosis, porque la insuficiencia respiratoria se hace más importante. En

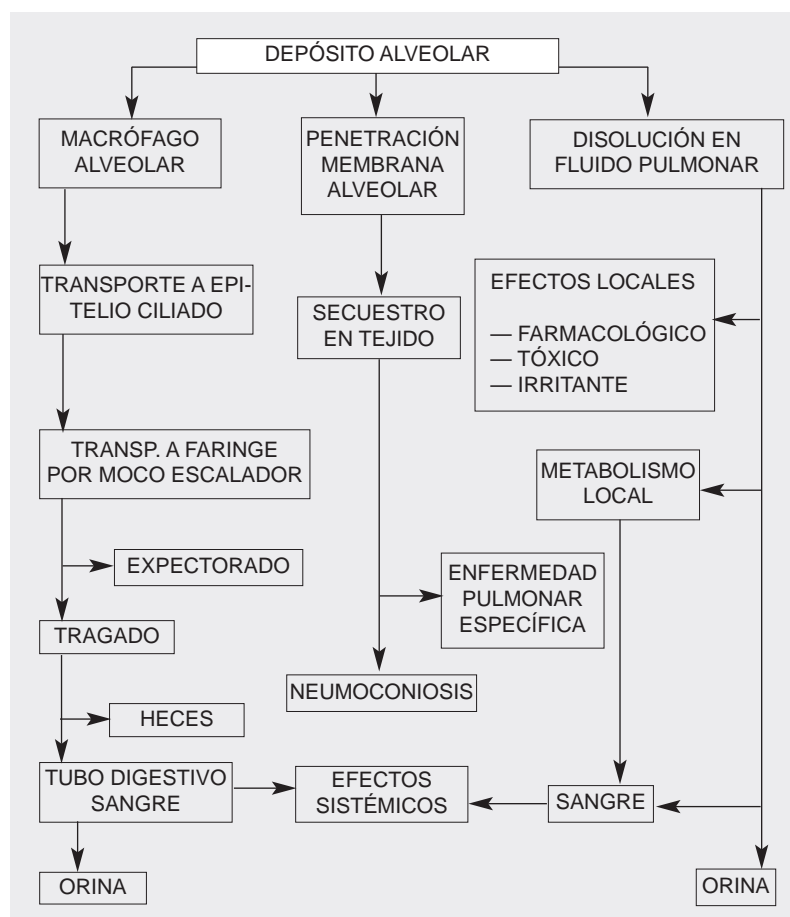


Figura 7.30. Destino de partículas inhaladas inferiores a 2 micras de diámetro.

ésta se produce una reacción inmunitaria del tejido, que forma nódulos alrededor de cada partícula de sílice.

Cuando las partículas absorbidas se disuelven en el fluido alveolar pueden originar trastornos tóxicos locales o pasar a la sangre y producir intoxicación sistémica. Las sustancias insolubles retenidas por los macrófagos y el moco pueden subir hasta la garganta, y en el caso de ser tragadas y digeridas en el estómago afectan también por vía sistémica.

Fiebre del soldador. Fiebre por metales, etc

El humo y el polvo de óxido de cinc (en concentraciones de más de 400 mg/m³) produce la «fiebre del Zn», que se supone es debida a la liberación de pirógenos por los macrófagos pulmonares al ser lesionados por las partículas del compuesto metálico.

Después de corto tiempo de latencia, aparece la sintomatología, que recuerda a una gripe: tos, disnea, fiebre, dolor articular, náusea, vómito, confusión mental, etc., y profusa sudoración, todo lo cual persiste 24 horas.

Tabla 7.3. Ejemplos de tóxicos pulmonares.

Célula diana	Agente
Células de Clara (bronquiolos)	tetracluro de carbono bromobenceno 4-ipomeanol naftaleno dicloroetileno 3-metilfurano
Epitelio alveolar	busulfán paraquat clorfentermina clorclicicina O ₃ butilhidroxitolueno (BHT) NO ₂ trialquilfosforotioatos cloroetil-N-nitrosourea
Endotelio pulmonar	pirrolizidina α-naftiltiourea O ₂ concentrado

Tabla 7.4. Medicamentos potencialmente productores de patogénesis pulmonares.

Medicamentos productores de:		
Neumonitis por hipersensibilidad	Fibrosis	Acumulación en pulmón y fosfolipidosis
Opiáceos	Ergotamina	Metadona
Bleomicina	Metilsergida	Morfina
Betabloqueantes	Anfetaminas	Anfetaminas
Inhibidores de ECA	Hidralazina	Imipramina
Metrotexato	Bleomicina	Nicotina
Penicilamina	Penicilina	Flufenazina
	Otros antibióticos	Amiodarona
	Sulfamidas	
	Esteroides	

También producen la fiebre del soldador o del fundidor los vapores de otros metales, como hierro fundido, As, Sb, Be, Cd, Co, Mn, Hg, Ni, Sn.

Un síndrome similar aparece tras la inhalación de productos de pirólisis de polímeros fluorados, como el *teflón*, en cuyo caso se ha denominado *fiebre por humo de polímeros*.

El tratamiento es sintomático: antihistamínicos, etc., y evitar la exposición.

Las Tablas 7.3 y 7.4 resumen los lugares de acción de diversos tóxicos lesivos para las estructuras pulmonares, así como los efectos indeseables de algunos medicamentos.

HEPATOPATÍAS TÓXICAS

Recuerdo anatómico y fisiológico

El peso normal del hígado de un hombre sano de 70 kg es aproximadamente de 1,5 kg y contiene unos 50.000 lobulillos. Dispone de generosa irrigación sanguínea (aproximadamente 1,5 litros por minuto), de la cual, un tercio proviene de la arteria hepática y dos tercios proceden de la vena porta, por lo que es el órgano más expuesto a los tóxicos que se absorben por vía oral. Esto, y el ser el órgano donde principalmente se bioactivan los xenobióticos, explica la mayor incidencia de afectaciones tóxicas. Además, el endotelio de los vasos sinusoides hepáticos, que distribuyen la

sangre por el órgano, carecen de membrana basal, y las células son fenestradas, lo que permite el contacto directo de compuestos circulantes con los hepatocitos.

La mayoría de las células de su parénquima se mantienen en fase G_0 o de descanso, pero cuando el órgano experimenta algún trauma o necrosis por virus o tóxicos, se recupera o regenera en pocos días, gracias a la activación de los genes del ciclo celular por acción de las ciclinas, quinasas dependientes de ciclinas, p53, etc.

Contiene una gran población de macrófagos, las células de Kupffer, que constituyen el 15% del total de células del órgano; se encuentran unidas a las células endoteliales de los espacios sinusoidales y, por tanto, directamente en contacto con la sangre circulante; Pueden ser activados por los xenobióticos e incrementar la toxicidad, pues además de su función como macrófagos, sintetizan y liberan mediadores proinflamatorios, como especies reactivas de oxígeno (ROS), especies reactivas de nitrógeno (RNS) y citoquinas, como el factor alfa de necrosis tumoral (α -TNF) y la interleuquina (IL)-1 β .

También presentes en el hígado hay neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares (PMN), que son células inmunitarias circulantes y juegan un gran papel en los procesos inflamatorios, mediante la fagocitosis de microorganismos patógenos. Liberan citoquinas, especies reactivas de oxígeno (ROS) y enzimas proteolíticas, además contribuyen a la biotransformación de xenobióticos mediante sus enzimas mieloperoxidasas. Cuando son activados por citoquinas proinflamatorias liberan ROS y proteasas, especialmente elastasa y cathepsina G, que causan la muerte o necrosis de hepatocitos. La elastasa es una de las enzimas más destructora, pues degrada al colágeno.

La célula propia del hígado es el *hepatocito*, de forma poliédrica plana, y la unidad funcional del órgano es el lobulillo, formado por una serie de columnas o pilas de hepatocitos dispuestas alrededor de una vena central o centrolobulillar (rama de la vena hepática), que lanza ramificaciones en sentido radial; las membranas de dos hepatocitos contiguos forman los canalículos biliares, de drenaje centrífugo; entre los lobulillos quedan unos espacios de fibras elásticas, por los que corren las arterias interlobulillares (procedentes de la arteria hepática) y las venas interlobulillares (tributarias de la vena porta), cuyo flujo es centrípeto (Fig. 7.31).

El hepatocito está dotado de gran capacidad bioquímica, tanto con fines metabólicos como catabólicos, y sintetiza no sólo sus propias proteínas sino también la mayoría de las proteínas plasmáticas (glucoproteínas, lipoproteínas, enzimas, factores de la coagulación, el glúcido heparina, etc.), para lo que dispone de un gran retículo endoplásmico (red tubular de finas membranas) que puede presentarse con una superficie externa granular o rugosa (retículo endoplásmico rugoso, RER), por llevar adheridos ribosomas; cuando estos se liberan para sintetizar proteínas, el retículo endoplásmico queda liso (REL). Además de *mitocondrias* y *lisosomas* (cargados con enzimas hidrolasas ácidas), están los *peroxisomas*, orgánulos portadores de oxidasas (responsables de la betaoxidación de los ácidos grasos y otras oxidaciones, con formación de agua oxigenada) y de catalasas (que descomponen el agua oxigenada). Cerca de la membrana celular está el aparato de Golgi, que interviene en la síntesis de la bilis y de las glucoproteínas.

Ante estímulos que requieran una mayor función, todos los órganos experimentan un aumento en el número de sus células parenquimatosas (hiperplasia) o un aumento en el volumen (hipertrofia).

Al ser el hígado el órgano donde preferentemente se desarrollan las reacciones metabólicas, es lógico que, ante el estímulo de los tóxicos, responda con unas reacciones que, en ocasiones, significan un grave daño para el mismo, y además, por la formación local de metabolitos reactivos.

Por ello, el hígado es el órgano que normalmente sirve de indicador de las alteraciones metabólicas inducidas por los tóxicos. El incremento del peso relativo de este órgano, aunque puede producirse como respuesta fisiológica a un aumento de su función o por efecto de reguladores endocrinos del tipo de las hormonas tiroideas o glucocorticoides, suele ser consecuente a hipertrofia e hiperplasia por causa tóxica. Ejemplos de xenobióticos productores de hepatomegalia (aumento del tamaño del órgano) son el fenobarbital y el plomo. El fenobarbital la provoca porque inhibe la apoptosis con intervención de la Bcl-2, con desarrollo de hiperplasia; por el contrario, el plomo actúa como mitógeno, estimula la proliferación, activando la señal de transducción de la proteína quinasa C dependiente de calcio (PCK). Como consecuencia,

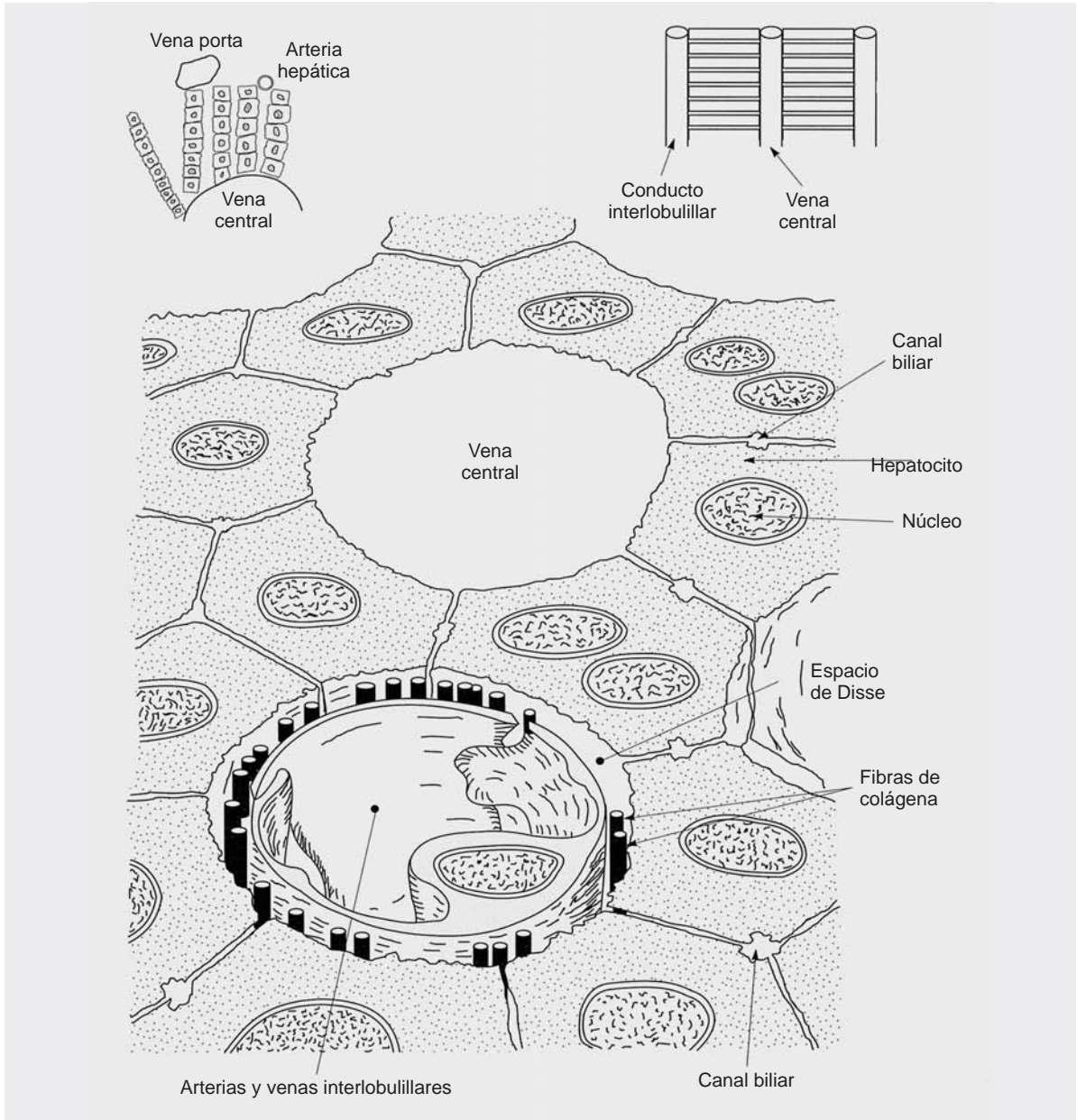


Figura 7.31. Esquema simplificado al lobulillo hepático.

se produce aumento de la división celular e hiperplasia.

El hígado responde a los estímulos tóxicos con una proliferación del REL, para incrementar la síntesis y, consecuente actividad de las enzimas metabolizantes de xenobióticos. Esta proliferación puede progresar hasta alcanzar un grado patológico

(manifestación de hepatotoxicidad), y entonces se produce una regresión en el nivel funcional adquirido; ello coincide con la afectación de las mitocondrias.

Se considera que los agentes inductores de los procesos enzimáticos originan la citada proliferación del REL, a partir del RER, con el consiguien-

te aumento de enzimas metabolizadoras y citocromo P-450, junto con incremento de los fosfolípidos microsómicos. Por el contrario, otros hepatotóxicos producen dilatación y fragmentación de las membranas rugosas y lisas, junto con descenso en la síntesis de enzimas y de fosfolípidos, y liberación de fosfatasa.

Por tanto, cuando un tóxico comienza a llegar en pequeñas dosis al hígado, éste puede incrementar su capacidad metabolizante por respuesta de su REL y estimulación de los sistemas enzimáticos apropiados, y se inicia el aumento de peso relativo del órgano (hepatomegalia). Cuando la capacidad destoxicante del hígado queda superada, comienza a fallar la glucosa-6-fosfatasa hepática (índice de lesión microsómica) y se producen francos cambios histopatológicos.

Entre estos cambios, el aspecto de las mitocondrias se considera ahora como no específico; sin embargo, la determinación por técnicas histoquímicas de varias fosfatasa puede revelar la lesión de diferentes orgánulos celulares. Así, la inosina-difosfatasa indica lesión de la membrana nuclear y del RER; la tiamina-pirofosfatasa, del aparato de Golgi; la citidinamono-fosfatasa, glicerolfosfatasa y otras fosfatasa no específicas, de los lisosomas; la ATPasa, de la membrana plasmática y canalículos biliares. En definitiva, numerosos hepatotóxicos lesionan la membrana del RE y afectan las fosfatasa microsómicas relacionadas con los fosfolípidos constituyentes en las membranas.

Cuando se produce lesión hepatocelular, se disminuye la síntesis de albúmina, alfa-1-tripsina, fibrinógeno, lipoproteínas, haptoglobinas, transferrina, ceruloplasmina, etc. También se modifican los niveles de colesterol, triglicéridos, ácidos grasos libres, etc., en plasma.

Por otra parte, en general, un incremento, aunque sea reversible, de los niveles séricos de las transaminasas (aminotransferasas), como la alanina aminotransferasa (ALT), indica lesión del parénquima hepático con rotura celular, mientras que la elevación de la creatin-quinasa, aspartatoaminotransferasa (AST), prevalente en músculo, sugiere un síndrome agudo muscular. Valores anormales en suero de colinesterasa y de fosfatasa ácida aparecen también en el daño hepático.

Como ensayo de la capacidad funcional del hepatocito, en forma global, se ha utilizado muchos años la prueba de aclaramiento de la BSF (o BSP),

colorante de disulfonato de tetrabromoftaleína. Consiste en administrar en ayunas, por vía intravenosa, 5 mg de BSF (peligro de choque anafiláctico), extrayéndose a los 45 minutos una muestra de sangre del brazo opuesto; si la proporción del colorante en la sangre es mayor del 5 %, se pone de manifiesto que el hígado no ha sido capaz de eliminarlo suficientemente. Esta prueba es bastante sensible, pues evidencia alteración hepática antes que otras pruebas funcionales y sirve para descubrir el comienzo de una patología o para seguir el proceso de recuperación del hepatocito, aunque no es extremadamente exacta, pues le afecta el volumen plasmático, el flujo hepático (insuficiencia cardíaca, *shock*, etc.) y procesos terapéuticos. El mecanismo de aclaramiento consiste en la separación del colorante del plasma por el hepatocito, conjugación del colorante con glutatión, merced a la enzima glutatión-S-ariltransferasa, y excreción a través de la bilis.

Más recientemente se ha usado verde de indocianina, aunque es menos interesante que la BSF, pues no se conjuga.

Como afirmó Víctor Pérez (1969), el estudio de las reacciones hepáticas resulta difícil debido a que: 1) no se conocen bien los mecanismos de su producción, 2) normalmente no se tiene certeza del diagnóstico, 3) el gran número de sustancias posiblemente implicadas. Sin embargo, el problema se simplifica gracias a que: 1) los caminos metabólicos son comunes, incluso para tóxicos muy diversos, y 2) las lesiones hepáticas carecen del polimorfismo que podría preverse a causa de la variedad de agentes tóxicos, y adoptan tan sólo unas pocas formas clínicas.

Por su forma de reaccionar ante los tóxicos, los individuos pueden dividirse en tres grupos (Tabla 7.5).

A. Grupo grande de individuos que ante los agresivos químicos responde con afectaciones subclínicas; sólo mediante pruebas funcionales se descubre que se está produciendo una alteración hepática o de otro tipo.

B. Grupo pequeño, pero con reacciones o manifestaciones clínicas graves; normalmente con ictericia. La repetición del contacto agrava la lesión.

C. Individuos que ante la incidencia crónica de los tóxicos desarrollan mecanismos compensadores o procesos de adaptación o tolerancia.

Tabla 7.5. Clasificación anatomoclínica de las reacciones hepatotóxicas

Tipo clínico	Morgológica o funcional	Mecanismo probable
A) Con afectaciones subclínicas (grupo grande)	Hiperbilirrubinemia Alterac. excreción BSF. Elevación transaminasas Alt. histológicas simples Alt. bioquímicas subcelulares	Disminución o simple lesión. Lesión celular variable. Interferencia metabólica.
B) Con manifestaciones clínicas (grupo pequeño)	Necrosis zonal Hepatitis tipo viral Colestasis intrahepática Lesiones diversas	Toxicidad directa. Hipersensibilidad. Hipersensibilidad variable.
C) Procesos de adaptación	Recuperación Tolerancia Hipofunción Hepatomegalia	Inducción enzimática. Inducción enzimática. Inducción enzimática. Hipertrofia, hiperplasia.

Principales reacciones hepatotóxicas

En la afectación tóxica aguda del hígado pueden distinguirse las formas *citotóxica* y *colestásica*; esta última, consistente en la detención de la bilis en los canalículos intra o extrahepáticos, se verá más adelante.

La forma citotóxica tiene tres formas de presentación, que pueden ser secuenciales o no: *esteatosis*, *degeneración* y *necrosis* (Tabla 7.6).

La esteatosis consiste en la acumulación citoplasmática de gotitas grasas; puede originarse por numerosas sustancias capaces de alterar los mecanismos de degradación de los triglicéridos o de las síntesis de las lipoproteínas encargadas de sacar las grasas del hepatocito. Se origina lo que se conoce como *hígado graso*.

La degeneración estriba en una inflamación o balonización del hepatocito con hialinización (transparencia) de su contenido y aparición de cuerpos acidófilos.

La necrosis supone la muerte celular y se puede producir por mecanismos de lipoperoxidación, alquilación, arilación o uniones covalentes de las macromoléculas biológicas (membrana plasmática, retículo endoplásmico, etc.) por el tóxico o sus metabolitos, o bien por reacciones inmunitarias. En estas últimas la necrosis es difusa o distribuida por todo el lobulillo; en otros casos aparece por zonas (central, intermedia o periférica) y a veces es

puntual o focal. Esta selectividad topográfica parece deberse a la mayor capacidad del lugar para producir en cada caso el metabolito tóxico (Fig. 7.32) a causa de una actividad local especialmente intensa de las enzimas biotransformadoras. También participan los mecanismos mediados por el calcio (véase Mecanismos de toxicidad).

Por técnica histológica se detecta desde antiguo los llamados *cuerpos de Councilman*, que ahora se sabe que son hepatocitos que han experimentado apoptosis.

Cuando estas lesiones se suceden en forma crónica, el tejido colágeno se transforma en fibrótico no funcionante, que distorsiona la arquitectura hepática con posible obliteración de vasos y producción de edemas y varices; es la cirrosis.

Insuficiencia hepática

Como consecuencia de las lesiones reseñadas, principalmente por la necrosis de los hepatocitos, el hígado disminuye grandemente su capacidad funcional, presentando el síndrome que clínicamente se denomina de *insuficiencia hepática* e incluso en la forma de *fallo hepático fulminante* (FHF); a veces se continúa con la *insuficiencia hepatorenal*, y en ocasiones da origen a la *encefalopatía hepática* (véase ésta); clínicamente se aprecia acidosis metabólica, así como elevación de

Tabla 7.6. Clasificación morfológica de hepatotoxicidad.

Tipo	Agente
Colestasis a) Canalicular b) Hepatocanalicular	Esteroides contraceptivos y anabolizantes C-17. Arsenicales orgánicos, clorpromazina, eritromicina.
<i>Citotoxicidad aguda</i> Esteatosis a) Microvesicular b) Macrovesicular Degeneración Balonamiento y acidofilia Necrosis focal Necrosis zonal a) Central b) Intermedia c) Periférica Necrosis masiva	Fósforo, tetraciclina, etionina. Etanol, metotrexato. Gran número. Varios. CCl ₄ , Acetaminofeno, Halotano, Bromobenceno, faloidina. Furosemida, Cocaína. Formiato de alilo, albitoxina, otros. Trinitrotolueno, otros.
<i>Citotoxicidad crónica</i> Inflamación crónica Esteatosis Necrosis crónica difusa por: Hipersensibilidad Autoinmunidad Acumulación metab. tox. Cirrosis a) Congestiva b) Biliar c) Micronodular d) Macronodular Carcinoma a) Hepatocelular b) Colangiocelular Adenoma Sarcoma Angiosarcoma Trombosis vena hepática	Etanol, metotrexato. Clorpromazina, eritromicina, fenitoína, p-aminosalicílico, etc. Anfetamínicos (MDMA, MDA etc.) Iproniazida, isoniazida, p-acetamol, etc. Pirrolizidina. Clorpromazina. CCl ₄ , aflatoxinas. CCl ₄ . Aflatoxina B ₁ , CCl ₄ , pirrolizidina, azocolorantes, dimetilnitrosaminas. Raro. Esteroides anabólicos y contraceptivos. Dimetilnitrosaminas. Cloruro de vinilo, thorotrast, arsenicales inorgánicos. Contraceptivos, esteroides.

Adaptado de Zimmerman, 1982.

transaminasas y bilirrubina, y disminución de los factores de la coagulación. (Tabla 7.7).

Producen estas patologías la *Amanita phalloides*, las sobredosis de p-acetamol, de compuestos anfetamínicos (éxtasis, MDMA, MDA, etc.), el tetracloruro de carbono, etc. En consumidores reiterados de éxtasis se ha visto una necrosis hepática difusa, posiblemente de causa autoinmunitaria; además parece que este producto altera la secreción hipofisaria de la hormona antidiurética (ADH), por lo que los riñones no responden a la alta ingesta de agua, motivada por la hipertermia

(por trastorno hipotalámico); se produce así una hiponatremia que favorece la entrada de agua en las células y conduce a un edema cerebral (encefalopatía hiponatrémica). Se ha comprobado que el paracetamol a dosis diarias superiores a 3 g produce hepatitis crónica.

Resumiendo, las *reacciones* más importantes que el hígado puede experimentar a causa de las sustancias químicas son:

A. Necrosis zonal. Se produce por los tóxicos directos o específicos del hígado, como el tetraclo-

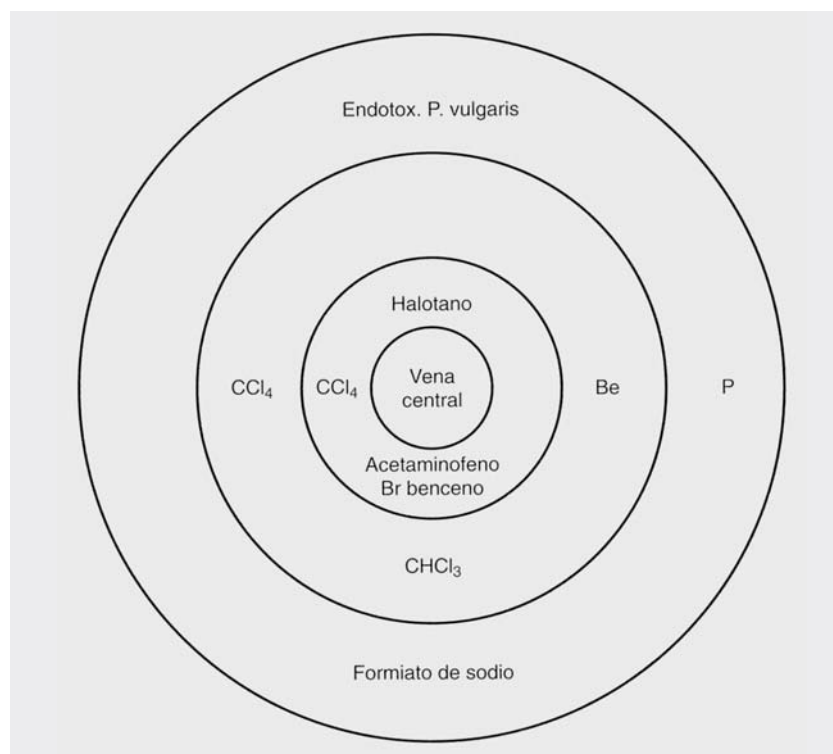


Figura 7.32. Ejemplos de distribución zonal de las necrosis hepáticas causadas por diferentes tóxicos.

(Zimmermann H. J. 1978)

Tabla 7.7. Afectaciones enzimáticas en las hepatopatías.

Grupo	Significado	Enzimas	Actividades enzimáticas en:			
			Colectasis obstructiva intrahepática	Necrosis aguda	Lesión crónica	Lesión otros órganos
I.A	su ↑ = Lesión hepática	GOT, LDG, ALD, MDH GPT, GluDH, ICDH	↑	↑↑	↑	↑
I.B.		OCT, SDH, LDH ₅ arginasa, F-1, P-Ald	↑	↑↑	↑	±
II	su ↓ = Lesión hepática	ChE	normal	↓	↓	±
III	su ↑ = Colestasis	Fal, 5'-N, LAP, GGT	↑↑	↑	↑	±
IV	su ↑ = Lesión otros órganos	CPK	normal	normal	normal	↑

GOT = transaminasa glutamínico oxalacética = aspartato aminotransferasa (AST)

GPT = transaminasa glutámico pirúvica = alanina aminotransferasa (ALT)

LDH = lactato deshidrogenasa

ALD = fructosa-1,6-difosfato aldolasa

MDH = malato-deshidrogenasa

GluDH = glutamato-deshidrogenasa

GGT = gamma-glutamilttransferasa

ICDH = isocitrato-deshidrogenasa

OCT = ornitilcarboiltransferasa

SDH = sorbitol-deshidrogenasa

LDH₅ = isoenzima de LDH

F-1, P-Ald = fructosa-monofosfatoaldolasa

Fal = fosfatasa alcalina (ALT)

5'-N = nucleotidasa

ruro de carbono y demás productos organoclorados, la *Amanita phalloides*, el fósforo, el paracetamol, la furosemida, el bromobenceno, etc., tras toxicificación hepática a metabolitos muy reactivos, que lesionan la célula que los forman (véase Mecanismos de toxicidad). La seta *Amanita phalloides* posee varias toxinas; la α -amanitina, con estructura de octapéptido bicíclico, y la faloidina, heptapéptido bicíclico. La primera se absorbe fácilmente por vía oral, al contrario que la segunda, y su penetración en el hepatocito es favorecida por iones Na^+ pero inhibida por el taurocolato. La amanitina bloquea la síntesis de m-ARN y, consecuentemente, la síntesis de proteínas.

El Cl_4C es tóxico tipo o modelo de esta acción.

Consiste en necrosis de los hepatocitos, en amplias zonas, y en ocasiones con infiltración grasa, bien en pequeñas gotitas o como grandes gotas que ocupan gran parte del citoplasma y desplazan al núcleo.

Las características de esta grave afectación son:

- El periodo entre la exposición al tóxico y la aparición del daño es breve y constante.
- La mortalidad es sumamente elevada.
- Existe relación entre la dosis y la intensidad de las lesiones.
- El proceso puede repetirse experimentalmente.
- Se suele acompañar de lesiones en otros órganos, especialmente en el riñón, con necrosis tubular aguda.

Un mejor conocimiento de la distribución topográfica (zonal y focal) de las lesiones tóxicas a causa de las diferencias locales en las actividades enzimáticas, así como de las modificaciones de la toxicidad que producen los inhibidores y los inductores enzimáticos, lo proporciona un estudio realizado con cocaína administrada a ratones (Roth *et al.*, 1992). Una sola dosis de 60 mg/kg produce necrosis coagulativa en la zona intermedia lobulillar, que es mayor si se efectúa un pretamamiento con diazinon, organofosforado inhibidor de esterasas y, por tanto, de la hidrólisis enzimática (eliminación) de la droga; también se incrementa el daño en el mismo lugar cuando el pretratamiento es con beta-ionona, inductor del metabolismo oxidativo; pero si la inducción se realiza con fenobarbital, la necrosis aparece en la zona central; cuando se administre previamente

beta-naftoflavona, la lesión por cocaína se produce en la zona periférica. Todo ello sugiere la inducción de diferentes enzimas oxidativas que producen distintos metabolitos, en las respectivas zonas del lobulillo (Fig. 7.33).

Por otra parte, cuando coincide el consumo de cocaína y de bebida alcohólica, en el hígado se forma, por transetilación, la etilbenzoilecgonina (mal llamada cocaetileno), mucho más hepatotóxica.

B. Hepatitis tipo viral. La lesión anatómica es como en la necrosis centrolobulillar, con la aparición al microscopio de los cuerpos de Councilman, imagen de hepatocitos destruidos por apoptosis. Pero: hay un largo periodo latente (hasta meses), no existe relación dosis-efecto, difícilmente se reproduce experimentalmente y la mortalidad es del 20 %.

Se admite que la reacción es de carácter inmunitario, con un mecanismo similar al de la colestasis; sin embargo, se ha sugerido (Popper, 1958) que el tóxico podría activar virus latentes y desencadenar el daño hepático.

Este tipo de hepatitis la originan: el anestésico halotano, uretano, atebriina, sulfamidas, «éxtasis», etc.

El anestésico por vía inhalatoria halotano (trifluorobromometano) ha sido asociado a dos tipos de reacciones adversas hepáticas. En el 20 % de los individuos se produce una hepatotoxicidad suave, caracterizada por la aparición de aminotransferasas en el suero. La segunda forma, más

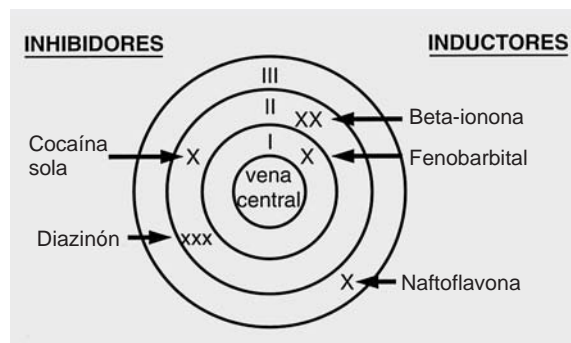


Figura 7.33. Variaciones de los lugares (zonas del lobulillo hepático), en que la cocaína produce lesión (necrosis coagulativa) cuando se absorbe sola, o juntamente con inhibidores o inductores enzimáticos.

grave pero menos frecuente, aparece como necrosis hepática postoperatoria con posible fallo hepático, muy parecida a la hepatitis viral; la incidencia se incrementa diez veces en los individuos que lo reciben por segunda vez. El mecanismo de toxicidad incluye dos vías de bioactivación, realizadas por CYP2E1 y dependientes de la disponibilidad de oxígeno: a baja presión parcial de oxígeno, mediante reducción se elimina un ion bromuro (Br^-) y se forma el radical trifluorocloroetil y, de forma similar a lo que ocurre al tetracloruro de carbono, el radical reacciona con los lípidos de membrana e inicia la peroxidación lipídica, que causa lesión en el órgano. Pero en condiciones de exceso de oxígeno, el CYP2E1 oxida al halotano introduciéndole un grupo hidroxilo, además de eliminarle el bromo, para formar trifluorocloroacetilo, compuesto electrófilo que puede reaccionar con agua y convertirse en ácido trifluoroacético, enormemente corrosivo, o atacar a un grupo neutrófilo, como una lisina, de proteínas, formando aductos que pueden ser inmunógenos.

C. Colestasis intrahepática. Cuando se produce una lesión de las vías biliares intrahepáticas o extrahepáticas, se origina un cuadro icterico obstructivo. La lentitud del flujo biliar (colestasis) determina la precipitación de pigmentos biliares en elementos hepáticos como hepatocitos, capilares biliares y células de Kupffer, y al pasar a la sangre se origina la ictericia. También se admite que, en ocasiones, el proceso puede deberse a modificaciones en el equilibrio fisicoquímico de la secreción biliar, variando la concentración de los ácidos biliares; además, la síntesis de éstos es interferida por algunos xenobióticos (esteroides anabolizantes y contraceptivos orales). La secreción de la bilis requiere participación de la $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$, pero ésta es inhibida por los esteroides anabolizantes alquilados en C-17 y la clorpromazina, que también altera la formación de micelas biliares; la etionina disminuye el ATP, y la rifampicina interfiere la absorción de precursores y la secreción de la bilis.

Este tipo de reacción no es reproducible experimentalmente, su mortalidad es casi nula, sólo puede ser circunstancia agravante, el tiempo de latencia es largo (15 días) y no existe relación dosis-efecto, sino que pequeñas dosis pueden dar cuadros dramáticos en sujetos sensibilizados. Por ello se estima que consiste en una relación de hipersensibilidad, en cuyo favor aboga todo el cuadro, como:

— Aparición brusca, eritemas cutáneos, dermatitis exfoliativa, fiebre, adenopatías, eosinofilia en sangre y tejidos, y reproducción del cuadro al reincidir el tóxico. A veces la reproducibilidad disminuye, como si se hubiese producido una desensibilización, pero en otras ocasiones se origina sensibilidad cruzada con otras sustancias.

Producen ictericias colestásicas los anticonceptivos orales, la clorpromazina, los arsenicales, tetraciclinas, penicilina, sulfamidas, etc. Estos procesos de base inmunitaria están caracterizados por:

1. Periodo de inducción relativamente fijo (4 a 5 semanas).
2. Recurrencia puntual de la disfunción hepática con pequeñas dosis del agente.
3. Alta incidencia de fiebre, rash, eosinofilia, etc.
4. Infiltraciones inflamatorias o granulomas en el hígado, ricos en eosinófilos.

— *Lesiones* diversas más importantes consecuentes a las reacciones anteriormente vistas: a) cirrosis, b) hígado graso, c) lesiones vasculares, d) porfirias, e) hepatoma.

a) *Cirrosis.* La cirrosis es un proceso reparativo (desde el punto de vista orgánico aunque no funcional); después de una lesión hepática se puede producir una regeneración nodular o reparaciones por cicatrices fibrosas. Estas se deben bien a colapso del esqueleto del retículo o a la proliferación de tejido conjuntivo; ambas formas llevan a la fibrosis, y más adelante a la cirrosis.

Originan cirrosis el alcohol, las aflatoxinas, el tetracloruro de carbono, etc.

Las aflatoxinas, producidas por los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, son difurocumarinas con estructura heterocíclica de cinco anillos. La más dañina es la aflatoxina B_1 , potente carcinógeno. Requiere ser biotransformada por un CYP a 8,9-epóxido que se une covalentemente a proteínas y al ADN, preferiblemente en regiones ricas en G:C, para formar aductos en la posición N-7 de la guanina.

b) *Hígado graso:* La infiltración grasa del hígado es una reacción hepática muy frecuente. Sus mecanismos de producción son:

1. Movilización de las grasas de depósito. Algunas sustancias liberan ácidos grasos de los depósitos, que son captados por los hepatocitos para reconstruir triglicéridos. Como en la movilización

de las grasas intervienen las catecolaminas (estimulación adrenérgica), la administración de fármacos sedantes (bloqueantes adrenérgicos) disminuye la liberación.

2. Aumento de la síntesis hepática de ácidos grasos, a causa de ingesta de materias primas (alcohol, triglicéridos, etc.).

3. Disminución de la oxidación de los ácidos grasos, también a consecuencia de absorción de sustancias que obligan a un esfuerzo metabólico oxidativo, o a la presencia de inhibidores de las oxidaciones microsómicas.

4. Disminución del transporte y excreción de los ácidos grasos. A consecuencia del déficit en la síntesis de proteínas, disminuye la formación y secreción de las lipoproteínas.

c) *Lesiones vasculares*. Distintos tóxicos producen alteraciones en la microcirculación hepática, con obliteración de los sinusoides cercanos a la vena central, comunicaciones entre la porta y la suprahepática, y trombosis suprahepáticas por lesión del endotelio venoso. Las lesiones endoteliales pueden conducir a dilataciones que forman lagos venosos, aprovechando la preexistencia de necrosis que hayan destruido partes del parénquima.

Un importante grupo de tóxicos vasculares lo forman los alcaloides de la pirrolizidina, que engrosan las paredes de los vasos y originan el *síndrome venoso-oclusivo* (véase en Patología pulmonar).

d) *Porfirias*. Con este nombre se agrupa una serie de afecciones que se caracterizan por un aumento en la síntesis de porfirinas, intermediarias en la síntesis del hem. Como consecuencia, aparece en orina y heces gran cantidad de porfobilinógeno, uroporfirina, coproporfirina y ácido aminolevulínico (ALA), y disminución en sangre de su enzima deshidratasa (ALA-D) simultáneamente a diversos cuadros clínicos cutáneos (manchas o necrosis), abdominales y neurales.

Se admite que no se trata de reacciones de hipersensibilidad, sino de procesos de inducción o inhibición enzimática. La síntesis del hem, mediante la enzima ALA-sintetasa, está regida por un sistema de retroalimentación. Una alteración del gen operador que rige la síntesis de ALA-sintetasa, con mayor producción de ésta, o la presencia de tóxicos que la induzcan por interrupción de la represión, o bien que interrumpan la cadena de la síntesis del hem, conducirán finalmente a mayor producción de porfirinas.

Tabla 7.8. Productos capaces de producir un ataque de porfiria.

Aminofenazona.
Anticonceptivos orales.
Apronalida.
Barbitúricos (especialmente secobarbital y tiopental).
Cocaína.
Cloroquina
Diuréticos mercuriales.
Fenilbutazona.
Griseofulvina.
Organoclorados.
Plomo.
Quinina.
Sulfonal.
Sulfamidas.
Trional.
Tolueno.

La mayoría de las sustancias que se relacionan en la Tabla 7.8 actúan sobre el hígado, mientras que el plomo lo hace sobre los eritrocitos.

Frecuentemente se manifiesta como dolor abdominal agudo, de tipo cólico, asociado a vómitos, distensión y diarreas o estreñimiento; dolores musculares; trastornos neurológicos hasta con parálisis respiratoria y ataques convulsivos; y manifestaciones psiquiátricas que van desde irritabilidad y ansiedad a confusión, delirio, alucinaciones y psicosis. A veces se observa hipertensión, taquicardia y fiebre (véanse los apartados sobre hemoglobina y trastornos de la piel).

e) *Hepatomas*. La absorción repetida de muy distintas sustancias (nitrosaminas, plaguicidas, aflatoxinas, cloruro de vinilo, etc.) produce diversas clases de tumores en los componentes hepáticos (véase Tabla 7.6). Algunos medicamentos hipolipemiantes, tipo clofibrato (fenoxi-isobutirato) estimulan una proliferación de peroxisomas con hepatomegalia muy marcada, que a veces conduce a hepatomas.

NEFROPATÍAS DE ORIGEN TÓXICO

Recordemos que el riñón es un órgano par, de forma de judía, de unos 10-12 cm desde el polo superior al inferior; en un corte vertical se distinguen claramente corteza, médula y el ducto vascu-

lar, que se inserta a mitad de la altura del órgano (Fig. 7.34).

Cada riñón de un adulto humano pesa aproximadamente 150 g y contiene más de un millón de nefronas.

La unidad anatómica y funcional es la nefrona, integrada por: *a)* el componente vascular, derivado de la arteria y de la vena renal; *b)* el glomérulo, irrigado por las arteriolas aferente y eferente (que llevan la sangre para ser filtrada y las sacan), y *c)* los túbulos (proximal y distal, conectados por el asa de Henle), que se continúa por los tubos colectores. El túbulo proximal está provisto de un epitelio con mitocondrias muy activas, y con cilios (ribete en cepillo).

En la corteza se encuentran los vasos primarios, el glomérulo, y las partes contorneadas de los túbulos proximal y distal; en la médula se distinguen 10 pirámides que alojan las partes rectas de ambos tipos de túbulos, la recta y la curva del asa de Hen-

le, así como los tubos colectores que llevan la orina al fondo de las pirámides, cuyos vértices se llaman papilas; éstas tienen unos orificios por donde gotea la orina a los cálices de la pelvis renal, para continuar a los uréteres.

Para recordar la fisiología del riñón pueden consultarse, en el capítulo de Toxicocinética, el apartado de excreción renal (Fig. 3.11).

Al ser el riñón el principal órgano excretor de sustancias tóxicas, es de esperar que resulte afectado por ellas, no ya en el momento y lugar de la filtración y de la secreción, sino también durante la resorción (en el tubo contorneado distal), que supone una concentración del producto sobre los niveles plasmáticos. Unas veces el tóxico sólo potenciará o pondrá en evidencia un trastorno renal preexistente; otras veces inducirá alteraciones que serán asiento de posteriores nefropatías y, en otros casos, se producirán lesiones directas sobre la nefrona.

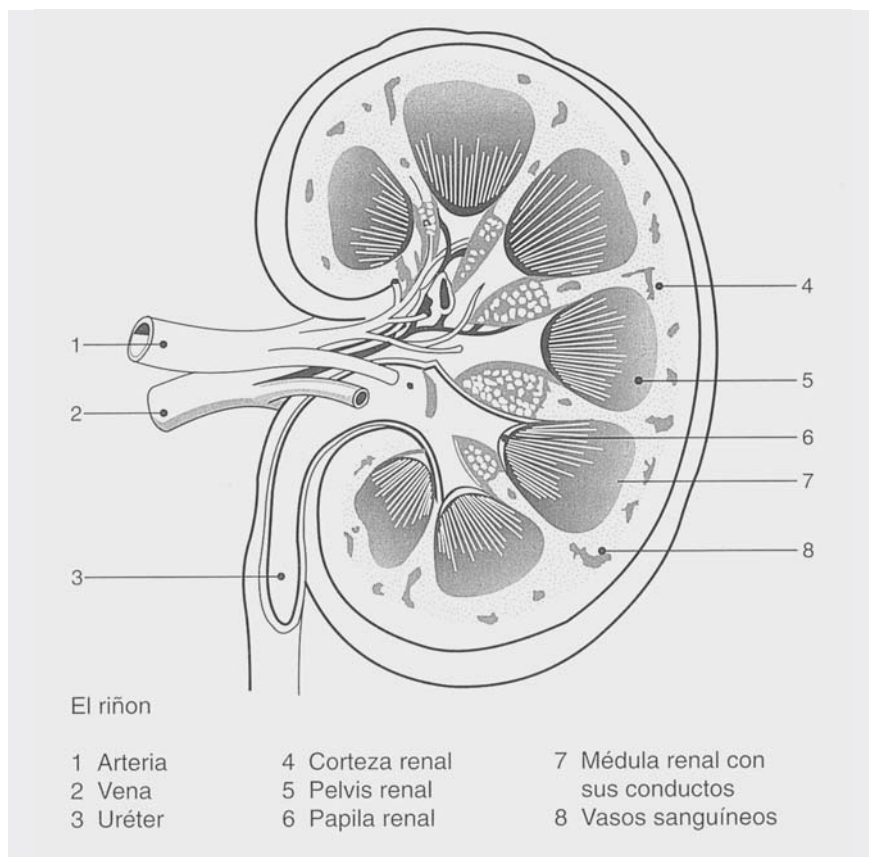


Figura 7.34.
Estructura renal.

Procesos nefróticos

Los mecanismos fisiopatológicos de los procesos nefrotóxicos pueden esquematizarse como sigue:

a) Lesión por contacto, tipo cáustico, de las paredes de algún segmento de la nefrona, con alteración de la permeabilidad, que puede permitir la salida de proteína y hematíes, con posterior formación de zonas escleróticas de tejido cicatrizal, que reducirá la filtración.

b) Mecanismos obstructivos, por depósitos del tóxico o de un inmunocomplejo en la nefrona o uréteres (oxalatos, sales de oro, penicilamina).

c) Alteración de mecanismos enzimáticos locales, bien de tipo metabólico, o bien encargados de los procesos activos de secreción y resorción.

Como prueba precoz de la función renal (aclaramiento o transporte tubular), y para poder seguir su proceso, puede emplearse la estimación de la excreción de fenolsulfotaleína (FSF o PSP), que se realiza por administración intravenosa de 1 ml del colorante, del que debe excretarse, en la orina, a los 15 min por lo menos un 25 %, a los 30 min el 40 % y a las 2 horas el 60 %. La sustancia es secretada activamente por los túbulos; interfiere la BSF y la hipoalbuminemia con valores erróneos por exceso. También se usa p-aminohipurato (PAH) y el tetraetilamonio (TEA).

Esta prueba es útil muy precozmente, pero cuando la afectación renal está avanzada, es preferible la medición de la velocidad de filtración glomerular (VFG), valorando el aclaramiento de la creatinina endógena. La determinación de la excreción urinaria de creatinina y su correlación con los niveles hemáticos resulta más fiable que la valoración del nitrógeno ureico, influido por gran número de factores.

Pero las pruebas de función renal no siempre se corresponden con el dato histológico, por lo que es útil combinar varios indicadores.

Mejor información sobre el daño renal y de la localización del mismo se obtiene por la determinación de varias enzimas en la orina. Así, son indicadores muy precoces de lesión en el ribete en cepillo de epitelio del túbulo proximal, lactatodeshidrogenasa (LDH) y glutatión transferasa (GST),

que aparecen en pequeñas lesiones, o bien, alanina aminopeptidasa (AAP), fosfatasa alcalina (ALP) y gamma-glutamyltransferasa (GGT).

La lesión de la papila renal por agentes papilotóxicos, como analgésicos con fenacetina, libera N-acetil-beta-D-glucosaminidasa (NABG), hidrolasa lisosómica que posee varias isoenzimas (y que también aparece tras la lesión del túbulo proximal), acompañado de aumento del volumen de orina con osmolalidad baja.

Además son marcadores de proteinuria tubular alfa-1-microglobulina, beta-2-microglobulina, proteína unida a retinol, cistatina C, amilasa, etc., así como las microproteínas villin (del citoesqueleto tubular e intestinal) y TammHorsfall (THP) (del asa de Henle).

Por estudios histoquímicos e inmunocitoquímicos pueden detectarse en el tejido antígenos formados a partir del tejido renal.

Desde el punto de vista clínico, podemos establecer la siguiente agrupación de las nefropatías tóxicas:

A) Nefropatías tóxicas directas, con fracaso renal agudo o insuficiencia renal, por lesión cáustica, obstructiva o metabólica.

B) Nefropatías alérgicas:

a) Vasculitis renal alérgica.

b) Glomerulonefritis toxicoalérgica.

c) Nefritis intersticial.

A) Nefropatías tóxicas directas

(Fracaso renal agudo de origen tóxico)

Debemos considerar aquí nefropatías obstructivas producidas por el depósito, en cualquier lugar del riñón, de compuestos insolubles o macromoleculares. Como ejemplo tenemos la formación de sales cálcicas del ácido oxálico, absorbido directamente o formado en el metabolismo de glicoles o del ácido ascórbico; similar efecto pueden originar los fosfatos insolubles o los agregados de polímeros sintéticos ingresados por cualquier vía (incluso la respiratoria) como partículas pequeñas que posteriormente se reúnen en otras mayores.

Una serie de sustancias químicas como:

— disolventes orgánicos, especialmente los clorados (tricloroetileno, tetracloruro de carbono, etc.), que a veces se metabolizan a ácidos;

- sales y compuestos de metales (mercurio, uranio, plomo);
- fenoles;
- ácido oxálico y derivados del glicol (etilenglicol, dietilenglicol);
- sulfonamidas, aminoglucósidos, kanamicina, tetraciclinas envejecidas (formación de anhidro-4-epitetraciclina), bacitricina, viomicina, colimicina;
- faloidina o amanitatoxina (de la seta *Amanita phalloides*);
- fósforo elemental, compuestos de arsénico,

producen una necrosis epitelial intensa, que afecta a la mayoría de las nefronas, incidiendo primero en el glomérulo y después en determinados tramos del túbulo; la altura a que en éste se localiza la

lesión es, en cierto modo, característica del tóxico, y coincide con los lugares donde, por resorción o secreción, se enriquece la concentración del tóxico en el líquido que atraviesa el epitelio o que circula por el túbulo, y también en los puntos donde, por existir mayor actividad enzimática, el xenobiótico se toxifica (Tabla 7.9).

Así, el glomérulo se lesiona al filtrar cáusticos, como los compuestos fenólicos, y otros se toxifican, como la adriamicina, que se biotransforma a una semiquinona, muy electrófila.

Los túbulos proximales son las estructuras más susceptibles al daño por efectuar principalmente la reabsorción isoosmótica y la secreción. Además poseen actividad oxidasa que toxifica algunos xenobióticos, como a la cefaloridina (una cefalosporina,

Tabla 7.9. Síndromes nefróticos y agentes relacionados

Proteinuria - nefrosis. Penicilina. Oro. Trimetadiona. Parametadiona. Dapsona. Penicilamina. Probenecid. Diuréticos mercuriales. Tolbutamida. Perclorato. Fenindiona. Rifampicina. Clorhidrato de doxorubicina. Fenoprofeno. Túbulo proximal - síndrome de Fanconi Salicilatos. Aminoglucósidos. Tetraciclina. Túbulo distal - acidosis tubular renal Anfotericina-B. Penicilina. Litio. Defectos de concentración - diabetes insípida nefrogénica Desmetilclortetraciclina. Metoxiflurano. Litio. Difenilhidantoína.	Necrosis papilar Analgésicos (no-narcóticos). Salicilatos. Fenacetina. Fenilbutazona. Formol intravesical. Nefritis intersticial Salicilatos. Fenacetina. Acetaminofeno. Analgésicos no narcóticos combinados. Fenoprofeno. Meticiclina. Ampicilina. Furosemida Cefalosporinas Sulfamidas. Rifampicina. Polimixina B. Atopurinol. Fenindiona. Nitrosoureas. Litio. Hematuria. Cefalosporinas. Penicilina. Ciclofosfamida Insuficiencia renal aguda - reducción del GFR Analgésicos	Aspirina. Indometacina. Fenilbutazona. Aminoglucósidos. Cefalosporinas. Tetraciclinas. Anfotericina B. Polimixina. Sustancias yodadas de contraste. Complejos de platino. Compuestos de bismuto. Metotrexato. Ácido epsilonaminocaproico. Difenilhidantoína. Fenindiona. Propanolol. Dextrán. Fenozopiridina. Bismuto. Insuficiencia renal crónica Analgésicos (no narcóticos). Tetraciclina. Sustancias yodadas de contraste. Nitrosoureas. Metoxiflurano Cálculos Fenazopiridina. Alopurinol (indirectamente) Triclnafeno Triamtereno Fenilbutazona (indirectamente)
--	--	--

antibiótico de estructura y acciones parecidas a la penicilina), que en este lugar experimenta secreción activa y una epoxidación, que lesiona al túbulo.

Los aminoglucósidos, que abarcan varias familias de antibióticos como estreptomicina, neomicina, kanamicina, gentamicina, espectinomicina, etc., se unen a fosfolípidos de membrana del ribete en cepillo, por interacción entre los grupos catiónicos del antibiótico y los aniónicos de los fosfolípidos, lo que altera la permeabilidad de la membrana y libera enzimas lisosómicas.

También en este lugar ocurre la reabsorción activa de los conjugados con el glutatión y los compuestos organoclorados, que experimentan una toxificación al ser hidrolizados por betalinasas, liberándose un grupo tiol muy reactivo (véase capítulo de Mecanismos de toxicidad). La tioacilación de moléculas de las mitocondrias de membrana, libera enzima LDH, detectable en la orina.

Igualmente el cadmio y otros metales experimentan aquí reabsorción activa.

En las estructuras albergadas por la médula se producen pocas lesiones tóxicas, gracias a la baja concentración del fluido del túbulo distal, y también por la escasa actividad oxidativa dependiente del citocromo P-450, en comparación con la que hay en el tubo proximal; además dispone de altas proporciones de glutatión, que la protege. Sin embargo, cuando las dosis del tóxico son grandes, las lesiones que se presentan en el túbulo proximal también se originan en el distal y el glomérulo.

El fluoruro inorgánico, así como los compuestos orgánicos que pueden liberarlo, como el anestésico metoxifluorano, daña ambos túbulos, por mecanismo aún no explicado.

Las tetraciclinas originan poliuria por interferir el mecanismo de acción de la hormona antidiurética (ADH) hipofisaria; por el contrario, los anfetamínicos (éxtasis o MDMA, MDA, etc.) provocan secreción de ADH, y el riñón retiene líquidos que conducen a hemodilución (véase encefalopatías anfetamínicas), que hace muy peligroso beber agua y que, además, agrava el riesgo de hipertensión propio de las anfetaminas.

A su vez, los tóxicos que inhiben la ATP-asa, la anhidrasa carbónica y otras enzimas del túbulo (alcohol, mercuriales, etc.) impiden la reabsorción de orina primaria y producen diuresis.

La fenacetina induce necrosis papilar, que se extiende al tejido conjuntivo intersticial, al que se

difunde merced a su liposolubilidad; sin embargo, el acetaminofeno o p-acetamol (metabolito de aquéllas) no la produce, ni tampoco el conjugado de éste con el glutatión, por ser hidrosolubles.

Se piensa, además, que la presencia de tóxico origina una afectación del transporte tubular de sodio, lo que desencadena una vasoconstricción que conduce a oliguria, igual que ocurre en el fracaso renal de causa circulatoria (riñón de shock).

Se admite que esta lesión tóxica directa sobre los diferentes segmentos de la nefrona es, en gran parte, dependiente de la dosis y puede ser reproducible por vía experimental.

Los compuestos de gran poder oxidante como los cloratos, bromatos, cromatos, etc., lesionan a la mayoría de los órganos y tejidos (tubo gastrointestinal, hígado, sangre con producción de hemólisis y metahemoglobina, etc.) y particularmente el riñón; aunque respetan más el glomérulo, inducen una intensa necrosis en los túbulos contorneados proximales, acompañada de edema intersticial y de fuerte vasoconstricción que enlentece la circulación sanguínea en el riñón y, consecuentemente, disminuye la excreción del tóxico, el cual aumenta su vida media y tiempo de daño. Estos tóxicos también originan sensación de quemadura en las extremidades (pies) y neuropatías periféricas retardadas, que pueden aparecer uno o dos meses después; asimismo producen sordera precoz (véase Ototoxicidad).

La afectación local de mecanismos enzimáticos metabólicos, fundamentalmente oxidativos, conduce a degeneración grasa o adiposis renal, mientras que la regeneración de las zonas necrosadas, mediante procesos fibróticos, conduce a esclerosis y, por tanto, a la disminución permanente de la función renal.

El cuadro clínico presenta oliguria aguda y uremia (azoemia) elevada y ascendente, proteinuria, cilindruria y hematuria más edemas e hipertensión. Al cabo de semanas o de meses de evitación o supresión del tóxico puede recuperarse la diuresis y las funciones, aunque persista déficit cuando se produjo esclerosis amplia.

B) Nefropatías alérgicas

Numerosas nefropatías se producen no por una acción directa del tóxico, sino a través de un proceso de hipersensibilidad, de carácter no predecible,

independiente de la dosis, con periodos de latencia variables, y generalmente no son reproducibles por experimentación.

La presencia de depósitos de inmunoglobulinas (IgG, IgM) muy localizados, y que se estudian por técnicas inmunohistoquímicas, sustenta la teoría de un mecanismo antígeno-anticuerpo. Éste produce una alteración de la permeabilidad de la membrana basal y fusión de los podocitos, lo cual conduce a pérdidas proteínicas (proteinuria con hipoproteinemia e hipoalbuminemia), las cuales, por reducción de la presión oncótica, producirán edemas y ascitis que, al disminuir el volumen circulante, desencadenarán hiperaldosteronismo y oliguria. En algunos casos se han encontrado anticuerpos circulantes contra el tóxico o contra las membranas basales.

Las lesiones presentan muy diferentes localizaciones según el agente tóxico, ya sea en los vasos renales, en los capilares del glomérulo o en los elementos vasculo-conjuntivos intersticiales. Así podemos distinguir entre vasculitis, glomerulonefritis y nefritis intersticial aguda o crónica.

Un medicamento que abarca todas las variedades nefrotóxicas de este grupo es la penicilina que, después de repetidas aplicaciones de dosis terapéuticas, produce la aparición de nódulos de tejido de cicatrización (esclerosis) bajo la capa cortical, con deformaciones de algunas nefronas, más necrosis del epitelio en los túbulos, en cuyo interior se forman cilindros hialinos (PAS positivos). También se observa retracción de los glomérulos, infiltraciones linfocitarias y graves alteraciones vasculares. En un plano subcelular, se ha detectado proliferación y aglutinación de lisosomas, y a la liberación de su contenido pudieran deberse los trastornos necróticos.

Se ha visto (Berndt, 1998) que distintos compuestos, tanto orgánicos (algunas cefalosporinas, el metabolito fúngico citrinina, etc.) como inorgánicos (cloruro mercurio, sales de cadmio, etc.), son nefrotóxicos cuando se acumulan y alcanzan elevadas concentraciones en el interior de las células de los túbulos proximales a través del sistema de secreción o de reabsorción por transporte activo; esta acumulación se debe no sólo a la eficiencia del sistema de transporte sino también a una incapacidad de la sustancia para salir de la célula. Se ha visto que administrando p-aminohipurato (PAH) o probenecid se disminuye el efecto nefro-

tóxico de la cefalosporina, al bloquear el sistema de transporte de ésta. Por su parte, algunos conjugados con el glutatión o con la cisteína pueden resultar nefrotóxicos, porque ellos, o algunos de sus productos de ruptura, pueden ser reabsorbidos de la luz tubular y acumularse en la célula; el glutatión (GSH) también favorece la reabsorción del ion mercurio y del metilmercurio, así si se administra dietilmaleato (DEM), que provoca depleción del GSH, disminuye la acumulación de los compuestos mercuriales.

1. Vasculitis renal alérgica

Al ser el riñón un órgano muy vascularizado, puede experimentar intensas poliarteritis generalizadas consecuentes a la sedimentación de inmunocomplejos en la pared arterial. Histológicamente, se trata de un proceso inflamatorio, con necrosis fibrinoide de la túnica media vascular, acompañada de infiltración celular. La evolución regenerativa cursa con transformación fibrosa y formación de cicatrices retráctiles. Todo ello origina estrechamientos de la luz de los vasos con disminución de la irrigación del parénquima.

Como consecuencia, pueden presentarse necrosis y atrofas de algunas asas glomerulares o de segmentos de túbulos, pero con más frecuencia se produce hipertensión arterial transitoria. Además, se manifiesta dolor lumbar, hematuria, proteinuria, y en la sangre eosinofilia y anticuerpos.

Ejemplo de sustancias productoras de vasculitis renal son las sulfamidas, que además originan depósitos cristalinos en el túbulo y uréteres. Otros agentes son la procainimida, isoniazida, hidralazina, reserpina, metildopa, etcétera.

2. Glomerulonefritis toxicoalérgica

El proceso de filtración glomerular merced a la presión hidrostática sanguínea, favorece el depósito de inmunocomplejos en el glomérulo.

Aunque no se ha podido evidenciar experimentalmente, la casuística demuestra la aparición de glomerulonefritis después del uso de sustancias como: trimetadiona, sulfamidas, penicilamina, eritromicina, polimixinas, probenecid, sales de oro, derivados orgánicos e inorgánicos de mercurio, derivados orgánicos de bismuto, mostazas nitrogenadas, etc.

El proceso inflamatorio puede consistir en discretas alteraciones irregulares de la membrana basal del glomérulo, con fusión de pedículos de las células de revestimiento. Un grado de mayor gravedad se presenta cuando se produce glomerulosclerosis focal o hialinosis focal y segmentaria, con depósitos de IgM y C₃; aquí la evolución progresa hacia la insuficiencia renal. También pueden producirse proliferaciones endocapilares y extracapilares, con depósitos de IgC, C₃ y fibrinógeno. La forma clínica más grave parece corresponderse con las que histológicamente presentan una proliferación masiva de células epiteliales glomerulares extracapilares, con formación de numerosas y voluminosas semilunas; la proporción y el tamaño de éstas son tomados como índice de gravedad, por obstruir el espacio urinario.

La sintomatología clínica consiste en disminución del filtrado glomerular, hipertensión, edemas, proteinuria y hematuria, con elevación de la creatinina sérica.

El pronóstico de las glomerulonefritis tóxicas es muy variable, pues si bien pueden regresar al evitarse el contacto con el tóxico, muchas veces su curso es irreversible y progresivo.

3. Nefritis intersticiales

a) Nefritis intersticial aguda

Tras la administración de sulfamidas, difenilhidantoína, fenindiona, fenilbutazona, nitrofurantoína, sulfato de colisticina, etc., se han registrado trastornos renales con oliguria, proteinuria, hematuria, elevación de la tensión arterial que puede llegar al cuadro de insuficiencia renal aguda. La biopsia de estos casos ha mostrado infiltración del intersticio por linfocitos y plasmocitos, mientras el hemograma suele presentar una eosinofilia indicativa de afectación alérgica.

b) Nefritis intersticial crónica

La prolongada administración de analgésicos a base de fenacetina, y también de salicilatos, fenilbutazona e indometecina, produce en ocasiones una nefritis intersticial crónica, de naturaleza esclerosante, con necrosis papilar, más frecuente con combinaciones; por ejemplo, fenacetina y salicílico.

Por métodos histoquímicos se han evidenciado cambios estructurales en los mucopolisacáridos del intersticio de la médula renal en pacientes que han

abusado de estas sustancias. También se han puesto de manifiesto en los cálices renales unas concreciones de fenacetina y productos de degradación; esto obliga a admitir la posibilidad de un efecto tóxico directo en la génesis patológica.

En conjunto, se produce necrosis medular, que evoluciona a fibrosis y esclerosis, con obliteraciones vasculares y atrofas tubulares.

Clínicamente se observan cólicos, hematurias, pérdida de sodio, acidosis metabólica y deformaciones en los cálices demostrables por urografía descendente, todo lo cual se corresponde con una pielonefritis crónica.

Se ha propuesto, como prueba de detección precoz, la determinación en orina de la N-acetil-β-glucosaminidasa (NAG), enzima presente en la corteza renal, así como alfa-1 y beta-2 microglobulinas y proteína unida al retinol.

Especial mención merece la *nefrotoxicidad del cadmio*. Aunque la absorción por vía oral de altas dosis de sales de Cd origina principalmente trastornos gastrointestinales, la exposición crónica a humos (trabajadores metalúrgicos, soldadores, fabricantes de baterías alcalinas, etc., y fumadores, ya que el tabaco es el artículo de consumo con mayor porcentaje de Cd, porque esta planta retiene el que haya en el suelo, donde el contenido es alto si se usan lodos como fertilizantes) o a alimentos o aguas contaminadas afecta primordialmente al riñón y pulmón; en menor grado se lesiona el sistema cardiovascular y hematopoyético, el sistema nervioso y los testículos; asimismo, se acepta que el cadmio posee poder cancerígeno.

Se estima que el riñón es el órgano crítico del Cd; la afectación renal se manifiesta por una proteinuria, indicativa de lesión de túbulo proximal, con distribución de la capacidad de reabsorción y excreción de proteínas de bajo peso molecular como beta-2-microglobulina, lisozima, ribonucleasa, proteína de unión del retinol y cadenas de inmunoglobulina; esta proteinuria permanece mucho tiempo después de interrumpida la absorción. El Cd, como el Zn, se transporta unido a la metalotioneína (MT), proteína inducible por ellos, por lo que su presencia aumentada puede tomarse como indicador de exposición.

Las metalotioneínas (MT) son proteínas de bajo peso molecular, en las que el 30 % de los aminoácidos es cisteína, lo que les proporciona una gran can-

tividad de grupos sulfhidrido que se coordinan con iones metálicos; así una molécula de MT se une a siete átomos de cadmio. Se conocen varias clases de MT en mamíferos, aunque las principales son MT-I y MT-II, que difieren ligeramente en la secuencia de aminoácidos y en los genes que las expresan.

Efectivamente, el complejo Cd-MT penetra en las células del túbulo proximal por un proceso de reabsorción de proteínas aniónicas aunque, al parecer, el complejo se disocia en la misma membrana celular, y el metal se une a su diana específica.

Los iones de cadmio entran en las células por los canales de Ca^{++} .

Aunque el mecanismo de la lesión renal no es aún bien conocido, los hallazgos morfológicos sugieren que la absorción crónica de Cd (incluso a dosis inferiores a 0,2 ppm) produce una constricción de las arteriolas renales y una fibrosis difusa de los capilares.

La disfunción renal suele conducir con el tiempo a hipertensión y osteomalacia.

Se calcula (Thorne *et al.*, 1986) que la carga corporal de Cd en humanos se distribuye así: el 20 % en riñón, el 15 % en huesos y el 11 % en hígado; y se considera que la «concentración crítica» de Cd en la corteza renal es de 300 μg . La vida media de Cd, y por tanto la carga corporal, aumenta con la edad hasta los 40-50 años, en que comienza a disminuir, hasta un mínimo hacia los 80 años (López Artíguez *et al.*, 1995).

PATOLOGÍAS TÓXICAS DE LA PIEL

La piel es el órgano más extenso del cuerpo y una barrera de protección para los órganos internos.

Tradicionalmente, sólo se han venido considerando como tales las lesiones cáusticas, pero en la actualidad se ha acumulado suficiente conocimiento para el desarrollo de la dermatotoxicología.

Esta rama de la ciencia no sólo se preocupa de la irritación de la piel por los productos químicos y agentes físicos, sino también de la modificación de la penetrabilidad y del metabolismo local, de la alteración de las glándulas ecrinas y aparato pilosebáceo así como de la carcinogénesis. Por otra parte, la inmunología contribuye a la comprensión de los mecanismos de sensibilización y de las dermatitis alérgicas y de la fotosensibilización por contacto y por vía sistémica.

Una importante causa del desarrollo de la dermatotoxicología está en las disposiciones oficiales que obligan al estudio de los posibles riesgos inherentes al empleo de productos que pueden tener contacto con la piel.

La estructura de la piel es compleja (Fig. 7.35), aunque de forma simplificada puede esquematizarse (Fig. 7.36) como sigue: posee tres capas, epidermis, dermis e hipodermis.

La epidermis o capa más externa está constituida por tres estratos:

1. *Estrato córneo*, formado por queratinocitos, células muertas y queratinizadas, dispuestas en láminas que se descaman continuamente; es hidrofóbico.

2. *Estrato de tránsito*, a su vez con tres capas, formadas por: *células lúcidas*, sin núcleo y que no se tiñen con los colorantes; *células granulosas*, en proceso de envejecimiento y queratinización; y *células espinosas*, llamadas así porque cuando se observan aisladas presentan trozos de unos puentes intercelulares (desmosomas) con apariencia de espinas; su afectación conduce al temible melanoma maligno.

3. *Estrato basal o germinativo*, cuyas células vivas dan origen a las de las capas superiores; entre ellas están los *melanocitos* formadores del pigmento melanina

Aquí se encuentran anclados lo que se denominan «anejos epidérmicos»: las glándulas sebáceas y sudoríparas, los folículos pilosos, con pelos y vellos, y las uñas.

Por su parte la dermis consiste en:

- a) Zona papilar, formada por paquetes de fibras colágenas y elásticas. Es metabólicamente activa, muy vascularizada y contiene corpúsculos y fibras nerviosas sensitivas.

- b) Zona reticular, constituida por paquetes de fibras de colágeno sumergidas en la sustancia basal amorfa (mucopolisacáridos).

La hipodermis es de estructura más simple, pues consiste en tejido conjuntivo espeso y elástico, con numerosos lobulillos adiposos; sirve de acolchamiento de la piel.

La piel es un órgano de gran interés toxicológico, y como el pulmón y el tubo gastrointestinal, que son zonas de contacto y absorción de los xenobióticos, puede presentar las siguientes formas de relación con las sustancias químicas:

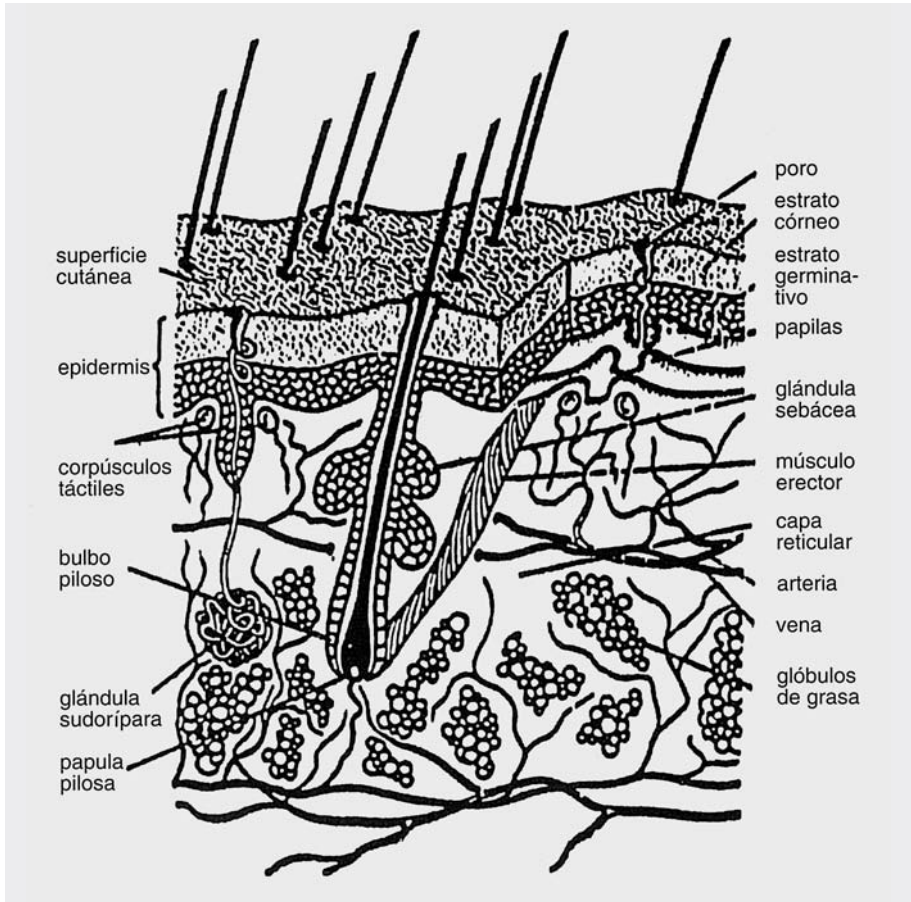
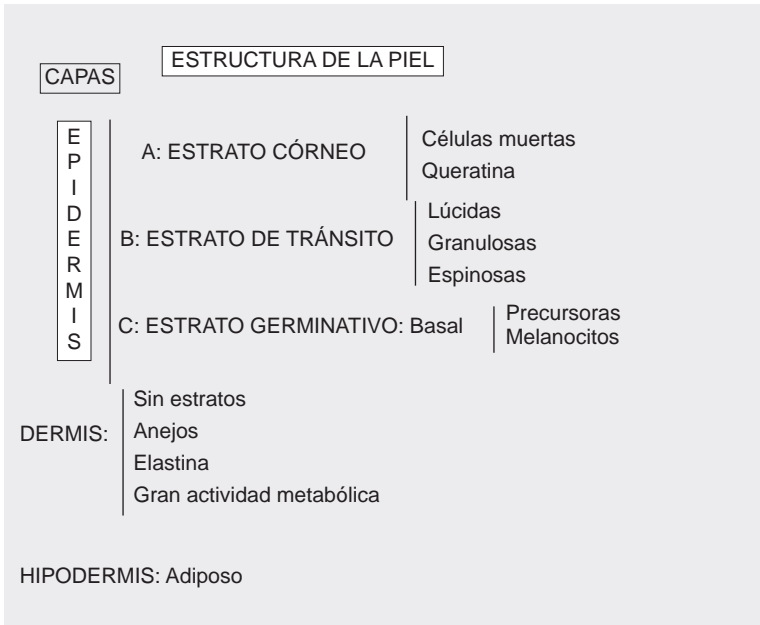


Figura 7.35. Estructura de la piel.



Esquema 7.36. Capas de la piel.

a) Ser órgano diana, afectado directamente por el tóxico.

b) Ser vía de absorción para la posterior producción de una toxicidad sistémica o *percutánea*. Simultáneamente a la absorción, la piel, que posee gran capacidad metabólica, puede introducir importantes biotransformaciones a los xenobióticos, en lo que se conoce como *metabolismo presistémico* o efecto de *pre-primer paso*, realizado por las enzimas presentes en la dermis.

c) Ser órgano diana de sustancias que se encuentran en la circulación sistémica. En ocasiones el efecto se presenta como fototóxico, después de la intervención de la luz.

Absorción percutánea. La piel como vía de absorción

El estrato córneo constituye la principal barrera o impedimento a la absorción a través de la piel, gracias a estar constituido por células muertas y queratinizadas, pero el 20 % de su peso son lípidos, lo que favorece la absorción de sustancias lipófilas. Se acepta que la absorción percutánea de las diferentes zonas del cuerpo puede ordenarse así: plantas/ escroto/ palmas/dorso de las manos/ axilas/cuero cabelludo/brazos/piernas/tronco.

Cuando se hidrata el estrato córneo se incrementa grandemente la permeabilidad para sustancias hidrosolubles; esta hidratación puede conseguirse por oclusión de la piel para producir sudoración y por ungüentos o sustancias grasas; la maceración aumenta en dos o tres veces la permeabilidad para el agua y compuestos polares.

Las lesiones del estrato córneo, por quemaduras, escoriaciones, eccemas y otras enfermedades de la piel, así como el desengrasado, incrementan la permeabilidad. Esto ocurre con el lavado con detergentes o con disolventes, especialmente los que poseen conjuntamente grupos polares y apolares, como por ejemplo las mezclas cloroformo-metanol o éter-etanol, que parece que no sólo extraen lípidos y proteolípidos, sino que llegan a crear poros en la membrana; el dimetilsulfóxido y otros disolventes, aunque no lesionan, también aumentan la capacidad de absorción.

La penetración a través de la piel es regida también por la estructura y tamaño molecular del xenobiótico. La presencia de grupos polares interfiere; los compuestos apolares, lipófilos, pueden penetrar

a través de los lípidos del tejido y por los folículos pilosos y glándulas sudoríparas.

En general, la permeabilidad aumenta con la liposolubilidad y disminuye con la presencia de grupos polares. La mayor longitud de las cadenas alifáticas favorece la permeabilidad, aunque cadenas de más de 10 C son de movimiento lento; los hidrocarburos penetran más rápidamente que los ésteres, y éstos más que los alcoholes. Los alcoholes puros penetran poco debido a que producen deshidratación y compactación del tejido, y el metanol aún menos por ejercer acción cáustica, probablemente al ser transformado en formaldehído y ácido fórmico.

Los electrólitos disueltos en agua penetran mal porque las cargas de los iones interaccionan con los grupos polares del tejido y porque forman unidades de lenta difusión.

Los disolventes apróticos, como el dimetilsulfóxido, dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, que se diferencian del agua y de los alcoholes por su tendencia a aceptar protones en lugar de donarlos, favorecen la absorción de sustancias orgánicas e inorgánicas, a lo que contribuyen desnaturalizando la piel. Los gases y vapores también pueden ser absorbidos por la piel si cumplen las anteriores condiciones, pero en muy pequeña proporción en comparación con la absorción pulmonar. Igualmente se absorben partículas sólidas, como lo prueban las alergias a polvos orgánicos e inorgánicos.

En definitiva los compuestos que más rápidamente se absorben a través de la piel son los no polares, de pequeño tamaño molecular y solubles tanto en agua como en lípidos.

La cinética de la absorción percutánea cumple la ley de Fick:

$$A = K_d \cdot C_p \cdot \frac{\Delta C}{d}$$

A = Flujo o cantidad absorbida por unidad de tiempo y área.

K_d = Coeficiente de difusión de la sustancia.

C_p = Coeficiente de partición entre el vehículo y el estrato córneo.

ΔC = Diferencia de concentración a ambos lados de la piel.

d = Espesor de la piel.

Hasta el momento se han identificado 10 pasos en la absorción percutánea, y se distinguen tres procesos distintos denominados penetración, permeación y absorción.

Toxicodermias

Tras el contacto con agentes físicos, sustancias químicas y medicamentos y su absorción pueden aparecer sobre la piel unas reacciones que, genéricamente, se conocen como toxicodérmicas, y pueden deberse a sobredosisificación y acumulación o depósito sobre la piel, a efectos dismetabólicos (p. ej., alteración del metabolismo de los lípidos), a intolerancia o exacerbación de enfermedades preexistentes o latentes, a trastornos inmunitarios y a fototoxicidad. La presencia de algunas sustancias sobre la piel puede detectarse con un monitor de fluorescencia.

Las manifestaciones toxicodérmicas o erupciones se presentan en forma de eritemas (enrojecimiento), exantemas (punteados o manchas rojizas), vejigas o ampollas y necrosis epidérmica, que terminan en descamación o exfoliación de la piel.

De los anteriores términos merece que se presente un breve glosario, al objeto de la mejor comprensión de lo que sigue:

Abrasión, erosión: pérdida de epidermis; afecta sólo al epitelio de la piel o mucosas.

Angioedema o edema angioneurótico: (angio = vaso) es una tumefacción por edema del tejido dérmico, subcutáneo y submucoso, normalmente de las zonas subcutáneas laxas como párpados, labios, laringe, bronquios, abdomen, etc.

Causticación, corrosión: destrucción superficial del tejido; una forma de *dermatitis de contacto* por agentes químicos, con alteraciones irreversibles tras la inflamación, edema, ampollas, exudación, necrosis, úlcera y cicatriz.

Edema: acumulación de líquido seroalbuminoso extravasado por aumento de la permeabilidad de la pared de los vasos, enlentecimiento circulatorio, cambios en la presión hidrostática o en la oncótica de la sangre, etc. Puede acompañarse de desequilibrios hidroelectrolíticos y disminución del volumen de sangre.

Eccema: alteración de la piel con erosión, vesículas y descamación más enrojecimiento (eritema).

Eritema: enrojecimiento cutáneo en zona circunscrita, como consecuencia de vasodilatación y mayor aporte sanguíneo (congestión, hiperemia).

Dermitis, dermatitis: inflamación de la piel con eritema y, en ocasiones, exudación, vesículas, costras y escamas (eccema).

Inflamación: reacción localizada o extensa del organismo ante un estímulo físico, químico o biológico, con aparición de vasodilatación, la cual origina los tres síntomas clásicos: *enrojecimiento o rubor* (eritema), *calor*, a consecuencia de la mayor afluencia de sangre, y *edema*. Puede acompañarse de dolor y de trastornos funcionales.

Irritación: respuesta inflamatoria a agentes físicos o químicos, sin erosión o abrasión.

Úlcera: pérdida de epidermis y de dermis, e incluso de capas inferiores (muscular, etc.).

Urticaria: consiste en afectaciones transitorias de la piel debidas a vasodilatación (eritema) y edema de la dermis (lesión eritematoedematosa), normalmente con prurito (picor); vulgarmente se les conoce como ronchas o habones.

Vesícula, bulla: ampolla con líquido de edema.

También puede aparecer pigmentación o despigmentación, por depósitos del producto o alteraciones en la síntesis de melanina, a causa de exposición a metales (As, Bi, Hg, Ag, Pb, Au, etc.), medicamentos, etc. Se afectan también el pelo, las uñas y las glándulas.

Las afecciones de la piel y sus anexos causadas por los agentes químicos pueden agruparse así:

1. *Irritación aguda primaria*: Consiste en una respuesta inflamatoria de carácter local y reversible de la piel como consecuencia a un contacto único con el agente químico. Esta reacción no implica ningún mecanismo inmunitario. La producen las sustancias a pH no fisiológico, los oxidantes, desengrasantes y deshidratantes.

2. *Irritación acumulada*: Es una irritación primaria que se presenta después de reiteradas o repetidas aplicaciones del tóxico, a una concentración inferior a la que origina la irritación aguda primaria.

3. *Corrosión*: Consiste en la desintegración o alteración irreversible de la piel en la zona de contacto, con producción de úlcera, necrosis y cicatriz. La originan las mismas sustancias que producen irritación, cuando inciden a mayores concentraciones o persistencia.

4. *Dermatitis alérgicas*: Se producen a través de un proceso inmunitario, en que el tóxico actúa como antígeno o como hapteno, originando bien una reacción localizada (eritema, eccema) en el lugar del contacto, o bien una urticaria generalizada, a veces con descamación de grandes zonas de la piel.

5. *Reacciones fotoquímicas*: La piel experimenta manchas, eritemas o incluso lesiones irritativas o corrosivas cuando, después de absorber por cualquier vía el agente químico, se expone a la luz actínica o solar. Abarca la *fototoxicidad* y la *fotoalergia*.

6. *Depilación*: La aplicación local o distribución sistémica de sustancias como sales de talio, etc., originan la caída del vello y cabello. También pueden afectarse las uñas. Actualmente se están utilizando como depilatorios, o al menos como retardadores del nacimiento del vello, algunos compuestos de amonio cuaternario, surfactantes catiónicos, que ejercen acción citotóxica sobre las células germinativas del pelo; pueden producir efectos irritativos sobre la piel. Igualmente se aplican mucho para este fin el láser y la luz pulsátil.

Ambas formas de energía pertenecen a las radiaciones electromagnéticas no ionizantes; la palabra *láser* es el acrónimo de la expresión en inglés que significa amplificación de la luz por emisión estimulada de radiación; consiste en un rayo muy estrecho (colimado) de fotones, con alta energía, de una sola longitud de onda (comprendida entre 700 y 1400 nm, según la sustancia que los emite) y por tanto monocromático, no visible, concentrable y direccionable. Se origina cuando una sustancia sólida o gaseosa en estado excitado recibe un estímulo externo (generalmente de tipo eléctrico) que le induce a emitir fotones. Por su parte, la *luz pulsada o pulsátil* es emitida por lámparas tipo flash, generalmente de xenon, de forma discontinua, como pulsos o trenes de energía de entre 200 a 1200 nm, generalmente de 640 nm; es policromática que debe seleccionarse mediante filtros de cuya elección depende el éxito o fracaso de la aplicación y, a diferencia del láser, no es fácil de direccionar. Estas energías lumínicas son absorbidas por las sustancias coloreadas, como la melanina o la hemoglobina; al reaccionar con ellas desprenden calor y queman el objetivo sobre el que inciden, como por ejemplo, el bulbo piloso a causa de su melanina (por ello también se aplican para eliminar manchas cutáneas) o la hemoglobina de vasos sanguíneos superficiales (en arañas vasculares o telangiectasias, o neoformados incluso en la retina). El calor desprendido provoca quemaduras dérmicas de variada intensidad, que obligan a la aplicación tópica de anestésicos a base de lidocaína, tetracaína, benzocaína, etc., que han originado

casos de intoxicación por abuso de los mismos, por hacer ejercicio tras su aplicación o por haberse protegido la zona con plásticos, que favorecen la absorción sistémica, como se ha visto anteriormente; por esta razón la FDA norteamericana recomienda que el empleo sea siempre bajo supervisión de especialistas, que el tratamiento se limite a pequeñas zonas de piel y que no se abuse de los anestésicos.

7. *Afectación de las glándulas*: Apocrinas (sudoríparas) o ecrinas (sebáceas) y producción de *cloroacné*.

Comedogenicidad: Es la capacidad de algunas sustancias para producir acné. El *acné* es una manifestación inflamatoria e infecciosa, con producción de pus, en los folículos pilosos y glándulas sebáceas; es frecuente en la pubertad a causa de alteraciones hormonales (véase más adelante en apartado de Afectación de las glándulas sebáceas).

8. *Pigmentación y despigmentación*: Aparte del aumento de la pigmentación general de la piel que aparece, incluso en los individuos de raza negra, tras exposición a la luz solar o la ultravioleta por incremento de la síntesis de melanina (melanogénesis) en las zonas irradiadas, en ocasiones se producen hiperpigmentaciones o manchas de color marrón pardo u oscuro, localizadas generalmente en la cara (mejillas, frente, labios, nariz, mentón) o en el cuello, escote y brazos, que reciben el nombre de *melasmas* (del griego, mancha oscura). Tienen bordes delimitados y color uniforme, aunque a veces posean moteados simétricos, y se presentan normalmente en mujeres jóvenes que, además de haberse expuesto al sol, han absorbido medicamentos fototóxicos (véase más adelante), como antidepresores, difenilhidantoína, anovulatorios (aunque no las produzcan la terapia hormonal sustitutoria en mujeres postmenopáusicas), etc.; se intensifican durante la menstruación y desaparecen espontáneamente uno o dos meses después de interrumpir la absorción del tóxico, aunque pueden recurrir.

Se admite que son debidas a un aumento en la formación de melanocitos y su transferencia a los queratinocitos de la epidermis, bajo una influencia hormonal. Una forma particular es el *cloasma gravidico*, propio de las embarazadas.

Diferentes son las manchas por dermatitis de contacto, generalmente por perfumes con aceite de bergamota, las que quedan después de alguna

inflamación, que tienen márgenes borrosos, y las propias del envejecimiento de la piel.

Tras la toma de baños de sol o de luz ultravioleta (véase más adelante) para el bronceado manteniendo sobre la piel restos de perfumes y cosméticos, pueden aparecer manchas o bronceado irregular.

Existen dos tipos de cosméticos dirigidos a oscurecer la piel: los *bronceadores* con sol o sin sol. En realidad estos últimos no hacen más que colorear la piel, y son sustancias minerales como óxidos de hierro o el permanganato potásico, o compuestos vegetales que tiñen la piel, como extractos de cáscara de nuez, de castaño, de encina, disoluciones de taninos, etc. Algunas sustancias sintéticas, como los derivados de la dihidroxiacetona, reaccionan con aminoácidos de la queratina produciendo un color oscuro.

Los derivados del ácido cinnámico (del aceite de canela), componentes ordinarios de los bronceadores sin sol, pueden producir irritaciones en mucosas, por contacto y por ingestión, así como alergias.

Los bronceadores con sol son sustancias con grupos que se activan con la luz, originando una reacción fototóxica (véase más adelante); entre aquellas, las furocumarinas y los psoralenos pueden originar daños en la piel al cabo de los años.

Por otra parte, el abuso por vía oral de carotenoides o retinoides por personas deseosas de conseguir rápidos bronceados ha producido trastornos similares a los causados por sobredosis de vitamina A, consistentes en alteraciones del SNC (somnolencia, náuseas, vértigos, cefaleas), y gastrointestinales (diarrea) en la intoxicación aguda, mientras que la hiperabsorción crónica origina descamación cutánea y mucosa, y dolores óseos; además se han observado afectaciones oftálmicas, con cristalización del producto en la retina.

El alquitrán de hulla, fracciones del petróleo y los psoralenos, que son fototóxicos, producen hiperpigmentación.

Algunas sustancias químicas, como compuestos mercuriales, la hidroquinona y su monobencil éter, fenoles, catecoles y diversos compuestos de aplicación industrial como antioxidantes, en contacto con la piel o por vía oral, producen despigmentación o leucodermia.

En estudios realizados *in vitro* con cultivos de melanocitos se ha visto la formación de radicales libres de semiquinona, la cual inicia una peroxidación

lipídica que destruye la membrana lipoproteica de los melanocitos.

9. Porfirias. Como ya hemos apuntado en el apartado 2.a.1 de este capítulo, al hablar de la hemoglobina, la formación elevada de porfirinas, por causa genética o tóxica o por ambas conjuntamente (como consecuencia de mayor sensibilidad a los tóxicos) ocasiona la enfermedad conocida como porfiria, con diversas presentaciones clínicas. Quizás la forma más frecuente es la llamada *porfiria cutánea*, apellidada *tardía* por aparecer en individuos de edad media, principalmente en hombres y con lesiones hepáticas o cirrosis. Los afectados presentan gran fotosensibilidad, pues las porfirinas almacenadas en la piel, bajo la influencia de la radiación lumínica, liberan radicales libres que lesionan piel y tegumentos con manchas (hiperpigmentación), edemas, erupciones, ampollas y destrucciones y retracciones del tejido; la hiperpigmentación y el hirsutismo que se desarrolla pudieran ser con intenciones defensivas. La orina, los dientes y la esclerótica del ojo se colorean de rojo. Se experimentan dolores abdominales y musculares, y parestesias y trastornos neuropsiquiátricos; el ataque agudo de porfiria puede ser una urgencia médica que exige tratamiento inmediato; se recomiendan dietas ricas en carbohidratos de liberación lenta y proteínas (véase Patologías hepáticas).

10. Tumores cutáneos: Las radiaciones ionizantes, las UV y los rayos X, hidrocarburos policíclicos, derivados inorgánicos de arsénico, nitrosaminas, resinas aromáticas epoxi, los psoralenos y otras sustancias han sido considerados como inductores de diversos tipos de tumores en piel y otros tejidos.

Tras prolongado o reiterado contacto con algunas sustancias, como 3,4-benzopireno y compuestos relacionados, formaldehído, resinas epoxi, etc., se puede producir queratosis papilar y carcinomas de células escamosas. El cloruro de vinilo monómero, tras su biotransformación al correspondiente epóxido, provoca melanoma más angiosarcoma hepático.

La luz ultravioleta es actualmente el más temible agente de cáncer de piel, tras reiterada exposición al sol y como consecuencia de la mayor incidencia de los rayos UV al pasar, sin ser filtrados, a través del «agujero» de la capa de ozono; se acepta que las lesiones cutáneas producidas por el sol en los niños se cancerizan posteriormente en el adulto (véase más adelante). Las zonas donde más fre-

cuentemente se desarrolla cáncer de piel inducido por el sol son: cara, cuello, brazos, espalda y cabeza; estudios epidemiológicos revelan que en Europa y América, donde los conductores de automóviles van sentados a la izquierda, experimentan mayor incidencia de cáncer en la mejilla y el brazo izquierdo, al contrario que los conductores en el Reino Unido y en Asia, que reciben el sol por la derecha. La melanina ofrece una cierta defensa frente a la luz, por lo que las personas de piel morena están más protegidas, mientras que los labios, las palmas de las manos y las plantas de los pies son muy sensibles al carecer del pigmento.

Seguidamente ampliaremos conceptos de las patologías que acabamos de definir.

Irritación y causticación

Ordinariamente se consideran cáusticos y corrosivos típicos a las disoluciones con pH alejado del fisiológico, próximo al neutro, pero, por otra parte, se ve que sustancias con $\text{pH} = 1$ causan graves quemaduras mientras que otras al mismo pH no lo hacen. Se deduce, pues, que deben concurrir otras condiciones para producir irritación y corrosión.

Tratando de establecer una relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) para la corrosividad, Barrat (1995) considera que si las sustancias han de penetrar en la piel y seguidamente ejercer una acción citotóxica, son aplicables los mismos parámetros que para medir la absorción percutánea, es decir: pequeño volumen molecular, capacidad de penetración (coeficiente de partición octanol-agua, expresado como $\log P$) y bajo punto de fusión, junto con un parámetro de citotoxicidad, que sería el pK_a (el logaritmo negativo de la constante de disociación) para los ácidos y el pK_b ($14,00 - \text{pK}_a$) para las bases, considerando neutras a las disoluciones con constante de disociación igual a 14.

Las sustancias con bajo pK_a o pK_b , pequeño volumen molecular, bajo punto de fusión y alto $\log P$ serán las más corrosivas o cáusticas. Como ejemplos tendremos, considerando globalmente tales parámetros, anotándolos en el orden citado, que son corrosivos los ácidos acético (4,75, 46,16, 37, -0,319), fórmico (3,75, 34,57, 37, -0,641), acrílico (44,25, 55,84, 37, 0, 103), oxálico (muy polar pero con bajo pK_a , 1,23, 59,91, 106, 0,452). Tam-

bién es corrosivo el ácido hexanoico (ácido débil, pero muy penetrante (4,88, 97,06, 37, 1,773), etc.

Por su parte, las aminas alifáticas son más corrosivas que las aromáticas y heterocíclicas, que poseen un pK_b alto (bases débiles). Así tenemos que dietilamina (3,23, 72,11, 37, 0,950) es más cáustica que trietanolamina (6,23, 122,4, 37, -2,677) o piridina (8,75, 57,03, 37, 0,653).

Desde un punto de vista más práctico, parece ser útil aún, aunque no siempre se corresponda con los efectos *in vivo*, la propuesta de Young y colaboradores (1988), de la asociación inglesa de la industria de jabones y detergentes, que clasifica a las sustancias atendiendo al pH y a la reserva ácida o alcalina de cada disolución. Denomina *reserva ácida* la cantidad de gramos (o equivalentes) de hidróxido sódico para llevar a $\text{pH} = 4$ a 100 g de la sustancia en la dilución que se considera. La *reserva alcalina* viene expresada también por los gramos de hidróxido sódico que equivalen a la cantidad de ácido sulfúrico requerido por llevar la disolución en estudio a un pH de 10. Este concepto de reserva ácida o alcalina representa la capacidad de una sustancia para mantener su pH (capacidad tampón), lo que parece tener más influencia en los efectos lesivos que el pH solo.

Después de determinar estos parámetros en disoluciones de diferentes productos a distintas concentraciones y comparar los resultados con la clasificación de sustancias irritantes y corrosivas (según datos *in vivo*) contenida en la Directiva 67/548CE, de la Unión Europea, Young y colaboradores concluyen que:

A) Son sustancias irritantes aquellas en que:

- a.1. El $\text{pH} + 1/6$ de la reserva alcalina es ≥ 13 .
- a.2. El $\text{pH} - 1/6$ de la reserva ácida es ≤ 1 .

B) Son sustancias cáusticas o corrosivas aquellas en que:

- b.1. El $\text{pH} + 1/12$ de la reserva alcalina es $\geq 14,5$.
- b.2. El $\text{pH} - 1/12$ de la reserva ácida es $\leq -0,5$.

En resumen, la acción de los cáusticos y corrosivos deriva de su capacidad para neutralizar componentes químicos de los tejidos, llegando a invertir el pH natural, reacción química que, muchas veces, se acompaña de una reacción térmica ocasionada por el llamado «calor de reacción», que agrava los efectos.

Como ya vimos (Capítulo 6) los compuestos de carácter ácido (pH bajo próximos a 1), corrosivos, coagulan las proteínas y fijan y endurecen los tejidos, mientras que las bases (pH altos, alrededor de 12), cáusticos, reblandecen los tejidos y se infiltran entre sus capas, formando proteinatos y una especie de papilla jabonosa, por saponificación de los lípidos celulares, originando lesiones de más difícil curación.

Esquemáticamente, los álcalis producen: eritema, edema, inflamación y úlcera, que puede llegar a las capas submucosa y muscular de esófago y estómago, e incluso perforarlas (véase más adelante). Por su parte, los ácidos originan más directamente vejigas y necrosis coagulativa o de coagulación, con endurecimiento del tejido, que suele adquirir un color dependiendo del ácido: negro con sulfúrico, amarillo con nítrico, blanco con tricloroacético, etc.

Los ácidos fluorhídrico y fluosilícico, presentes en algunos productos de limpieza doméstica y de acristalado de suelos, poseen propiedades particulares, ya que además de la acción corrosiva por contacto y penetrar fácilmente en los tejidos donde secuestran a los iones Ca^{++} y Mg^{++} , lo que provoca la muerte celular, si pasan a vía sistémica originan hipocalcemia e hipomagnesemia que conducen a fallo cardíaco por trastornos de conducción y fibrilación ventricular.

Consecuentemente, la gravedad de los daños que pueden provocar cáusticos (alcalinos) y corrosivos (ácidos), depende de:

- pH, concentración y cantidad del producto,
- tiempo de contacto con el sujeto,
- capacidad para penetrar en los tejidos,
- *reserva ácida o alcalina* del producto. (Volumen de agente neutralizante que es preciso para igualar el pH del producto al del tejido); cuanto mayor sea el valor de la «reserva», más daño producirá.

Los principales órganos diana de cáusticos y corrosivos son: piel, ojos, tracto gastrointestinal y tracto respiratorio.

Afectación de las glándulas sudoríparas

Diversos productos aumentan la producción de sudor, bien tras aplicación tópica (alcoholes del tipo 2,4-hexanediol, 3-hexen-1-ol, 1,5-pentane-

diol, 1,6-hexanediol; aldehídos como el propionaldehído; compuestos organofosfatos inhibidores de la acetilcolinesterasa, etc.), o bien por vía sistémica, como ocurre en la intoxicación por monóxido de carbono, a causa de la hipertermia que origina, o en la intoxicación por barbitúricos, meprobamatos, glutetimida, imipramina, metadona, metacualona, dioxinas, etc., que provocan la formación de petequias y bullas asociadas a necrosis de las glándulas sudoríparas.

Pero hay un mayor número de sustancias que inhiben la sudoración, tanto por vía tópica como sistémica; citemos los anticolinérgicos y antiadrenérgicos, tanino, sales metálicas, ácidos orgánicos (bórico, cítrico, salicílico, benzoico), etc.

La aplicación sobre la piel de los desodorantes cierra los poros y frena el desarrollo bacteriano que descompone al sudor y aumenta el mal olor, pero puede provocar irritación local y reacción tisular a los restos metálicos (Al, Zn, Zr) incluso como impurezas, originando granulomas.

Afectación de las glándulas sebáceas. Cloroacné

Sin necesidad de que se estimule la producción de grasa, las glándulas sebáceas pueden ver afectada su capacidad de excreción, manifestando lo que se conoce como acné; dado que una gran parte de las sustancias que lo producen, por contacto o por vía sistémica, son hidrocarburos clorados, se suele utilizar el término de cloroacné. Ejemplo de dichas sustancias son: cloronaftalenos, clorobencenos, clorofenoles, policloro-benzodioxinas (PCDD), clorobifenilos, así como petróleo crudo, alquitrán, asbesto, etc.

El proceso patológico comienza con comedones (tapones de sebo, polvo y células epiteliales, que ocluyen el canal excretor de la glándula), producidos por proliferación de células escamosas en los acini de las glándulas y acantosis en la porción externa, y puede evolucionar a quiste, absceso y escaras y cicatrices, que en ocasiones se han visto asociados con lesiones hepáticas y trastornos nerviosos.

Por otra parte, se admite que algunos productos acnérgicos, como las grasas y lubricantes industriales (taladrinas), pueden conducir microorganismos que produzcan infección en el folículo piloso.

Como procedimiento de estudio experimental de la capacidad de las sustancias para producir acné, se suele aplicar el producto (cinco días a la semana, durante dos semanas) en el canal del oído externo de conejos, en una sola de las orejas, dejando la otra de testigo.

Interés toxicológico del pelo

El pelo es un tallo córneo flexible formado por queratina dura, que se desarrolla a partir de las células germinativas del epitelio, invaginado, que profundiza hasta la dermis. Esta depresión de la epidermis se denomina folículo piloso. La parte externa del pelo se llama tallo, y la profunda raíz, que termina en un abultamiento conocido como *bulbo piloso*; en el interior de éste se halla la papila, que es de tejido conjuntivo y es el órgano de nutrición del pelo, de cuyas células nace y crece un nuevo pelo.

El crecimiento del pelo de la cabeza humana (cabello) tiene una velocidad entre 0,3 y 0,4 mm diarios, lo que supone una media de aproximadamente 1 cm al mes, aunque hay periodos en que el crecimiento se detiene. El cabello tiene una vida de 3 a 5 años, aunque, como las uñas, el crecimiento y la pervivencia dependen de múltiples factores exógenos y endógenos.

Junto a la raíz del pelo existen células pigmentarias que ceden pigmento al tallo; igualmente las células epiteliales de éste conservan las sustancias circulantes en la sangre en el momento de formar parte del tallo, por lo que el análisis de fragmentos ordenados del pelo permite conocer qué sustancias orgánicas e inorgánicas habían sido absorbidas por el sujeto en el tiempo del crecimiento de cada fragmento de pelo; esto es útil para determinar el consumo de drogas o la exposición crónica a otras sustancias (Soria *et al.*, 1992; Jurado *et al.*, 1995), y conseguir lo que hemos denominado perfil *cronológico de una exposición pretérita*, mediante el análisis secuencial de sucesivos fragmentos de un mechón.

El color del pelo se debe a la *melanina*; este pigmento es un polímero de indol-5,6-quinona (que se forma a partir del aminoácido tirosina), acompañada de sus productos de oxidación como el ácido 5,6- indolcarboxílico; la carga aniónica de éste se une a cationes metálicos y orgánicos, que son retenidos en los tejidos ricos en melanina, como piel,

pelos, ojos (iris, coroides, retina), oídos, etc; por ello, los pelos oscuros retienen más compuestos exógenos que los claros. Estos compuestos no experimentan biotransformaciones y se conservan indefinidamente en la forma química (sustancia absorbida o metabolito) en que se hallaban en la sangre cuando se fijaron al pelo en momento de iniciar el crecimiento de este.

Dermatitis por contacto (eccema localizado)

En 1895, Jadassohn reconoció que algunas reacciones de la piel no son causadas por la acción directa de sustancias químicas sobre la piel, sino por una progresiva sensibilización de ésta ante repetidos contactos con aquéllas; se admitía así que algunas dermatitis o eccemas poseen una base alérgica o inmunitaria.

En la actualidad se considera la sensibilidad por contacto como una forma de hipersensibilidad retardada a complejos constituidos por sustancias de bajo peso molecular, conjugadas *in vivo* con proteínas autólogas. Dichas sustancias deben ser capaces de atravesar la piel y formar enlaces covalentes con las proteínas, por lo que la capacidad de tales sustancias para producir sensibilización vendrá dada por su solubilidad en lípidos y su reactividad con las proteínas.

Hasta el momento se ha detectado un amplio número de sustancias con capacidad alérgica; de ellas, las más activas son el níquel y el cromo y sus compuestos, que han resultado ser responsables de irritación, dermatitis por contacto y cáncer en trabajadores y numerosas personas, por la gran difusión de objetos fabricados con estos elementos, como monedas, bisutería, cubiertos, pinturas, o productos fabricados con el uso de molinos de bolas o piezas de aceros al cromo o níquel; también el cuero curado con sales de estos elementos; disposiciones de la UE prohíben la fabricación de juguetes, utensilios y bisutería que puedan ceder níquel por contacto.

El mercurio y sus compuestos poseen, igualmente, capacidad sensibilizante.

Otro potente sensibilizador de la piel es la p-fenilendiamina, utilizada en colorantes y tintes para el pelo; produce alergias cruzadas con otras

Tabla 7.10. Agentes de dermatitis alérgica por contacto

Anestésicos locales
Procaína, benzocaína
Antibióticos
Neomicina, estreptomina, sulfamidas
Antihistamínicos tópicos
Antisépticos conservadores
Parabenos
Amonios cuaternarios (benzalconio)
Formaldehído
Caucho, gomas, (apósitos, guantes), proteínas, plastificantes, aditivos
Corticoides tópicos
Filtros solares
Prótesis dentales
metales (níquel)
acrilatos

aminas, como la anilina, sulfamidas, procaína y sustancias con sustituyentes en posición para, como el p-aminobenzoico, p-aminosalicílico, etcétera (Tabla 7.10).

La etilendiamina, utilizada como alcalinizante y emulsionante, origina reacciones cruzadas con otras, como los antihistamínicos.

Citémos, por último, el formaldehído, de amplio uso industrial, y como conservador de numerosos productos domésticos y, en menor escala, como endurecedor de las uñas; es un potente sensibilizador y cancerígeno.

Desde un punto de vista histológico, se encuentran en la literatura afirmaciones contradictorias, motivadas porque la observación se debió efectuar en diferente momento de evolución.

Se admite que, en general, la dermatitis aguda se inicia por un edema, tanto intracelular como intercelular. El edema intercelular rompe los puentes de unión entre las células (acantolisis) y conduce a una espongiosis con formación de numerosas vesículas separadas por finas paredes; la capa córnea se hace hiperqueratósica, y el aumento de edema intersticial y de actividad mitótica conduce a la acantosis y paraqueratosis. Pueden encontrarse aquí linfocitos, neutrófilos y eosinófilos.

Por su parte, el edema intracelular es considerable y las células epidérmicas quedan con sus membranas muy distendidas.

Las lesiones suelen desaparecer en uno o varios días, según el grado de sensibilización.

La inflamación crónica puede acompañarse de otras alteraciones, especialmente del granuloma, que es una proliferación de células epitelioides mononucleadas diferenciadas en el tejido como respuesta al estímulo tóxico. Es una lesión crónica, focal, que puede ulcerarse o no.

Hace años se han descrito casos de granulomas en las axilas como consecuencia del uso de barras desodorantes que contenían zirconio. Las personas con esta respuesta dérmica formaron granulomas de células epitelioides cuando se les inyectó intradérmicamente pequeñas cantidades de sales de zirconio.

En resumen, las *dermatitis o eccemas por contacto* o *localizados* pueden responder a mecanismos inmunitarios o a no inmunitarios. En el primero se produce desgranulación de mastocitos con liberación de histamina y demás mediadores e intervención de inmunoglobulina IgE en reacción de hipersensibilidad inmediata tipo I, o de tipo III por inmunocomplejos circulantes; el no inmunitario o pseudoalérgico se denomina también anafilactoide y no requiere sensibilización previa.

Urticaria y angioedema

Ya han sido definidos anteriormente; en el 50 % de los casos aparecen asociados, y su mecanismo de producción es similar, generalmente a causa de la acción de histamina sobre los receptores H_1 (en la piel no hay H_2) o de otros mediadores (acetilcolina, bradiquinina, serotonina, metabolitos del ácido araquidónico o del complemento, etc.) liberados en la desgranulación de los mastocitos, de acuerdo con un proceso inmunitario, o bien, por absorción de dichas sustancias o su liberación de los depósitos fisiológicos (en procesos no-inmunitarios o de pseudoalergia).

Los cuadros clínicos de estas patologías pueden ser agudos (cursan en unos días), crónicos (más de seis semanas) o crónicos intermitentes, pero se diferencian de las dermatitis de contacto, en que no hay lesión cutánea (eccema).

Podemos distinguir las siguientes:

Urticarias físicas

Se desencadenan en individuos susceptibles, por la acción de muy diferentes agentes físicos, como los siguientes:

Roce o fricción: al rayar o escribir suavemente sobre la piel, frotamiento energético (al secarse con una toalla), en caso de labilidad neurovegetativa (*Dermografismo*).

Presión: en los lugares sometidos a compresión, por cinturones, ligas, cintas, sostenes, zapatos, etc., después de interrumpir la presión (urticaria retardada).

Ultrasonidos y vibraciones, uso de aparatos de fisioterapia, maquinaria vibratoria (cortacésped, motocicletas, martillo neumático, etc.).

Calor y ejercicio físico, como respuesta a estimulación de la inervación simpática colinérgica de las glándulas sudoríparas.

Frío, al contacto con hielo, agua u objetos fríos, tiempo desapacible, con formación de crioglobulinas.

Radiaciones luminosas: luz visible, luz solar (radiaciones visibles, ultravioleta e infrarroja), incluso a través de la ropa (véase Fotoalergia, seguidamente). Suele responder a un mecanismo de hipersensibilidad tipo I.

En general, son de tipo inmediato, excepto la urticaria retardada por presión, y de mecanismo no inmunitario.

Urticaria de contacto

Tras el contacto con el alérgeno, aparecen transitoriamente habones en la piel, tanto por proceso inmunitario (IgE) como no inmunitario.

Los alérgenos más frecuentes son metales (cromo, níquel en objetos de bisutería o accesorios, broches o remaches en las ropas), perfumes, aditivos alimentarios y productos animales o vegetales.

Urticaria por picaduras de insectos

Las de curso inmediato están ocasionadas por intervención de IgE; pueden evolucionar a formas retardadas papulosas, de lenta curación.

Urticaria por contacto de distribución sistémica

Una forma diferente de toxicidad cutánea es la urticaria por contacto, que presenta un síndrome no localizado, sino sistémico, y que puede conducir a la muerte del paciente. Generalmente, la sintomatología de esta urticaria por contacto aparece dentro de

los 30 min de la incidencia del alérgeno. Se admite que el mecanismo fisiopatológico puede ser inmunitario. Éste es el más frecuente y para su producción se requiere que la sustancia penetre en la piel; inmediatamente se libera histamina, bradicinina y otras sustancias vasoactivas. Los agentes productores de este tipo de urticaria de base no inmunitaria se encuentran en numerosas plantas y artrópodos, así como en el cloruro de cobalto, el dimetil-sulfóxido, histamina, ésteres del ácido nicotínico, etc.

La *urticaria alérgica sistémica por contacto*, de base hipersensible tipo inmediato, no es muy común, pero es producida por sustancias considerablemente dispares, desde patata cruda, a desinfectantes, benzofenona, mostazas nitrogenadas, ácido acetilsalicílico, etc. La reacción puede llegar a la crisis anafiláctica y muerte.

Se han descrito casos de sensibilización a diversos productos, con aparición inmediata de urticaria, pero sin que se lograra explicar el mecanismo aunque se admita la liberación de histamina hística. Entre dichos agentes cabe destacar el persulfato amónico, empleado como blanqueante y decolorante del cabello, la luz solar y el agua.

Se denomina también urticaria alérgica sistémica aguda y, generalmente, se debe a reacción de hipersensibilidad tipo III, por inmunocomplejos circulantes, que puede producir choque anafiláctico, y aunque sobre la piel aparezca urticaria y angioedemas, se suele acompañar de edema de glotis (que dificulta la respiración), broncoespasmo, disnea aguda y trastornos intestinales (náuseas, vómitos, dolor, etc.) y, en los casos graves, arritmia cardíaca, hipotensión y shock.

Angioedema por fármacos

Algunos medicamentos producen angioedema sin urticaria; el trastorno puede aparecer a los pocos días de comenzado el tratamiento, pero otras veces se presenta a los meses o años del consumo. Ejemplos de estos fármacos son los inhibidores de la enzima convertasa de la angiotensina (IECA), los AINES, contrastes yodados, etc.

Dermatitis seborréica

Se trata de una afección papuloescamosa que aparece en distintas partes del cuerpo, generalmente ricas en glándulas sebáceas, con escamas grasas

o secas en zonas enrojecidas e inflamadas; se distingue de la caspa en que esta no se acompaña de inflamación. No se conoce bien su etiología, pero suele complicarse con infecciones fúngicas, y se induce o agrava en los tratamientos con muy diversos medicamentos, como: los neurofármacos buspirona, clorpromazina, haloperidol, fenotiazinas, metildopa, litio; los antibacterianos isoniácida, rifampicina, etc., el antifúngico griseofulvina; el antisecretores gástrico cimetidina; los psoralenos, el interferón, etc.

Efectos nocivos de la luz

La luz es fuente de vida; sin ella no sería posible la función clorofílica y, por tanto, la vida vegetal ni, consecuentemente, la animal. Sirve también para sincronizar los ritmos fisiológicos (véase Cronobiología, Capítulo 8). Pero no es un agente inocuo; su incidencia excesiva, favorecida por el llamado «agujero de ozono», produce o agrava diversas patologías, particularmente, de la piel.

Entre estos efectos cabe distinguir:

a. *Eritema y quemadura solar*; según que la exposición sea mediana o intensa; se manifiesta a las pocas horas del comienzo de la exposición y es máxima a las 24-36 horas; cuando disminuye aparece el *bronceado*, por estimulación de la síntesis de melanina.

b. *Fotoenvejecimiento* cutáneo mucoso en las zonas más fotoexpuestas, como cara, escote, cuello, manos, calva, tanto por causa laboral como recreativo. La piel adquiere una coloración grisácea, telangiectasias (venillas), arrugas, pérdida de elasticidad, manchas y queratosis.

c. *Fotodermatitis idiopáticas*, en que, como consecuencia de una fotosensibilidad de causa desconocida, se manifiesta la enfermedad en forma de prurito (picor), urticaria, erupción, dermatitis actínica crónica y endurecimiento y envejecimiento de la piel.

d. *Fotodermatitis por enfermedades metabólicas* (por ejemplo, las porfirias), en que metabolitos endógenos dan lugar a fotosensibilidad.

e. Agravamiento por la luz de enfermedades como lupus eritematoso, rosácea, pitiriasis, herpes simple, etc.

f. *Fotoalergia y Fototoxicidad* originadas tras la activación por la luz, de sustancias absorbidas por cualquier vía (véase más adelante). Además, la luz

recibida de forma moderada estimula el sistema inmunitario, pero a grandes exposiciones lo perjudica.

g. *Cáncer cutáneo* originado por acción de la luz ultravioleta sobre las células basales (melanoma benigno o basotelioma) o sobre las células espinosas (melanoma maligno o espinotelioma). La luz UV (tanto en sus fracciones A como B) es un carcinógeno directo, pues lesiona al ADN celular, siendo particularmente activa y lesiva la radiación recibida durante los primeros 18 años de la vida.

Cuanto mayor sea la longitud de onda de las radiaciones, menor es su actividad, pero mayor es su capacidad de penetración en la piel, y pueden llegar hasta la dermis.

De las radiaciones electromagnéticas que emite el sol, parte se pierde en el vacío, parte es absorbida por la capa de ozono estratosférico, parte reacciona con los agentes contaminantes atmosféricos, o con el ozono troposférico (a ras de la tierra) y parte por las nubes. Finalmente, el cuerpo es defendido por la queratina (por ello, a consecuencia de la exposición se produce un aumento del grosor de la capa córnea, con hiperqueratinización), el ácido urocánico presente en el sudor, y la melanina; ésta absorbe o refleja a las radiaciones inferiores a 300 nm y a los radicales libres, por lo que constituye la mejor defensa personal, y cuyo aumento y oxidación a consecuencia de la irradiación conduce al oscurecimiento o *bronceado*.

Con arreglo al contenido en melanina y a la capacidad de defensa de la piel frente a las radiaciones solares, el dermatólogo norteamericano Fitzpatrick propuso las seis clases o *fototipos* de piel siguientes:

Fototipo 1: corresponde a los individuos pelirrojos, de piel muy blanca, con pecas y ojos azules. Al sol se queman y no se broncean; suelen experimentar alergia al sol.

Fototipo 2: son individuos de pelo pajizo, piel clara, pecas, ojos claros o pardos. Se queman con facilidad y se broncean poco.

Fototipo 3: Razas caucásicas (norte y centroeuropeas) de pelo rubio, piel blanca intermedia. Primero se enrojecen y queman moderadamente, y luego se broncean.

Fototipo 4: Razas mediterráneas y orientales, de pelo castaño y piel morena. Se queman poco y se pigmentan fácilmente.

Fototipo 5: Razas amerindias, hispanas, indostánicas, de pelo moreno y piel amarronada. Se quemán raramente y se pigmentan con rapidez.

Fototipo 6: Razas negras, con pelo y piel negros. Nunca se quemán; suelen aumentar su pigmentación.

En las radiaciones solares pueden distinguirse tres grupos:

a) *Radiaciones ultravioletas*, de longitud de onda inferior a 400 nm. Forman la luz actínica o de mayor actividad química.

b) *Radiaciones visibles*, de longitudes comprendidas entre los 400 y 750 nm.

c) *Radiaciones infrarrojas*, entre 750 y 2.000 nm. Son ondas caloríficas.

Por su parte, las radiaciones ultravioletas (a) pueden subdividirse según su efecto sobre los sistemas biológicos y teniendo en cuenta que efecto y longitud de onda están en relación inversa:

a.1. Zona UV-A: integrada por radiaciones de 315-400 nm, causantes de la pigmentación de la piel al catalizar la oxidación de la tirosina en melánina; ésta absorbe las radiaciones inferiores a 300 nm, actuando de filtro protector.

a.2. Zona UV-B: de 280-325 nm; que produce el eritema o enrojecimiento de la piel, y posterior pigmentación.

a.3. Zona UV-C: entre 200-280, que produce lesiones fotoquímicas en los componentes celulares, con muerte de la célula epidérmica y destrucción de tejidos (quemaduras).

a.4. Zona UV-V: de 200 a 10 nm, de gran capacidad actínica, pero que afortunadamente, como las UV-C, son absorbidas por el ozono atmosférico.

Consecuentemente, los protectores de la piel que favorecen el bronceado son sustancias capaces de absorber las radiaciones de menos de 315 nm, de forma que sólo lleguen a la piel las UV-A. Sin embargo, tanto las UV-A como las radiaciones visibles son capaces de desarrollar procesos de fotosensibilización.

En resumen, puede decirse que las radiaciones B producen daño de forma aguda (eritema, quemadura solar, etc.), aunque recibidas de forma crónica inducen cáncer de piel, mientras que las A originan lesiones a largo plazo como envejecimiento de la piel, alteraciones del sistema inmunitario y cánceres

cutáneos; de éstos cabe destacar el cáncer melanocítico de células basales (*basotelioma*), que es benigno, pues no produce metástasis, aunque debe extirparse para que no progrese en extensión y profundidad, y el *melanoma*, de células espinosas, que se difunde rápidamente y puede ser mortal.

Entre las lámparas eléctricas, las normales de incandescencia apenas si emiten radiaciones UV; los tubos fluorescentes dan 3 % de UV-A y 0,3 % de UV-B, proporciones pequeñas pero que en largas exposiciones durante el trabajo pueden producir efectos en combinación con fotosensibilizantes y fotoalergenos. Las lámparas de cuarzo, empleadas para el bronceado, suelen emitir un 20 % de UV-A, 10 % de UV-B y 5 % de UVC, por lo que deben dosificarse con cuidado; en las lámparas de luz negra, el 95 % es UV-A.

La *psoriasis* es una enfermedad de etiología no bien aclarada, que afecta principalmente a la piel, donde se manifiesta por la aparición de escamas grasas; se debe a excesiva proliferación de los queratinocitos, cuyo ciclo de vida es de unas 36 horas, frente a las 311 de las células epidérmicas normales; esta velocidad de regeneración provoca la continua descamación. Aún no existe un procedimiento terapéutico eficiente, pero es frecuente la aplicación del método PUVA, consistente en la administración de psoralenos, como el 8-metoxipsoraleno, y exposición local a luz ultravioleta A; se admite que el psoraleno se intercala entre las bases del ADN, mientras que la energía UV origina enlaces cruzados entre las bases de cadenas opuestas; con estas alteraciones del ADN se trata de evitar su replicación y la mitosis. Se ha demostrado (Stern, 1997) que 15 años después del tratamiento se encuentra aumentado el riesgo de padecer melanoma y cáncer de células escamosas.

Los psoralenos son furanocumarinas presentes en gran número de plantas (umbelíferas, rotáceas, bergamota, etc.) La luz UV los activa al estado de triplete, el cual reacciona con el ADN en las bases de pirimidina, citosina y timidina, lo que provoca mutaciones o inhibición de la replicación y muerte celular.

Como consecuencia de todo lo expuesto, cada vez son más rigurosas las reglamentaciones relativas al uso de lámparas ultravioleta para el bronceado artificial; así, dentro del plan de acciones de lucha contra el cáncer, adoptado por el Parlamento y el Consejo europeos en la Decisión 646/1996/CE se incluyeron medidas dirigidas a evitar los

riesgos por tales radiaciones, que en España han sido transcritas por el Real Decreto 1002/2002, del Ministerio de Sanidad y Consumo.

En este Decreto se prohíbe que los aparatos de bronceado emitan radiaciones de longitud de onda inferior a los 295 nm, y que utilicen estos aparatos los menores de 18 años, y recomienda que no los usen las mujeres embarazadas. Se obliga que los Centros de bronceado expongan al público suficiente información acerca de los daños irreversibles que las radiaciones UV pueden provocar sobre la piel (envejecimiento prematuro y cáncer de piel) y sobre los ojos (inflamación de la córnea y cataratas); y que estas radiaciones son especialmente peligrosas para las personas de piel muy blanca, las que se queman sin broncearse, las que hayan padecido cáncer de piel o posean antecedentes familiares de ello.

Se establece que en la publicidad de los aparatos se incluya el siguiente mensaje:

«Los rayos de los aparatos de bronceado UV pueden afectar a la piel y a los ojos. Estos efectos dependen de la naturaleza y de la intensidad de los rayos, así como de la sensibilidad de las personas».

En ningún caso se podrá hacer referencia a efectos curativos, preventivos o beneficiosos para la salud, ni alusiones sobre la ausencia de riesgo.

Además, se recomienda observar las siguientes precauciones:

- 1.^a Utilizar siempre gafas de protección.
- 2.^a Antes de la exposición, retirarse los cosméticos y no aplicarse ningún filtro solar.
- 3.^a No exponerse a las UV en periodos de tratamiento con medicamentos.
- 4.^a No exponerse al sol y al aparato en el mismo día.
- 5.^a Entre las dos primeras exposiciones espaciar 48 horas.

Con objeto de limitar el efecto de las radiaciones del sol se utilizan los llamados *filtros o protectores solares* que, de acuerdo a su modo de acción, se clasifican en físicos, químicos, mixtos y bioquímicos. Los filtros *físicos* reflejan la luz en sus espectros ultravioleta, visible e infrarrojo, por lo que se les ha denominado «pantalla» (en francés, *écran*, en inglés *sunblock*), por suponerse que evitan tanto el eritema como el bronceado, ya que se considera que proporcionan mayor seguridad; suelen estar

constituidos por productos inorgánicos como mica, calamina, óxido de hierro, óxido de cinc, dióxido de titanio, etc. Los filtros *químicos* absorben la energía de la radiación ultravioleta y la transforman en otra inocua; son moléculas orgánicas de estructura electrónica resonante, como los ácidos p-aminobenzoico (PABA), cinámico o sulfónico, y el alcanfor, activos frente a la UV-B, o como benzofenona, dibenzoilmetano, etc., que absorben las UV-A; se les considera cosméticos. Los filtros *mixtos* actúan por reflexión y por absorción, como los derivados del benzotriazol. Los llamados filtros *biológicos o bioquímicos* son sustancias captadoras de radicales libres, como las vitaminas A y E y, por tanto, antioxidantes.

La capacidad protectora de los filtros solares, corresponde al tiempo en que se puede estar expuesto al sol sin riesgo de quemadura, y se expresa como *factor de protección solar* (FPS) o simplemente *índice de protección* (IP) en cuanto a su actividad frente a los UV-B, mientras que el *índice PPD* se refiere a la protección frente a los UV-A; un mayor valor del índice debe entenderse como superior protección, así por ejemplo, una persona de piel clara que normalmente se quema tras 10 minutos al sol, tardaría en quemarse 15 veces más (150 minutos) si se aplicase un protector con índice o factor de 15, siempre que no haya pasado más de tres horas ni que el individuo se haya lavado después de ponerse el filtro.

Una normativa de la Unión Europea, en vigor desde el 10 de julio de 2007, ha prohibido las designaciones publicitarias de «pantalla total» y «protección total», por considerar que son inciertas, y especifica que el «factor de protección solar» (FPS) es una denominación incorrecta porque solo protege contra la quemadura por los rayos UV-B.

Además, la citada normativa europea unifica y reduce la clasificación de los cosméticos protectores a las capacidades baja, media, alta y muy alta (entre los números 6 a 50), para tratar de simplificar las modalidades actuales.

Existen varios métodos para la evaluación de estos índices, como el FDA, norteamericano, el DIN, alemán, el SAA, australiano y el COLIPA, europeo; en síntesis:

$$\text{FPS} = \frac{\text{dosis de UV que produce eritema, con protección}}{\text{dosis de UV que produce eritema, sin protección}}$$

El ensayo debe realizarse al sol, y según el método COLIPA, para la protección deben aplicarse 2 mg de crema filtrante por cm² de piel, cantidad realmente grande.

Para determinar en el laboratorio la capacidad protectora de cremas y cosméticos se estudia el espectro de absorción UV de la sustancia, lo que permite descubrir la longitud para la que tiene máxima absorción.

También se valora aplicando la sustancia en bandas horizontales sobre la espalda de varias personas, alternativamente a bandas sin tratamiento; se ilumina la espalda con lámpara UV bronceadora y se mide el tiempo hasta la aparición de eritema en ambos tipos de bandas. El cociente entre el tiempo de eritema en las bandas tratadas y el de las no tratadas nos da el coeficiente de Schulze, que significa mayor protección cuanto más alto sea.

Reacciones de fotosensibilización

Son reacciones cutáneas anormales que aparecen tras la exposición a la luz solar (concretamente de longitudes de onda comprendidas entre 320 y 400 nm, zona UV-A, distintas de las que producen «el golpe de calor»: 290-320 nm); se han llamado también dermatitis actínicas, aunque también las pueden originar otras radiaciones energéticas no luminosas, como los ultrasonidos. La reacción aparece sólo en las regiones expuestas a la luz a diferencia de algunas dermatitis por contacto que pueden presentarse más dispersas.

Para que se produzcan las reacciones de fotosensibilización, la sustancia exógena ha de sufrir una fotoactivación, que puede producirse por dos mecanismos:

a. El xenobiótico es activado por la luz y reacciona directamente (reacción fotoquímica) con una macromolécula biológica.

b. El xenobiótico absorbe luz UV y eleva su grado de energía, que activa al oxígeno molecular y lo convierte en especies reactivas de oxígeno.

Según esto, una vez activada la sustancia, esta puede originar dos clases diferentes de reacciones (Fig. 7.37):

a) *Fototoxicidad*. Una sustancia exógena recibida por cualquier vía y localizada en la piel absorbe la radiación luminosa y libera radicales libres que

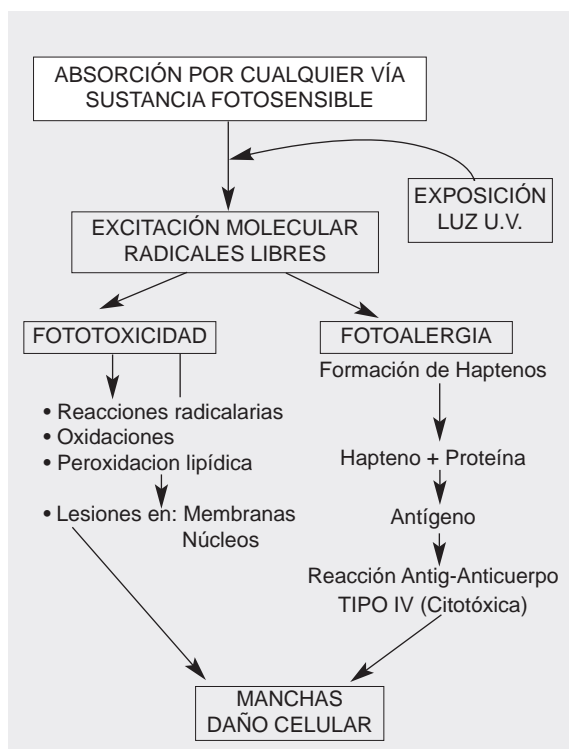


Figura 7.37. Procesos de fotoalergia y fototoxicidad.

lesionan las membranas y orgánulos celulares. Entre las sustancias fototóxicas destaca el antraceno, que produce disrupción de la membrana, y los psoralenos, que se unen al ADN.

b) *Fotoalergia*. En presencia de la luz, el xenobiótico en la piel se transforma en un compuesto reactivo (electrófilo, radical libre) y antigénico; por ejemplo, la tetraclorosalicilanilida (TCSA) se deshalogena por acción de la luz, y se transforma en un hapteno que se une a las proteínas para formar el antígeno.

Sustancias capaces de producir fotosensibilización

A. Agentes fototóxicos

a.1. Tras aplicación tópica

Aceite de bergamota.
Alquitrán, brea.
Bencidamina.

Cumarinas.
Eosina.
Fluoresceína.
Psoralenos.

a.2. *Por vía sistémica*

Ácido nalidíxico.
Antiinflamatorios no esteroideos.
Diuréticos tiazídicos.
Fenotiazinas.
Griseofulvina.
Quinidina.
Quinina.
Porfirinas.
Psoralenos.
Sulfonamidas.
Sulfonilureas.
Tetraciclinas.
Tolbutamida.
Vincristina.

B. Agentes fotoalérgicos

b.1. *Tras acción tópica*

Benzofenonas.
Cinamatos.
Clorhexidina.
Hexaclorofeno.
PABA y sus ésteres.
Salicilanilidas.
Sales de níquel y de cromo.

b.2. *Por vía sistémica*

Ciclamato.
Difenhidramina.
Estrógenos.
Fenotiazinas.
Quinidina.
Sulfonamidas.
Sulfonilureas.
Tiazidas.

Necrosis tóxica epidérmica

Consiste en una necrosis masiva de extensas zonas de la piel y las mucosas con afectación del sistema queratinizante, seguida de desprendimiento y denudación.

Puede comenzar como un *rash* cutáneo-mucoso generalizado, con afectación palmar y plantar, pruriginoso, con fiebre persistente y disnea; se presenta eritema intenso que progresa a la epidermiolisis. Las complicaciones más frecuentes derivan de la deshidratación e hipoproteïnemia, con insuficiencia renal (oliguria) por desequilibrio electrolítico, pero lo más grave, normalmente letal, consiste en infección generalizada (sepsis) y particularmente, la afectación pulmonar, por pérdida de epitelio, así como el colapso pulmonar a consecuencia de la aspiración de restos de descamación de la mucosa de las vías respiratorias; pueden producirse hemorragias digestivas masivas y embolismo pulmonar. Si el paciente sobrevive suelen quedar estenosis por cicatrices y úlceras en distintos órganos. La mortalidad es alta y la terapéutica exige cuidados intensivos, preferentemente en Unidades de Quemados.

Se admite que se debe a un mecanismo inmunitario, del tipo de reacción citotóxica, mediado por anticuerpos frente a las células de Malpighio, y desencadenado por numerosos medicamentos, como anticonvulsivos (fenitoína, fenobarbital, carbamazepina), antibióticos (ampicilinas), sulfamidas (trimetoprima) antiinflamatorios no esteroideos (pirazolonas), derivados del oxícam, alopurinol, etc. Tiene un periodo de latencia de una a tres semanas, a menos que hubiera hipersensibilización previa, en que el plazo es más corto.

Lupus eritematoso de origen tóxico

Otra patología desencadenada por sustancias químicas es el lupus eritematoso diseminado (LED), enfermedad considerada como autoinmunitaria, pues se produce por una desviación de la respuesta inmunitaria, que promueve la fabricación de anticuerpos contra los constituyentes del propio individuo. Aparece fiebre (en el 80 % de los casos), anorexia, adelgazamiento, afectaciones cutáneas (erupción exantemática, bullas, ulceraciones en las mucosas conjuntivales, bucales, genitales, etc.) y frecuentes (95 %) manifestaciones articulares, del tipo de poliartritis, osteonecrosis y mialgias; afectaciones renales (nefropatías mesangiales y glomerulonefritis extramembranas) y cardíacas (pericarditis, miocarditis y endocarditis). Este polimorfismo

Tabla 7.11. Medicamentos implicados en la aparición de lupus (según Dubois).

<i>Antibióticos</i>	<i>Anticonvulsivos</i>	<i>Antihipertensivos</i>
Penicilina	Mefenitoína	Hidralalcina
Tetraciclina	Difenilhidantoína	α -metildopa
Sulfametoxipiridazina	Trimetadiona	L-Dopa
Sulfadimetoxina	Primidona	Gaunoxán
Griseofulvina	Etosuximida	Reserpina
	Carbamazepina	
	Feniletilacetilurea	
<i>Antituberculosos</i>	<i>Fenotiazinas</i>	<i>Diversos</i>
Isoniazida	Clorpromazina	D-Penicilamina
PAS	Perfenazina	Quinidina
Estreptomina	Perazina	Oxifenisatina
	Tioridazina	Fenilbutazona
	Metotrimeprazina	Metiltiouracilo
	Prometazina	Propiltiouracilo
		Procainamida
		Carbutamida
		Amoproxán
		Tolazamida
		Metisergida
		Antiomaline
		Anticonceptivos orales
		Sales de oro
		Ácido aminosalicílico

semiológico suele hacer difícil el diagnóstico, complicado también porque la etiología es muy diversa, como consecuencia de respuestas anormales de los linfocitos a agresiones bacterianas, víricas o químicas. En la Tabla 7.11 se relacionan medicamentos que han aparecido implicados en la producción de lupus de origen tóxico; en estos casos no suelen encontrarse en el suero anticuerpos anti-ADN y a veces la enfermedad remite al interrumpir el contacto con el agente.

PATOLOGÍAS TÓXICAS EN EL APARATO DIGESTIVO

El aparato o sistema digestivo es el conjunto de órganos encargado de la digestión, formado por la cavidad bucal y glándulas salivares, faringe, esófago, estómago e intestino (que constituyen el tubo digestivo), y las glándulas anexas.

El tubo o tracto digestivo presenta unas características anatómicas, histológicas y funcionales que condicionan el tipo de patologías que puede experimentar. Estas patologías son fundamentalmente causadas por contacto por sustancias cáusticas o corrosivas, pero también las hay por vía sistémica, que normalmente afectan a la inervación, a la vascularización y a las glándulas secretoras (Fig. 7.38).

El tubo digestivo de un adulto, desde la boca al ano, tiene una longitud de aproximadamente 5 m; su superficie interna (luz del tubo) está cubierta de una membrana mucosa muy resistente a la abrasión, cuyas células, de gran actividad mitótica, se renuevan continuamente; esta capa contiene tejido conjuntivo y glándulas y está cubierta por una capa de músculo liso, que por sus contracciones obliga al alimento a desplazarse. Encima hay una capa de peritoneo, que cubre toda la cavidad abdominal y que en el estómago se transforma en la serosa; en el intestino grueso forma el mesenterio, por cuyos

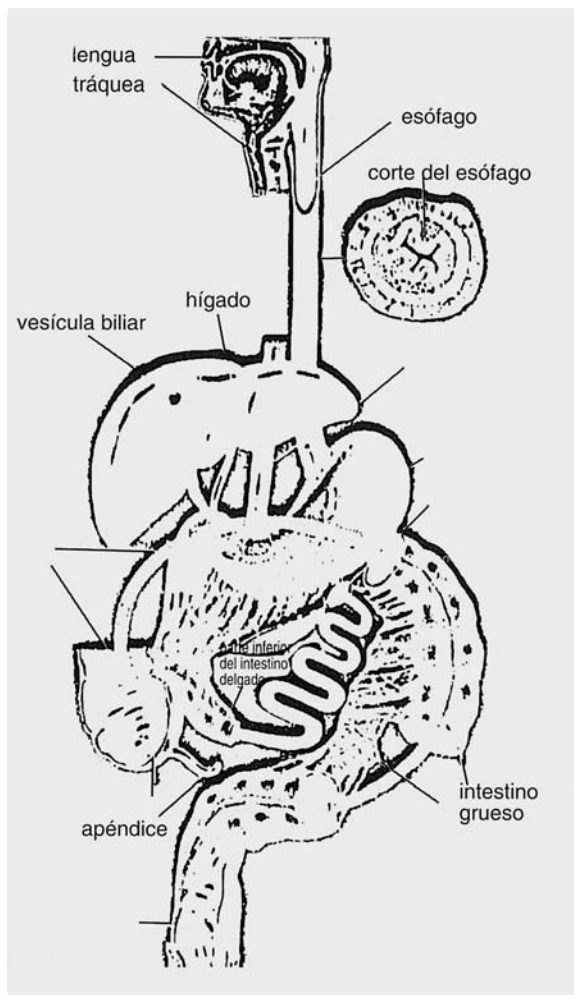


Figura 7.38. Aparato digestivo.

pliegues discurren los vasos sanguíneos y linfáticos y los nervios. En la superficie interna existen las vellosidades intestinales cuyos vasos recogen las sustancias para llevarlas al hígado a través de la vena porta; los vasos linfáticos, con gran contenido graso, concluyen en el conducto torácico que termina en la vena cava superior.

Aunque se trate de estructuras anatómicas internas, están expuestas a acciones tóxicas por contacto, al igual que la piel.

Cuando se bebe un líquido cáustico éste lesiona primero la boca, la faringe y el esófago, particularmente en los tres estrechamientos fisiológicos que este último posee; (el primero, en la garganta, detrás del cartílago cricoides, el segundo, al cru-

zarse con el cayado de la aorta, y el tercero al atravesar el diafragma; a veces se aprecia otro, después del segundo, en el cruce con el bronquio izquierdo); el estómago está más protegido por las secreciones de moco, que le defienden habitualmente de las secreciones digestivas (ácido clorhídrico y pepsina), además de su gruesa capa mucosa; el componente ácido protege relativamente al estómago de los álcalis. El epitelio escamoso del esófago le defiende bastante de los ácidos, hasta la curvatura prepilórica donde producen la necrosis coagulativa; además, los ácidos que pasen a vía sistémica originan acidosis metabólica, hemólisis, fallo renal y, algunos de ellos, secuestro de calcio. Los álcalis con pH superior a 11 producen ulceración y con 12,5 originan necrosis esofágica en pocos segundos, y su perforación, que requiere tratamiento quirúrgico.

El paso del estómago al duodeno es controlado por el píloro, esfínter que se abre o cierra por impulsos nerviosos y hormonales que dependen del grado de digestión o trituración del contenido gástrico, distensión de estómago y duodeno, acidez en éste, etc.

Los movimientos gastrointestinales están ordenados por el sistema vegetativo (simpático y parasimpático). La estimulación del simpático puede bloquear los movimientos impulsados por el sistema parasimpático.

Las sustancias que enlentecen el tránsito gastrointestinal permiten mayor absorción de ellas o de otros xenobióticos presentes o bien una mayor lesión local.

Las sustancias que alteran el sistema neurovegetativo modifican, lógicamente, las funciones glandulares, aumentando o disminuyendo las correspondientes secreciones.

La irritación de la mucosa y la distensión de las paredes de la porción superior del tubo gastrointestinal (GI) estimulan el centro del vómito, en el bulbo raquídeo, y provocan el reflejo emético, aunque algunas especies (roedores y conejo) carecen del mismo; por su parte, los mismos estímulos en la porción inferior GI provocan la evacuación por vía rectal, frecuentemente acuosa (diarrea) e incluso sanguinolenta. Este mecanismo es el realizado por las toxinas de bacterias de procedencia alimentaria.

La ingestión de sustancias cáusticas puede lesionar una o varias capas de la pared del tubo GI y ocasionar incluso perforación del esófago y del

estómago, pero frecuentemente en el líquido recuperado no se detecta un pH alarmante, porque ha sido neutralizado por los constituyentes tisulares y la capacidad tampón de éstos, a menos que la absorción fuera de gran cantidad de tóxico.

Las baterías o pilas eléctricas pequeñas o de «botón» están produciendo, especialmente en niños, graves lesiones intestinales por ingestión, ya que una vez en intestino suelen abrirse y liberar hidróxido sódico o potásico.

La citada perforación y el vertido cáustico al peritoneo produce una peritonitis química, que da lugar a trastornos neurovegetativos, vasomotores y de desequilibrio electrolítico que pueden llevar a shock y la muerte.

También es grave la pérdida de electrolitos, líquido y proteínas, a causa de los vómitos y diarreas reiteradas, por conducir a hipovolemia, hipotensión e insuficiencia cardiocirculatoria.

Las mucosas del tubo GI están dotadas de una gran capacidad metabólica, y realizan una «biotransformación de primer paso», que o bien disminuye la biodisponibilidad de muchos xenobióticos o bien aumentan o modifican la toxicidad de éstos, lo que da lugar a lesiones locales; las bacterias del contenido del tracto GI también realizan biotransformaciones, incluyendo las conocidas como de «tercer paso» que permite la liberación de tóxicos de sus conjugados, ya en vía de excreción por las heces, y su reabsorción a la sangre, originando el ciclo enterohepático.

PATOLOGÍAS TÓXICAS DE LAS GÓNADAS Y DE LA FUNCIÓN SEXUAL

Hoy se sabe que el sexo genético de un embrión es determinado por la expresión del gen SRY del cromosoma Y, que dirige la diferenciación de las gónadas indiferenciadas en testículos productores de testosterona, cuya síntesis comienza en el hombre el día 65 de gestación, y que provoca la diferenciación de los genitales internos y externos.

Las gónadas, testículos y ovario, al ser constituyentes del eje neuroendocrino córtico-hipotalámico-hipófiso-gonadal, pueden experimentar alteraciones patológicas por afectación de dicho eje a cualquier nivel (Fig. 7.39).

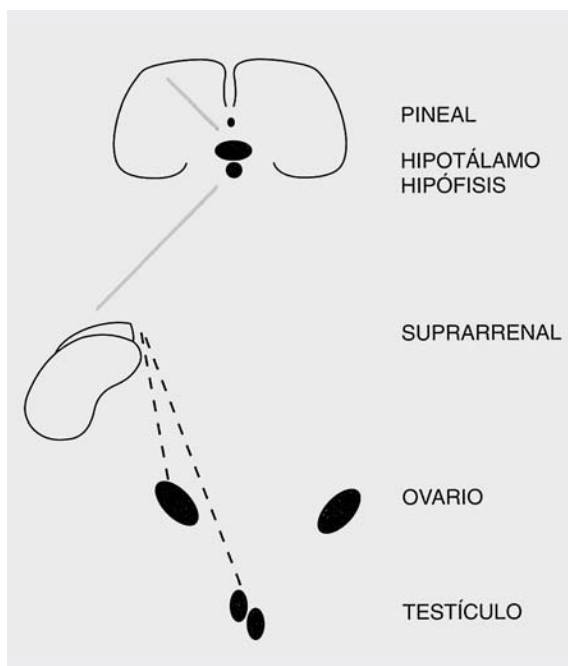


Figura 7.39. Eje córtico-hipófiso-gonadal.

En todos los animales el Sistema Límbico y, en particular en los seres humanos la participación de la corteza cerebral y, a través de ella, de los estímulos ambientales y de la mente (memoria e imaginación), influyen poderosamente en el resto de los constituyentes del citado eje.

El hipotálamo secreta de forma pulsátil, intermitente, la hormona liberadora de gonadotropinas (LHRH o GnRH) que induce en la hipófisis la liberación de la hormona estimulante del folículo (FSH), la luteínica (LH) y la estimulante de las células intersticiales (ICSH).

Recordemos que el testículo tiene una doble función y que actúa por influjo de las hormonas hipofisarias estimulante de las células intersticiales (ICSH) y estimulante del folículo (FSH), como glándula endocrina y exocrina. Como glándula endocrina produce una secreción interna u hormonal, constituida por los andrógenos (fundamentalmente testosterona), más algunos estrógenos, formada en las células intersticiales de Leydig bajo la acción de la ICSH. Como glándula de secreción externa produce los espermatozoides, que se desarrollan a partir de las células espermatogénicas, (las espermatogonias) que se alojan en las criptas

que forman las células de Sertoli del epitelio de los tubos seminíferos, y bajo el estímulo de la FSH. Estos confluyen en la superficie del testículo para formar unos tubos espirales, el epidídimo, donde se almacenan y maduran los espermatozoides, que por los conductos deferentes van hasta la próstata. Allí reciben nuevas secreciones para formar el semen.

En la estimulación sexual se produce la erección del pene por aflujo de sangre al tejido esponjoso, y la eyaculación por contracciones rítmicas, de origen reflejo, del músculo liso del conducto seminal y de la uretra. Cada eyaculación puede emitir de 3 a 5 ml de semen y contener de 300 a 500 millones de espermatozoides.

La complejidad del proceso permite que numerosos tóxicos puedan alterarlo a muy distintos niveles. Diversos psicofármacos (anfetamina, reserpina, benzodiazepínicos, fenotiazinas, sulpiride, etc.) pueden afectar la espermiogénesis a través de su acción sobre la hipófisis, así como la libido y la potencia sexual; en general, los psicoestimulantes, aunque pueden originar un incremento inicial, producen después un déficit por agotamiento o por establecer dependencia.

Varios esteroides pueden competir con la FSH y alterar la espermatogénesis; la testosterona es transformada en el hígado a 5- α -dehidrotestosterona mucho más activa, por la enzima α -reductasa, que puede ser inhibida por diversos xenobióticos, con lo que disminuye la acción de la primera hormona, responsable de la diferenciación sexual masculina en el desarrollo embrionario y de la aparición de los caracteres sexuales secundarios y, posteriormente, de la función sexual.

Por otra parte, la absorción crónica de tóxicos puede conducir a la insuficiencia hepática, como consecuencia de la cual no se metabolizan apropiadamente los estrógenos, y se altera el cociente fisiológico andrógenos/estrógenos; esto puede originar la feminización del individuo.

Numerosos compuestos orgánicos lesionan las espermátidas o impiden su maduración; esto ocurre con los ésteres del ácido metanosulfónico (busulfán, etc.) nitroderivados aromáticos, imidazoles, derivados de la urea, plaguicidas organoclorados, ésteres glicídicos, etc.

Los agentes alquilantes pueden reaccionar con el ADN y el ARN, interfiriendo el proceso de reproducción celular y la síntesis de proteínas.

Entre ellos, se ha visto que los agentes antineoplásicos, tipo procarbazona y fosforamidas, pueden causar esterilidad.

Estos y otros compuestos actúan en diferentes etapas de la espermiogénesis, así:

— Los estadios de espermatogonia y espermatocito son afectados por antibióticos como la adriamicina y por la 6-mercaptapurina, que se intercalan en los pares de bases de los ácidos nucleicos.

El cloranfenicol se biotransforma en una etilendiamina que interfiere el mecanismo respiratorio del espermatocito, y causa azoospermia irreversible. Los nitrofuranos y tiofenos inhiben igualmente la glucólisis y el sistema citocromo.

— Las espermatogonias A son destruidas por alquilosulfatos tipo busulfán.

— Las espermátidas y los espermatozoides testiculares son lesionados por metil-metano sulfonatos y etileneiminas.

El nematocida dibromocloropropano (DBCP) produjo una epidemia de infertilidad que afectó a 1.500 agricultores de Costa Rica, pues lesiona directamente los tubos seminíferos. Los ésteres del ácido o-ftálico, presentes en muchos plásticos, lesionan las células de Sertoli, y también producen infertilidad.

Sin embargo, tales compuestos no afectan a los espermatozoides maduros.

La maduración de los espermatozoides en el epidídimo es andrógeno-dependiente. Los antiandrógenos (ciproterona, espironolactona, finasterida, etc.) inhiben competitivamente y de forma irreversible los receptores de los andrógenos; a altas dosis impiden la espermiogénesis, pero a bajas dosis trastornan la maduración y el almacenamiento de los espermios y los hace infértiles. Algunos esteroides actúan como antiandrógenos y bloquean el receptor de testosterona; esto hacen los estrógenos y la progesterona que, además, alteran la liberación hipofisaria de gonadotropinas.

La maduración también se altera por derivados clorados de la glicerina (alfa-clorhidrina) que interfiere específicamente la glucólisis en el espermio, y lo inmoviliza, al parecer porque inhibe competitivamente a la gliceroquinasa.

El gopisol, extraído de la semilla de algodón y ensayado como anticonceptivo masculino, lesiona la ultraestructura de la mitocondria e inhibe a la

LDH en los espermatozoides, inmovilizándolos en el epidídimo y a los eyaculados. También son inmovilizadores, por diferentes mecanismos, las sulfapirinas y la sulfasalazina (usada en la colitis ulcerosa).

En ocasiones se observan efectos paradójicos, según que las acciones sean directas a los tejidos diana o que sean por retroacción a través del hipotálamo o la hipófisis; así la testosterona en pequeñas dosis repetidas paraliza la espermatogénesis, mientras que altas dosis aisladas la estimula.

Por su parte, los derivados de la hidrazina deprimen la función de la hipófisis; el clomifeno altera la secreción de FSH e inhibe el desarrollo testicular.

Durante la eyaculación se mezclan diferentes secreciones de varias glándulas accesorias y estos fluidos pueden aportar distintos tóxicos. Por ejemplo, a través de la secreción prostática se transfieren antibióticos y etanol; la talidomida y las tetraciclinas pasan del líquido seminal al espermatozoide.

Numerosas sustancias que afectan al sistema nervioso, alteran también las funciones endocrinas y sexuales, así como la libido; los sedantes, beta-bloqueantes, antidepresivos tricíclicos, etc., disminuyen la libido y trastornan la eyaculación; a través de acciones anticolinérgicas bloquean la innervación de las glándulas accesorias y la erección, en ambos sexos.

Entre los metales, se ha comprobado, en estudios realizados con trabajadores, que el cadmio produce lesiones en el endotelio de los capilares y en el epitelio seminífero y en las células de Leydig, y conduce a isquemia y degeneración testicular.

En la experimentación con animales se ha visto que la administración de anfetaminas hace aparecer a los 21 días una alteración de la espermiogénesis derivada de una hiperfunción generalizada, que incluye a la glándula pineal. Se admite la inducción de un desarreglo endocrino que conduce a inviabilidad de los espermatozoides y a déficit de testosterona, lo cual explica la impotencia, más o menos transitoria, que afecta a los adictos a la anfetamina.

El estudio histoquímico del testículo muestra alteraciones celulares y depósitos de melanina.

El medicamento sildenafil (Viagra®), utilizado por hombres con dificultades para la erección no está exento de riesgos. Por tratarse de una sustancia que actúa por la vía del óxido nítrico, es decir es un vasodilatador, puede agravar la insuficiencia cardíaca grave y provocar angina de pecho en indi-

viduos con aquella patología y en los que están recibiendo vasodilatadores coronarios o hipotensores; por un efecto calificable como paradójico también puede originar hipertensión, infarto de miocardio con «muerte cardíaca súbita» y hemorragia cerebral. Por otra parte, potencia el efecto antiagregante plaquetario del nitroprusiato, facilitando la aparición de hemorragia cerebral. También es un inhibidor débil de varias isoformas del citocromo P-450, por lo que puede reducir la capacidad de biotransformación y eliminación de xenobióticos.

En las hembras, la acción de los agentes químicos no es de menor importancia.

Su principal órgano diana es el ovario, reservorio de los óvulos y secretor de los esteroides que regulan el ciclo estral, menstrual en la mujer. La fisiología del ovario incluye el desarrollo de los folículos, ovulación, formación del cuerpo lúteo y producción de los esteroides (el estrógeno, regulador del ciclo, y la progesterona, facilitador de la anidación del huevo tras la fecundación); todos estos pasos generan numerosos cambios bioquímicos, morfológicos e incluso psicológicos en la hembra, pero están expuestos a las influencias de muy diversas sustancias químicas, tanto endobióticas como xenobióticas, que se pueden manifestar como efectos tóxicos tanto durante los procesos reproductivos como en el posterior desarrollo de un nuevo ser.

Desde la época fetal cada ovario contiene unos 200.000 folículos (óvulos inmaduros rodeados de varias capas de células) que, a partir de la pubertad, van madurando por influencia de las gonadotropinas hipofisarias (FSH, LH). La FSH, hormona estimulante del folículo, cuya concentración varía a lo largo del ciclo menstrual, hace que un folículo madure y acabe por abrirse y liberar al oocito (óvulo) por efecto de un incremento de LH (hormona luteínica); las células internas del folículo secretan estrógenos (del griego *estro*, calor), principalmente 17- β -estradiol, que entre otras acciones favorecerá la proliferación del endometrio (mucosa uterina),

Las capas del revestimiento folicular dan lugar al llamado cuerpo lúteo, constituido por células amarillentas llenas de lípidos, que comienza a generar progesterona la cual transforma al endometrio para facilitar la implantación, en su caso, de un óvulo fecundado (huevo).

Los psicotropos (fenotiazinas, sulpiride, etc.) pueden alterar e incluso inhibir la ovulación, por

afectación del tallo hipofisario (hipotálamo-hipófisis); por interrupción del eje endocrino, aparece un cuadro del tipo del síndrome de Chiari-Frommel, con anovulación, amenorrea y galactorrea. Además, frigidez y atrofia o envejecimiento de tejidos en órganos sexuales.

Es conocida la acción de diversos esteroides como inhibidores de la ovulación, por competencia con las hormonas naturales y producción de desequilibrio entre ellas.

Los agentes alquilantes, incluidos los hidrocarburos policíclicos y las radiaciones, son oocitotóxicos; los inhibidores de la síntesis de esteroides, antimetabolitos, análogos del DDT y PCB afectan a la maduración del folículo y también actúan como estrógenos sobre oviductos, útero y el hipotálamo y la hipófisis; los agentes antiinflamatorios e inhibidores de la síntesis de prostaglandinas alteran la ovulación.

El desplazamiento del huevo y su implantación en el útero requiere un perfecto equilibrio hormonal, que puede ser alterado por muchas de las sustancias citadas.

Los derivados del trifenilenetileno (entre ellos el clomifeno) poseen propiedades antiestrogénicas y evitan la implantación del huevo en el útero, administrados en la fase postcoito. Inhiben una enzima esteroide-deshidrogenasa que interviene en la síntesis de la progesterona, motivo por el cual ésta no favorecerá la gestación.

El producto conocido como RU-486 o *mifepristone*, vulgarmente llamado «píldora del día siguiente», es un potente antagonista de los progestágenos o antiprogestágeno por lo que impide la anidación o implantación del huevo; suele administrarse seguido de prostaglandinas (*misoprostol*).

Las anfetaminas producen, como en el testículo, disminución de la ovulación y depósitos de melamina; los cannabinoides, trastornos del ciclo menstrual.

En líneas generales, puede decirse que las drogas que crean dependencia ejercen una acción muy compleja que incluye la actuación sobre diferentes órganos, sistemas nerviosos central y periférico y sobre el psiquismo.

Uno de los afrodisíacos más antiguos es el polvo de cantáridas (conocidas como «mosca hispánica», aunque no es mosca, sino coleóptero), que produce irritación en la vejiga y la uretra, la cual origina una erección de causa irritativa y, por tanto, no debida a

excitación sexual. Puede producir lesiones locales y posterior inhibición de la erección. Por ingestión se producen quemaduras y necrosis en el tracto digestivo, congestión pelviana y hematuria.

El alcaloide yohimbina también gozó de fama como afrodisíaco, al originar congestión pélvica debida a su acción vasodilatadora, por ser simpaticolítico. Produce hipotensión, con vértigos, etc. Similares acciones y efectos poseen el nitrito de amilo y el propranolol.

Los agentes antiadrenérgicos que bloquean los impulsos nerviosos afectan las contracciones reflejas y, por tanto, la eyaculación, mientras que los productos anticolinérgicos interrumpen la respuesta parasimpática que controla la dilatación de los vasos sanguíneos de los órganos sexuales.

Producen estas acciones, por un lado, los medicamentos antiadrenérgicos utilizados para controlar la hipertensión y, por otro lado, las medicaciones anticolinérgicas como los antidepresivos tricíclicos, las fenotiazinas, atropina y las preparaciones antiespasmódicas.

El alcohol, los barbitúricos y otros hipnóticos, la metacualona, los preparados cannábicos (marihuana, hachís, etc.), a pequeñas dosis realizan un efecto antiansiedad o desinhibidor, que puede favorecer el contacto y la relación sexual, pero el consumo repetido, o dosis elevadas, produce la disminución del interés y de la potencia sexual. Por esta razón se utilizan barbitúricos y benzodiazepínicos, como anafrodisíacos, para reducir el interés sexual en sátiros y ninfómanas.

En consumidores de cannabis, metadona y heroína se han encontrado dificultades de erección y eyaculación, así como disminución de la función testicular (número y motilidad de los espermios y niveles de testosterona).

Los alucinógenos del tipo LSD, anfetaminas, etc., pueden originar incoordinación y desencadenar conductas agresivas. Las anfetaminas y la cocaína, aunque en principio pueden estimular el comportamiento sexual, produciendo incluso erección y múltiples orgasmos espontáneos (en ambos sexos), causan también dificultades en el clímax y eyaculación y, con el tiempo, provocan nerviosismo, disminución de la capacidad sexual y agotamiento, acompañado de paranoia. Todo esto parece ser debido a la acción de estas drogas sobre el sistema límbico.

Por último, numerosos xenobióticos son capaces de modificar, por muy diversos mecanismos,

los caracteres sexuales secundarios, fundamentalmente el crecimiento de mamas (ginecomastia), así como variar las características del vello y del cabello. Producen ginecomastia:

a) Anticonceptivos y compuestos estrogénicos, incluso por aplicación tópica, y como residuos en los alimentos.

b) Sustancias que incrementan la síntesis de estrógenos: clomifeno, gonadotropinas.

c) Inhibidores de la síntesis o de la acción de la testosterona (antiandrógenos): ciproterona, cimetidina, verapamilo, cisplatino, espironolactona, ketoconazol, metronidazol.

d) Compuestos diversos, con mecanismo desconocido (posiblemente a través de insuficiencia hepática al metabolizar los estrógenos): cannabis, heroína, busulfán, metildopa, isoniazida.

Numerosas sustancias presentes en el medio ambiente y en los alimentos son estrógenos o poseen capacidad para unirse a los receptores biológicos de aquéllos y desencadenar la respuesta correspondiente o, por el contrario, son capaces de interferir en la unión de los estrógenos propios con sus receptores. Así, se reconoce una excesiva presencia de estrógenos naturales (estradiol) o sintéticos (dietilestilbestrol, DES), fitoestrógenos (cournestrol), o metabolitos vegetales con actividades estrogénicas (equol), micotoxinas (zearalenona, producida por el género *Fusarium* en alimentos); o bien, hidrocarburos policíclicos (dihidroxibenzantraceno) e hidrocarburos policlorados (DDT, PCB, Kepona), plastificantes como p-nonilfenol y bisfenol A, etc., que actúan como pro-hormonas. Tales sustancias han dado lugar a la expresión *contaminación estrogénica ambiental*, a la que se responsabiliza de una cierta feminización en el sistema reproductor en los machos (especialmente cuando inciden en los individuos durante el desarrollo fetal y el sexual), y en una señalada disminución, a lo largo de los últimos 70 años, en el número de espermatozoides humanos, por una parte, y a trastornos orgánicos y funcionales en sistema reproductor femenino, así como a la incidencia de cáncer en vagina, mama, etc., por otra (véase a continuación el apartado de Disruptores endocrinos).

En definitiva, las afectaciones del eje córticogonadal pueden traducirse en alteraciones de la libido

y de la fertilidad en ambos sexos, desde la capacidad para concebir y parir hijos sanos (que en los animales se mide por el número de camadas y de hijos en cada una) a la de amamantarlos.

Según definición de la Comisión de expertos en toxicología de la Unión Europea (UE), la *Toxicología de la Reproducción* «estudia los efectos nocivos de las sustancias sobre la función o capacidad reproductora de machos y hembras y sobre el desarrollo, pre, peri y postnatal de la progenie (incluidos los desórdenes funcionales, de comportamiento y su futura fertilidad)»,

De la misma manera se ha definido *Toxicología del Desarrollo*, como la dedicada al estudio de la producción en los descendientes de desórdenes *no hereditarios*, de carácter estructural (anatómico), funcional o de comportamiento, que pueden aparecer en los periodos pre, peri o postnatal. Como trastorno del comportamiento se incluye la dificultad para el aprendizaje, etc.

DISRUPTORES ENDOCRINOS U HORMONALES

Hipócrates (469-399 a C.), padre de la medicina griega, comentó el uso de la zanahoria silvestre para prevenir embarazos; posteriormente se vio que contiene sustancias antiprogesterona, la hormona facilitadora de la anidación del huevo en el embarazo.

Hacia 1930 se descubrió que algunas plantas, sus semillas o sus frutos (granada, dátil, sauce, soja, trébol, etc.) contienen sustancias que afectan a los órganos sexuales o la capacidad reproductora de los animales que se alimentan con ellas. En las ovejas australianas, habitualmente consumidoras de pasto rico en trébol (*trifolium subterraneum*), se describieron lesiones en órganos reproductores y disminución de la fertilidad (Bennetts *et al.*, 1946); posteriormente se identificó en esta planta la presencia de equol, cumestrol, enterolactona, enterodiol, etc., más tarde denominados genéricamente *fitoestrógenos*.

Desde los primeros años de uso del DDT y de su metabolito DDE y otros insecticidas organoclorados, se empezaron a describir efectos de carácter hormonal sobre los caracteres sexuales, los testícu-

los y una debilidad de la cáscara de los huevos de las aves, y concretamente en pollos de la raza leghorn (Burlington y Linderman, 1950).

También se describió la aparición de trastornos en la reproducción y aumento de la mortalidad entre los animales salvajes de la región de los Grandes Lagos de EE UU, que remitieron en parte al prohibirse la aplicación de plaguicidas en la zona; en 1953 se demostró la actividad estrogénica del DDT. Durante los años siguientes, diversos investigadores españoles tuvimos oportunidad de comprobar la presencia de plaguicidas organoclorados en huevos de nidos abandonados, con cáscara extremadamente delgada o incluso sin cáscara.

A finales de la década de 1960, comenzó a observarse en los criaderos de ostras de Arcachon (costa suratlántica de Francia) un engrosamiento en las conchas de los moluscos, con formación de cámaras con proteína gelatinosa, menor tamaño del animal y disminución de la población. Se relacionó este daño con la presencia en las aguas del compuesto organometálico tributilestano (TBT), añadido a las pinturas utilizadas en el exterior de los barcos por sus propiedades algicidas y molusquicidas para prevenir la adhesión de estos al casco. Se prohibió tal práctica a principios de 1982 y pronto comenzó a notarse una disminución de los efectos. Pero por la misma causa, en las zonas de producción de mejillones, como en Galicia (España), se observó que las hembras desarrollan órganos masculinos y pierden su capacidad reproductora (Quintela, 2002; Barreiro *et al.*, 2004); este trastorno ha llegado a ser un fenómeno globalizado que afecta a decenas de especies de gasterópodos, que desarrollan un pene y su conducto deferente, lo que se denominó *imposex*, para significar sexo impuesto o superposición de caracteres sexuales masculinos sobre las hembras, con disminución de las poblaciones más sensibles; igualmente, en la década de 1980 se publicó el hallazgo de anomalías en los órganos sexuales de cocodrilos machos y hembras de un lago de norteamérica, lo que se relacionó con la aplicación masiva de DDT; en el año 2000 se observó que el 1 % de los osos de una isla noruega eran hermafroditas; más recientemente se han visto anomalías en los caracteres sexuales (feminización) de peces crecidos en aguas residuales, con altos contenidos de estrógenos humanos y de alquilfenoles, etc.

Hacia finales de la década de 1960, se detectó en Estados Unidos y en Europa un alarmante

aumento de la aparición de adenocarcinoma vaginal en muchachas de 15 a 22 años de edad, tumor que hasta entonces era infrecuente en menores de 30 años. Estudios epidemiológicos encontraron una asociación significativa entre la aparición del tumor y el que las madres de las jóvenes afectadas hubiesen tomado dietilestilbestrol (DES) durante el embarazo; este estrógeno sintético se prescribía entonces frecuentemente en casos de amenaza de aborto espontáneo. Por su parte, los hijos varones de estas mujeres presentaban diferentes anomalías en los órganos genitales y en su semen.

En 1992, Carlsen *et al.*, después de revisar los datos disponibles sobre las características del semen humano en distintos países, concluían que, desde 1938 a 1991, se había producido una significativa disminución de la calidad del semen, tanto en cuanto el volumen (de 3,40 a 2,75 ml), como en el número de espermatozoides (de 113 millones a 66 millones por ml), lo que evidenciaba un deterioro de la fertilidad masculina. Estudios posteriores efectuados en España (Marcos, 2005; Ballescá, 2006) han visto que el 15 % de las parejas son infértiles, de las que el 30 % son por causa femenina, otro 30 % por causa masculina y el 40 % por causas mixtas, y que es evidente un descenso de calidad del semen, tanto en la cantidad como en la morfología y la movilidad de los espermatozoides, que internacionalmente se admite ha disminuido un 45 % en los últimos 50 años.

Al propio tiempo se conocía un incremento en la aparición de anomalías en el aparato sexual masculino, como hipospadias (malformación en la parte proximal del pene), criptorquidia (retención del testículo en el abdomen), cáncer de testículo en jóvenes, etc.

Como consecuencia de todo esto, los ingleses Sharpe y Skakkebaek publicaron en 1993 la hipótesis de la actuación de los estrógenos como *disruptores endocrinos*, expresión que había sido propuesta por la doctora Theo Colborn en la conferencia de Wingspring, Wisconsin, EE UU, de 1991. Pero pronto se relacionó esta hipótesis con observaciones anteriores que relacionaban la aparición de malformaciones en animales con la exposición a diferentes productos; así, se sabía que el insecticida DDT afectaba al sistema reproductor de las aves y provocaba la fragilidad de los huevos, lo que ponía en peligro la reproducción de algunas especies; posteriormente se comprobó en ratas que

el pp'-DDE, metabolito del DDT, actúa como antagonista de los andrógenos, impidiendo la unión de estos con sus receptores, y que otros productos organoclorados, muy persistentes en el medio ambiente, ejercen los mismos efectos.

Por su parte, Colon *et al* (2000) correlacionan el contenido de ésteres del ácido ftálico en sangre con el prematuro desarrollo de mamas en las jóvenes de Puerto Rico, lo que coincide con la simple observación de la morfología actual de las adolescentes de todos los países, más altas, más delgadas y con mayor volumen mamario para su peso corporal, aunque ello no pueda achacarse solamente a los disruptores.

Además, se ha visto que la incidencia de diversos compuestos contaminantes está provocando en aves y peces alteraciones en el funcionamiento del tiroides y en el metabolismo.

De todo ello han surgido los conceptos de *xenoestrógenos*, aplicado a los compuestos químicos que mimetizan la acción de los estrógenos naturales, principalmente a estriol, estrona y estradiol, y de *disruptores endocrinos*, que abarca a un conjunto heterogéneo de sustancias químicas que interaccionan con el sistema endocrino, originando una serie de trastornos muy diferentes, que van desde infertilidad y cáncer en tejidos relacionados con las funciones sexuales (vagina, útero, mama, testículo, próstata), a otros aún poco estudiados, como tiroides, sistema inmunitario, etc. Algunos autores denominan a estas sustancias como «disruptores hormonales», lo que parece menos propio dado que las hormonas no actúan de forma independiente, sino que el sistema endocrino funciona como un todo integrado.

En el *European Workshop on endocrine disruptors*, celebrado en el Reino Unido en 1997, se definieron éstos como *sustancias ajenas al organismo que alteran el sistema hormonal provocando desde cambios morfológicos hasta alteraciones en la descendencia o en los componentes genéticos*. Por su parte, la Agencia de Protección Ambiental de EE UU (EPA) define a los disruptores hormonales como «agentes exógenos que interfieren en la producción, liberación, transporte, metabolismo, unión a los receptores o eliminación de las hormonas naturales en los organismos». Debe distinguirse entre aquellas sustancias en que se han comprobado tales efectos *in vivo* y aquellas en las que sólo se han visto activas en el laboratorio, *in vitro*, que se denominan *disruptores potenciales*.

Estos efectos parecen (Soto *et al*, 1998) que son debidos a que:

1. Mimetizan los efectos de las hormonas endógenas.
2. Antagonizan las acciones de las hormonas endógenas.
3. Alteran el patrón de síntesis y metabolismo de las hormonas naturales.
4. Modifican la sensibilidad de los receptores de hormonas.

Y de acuerdo con Ohi (1999), los disruptores endocrinos son tóxicos que se caracterizan por que:

- a) ejercen su actividad en un periodo muy crítico, en los estadios tempranos de la concepción en que ocurre la diferenciación celular y la organogénesis, con modificación de patrones de expresión genética, lo que da lugar a efectos sutiles que, después de un largo tiempo de latencia, se manifiestan como alteraciones irreversibles.
- b) no se conoce que tengan un umbral mínimo para sus efectos tóxicos
- c) sus acciones pueden ser antagónicas, aditivas o potenciadoras.

En una gran variedad de sustancias químicas se está comprobando su capacidad como disruptores endocrinos (véase tabla 7.12), tales como plaguicidas organoclorados, organofosforados y carbamatos, resinas sintéticas derivadas del fenol, plásticos y plastificantes (que se están utilizando en utensilios domésticos de cocina, envases de alimentos y bebidas, prótesis dentarias, lentillas intraoculares, juguetes infantiles, etc.), así como sustancias naturales, denominadas *fitoestrógenos* presentes en vegetales como granos de soja o de trigo en germinación, o *micoestrógenos* en manzanas muy maduras o infectadas por hongos, y en ajo, perejil, etc.; dado que la potencia estrogénica de los fitoestrógenos es cientos de veces menor que la del estrógeno natural 17- β -estradiol, que se toma como referencia, no parecen probables efectos adversos, pero no deben despreciarse hipotéticos riesgos en casos de gran consumo, bien con intención de terapia hormonal sustitutiva en la menopausia, bien por parte de vegetarianos estrictos, etc.; efectivamente, no están suficientemente

Tabla 7.12. Posibles disruptores endocrinos

Plaguicidas		Resinas y componentes	Surfactantes
Alaclor	Endosulfán	Alquilfenoles	Nonilfenol
Aldicarb	Endrín	Bisfenol-A	Octilfenol
Aldrín	Fenilfenol	Etilfeno	Tergitol
Amitrole	HCB	Fenol	
Atracina	Heptacloro	H-epóxido	
HCH	Lindano	Hidroxibifenol	Otros
Benomilo	Linuron	Nonilfenol	Benzofenona
Carbaril	Mancoceb	Policarbonato	Butilhidroxianisol (BHA)
Carbofurano	Maneb	Poliestireno	Cumestrol
Clordano	Metomilo	Poiclorovinilo	Dietilestilbestrol (DES)
Clordecona	Metoxiclor		Naftol
2,4-D	Metiran	Plastificantes	Diclorofenol
2,4,5-T	Mirex	Bencilbutilftalato	Clorofluorocarbonos
DBCP	Nitrofen	Bisetilhexiladipato	Dioxinas
DDT	Organofosforados	Bisetilhexilftalato	PBB
Dicofol	Pentaclorofenol	DEHP	PCC
Dieldrin	Tributilestaño	Dibulftalato	Cadmio
Ditiocarbamatos	Triforine		Mercurio
			Plomo

De: OCDE, 1997.

Nota: Puede verse una relación actualizada en: <http://edkb.fda.gov/>

probados ni los beneficios (mejora de la sequedad vaginal, mejora de la masa o de las fracturas óseas, etc.), ni los riesgos de la misma, aunque se estima que pueden estimular el desarrollo de células neoplásicas en mujeres que tengan o hayan tenido cáncer.

Resumiendo, podríamos clasificar los disruptores reconocidos en:

1. Sustancias de origen vegetal
 - 1.1. Fitoestrógenos
 - 1.2. Micoestrógenos
2. Sustancias de origen industrial
 - 2.1. Plaguicidas clorados, fosforados y carbámicos
 - 2.2. Otros compuestos clorados:
 - 2.2.1 Bifenilos y furanos
 - 2.2.2 Dioxinas
 - 2.3. Plásticos y plastificantes
 - 2.4. Resinas sintéticas y sus componentes
 - 2.5. Tensoactivos
 - 2.6. Compuestos metálicos y organometálicos

De hecho, en varios trabajos analíticos se han encontrado sensibles concentraciones de algunos xenoestrógenos, como plaguicidas organoclorados y fitoestrógenos, en tejidos tumorales obtenidos por ablación quirúrgica. Otros plaguicidas organoclorados, como clordecon (kepon) se han asociado con la oligospermia e incluso esterilidad de trabajadores expuestos, mientras que en ratones hembras ha inducido un estado de «estro permanente» y provoca crecimiento uterino en animales ovariectomizados; el endosulfán provoca atrofia testicular.

Receptores de estrógenos

Los estrógenos estimulan la proliferación y la diferenciación celular; el efecto de su acción depende del tejido sobre el que actúen y del receptor que predomine en él. En todos los tejidos corporales existen receptores de esteroides que, entre otros efectos, tienen por función principal la de activar la transcripción genética y estimular la pro-

liferación celular. Numerosas sustancias pueden interferir en la unión esteroide-receptor y actuar como agonista o como antagonista de su acción.

Los estrógenos son hormonas esteroides con una amplia variedad de acciones fisiológicas; influyen en el crecimiento, diferenciación y funciones de los sistemas reproductores tanto masculino como femenino, con efectos sobre ovario, útero, vagina, glándula mamaria, testículos, epidídimo y próstata. Pero también juegan importantes papeles en la estructura y funciones de esqueleto, piel, sistema nervioso, sistema cardiovascular, etc.

La mayoría de los estrógenos endógenos son producidos a partir de andrógenos, tras conversión en aromático el anillo A esteroide por la acción de un sistema enzimático denominado genéricamente aromatasa y que contiene NADPH-citocromo c reductasa y citocromo P450. El estradiol es el estrógeno más potente y se sintetiza a partir de la testosterona por la aromatasa presente en ovarios, placenta y otros tejidos diana de los estrógenos.

La actividad estrogénica se realiza a través de una proteína intracelular conocida como receptor de estrógeno (RE), miembro de una familia de receptores nucleares de esteroides, que son factores de transcripción dependientes de esteroides, que regulan la expresión de genes que responden a esteroides. En estado de reposo, el RE está inactivo en el núcleo celular, pero al unirse a estrógenos o a otros ligandos experimenta un cambio conformacional (el cual depende del tipo de ligando) y se une a lugares específicos del ADN; esto se manifiesta en la síntesis proteica y en efectos celulares que pueden ser beneficiosos o perjudiciales. Pero los receptores de estrógeno, de los que se conocen dos tipos (α y β), no son más que uno de los numerosos tipos de receptores de esteroides que hay en el sistema endocrino.

Mecanismos de acción

Cuando se iniciaron las investigaciones sobre los citados efectos del DDT, se culpó de los daños al isómero o,p'-DDT, sustancia sin propiedades insecticidas presente como impureza, en proporción inferior al 15 %, en las formulaciones de p,p'-DDT, cuando se observó que actúa sobre el receptor de estrógenos; después se sospechó del p,p'-DDE, principal metabolito del DDT, química-

mente más estable y biológicamente más persistente que éste, y que predomina en la mayoría de las muestras biológicas que se analizan.

Pero el p,p'-DDE no posee actividad estrogénica sino que es un antagonista, relativamente potente, de los receptores de andrógenos, así como muy potente inductor de la enzima testosterona hidroxilasa, que favorece la eliminación de esta hormona. Los trabajos de You *et al.* (2000) están demostrando que, si bien muchos compuestos se clasifican como xenoestrógenos o antiandrógenos por su actividad sobre determinados receptores, de acuerdo con las primeras observaciones, muchos de ellos inciden sobre múltiples lugares de acción. Un ejemplo tipo de estos compuestos es el citado DDE, que actúa sobre diversas vías de disrupción endocrina y se ha convertido en una sustancia modelo para estos estudios, pues puede actuar como: a) antagonista de los andrógenos, b) inductor de las esteroidehidroxilasas hepáticas y c) inductor de la aromatasa. Veamos estas acciones:

a) Acción antagonista de los andrógenos.

Se sabe que el DDE bloquea los receptores de andrógenos situados no sólo en tejidos relacionados con la función sexual, sino también con muchos otros.

En ensayos de activación de la transcripción dependiente de receptores de andrógenos, el DDE no produce tal activación, sino que bloquea la actividad de la dihidrotestosterona, el ligando fisiológico para el receptor de andrógenos; esta ocupación de los receptores de andrógenos se produce en numerosos tejidos, y no sólo en los relacionados con el sexo. Esta capacidad del DDE se ha confirmado mediante ensayos *in vivo* con ratas castradas, suplementadas con testosterona, y que a los 5 días de estar recibiendo DDE por vía intragástrica, mostraban reducción del tamaño de la próstata y de las vesículas seminales.

Idéntica capacidad antiandrogénica se ha comprobado también en otras sustancias como los fungicidas vinclozólín (diclorofenil oxazolidinediona) y procimidona (diclorofenil ciclopropanocarboximida), el herbicida linurón (diclorofenil metoxiurea), el insecticida organofosforado fenitrotión, etc. Por otro lado, hay sustancias como los ésteres del ácido ftálico (usados como plastificantes), que no reaccionan directamente con el receptor de andrógeno, pero que producen efectos antiandrogénicos.

b) Inducciones enzimáticas.

b.1. Inducción de las esteroidehidroxilasas hepáticas.

Desde el comienzo del empleo del DDT se vio que este insecticida producía, en los mamíferos expuestos, aumento del peso del hígado e inducción de enzimas, fundamentalmente de integrantes de la familia de monooxigenasas del citocromo P 450 (CYP), subfamilias 2B y 3A (como lo hace el fenobarbital); estas enzimas hidroxilan compuestos, y transforman a las hormonas esteroides en sustancias más polares y más fácilmente excretables.

La expresión (síntesis) de algunas enzimas CYP es modulada por el fenobarbital, las hormonas esteroides y otras sustancias, posiblemente a través de la activación de *receptores nucleares huérfanos*, como el pregnano X (PXR) y el receptor constituyente activo (CAR). Estos receptores, llamados huérfanos porque se desconocen sus ligandos fisiológicos, son factores de transcripción para varios genes de la citada familia.

En definitiva: los compuestos inductores del grupo del fenobarbital son responsables de una mayor biotransformación y excreción de los esteroides, lo que conduce a una privación de estos; cuando ello ocurre en el periodo crítico de la diferenciación sexual del embrión se produce una desmasculinización.

b.2. Inducción de la aromatasa

La aromatasa es una enzima clave en la esteroidogénesis, al catalizar la conversión de los andrógenos C19 en estrógenos mediante la aromatización del anillo A del esteroide. Es un miembro de la familia CYP, codificada por el gen CYP 19.

El DDE, el herbicida triazina, los bifenilos policlorados (PCB), el alcohol etílico, etc., son inductores de la síntesis de la aromatasa, lo que se refleja en un aumento de 17 β -estradiol en suero de machos adultos. Este incremento de estrógenos produce feminización del macho, con ginecomastia, criptorquidia, hiperplasia de las células de Leydig, trastornos en la espermatogénesis, etc., mientras que en la hembra origina lesiones neoplásicas.

c. Mecanismos de acción múltiple

Las hormonas esteroides desempeñan un papel fundamental en la regulación de la expresión de

algunas enzimas CYP, pero la inducción de la testosterona-6 β -hidroxilasa, la 16 α - y la 16 β -hidroxilasa no se produce como respuesta a la activación del receptor de andrógenos, sino por otro mecanismo.

El insecticida organoclorado metoxiclor posee actividad tanto estrogénica como antiandrogénica (multiacción). El producto en sí es un agonista de los receptores de estrógeno, pero su metabolito 2,2-bis (p-hidroxifenil)-1,1,1-tricloroetano (HPTE), que es agonista de los receptores α -estrogénicos, es también antagonista de los receptores β -estrogénicos y del receptor androgénico, así como inhibidor de la enzima que elimina la cadena lateral del colesterol en la biosíntesis de esteroides.

Hipótesis cinética

Yuo *et al.* (1999) suponen que la vía principal de absorción de DDE por el feto es a través de la lactación más que la placentaria, aunque no debe despreciarse ésta dada la gran sensibilidad del feto a los compuestos hormonales, que pueden ser efectivos aquí a bajas concentraciones. Dichos autores proponen que el DDE se distribuye, como otros compuestos lipófilos, a través del sistema linfático, unido a lipoproteínas, con el siguiente esquema (Fig. 7.40).

En el interior de los adipocitos, el DDE se une a una molécula de triglicérido, que seguidamente enlaza a una apoproteína para originar una lipoproteína con DDE; de esta forma se desplaza de acuerdo con la lipofilia de los tejidos, y atraviesa en menor proporción la barrera placentaria que la de la glándula mamaria; antes de entrar en ésta libera a la apoproteína, quedando el DDE, como al principio, unido a los triglicéridos con los que sale en la leche.

Receptores de andrógenos

El receptor de andrógenos, AR, es un receptor de hormonas esteroides que, al contrario que los ER, están localizados en citosol y se trastocan al núcleo mediante la unión a un ligando, tras lo que el AR se fosforila, dimeriza y se une a los elementos específicos de respuesta a los andrógenos

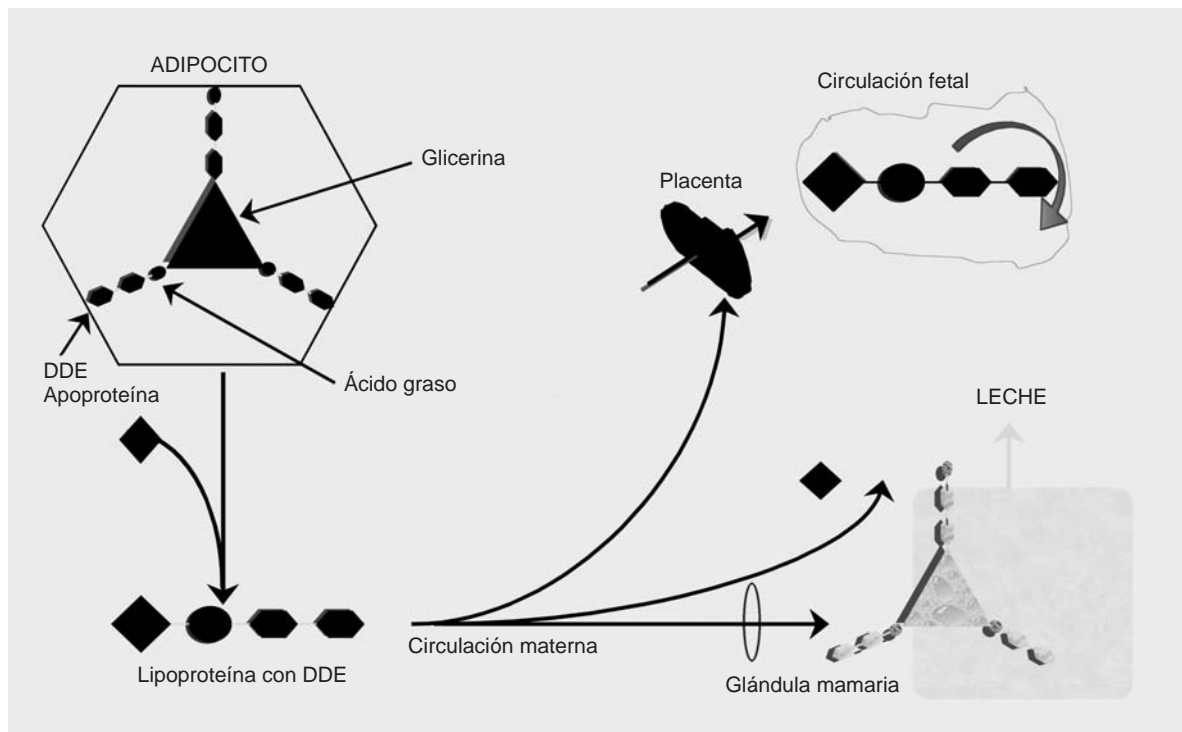


Figura 7.40. Transporte del DDE a los tejidos diana.

(ARE) sobre el ADN. Sus ligandos fisiológicos son la testosterona y la dihidrotestosterona, pero diferentes xenobióticos, principalmente el DDE, también pueden activarlo. Animales macho expuestos al DDE (metabolito del DDT) experimentan feminización (caso de los cocodrilos del lago Apopka, en Florida).

Tales xenobióticos actúan por varias vías, incluyendo la aromatización del anillo A de los esteroides; pero el complejo ligando antiandrógeno/AR no es estable y no llega a unirse al ARE, además el DDE desplaza los ligandos andrógenos de su receptor. Por tanto, la actividad antiandrógena del DDE resulta de la inhibición o represión transcripcional del gen relativo al AR.

Algunos xenobióticos, como el nonilfenol y el bisfenol A, actúan tanto sobre los ER como los AR, e inhiben:

- la interacción del AR con su coactivador
- la unión del andrógeno con el AR
- la translocación nuclear del AR
- la actividad transcripcional inducida por andrógenos sobre el AR.

Principales disruptores endocrinos (DE)

Alquilfenoles

Se utilizan como agentes de polimerización en la producción de plásticos y elastómeros acrílicos y de acetato de vinilo; los más empleados son derivados de nonilfenol y de octilfenol.

La toxicidad aguda de los alquilfenoles es extremadamente baja y, salvo el nonilfenol, poseen escasa actividad estrogénica, que si la tienen algunos de sus metabolitos; se oxidan y eliminan como glucurónidos. Por su lipofilia y escasa biodegradabilidad, se acumulan en el tejido adiposo. Se ha observado reducción del peso de los testículos, de las vesículas seminales, del epidídimo y de la próstata en ratas macho adultas.

Bifenilos policlorados

Los diferentes bifenilos policlorados (PCBs), de amplio empleo industrial, son unos contaminantes ambientales muy persistentes en el medio

y, por su lipofilia, se bioacumulan en peces y mamíferos incluyendo al hombre.

Los PCB también son disruptores endocrinos; por un lado, al ser inductores enzimáticos, principalmente de las enzimas de la fase II, favorecen la degradación y eliminación de diferentes hormonas.

Son metabolizados por el citocromo P450, y dos de sus metabolitos, el OH-PCB3(2',4',6'-triclora-bifenilol) y el OH-PCB4(2',3',4',5'-tetraclora-4-bifenilol) se unen a los receptores de estrógeno y tienen capacidad para inducir una respuesta estrogénica aunque con una potencia mil veces menor que el 17beta estradiol.

Sin embargo, otros OH-PCBs, como el heptaclora-4-bifenilol, tienen capacidad antiestrogénica e inhiben la respuesta inducida por los estrógenos.

Por otra parte, los OH-PCBs ejercen un efecto competitivo con las hormonas tiroideas en su unión a su principal proteína sérica de transporte, la transtiretina. Esta competición tiene como consecuencia una disminución de los niveles de tiroxina circulante lo que afecta la captación de hormonas tiroideas en los diferentes tejidos.

La hormona tiroidea T_4 y su derivado T_3 , son importantes reguladores del crecimiento, diferenciación y desarrollo de muchos órganos, como por ejemplo los testículos, ya que hay numerosos receptores tiroideos en las células de Sertoli. Para su transporte precisan de una proteína, la prealbúmina o transtiretina (TTR), que también contribuye al transporte del retinol, al ligarse a la proteína unida al retinol. Los PCB y sus metabolitos hidroxilados, con cierto parecido estructural con la hormona, poseen gran avidez por la transtiretina y se unen ella desplazando a la T_4 , que queda libre y es eliminada, provocando hipotiroidismo.

El hipotiroidismo afecta, además, la fertilidad de las hembras de cualquier especie y la conducta sexual de los machos con disminución de la libido y la potencia sexual.

Bisfenol A

Es un monómero utilizado en la producción de plásticos de policarbonato y resinas epoxi; su aplicación de más riesgo está en la fabricación de láminas de protección de comidas y bebidas así como en la composición de empastes y prótesis denta-

rias. Como otros plastificantes se ha encontrado en tetinas de biberones para niños y juguetes.

En su metabolismo es hidroxilado y posteriormente oxidado para formar una ortoquinona que puede establecer enlaces covalentes con el ADN y desarrollar efectos mutágenos y teratógenos. Debido a su actividad estrogénica, cuando se absorbe durante la gestación produce en las ratas macho aumento del tamaño de la próstata y del prepucio junto a disminución del tamaño del epidídimo y reducción del número de espermatozoides que llega a ser un 20% inferior a lo normal; en las hembras expuestas intraútero induce pubertad precoz, y en ambos sexos anomalías en la osificación, ano imperforado, aumento de los ventrículos laterales y disminución del número de crías nacidas vivas.

Dietilestilbestrol (DES)

El DES es un potente estrógeno sintético ampliamente usado en los años 1960 y 1970, para evitar abortos espontáneos, aumentar la ganancia de peso en animales y tratar el cáncer de próstata. Resultó ser un importante tóxico de acción retardada, causante de trastornos en el desarrollo de los sistemas inmunitario y nervioso, así como cáncer cervical y vaginal (adenocarcinoma) y criptorquidia, hipospadias, quistes en epidídimo, inflamación prostática anormalidades en espermatozoides, etc., en hijas e hijos, respectivamente, de las personas expuestas.

El mecanismo se basa en la interacción del DES con el receptor de estrógenos (ER), tanto el $ER\alpha$ como en el $ER\beta$, que son distintas proteínas con diferentes actividad transcripcional. Se unen a muy diferentes ligandos con tal de que tengan estructura anular, normalmente grupo fenólico con un sustituyente en *para*, como también tienen los alquilfenoles. Aunque la mayoría de los xenoestrógenos son débiles ligandos de los ER, el DES lo es muy fuerte; sin embargo, el DES también es capaz de producir algunos efectos por mecanismos no-ER.

Ftalatos

El di-(2-etoxietilhexil)ftalato (DEHP) es un producto de aplicación como plastificante muy utilizado en la fabricación de polímeros y plásticos y en dispersiones técnicas, por lo que se

encuentra muy repartido como contaminante. A altas dosis es hepatotóxico, donde origina hepatomegalia y tumores, y también nefrotóxico. El hígado de los roedores es muy rico en receptores α -proliferadores de peroxisomas (PPAR- α) cuya activación por el DEHP se manifiesta como disminución de la apoptosis, proliferación celular y de los peroxisomas y, consecuentemente, aumento de la β -oxidación de ácidos grasos, incremento del estrés oxidativo y de tumores hepáticos humanos y del cobayo; pero la actividad de estos receptores en los humanos es diez veces menor que en cobayos, por lo que experimentan menos daño que los roedores. Por el mismo mecanismo funcionan los medicamentos hipolipemiantes conocidos como fibratos. Su uso en jugotes y objetos infantiles está regulado.

Isoflavonas

Las isoflavonas se denominan también fitoestrógenos por su estructura similar a estas hormonas y se ha hecho muy popular su consumo como agente sustitutivo de las hormonas femeninas en la menopausia, afirmándose incluso que carecen de los efectos secundarios de las hormonas sintéticas. Pero los estudios y ensayos realizados son contradictorios y carecen de suficiente fiabilidad; en todo caso se sabe que, por poseer cientos o miles de veces menos actividad que los estrógenos animales, hacen falta dosis extraordinariamente altas para conseguir algunos resultados, mientras se advierte que no deben superarse tomas de 150 mg/día.

Vitamina A (análogos)

Los xenobióticos que alteran la función del receptor del ácido retinoico (RAR), tanto si actúan de forma agonista como antagonista, provocan afectación en testículos y en el desarrollo embrionario. Los RAR se expresan en hígado, y en los testículos en el epidídimo y en las células primarias de Sertoli. Análogos sintéticos de la vitamina A, usados para afecciones de la piel, inducen atrofia testicular e hipospermia; otros compuestos, como el anticonvulsivante fenitoína, interfieren las señales de los RAR y causan embriopatía y teratogénesis, con anomalías craneofaciales y microcefalia.

Preocupación y actuaciones internacionales

En definitiva, se tiene constancia de que los llamados xenoestrógenos, por diferentes mecanismos, son capaces de alterar el desarrollo y el comportamiento sexual, de originar hipertrofia o atrofia de órganos sexuales, cáncer y teratogénesis orgánica o funcional.

El conocimiento de la diversidad de efectos nocivos que sobre los animales y el hombre están provocando numerosos compuestos químicos de amplia utilización e indudable presencia como residuos en el medio ambiente, está estimulando a organizaciones y gobiernos a insistir en la investigación de los efectos biológicos indeseables, en identificar a los agentes y a promulgar normativas protectoras (véase Capítulo 11).

Así, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) ha creado un Programa de Guías de Ensayos y un sistema de ensayos y evaluación de DE; el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS, 2000)) de la OMS ha establecido un inventario global de las investigaciones sobre los DE; el Congreso de los Estados Unidos requirió a la Agencia de Protección Ambiental que desarrollase programas de detección y sistemas de ensayos para determinar qué sustancias pueden tener tales propiedades (véase Tabla 7.13); la Unión Europea está participando en los programas de la OCDE, y ha urgido a los Estados Miembros a actualizar y aplicar los instrumentos legales, etc. Todos estos programas pueden consultarse por Internet (véase Bibliografía del capítulo).

Además de la preocupación por los efectos sobre la población general, existe un interés particular en la protección de los trabajadores expuestos durante largo tiempo de su actividad laboral a concentraciones, que en ocasiones pueden ser significativamente altas, de los compuestos disruptores (Pilliere, 2002), aunque aún no puede decirse que dicha preocupación se esté plasmando en medidas prácticas.

Consecuentemente a todo lo expuesto, los disruptores endocrinos poseen características toxicológicas muy particulares que escapan de los procesos convencionales de evaluación de riesgos y exigen aplicar el «principio de precaución» y tratar de disminuir o evitar el uso de las sustancias sospechosas, sustituyéndolas por otras de menor riesgo

Tabla 7.13. Protocolo de ensayos para disruptores endocrinos EDSTAC (EPA, USA), 1998 (*).

Nivel 1, Tamizado para detección de acciones	Nivel 2, Ensayos de caracterización de efectos
Ensayos <i>in vitro</i> <ul style="list-style-type: none">— Ensayo de unión a receptor de estrógeno y medida de respuesta de un gen informador(**).— Ensayo de unión a receptor de andrógeno y medida de respuesta de un gen informador(**).— Ensayo de esteroidogénesis en cortes de testículo.	<ul style="list-style-type: none">— <i>Reproducción de mamíferos, dos generaciones.</i>— Reproducción de aves.— Ciclo vital en gambas— Reproducción y desarrollo de anfibios.
Ensayos <i>in vivo</i> <ul style="list-style-type: none">— Ensayo uterotrófico: incremento de peso uterino en rata ovariectomizada.— Ensayo sobre tiroide en rata hembra.— Cambios de peso de próstata y vesículas seminales en rata castrada.— Metamorfosis en rana: resorción de la cola.— Maduración sexual en peces: desarrollo gónadas.	

(*) Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee. Agencia de Protección Ambiental. EE UU.

(**) Gen informador o reporter: es un gen al que se ha eliminado su «gen promotor» y se ha unido a un reactivo, por ejemplo una molécula fluorescente, que proporciona reacciones medibles.

potencial, lo que supone un importante reto para la Industria química, y para los toxicólogos en orden a desarrollar mejores indicadores y métodos de evaluación del riesgo.

OTRAS PATOLOGÍAS TÓXICAS ENDOCRINAS

La gran actividad metabólica de las glándulas *suprarrenales*, con su gran equipación de monooxigenasas, se manifiesta también en la formación de metabolitos activos de xenobióticos y, consecuentemente, en la producción por éstos de lesiones localizadas. Ello explica que la corteza adrenal sea la parte del sistema endocrino más vulnerable a los tóxicos, y, dentro de la propia corteza, la distribución zonal de las lesiones sugiere una localización de los mecanismos fisiológicos, aún no bien conocidos.

Por otra parte, la gran proporción de lípidos en estas glándulas atrae a tóxicos lipófilos, algunos de los cuales, como las anilinas y los triarilfosfatos impiden la síntesis de las hormonas suprarrenales a partir del colesterol y ocasionan un almacenamiento de éste; sustancias de naturaleza catiónica, como cloroquina o clorfentermina, provocan fosfolipidosis al inhibir a enzimas lisosómicas encargadas de limpiar la membrana celular.

Se ha demostrado que la glándula adrenal produce metabolitos activos de tóxicos como el cloroformo, tetracloruro de carbono, insecticida o,p'-DDD, y del antagonista de los mineralocorticoides, la espironolactona, que inhiben la esteroidogénesis y producen necrosis adrenal. Otros compuestos que se sospecha son activados por las monooxigenasas adrenales son los carcinógenos benzo(a)pireno y 7,12-dimetilbenzo(a)antraceno, que también originan necrosis adrenal.

Otros xenobióticos, aparte de los ya expuestos en relación con la función sexual, pueden alterar la fisiología del sistema endocrino, tanto estimulando como inhibiendo la liberación de hormonas.

Un ejemplo es el etanol, que, al parecer, estimula en el hipotálamo la secreción del factor de liberación de corticotropina (CRF), que en la hipófisis libera ACTH, la cual estimula las suprarrenales a segregar catecolaminas; éste es el mecanismo de la estimulación que en su primer momento produce el alcohol, y que para nosotros puede suponer una de las bases de la adicción y dependencia a las bebidas alcohólicas.

Las funciones endocrinas del *páncreas* son también afectadas por los xenobióticos; desde hace más de 50 años se sabe que la aloxana (ureido del ácido mesoxálico) lesiona las células β de los islotes de Langerhans, productoras de insulina; la deficiencia de este péptido provoca *diabetes mellitus*,

caracterizada porque la glucosa no puede penetrar en las células consumidoras. Se especula con que el mecanismo de la acción tóxica se basa en una reacción radicalaria, con radicales superóxido (a los que es muy sensible la membrana de las células β) y una mediación de la calcio-calmodulina quinasa.

También se origina diabetes tras la absorción del rodenticida N-3-piridilmetil-N'-p-nitrofenilurea o del medicamento pentamidina (4-4'diamidino-difenoxipentano), empleado contra el *Pneumocystis carinii*, y comprobada por estudios *in vitro*, sobre cultivos de células β .

Se ha descrito una curiosa diabetes que aparece en Islandia en niños nacidos en el mes de octubre, y que epidemiológicamente parece coincidir con que los padres comieron carne de cordero con alto contenido de N-nitrosocompuestos, en las fiestas de Navidad y Año Nuevo; la diabetes no se presenta en los padres sino en los hijos.

Por otra parte se sabe que las células A del páncreas, formadoras de glucagón, se lesionan con sales de cobalto, y se producen síntomas opuestos a la diabetes.

Las células pancreáticas que no vierten sus productos a la sangre, sino hacia el duodeno para contribuir a la digestión, constituyen el llamado *páncreas exocrino*, que no forma unidad independiente del endocrino, sino que sus células están mezcladas; destacan las llamadas células acinares, que segregan enzimas proteolíticas, lipolíticas y glucolíticas. Por efecto citotóxico directo del alcohol (principalmente), estrógenos, diuréticos tiazídicos, sulfamidas, etc., se provoca liberación masiva de las citadas enzimas que inducen necrosis en el resto del tejido y originan pancreatitis agudas o crónicas.

Se ha dicho que la glándula *tiroides* es el órgano más sensible a los contaminantes ambientales. Esta glándula está constituida por dos poblaciones de células, que son embriológica y funcionalmente diferentes; las células foliculares segregan iodotiroinas, mientras que las células parafooliculares C producen calcitonina. Las primeras actúan por influjo de la hormona estimulante del tiroides (TSH) procedente de la hipófisis, mientras que las células C funcionan según los niveles sanguíneos de calcio.

Como se ha apuntado en el apartado de disruptores endocrinos, se está viendo que diversos contaminantes ambientales están provocando, en distintas especies animales, afectación de la función tiroidea y, consecuentemente, en el metabolismo. Sustancias

con azufre, como propiltiouracilo, sulfamidas, etc. que inhiben la enzima peroxidasa tiroidea, impiden la síntesis hormonal. Por su parte, benzodiazepinas, fenobarbital, bifenilos policlorados (PCB), dioxinas, etc., que son inductoras de enzimas hepáticas, catabolizan las hormonas tiroideas, y conducen también a hipotiroidismo. Efectivamente, cuando el individuo ingiere en su dieta poco yodo o, por el contrario, un exceso de tiocianatos o de compuestos de tiouracilo (presentes, por ejemplo, en la col y otras verduras) así como los percloratos, que inhiben la captación de yodo, se produce insuficiencia en la síntesis de hormona tiroidea y el órgano se hipertrofia, en un intento compensador, apareciendo el bocio. Igual efecto hacen los plaguicidas tiocarbamatos, que liberan etilentiourea, la cual impide la captación de yodo. Se han descrito idénticos efectos con DDT y con 2,4-D.

Tras la acción de sustancias como las citadas, productoras de hipotiroidismo, la hipófisis trata de compensarlo secretando más TSH, que estimula y provoca hipertrofia e hiperplasia del tiroides. Por ello, tales sustancias reciben los nombres de *antitiroides* y de *bociógenas* que pueden clasificarse (Gaitán, 1999) en: 1) compuestos orgánicos como azufre, como tiocianoglucósidos y disulfuros; 2) polifenoles (flavonoides, polihidroxifenoles); 3) compuestos piridínicos; 4) ftalatos; 5) bifenilos policlorados o polibromados; 6) plaguicidas organoclorados; 7) hidrocarburos aromáticos policíclicos; y 8) sustancias inorgánicas (litio, exceso de yodo y otras).

A la inversa, una ingesta elevada de yodo predispone a la formación de adenomas de tiroides.

Las células C dan lugar espontáneamente a gran incidencia de tumores, que aún no se distinguen de los inducidos por tóxicos.

Un trastorno común en todas las glándulas endocrinas es la atrofia que se presenta en cada una de ellas tras la administración continuada de la hormona que la glándula produce, al no tener el organismo necesidad de fabricarla.

CARDIOTOXICIDAD

El corazón es un músculo hueco, de unos 300 g de peso en el adulto, con irrigación e inervación propias.

Recordemos que la función última del corazón es la de actuar como bomba sanguínea que asegura una irrigación que lleva oxígeno y nutrientes a los tejidos, al par que les recoge las excretas. La capacidad mecánica depende de la potencia del miocardio o músculo cardíaco y del caudal de sangre que puede circular por el lecho vascular. Desde un punto de vista estrictamente toxicológico, éste es afectado por los vasoconstrictores, los vasodilatadores y los vasopermeabilizantes; estos últimos aparecen muy frecuentemente en toxicología, pues al permitir la salida de sangre o plasma a través de las paredes de los vasos (normalmente por afectación de la estructura del endotelio, como hacen los arsenicales), o por aumento de la fluidez (como realizan los cumarínicos y los heparinoides) provocan petequias, eritemas o sufusiones hemorrágicas, y también edemas locales o generalizados.

Como cualquier músculo, el miocardio está formado por fibras, cada una de las cuales es una célula alargada con numerosos núcleos; contiene interiormente fibrillas y filamentos de proteínas contráctiles (actina y miosina). El músculo cardíaco y el esquelético se llaman estriados porque sus fibras presentan estrías o bandas de diferente índice de refracción; por el contrario, el músculo de las vísceras se denomina liso, por su homogeneidad.

El mecanismo de la contracción muscular se inicia con un intercambio de iones entre la célula y el medio; estos iones son fundamentalmente Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{++} y Ca^{++} . Los dos primeros están en mayor proporción y juegan el papel principal.

La membrana de la célula muscular, como la del axón nervioso, posee varios tipos de poros o canales, bastante selectivos para determinados cationes (los de Na^+ son 100 veces más rápidos que los de Ca^{++}), y en virtud de unas macromoléculas que actúan como bipolos, al responder a cambios en el potencial de la membrana con cambios conformacionales, aumentan o disminuyen la permeabilidad.

Al llegar el estímulo al músculo, se produce una gran entrada de Na^+ por los canales rápidos con salida de K^+ . Se admite que iones Ca^{++} extracelulares están unidos a proteínas de la parte externa de los canales de sodio, produciendo un campo electropositivo que impide el paso de este elemento hasta la llegada del estímulo.

Posteriormente, la relación Na^+/K^+ se restablece mediante la participación de la bomba de sodio,

con consumo de ATP, e intervención de una Na^+ , K^+ -ATPasa.

Pero además, el estímulo que alcanza la fibra muscular hace que por unos poros lentos penetre Ca^{++} y que las cisternas del retículo endoplásmico vacíen el Ca^{++} que almacenan y que, uniéndose intracelularmente a un componente de las miofibrillas, la troponina, ésta cambie de conformación y active una quinasa que, a partir de ATP, fosforila la miosina, lo que permite el deslizamiento de la actina sobre la miosina y, en definitiva, la contracción muscular. Para que se produzca la relajación posterior, el retículo endoplásmico tiene que recuperar el Ca^{++} mediante un bombeo activo, con consumo de ATP e intervención de la enzima Ca^{++} -ATPasa.

Se acepta que la mayoría de las sustancias conocidas como «cardiotónicos» actúan aumentando la permanencia de iones Ca^{++} libres en el interior de la célula miocárdica, con lo que se incrementa la excitación de la membrana y el rendimiento muscular. Cuando se alcanza una sobrecarga de Ca^{++} , se produce un trastorno en la función, y el producto actúa como cardiotóxico.

Hay grandes diferencias en la respuesta a los cardiotónicos entre las especies animales. El hombre, perro y gato son muy sensibles a los digitálicos, mientras que el cerdo y el cordero lo son poco; aún menos sensibles resultan el cobayo, el conejo y la rata.

Todos los anteriores mecanismos fisiológicos pueden ser alterados por numerosas sustancias químicas, desorganizándose el correcto funcionamiento cardíaco, originándose fundamentalmente los siguientes tipos de cardiopatías funcionales y orgánicas:

a) *Trastornos del ritmo* (disritmias), ya sea de la frecuencia, con producción de taquicardias o bradicardias (pulso rápido o lento), ya sea por sucesión irregular (arritmias o palpilaciones, extrasístoles).

Producen taquicardia los excitantes (café, alcohol, tabaco), simpaticomiméticos (anfetaminas) y parasimpaticolíticos (intoxicación atropínica). Originan bradicardia, digital y quinina, que a dosis altas inducen extrasístoles. Los antidepresivos tricíclicos son arritmógenos y cardiodepresores, lo que supone el mayor riesgo de la sobredosificación con estos medicamentos, superior al de los efectos sobre el SNC.

b) *Insuficiencia cardíaca* o incapacidad para mantener el flujo sanguíneo necesario. Las catecolaminas y los digitálicos aumentan la potencia contráctil del miocardio, pero etanol, quinina, sedantes, hipnóticos, bloqueantes betaadrenérgicos y endotoxinas reducen la contractibilidad. La insuficiencia se traduce en disnea (dificultad respiratoria) y edema agudo de pulmón.

La insuficiencia puede deberse a falta de potencia muscular o a que distintos fascículos o fracciones miocárdicas se contraigan de forma rápida, descoordinada e irregular, lo que resulta hemodinámicamente ineficaz. Esto se denominan fibrilación, que puede afectar a aurículas o a ventrículos.

La *fibrilación auricular* da lugar a que no se llenen los ventrículos; aparece en la tireotoxicosis.

La *fibrilación ventricular* origina una grave arritmia con insuficiencia que lleva rápidamente a la muerte; se produce en la electrocución y con anestésicos e insecticidas organoclorados (clorformo, ciclopropano, DDT, lindano, etc.), freones, adrenalina, compuestos mercuriales y dosis altas de digital, quinina, procainimida, etc.

c) *Miocarditis tóxica*, que abarca edema intersticial, tumefacción de mitocondrias, necrosis multifocal, con bandas de contracción (hipercontracción de miofibrillas, miocitolisis progresiva, depósitos intracelulares de calcio), necrosis de coagulación, por isquemia o infarto (con floculación y precipitación intramitocondrial, y rotura de uniones intercelulares).

El cobalto inhibe el metabolismo energético micontrial, por bloqueo de los grupos tioles, y produce una cardiopatía con depósito de grasas, al igual que el etanol, que también altera el flujo de calcio.

Sólo un pequeño porcentaje de bebedores desarrolla la llamada «cardiopatía alcohólica», y ésta no se ha reproducido experimentalmente, por lo que parece que, como la «cirrosis alcohólica», es una «enfermedad multifactorial», explicada por déficit de nutrientes y de tiamina, junto a otros tóxicos además del etanol; presenta cambios degenerativos y congestivos inespecíficos en miocardio, similares a los aparecidos en individuos malnutridos no alcohólicos.

El antineoplásico antraciclina produce una cardiopatía congestiva, a través de su conversión en una semiquinona electrofílica por un mecanismo radicalario peroxidativo. Se acompaña de dilatación ventricular y degeneración celular miocárdi-

ca, con pérdida de miofibrillas y dilatación masiva de los túbulos del retículo sarcoplásmico.

Anfetaminas, cocaína, CO, etc., originan arteritis coronaria; los anticonceptivos orales, proliferación de la íntima. El minoxidil puede dar lugar a engrosamiento, hemorragia, fibrosis y necrosis del músculo papilar del ventrículo izquierdo.

La hipersensibilidad a antibióticos (p. ej., a sus residuos en alimentos de origen animal) induce infiltración miocárdica por eosinófilos y células mononucleares (linfocitos y células plasmáticas) junto con vasculitis y reacción inflamatoria en válvulas cardíacas y pericardio.

Estos y otros efectos tóxicos pueden explicarse por los siguientes mecanismos (Fig. 7.41):

Inhibición de la Na^+ , K^+ -ATPasa: Consecuentemente, no se saca Na^+ de la célula, lo que da lugar a acumulación de Na^+ intracelular y parcial despolarización de la membrana, con producción de arritmias y latido ventricular prematuro, taquicardia y fibrilación. Efectivamente, los glucósidos cardíacos tipo digoxina y digitoxina inhiben la bomba Na/K , dependiente de ATP, por lo que no se puede recuperar la situación de reposo, pero los miocardiocitos poseen un sistema de intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que conducen a un aumento intracelular de iones de calcio que provoca la activación del sistema actina/miosina, la cual puede conducir a arritmia y fibrilación.

La producen los digitálicos, estrofantinas, ouabaína, oleandrina, etc., esteroides bisguanilhidrazonas, los inhibidores de grupos sulfhidrilos como el p-cloromercuriobenzoato, y sales de talio y rubidio que se unen a la enzima.

Aumento de aflujo de Na^+ : Puede producirse por:

a) Retraso del cierre al reaccionar el tóxico con el canal. Son los alcaloides del *Veratrum* (veratridina) y el veneno del escorpión y de los celentéreos.

b) Aumento de la permeabilidad en descanso: grayanotoxina (diterpenoide tetracíclico de las plantas ericáceas), batracotoxina (el más poderoso cardiotóxico, alcaloide esteroide extraído de una rana) y aconitina.

c) Creación de canales artificiales en el sarcolema: ácido carboxílico monensín.

Disminución de la permeabilidad al Na^+ : El mecanismo es muy diferente, por realizarlo una

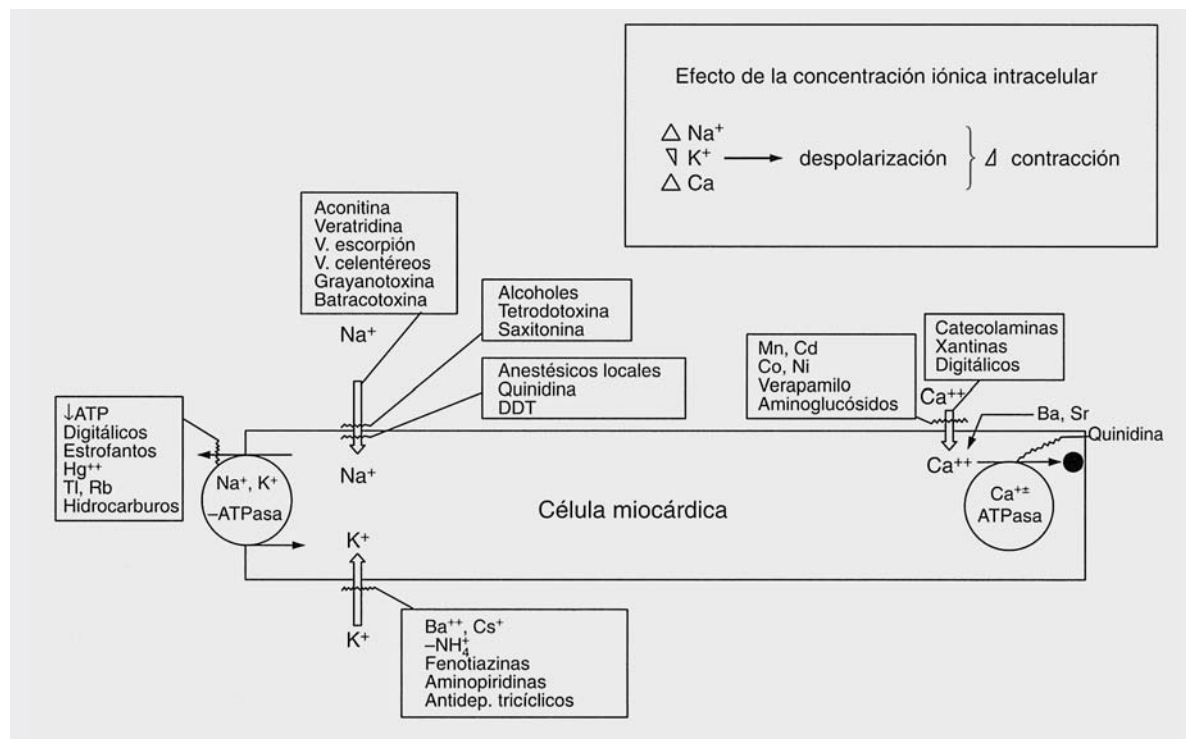


Figura 7.41. Mecanismos de cardiotoxicidad. Sustancias que afectan la entrada o salida de iones de sodio, potasio o calcio.

amplia gama de sustancias, desde alcoholes superiores, anestésicos locales (lidocaína, procaína), y quinidina, DDT, etc.

La tetrodotoxina (de los peces *Tetraodontidae*), la saxitoxina (sintetizada por el dinoflagelado gonyaulax, y conocida como toxina del mejillón) y la chiriquitoxina (de una rana de Costa Rica) poseen una estructura química con un grupo guanidinio altamente polar, que se orienta y bloquea los canales del sodio, tanto en el SNP como el miocardio.

Los anestésicos locales y la quinidina atraviesan la membrana y por dentro de ella se fijan al canal, disminuyendo la excitabilidad.

Acción sobre los canales de K⁺: Pueden ser bloqueados por los iones tetraetilamonio y trietilalquilamonio y las aminopiridinas, los antidepresivos tricíclicos y las fenotiazinas, produciéndose estimulación betaadrenérgica, con depresión miocárdica y taquicardia.

El catión monovalente cesio bloquea tanto la entrada como la salida de K⁺; el Ba⁺⁺ bloquea estos

canales además de los del calcio. Se produce despolarización ventricular, taquicardia, fibrilación y paro cardíaco.

Acción sobre los canales de calcio: Estos canales, mucho más lentos que los de sodio, no poseen especificidad absoluta, porque pueden penetrar por ellos los iones de bario y estroncio.

Entre los agentes que aumentan el calcio intracelular (lo que incrementa la contractibilidad) están:

- Los que aumentan el flujo de Ca⁺⁺: catecolaminas, digitálicos y metilxantinas.

- Los que interfieren el secuestro de Ca⁺⁺, como la quinidina, que inhibe la enzima Ca⁺⁺-ATPasa.

Entre los que bloquean la entrada de Ca⁺⁺ hay metales divalentes y trivalentes, especialmente manganeso, níquel, cobalto y lantano, y compuestos orgánicos como el verapamilo, vasodilatador tipo papaverina, muy utilizado como medicamento antiarrítmico y antianginoso, que llega a provocar bradicardia e hipotensión.

Las sustancias con *actividad estabilizante de membranas* (MSA) (véase Capítulo 6, Clases de Mecanismos), muchas de las cuales están aquí citadas, disminuyen la fuerza de contracción muscular (*contractibilidad cardíaca*) por bloqueo de la conducción, más bradicardia y arritmia ventricular.

Cardiotoxicidad de toxinas peptídicas

Numerosos péptidos naturales endógenos y exógenos son cardiotóxicos, generalmente a través de efectos inotrópicos negativos, cronotrópicos o coronarioconstrictores.

Por un lado pueden citarse péptidos de carácter hormonal que ejercen en los mamíferos actividad cardiodepresora y vasoconstrictora, como la angiotensina II y la vasopresina (ADH).

Otras toxinas de interés toxicológico son segregadas por plantas y animales inferiores, como las siguientes biotoxinas (Tabla 7.14):

Celentéreos: A través de sus tentáculos inoculan toxinas que producen al hombre intenso dolor, náuseas, cefalea, perspiración, vértigo, debilidad, distrés respiratorio y cianosis, pudiendo ocurrir la muerte por paro cardíaco o respiratorio.

Similares efectos producen las anémonas, actinias y corales; la acción tóxica consiste en retrasar la inactivación de los canales rápidos de Na^+ , con incremento de Na^+ y Ca^{++} intracelulares y pérdida de K^+ ; originan caída del potencial de reposo de la membrana y pérdida del potencial de acción.

Moluscos: Ostras, caracoles, etc., contienen un endecapéptido denominado eledoisina que por inyección produce depresión de la contractibilidad del miocardio.

Artrópodos: Muchos artrópodos sintetizan toxinas que, inyectadas al hombre u otros animales, originan irritación, inflamación, dolor y a veces parálisis. Algunos lo aplican por mordedura y otros por picadura; entre estos últimos están las abejas, avispa y escorpiones.

Las abejas contienen sustancias proteicas, entre ellas los polipéptidos apamina y melitina, que son potentes despolarizantes de las membranas celulares del miocardio.

Las toxinas de las abejas producen arritmias ventriculares y bloqueo atrioventricular, por deterioro de la conducción de impulso, probablemente debido a lesión de la membrana plasmática.

La picadura del escorpión generalmente no es letal, aunque produzca severos trastornos en el

Tabla 7.14. Cardiotoxicidad de péptidos.

Péptido	P.m.	Lugar de formación	Efecto cardiotóxico	Mecanismo
Angiotensina II (AII)	1.031	Plasma sanguíneo Riñón	Vasoconstricción coronaria Daño endotelio coronario	Acción sobre músculo liso Pinocitosis endotelial Escape de fluido
Vasopresina (ADH)	1.012	Hipófisis posterior	Vasoconstricción coronaria Arritmia	Isquemia y acción directa sobre músculo liso vascular
Factor depresor de miocardio (MDF)	500	Páncreas	Efecto inotrópico negativo	Inhibición captación o transporte de calcio
Varios	2.500-5.000	Celentéreos	Ídem	Incremento Na^+ y Ca^{++} intracelulares
Eledoisina		Moluscos	Ídem	
Apamina		Abejas	Ídem	Lesión membrana plasmática
Varios		Serpientes	Arritmia	Lesión membrana Despolarización irreversible

Adaptado de Leffer y Curtis, 1982.

hombre; parece que la cardiotoxicidad no es directa, sino a través de la acción de sustancias endógenas liberadas por la toxina.

Serpientes: Las toxinas de las diferentes especies de serpientes venenosas son complejas mezclas de proteínas, muchas de ellas con actividad enzimática, lo que hace que presenten amplia toxicidad para el sistema cardiovascular, nervioso, sangre y sistema respiratorio. La acción cardiotoxica es realizada por un grupo de polipéptidos fuertemente básicos (pH=12), que también producen bloqueo de la conducción axonal en nervios periféricos y originan contractura seguida de parálisis en los músculos esqueléticos; todo esto parece deberse a despolarización irreversible de las membranas celulares. Además de la cardiotoxina, poseen la enzima fosfolipasa A, que hidroliza los fosfolípidos a los que separa un ácido graso, con liberación de un lisofosfoglicérido fuertemente tóxico para las membranas biológicas.

Algunos venenos de serpientes causan alteraciones en los mecanismos de coagulación de la sangre; unos aumentan la velocidad de coagulación, pero otros la disminuyen y provocan hemorragias, así como hemólisis (muy frecuente). Con posible relación con estos trastornos, aparece daño renal, en ocasiones como necrosis cortical.

Alcoholes

En el alcoholismo crónico es clásica la aparición de una miocardiopatía consistente en degeneración y disminución del volumen minuto cardiaco. Aunque se admite (OMS) que la ingestión de cantidades moderadas de etanol ejerce un efecto benéfico sobre las arterias coronarias, se observa un incremento de accidentes cerebrovasculares y mortalidad general entre los bebedores abusivos comparativamente con los abstemios. Efectivamente, reiterados estudios epidemiológicos han demostrado que las propiedades vasodilatadoras del etanol así como la presencia de compuestos antioxidantes del tipo de los polifenoles en las bebidas fermentadas (no en las destiladas), en mayor proporción en los vinos tintos, convierten a la ingesta moderada en costumbre cardiosaludable, siempre que no se superen los 40 g de etanol al día por los hombres y 24 g por las mujeres; médicos internistas y cardiólogos actuales consideran reco-

mendable la ingesta diaria de 10 g de alcohol (una toma de vino o de cerveza) por los adultos sanos; a este respecto, conviene añadir que no es una buena referencia el volumen de la bebida sino que es más correcta y congruente la consideración de los gramos de etanol contenidos en ella.

Los alcoholes de cadena más larga y los aldehídos afectan en mayor grado a distintas funciones cardiacas.

Hidrocarburos halogenados

La halogenación hace a los hidrocarburos menos inflamables y les confiere una serie de propiedades que los hacen útiles como disolventes, plaguicidas, propulsores de aerosoles, extintores de incendios y líquidos para circuitos de refrigeración. Pero su toxicidad es más elevada que la de los hidrocarburos no sustituidos, pues producen mayor depresión del SNC, daño hepático y renal, irritación de piel y mucosa, y sobre todo (Aviado, 1974, y Zakhari y Aviado, 1982) depresión miocárdica, hipotensión y sensibilización del corazón al efecto arritmógeno de la adrenalina. Consecuentemente, puede resultar muy peligrosa la interacción de los hidrocarburos halogenados con compuestos tales como digitálicos, propranolol, procainamida, quinidina, hormonas tiroideas, isoproterenol, anfetaminas y diuréticos.

La inhalación de aerosoles cuyos propulsores son fluorocarbonos (prohibidos) permite que grandes cantidades de gas propulsor o líquido vaporizado alcancen los pulmones donde actúan localmente o pasando a vía sistémica. Esto suele producir muerte súbita, que se supone debida a arritmia cardiaca que culmina en fibrilación ventricular y paro cardiaco. Además, se originan edemas o lesiones por congelación en el epitelio respiratorio, espasmos laríngeos, anoxia y depresión del SNC.

Anestésicos

Los anestésicos modernos por inhalación, aparte de su hepatotoxicidad, alteran la función cardiovascular; comprometen directamente casi todos los aspectos del sistema cardiovascular (Teffey, 1982).

El halotano, metoxiflurano, enflurano e isoflurano reducen el volumen minuto cardiaco y consiguiente-

mente el flujo sanguíneo pulmonar, y además pueden disminuir la presión arterial pulmonar. Por el contrario, estos anestésicos incrementan el flujo sanguíneo cerebral, lo que no sucede con el óxido nítrico.

Antibióticos

Como ocurre con otros fármacos, los efectos cardiocirculatorios de los antibióticos pueden deberse a su acción directamente depresora o secundariamente a parálisis neuromuscular e insuficiencia respiratoria, o bien a la combinación de estas acciones.

Los aminoglucósidos parece que interaccionan de forma reversible con los iones Ca^{++} , al disputarles los lugares de unión en las membranas excitables, interfiriendo los procesos de excitación-secreción. También parece (Adams y Parker, 1982) que la toxicidad de los aminoglucósidos en otros tejidos, como en oído interno y riñón, es consecuente a una perturbación de los fosfolípidos de membrana producida por la competencia de estos antibióticos por el Ca^{++} .

Entre las acciones tóxicas de otros antibióticos puede citarse la depresión respiratoria y miocárdica por las tetraciclinas, en parte debidas a su capacidad quelante del calcio, las alteraciones neuromusculares del cloranfenicol y lincomicina; la acción depresora de la eritromicina parece derivar de una liberación de histamina además de una alteración de la distribución del potasio; sin embargo, afortunadamente todas estas acciones indeseables sólo se presentan a dosis superiores a las terapéuticas.

PATOLOGÍAS TÓXICAS DE LA SANGRE Y DE LA MÉDULA ÓSEA

La sangre es un tejido fluido compuesto por tres clases diferentes de células y un líquido (plasma) que lleva en disolución sales y proteínas con algunas grasas en suspensión.

Un adulto humano tiene aproximadamente 5 litros, lo que supone un 7 % del peso corporal.

Las células (eritrocitos o hematíes, leucocitos y plaquetas) se originan en la médula de los huesos a partir de una única línea celular (células hematopoyéticas). La médula ósea constituye aproximadamente el 4,5 % del peso corporal del humano

adulto (es decir, menos de 1,5 kg en un individuo de 70 kg, tamaño comparable al del hígado).

Las células hematopoyéticas, además de los requerimientos nutricionales normales de cualquier célula, precisan especial aporte de hierro, cobalamina (vitamina B_{12}) y ácido fólico, a cuyas deficiencias son muy sensibles. La absorción de éste es impedida por la difenilhidantoína, metotrexate, aminopterina y anticonceptivos, y se produce anemia megaloblástica (con hematíes grandes, sin dividir) y leucopenia. Igual anemia producen el antibacteriano trimetoprim y el diurético trinterona, por inhibición de la dihidrofolato reductasa.

El estudio de la actividad de la médula puede hacerse a partir de una extensión de sangre periférica, o sobre una pequeña muestra de médula extraída por aspiración con una fina aguja del esternón o de la cresta ilíaca, o por biopsia.

Los medicamentos quimioterápicos del cáncer pueden producir supresión de la actividad hematopoyética de la médula (mielosupresión), con afectación de las tres series (roja, blanca y plaquetas). Según el tiempo que las sustancias mielotóxicas requieren para la aparición de efectos y para la recuperación, se distinguen las de plazos cortos (alcaloides de vinca), medios (antracilinas, agentes alquilantes y antimetabolitos) y largos (nitrosoureas, busulfán, mitomicina, etc.).

Algunos agentes tóxicos (por ejemplo, los compuestos alquilantes y las radiaciones) pueden matar las células madres medulares; cuando la proporción de éstas se reduce a menos de su 10 %, aparece una deficiencia de todas las células sanguíneas, conocida como *pancitopenia*.

Ciertos tóxicos alteran la capacidad genética de las células madres, bien por afectación de genes que les impiden, en todo o en parte, desarrollar alguna de las líneas celulares derivadas, o bien afectando sólo algunos pasos en la maduración (por alteración de membranas, enzimas, etc.) de alguna de las líneas, que resultará deficitaria. Cuando se produce aplasia de las células rojas (hematíes) se manifiesta la *anemia* propiamente dicha; si se lesionan las células blancas se tendrá *leucopenia*, *agranulocitosis* y *linfocitopenia*; y por defecto en la megacariopoyesis se origina *trombocitopenia* o *plaquetopenia*. El benceno, muchos citostáticos, cloranfenicol, fenilbutazona, etc., producen *anemia aplásica* y agranulocitosis. Clorpromazina y sulfamidas pueden originar leucopenia.

La 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, hidroxiaurea, etc., interfieren la síntesis de ADN y transforman la maduración de los eritrocitos; al igual que la 5-fluoro-2'-desoxiuridina y la 6-azouridina, que inhiben la síntesis de los pirimidín-nucleótidos, originan anemia megaloblástica.

Los agentes mielotóxicos, como la ciclofosfamida, que han de ser activados en el hígado, producen menos daño cuando se sufre insuficiencia hepática, pero en este caso se experimenta mayor lesión medular por estar disminuida la detoxificación hepática, igual ocurre en la insuficiencia renal con tóxicos (metotrexato, cisplatino, etc.) que se excretan por la orina, y que ven aumentada su vida media.

El benceno es un particular agente mielotóxico, al ser biotransformado en la médula por las mieloperoxidasas a fenol y a un epóxido, que lesiona las células hemopoyéticas produciendo anemia aplásica, iniciada por linfocitopenia.

Por otra parte, el plomo inhibe las enzimas aminolevulínico deshidratasa (ALD), ferroquelatasa y coproporfirinógeno oxidasa, impidiendo la formación de hemoglobina.

En determinadas enfermedades e intoxicaciones renales ocurre una insuficiente producción de *eritropoyetina*, hormona estimulante de la eritropoyesis, con lo que se desarrolla anemia.

Las radiaciones ionizantes destruyen los precursores de los granulocitos y originan también granulopenia. La fenilbutazona bloquea el tránsito de las células desde el mielocito al lugar de maduración y almacenamiento de los granulocitos (leucocitos), cuya proporción periférica decrece. Otras sustancias químicas atacan las células durante su tránsito periférico; así, la fenilhidrazina lesiona los hematíes circulantes, originando severa anemia hemolítica.

A. Acciones tóxicas sobre los hematíes

a. 1. *Anemias por oxidantes*. Tanto los oxidantes débiles (nitritos y aminas) como los fuertes (cromatos, cloratos, bromatos, etc.) producen hemólisis y metahemoglobina. Las formas de oxígeno altamente reactivas inician la peroxidación lipídica en la membrana de los hematíes, inactivan enzimas de estas células y desnaturalizan las moléculas de la hemoglobina. Como defensa frente a estos ataques los hematíes disponen de enzimas superóxi-

do-dismutasas, de catalasas para descomponer el agua oxigenada, de glutatión-reductasa para recuperar glutatión reducido, así como de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH), que es la enzima de mayor importancia clínica defensora de los hematíes frente a los oxidantes (Figs. 7.42 y 7.43). Individuos que por causa genética poseen deficiencia de tales enzimas están más expuestos a anemias hemolíticas, lo cual también acaece a individuos normales tras la absorción de dosis apropiadas (no siempre mucho más altas) de oxi-

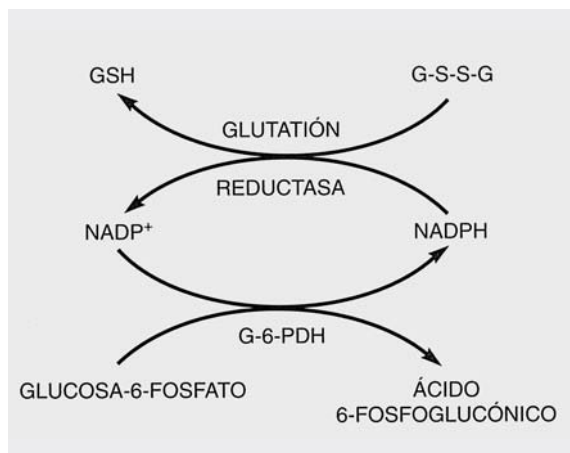


Figura 7.42. Reducción del glutatión en los hematíes (necesario para la integridad de éstos), por la intervención de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH).

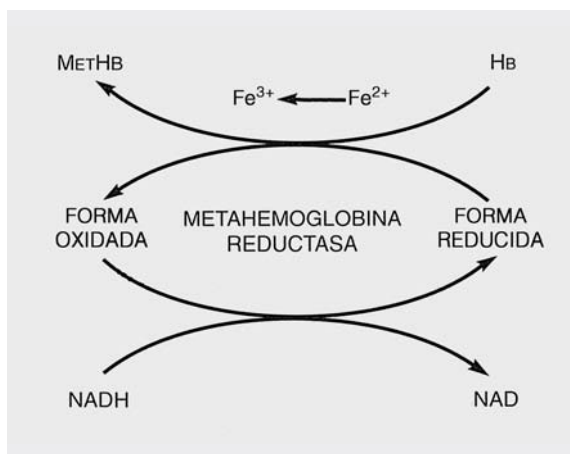


Figura 7.43. Reducción de la metahemoglobina por el sistema NADH-metahemoglobina reductasa.

dantes débiles, como compuestos nitrosos, aminas, amidas y compuestos de plomo que comienzan por transformar la hemoglobina, con Fe^{++} , en metahemoglobina, con Fe^{3+} . Es típica la formación previa de corpúsculos de Heinz, restos de hemoglobina oxidada. En el saturnismo aparece el punteado basófilo que es ARN ribosómico.

a.2. *Anemias por procesos inmunitarios.* La fijación de anticuerpos sobre los hematíes produce la lisis o aglutinación de éstos; los eritrocitos sensibilizados no eluden a los macrófagos que defienden los vasos sinusoides de hígado, bazo y médula ósea, y son destruidos. No siempre esta sensibilización de hematíes es consecuencia de absorción de fármacos, ya que a veces se debe a enfermedades autoinmunitarias o a transfusiones de sangre con antígenos de superficie considerados extraños por el receptor. En el caso de los tóxicos se distinguen tres tipos de mecanismos.

I) En algunos casos, la anemia hemolítica mediada por reacción inmunitaria se realiza a consecuencia de una unión del fármaco a la superficie del eritrocito, con formación de anticuerpos, generalmente de tipo IgG. La penicilina G, cefalosporina, tetraciclina y carbromal causan anemia por este mecanismo.

II) En otros es característico que los tóxicos no se unan a la membrana del hematíe, sino que formen anticuerpos IgM que son los que activan el «complemento» y lo unen a la membrana del eritrocito, ya que ésta en sí no tiene afinidad por el anticuerpo. Siguen este mecanismo la quinina, quinidina, clorpropamida, antazolina, rifampicina, metotrexato, compuestos orgánicos con antimonio, etc.

III) En otro tipo de mecanismos no se forman anticuerpos contra el tóxico sino contra uno de los antígenos de los glóbulos rojos, generalmente del complejo Rh; al parecer, fármacos con la L-Dopa actúan sobre los linfocitos T, inhibiéndoles su función supresora, lo que aumenta la producción de anticuerpos IgG por los linfocitos B; la unión de los Rh de la membrana con los IgG produce la hemólisis.

a.3. *Anemias hemolíticas producidas por mecanismos no oxidativos ni inmunitarios.* Uno de los agentes de estas anemias es el gas arsina, que se une a los grupos sulfhidrilos de membrana y enzimas, produciendo hemólisis, anemia, ictericia y

hemoglobinuria. El plomo, que inhibe varias enzimas que intervienen en la síntesis del hem y de la producción de hematíes, también inhibe la enzima pirimidín-5'-nucleotidasa, y esto se ha asociado a la aparición de punteado basófilo. De forma similar parece actuar el cobre a grandes dosis.

Por otra parte, las toxinas de abejas, de arañas y de diversas bacterias producen hemólisis, al igual que algunos venenos de serpientes que contienen una enzima fosfolipasa, que convierte lecitina en lisolecitina, potente hemolítico *in vitro*, aunque raro *in vivo*.

B. Acciones tóxicas sobre los leucocitos

Los leucocitos o glóbulos blancos tienen múltiples funciones fisiológicas, tanto en la prevención de enfermedades, por su papel inmunitario, como en la lucha contra las infecciones, por su capacidad fagocitaria. Para esta multiplicidad de funciones existen diversas clases de leucocitos; unos, los *granulocitos* o polimorfonucleares (PMN), poseen granulaciones en su citoplasma, y según su afinidad por los colorantes se dividen en *eosinófilos*, *basófilos* y *neutrófilos*; otros, sin granulaciones, son los *linfocitos* y los *monocitos* (Fig. 7.44).

Los monocitos se transforman en macrófagos en el sistema reticuloendotelial de los órganos como hígado, bazo, médula ósea, etc.

La acción de los tóxicos sobre los granulocitos puede manifestarse como disminución en el núme-

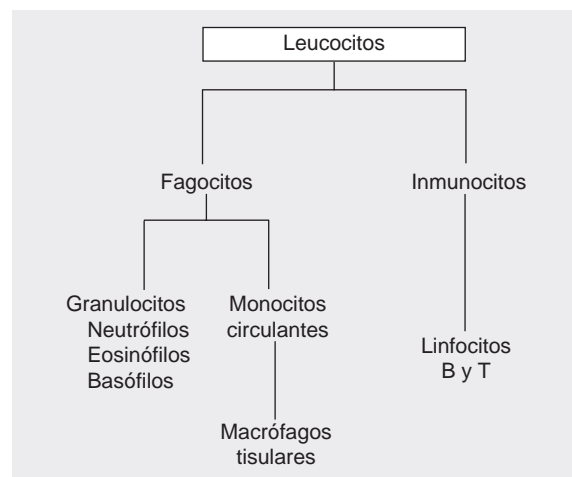


Figura 7.44. Diferenciación de los leucocitos.

ro, debido a defectos de producción o aumentos de destrucción, o bien a cambios en la proporción de células circulantes.

b.1. *Toxicidad sobre los neutrófilos.* Recordemos que en las actividades de los leucocitos PMN puede distinguirse la cascada de emigración y la de fagocitosis.

La primera se subdivide en procesos de marginación, adherencia, agregación, diapédesis y quimiotaxia; las secuencias de la fagocitosis incluyen reconocimiento, ataque, fagocitosis, fusión de gránulos, digestión y exocitosis. Cada uno de estos pasos puede ser afectado por las sustancias químicas; así, por ejemplo, se ha visto que:

- La adrenalina, cortisona, endotoxinas, etc., causan un rápido aumento en el número de PMN, probablemente por desmarginación y evitación de la adherencia (granulocitosis transitoria).
- La colchicina inhibe la adherencia.
- La histamina, el óxido de hierro y el dextrano, por el contrario, aumentan la marginación, con adhesión al endotelio de los vasos, originando una «pseudoneutropenia».
- La quimiotaxia es inhibida *in vitro* por la colchicina, vincristina, vinblastina, halotano, histamina, β -adrenérgicos, cafeína, teofilina, algunas prostaglandinas, etc. En general, los antiinflamatorios inhiben la quimiotaxia, como la cortisona, cloroquina, quinina y fenilbutazona, aunque la aspirina no produce este efecto, pero sí los antibióticos, el etanol y la heparina. La vitamina C y los fármacos colinérgicos aumentan la quimiotaxia.
- La fagocitosis es inhibida por altas concentraciones de glucosa y galactosa, lo que pudiera explicar la gran susceptibilidad a las infecciones en la diabetes mellitus y en la galactosemia.

El carbonato de litio estimula la producción de leucocitos, por lo que se usa en la neutropenia causada por medicamentos antineoplásicos.

El etanol ejerce multitud de efectos inhibidores sobre los PMN, tanto en la producción como en la adherencia, quimiotaxia y fagocitosis.

La neutropenia o reducción del número de neutrófilos puede deberse a idiosincrasia o a la absorción de sustancias de elevada toxicidad.

En la neutropenia por idiosincrasia cabe distinguir una que aparece a corto plazo (pocos días) de la absorción de sustancias que generalmente tienen un anillo aromático, como el cloranfenicol, fenilbutazona, ampicilina, nitrofurantoína, clorotiazida, etc.; son claras reacciones de hipersensibilidad: precisan absorción previa del tóxico, van acompañadas de eosinofilia y la recuperación es generalmente rápida. En la forma retardada hay relación con la dosis, y se requiere de 2 a 3 semanas para el desarrollo; se consideran sus agentes las fenotiazinas, cloranfenicol, paracetamol, butazolidina, sulfamidas y procainamida.

Los granulocitos también sufren lisis por anticuerpos inducidos por aminopirina, fenilbutazona, sulfamidas, etc. Algunos anticuerpos producidos por cloroquina, barbitúricos, fenotiazinas, metildopa, etc., originan aglutinación de leucocitos.

b.2. *Leucopenia autoinmunitaria.* La administración crónica de aminopirina u otros fármacos, que actúan como haptenos, da lugar a un complejo con una proteína leucocitaria, que induce la formación de anticuerpos y una leucoaglutinación; conduce a un agotamiento de la médula y se acompaña de fiebre.

C. Acciones tóxicas sobre la hemostasia

La hemostasia o coagulación de la sangre al salir de los vasos es un complejo proceso de interacción entre las paredes vasculares, plaquetas, sistema de coagulación y sistema fibrinolítico.

El sangrado o hemorragia es debido a deficiente formación de los factores de coagulación, deficiente formación o acelerado consumo de plaquetas o inhibición de la función de éstas.

La síntesis de los factores de coagulación, por realizarse en el hígado, es afectada por hepatotóxicos del tipo de las aflatoxinas, tetracloruro de carbono, fósforo amarillo, paracetamol, amatoxinas, etc.; además, como en la síntesis de los factores II, VII, IX y X interviene la vitamina K, los antagonistas de ésta, como las cumarinas, interfieren.

No es frecuente la acción de tóxicos que perjudiquen aisladamente la formación de plaquetas (sólo se ve con tiazida y estrógenos); aparece en intoxicaciones por benceno, busulfán, cloranfenicol, colchicina o agentes antineoplásicos dentro de anemia aplásica y panmielopatía con pancitopenia;

la trombocitopenia es acompañada por diátesis hemorrágica, aumento de tiempo de hemorragia, sangrado de mucosas, epistaxis y hemorragia cerebral multifocal. Se admite una trombocitopenia de carácter inmunitario inducida por quinina, quinidina, p-aminosalicílico, metildopa, heparina, etc.

Sin embargo, es mayor el número de sustancias que, tras absorción crónica, inhiben las funciones de adhesión, agregación, contracción, etc., de las plaquetas. Entre ellas hay antibióticos (penicilina G), antitrombóticos (acetilsalicílico), fenoles y toxinas animales y vegetales.

El ácido acetilsalicílico acetila irreversiblemente la ciclooxigenasa de las plaquetas, lo que suprime la síntesis de tromboxano A₂, agente de la agregación.

También la inhiben los compuestos nitritos y nitratos utilizados como vasodilatadores.

La fenacetina y la quinidina dan lugar a destrucción de plaquetas circulantes, por un mecanismo autoinmunitario.

Por otra parte, también hay sustancias que favorecen la formación de trombos y trombosis, por hiperactividad de la coagulación y/o hipoactividad del sistema fibrinolítico. Pueden citarse como inductores los compuestos estrogénicos (etinilestradiol, mestranol, linestrenol y ciproterona), agentes antineoplásicos, alcaloides de vinca, vitamina B₁₂ y los iones de cadmio.

Enfermedades tumorales en el sistema hematopoyético

Se ha asociado la absorción de diferentes sustancias químicas y de radiaciones con el desarrollo de enfermedades tumorales como leucemia, linfomas, mieloma múltiple, etc.

La leucemia es una enfermedad de la sangre en la cual aparece, tanto en ésta como en la médula, una infiltración de células tumorales. Como consecuencia de la ocupación medular por las células tumorales se produce una disminución en la sangre periférica de hematíes, plaquetas y leucocitos normales; generalmente, aunque no siempre, aumenta el número de leucocitos (leucocitosis). Se produce por radiaciones ionizantes, benceno, óxido de etileno, ciclofosfamida, clorambucil, nitrosoureas, etc.

El benceno se oxida en el hígado por CYP2E1 con formación de fenol que, seguidamente, se

oxida a catecol y p-benzoquinona; en la médula hay menos CYP e intervienen las mieloperoxidasas. Las ROS producidas reaccionan con ADN, ADN y ARN-polimerasas, tubulina, topoisomerasa, histonas, etc. y por la gran velocidad de producción de células medulares se manifiesta fácilmente el daño.

Los linfomas y los mielomas son síndromes proliferativos, de tipo neoplásico, debidos a bloqueo en mecanismos de modulación del desarrollo normal del tejido; es decir, ganglios linfáticos y bazo en los linfomas y médula en los mielomas; en éstos puede aparecer una trombocitemia o notable incremento de plaquetas con la función alterada y, consecuentemente, abundantes hemorragias.

Se ha observado una elevada incidencia de linfomas en trabajadores expuestos a benceno y otros disolventes orgánicos, como tolueno, estireno, etc., clorofenoles y fenoxiácidos, 1,3-butadieno, óxido de etileno, cloruro de vinilo, bifenilos policlorados, plaguicidas organoclorados, antibióticos, agentes antineoplásicos, litio, etc.

OTOTOXICOLOGÍA

El oído es el órgano de la audición y el equilibrio, y se divide en tres partes bien diferenciadas: externa, media e interna. El oído externo (pabellón de la oreja, conducto auditivo externo y tímpano) y el oído medio (caja del tímpano con la cadena de huesecillos, cavidades mastoideas y trompa de Eustaquio) tienen poca trascendencia desde el punto de vista toxicológico. Por el contrario, el oído interno posee varios lugares diana para las sustancias ototóxicas; está constituido por el laberinto óseo o caracol o cóclea, serie de cavidades situadas en el peñasco; en su interior hay un sistema de finos sacos y tubos llenos de endolinfa, que forman el laberinto membranoso; y entre los dos laberintos está la perilinfa. El laberinto membranoso anterior (órgano de Corti con el nervio auditivo u octavo par) es el órgano de la audición, mientras que el posterior es el del equilibrio (controla posición y movimiento) innervado por el nervio vestibular. El epitelio que tapiza al laberinto membranoso dispone de unas microvellosidades (pelos o neurocilios) que recogen estímulos producidos por los movimientos de las linfas y los transmiten a los correspondientes nervios hasta el cerebro (Fig. 7.45).

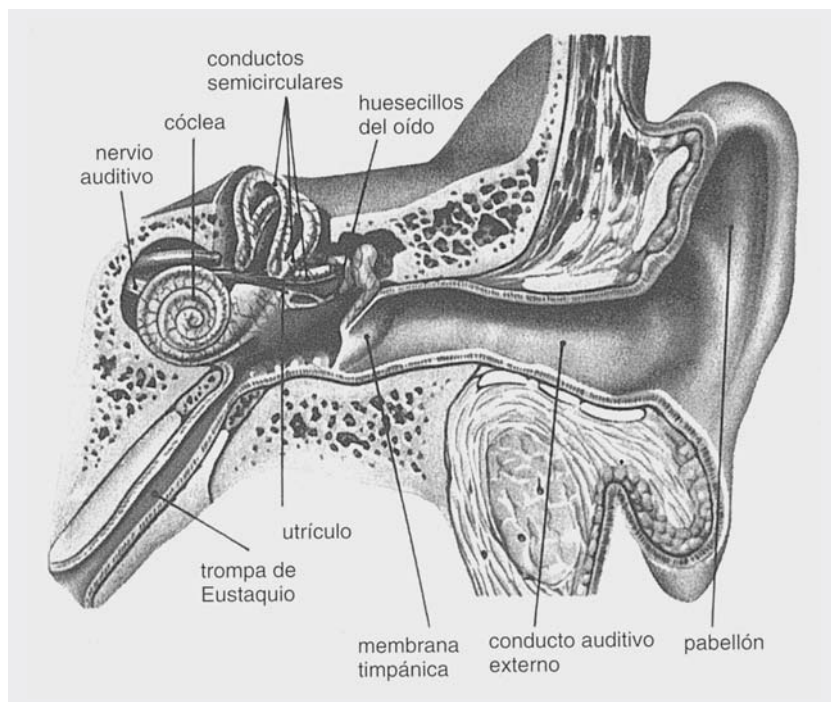


Figura 7.45.
Anatomía del oído.

En definitiva, los tres elementos sensibles resultan ser: a) la célula ciliada (neuroepitelio), b) los nervios y sus ganglios, y c) los lugares de formación de la linfa (estrias vasculares) (Anniko, 1985), a partir del líquido cefalorraquídeo.

El neuroepitelio es lesionado, a veces de forma irreversible, por diversas sustancias, como los antibióticos aminoglucósidos, el atoxilo (arsanilato sódico), fármacos anticancerosos como la ciclofosfamida, etc.

Primeramente se altera su distribución espacial, seguida de fusión del pelo, vacuolización del citoplasma e hinchazón del núcleo, y finalmente desintegración de la célula ciliada: este proceso puede ser lento y no aparecer el daño hasta 2-4 semanas después del tratamiento.

En la intoxicación por mercurio y también con el cis-platino puede producirse una degeneración retrógrada con lisis de las neuronas de la cóclea. Se ha sugerido que los salicilatos producen inhibición enzimática en los cilios y neuronas cocleares.

Compuestos oxidantes como bromatos, cloratos, cromatos, etc., además de lesiones en otros órganos (véase sangre y riñón), producen sordera irreversible, que aparece a las pocas horas de la absorción, por degeneración de las células ciliadas

más externas de la cóclea, aunque no se presenta pérdida de la función vestibular (equilibrio). Estos trastornos suelen aparecer más precozmente y más frecuentemente en personas adultas (80 %) que en niños. La quinina (que ya fue usada por Charcot para destruir el nervio vestibular y tratar los vértigos de la enfermedad de Menière) ha producido sordera materna y fetal en intentos abortivos. El crotonitrilo es tóxico vestibular.

Los aminoglucósidos afectan tanto a las estructuras cocleares como a las vestibulares, pero cada compuesto tiene más afinidad por una que por otras; las diferencias pueden atribuirse a distintos mecanismos homeostáticos en ambas estructuras.

La acción de los aminoglucósidos sobre los cilios es extraordinariamente selectiva; se ha visto *in vitro* que sus grupos catiónicos desplazan a los Ca^{2+} y se unen a los aniónicos de los fosfolípidos de las membranas ciliares; también inhiben varias enzimas glucolíticas y del metabolismo energético, al igual que hacen en el riñón. Otros medicamentos también son ototóxicos (Tabla 7.15).

Debe notarse que existen bastantes similitudes entre la cóclea y el riñón; así, poseen parecida antigenicidad y parejo transporte activo de electrolitos, y los diuréticos que actúan sobre el asa de Henle

Tabla 7.15. Medicamentos ototóxicos

Aminoglúsidos parenteral
Aminoquinoleína
Aines
Bustamida parenteral
Cisplatino
Desferroxamina
Eritromicinas (dosis altas)
Etacrínico parenteral
Furosemida parenteral (dosis altas)
Quinina
Salicilatos
Vancomicina parenteral (dosis altas, crónico)

(como el ácido etacrínico y la furosemida) también lo hacen sobre las estrías vasculares, y menos sobre el sistema vestibular. Por otra parte, en las estrías vasculares hay gran proporción de melanina (como en el iris, la retina y en la piel), y esta sustancia tiene gran afinidad para unirse a moléculas como cloroquina, fenotiazinas, antibióticos aminoglucósicos (especialmente kanamicina), etcétera.

Hay algunas sustancias, como el ácido etacrínico, la furosemida y bumetamida (todos ellos diuréticos con acción en las asas de la nefrona), que afectan primariamente las estrías vasculares y, consecuentemente, la composición de la linfa. Se ha visto que estos diuréticos (precisamente los más nefrotóxicos) potencian la toxicidad de otros compuestos ototóxicos aunque no sean aminoglucósidos, como la viomicina y polimixina B; pero esta potenciación no se produce con otros tipos de diuréticos como los mercuriales, clorotiazidas y manitol. No se sabe aún si esta potenciación se debe a un efecto sinérgico o a que los diuréticos citados permeabilizan la barrera hemato-laberíntica, permitiendo mayor entrada del antibiótico a la perilinfa. Se ha visto que los compuestos otóxicos citados son muy lentamente eliminados de la linfa; lo hacen cumpliendo un modelo de primer orden o exponencial. Normalmente se requieren más de cuatro vidas medias para la limpieza de la perilinfa, con lo que la administración de estas sustancias a intervalos menores de cuatro vidas origina acumulación.

La ototoxicidad es un ejemplo de toxicidad extraordinariamente selectiva en cuanto a diana,

por incidir muy específica y directamente sobre alguno de los constituyentes del oído interno. Las sustancias que alteran la audición o el equilibrio a través de la circulación sanguínea cerebral o de los mecanismos centrales de la audición, podrán ser consideradas neurotóxicas, pero no ototóxicas.

Los disolventes orgánicos absorbidos en altas dosis, como ocurre en los abusadores o inhaladores de pegamentos, han demostrado ser, no solamente neurotóxicos, sino también ototóxicos, por producir lesión coclear; esto ocurre particularmente con el tolueno (Morata *et al.*, 1995). Los efectos nocivos de los compuestos ototóxicos, incluidos los aminoglucósidos, aumentan con el ruido.

Para la evaluación experimental de la ototoxicidad de las sustancias químicas se recomienda el uso del cobayo, que permite un fácil acceso al laberinto. Se aplican dosis que produzcan en el animal concentraciones hemáticas 20-100 veces las habituales en clínica humana.

PATOLOGÍAS TÓXICAS DE LOS OJOS

El globo ocular también está envuelto por la *conjuntiva*, mucosa que cubre la parte interna de los párpados; por la zona anterior del globo forma la *córnea*, membrana conjuntiva transparente y sin vasos, cubierta por el epitelio corneal; hacia detrás del globo forma la *esclerótica*, conjuntiva recia, de color blanco, debajo de la cual, y en la parte posterior del ojo, se hallan la *coroides* y la *retina* (Fig. 7.46)

Cerca de 3.000 sustancias están consideradas como tóxicas para el ojo humano, tanto por vía directa como sistémica; la mitad de ellas son neurotóxicos, que alteran la función visual a través de daño en la función o la integridad del nervio óptico (Tabla 7.16).

Aunque todos los tejidos oculares, especialmente durante el desarrollo y la vejez, son muy vulnerables a los tóxicos, los principales lugares diana son: conjuntiva, córnea, cristalino, epitelio pigmentado retiniano, retina y nervio óptico. Y los mecanismos de toxicidad más estudiados son: irritación y causticación directa, citotoxicidad, alteración del metabolismo de los lípidos, estrés oxidativo y disregulación del calcio intracelular; los últimos citados conducen a lesiones mitocondriales y apoptosis. Menos estudiados son los procesos asociados a las señales intracelulares, que hacen progresar las lesiones y provocan apoptosis.

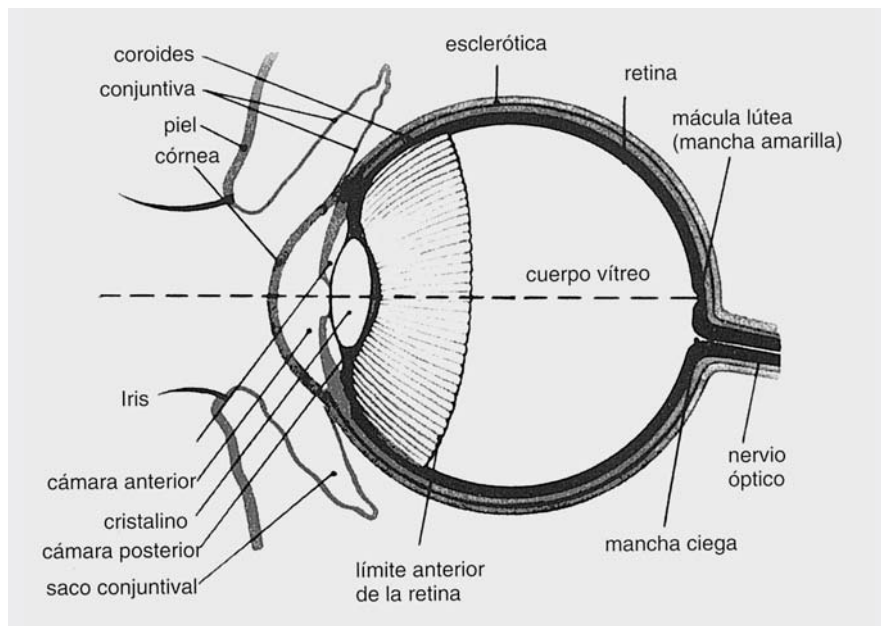


Figura 7.46.
Anatomía del ojo.

Es bien conocido que los tejidos externos del ojo son muy sensibles a los irritantes, físicos (partículas, luz, frío) y químicos y a las sustancias con pH no fisiológicos (fuera de los márgenes 3 y 11).

En general, las afectaciones del ojo se manifiestan como lagrimeo, enrojecimiento, dolor, fotofobia y pérdida de visión.

En la acción de los agentes cáusticos podemos distinguir el efecto de los álcalis, que disuelven rápidamente el epitelio y enturbian el estroma de la córnea, mientras que los ácidos producen coagulación del epitelio; todo ello puede ser seguido de edema, opacificación, vascularización y degeneración de la córnea. También los disolventes orgánicos eliminan zonas de epitelio corneal.

Debe llamarse la atención sobre el riesgo del empleo de medicamentos colirios caducados o por personas hipersensibles; pueden producir conjuntivitis, con fotofobia, lesiones corneales e incluso neuritis óptica. Las sustancias irritantes estimulan a las glándulas lacrimales, sobre las que específicamente actúan los agentes lacrimógenos, como cloroacetofenona y bromoacetofenona, cianuro de bromobencilo, iodoacetato de etilo, nitrilo-o-clorobencilidina, etc., constituyentes de los llamados gases de guerra y antidisturbios y los «lápices de autodefensa» (véase Cap. 2). En éstos, el compuesto sale como aerosol, impulsado por un gas

comprimido, que puede causar lesiones mecánicas (irritación, congelación, úlceras) sobre la córnea, si se le dispara desde corta distancia.

Entre los agentes físicos debe destacarse a la luz, tanto la luz solar como la ultravioleta, principalmente la fracción UV-B, de 280-320 nm (procedente del sol, de lámparas solares, germicidas, etc.), de sistemas de soldadura eléctrica o autógena, etc.), que puede producir eritema y quemaduras en los párpados, engrosamiento y vascularización de la conjuntiva (conjuntivitis), inflamación y quemaduras en la córnea (corneitis o queratitis), la cual se enturbia disminuyendo la visión, cataratas (actualmente se está constatando un incremento en su aparición, que se relaciona con el llamado agujero de ozono) y lesiones en la retina (retinopatías); además, se sabe que la luz intensa aumenta el daño producido por los agentes químicos. Por todo ello se aconseja el uso de gafas oscuras y se desaconseja el leer al sol.

Pero no sólo las sustancias químicas lesionan las estructuras del ojo cuando inciden en éstas directamente, sino también cuando circulan por vía sistémica, especialmente, cuando se absorben durante largo tiempo; entre ellas cabe destacar a los corticoides, antiinflamatorios, antipalúdicos, antituberculosos, antipsicóticos, antidepresivos tricíclicos, antiarrítmicos, carotenoides, etc. (Tabla 7.16).

Tabla 7.16. Efectos oculares de medicamentos sistémicos.

Diana	Efecto	Medicamentos
Conjuntiva	Conjuntivitis	acetilsalicílico, butacaína, cocaína, hidralacina, neomicina, paracetamol, reserpina
Lágrimas	Aumento Disminución	irritantes, antineoplásicos, antipsicóticos, etanol, anticolinérgicos, escopolamina, morfina
Córnea	Dismin. reflejo Depósitos Opacidad Edema Queratitis	benzodiazepinas, meprobamatos, opiáceos cloroquina, quinina, clorpromazina, indometacina cloroquina, ergotamina, prometacina, tioridazina, tolbutamida antidepresivos tricíclicos, sulfonilureas antipirina, clorambucil, haloperidol, metrotexato, neomicina, timolol
Pupila	Midriasis Miosis Miosis/Midriasis secuencial	simpaticomiméticos; alcohol, anfetaminas, atropina (belladona), cannabinoides, cocaína, efedrina, hiosciamina (mandrágora), fenotiazinas parasimpaticomiméticos; morfina anestésicos generales
Líquido acuoso	Hipertensión, Glaucoma	irritantes, anfetaminas, antidepresivos, antihistamínicos, cannabinoides, corticoides, efedrina, inmunosupresores
Cristalino	Opacidad Catarata	antimitóticos, cianuros, clorpromazina, corticoides, dimetilsulfóxido, estroncio, fenotiazinas, galactosa, morfina, naftaleno, talio, luz UV
Retina	Degeneración Desprendimiento Retinopatías	progestágenos, quinina, griseofulvina anticoagulantes, cumarinas, fisostigmina, neostigmina, vitamina E carotenoides, cloroquina, fenotiazinas, hidrocarburos policíclicos, quinina, quinolinas, rifampicina, tetraciclinas
Nervio óptico	Neuritis, Ceguera	cloranfenicol, corticoides, estreptomina, etilenglicol, hexaclorofeno, isoniazida, metanol, organofosforados, plomo, salicilamida, tabaco, vitamina A
Nervios motores	Disquinesias Nistagmo Parálisis Def. acomodación	antidepresivos, barbitúricos, benzodiazepinas, estreptomina, etanol, isoniazida, litio anestésicos locales, barbitúricos, carbamacepina, cloroquina, digoxina, etanol, fenilbutazona, nitrofurantoína, timolol, vimblastina, vitamina A anfetaminas, antidepresivos, atropina, escopolamina, etanol, fisostigmina, haloperidol
Fotosensibilidad	Fotofobia	antiinflamatorios, antimigrañosos, antipsicóticos, nitrofurantoína, tetraciclinas, tranquilizantes

Algunos compuestos como quinina, cloroquina, clorpromazina, indometacina, etc., producen depósitos en el epitelio corneal, que, aunque no interfieren la visión, pueden originar halos por difracción; generalmente son depósitos reversibles al interrumpir la absorción. Esta alteración es más marcada en los usuarios de lentes de contacto. También se depositan en los otros tejidos oculares, especialmente en los que

contienen melanina, como los pigmentados del iris, corioide y retina, originando retinopatías irreversibles.

Los antimaláricos (cloroquina) pueden originar opacidad corneal, y las sulfonilureas y los antidepresivos tricíclicos, erosión y edema.

Los antiinflamatorios no esteroideos, analgésicos y tranquilizantes producen conjuntivitis, que se acompaña de fotofobia.

Se discute aún el papel de la melanina en las retinopatías, pero se afirma que las producen compuestos como hidrocarburos policíclicos, fenotiazinas, tetraciclinas, rifampicina, quinolinas, etc., con afinidad por aquella. Algunas sustancias, como el yodo, el yododoacetato y los diaminofenoxialcanos, destruyen el epitelio pigmentario, mientras que otras como la tioridazina y nitrosoureas lesionan inicialmente los fotorreceptores y las células ganglionares; posteriormente, la retina presenta un aspecto punteado, que sugiere que una vez rotos los extremos de los bastoncillos, son fagocitados.

La administración prolongada de progestágenos origina degeneración lipoide de las células pigmentarias retinianas, mientras que la mayoría de los antidepresivos y numerosos anfifílicos (compuestos que por poseer tanto grupos polares como no-polares, son igualmente hidrófilos y lipófilos) causan frecuentemente fosfolipidosis.

Los anticoagulantes (cumarinas), y los antioxidantes (BHT) y la sobredosis de vitamina E que inducen deficiencia de vitamina K, dan lugar a hemorragias retinianas. Por el contrario, la quinina produce constricción de los vasos y degeneración de la retina. En drogadictos que se habían administrado por vía intravenosa droga impurificada con talco u otros polvos insolubles se ha producido obstrucción (embolia) de las arterias retinianas y rápida ceguera total o parcial.

La penetración de la luz hacia el interior del ojo es regulada por el iris, membrana pigmentada con un orificio central (pupila), provista de un músculo circular, esfínter, innervado por el sistema autónomo o vegetativo; por ello, los compuestos simpaticomiméticos y los parasimpaticolíticos dilatan la pupila (midriasis), mientras los parasimpáticos la contraen (miosis), ya que los primeros tensan al músculo y abren la pupila, y los últimos lo relajan.

Las plantas mandrágora y belladona, por su contenido en hiosciamina y atropina, son conocidas desde la antigüedad como midriáticos, por lo que fueron utilizadas para aparentar bellos ojos (*belladonna*). También son midriáticos cocaína y efedrina.

Por el contrario, la morfina desarrolla un efecto que pudiera parecer paradójico, ya que resulta miótico (pupilas puntuales de los drogadictos), cuya explicación se halla en que este fármaco potencia por vía central el reflejo de la pupila a la

luz, lo que se comprobó experimentalmente al seccionar el nervio óptico. Otros mióticos son la eserina y la pilocarpina.

Los anestésicos generales actúan de forma bifásica; primero son constrictores y después dilatadores.

El cristalino divide el globo ocular en dos cámaras; la anterior, entre la córnea y la lente, contiene al líquido conocido como humor acuoso, mientras que la posterior, más amplia, está llena del humor o cuerpo vítreo.

El humor acuoso posee la misma composición que el líquido cerebroespinal o raquídeo, se produce en el cuerpo ciliar, que se encuentra en la base del iris, y sale del ojo por la vena acuosa, situada en el ángulo de la cámara anterior.

Cuando sustancias irritantes llegan al iris a través de la córnea o por vía sistémica, inflaman el iris y liberan pigmento o proteínas, que pueden depositarse sobre el cristalino y obstruir los lugares de drenaje; todo ello conduce a elevar la presión del líquido en el ojo, lo que se conoce como glaucoma, que origina lesión en el nervio óptico y puede llevar a la ceguera. Los corticoides, por vía tópica o sistémica, pueden producir estos efectos, que también se presentan por trastornos autoinmunitarios y por el uso de inmunosupresores (ciclosporinas).

El cristalino es una lente de cápsula cartilaginosa y elástica, sin vasos ni células. Su transparencia puede ser alterada por muy diversas causas, como enfermedades metabólicas, infecciosas, o inmunitarias, y por diversos xenobióticos; esta opacificación, que puede iniciarse desde el centro o desde los bordes de la lente, se denomina catarata.

El naftaleno es biotransformado a 1,2-dihidroxi-naftaleno, que puede oxidarse a 1,2-naftoquinona, la cual compite con el glutatión oxidado, cuya reducción es necesaria para mantener la homeostasis de la lente; también el metabolito del naftaleno consume cisteína local, y contribuye a la catarata. Los corticoides, tópicos y sistémicos, se unen a las proteínas del cristalino; además, al igual que la galactosa y otros azúcares, pueden dar lugar a una sobrehidratación de la lente, por retención de líquido. El antimetabólico busulfán y las radiaciones ionizantes interrumpen la renovación de las células epiteliales de la cápsula y la opacifican.

El 2,4-dinitrofenol, cianuro y otros compuestos que desacoplan la fosforilación oxidativa, originan disminución de ATP, con deficiencia en la bomba

de sodio, y aumento de éste en el cristalino, lo que produce hinchazón y opacificación.

Se afirma que unas 100 sustancias pueden producir cataratas (opacidad del cristalino) en animales de experimentación aunque sólo un pequeño número se ha confirmado en el hombre, y por mecanismos muy diversos y no bien conocidos; además, algunas cataratas son reversibles al interrumpir la absorción del tóxico, pero generalmente son progresivas. Como ejemplos citaremos:

- Corticoides, fenotiazinas, morfina, etc., a través de cambios osmóticos y de hidratación de la lente. Posiblemente por el mismo mecanismo actúan galactosa y xilosa cuando su grupo aldehído se biotransforma a alcoholico.
- El naftaleno se metaboliza a un compuesto electrófilo que se conjuga con la cisteína del cristalino, y produce inflamación de las distintas capas de la lente y tumefacción de ésta.
- El talio induce proliferación del epitelio subcapsular, y el estroncio interfiere con el calcio, y produce catarata central.
- Los antimitóticos y las radiaciones lesionan el núcleo de las células epiteliales.
- Algunos antidepresivos (iprindole) y la clorfentermina originan fosfolipidosis.
- El nitrofenol interfiere los mecanismos energéticos de los intercambios iónicos.
- Algunas sustancias, como el metoxaleno o la clorpromazina, potenciadas por la luz, desarrollan fototoxicidad y producen depósitos oscuros.
- El dimetilsulfóxido (DMSO) y la p-clorofenilalanina modifican la transparencia y el índice de refracción del núcleo del cristalino.

Por la zona posterior de la retina penetra el nervio óptico, formando una eminencia que se denomina papila, y se expande por el epitelio sensorial de la visión.

Se ha encontrado una gran actividad metabolizadora en los diferentes tejidos del ojo, especialmente en la retina, con oxidasas de función mixta, transferasas, etc.

El metanol, metabolizado *in situ* a ácido fórmico, origina, además, pérdida de mielina y atrofia, con escotomas o ceguera.

Los corticoides, la vitamina A, tetraciclinas, ácido nalidixico, etilenglicol, salicilamida, hexaclorofeno, etc., producen neuritis óptica y edema de papila.

También producen neuropatías ópticas el cloranfenicol, etambutol, estreptomina, sulfamidas, griseofulvina, isoniazida, plomo y tabaco. Los organofosforados producen desmielinización.

Numerosos neurotóxicos afectan a los nervios motores externos, alterando el movimiento del globo ocular (disquinesia) y frecuentemente produciendo nistagmo, incluso parálisis.

SÍNDROMES PATOLÓGICOS COMPLEJOS

Bajo esta denominación podemos incluir varios estados de salud disminuida, no bien definidos y de etiología y fisiopatología incierta, que se presentan tras exposición a conjuntos de diversos contaminantes ambientales, y en que se afectan diferentes órganos y actividades corporales, como son el *síndrome de intolerancia idiopática ambiental*, el *síndrome del edificio enfermo*, *enfermedad de la Guerra del Golfo Pérsico*, etc.

Síndrome de intolerancia idiopática ambiental (IEI)

Así denominado por la OMS (1997), pero conocido anteriormente con más de veinte nombres, desde que fue citado en 1952, y en 1962 definido por el alergólogo de Chicago, T. Randolph como enfermedad ecológica, y posteriormente como *síndrome de sensibilidad química múltiple* (Cullen, 1987, Spark, 2000, Obiols, 2002) para definir «una enfermedad subjetiva» descrita por los pacientes que se sienten afectados por fatiga crónica, alergias, dolores, etc., que atribuyen a la exposición a muy diversos contaminantes ambientales, incluidos agentes físicos, pero que no presentan signos que permitan un diagnóstico ni anomalías en los análisis clínicos, por lo que, frecuentemente, se les considera «simuladores» y no verdaderamente enfermos. Ante su naturaleza incierta, se ha definido como un «desorden adquirido, con múltiples síntomas recurrentes, asociado con diversos factores ambientales tolerados por la mayoría de la población, de mecanismo fisiopatológico aún no conocido».

Suele presentarse en individuos que están frecuentemente en edificios cerrados, con poca ventilación o aire reciclado, y lo achacan a la exposición a

plaguicidas, normalmente organofosforados y piretroides, disolventes, pinturas, humos, polvos orgánicos, papel, muebles o construcciones nuevas, algunos alimentos, aditivos alimentarios, y agentes físicos como calor, campos magnéticos, sequedad ambiental, etc. En distintos estudios epidemiológicos realizados en EE UU, se le ha encontrado en el 1 al 6 % de los individuos, principalmente mujeres. Los pacientes presentan malestar general, náuseas, dificultad respiratoria, cansancio crónico, dolores musculoesqueléticos, fibromialgia, etc.

La Asociación Médica Americana (AMA), la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y otras organizaciones han consensuado que:

1. Los síntomas se reproducen en cada exposición (recurrente).
2. Los síntomas mejoran al eliminar el agente.
3. Los síntomas implican a múltiples sistemas corporales.
4. La afección es crónica.
5. Los agentes son muy diversos, sin ninguna relación química ni física entre ellos.
6. Las concentraciones necesarias de los agentes incriminados son muy bajas, inferiores a los límites tolerados.

La fisiopatología del síndrome es aún confusa; se han propuesto hipótesis inmunitarias, neurológicas, psíquicas, olfatorio-emocional, de pérdida de tolerancia a la exposición, etc. pero ninguna tiene bases científicas mínimas, ya que, por ejemplo, una de las propuestas más mantenidas como es la alergia o hipersensibilidad, no ha sido demostrada por análisis y pruebas clínicas.

Síndrome del edificio enfermo o patógeno

Nosotros preferimos la segunda denominación, puesto que los edificios no están enfermos, sino que causan enfermedad, es decir, son patógenos. Consiste en un conjunto de trastornos que algunos individuos perciben después de estar en determinados edificios, cuyas características comunes son: ser construcciones cerradas, herméticas, con ventanas que no se abren, y que para obtener ahorro energético disponen de servicio de acondicionamiento de aire y ventilación común. En sus ambientes se han encontrado más de 3000 agentes físicos, químicos y biológicos, aunque la OMS reconoce 28.

Entre los agentes físicos, citaremos calor (fuera del intervalo 22-24 °C) iluminación fluorescente, vibraciones, ruido, música elevada, campos magnéticos, baja humedad, etc.; entre los químicos, y procedentes de instalaciones eléctricas, aparatos diversos, fotocopiadoras, etc., ozono (originado en las chispas de ruptura y lámparas de mercurio), monóxido y dióxido de carbono, óxidos de nitrógeno, alcoholes, aldehídos (por ejemplo formaldehído que se mezcla con urea en el propio lugar para formar capas de resina aislante de temperatura y sonido entre tabiques, práctica actualmente prohibida en muchos países), ácidos, aminas, disolventes y otros productos orgánicos volátiles, vapores metálicos, y sustancias con olor, en general, incluidos los perfumes, ante los que no todas las personas responden igual; entre los biológicos, bacterias, virus, hongos y ácaros, que suelen habitar en las alfombras, instalaciones de aire acondicionado, etc.

La OMS distingue dos clases de «edificios enfermos», los de nueva construcción o remodelados, cuya perniciosidad es temporal (aproximadamente medio año), hasta que eliminan los restos de los elementos de construcción, y los edificios patógenos permanentes, que no pierden nunca esta capacidad.

Los síntomas, que suelen aparecer al abandonar el edificio más que mientras se está en él, son sequedad e irritación de mucosas, especialmente oculares, nasales y de garganta, disnea, infecciones respiratorias, erupción cutánea u otros signos de hipersensibilidad, náuseas, vértigos, cefalea, sinusitis, cansancio, etc.

En España se ha detectado un preocupante número de casos de empleados en oficinas de empresas de electricidad o de computación, trabajadores en modernos edificios cerrados, que han presentado atrofias musculares parciales o sectoriales en las piernas, sospechándose un origen miolítico o de insuficiencia circulatoria provocado por acumulación de cargas eléctricas o campos electromagnéticos en el ambiente.

Enfermedad de la guerra del Golfo Pérsico

Tras esta contienda, desarrollada entre agosto de 1990 y junio de 1991 en Irak, más de 100.000 soldados norteamericanos, ingleses, franceses, españoles, etc. desarrollaron una abigarrada sintomatología con

náuseas, jaquecas, erupciones cutáneas, dolores musculares y articulares, asma o dificultad respiratoria, trastornos de la visión, trastornos de los sistemas nervioso central y periférico, pérdida de memoria, depresión, cansancio crónico, etc. Curiosamente, más del 15 % de los afectados no llegaron a combatir.

En diferentes países se desarrollaron proyectos de investigación para dilucidar la etiología y fisiopatología del síndrome, pero sólo se llegó a admitir que la causa pudo estar en la confluencia simultánea de muy distintos agentes, como gases de guerra anticolinesterásicos o insecticidas y acaricidas utilizados en ropas y tiendas de campaña, la autoadministración preventiva de oximas y piridostigmina frente a presuntos ataques con gases organofosforados, etc., y también la posible participación del llamado “uranio empobrecido”.

Este metal, de gran dureza y capacidad de penetración en paredes blindadas (tanques, etc.) contenía isótopos ^{234}U , ^{235}U , ^{236}U , ^{238}U ; el 236 es un isótopo no natural, por lo que debía de proceder de desechos de centrales nucleares, pero conserva radiactividad. Al estallar los proyectiles el material se pulveriza y contamina ambiente, alimentos, aguas y seres vivos, y en algunos análisis de tejidos se afirma haberse encontrado ^{236}U .

En resumen, se piensa que a la radiactividad se pudieron unir los anticolinesterásicos y los regeneradores de colinesterasa, provocándose un exceso de esta enzima que originaría lesiones degenerativas.

GENOTOXICOLOGÍA

Las expresiones toxicología genética o toxicogenética y genotoxicología no son sinónimas, aun-

que algunos las confundan; por *toxicogenética* y *toxicogenómica* debe entenderse el estudio de la influencia que los factores hereditarios ejercen sobre los efectos de los tóxicos en cada individuo, o dicho de otro modo, la variabilidad individual en la acción de los tóxicos a causa de las bases hereditarias (véanse Capítulos 1 y 8); en toxicogenética se estudia la participación de algunos genes, mientras la toxicogenómica considera la implicación del genoma completo. Por su parte, la *genotoxicología* comprende la acción de los tóxicos sobre los componentes hereditarios de los seres vivos; consecuentemente, *genotóxicos* son los agentes físicos (temperatura, luz ultravioleta, radiaciones ionizantes, radiaciones electromagnéticas, etc.) o los productos químicos capaces de alterar la información genética celular (Tabla 7.17 y Figura 7.51).

Por tanto, estudiaremos aquí a las modificaciones de la estructura genética y sus manifestaciones en la reproducción de la célula o del individuo, en los trastornos conocidos como *mutagénesis*, *cancerogénesis* y *teratogénesis*.

A. La *mutación* supone un cambio en la información contenida en el material genético (estructura del ADN) que se transmite a la descendencia; cuando no hablamos de células sino de individuos superiores, la mutación debe afectar a las células germinales (óvulos o espermios) para que sea transmisible, pues si el ADN afectado corresponde a células somáticas (corporales), o lo es el ARN, se producen alteraciones que no son transmisibles a los individuos descendientes, sino a las células u órganos propios, dando lugar a cancerogénesis o a teratogénesis. En consecuencia, se define *mutagé-*

Tabla 7.17. Acciones de los agentes mutágenos.

Agentes mutágenos	Tipo de lesión
Radiaciones electromagnéticas	Formación de radicales
Radiaciones ionizantes	Roturas de cadena simple Roturas de doble cadena
Rayos X	Sobre las bases de los ácidos nucleicos Puentes cruzados entre proteínas del ADN
Agentes alquilantes	Puentes cruzados entre proteínas del ADN Formación de sitios apurínicos o apirimidínicos Daños en esqueleto de fosfato-ribosa Puentes cruzados entre cadenas
Acridina	Inserción de moléculas

nesis como «una modificación estable y transmisible del material genético, que origina cambios hereditarios de célula a célula (entre las somáticas) o de un organismo a sus descendientes por afectación de las células germinales». Por su parte, *teratogénesis* es la producción de una «malformación congénita no-hereditaria, generalmente detectable al nacimiento». Como veremos posteriormente, la mayoría de los cánceres son de origen genotóxico, pues se producen a partir de mutaciones de células

somáticas, si bien no todas las mutaciones conducen a cáncer; otros cánceres son de mecanismo epigenético (no genotóxico).

Las lesiones en el material genético (Fig. 7.47) pueden ser de las siguientes clases:

1. Cambios en algunos nucleótidos, a causa de:
 - 1.1. Sustituciones en las bases:
 - 1.1.1. Purinas sustituidas por otras purinas, o pirimidinas reemplazadas por pirimidinas

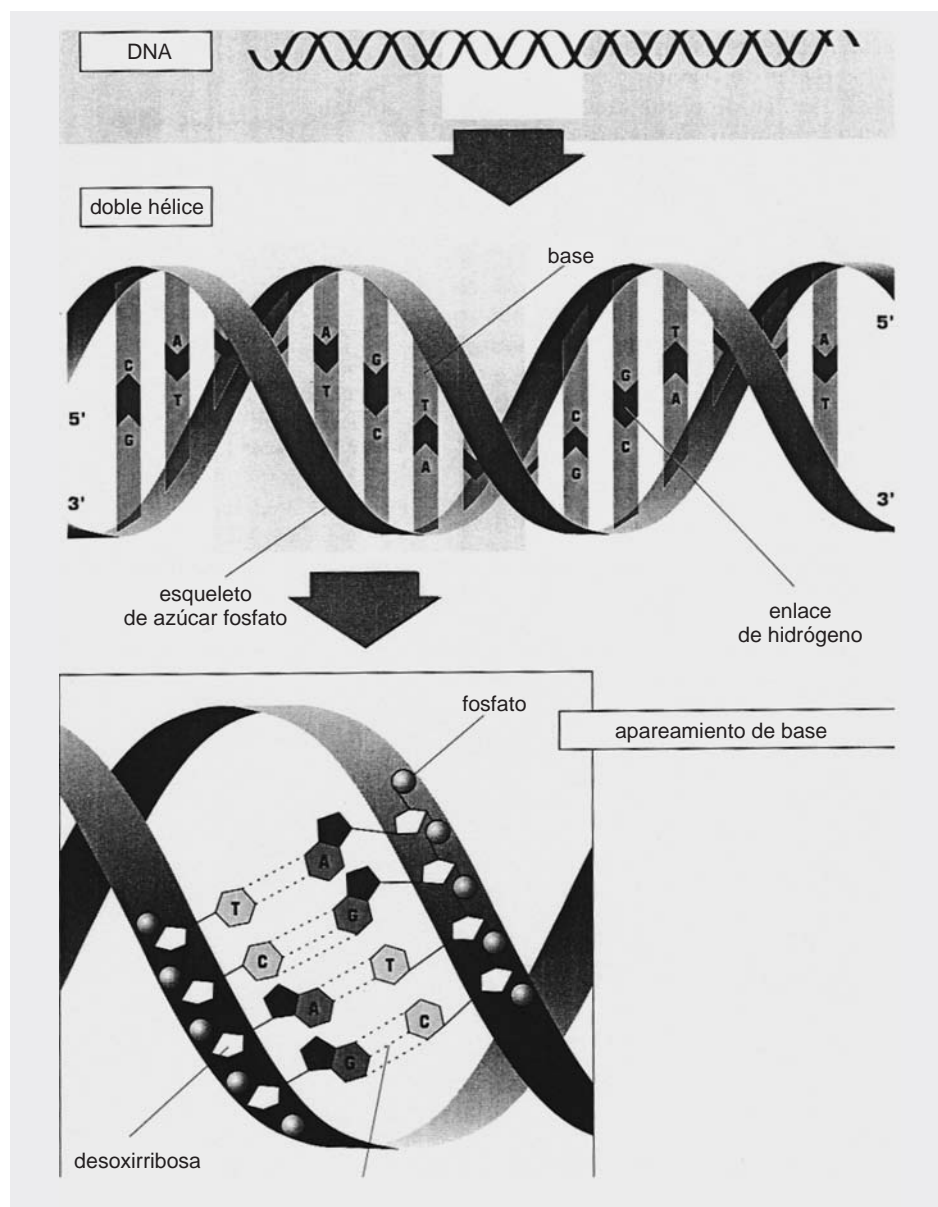


Figura 7.47.
Estructura del ADN.

Bases púricas:
adenina (A) y
guanina (G)

Bases pirimidínicas:
citosina (C) y
timina (T)

- 1.1.2. Purinas sustituidas por pirimidinas o viceversa
- 1.2. Sustitución de una base por una sustancia análoga (por ejemplo, el 5-bromouracilo, 5BU, sustituye al nucleósido timidina) que origine un nucleótido inútil para la duplicación.
- 1.3. Alteración química de las bases, por ejemplo oxidación o desaminación, etc.
- 1.4. Alquilación de las bases por unión del mutágeno y formación de los llamados *aductos*, cuando la molécula es grande; constituye un mecanismo muy frecuente, con numerosos agentes activos, como epóxidos, ácidos sulfónicos, etc.
- 1.5. Adición o delección de bases, por acción de mutágenos, o en los procesos de reparación del ADN (ver más adelante) o bien espontáneamente.
2. Lesiones cromosómicas por rotura, delección, intercambio o reorganización del material cromosómico y traslocaciones de material de un cromosoma a otro; en muchos casos estas lesiones son letales para la célula.
3. Cambio en el número de cromosomas, aberración conocida como aneuploidía; en la célula humana el núcleo es diploide, que por adición pasa a trisómico y por delección a monosómico.
4. Otras alteraciones en el ADN.

Una vez que el ADN de la célula ha sufrido el daño, existen tres posibilidades para ella:

- a) la lesión del ADN impide la replicación y muere por apoptosis, en lo que favorece el p53 frente a la acción inhibidora del bcl-2, por ejemplo.
- b) replicación con alteraciones en los nucleótidos o cometiéndose errores en la replicación del ADN dañado; se transmite una mutación.
- c) reparación del daño y restauración de la molécula de ADN; se evita la mutación.

B. La pérdida de la capacidad de la célula para controlar su reproducción, generalmente por la acumulación sucesiva de mutaciones con deterioro del genoma, en que la secuencia genómica normal (protooncogene) se altera, activándose los oncogenes, que estimulan la proliferación celular, al propio tiempo que se inactivan los genes que inhiben la proliferación (llamados genes supresores de tumores), conduce a la formación de una nueva

población de células, genéticamente diferentes de la original, que se conoce como *tumor* o *neoplasia*.

Estudios epidemiológicos moleculares están demostrando la existencia de variantes polimórficas de unos genes que pueden actuar como *genes de susceptibilidad al cáncer*. Estos genes rigen la síntesis de variantes de enzimas biotransformadoras capaces de activar procarcinógenos o incapaces de detoxicar carcinógenos, lo que aumenta el riesgo de daño al ADN y de mutagénesis.

Se han identificado alelos variantes de distintas enzimas reparadoras del ADN, cuyas variaciones se manifiestan en la actividad reparadora. Aunque las consecuencias funcionales de los mismos producen pequeños cambios en la actividad catalítica y, consecuentemente, un ligero incremento del riesgo de cáncer en un individuo, la presencia de estos alelos variantes en las frecuencias polimórficas puede suponer un significativo aumento del riesgo de cáncer en una parte de la población

Etimológicamente, tumor (del griego, bulto) no es más que un abultamiento debido a una acumulación anormal de células; desde el punto de vista clínico puede ser *benigno*, que no destruye los tejidos adyacentes, o *maligno* (cáncer), que se difunde, infiltra o invade el organismo, produciendo metástasis o nuevos tumores en otros lugares del cuerpo.

Se acepta que los carcinógenos o cancerígenos genotóxicos actúan a dosis bajas (dosis subtóxicas) pero recibidas de forma repetida o reiterada; exposiciones aisladas al agente no producen el tumor (se conocen muy pocas sustancias, como el propensultón, que originan cáncer tras un único contacto); como afirma J. Costa (1995), *el cáncer surge como respuesta a una acumulación de lesiones genéticas*. Por tanto, se considera que no hay una dosis mínima, dosis cero o segura, para los carcinógenos, por debajo de la cual no se pueda producir el cáncer, y que el efecto se manifiesta tras la acción reiterada y cuando los mecanismos defensivos, encargados de la reparación del ADN lesionado o de la apoptosis de la célula mutada, no lo consiguen (Figs. 7.48 y 7.49).

Los mutágenos y los carcinógenos genotóxicos son compuestos electrófilos muy reactivos y con gran afinidad por el ADN o el ARN, como son derivados de compuestos orgánicos nitrogenados o halogenados, epóxidos, lactonas, o compuestos inorgánicos de níquel, cromo, uranio, etc.

A. Actúan a dosis subtóxica (muy pequeñas) de carcinógeno:

No existe dosis mínima segura

B. Absorción continuada durante largo tiempo

Suma de lesiones celulares

Superación de capacidad defensiva

Figura 7.48. Bases de la carcinogénesis por genotóxicos.

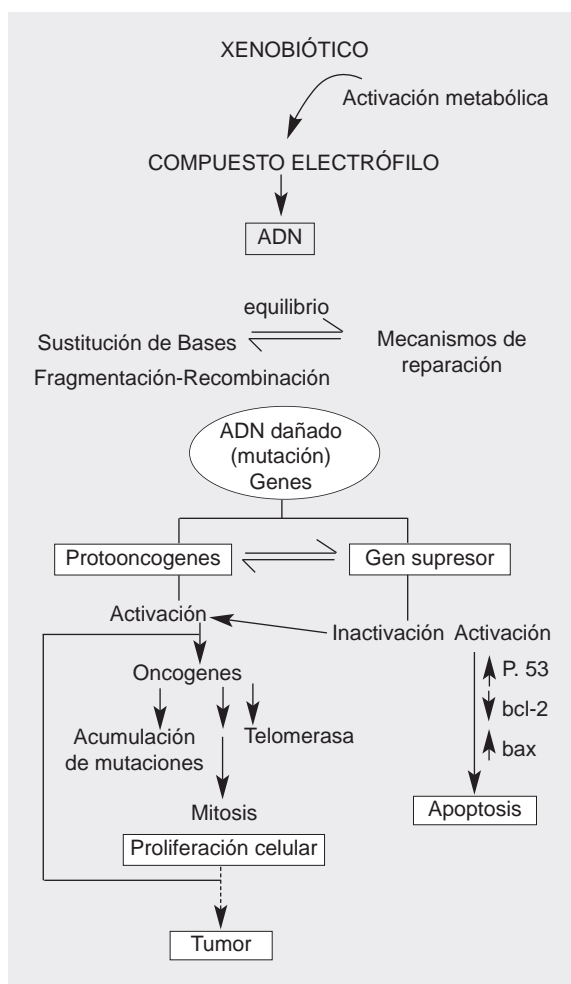


Figura 7.49. Esquema general de la carcinogénesis por vía genética

La mayor parte de los genotóxicos se clasifican como *procarcinógenos*, porque requieren una biotransformación que los active para que puedan reaccionar con el ADN; esta activación tiene lugar en el proceso de biotransformación fisiológica, dirigida a eliminar xenobióticos, y predominantemente sucede durante la Fase I, aunque también se produce minoritariamente en la Fase II. Las enzimas con mayor capacidad activadora de procarcinógenos son las oxidorreductasas (citocromos P 450, flavin-monooxigenasas, alcoholdehidrogenasas, ciclooxigenasas) y, en ocasiones, las hidrolasas (epoxidohidrolasas). Como ejemplos de procarcinógenos tenemos los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las aminas aromáticas, las micotoxinas etc.

Los agentes genotóxicos, como compuestos alquilantes, especies reactivas de oxígeno, aminas aromáticas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), aldehídos bifuncionales, etc., de origen exógeno o tras activación endógena, reaccionan con el ADN, al que se unen de forma covalente, para originar bases modificadas o aductos del ADN. Los compuestos de cromo tienen diferente capacidad carcinogénica dependiendo de la especie química en que se hallen; así, los compuestos de Cr^{3+} , al tener poca facilidad para penetrar en las células debido a su hidrosolubilidad, son, en principio, poco carcinógenos, calificación que sí merecen los compuestos de Cr^{6+} , que atraviesan las membranas y en el interior celular son reducidos a Cr^{3+} , el cual reacciona con los grupos fosfato del ADN, modificando a éste.

Los diferentes carcinógenos reaccionan con distintos constituyentes y lugares del ADN; los agentes alquilantes y las especies reactivas de oxígeno forman una mayor diversidad de derivados con las bases, mientras que las aminas aromáticas y los PAH producen menos variedad.

Algunos aductos tienen poca trascendencia biológica; así, los agentes metilantes forman principalmente N7-metilguanina (N7-MeG), que no es mutagénica, mientras la O6-metilguanina (O6-MeG) es mutágena y cancerígena.

Una vez formados estos aductos, pueden ser eliminados por las proteínas reparadoras de ADN, como se verá más adelante.

Por otra parte, la presencia de aductos en un tejido no implica necesariamente un mayor riesgo cancerígeno, pues aunque la formación de aductos es necesaria, no es suficiente para ello, ya que tam-

bién participan otros factores, como la persistencia de los aductos frente a los mecanismos de reparación del ADN, la eficiencia de la decodificación durante la replicación del ADN, y muchos otros elementos que llevan hasta el cáncer a través de procesos de múltiples etapas, de los que la inducción de mutaciones no es más que una, aunque sea clave. Por ello se admite que aunque *todos los cancerígenos genotóxicos son mutágenos, no todos los mutágenos son cancerígenos*.

Algunas sustancias (como pineno, catecol, etc.) aumentan el efecto de procarcinógenos y carcinógenos cuando se absorben previa o simultáneamente, y se denominan *cocarcinógenos*.

En la carcinogénesis cabe distinguir tres etapas: iniciación, promoción y progresión. La iniciación consiste en la alteración de uno de los tres procesos fundamentales para la reproducción celular (metabolismo, reparación del ADN y proliferación); los agentes capaces de hacerlo se denominan *iniciadores* o *carcinógenos incompletos*. La promoción consiste en la reproducción selectiva de las células «iniciadas» o mutadas con alteración en la transducción; los agentes que la activan se denominan *promotores*. La progresión es la pérdida del control en la replicación de las células en estado normal, de iniciación o de promoción, y su conver-

sión en *células neoplásicas o malignas*. Los agentes capaces de intervenir en las tres etapas y de actuar sucesivamente como iniciadores, promotores y progresores reciben el nombre de *carcinógenos completos*; son numerosos, y suelen requerir dosis muy bajas para actuar como iniciadores y dosis mayores para la progresión; su mecanismo de acción más frecuente consiste en la oxidación del ADN mediante especies reactivas de oxígeno (radicales de oxígeno); ejemplos son las nitrosaminas, el benceno, los proliferadores de peroxisomas, radiaciones UV, radiaciones ionizantes (RX), etc.

Pero la célula dispone de varios mecanismos defensivos contra el cáncer basados en la reparación o eliminación del ADN dañado; esto se realiza principalmente por eliminación de las bases dañadas o erróneas y la eliminación y sustitución de los nucleótidos afectados; cuando hay grandes aberraciones cromosómicas el daño puede repararse por sistemas de recombinación; finalmente, y de forma más drástica, por la apoptosis de las células cancerosas.

En la Figura 7.50 se representa el proceso de carcinogénesis y de reparación; en este último, la célula se defiende bien con la participación de enzimas desalquilantes que rompen el aducto, o bien a través de un proceso en que enzimas gluco-

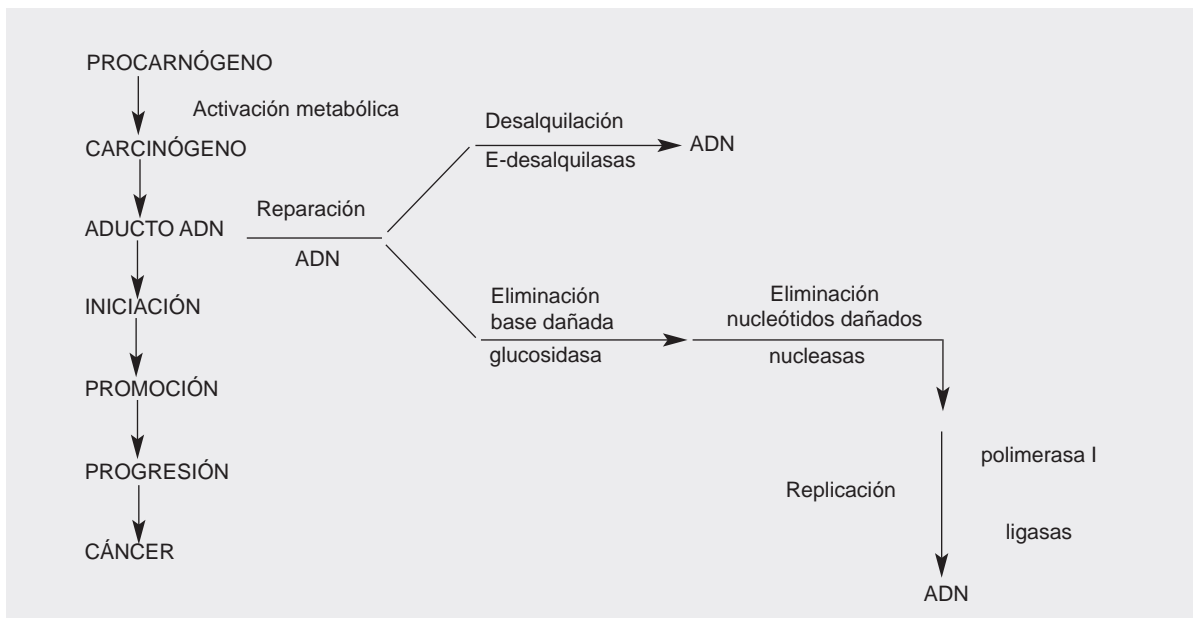


Figura 7.50. Etapas de la carcinogénesis y mecanismos defensivos.

sidadas rompen el enlace glucosídico que une a la base alterada, seguido de la acción de enzimas endonucleasas que eliminan no sólo el nucleótido dañado sino los adyacentes; a continuación, la polimerasa I replica todo el trozo, que es unido por las ligasas, quedando reparado el ADN

Otro mecanismo defensor lo proporcionan los genes tipo p-53, que se activan con los carcinógenos, y tienen carácter de gen supresor, pues bloquean la proliferación y favorecen la apoptosis. Expresan proteínas denominadas *tumorsupresoras*, y actualmente conocemos los siguientes:

El *gen p-53* actúa de coordinador de la actividad normal de la célula, y principalmente como controlador de daños; detecta lesiones en el ADN y suspende el ciclo celular durante los procesos de reparación; cuando ésta no es posible, induce la apoptosis. Así, las funciones de la proteína p-53, en que se expresa, son: estabilidad del genoma,

control de la proliferación celular, apoptosis fisiológica, inhibición del crecimiento tumoral, etc.; por ello, cuando el gen está dañado o mutado o no es funcional, o interfieren otras moléculas, la p-53 es inactiva o insuficiente, se produce inestabilidad del genoma, aumento de la proliferación, inhibición de la apoptosis, aumento del crecimiento tumoral e incremento de la resistencia a quimioterápicos.

Este gen p53 está localizado en el brazo corto del cromosoma 17, y es uno de los genes más comúnmente mutados en el cáncer humano; tras una señal de diferentes clases de estrés, como una alerta tumoral, estrés mecánico o térmico, radiaciones, hipoxia o numerosos xenobióticos, es activado por el factor Arf y expresa la proteína p53; como consecuencia, se activa la apoptosis o bien se produce una parálisis (*senescencia*) de ciclo celular, por lo que se opone a la generación

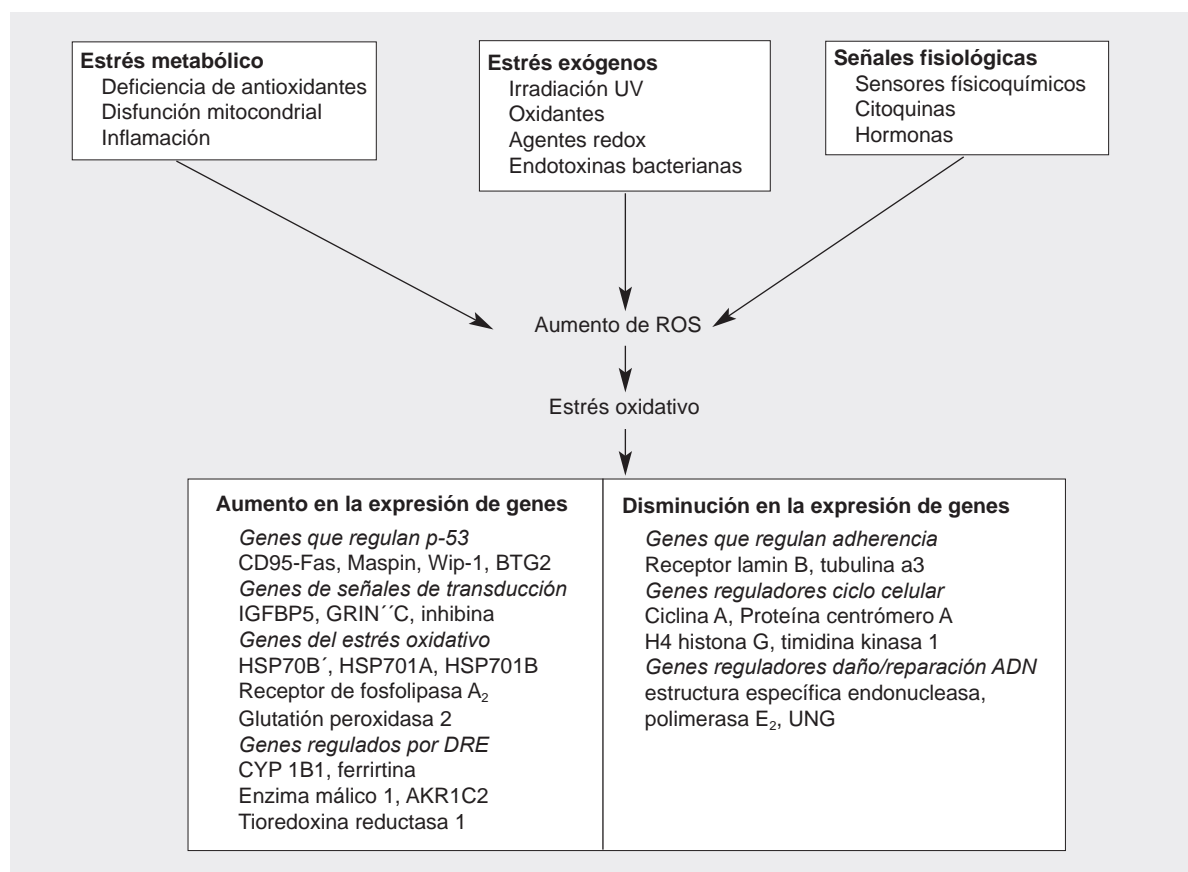


Figura 7.51. Cambios en la expresión genética causados por las especies reactivas de oxígeno (Plant, 2003).

de tumores. La proteína p53 es una fosfoproteína de vida media corta que se expresa en el núcleo de la mayoría de las células, por inducción de señales de estrés; a su vez induce la expresión de numerosos genes.

El *gen p-73*, localizado en el brazo corto del cromosoma 1, posee una secuencia muy parecida a la del p-53, y actúa, como éste, impidiendo la reproducción celular cuando hay daño en el ADN. Su insuficiencia se asocia al desarrollo de los neuroblastomas, tumores del sistema nervioso central.

El *gen FHIT* expresa la proteína enzimática del mismo nombre, que se une, para destruirlos, a unos nucleótidos extraños denominados ApppA, activando la apoptosis.

El *gen NOEY2*, de la superfamilia ras, que regula un amplio grupo de proteínas que intervienen como interruptores moleculares en la comunicación intracelular; este gen se encuentra en las células normales, pero no en las de mama o de ovario con cáncer. Ya vimos también que los linfocitos NK se enfrentan por fagocitosis a las células tumorales.

Y hemos dicho que además de los carcinógenos genotóxicos existen los *epigenéticos*, que sin producir mutación o lesión del ADN de forma directa, sino, al parecer, a través de mecanismos de acción muy variados, posiblemente con participación de las ciclinas, y por una sobreestimulación persistente de los sistemas de replicación celular (mitogénesis), dan lugar al desarrollo tumoral. En general, parece ser que actúan como promotores sobre células ya iniciadas bien espontáneamente o por otros carcinógenos.

Sus principales mecanismos son:

- Estimulación de la proliferación celular
- Citotoxicidad y regeneración compensatoria
- Inhibición de la apoptosis
- Alteración de las funciones endocrinas
- Inmunosupresión
- Activación de receptores específicos (p.ej. PPARa)
- Metilación de ADN
- Acetilación de histonas
- Etc.

Entre los agentes y mecanismos de acción que se han propuesto para la carcinogénesis epigenética, citaremos:

— Reacciones crónicas inflamatorias producidas por compuestos citotóxicos, como los antioxidantes butilhidroxitolueno (BHT) y butilhidroxianisol (BHA).

— Sustancias con efectos hormonales: dietilestilbestrol, estradiol, disruptores endocrinos.

— Trastornos inmunitarios producidos por inmunotóxicos o inmunosupresores, como la ciclosporina.

— Proliferadores de peroxisomas que también inducen la proliferación celular: ftalatos (plastificantes), clofibratos (medicamentos hipolipemiantes).

— Promotores de tumores que incrementan la mitogénesis: hidrocarburos policlorados, como DDT, dioxinas (TCDD).

Materias naturales (asbestos, talco, cuarzo) o artificiales (metales, cerámica, vidrio, plásticos), en forma de fibras o de trozos, pero no de polvo, inician una irritación local, con formación de granulomas (proliferación celular, en forma de nódulo, vascularizada) y atracción de macrófagos, que posiblemente generen radicales libres, y puede conducir a la formación de tumores. Las fibras de variedades de asbesto o amianto (silicato magnésico fibroso), principalmente crocidolita y crisolita, de más de 5 micras de diámetro, y de longitud superior a las 10 micras, a grandes concentraciones en el aire respirado (superiores a 100.000 fibras por metro cúbico), pueden originar, al cabo de muchos años, un tumor maligno, denominado mesotelioma, en pulmón, pleura y peritoneo, aunque no son activas por vía oral. Piezas de plásticos (plásticos) implantados en el tejido subcutáneo pueden inducir sarcomas (cáncer de tejidos blandos).

Además de por el mecanismo de acción, los carcinógenos epigenéticos presentan otras diferencias frente a los genotóxicos, como las siguientes:

a) requieren dosis relativamente altas, por lo que puede hablarse de *dosis umbral*, y permiten la elaboración de curvas dosis-respuesta, y determinar los factores de riesgo.

b) son específicos en cuanto a mecanismo y frente a especie animal, sexo y órgano.

c) en ocasiones el tumor es reversible al interrumpirse la exposición al agente.

d) son citotóxicos, pues pueden producir en la célula daños distintos al tumor.

Tabla 7.18. Clasificación de las sustancias conforme a su potencialidad carcinogénica, según distintos organismos y normativas

IARC	1 Humano	2A Probable	2B Posible	3 No clasificado	4 No carcinógeno	
ACGIH	A1 Humano	A2 Sosp. humano	A3 Animal	A4 No clasificado	A5 No sospechoso	
EPA	A Humano	B1 Probable	B2 Probable	C Posible	D No clas.	E No carcinógeno
MAK	IIIA1 Humano	IIIA2 Probable	IIIB Posible			
EU	1 Humano	2 Probable	3 Posible			
EP	1 Humano	2 Probable		3 Posible		
E	Lista A: 1 Humano	Lista D:2 Probable	Lista C: Mutágenos Cat. 1	Lista D: Mutágenos Cat. 2	Lista E: Tox. Reprod. Cat. 1	Lista E: Tox. Reprod. Cat. 1

De: E. de la Peña *et al.* (2006).

Diferentes instituciones supranacionales y nacionales, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), Unión Europea (EU), Asociación de Higienistas Industriales del Gobierno Americano (ACGIH, EE UU), Agencia de Protección Ambiental (EPA, EE UU), Comisión del Senado Alemán para la Investigación de Riesgos para la Salud de Compuestos Químicos en el Trabajo (MAK), España (E, Orden Ministerial de 14-3-1998), etc. han propuesto sistemas de clasificación de las sustancias según el conocimiento de su capacidad para producir cáncer en el hombre (Tabla 7.18).

La Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer ha establecido (1987) cuatro categorías de sustancias según los datos epidemiológicos y experimentales disponibles:

Grupo 1: Sustancias con suficiente evidencia de ser carcinógenas para el hombre. Son unas cuarenta.

Grupo 2: Sustancias para las que la evidencia es limitada. Se subdivide en:

2.A: Carcinógenos probables.

2.B: Carcinógenos posibles.

Grupo 3: Sustancias posiblemente no carcinógenas, pero evidencia inadecuada.

Grupo 4: Sustancias probablemente no carcinógenas.

Por su parte, se definen como *teratógenos* las sustancias que producen malformaciones fetales. Es decisivo el momento de la absorción del tóxico (Tabla 7.19), así en:

Periodo preconcepcional: Se afectan los gametos y se dificulta la reproducción.

Periodo concepcional: Se interfiere la fertilización.

Tabla 7.19. Reproducción y desarrollo. Momentos más sensibles a los tóxicos

A. Formación liberación de Gametos
B. Fertilización. Concepción, Transporte del cigoto
C. Implantación. Organogénesis
D. Desarrollo fetal. Final de la preñez
E. Nacimiento. Desarrollo postnatal
F. Maduración sexual

Periodo postconcepcional:

Sobre el huevo (días 1º al 20º en humanos): se interfiere la implantación o se produce muerte y expulsión del huevo.

Sobre el embrión (1-4 meses): alteración de la organogénesis = teratogénesis.

Sobre el feto (5-9 meses): se produce intoxicación del feto que interfiere su maduración y crecimiento.

El periodo más delicado es el embrionario, y, como cada órgano se forma en un momento determinado, la coincidencia de éste con la absorción decidirá el órgano afectado.

Las sustancias teratógenas hacen su efecto a dosis relativamente bajas, pues a dosis altas producirían intoxicación y muerte del embrión o feto. Los mecanismos de teratogénesis son muy variados, desde mutaciones a trastornos metabólicos o de irrigación.

Los teratógenos más conocidos son la talidomida, la colchicina, el alcohol etílico, causante del *síndrome alcohólico fetal*, la vitamina A, etc, (véase Tabla 7.20).

Tabla 7.20. Sustancias con efectos teratógenos conocidos.

Agentes	Efectos
Aminoglucósidos	Sordera
Andrógenos	Masculinización en hembras
Antagonistas del folato	Hidrocefalia, defectos tubo neural, paladar hendido
Carbamazepina	Retraso crecimiento de cabeza feto
Corticoides	Paladar hendido; cataratas congénitas
Estilbestrol	Adenosis/cáncer en vagina o cuello uterino
Estrógenos	Atrofia testículo en machos
Etanol	Síndrome alcohólico-fetal
Fenitoína	Labio/paladar hendido, microcefalia, retraso mental
Inhibidores enzima convertora de la angiotensina	Oligohidramnios, insuficiencia renal
Penicilamida	Laxitud de la piel
Retinoides	Hidrocefalia
Talidomida	Focomelia, defectos cardíacos, atresia intestinal, etc.
Tetraciclina	Manchas en dientes y huesos, mal crecimiento óseo
Warfarina	Nariz en silla de montar Retraso y trastornos miembros, ojos, SNC, etc.

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (Lyon): <<http://www.iarc.fr>>
- Andrade-Ribeiro A, Pacheco-Ferreira A, Nobreg CL, Mendes A. Disruptores endocrinos: problema potencial para la salud pública y el medio ambiente. *Rev. Biomed*, Brasil, 2006; 17:146-150.
- Anónimo. Report of Multiple Chemical Sensitivities (MCS) Workshop: International Programme on Chemical Safety (IPCS)/German Workshop on Multiple Chemical Sensitivities. Berlin, Germany, 21-23 February 1996. *Int. Arch. Occup. Environ Health* . 1997; 69:224-226
- Anniko M. Principles in cochlear toxicity. *Arch Toxicol*. Sup. 8. Berlín: Springer-Verlag, 1985.
- Ballescá JL. III Encuentro Iberoamericano de Andrología. Cuba, 2006.
- Banco de Datos de Disruptores Endocrinos, FDA, EEUU: <http://edkb.fda.gov/>
- Balazs T. *Cardiac toxicology*. 3 volúmenes. Boca Ratón: CRC Press, 1981.
- Ballantyne B, Marrs T, Turner P. *General and applied toxicology*. Wimblendon: Macmillan Press, 1993.
- Barratt MD. Quantitative structure-activity relationships for skin corrosivity. *ATLA*, 1995; 23(2):243-455.
- Barreiro R, Quintela M, Ruíz JM. TBT e imposex en Galicia: efectos en un gasterópodo marino. *Ecosistemas*, 2004, 13, 1-17.

- Bennetts HW, Underwood EJ, Sheir FL. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Austral Vet J*. 1946, 22:2-12
- Berenguer MJ, Martí MC. Ambientes cerrados: calidad del aire. *NTP-243*. I.N.S.H.T, Madrid (1989)
- Berndt WO. The role of transport in chemical nephrotoxicity. *Toxicologic Pathology*. 1998; 26, 1:52-57.
- Bronaugh T, Maibach H. *Percutaneous absorption*. New York: Marcel Dekker Inc., 1985.
- Cavanh JB. Peripheral neuropathy caused by Chemical agents, En: *CRC Critical Reviews in Toxicology*, Ohio: C.R.C. Press, 1973.
- Cohen GM. *Target organ toxicity*. Vols. 1 y 11. Boca Ratón: CRC Press, 1986.
- Colborn T, Clement C, (ed). *Chemically induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection*. Princeton: Princeton Scientific Publishing, 1992.
- Colborn Th, Dumanoski D, Myers P. *Our stolen future* (prólogo de Al Gore). New York: Penguin Books, 1996.
- Colon I, Caro D, Bourdony CJ, Rosario O, Identificación de phtalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ, Health Perspect*. 2000; 108: 895-900.
- Cullen MR. The worker with multiple chemical sensitivities: an overview *Occup. Med*. 1987; oct- dec., 655-661.

- Davey DG. *Neurotoxicity of drugs*. Amsterdam: Excerpta Medica Foundation, 1967.
- Dixon R, Harbison R. *Toxicology of the gonads*. New York: Raven Press, 1981.
- Drill V, Lazar P. *Cutaneous toxicity*. New York: Raven Press, 1984.
- Fan AM, Chang LW. *Toxicology and risk assessment*. New York: Mercel Decker. Inc., 1996.
- Gaitan E. Environmental goitrogens from contemporary endocrinology. En LE. Braverman (ed.): *Diseases of the thyroid*. Totowa, N.J. Human Press Inc., 1999.
- Ganong WF. *Fisiología médica*. 12.ª ed. México: El Manual Moderno, S.A., 1992.
- Girdwood R. *Blood disorders due to drugs and other agents*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1973.
- Glaiser JR. *Principles of toxicological pathology*. London: Taylor & Francis, 1986.
- Gopalakrishnakone P, Tan CK. *Recent advances in toxicology research*, vol. 1 y 2, University of Singapore, VTRG, 1992.
- Hayes AW, Cook R, Eckerman D. *Toxicology of the eye, ear and other special senses*. New York: Raven Press, 1981.
- Hayes AW. *Toxicology of the eye, ear and other special senses*. New York: Raven Press, 1985.
- Hodgson E, Guthrie FE. *Introduction to biochemical toxicology*. Oxford: Blackwell Scientific Pub., 1980.
- Hoffmann RS. Conferencia. Madrid, 22-11-2001.
- Hook G. *Lung toxicology*. New York: Raven Press, 1981.
- Hook J. *Toxicology of the kidney*. New York: Raven Press, 1981.
- Irons R, Gibson J. *Blood toxicology*. New York: Raven Press, 1980.
- Irons RD. *Toxicology of the blood and bone marrow*. New York: Raven Press, 1985.
- Klaassen CD. *Cassarett and Doull's toxicology*. 5.ª ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- López-Artíguez M, Repetto M. Estado actual de la toxicología del cadmio. En: M. Repetto (ed.). *Toxicología avanzada*. Madrid: Díaz de Santos, 1995.
- Marzulli F, Maibach H. *Dermatotoxicology and pharmacology*. New York, John Wiley & Sons, 1977.
- McLachlan JA. *Estrogens in the environment: influences on development*. New York: Elsevier, 1985.
- McLachlan JA. Functional toxicology: a new approach to detect biologically active xenobiotics. *Environmental Health Perspectives*, 1993; 191(5): 386-387.
- Means ED, Prockop LD, Hooper GS. Pathology of lacquer thinner induced neuropathy. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 1976; 3:240.
- Meier J, Whiete J. *Handbook of clinical toxicology of animal venoms*. Boca Ratón: CRC Press, 1995.
- Metzler PW, Rush KC, Cockburn A. *Endocrine disruptors*. Berlin, Springer Verlag. 2001.
- Narahashi T. *Cellular and molecular neurotoxicology*. Target Organ Toxicology Series. New York: Raven Press, 1984.
- Niesink RJM, de Vries, J, Hollinger MA. *Toxicology. Principles and applications*, Boca Ratón: CRC Press, 1996.
- Obiols J. *Intolerancia idiopática ambiental*. Madrid. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 2002.
- Oesh F, Herrero ME, Hengstler JG, Lohman M, Arand M. Metabolic detoxification: implications for thresholds. *Toxicology Pathology*, 2000; 28,3, 382-387.
- Ohi G. Endocrine disrupting chemicals and carcinogenicity. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1999; 26,3, 263-268.
- Olea N, Gorgojo L, Villalba J. *et al.*. Cultivos celulares en oncología: Bases para su empleo en estudios de hormonosensibilidad. *Oncología*, 1991; 14, 581-587.
- Olea N, Molina MJ, García Martín M, Olea MF. Endocrine disruption and reproductive effects in wildlife and human. En: AM Soto *et al.*, (eds.) *Modern agricultural practices: The human price. Comments in Toxicology*. 1994.
- Olea N, Olea N. Disrupción hormonal. Exposición humana. En: M. Repetto (ed). *Toxicología de Postgrado-06*. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla. 2006
- Ordás E, Marqués F. Síndrome de sensibilidad múltiple a sustancias químicas. *Rev. San. Amb.*, 2001; 1,2, 92-96.
- Peña E de la, Herrero O, García Partida P, Pérez García CS, Gutiérrez Panizo C, Ayala de la Peña F, *et al.* Mutagénesis y carcinogénesis química. En: M. Repetto, (ed.) *Toxicología de Postgrado-06*. CD-ROM. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla. 2006
- Pérez V. *Hígado y drogas*. Buenos Aires: Ed. Paidós, 1969.
- Pilliere F. Perturbateurs endocriniens et risques professionnels. París. INRS. *Documents pour le Medecin du Travail*. 2002; 92, 337-352.
- Povey AC. DNA adducts: endogenous and induced. *Toxicology Pathology*, 2000; 3, 405-414.
- Plaa G. Hewitt WR. *Liver toxicology*. Target Organ Toxicology Series. New York: Raven Press, 1982.
- Prineas J. The pathogenesis of dying-back polyneuropathies. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1969; 28, 598.
- Randolph T. *Human ecology and susceptibility to the chemical environment*. Springfield, IL. CC Thomas. 1962
- Repetto M. *Toxicología de los aerosoles*. Sevilla: Ed. Universidad, 1978.
- Repetto M *et al.* *Toxicología avanzada*. Madrid: Díaz de Santos, 1995.
- Roth L, Hardison RD, James RC, Tobin T, Roberts SM. Cocaine hepatotoxicity: influence of hepatic enzyme inducing and inhibiting agents on the site of necrosis. *Hepatology*, 1992; 15(5):934-940.

- Scala RA. Hydrocarbon neuropathy. *Ann Occup Hyg*, 1976, vol. 19, pág. 293.
- Schardein J. *Drugs as teratogens*. Ohio: CRC-Press, 1976.
- Shaefer, H, Zesch A, Stuttgen G. *Skin permeability*. Berlín: Springer-Verlag, 1982.
- Smith L, Cohen G, Aldridge W. Morphological. and biochemical correlates of chemical induced injury in the lung. *Arch Toxicol*, 1986; 58-214.
- Spencer P. Schaumburg H. *Experimental and clinical neurotoxicology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991.
- Soto AM, Lin TM, Justicia H, Silvia RM, Sonnenschein C. An *in culture* bioassay to asses the estrogenicity of xenobiotics (E-screen). *Environ. Toxicol.*1992; 21, 295-309.
- Soto Am, Michaelson CL *et al.* Assays to measure estrogen and androgen agonists and antagonists. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1998; 444, 9-23
- Suzuki T, Shimbo S, Nishitami H. Muscular Atrophy due to glue sniffing. *Int Arch Arbeitsmed*, 1974; 33155.
- Sparks, P. J. Idiopathic environmental intolerances: *Overview Occup. Med.* 2000; July-Sept. 15,3: 497-510.
- Thomas J, Kenneth S, McLachlan J. *Toxicology of the endocrine system*. New York: Raven Press, 1981.
- Thomas JA, Korach KS, McLachlan JA. *Endocrine toxicology*. New York: Raven Press, 1985.
- Tomasewski Ch. Carbon monoxide. En: Goldfrank's *Toxicologic emergencies*, 6.^a ed. Standford, Connecticut, Appleton & Lange, 1998.
- Van Stee EW. *Cardiovascular toxicology*. New York, Raven Press, 1982.
- Vercruysse A. *Hazardous metals in human toxicology*. Amsterdam: Elsevier, 1984.
- Witshi H, Nettesheim P. *Mechanisms in respiratory toxicology*. Vols. 1, 2 y 3. Florida: CRC. Press, 1982.
- Young JR, How MJ, Walker AP, Worth WMH. Classification as corrosive or irritant to skin of preparations containing acidic or alkaline substances. *Toxic. In Vitro*, 1988; 2(1):16-19.
- World Health Organization (WHO). Indoor air quality research EURO Reports and Studies No 103, WHO Regional Office for Europe. Copenhagen 1986
- Zimmermann HL *Hepatotoxicity. The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver*. New York: Appleton-Century-Crafts, 1978.
- Zumbado M, Boada L, Torres S, *et al.* Evaluation of acute hepatotoxic effects exerted by environmental estrogens nonylphenol and 4-octylphenol in immature male rats. *Toxicology* 175 (2002) 49-62.

8

FACTORES QUE MODIFICAN LA TOXICIDAD

Aunque los datos de toxicidad de una sustancia (DL_{50} , etc.) hayan sido obtenidos por un proceso estadístico, no siempre se reproducen matemáticamente los efectos fisiopatológicos en todos los individuos y circunstancias. Podemos encontrarnos con efectos esperados o normales y efectos no esperados (anormalmente exagerados o disminuidos).

La intensidad de toda reacción químico-biológica y, por tanto, tóxica, depende de una serie de circunstancias, que básicamente son:

I. La dosis y, consecuentemente, la concentración a la que el producto libre y activo se encuentra en el lugar del receptor.

II. La capacidad del tóxico para atravesar las barreras biológicas hasta llegar a los receptores sin sufrir destrucción o eliminación.

III. Las condiciones de sensibilidad del receptor.

Todas esas circunstancias son, a su vez, función de una serie de factores que modifican la toxicidad de un producto, y que pueden esquematizarse como sigue (Tabla 8.1):

Acciones combinadas con otras sustancias (*interacción: sinergia y antagonismo*) (véase Capítulo 9).

Factores que dependen del medio ambiente (exógenos o físicos).

Factores propios del individuo (endógenos o biológicos).

Factores derivados de las condiciones de administración o absorción del tóxico.

Cada uno de estos factores pueden afectar a uno o varios pasos o mecanismos de los procesos toxicocinéticos, incluidos los de biotransformación (tanto en la fase 1 como en la 2) y de los toxicodinámicos.

Se admite que las variaciones farmacocinéticas generalmente sólo alteran la intensidad de los efectos habituales de un fármaco (modificaciones *cuantitativas*); la variación del tipo de efecto (modificaciones *cualitativas*) sólo aparece en los casos en que la fase de biotransformación da lugar a compuestos diferentes de los usuales o cuando en la distribución el xenobiótico alcanza lugares de acción desacostumbrados.

Ahora bien, además deben tenerse presentes dos circunstancias en las que el efecto de los xenobióticos sobre un individuo puede ser cualitativa y cuantitativamente muy distinto del esperado, como son los procesos alérgicos y los condicionamientos psicológicos.

Tabla 8.1. Factores que modifican la toxicidad.

La toxicidad no es una cualidad absoluta de las sustancias, sino *relativa* a:

Factores exógenos o del medio
Factores endógenos del individuo
Condiciones de la absorción
Cambios crono y cosmobiológicos

FACTORES QUE DEPENDEN DEL MEDIO AMBIENTE. CONDICIONANTES FÍSICOS

Como son: clima y fenómenos meteorológicos y geológicos, luz, temperatura, presión atmosférica, ritmos de la Naturaleza, etc.

Condiciones climáticas y meteorológicas

Influyen en la farmacocinética de muchas sustancias, por diversas razones, entre las que no debe olvidarse el desequilibrio que en el sistema nervioso producen los frentes de iones que se originan en los cambios de tiempo.

Por mecanismo similar al de la carga iónica del ambiente, parece influir el ruido sobre la respuesta tóxica.

En nuestro laboratorio se comprobó que los animales de experimentación se afectan por fenómenos tan lejanos como manchas solares, tormentas, terremotos (con epicentro a más de mil kilómetros de distancia) etc.; los animales manifiestan no sólo alteraciones del comportamiento, como intranquilidad, sino también de carácter bioquímico (Sanz *et al.*, 1988). Las conocidas como «constantes bioquímicas» del análisis clínico ordinario así como la intensidad de la biotransformación y excreción de los xenobióticos, se afectan significativamente, a excepción de en los ejemplares tratados con tranquilizantes o con cannabinoides.

Actividad lumínica

El actinismo (acción química de la luz) se manifiesta en los procesos tóxicos.

A la llegada del verano se intensifican los cuadros de saturnismo crónico, o incluso se presentan por primera vez con sintomatología clínica; se admite que la influencia actínica del sol y la elevación de la temperatura movilizan los depósitos de plomo que pudieran existir en el tejido óseo y otros y, al elevarse la plumbemia, se agudiza el cuadro tóxico.

Igualmente, la exposición corporal a la luz veraniega dramatiza las reacciones de hipersensibilidad producidas por diversas sustancias como tetraciclinas, aminas aromáticas, etc. (véase *Fotoalergia y Fototoxicidad*, Capítulo 7).

La incidencia de tumores en la piel de animales que reciban carcinógenos es mayor cuanto más luz les incide.

La intensidad de la luz influye en la duración de los ciclos estrales, que se alargan, y en el proceso reproductivo de los roedores y los humanos.

Temperatura

La temperatura ambiental afecta a la toxicidad de las sustancias, no sólo por su influencia en la velocidad de las reacciones químicas, sino también porque modifica la vasodilatación superficial (para favorecer o reducir las pérdidas de calor) y con ello altera el volumen de sangre circulante y, en consecuencia, la cantidad de tóxico que llega a los receptores. Por todo ello, la afectación varía en sentido y magnitud.

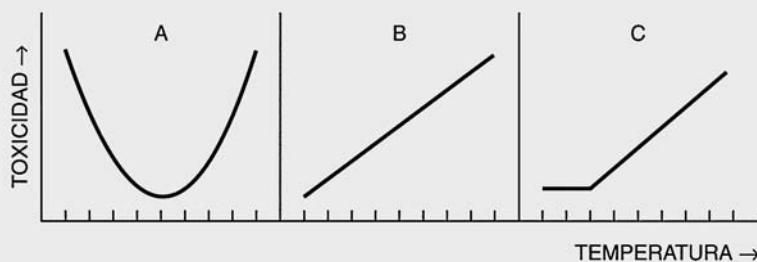


Figura 8.1. Distintas formas de evolucionar la toxicidad con la temperatura.

Los cambios de temperatura ambiental afectan a las funciones corporales, a los procesos toxicocinéticos y toxicodinámicos.

La temperatura influye en la severidad, duración y naturaleza de los efectos tóxicos (Ellis, 1967; Weihe, 1973). Según demostraron Fuhrman y Fuhrman (1961) la influencia de la temperatura puede seguir uno de los tres modelos expuestos en la Figura 8.1); la respuesta más común se representa por una U, en que la menor toxicidad aparece a una temperatura media, pero cuando ésta sube o baja, los efectos tóxicos aumentan.

El segundo modelo es la respuesta lineal: mayor toxicidad al aumentar la temperatura; en el tercer tipo de respuesta, la toxicidad se mantiene durante un margen de temperaturas, pero llegado a un valor de ésta, se incrementa linealmente.

En la Tabla 8.2 se recogen ejemplos de sustancias cuyo comportamiento corresponde a estos modelos.

La temperatura también influencia la duración de los efectos tóxicos; así el sueño inducido por

barbitúricos se acorta cuando la temperatura sube de los 26 °C.

Igualmente la temperatura modifica la naturaleza del efecto tóxico; entre 20-25 °C, la clorpromazina produce depresión de SNC y ataxia, pero a más de 30 °C, invierte sus acciones a nerviosismo, convulsiones y muerte.

Presión atmosférica

Es otro factor modificante, muchas veces olvidado; recordemos, por un lado, que, conforme a la ley de Henry, el volumen de gas absorbido por un líquido es proporcional a su presión parcial y que, según la ley de Dalton, en una mezcla de gases la absorción de cada gas se realiza independientemente, sólo en función de la presión parcial de cada uno de ellos. Por tanto, la presión atmosférica, o del ambiente en que se halle el sujeto, influirá en la absorción de gases y vapores y en la eliminación por vía pulmonar. Pero además, también en medio biológico se cumple la ley de Le Chatelier acerca de que la velocidad de las reacciones químicas es proporcional a la presión, de tal manera que la reacción de los tóxicos con los receptores será más intensa al aumentar la presión. Como ejemplo podemos citar el fenómeno experimentado por individuos que ingieren bebidas alcohólicas en estaciones de montaña, y notan mayor grado de embriaguez al descender a la base.

Ruido

Ha sido definido como sonido molesto no deseado, a pesar de que en la actualidad muchos parecen disfrutar de él, al ser un movimiento vibratorio que alcanza las estructuras internas del oído, favorece el contacto de las mismas con la linfa y las sustancias que en ella puedan estar disueltas. De esta forma se incrementa localmente el efecto de las sustancias tóxicas para dichas estructuras (véase Capítulo 7, y Tabla 7.15).

Ciclos biológicos

Es tema de interés actual el conocimiento de las relaciones entre la farmacodinamia y el *ritmo cir-*

Tabla 8.2. Efectos de la temperatura sobre la DL-100 (mg/kg) ip. en rata

Sustancia	Temperaturas		
	8 °C	26 °C	36 °C
<i>Grupo A</i>			
Ácido acetilsalicílico	80	420	55
Atropina	280	420	55
Benceno	500	1.150	225
Clorpromazina	12	210	62
Estricnina	0,25	1,5	0,25
Pentobarbital	55	80	10
Queroseno	2.100	10.700	940
Tetracloruro de carbono	1.400	7.100	940
<i>Grupo B</i>			
Difenhidramina	180	80	16
Efedrina	420	180	120
Pentaclorofenol	620	420	120
Quinidina	210	140	94
<i>Grupo C</i>			
Cafeína	280	280	55
DDT	940	940	120
Procaína	280	280	80
Prometazina	140	140	42

cadiano (o ciclo diario), que influye a través de las variaciones de los niveles hemáticos de las hormonas durante el día o en el transcurso del año. Se sabe que la mayoría de las plantas y animales muestran variaciones periódicas en muchas de sus funciones; en los animales la regulación de este reloj biológico reside en el sistema límbico, y el ritmo se encuentra alterado en los individuos con enfermedades hipotalámicas y del lóbulo temporal. El más conocido de los mecanismos relacionados con las variaciones cíclicas hormonales se refiere a las sexuales, y se sabe la influencia de éstas en la síntesis proteica y, por tanto, enzimática (véase párrafo *Sexo* en el apartado siguiente). Pero además, hay fluctuaciones diurnas de la función corticosuprarrenal (mínima concentración hemática de ACTH y corticoides a las 0 horas y máxima a las 6 horas), que se traduce en variaciones de la temperatura corporal, interacciones sodio-potasio, orina y en otros mecanismos de gran interés toxicológico. (Véase más adelante «Cronotoxicología».)

FACTORES QUE DEPENDEN DEL INDIVIDUO. CONDICIONANTES BIOLÓGICOS

Cada individuo puede responder a los tóxicos de manera distinta según sea su especie, raza, sexo, edad, características individuales o personales, estado de salud o enfermedad y situación psicosocial.

Especie

Desde antiguo se conoce que el caracol, el conejo y el cobayo no se intoxican por comer belladona, ni la cabra con cicuta; el conejo resiste incluso dosis de atropina letales para el hombre. El hecho se explica porque estos animales poseen una enzima atropinasa (atropinhidrolasa) que destruye el alcaloide; también tolera la amanita faloides.

El cerdo soporta dosis elevadas de arsénico, de antimonio y de compuestos organoclorados, porque los almacena en su gran pániculo adiposo.

El anestésico local inyectable procaína provoca tal excitación al caballo, que ha sido empleado

como agente de dopaje en carreras hípicas. Por su parte, el gato es extraordinariamente sensible al insecticida piretroide permetrina, en general poco tóxico para los mamíferos, que le puede producir, incluso por vía dérmica, ataxia, convulsiones, dificultad respiratoria, coma y muerte.

Las diferencias de toxicidad para las distintas especies presentan un grave problema para la determinación de dosis tóxicas mediante experimentación en animales y su posterior aplicación al hombre. En este sentido se considera que los animales de experimentación más asimilables a la especie humana son el mono, la rata y el cerdo; deben destacarse las grandes diferencias metabólicas entre la rata y el ratón.

Las distintas especies animales hidroxilan la anilina en diferentes posiciones, y se ha visto que aquellos, como el gato, que producen más orto-aminofenol que para-aminofenol son más susceptibles al efecto tóxico; los carnívoros originan más proporción del o-hidroxiderivado. La N-hidroxilación del p-acetamol es mayor en el hamster que en la rata. La transformación de etilenglicol en ácido oxálico (proceso de toxificación) es mayor en el gato que en la rata y que en el cobayo, por este orden. En la fase 2 de biotransformación, aunque la mayoría de las especies conjugan los metabolitos fenólicos con los iones glucuronato y sulfato, el gato no conjugua con el primero, y el cerdo no lo hace con el segundo. En general, los carnívoros conjugan con el glucurónico, los herbívoros con aminoácidos, especialmente glicina, y los omnívoros con cualquiera de ellos.

La mayoría de las especies conjugan los ácidos aromáticos (benzoico) y heterocíclicos con la glicina, mientras que las aves y reptiles lo hacen con la ornitina.

Por su parte, el perro y las especies caninas carecen de N-acetiltransferasa, por lo que no son capaces de acetilar las aminas aromáticas, lo que puede explicar su susceptibilidad a éstas, a excepción de la isoniazida, cuyo N-acetilderivado se transforma luego en el metabolito reactivo.

Raza

Se han observado diferentes reacciones a los tóxicos por individuos de distintas razas; en general se admite que la raza negra es más resistente a

la mayoría de los venenos. Un ejemplo se tiene en la diferente reacción ante los agentes midriáticos; los individuos de raza negra son insensibles a la adrenalina y a la atropina aplicadas en el saco conjuntivo, a pesar de que ambas drogas dilatan la pupila por dos mecanismos distintos.

Esto también ocurre entre los animales, y, debido a ello, las investigaciones sobre toxicología experimental deben realizarse siempre con razas animales concretas y procedentes de la misma cepa.

Los orientales son más lentos que los occidentales en la segunda fase del metabolismo del alcohol, permitiéndose una elevación de la concentración hemática de acetaldehído que se manifiesta con congestión facial, cefalalgia, palpitaciones, etc. Así mismo, son más sensibles que los de raza blanca a los efectos cardiovasculares del propranolol (a pesar de que lo metabolizan más rápidamente, por mayor sensibilidad de los receptores), mientras que los afroamericanos del Caribe son menos sensibles.

Sexo

Está demostrado que las hormonas sexuales desempeñan un importante papel en el metabolismo de los tóxicos, porque los estrógenos favorecen la síntesis de diferentes enzimas. Cuando estas enzimas pertenecen a sistemas de eliminación, el fenómeno es favorecedor porque disminuye el riesgo, pero cuando las enzimas estimuladas son de las que producen metabolitos más tóxicos (por ejemplo, el paraoxón a partir del paratión), se incrementa la toxicidad.

En general, las ratas macho metabolizan los xenobióticos más rápidamente que las hembras. Esto suele ocurrir también en los humanos, pero no en el ratón, y puede manifestarse como distinta toxicidad.

Los hidrocarburos alifáticos nefrotóxicos y el d-limoneno inducen tumores renales en las ratas macho, pero no en las hembras, ni en los ratones de ambos sexos.

Las ratas macho son más susceptibles que las hembras al daño hepático por cloroformo. Esto se debe al efecto de la testosterona sobre la actividad microsómica hepática; si se tratan ratas hembras con testosterona se hacen más susceptibles al clo-

roformo, mientras que si se administra estradiol a los machos aumenta la resistencia (DL-50 más alta).

Al igual que el paratión, el schradan y la warfarina son menos tóxicos para los machos. El hecho de que estas toxicidades sean relativas al sexo se demuestra por su aparición con la pubertad, lo que evidencia la influencia hormonal. Según Hurst (1958), la mujer es más susceptible que el hombre a la amidopirina y al benceno.

La estricnina, por vía intravenosa, es igualmente tóxica para ambos sexos, pero resulta más tóxica para las hembras por las vías oral, cutánea e intraperitoneal. Kato *et al.* (1962) comprobaron que preparaciones de microsomas hepáticos de ratas macho destoxican *in vitro* la estricnina más rápidamente que preparaciones de hígado de ratas hembras; de ahí que, cuando la vía de administración supone un precoz paso hepático, se presenta la diferencia de toxicidad señalada.

Esto obliga a realizar siempre los estudios de toxicidad con la mitad de los individuos de cada sexo.

Edad

El niño pequeño presenta numerosas diferencias toxicocinéticas con el adulto. Así, la absorción de fármacos en el niño por vía oral está muy alterada, porque el vaciamiento gástrico es lento y la absorción intestinal aumentada por mayor permeabilidad (lo que origina alergias alimentarias por absorción de proteínas y péptidos). La absorción percutánea, sobre todo si hay irritación, y por la conjuntiva, es mayor; debe tenerse en cuenta, además, que el estrato córneo (protector) es más fino en los pequeños, y que la relación superficie corporal/peso es tres veces mayor que en los adultos; por otra parte, se presentan con mayor frecuencia afectaciones dérmicas.

En cuanto a la distribución, también es diferente, por poseer el niño mayor proporción de agua y deficiente compartimentación vascular (mayor permeabilidad). Hay hipoalbuminemia frecuente, con déficit de proteínas plasmáticas transportadoras, complicada por la presencia competitiva de bilirrubina, procedente de la gran actividad del recambio de hematíes maternos por los propios.

Además, los tejidos y órganos del niño están constituidos por mayor proporción de agua y lípidos (menos cantidad de proteína y hueso), y el encéfalo es proporcionalmente mayor; en consecuencia, la absorción de los tóxicos y su fijación en SNC será mayor, tanto más cuanto que la barrera hematoencefálica es más permeable que en el adulto.

Asimismo, la función renal es insuficiente por estar disminuidas la filtración y la secreción.

En los lactantes, la filtración glomerular y la función tubular es del 20-50 % menor que en el adulto, lo que reduce grandemente la eliminación de los xenobióticos. En los niños nacidos a término la función renal se aproxima a la de los adultos jóvenes en menos de una semana, y duplica a la de estos a los 6 meses de edad, pero en los prematuros la evolución es mucho más lenta y están más expuestos a efectos tóxicos. Los xenobióticos que llegan al feto a través de la placenta se eliminan muy lentamente porque su función renal es muy deficiente y, además, la orina va al líquido amniótico que es deglutido por el feto.

Igualmente, las enzimas hepáticas metabolizantes fetales son muy poco eficientes; en los recién nacidos, aun persiste hasta las ocho semanas la escasa actividad de las esterasas plasmáticas y oxidasas microsómicas hepáticas; la actividad de la glucuronil-transferasa hepática y de la acetiltransferasa están muy reducidas, lo que explica la escasa formación de glucurónidos y conjugados, que también perjudica la eliminación.

Aunque estos conocimientos son relativamente antiguos, a partir de la revisión realizada por Maxwell en 1984, diversos autores (Millar *et al.*, 2002; Scheuplein *et al.*, 2002; Brent y Weitzman, 2004) se están ocupando de las diferencias toxicocinéticas entre niños y adultos; si bien todos coinciden en que hay diferencias bioquímicas y fisiológicas y que se necesitan más estudios toxicocinéticos y de los mecanismos de toxicidad, concluyen en que:

a) Los recién nacidos son toxicológicamente muy sensibles.

b) Hacia los 6 meses de edad, e incluso antes, los niños son razonablemente maduros desde el punto de vista bioquímico.

c) Al año son casi completamente maduros, pero son más vulnerables que los adultos, inclu-

yendo la producción de alteraciones que no afectan a éstos, como son las del desarrollo, o las del aprendizaje y el comportamiento, más frecuentes.

d) En determinados casos los niños son menos sensibles que los adultos y eliminan más eficientemente los xenobióticos, por lo que requieren mayores dosis de algunos medicamentos (como acetaminofeno, fenobarbital, fenitoína, gentamicina, etc.) para mantener las concentraciones terapéuticas en sangre.

e) Aunque los recién nacidos son claramente más sensibles a altas exposiciones de tóxicos ambientales, esto no ocurre siempre a bajas concentraciones de los mismos tóxicos.

La menor sensibilidad de los niños ante algunos xenobióticos se explica por que poseen un hígado proporcionalmente mayor (con 1 año el peso de este órgano expresado como porcentaje del peso corporal es 1.67 mayor que el del adulto), y por ciertas diferencias en la segunda fase de biotransformación, como por ejemplo mayor eficiencia en la sulfatación, aunque sea menor la capacidad de glucuronación (más baja en niños que en adultos). Ello ha hecho a los pediatras australianos proponer la elevación de la «dosis tóxica» única de paracetamol en niños, que está estimada en 150 mg hasta 250 mg ($150 \times 1,67 = 250,5$). Sin embargo, esta asunción parece arriesgada, y no debiera olvidarse el *principio de prevención, precaución o cautela* (ONU, 1992), sino tener en cuenta que en los niños con inducción enzimática, que incrementa la oxidación microsómica al metabolito lesivo, o con depleción del conjugante glutatión (por desórdenes alimentarios o enfermedad viral) o con deficiencias genéticas para la sulfatación o glucuronación, la dosis hepatotóxica puede estar sobre 75 mg/kg en 24 h.

Los niños son especialmente sensibles a hipoglicemiantes orales, clozapina, clonidina, opiáceos, etc., y una sola dosis puede resultarles tóxica.

Todo ello, unido a las características del comportamiento de los niños pequeños (inquietud, instinto mano-boca, interés por la exploración, etc.) particularmente de los menores de 3 años, los hace víctimas de intoxicaciones que, tradicionalmente, han sido gran preocupación de los pediatras.

Al igual que para los niños, la diferente actividad y toxicidad de los fármacos en los ancianos se debe a causas farmacocinéticas y farmacodinámicas.

Entre las primeras, la *absorción* no parece afectarse, a pesar de estar comprobado un incremento del pH del jugo gástrico, disminución de la motilidad intestinal con retraso de la evacuación y atrofia de la mucosa y disminución de células absorbentes. Por el contrario, se afecta la *distribución*; por un lado en el mayor de 65 años hay una disminución del volumen minuto cardíaco del 30-40 por 100, lo que ya influye en la absorción de sustancias administradas por vía intramuscular y en la distribución de las absorbidas por cualquier vía; a esto contribuye también la menor proporción de albúmina plasmática y otras proteínas transportadoras. Pero esta deficiencia hace que exista mayor cantidad de fármaco libre (15-30 por 100) capaz de ligarse a los receptores, produciendo mayor efecto con la misma dosis (Tabla 8.3).

Por otra parte, con la edad suele aumentar el tejido adiposo, mientras disminuyen la masa y el agua total, aunque no cambie el agua intracelular. En consecuencia, los volúmenes de distribución se modifican; para un compuesto lipófilo (barbitúrico, por ejemplo) resultan aumentados, lo que prolonga su retención y efecto, mientras que disminuyen para las sustancias hidrófilas, cuya concentración en plasma es más alta que en el joven.

En cuanto a la excreción, debe tenerse en cuenta que el flujo renal disminuye a razón de 1,5 por 100 por año, lo que, junto con el deterioro de la filtración glomerular y de la secreción tubular, reduce grandemente la eliminación por esta vía.

Esto se agrava con la insuficiencia cardíaca, hipotensión y patologías renales; en consecuencia, la vida media de los fármacos que se excretan en la orina, como los aminoglucósidos, digoxina, fenobarbital, cimetidina, etc., aumenta en el anciano.

Por su parte, los procesos metabólicos no están desarrollados en el niño; éste no posee hasta las ocho semanas el bagaje enzimático normal, y aun entonces no está lo suficientemente estimulado para metabolizar xenobióticos, por lo que la toxicidad suele ser mayor.

El desarrollo con la edad de la capacidad metabolizadora es complejo y varía para cada sustrato, dentro de cada especie y sexo; así dentro de la fase I de biotransformaciones, la p-hidroxilación de la anilina en la rata aparece ya en el nacimiento, mientras que las desmetilaciones sólo se producen tras el destete. En las ratas, la actividad de monooxigenasas comienza a declinar al año de edad (mitad del periodo de vida)

El viejo también pierde defensas antioxidantes, por lo que es más sensible al estrés oxidativo y a

Tabla 8.3. Factores que afectan a la disposición de los xenobióticos y que varían con la edad.

Proceso afectado	Factor	
	En el niño	En el adulto
Absorción	Gran absorción transcutánea	Aumento del pH Disminución de la superficie de absorción Disminución de la motilidad gástrica Disminución de la irrigación del bazo
Distribución	Gran volumen aparente de distribución para compuestos hidrosolubles. Escasas proteínas hemáticas	Disminución del agua total en el cuerpo Disminución de la masa proteica corporal Aumento de la proporción de grasa Disminución del flujo cardíaco Disminución de la albúmina sérica
Biotransformación	Inmadurez fases I y II, pero rápido incremento	Disminución en masa hepática Cambios en las actividades enzimáticas
Excreción	Baja filtración glomerular, secreción y reabsorción tubular, que mejoran progresivamente	Disminución de la irrigación renal Disminución de la filtración glomerular Disminución de la secreción tubular

los radicales libres, y está más expuesto a la carcinogénesis.

En las reacciones de fase 2, la glucuronación es baja al momento de nacer, después aumenta, pero posteriormente disminuye la formación de ácido UDP-glucurónico y la actividad de la glucuronil-transferasa; la acetilación y la sulfatación se realizan perfectamente en el feto.

El transporte hepatobiliar parece disminuir cuando aumenta la edad.

No es bien conocida la afectación de la capacidad metabolizadora del anciano sano, pero la disminución del flujo sanguíneo y de la masa hepática justifica los ejemplos conocidos. Aunque tampoco está demostrado el deterioro de la actividad enzimática, se ha visto que en ratas viejas está disminuido el citocromo P-450 y su inducción por el fenobarbital, así como la actividad de las MFO, cuyo máximo se corresponde con la madurez sexual; se dice que en el anciano hay una «feminización» enzimática. Está comprobado que en el anciano aumenta la vida media del salicílico, diazepam, fenilbutazonas, etc., igual que el niño, tiene disminuidos los procesos de glucuroconjugación.

En cuanto al efecto farmacodinámico, para algunos medicamentos (isoproterenol, propranolol) se acepta una disminución de la afinidad por

los receptores, pero para otros, como los barbitúricos y benzodiazepínicos, anticoagulantes orales, etc., se ha observado un mayor efecto, no relacionable con los valores plasmáticos, lo que parece suponer mayor sensibilidad del SNC, por lo menos.

En definitiva, el anciano alcanza más prontamente la saturación de los procesos toxicocinéticos que el adulto, y variable sensibilidad de los receptores.

Individuo

El comportamiento de cada individuo frente a los xenobióticos puede ser muy diferente por distintas causas (Tabla 8.4), que se agrupan como sigue.

Idiosincrasia

En general, este término alude a rasgos o características distintivas de un individuo o colectividad y, desde nuestro objetivo, se aplica a una mayor o distinta susceptibilidad individual frente a determinadas sustancias, que se manifiesta tanto de forma *cuantitativa* (el mismo tipo de reacción pero con

Tabla 8.4. Características que distinguen las respuestas tóxicas, idiosincrásicas y alérgicas.

Característica	Respuesta tóxica	R. Idiosincrásica	R. alérgica
Incidencia, según: Población afectada	Todos con suficiente dosis	Sólo a los genéticamente predispuestos	Variable, según sustancia
Sustancias	Todas	Algunas	Numerosas
Preexposición	Innecesaria	Innecesaria	Imprescindible
Relación dosis-respuesta	Si	Si	No
Mecanismo	Interacción con receptores	Interacción con receptores	Reacción antígeno-anticuerpo
Efecto	Según sustancia y receptores	Según sustancia y receptores	Independiente sustancia según mediadores liberados por complejo antígeno-anticuerpo
Antagonismo	Por antagonistas específicos	Por antagonistas específicos	Por antihistamínicos, epinefrina y esteroides antiinflamatorios

Tomado de Walsh y Schwartz-Bloom, 2005.

mayor intensidad, como correspondiente a una dosis más alta) como *cualitativa*, es decir, la respuesta corresponde bien a un efecto secundario, que se manifiesta magnificado (somnia con antihistamínicos) o bien a un efecto contrario o *paradójico* (insomnio con un benzodiazepínico, hiperactividad con anestésicos, etc.).

Estas manifestaciones se producen desde el *primer contacto* con el xenobiótico, y responden a causas genéticas, bien de carácter enzimático (generalmente, insuficiencia) o de sensibilidad de receptores o de determinadas moléculas proteicas.

Este es el caso de las hemoglobinas H, M o S, que, al ser mucho más sensibles a la oxidación que la hemoglobina normal, A, permiten fácilmente la transformación de Fe^{++} a Fe^{+++} , o sea, la formación de metahemoglobina, al contacto con xenobióticos como nitritos y sulfonamidas. La acumulación de la MeHb hace a los hematíes más susceptibles a la lisis, lo cual conduce a una anemia hemolítica.

Otra *anemia hemolítica* de carácter genético es el fabismo, que se presenta, tras la ingestión de habas, en personas con deficiencias de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) y de glutatión, enfermedad descrita en la antigüedad en los países mediterráneos y en China, que también se desarrolla tras la administración de diversos productos de carácter oxidante débil (véase Capítulo 7).

En individuos de países mediterráneos, de Irán, India y Filipinas, y especialmente en los de raza negra (en el 5 al 10 % de los varones afrocaribeños), totalmente sanos, se ha descrito la aparición de una hemólisis intravascular grave tras la absorción de muy distintos medicamentos, como el antimalárico primaquina y sus congéneres, algunas sulfamidas, fenacetina, nitrofurantoína, naftaleno, etc. Todas estas sustancias consumen el glutatión reducido (GSH), necesario para evitar la hemólisis, que es sufrida por los hematíes con déficit de G6PDH que impide la reducción del GS oxidado.

También son conocidas la fiebre (*hipertermia maligna*, véase en Capítulo 16) desencadenada por distintos medicamentos, como antipsicóticos, el relajante muscular suxametonio (succinilcolina), anestésicos generales por vía inhalatoria (halotano), etc., originada por un trastorno genético en el canal de salida de iones Ca^{++} del retículo

lo endoplásmico; así mismo se conocen la neuropatía periférica provocada por la isoniácida, la apnea y parálisis prolongada por succinilcolina (a causa de que su colinesterasa plasmática es, por causa genética, poco eficiente en la hidrólisis del relajante), etc. Otras respuestas extraordinarias son las *porfirias*, que aparecen como manchas en la piel, trastornos gastrointestinales, neurológicos y del comportamiento, incluso muerte, ocasionados por el aumento de porfirinas, intermediarias en la síntesis del hemo, bien por elevada inducción de las enzimas oxidasas que las sintetizan, tras absorción de barbitúricos, carbamacepina, sulfonamida, aminopirina, fenilbutazona, hexaclorofeno, dioxinas, griseofulvina, estrógenos, etc. o, por el contrario, por deficiencia genética o inhibición (por compuestos de plomo, etc.) de las enzimas que transforman las porfirinas en hemo.

Algunas reacciones de idiosincrasia están producidas por mecanismos inmunitarios.

Si se lleva a unos ejes coordinados el número de individuos (en ordenadas) que experimentan la misma intensidad de efecto (en abscisas) ante la misma dosis de un tóxico, se obtiene una curva gaussiana que evidencia que la mayoría de los individuos sufren un efecto medio, pero que pequeñas cifras de ejemplares presentan menor y mayor respuesta (Fig. 11.1).

Alergia

Es un estado de hipersensibilidad a los tóxicos consecuente a un proceso de sensibilización. El acuñador de este vocablo, Von Pirquet (1906), lo empleaba sólo para lo que hoy conocemos por inmunidad adquirida, pero en la actualidad su uso abarca también la hipersensibilidad adquirida.

La llegada al organismo de un producto químico, o una sustancia animal o vegetal, o sus correspondientes metabolitos, puede promover su conjugación con proteínas, formando lo que se denomina un antígeno. Éste es considerado por los sistemas orgánicos de defensa como una proteína extraña y estimula la producción de unos anticuerpos, que pueden ser celulares o humorales, según queden retenidos en determinadas células (tejido linfóide) o circulen en el plasma (véase Capítulo 6).

Ante la nueva presencia del antígeno, se produce la reacción antígeno-anticuerpo, con abundantes lesiones celulares y liberación de diversas aminas (histamina, calicreína, bradicinina, etc.), responsables de alteraciones en la permeabilidad vascular. Las manifestaciones clínicas de las reacciones alérgicas pueden ser de tipo dérmico (urticaria, dermatitis por contacto, exantema, eritema, erupciones bullosas, etc.) o de carácter sistémico (discrasias sanguíneas como granulocitopenia, trombocitopenia e incluso anemia aplásica, asma, enfermedad del suero, fiebre del heno, hepatitis, nefritis, choque anafiláctico, etc.).

En la actualidad la frecuencia de las reacciones alérgicas se incrementa de forma alarmante por la gran cantidad de agresivos químicos que nos rodean: contaminación ambiental, abuso de medicamentos, plaguicidas, perfumes, etc., y la producción de reacciones cruzadas entre las diferentes sustancias.

La respuesta alérgica posee varias características que la diferencian de los efectos tóxicos o por idiosincrasia (Walsh y Schwartz-Bloom, 2005), como son:

1. Exigencia de una exposición previa a la sustancia y un periodo de sensibilización.
2. Suponen el desarrollo de una reacción antígeno-anticuerpo.
3. Los efectos no están relacionados con los farmacológicos o tóxicos propios de la sustancia.
4. Los efectos son producidos por los mediadores liberados por células dañadas en la reacción antígeno-anticuerpo.
5. No existe correspondencia entre el tamaño de la dosis y la severidad de los síntomas.
6. Los efectos pueden ser antagonizados por antihistamínicos, adrenalina o corticoides, pero no por antagonistas específicos.
7. La alergia es una de las reacciones colaterales más frecuentes en la farmacoterapia, y no puede ser prevista.

Hiposensibilidad

La disminución de la respuesta a los xenobióticos de unos individuos frente a la generalidad tiene variantes, como son resistencia, tolerancia y taquifilaxia, que veremos a continuación:

Resistencia

Aparece tras *absorción continuada* al xenobiótico. La desarrollan individuos de toda la escala biológica, desde microorganismos (bacterias, hongos, virus), células (por ejemplo, las cancerosas), plantas, insectos y animales superiores, frente a medicamentos, insecticidas, contaminantes, etc. Los mecanismos de producción de estas resistencias son muy diversos, como: inducción de enzimas inactivantes o destoxicantes, inhibición de enzimas tóxicos, impermeabilización de membranas, que impide la biodisponibilidad intracelular (caso de las células cancerosas con 6-mercaptopurina, metotrexato, etc.), disminución de la afinidad de los receptores, caso de la warfarina, etc.

Hay individuos que requieren 20 veces la dosis promedio de cumarinas para prolongar su «tiempo de protrombina» o de coagulación; se sabe que la auténtica base molecular de esta resistencia reside en un fenómeno de carácter genético, transmisible a ambos sexos en sucesivas generaciones. Esta misma resistencia se ha encontrado en algunas ratas cuando la warfarina se utiliza como rodenticida.

Es el mismo fenómeno que se presenta en las cepas de microorganismos resistentes a los antibióticos.

Evans llegó a afirmar (1965) que el género humano se podría dividir en acetiladores rápidos y acetiladores lentos, según la actividad de su enzima acetiltransferasa. Esta enzima inactiva, por acetilación, las sustancias con grupos amina, por ejemplo, sulfonamidas, hidracinas, isoniazida, etc., cuyos derivados acetilados son más hidrosolubles y excretables por la orina; de esta manera, los individuos con niveles elevados de acetiltransferasa desactivarán rápidamente compuestos de este tipo, mientras los desactivadores lentos experimentarán durante más tiempo los efectos, tanto terapéuticos como tóxicos, de tales fármacos.

Numerosos autores tratan de establecer diferencias individuales según la capacidad para producir enzimas que faciliten la eliminación de los tóxicos, o que, por el contrario, aumenten la toxicidad de los xenobióticos (Capítulo 5), como las aril-hidrocarburo-hidroxilasas. También se sabe que hay diferencias debidas al genotipo que originan distintas variedades del citocromo P-450, y

como consecuencia individuos de la misma especie pueden presentar diferencias en los procesos oxidativos.

Esta variabilidad interindividual se ha demostrado no sólo en las acetiltransferasas y en las oxidasas, sino también en las actividades de otras enzimas, como la colinesterasa plasmática (pero no en la acetilcolinesterasa), alcoholdehidrogenasa, aldehídehidrogenasa, sulfotransferasa, tiometiltransferasa, glucuroniltransferasa, glutatióntransferasa, superóxido dismutasa, catalasa, paraoxonasa, etc., y se debe a los llamados *polimorfismos enzimáticos* (Sanz, 1995, 2007), derivados de variaciones en el genotipo. Como *polimorfismos genéticos* se conoce la coexistencia de individuos con características genéticas diferentes, dentro de una población normal; estas diferencias pueden consistir en que distintos individuos tengan isoenzimas de diferente actividad; así se conocen ya más de 20 subfamilias del citocromo P-450, en los humanos. También se pueden manifestar como mayor o menor resistencia de los órganos diana o receptores (normalmente proteínas y enzimas) a los xenobióticos.

Se admite que los factores genéticos son responsables de variaciones del 25 al 95 % en la cinética y en la dinámica de los xenobióticos, a causa de polimorfismos en los genes que expresan enzimas metabolizantes, proteínas transportadores, proteínas constituyentes de receptores, etc.

Todas estas cuestiones han sido objeto de la *toxicogenética*, definida, según ya hemos visto, como estudio de la variabilidad, en los distintos individuos, de la acción de los tóxicos, a causa de las bases hereditarias, concepto que ha evolucionado al de *toxicogenómica*, que junto con los de *proteómica* y de *metabolómica*, están experimentando actualmente un gran desarrollo.

De acuerdo con Rockett (2003), la *toxicogenómica* se define como el estudio de la participación del genoma completo en la respuesta biológica a los agentes tóxicos; por su parte, la *proteómica* estudia los cambios en la expresión de las proteínas (elementos básicos en los procesos moleculares biológicos), y la *metabolómica* las variaciones en los metabolitos de sustancias endógenas y exógenas.

La secuenciación del genoma humano ha permitido el análisis comparativo y simultáneo de miles de genes en una muestra, y el conjunto de proteínas procedentes de un genoma se ha denomi-

nado *proteoma* (proteínas de un genoma). Consecuentemente, el estudio cualitativo, cuantitativo y funcional de todas las proteínas presentes en una muestra (sea organismo, tejido o célula) se denomina *proteómica* (Wilkins, 1994), y es posible gracias al desarrollo de los llamados *microarray* o *biochips* de ADN, además de la aplicación de la electroforesis bidimensional y la espectrometría de masas.

Los estudios de toxicogenómica han demostrado su eficacia en toxicología predictiva en relación con procesos de inducción enzimática, génesis de tumores, apoptosis, necrosis, proliferación celular, inflamación, etc., y en el establecimiento de relaciones estructura-actividad y de marcadores predictivos de riesgo (Sanz, 2007).

En resumen, la resistencia a los tóxicos puede variar por varios mecanismos:

- Selección de mutantes resistentes.
- Mutación: modificación de los patrones enzimáticos. Polimorfismos.
- Modificaciones bioquímicas, como:
 - Inducción de sistemas enzimáticos metabolizantes.
 - Alteraciones de la permeabilidad celular, que reduzcan la entrada del tóxico en la célula.
 - Disminución de la afinidad de los receptores.

Tolerancia

Supone una disminución del efecto, por lo que se requiere un aumento de la dosis para experimentar el mismo efecto. Se desarrolla tras la exposición reiterada como en la medicación crónica y en la drogadicción. Sus mecanismos son muy parecidos a los de la resistencia, aunque no debe confundirse con ésta, es decir, de carácter bioquímico, enzimático, que disminuye la concentración en los lugares de acción, o por disminución de la sensibilidad del receptor; en relación con este último tipo de mecanismo, se sabe que puede deberse a la inducción de cambios en los canales iónicos o a los receptores asociados a la proteína G. La exposición continua al xenobiótico puede cambiar la composición del receptor a través de la síntesis de diferentes subunidades con menor afinidad por el ligando, o bien por modifi-

caciones bioquímicas del receptor, por ejemplo por fosforilación, con pérdida de capacidad para unirse al fármaco. Así, los opiáceos y los benzodiazepínicos provocan un cambio en la proteína G acoplada a los receptores y, consecuentemente, en la transducción de la señal; y el etanol disminuye la sensibilidad de los receptores GABA. La tolerancia no se desarrolla de forma uniforme para todos los efectos de un fármaco; así, en los usuarios de morfina se produce tolerancia ante los efectos depresores del sistema nervioso central, pero no para la constricción de la pupila ni para el estreñimiento.

La tolerancia desaparece con la interrupción del consumo, aunque a diferente velocidad según la sustancia, por ejemplo rápidamente a los nitratos pero de forma lenta para la morfina.

Existe la *tolerancia cruzada* entre sustancias que tienen el mismo mecanismo de acción; así, los usuarios de morfina la desarrollan también para heroína, metadona y otros opiáceos, pero no para el alcohol ni los barbitúricos; mientras que los bebedores establecen una forma de tolerancia con los barbitúricos al compartir similares receptores.

Taquifilaxia

Es una variante de la anterior, pero consiste en un *desarrollo agudo* de la tolerancia tras pocas y repetidas administraciones, al parecer, por depleción o agotamiento de las reservas de transmisores o agonistas de sus lugares de almacenamiento. Ocurre con la nitroglicerina, reserpina, etc.

Salud/Enfermedad

Hemos visto como circunstancias personales, como la edad, condicionan la capacidad del individuo para absorción de xenobióticos, en lo que también influyen factores como la integridad de la piel y las mucosas, la inflamación y la motilidad gástrica e intestinal, etc.

En cuanto a la distribución, las tres principales causas de variación de la respuesta a los fármacos son:

a) diferencias en las proporciones de agua o de grasa frente a la masa corporal; se estima que en el adulto sano varón el agua oscila entre 53-70 % de

la masa corporal (48-63 % en los de 57-86 años), mientras que la mujer es de 46-60 % (42-53 % en las de 60-82 años), proporciones que son menores en las personas obesas y en las deshidratadas, en las que la biodisponibilidad de los xenobióticos hidrosolubles se hacen mayores. Al contrario ocurre en los individuos con edemas, con retención de líquido, o para los compuestos liposolubles.

b) capacidad de unión al fármaco de las proteínas transportadoras y de las no-receptoras, que puede disminuir grandemente en los desnutridos, en los que aumenta la biodisponibilidad y el efecto.

c) permeabilidad de las barreras o membranas biológicas, que puede aumentar en los procesos inflamatorios, infecciosos o alérgicos y cancerosos.

En cuanto a la eliminación de los tóxicos, se sabe que la hipotermia, frecuente en ancianos, la reduce notablemente.

La existencia de lesiones o deficiencias orgánicas incrementa considerablemente el riesgo tóxico. Insuficiencias hepáticas causan reducción de la capacidad general metabolizante y, junto con las deficiencias renales, prolongan el tiempo de permanencia del tóxico en el cuerpo (aumentan la vida media). También influye el estado de nutrición.

Por esta misma razón, en estado de fatiga, el organismo, bajo de defensas y dedicado a excretar los residuos metabólicos, experimenta en mayor grado la toxicidad. Aunque el *embarazo* no sea una enfermedad, conlleva multitud de cambios fisiológicos que incrementan el riesgo tóxico; así, la concentración de albúmina en el plasma materno es baja, por lo que hay más tóxico libre y dispuesto a unirse a receptores, pero el flujo sanguíneo general, y el renal particularmente, es grande, con mayor eliminación por el riñón.

Situación psicosocial

El individuo, según se encuentre aislado o en comunidad, puede reaccionar de forma diferente ante un mismo tóxico, con o sin participación de su predisposición psíquica. Esta variable es muy evidente en las intoxicaciones voluntarias (suicidio, drogadicción, etc.).

La predisposición psicológica con que un individuo reciba un xenobiótico introduce importantes

variantes en el efecto, como se comprueba claramente con el llamado *efecto placebo* de sustancias activas o inactivas que se administran como medicamentos; consiste en una respuesta psicológica al supuesto fármaco inducida por circunstancias de la administración y el deseo de curación por parte del paciente, y es totalmente impredecible. De forma similar se admite una *alergia psicógena* en que el individuo experimenta trastornos cutáneos, respiratorios (disnea), mucosos, etc., similares a una reacción alérgica, que se desencadenan por un olor o un sabor rechazados por el sujeto.

FACTORES DERIVADOS DE LAS CONDICIONES DE ABSORCIÓN

1. En primer lugar influye la clase de *vía de absorción*. Por orden de mayor a menor velocidad de absorción, se pueden relacionar las vías: hemática, inhalatoria, rectal, digestiva y cutánea. Por ello, siempre que se habla de dosis hay que citar la vía correspondiente.

A mayor velocidad de absorción se conseguirá mayor concentración en sangre, y, por tanto, más fuerte será la incidencia sobre los receptores.

En el caso de la vía oral, la velocidad de absorción dependerá considerablemente del estado de repleción o vacío en que se halle el estómago cuando llegue el tóxico; si el estómago está vacío podrá ocurrir el fenómeno de «sorpresa pilórica» y pasar el tóxico directamente al duodeno y allí ser absorbido. Cuando el estómago está lleno tendrá que esperar que transcurra la digestión y posterior vaciamiento. Sin embargo, cuando se ingiere un tóxico junto con gran cantidad de líquido, de alimentos o de bebidas gaseosas que produzcan elevada presión sobre las paredes gástricas (sobre el fundus) puede abrirse el píloro para permitir el vaciamiento del estómago, lo cual favorece la absorción duodenal.

El contenido gástrico puede influir mucho en la acción del tóxico. La presencia de alimentos grasos favorecerá la absorción de numerosos tóxicos liposolubles (fósforo, compuestos organoclorados y organofosforados, etc.); las albúminas y otras proteínas reaccionarán con sales metálicas formando complejos que reducirán notablemente la absorción.

Algunas sustancias orgánicas (morfina, curare) son destruidas por los jugos gástricos.

2. *Concentración del tóxico y tamaño de la dosis*. Cuanto más concentrado se halle en el medio de absorción (aire, disolución, alimento, etc.), mayor será la toxicidad, ya que con menor volumen de medio será más rápidamente absorbido y se producirá más alto nivel hemático y saturación de los receptores. En el caso de sustancias cáusticas, el efecto es obvio.

En las intoxicaciones agudas, por dosis altas, se puede sobrepasar la capacidad de algunos mecanismos cinéticos primarios o normales, dándose lugar a la participación de otros mecanismos secundarios. Así, no sólo se saturan procesos de excreción, sino que se modifican mecanismos de biotransformación, en lo que ha sido llamado «conmutación metabólica» que lleva a metabolitos menos frecuentes y de diferente toxicidad, como ocurre con el p-acetamol o con los alilbencenos; a bajas dosis estos últimos experimentan una O-desmetilación, pero esta vía metabólica se satura a altas dosis y se incrementa la formación de 1'-hidroxialilbenceno, carcinógeno.

3. *Velocidad de administración*. Por las mismas razones anteriores, lógicamente, también influye el medio o vehículo en que el tóxico va disuelto, según que su naturaleza química y estado físico favorezcan o dificulten la velocidad de absorción.

Ésta depende, en definitiva, de la velocidad con que se administra, factor que se comprueba frecuentemente en la aplicación intravenosa de un fármaco, por la distinta reacción del sujeto a la rapidez de la inyección; también es evidente en todas las formas de administración parenteral, y hasta es de conocimiento vulgar que sucesivas ingestiones de bebida alcohólica con escasos intervalos, embriagan más que las libaciones espaciadas. En la absorción por vía pulmonar, la velocidad de inhalación está condicionada por el estado de reposo o de ejercicio del sujeto, ya que esto repercute en su ritmo y volumen respiratorios.

4. *Coincidencia con otros fármacos*. La absorción casi simultánea (concomitante) de diferentes sustancias de actividad farmacológica puede conducir a modificaciones toxicocinéticas o a fenómenos de multiplicación de sus mutuas actividades

(potenciación), o a la disminución o anulación de las mismas (antagonismo), fenómenos que serán estudiados más adelante (Capítulos 9 y 10).

Esta concomitancia puede manifestarse a través de los fenómenos de inhibición o de inducción enzimática (Capítulo 5).

CRONOTOXICOLOGÍA Y COSMOTOXICOLOGÍA

A muchos de los factores que modifican la toxicidad podemos encontrar una relación con el tiempo, porque experimentan oscilaciones periódicas que se reflejan en la toxicidad. Por ello podemos hablar de una *cronotoxicología*, al abrigo del actual desarrollo de la cronobiología.

Esta disciplina comenzó a desarrollarse sobre observaciones realizadas en vegetales, en relación con su comportamiento rítmico. Pero los ritmos circadianos están presentes en todos los organismos, tanto uni como multicelulares.

Aunque se habla mucho de ellos en los últimos 30 años, ya fueron vislumbrados desde antiguo; el padre de la medicina griega Hipócrates (460-370 a. C.) señaló cambios en la salud a lo largo del año. El astrónomo francés Jean-Jacques d'Ortous de Mairan (1729), estudiando las fases de la Luna describió el ritmo circadiano o diario al registrar la apertura y el cierre de las flores de los heliotropos de su jardín, al hacerse de día o de noche, y al comprobar experimentalmente que la *Mimosa pudica* mueve sus hojas siguiendo al sol, y que al ponerlas al abrigo de éste continúan el movimiento; el botánico sueco Linneo (1707-1778) construyó relojes florales en el campo con plantas que abrían sus flores según la hora, etc. Por su parte, el psicólogo vienés Swodoba describió, entre 1897 y 1902, la periodicidad de fiebres, ataques cardíacos, rendimiento de los estudiantes, etc., al igual que Kalmus en 1935 (citado por Aschoff (1981), etc.

Sin embargo, a pesar de las numerosas publicaciones y partidarios actuales, los llamados *biorritmos* no deben confundirse con los ritmos biológicos; los biorritmos fueron propuestos por el médico alemán Wilhelm Fliess (1887-1904), contemporáneo y amigo de Sigmund Freud, con el que compartió sus observaciones de la evolución

temporal de las características fisiológicas y los cuadros patológicos en sus pacientes; diferenció un *ritmo físico* de 23 días y un *ritmo emocional* de 28; esta propuesta es rechazada por los estudiosos de los ritmos biológicos al considerarla falta de demostración científica, aunque abunde en datos.

Muchos ritmos responden a frecuencias físicas del ambiente, especialmente al ciclo luz-oscuridad, derivado de la rotación terrestre, o a la temperatura, pero parece existir un tipo de mecanismo de control multioscilante.

Se acepta que muchos ritmos son acomodables y sirven para adaptar el organismo a cambios periódicos de su entorno. Si se invierte artificialmente el sentido del ritmo luz-oscuridad, los animales del laboratorio alteran también algunos parámetros con mucha más facilidad que el hombre, evidenciando que éste depende menos del ciclo luz-oscuridad.

Ciclos o ritmos del Universo

Nuestro sistema solar vuelve cada 200 millones de años a una situación similar a la partida, en sus giros de rotación alrededor del centro galáctico.

La actividad de nuestro sol nos presenta periódicamente, aproximadamente cada once años, las llamadas manchas solares que corresponden a zonas frías con campos magnéticos de gran intensidad y que actúan como tubos de flujo magnético capaces de ionizar la atmósfera terrestre, provocar tormentas magnéticas y numerosas variaciones en las condiciones de la vida terrena; al cabo de esos once años se invierte la polaridad magnética solar, que vuelve a reinvertirse a los siguientes once años; es decir, que la influencia magnética del sol oscila, alcanzando máximos cada once años, en que cambia de signo, en un ciclo de veintidós; el último máximo fue entre los años 2003 y 2004.

La Tierra hace una traslación alrededor del sol en 365 días, en cuyo tiempo se suceden las cuatro estaciones.

A su vez, la Luna cumple 1 mes sinódico o lunar, en 29,5 días, alrededor de la tierra.

La Tierra rota sobre su eje una vez cada 24 horas (día solar), tomando como referencia al sol;

si la referencia es una estrella, se tiene el día sideral de 23 horas, 56 minutos; en tanto que el día lunar (tiempo que tarda la luna en su rotación alrededor de la Tierra) es de 24 horas, 50 minutos.

De aquí salen numerosos ritmos que han sido denominados con el prefijo circa (alrededor): diario (circadiano), diurno, nocturno, nictameral, crepuscular, lunar (mensual) (circamensual) y anual (circanual).

En la vida de un individuo animal o vegetal puede descubrirse una serie de ritmos o ciclos de muy variada frecuencia, desde un ciclo/segundo, a un ciclo/vida, aunque los ritmos que más se evidencian son el diario, el mensual y el anual.

Ejemplos de ciclos

En mecánica ondulatoria, el periodo τ es el tiempo que tarda en desarrollarse un ciclo completo y $1/\tau$ es la frecuencia o número de veces que ocurre un ciclo (Tabla 8.5).

Características de los relojes biológicos

Se admiten las siguientes:

- Pueden medir el tiempo (*cronometría*).
- Lo realizan sincronizándose con claves ambientales, pues reconocen la «hora local».
- Con la información temporal controlan mecanismos bioquímicos, fisiológicos y de conducta.
- La transmisión de la ritmicidad se realiza por mecanismos humorales (hormonales) y neurales (vías nerviosas).

Se considera que son relojes internos, que funcionan como marcapasos, y que integran procesos fisiológicos diversos, que persisten incluso en condiciones de laboratorio, hasta en cultivos celulares, sin influencias externas.

Ritmos fisiológicos

Normalmente, los ritmos fisiológicos están sincronizados a los ciclos día-noche, pero, si se mantie-

Tabla 8.5. Clasificación de los ritmos biológicos.

Clase	Período (τ)	Frecuencia ($1/\tau$)	Ejemplos
Infradiario	0,1 segundo	Muy alta	Electroencefalograma
	1 segundo	Alta	Ritmo cardíaco
	6 segundos		Ritmo respiratorio
	60 minutos	Media	Secreciones hormonales Parámetros sanguíneos Efecto de los xenobióticos
	90 minutos Horas		Fases del sueño Alimentación Digestión Procesos metabólicos Temperatura Presión arterial Excreción urinaria
Circadiano	Día	Baja	Actividad-reposo Excreción intestinal
Ultradiario	Mes		Ciclo estral femenino
	Meses	Estacional	Ciclos vegetativos Ritmos reproductores de animales y vegetales Sensibilidad a xenobióticos
	Año	Muy baja	Otros ciclos reproductores Hibernación animal

ne a un individuo en un *bunker* con luz, temperatura y humedad constantes, los ritmos se desincronizan y «corren libres». Similares efectos pueden producirse en largos desplazamientos en avión.

Es decir, los seres vivos se mantienen adaptados a este ciclo cuando reciben las influencias ambientales, especialmente del sol, pero no cuando están aislados de la luz. Sin embargo, hay especies, y ciertos individuos entre los humanos («alondras») que trabajan mejor por las mañanas pero se cansan y acuestan temprano, mientras que otros («búhos») son preferentemente noctámbulos; por tanto los ciclos no coinciden exactamente en todos los individuos, ni en las distintas especies. La citada clasificación de los individuos en *alondras* y *búhos* no es definitiva, ya que cambia con la edad, pues los adolescentes y adultos jóvenes suelen ser más búhos y se hacen alondras al envejecer.

Como el individuo es un sistema único, sus distintos ritmos se solapan e integran. La síntesis de hormonas alcanza máximos a determinadas horas, igual que la sangre y la orina presentan, a lo largo del día, máximos y mínimos en sus volúmenes, pH, electrolitos, gases y células.

La temperatura del hombre medio sano es mínima entre las 4 y las 6 de la mañana, sube a 37 °C a las 7 horas, y alcanza el máximo a medio día, igual que la actividad energética. Sin embargo, en los individuos «alondras» la temperatura se eleva a mitad de la noche, y su energía sube y desciende antes que en las demás personas. En los «búhos», la temperatura corporal sube hacia las 9 horas y su mejor estado energético es al empezar la tarde.

En un periodo de 24 horas pueden observarse oscilaciones fisiológicas muy diversas: la temperatura oral y rectal cambia alrededor de dos grados, la presión arterial y el volumen minuto de ventilación pulmonar tienen sus máximos alrededor de las 7 y 19 horas y sus mínimos hacia las 0 horas del día, casi igual que la adrenalina.

El parámetro rítmico más investigado en el hombre y animales es la concentración de esteroides en suero, y actualmente la deshidroepiandrosterona (DHEA).

Congruentemente con la actividad diurna del hombre, las cápsulas suprarrenales comienzan su secreción por la mañana, y los corticoides alcanzan su máximo en suero hacia las 6 horas. Por el contrario, en la rata, animal nocturno, el máximo se encuentra hacia las 18 horas (Fig. 8.2).

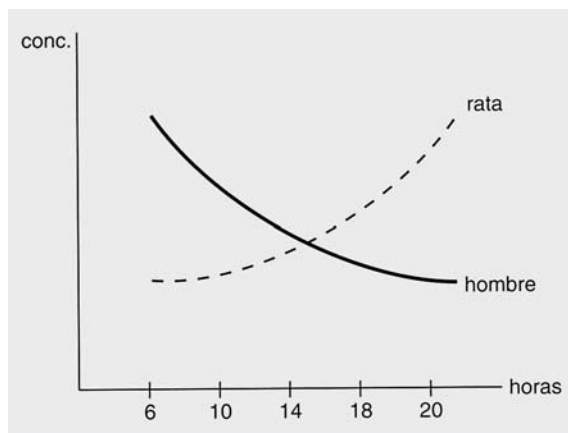


Figura 8.2. Concentraciones plasmáticas de cortisol.

Este ritmo regula a su vez el de los niveles hemáticos de glucosa, lípidos, aminoácidos y sales minerales, y a su vez es precedido por el ciclo de ACTH, que lo desencadena.

La liberación de ACTH y catecolaminas al amanecer, da origen a incremento del ritmo cardíaco y a hipertensión arterial, lo que unido al aumento cíclico de la agregación plaquetaria y a factores externos como el inicio de la actividad física, el estrés mental y la ansiedad, son causa de la gran frecuencia de trastornos cardiovasculares que se manifiestan en las personas entre las 6 y las 12 horas del día.

La secreción del factor liberador de gonadotropinas (GnRF) y de prolactina sigue un ritmo relacionado con el del sueño nocturno.

El contenido intracelular de glutatión reducido, la actividad del citocromo P-450, la síntesis de ADN, etc., pueden variar hasta el 200 por 100 a lo largo del periodo circadiano.

Se ha comprobado que la membrana plasmática experimenta una serie de modificaciones de carácter temporal en sus distintas actividades o funciones, siguiendo una frecuencia circadiana (Vanden Driesche *et al.*, 1995), que abarca a la actividad o eficacia de los canales y bombas de membrana, los receptores hormonales, la transducción de señales, la sensibilidad hacia los influjos externos, incluidos la luz y los xenobióticos, etc.

Esta actividad cíclica se mantiene en cultivos *in vitro* de glándula adrenal.

Ya sabemos que las concentraciones de corticoides en el plasma de ratas pueden oscilar en más del

25 por 100, y la 5-hidroxitriptamina, que varía en todo el cerebro en el 18 por 100, alcanza en la glándula pineal cambios del 900 por 100.

Pero, también oscilan los niveles en sangre e hígado de enzimas como las transaminasas, esterasas, descarboxilasas, etc., lo que puede demostrarse tanto *in vivo* como *in vitro*.

Ritmos psicológicos

Ya hemos referido que hay personas que se encuentran en mejores condiciones físicas, psicológicas e intelectuales por la mañana (8-12 h), mientras otras lo están al anochecer (20-24 h). También aparecen variables la ansiedad y la amabilidad.

Una firma especializada en la selección de profesionales ha realizado recientemente un estudio entre altos cargos de 13 países para evaluar a qué horas son más productivos. El 71 por ciento afirma serlo entre las 9 y las 12 de la mañana; un 20 por ciento es más madrugador, pues trabaja mejor antes de las 9, mientras que un 1 por ciento cree trabajar más eficazmente a partir de las 15 horas.

Se afirma que en el hombre el dispositivo medidor del tiempo está en el hipotálamo; sería termosensible y sincronizado con los ciclos metabólicos.

El químico y físico sueco Svant Arrhenius (1858-1927), Premio Nobel de Química e investigador y

divulgador también de temas biológicos, ideó que hay un tiempo psíquico (medido subjetivamente), relacionado con la temperatura. Cuando se tiene fiebre el tiempo psíquico está «contraído» (pasa rápido), por lo que, al calcular el tiempo físico, se comete error por exceso (se cree que éste ha corrido más). (Por ejemplo, uno piensa que pasó 1 hora y sólo fueron 10 minutos en el reloj.) (Fig. 8.3).

Esto ocurre cuando se administran excitantes (mezcalina, amfetamina, LSD), hormonas tiroideas y cualquier fármaco que acelere el metabolismo y la temperatura corporal (cociente respiratorio y ritmo de la cadena respiratoria).

Por el contrario, los tranquilizantes y antitiroideos descenden la temperatura corporal y «retrasan el tiempo endógeno».

Se piensa que una prostaglandina puede ser la mediadora en el termostato hipotalámico.

También se han descrito modificaciones rítmicas del comportamiento, por ejemplo de la agresividad y la violencia, que presentan picos en primavera y verano (Shah, 1993), y se ha relacionado con los ciclos lunares, aunque influibles por variaciones meteorológicas (frentes de iones, viento seco, etc.).

Bases biológicas y bioquímicas

Se han propuesto numerosos modelos para explicar el mecanismo de los ciclos biológicos y encontrar su regulador, pero aún se discute si en cada individuo depende de un oscilador central, de un conjunto de osciladores circadianos (por influencia externa) o de osciladores bioquímicos internos. La mayoría de los autores se inclinan por esta última hipótesis, pero otros estiman más aceptable una influencia doble, interna y externa.

Por su parte, los neurólogos actuales admiten que las neuronas cerebrales están integradas en un mecanismo oscilatorio, de forma que el cerebro en conjunto funciona como un oscilador.

La luz condiciona ciclos, llamados fotoperiódicos, que dependen de las proporciones de luz y oscuridad; así puede haber desde tiempos de luz constantes (LL), a oscuridad total (OO), pasando por diferentes proporciones: 12L: 12O, 18L:6O, 3L:2 O, etc.

Debemos señalar que en el ritmo circadiano no sólo influye la luz, ya que ésta es sólo una parte de las radiaciones (magnéticas, etc.) que recibimos

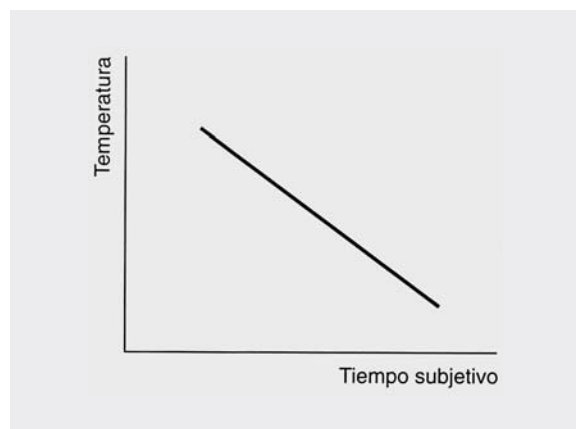


Figura 8.3. Gráfica de Hoagland y Arrhenius, sobre la percepción del tiempo en relación con la temperatura.

del exterior, y la totalidad de ellas interviene en la fisiología de los seres terrestres. Por esta razón, la experimentación con animales en locales oscuros, con iluminación controlada de 8 horas, no es más que un intento de aproximación a la realidad.

Se está experimentando mucho para tratar de localizar el regulador de los ciclos; se ha sometido a aves y mamíferos a extirpaciones quirúrgicas de diferentes glándulas (suprarrenales, hipófisis, pineal, lóbulos cerebrales, etc.), pero no se han logrado explicaciones definitivas.

Hace casi un siglo se señalaron estructuras de carácter fotorreceptor en la glándula pineal de algunos animales. Por ello se ha insistido en buscar una conexión entre la luz y la función pineal. Esta glándula fue así denominada en la antigüedad por Herófilo de Alejandría aludiendo a su forma de pequeña piña, y es también conocida como epífisis; está situada en el techo del tercer ventrículo cerebral. Su actividad principal es la síntesis de melatonina, que se realiza en la oscuridad y se reduce con la luz; aunque algunas culturas la consideraban sede del «tercer ojo», recibe estímulos luminosos a través del nervio óptico y la vía neural denominada *eje retinohipotalámico* que termina en dos pequeños aglomerados de células o núcleos en la base del cerebro, que se conocen como núcleos supraquiasmáticos (NSQ), en el hipotálamo, sede de la glándula (Fig. 8.4).

Dichos núcleos SQ, como comprobó Ritcher en 1967 en animales, tras producirles lesión, está compuesto por miles de neuronas que actúan sincronizadamente con un ciclo de 24 horas, aunque según se piensa ahora, las neuronas se dividen en dos grupos por su patrón genético: un grupo actúa entre las horas 0 y 12, y el otro entre las 12 y las 24, funcionando como dos relojes desacoplados, por lo que se habla de la intervención de dos grupos de genes integrados en una doble red de retroalimentación negativa.

La producción de melatonina es también mayor en invierno que en verano, y desciende con la edad, ya que la glándula se calcifica paulatinamente a partir de la pubertad.

Se ha visto que la glándula pineal de ratas mantenidas bajo iluminación constante pesa la cuarta parte de la glándula de congéneres tenidas en la oscuridad.

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una amina biógena de carácter hormonal derivada del indol, que se forma de la serotonina, a partir de la descarboxilación de 5-hidroxitriptófano; además de en la glándula pineal, también se produce en el cuerpo carotídeo, ovarios, placenta, etc.; en el hígado se transforma en una quinonimina. Tiene un poder antioxidante superior al del glutatión, vitaminas E y C, manitol, etc., es un excelente cap-

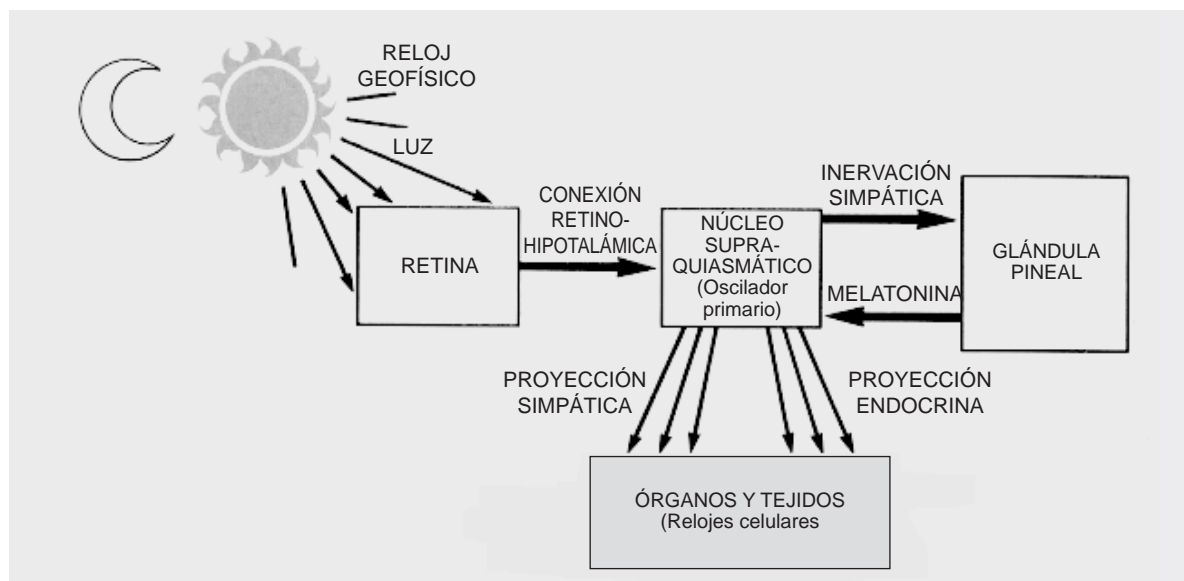


Figura 8.4. Esquema general de la fisiología de los ciclos. Tomado de Golombek, 1992.

tador de radicales libres hidroxilo (OH^-) y peroxi (ROO^-). Gracias a esa capacidad antioxidante previene el envejecimiento celular, y es regulador de algunas afecciones psiquiátricas; es relajante y favorece el sueño; por liberarse en los adolescentes en horas más tardías y en mayor cantidad que en los adultos, se explica que los jóvenes tengan más sueño por las mañanas, menos por las noches, y con frecuencia estén desmotivados. Actúa sobre receptores localizados en zonas cerebrales implicadas en la memoria y el aprendizaje.

La melatonina ejerce un efecto estimulador de los procesos inmunitarios, a través de los linfocitos T, producción de interleukina-2, interferón gamma y las células «natural killer» y la citotoxicidad celular. Se sabe que los ritmos de la respuesta inmunitaria dependen de la concentración de melatonina (MT) circulante, y se propone la existencia de dos receptores de melatonina, MT_1 y MT_2 , que están asociados a la proteína G.

El contenido en serotonina de esta glándula es cíclico con la iluminación, alto en periodo de luz y bajo en oscuridad. Pero la serotonina es transformada en N-acetilserotonina por la N-acetiltransferasa y posteriormente en melatonina por la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT), y tras ciclos alternos de luz-oscuridad se ve que la N-acetiltransferasa presenta mayor actividad en periodos de oscuridad, agotando las reservas de serotonina por su transformación en melatonina.

Curiosamente, la actividad enzimática de un cultivo de glándula pineal depende de la hora en que se sacrifique el animal, ya que si esto se realiza después de la iluminación, continúa el ritmo sin interrupción, como midiendo el tiempo; sin embargo, si el sacrificio ocurre antes de iluminar, no se activa la enzima. Por ello Binkley (1979) estima que la pineal posee un mecanismo de puesta en hora con percepción de la luz y memoria posterior.

Actualmente se sabe (Hernández *et al.*, 2001) que la melatonina regula la actividad del sistema endocrino y es la responsable de las adaptaciones de dicho sistema a las variaciones circadianas y estacionales de la luz; a su vez, las hormonas circulantes influyen en la síntesis de la melatonina. Los receptores de melatonina están distribuidos difusamente por el encéfalo y la periferia; algunos de ellos están acoplados a la proteína G, y

otros son de los llamados receptores huérfanos, dentro de la familia de receptores intracelulares del ácido retinoico que regulan la transcripción génica.

Por tanto, se estima que la glándula pineal tiene una doble función, al actuar como:

a. *Transductor neuroendocrino*, pues fabrica melatonina a partir de serotonina, al recibir señales de noradrenalina consecuentes a la transformación del estímulo luminoso en nervioso.

b. *Transductor endocrino-endocrino*, capaz de:

b.1. Influir, a través de la melatonina, sobre el eje hipotalámico-hipofisario-gonadal (véase Capítulo 7), normalmente disminuyendo la producción de las hormonas esteroideas gonadales; esto explica el retraso de la pubertad en los habitantes de las zonas geográficas con escasa iluminación solar.

b.2. Regular la síntesis de melatonina según los niveles circulantes de las hormonas sexuales; se ha identificado en la glándula pineal la presencia de receptores de esteroides.

Todos estos cambios hormonales dan lugar a cadenas de modificaciones nerviosas, bioquímicas y metabólicas que repercuten en la cinética y el efecto de medicamentos y tóxicos.

Una acción de la melatonina es opuesta a la de la melanotropina (hormona de la hipófisis que provoca la expansión de los melanóforos en los anfibios y oscurecimiento de la piel de éstos). En los mamíferos, la melatonina inhibe la secreción de gonadotropinas y de ACTH y parece que frena el desarrollo sexual, lo que puede explicar la mayor precocidad en las áreas tropicales al haber en ellas más luz y, por tanto, menos melatonina. La secreción cíclica de la melatonina acopla a numerosas funciones metabólicas y endocrinas de carácter circadiano y cicloperiódico (primaveral, etc.), por lo que se dice que la melatonina, llamada también hormona de la oscuridad, es una *señal fotoperiódica*, que activa el reloj circadiano, y es el prototipo de los productos «cronobióticos». Estas funciones se desacoplan cuando se alteran los periodos noche-día, por ejemplo, por confinamiento o aislamiento del medio ambiente, por actividades o trabajos nocturnos, o por largos viajes (transoceánicos y transcontinentales) en avión, que alargan o acortan el día según que el desplazamiento sea en sentido contrario o a favor del

movimiento de rotación de la Tierra; en general se experimentan más trastornos cuando se vuela hacia el este (de América a Europa, pues se alarga el día) que hacia el oeste (de Europa a América).

También se ha encontrado en la pineal importante proporción de material ferromagnético, que se relaciona con la capacidad de orientación de los animales migratorios, y con el gran desacople funcional que se produce en los viajes de un hemisferio al otro, con cruces del Ecuador e inversión de los campos magnéticos.

Las alteraciones que en inglés se conocen como *jet lag* incluyen un conjunto de perturbaciones biológicas, clínicas y sociales relacionadas con el paso rápido a través de varios husos horarios o meridianos terrestres, o de un hemisferio a otro, en viajes aéreos intercontinentales, en que el tiempo queda anclado en el lugar de la salida del vuelo. Dichos trastornos, que aparecen también en otras variaciones del ritmo biológico (incluidos los cambios estacionales), se manifiestan como astenia, dolores difusos, especialmente musculoesqueléticos (fibromialgias), sueño no reparador, fatiga, depresión, etc. (Moldofsky, 1993). Los expertos consideran que para restaurar la normalidad fisiológica se requieren tantos días como husos horarios se hayan sobrevolado, además de la reposición del agua y electrolitos perdidos en el viaje.

Actualmente hay un preparado comercial de melatonina, autorizado no como medicamento sino como producto dietético en EE UU pero prohibido en otros países, dirigido a la recuperación del *jet lag* o cansancio por viajes aéreos; tras el viaje se recomienda evitar, la exposición a la luz, para favorecer la síntesis de melatonina propia, y lo contrario, es decir tomar el sol y café antes de iniciar el viaje trasatlántico. En la terapia de la fatiga con melatonina aumenta el apetito por los hidratos de carbono y se aumenta el peso corporal.

Sin embargo, como hay especies que no poseen glándula pineal, pero presentan ritmos circadianos, hay que admitir que el de esta glándula no es más que uno de los posibles relojes biológicos.

En resumen, en los organismos vivos se manifiestan variaciones periódicas de ritmo, de origen endógeno, porque:

- No corresponden exactamente, aunque se aproximen bastante, a los periodos de día solar, año solar y mes lunar.

— No se alteran al modificar factores ambientales, como luz, temperatura, humedad, etc.
En el hombre hay ritmos en (Tabla 8.6):

- Actividad cardíaca y respiratoria. Sueño.
- Temperatura corporal.
- Eliminación de 17-cetosteroides.
- Concentración de enzimas en sangre y LCR.
- Concentración de K^+ – Mg^{++} en LCR.

Estos relojes parece que poseen naturaleza química, pues son químicamente modificables. Más

Tabla 8.6. Horario de incidencias fisiológicas y patológicas en humanos.

Horas	Incidencias
0-06	Ataques de asma Iniciación partos
02	Sueño profundo
04	Partos
05	Mínima temperatura corporal
06	Sueños intensos. Secreción de cortisol
06-12	Comienzo de menstruación Anginas de pecho Jaquecas Artritis Alergias nasales
07	Pico secreción de testosterona
07-12	Ataques cardíacos
08	Mayor peristaltismo intestinal
10-11	Máxima alerta Óptima para relación sexual
12-18	Pico presión arterial
14	Mayor coordinación manual
15	Óptima para minisiesta
17	Eficiencia cardiorrespiratoria Máxima fuerza muscular Óptima para entrenamiento deportivo
19	Temperatura corporal alta
20	Óptima para carreras y natación Mejor tolerancia al etanol
21	Disminución de temperatura corporal Aumenta la secreción de melatonina
23	Mayor frecuencia de relaciones sexuales

Modificado de Golombek, 1996.

que «reloj» parecen ser «osciladores armónicos», tipo péndulo, porque sus oscilaciones pueden desfasearse, o pararse, si se aplican estímulos débiles en un momento determinado del ciclo. Recordemos que, para que se pare un péndulo físico, hay que aplicar un golpe de magnitud igual al impulso que trae el péndulo, pero con signo contrario, y en el momento de paso por el punto cero.

Tratando de encontrar una explicación molecular al fenómeno, aún muy lejos de conseguir, se insinúa la hipótesis de la presencia de unas moléculas de función alostérica, que a lo largo del tiempo pueden cambiar de una conformación a otra, como consecuencia de acoplamientos de diferentes oscilaciones que se producen sucesivamente.

Se supone que el reloj está vinculado con asas de retroalimentación molecular de genes no esenciales, con la función de «guardar el tiempo», merced a la siguiente secuencia a lo largo del día: bajo la influencia de la luz solar, se fosforila una proteína PER que, en forma de un complejo estable, se acumula en el citoplasma hasta que alcanza una concentración crítica; hacia la media noche se trasloca al núcleo, y disminuye la transcripción de la proteína; posteriormente se suprime la autorrepresión de PER, y a la mañana siguiente vuelve a aparecer PER en el citoplasma. Actualmente se investiga en la identificación de estos genes que, indudablemente introducen en el reloj biológico un carácter hereditario, genéticamente determinado, aunque sincronizado por factores del entorno, por ejemplo, el ciclo luz-oscuridad (véase www.uuip.facmed.unam.mx/deptos/fisiologia).

Dos investigadores de Toronto (Canadá), Ralph y Manaker, identificaron en 1988 en el hamster el gen τ (*tau*) que expresa la enzima caseína-quinasa I ϵ (*épsilon*) (CKI ϵ) y el gen *clock* en ratón; también se ha localizado en plantas el gen ELF4 (Doyle *et al.*, 2002), observando la interrupción de los ciclos tras la inactivación de genes. Actualmente se estima que hay una docena de genes implicados en estos procesos.

En conclusión, la posible explicación de estos fenómenos de cronobiología puede estar en la influencia ambiental sobre el sistema límbico, que se traduce en la modificación cíclica de al menos tres mecanismos:

a) Actividad de las enzimas metabolizantes, ampliamente demostrada su dependencia del tiem-

po, no sólo *in vivo*, sino también *in vitro*, lo que cuestiona la participación límbica.

b) Oscilación en la sensibilidad o susceptibilidad de los receptores, ya que las mismas concentraciones del tóxico producen distinto efecto, según la hora.

c) Mecanismos moleculares de retroalimentación con participación de enzimas alostéricas, que puedan influir sobre los dos anteriores.

Frente a los elementos de sincronización, frecuentemente denominados con el término alemán *zeitgeber* (literalmente dador de tiempo o temporizador) existen *desincronizadores*, que pueden ser:

1. *externos*, como los inductores de estrés (o la interrupción de los mismos, como ocurre en la jubilación laboral), los turnos de trabajo de 24 horas, los vuelos transmeridianos (transcontinentales) de más de tres horas, inductores del *jet lag*, cambios de estación, que produce la *depresión estacional*, generalmente con depresión emocional en otoño y normalización o hipomanía en primavera y verano. Se afirma que la vuelta a la normalidad fisiológica después del *jet lag* requiere un día por cada hora de vuelo hacia el este (de América a Europa), o por cada hora y media de vuelo hacia el oeste (de Europa a América), aunque esta capacidad de recuperación disminuye a partir de los 35 años de edad. Como ya vimos, en el aislamiento de voluntarios de todo estímulo externo, principalmente de luz y del sonido, se produce una desincronización interna de tan solo el 10 % de los individuos, lo que hace suponer que existen dos tipos de relojes u osciladores:

2. *internos*, como el ayuno (el desayuno actúa como sincronizador), patologías crónicas, cirugía mayor, terapia intensiva, envejecimiento, etc.

El *síndrome de desincronización* incluye: alteraciones en el sueño con modificaciones en sus fases, alteraciones en la liberación de hormonas, agravamiento de trastornos cardíacos, diabetes, disminución de capacidad física, y malestares psíquicos, como irritabilidad, dificultades en el aprendizaje, disminución de la memoria, etc.

Sin embargo, a pesar de los datos recopilados, aún no está demostrado si los citados elementos de desincronización poseen realmente una capacidad etiopatogénica, son sólo unos iniciadores o desencadenantes (disparadores o «gatilladores») o son unos epifenómenos.

CRONOSUSCEPTIBILIDAD

De todo lo anterior cabría suponer que la susceptibilidad a los fármacos y la velocidad de su metabolismo oscilarán también en el tiempo; esto es así, como lo prueban numerosas observaciones sobre la ritmicidad de los procesos toxicocinéticos y toxicodinámicos.

Recojamos algunos ejemplos.

La aplicación de benzopireno a la piel de ratones produjo mayor proporción de tumores cuando se realizó a media noche que a medio día.

La sensibilidad de las cucarachas al cianuro resulta ser mínima al amanecer y máxima al oscurecer. Algunos de los efectos debidos a los plaguicidas organofosforados, al cloroformo, al tetracloruro de carbono, etc., manifiestan una susceptibilidad rítmica diaria.

La mortalidad de ratones a la misma dosis de ouabaína también resulta mayor (mueren el 75 por 100) al amanecer que al anochecer (mueren el 15 por 100). En general se ha visto que las sustancias anticolinérgicas (atropina, escopolamina) siguen el mismo ciclo, mientras que las colinérgicas (acetilcolina, carbacol, pilocarpina, oxitremorina) presentan acción inversa. Numerosos autores han señalado una toxicidad circadiana en fármacos como anfetamina, pentobarbital, estricnina, nicotina, metadona, etc., por lo que se demuestra la necesidad de considerar la hora al realizar las valoraciones de toxicidad de las sustancias. Varios autores han probado que el tiempo de sueño inducido por el pentobarbital en animales es muy diferente según la hora de la administración, y posteriormente se ha visto que ello se debe a la cíclica actividad de la hexobarbital-oxidasa hepática. Por idéntica razón, el halotano resulta mucho más tóxico para los roedores hacia las 20 horas que al mediodía.

En humanos se ha observado que la aplicación de alergen produce la mayor liberación de histamina y respuesta alérgica a las 23 horas, y la mínima a las 11 horas.

También es circadiano-dependiente la eliminación de tóxicos como el salicílico, que se excreta más rápidamente cuando se toma a las 19 horas. La excreción de anfetamina es más rápida cuando se toma por la mañana; esto parece deberse a las variaciones cíclicas del pH urinario, más ácido por la mañana.

La cinética circadiana de la función renal se ha estudiado con ratas cateterizadas en la vena yugu-

lar y en la arteria femoral para perfusión continua de suero fisiológico, y con tomas periódicas de orina. Se vio que la excreción de agua y electrólitos es mayor por la noche (periodo de mayor actividad de los roedores) y menor de día; igual ritmo cumplen las concentraciones de inulina (que refleja la filtración glomerular) y la de p-aminohipúrico que refleja el flujo sanguíneo renal.

La excreción de litio por el ratón es máxima al comienzo de la fase de oscuridad, y mínima al empezar la fase luminosa, en la cual se manifiesta, lógicamente, la mayor toxicidad (Shito *et al.*, 1992).

Sin embargo, si bien los antitumorales de carboplatino (la generación siguiente a los compuestos de cisplatino), resultan menos tóxicos al comienzo de la fase de sueño (durante el día), los compuestos de cisplatino son mejor tolerados en la fase activa (noche) (Lu *et al.*, 1994).

Por su parte, el glufosinato produce mayor mortalidad en ratones en la fase luminosa que en la oscura.

El metrotexate presenta en ratón su máxima eliminación (y menor toxicidad) a mitad del periodo de oscuridad, y mínima eliminación en el tiempo de iluminación (Song *et al.*, 1993).

Los alfa y beta-bloqueantes tienen mayor efecto reductor de la presión sanguínea sistólica si se toman durante el día (especialmente en personas mayores) que por la noche, por lo que su efecto hipotensor debe buscarse en la mañana (Kuwajima, 1993). Debe tenerse presente que la presión arterial suele subir durante el día y bajar de noche (individuos llamados *dippers*), pero también hay individuos (*no dippers*) en los que se eleva por la noche que, por ser de peor pronóstico, requieren especial atención. En España se está desarrollando desde hace unos años un programa multicéntrico denominado Cronopres, que sobre una amplia base epidemiológica trata de establecer indicaciones terapéuticas más fiables.

La afectación humana por el alcohol, valorada por pruebas psicofisiológicas, es también circadiana, y se ha probado que, ingiriendo la misma cantidad de alcohol a diferentes horas, se alcanzan mayores alcoholemias cuando se bebe de noche, entre las 20 y las 10 horas.

Por otra parte, un fármaco puede alterar el comportamiento circadiano de otro; así el cloranfenicol modifica el ritmo de excreción de histaminas por la rata, y la morfina influencia los ritmos de concentraciones de glucemia y glucógeno hepático.

En cierta manera, esto se manifiesta en otro tipo de ciclo, el menstrual, pues la máxima sensibilidad cutánea de la mujer a la histamina se presenta el primer día de cada ciclo, y la más baja a la mitad del mismo; la mujer que toma anticonceptivos orales abolé este ritmo, o al menos reduce mucho su sensibilidad histamínica, que parece inversamente relacionada con los niveles de progesterona.

La aparición de las crisis de asma entre las 21 y las 6 horas es un ejemplo típico, porque el conjunto de agentes broncodilatadores están en su mínimo circadiano, mientras que los broncoconstrictores están al máximo, por lo que se recomienda el uso de medicamentos broncodilatadores al acostarse. Los trabajadores expuestos a sustancias como los isocianatos experimentan disnea por la noche, después del trabajo, porque la acción inflamatoria del tóxico se suma a la contracción bronquial circadiana (Tabla 8.7).

Tabla 8.7. Cronotoxicidad de algunas sustancias.

Sustancia	Especie	Fase de mayor	
		Elimina- ción	Efecto/ Toxicidad
Alergenos	humana		noche
α y β bloqueantes	humana		día
Anfetamina		mañana	
Anticolinérgicos			día
Antiinflamatorios	humana		noche
Aspirina		tarde	
Benzopireno	ratón		noche
Carboplatino	ratón	noche	
Corticoides	humana	noche	
Cianuro	cucaracha		noche
Cisplatino	ratón		día
Colinérgicos			noche
Etanol	humana		noche
Glufosinato	ratón		día
Halotano	ratón		noche
Isocianatos	humana		noche
Litio	ratón	tarde	mañana
Metrotexate	ratón	noche	día
Ouabina	ratón		día

A efectos comparativos, debe tenerse presente que la fase de actividad de los roedores es la nocturna, al contrario que el hombre y otros animales.

Una dosis de corticoides tomada por la noche hace más efecto (frenando el eje hipotalámico-hipofisopararrenal) que la misma dosis tomada por la mañana. Los antiinflamatorios, inhibidores de las prostaglandinas, obran mejor por la noche que por la mañana.

Se deberían idear planes terapéuticos de forma que: administren menores dosis del fármaco en las horas en que el individuo sea más susceptible a él, y mayores dosis cuando sea más resistente, según lo que se ha denominado *cronoterapia* (Tabla 8.7), lo que es especialmente interesante para los medicamentos de mayor toxicidad, como los anticancerosos; aparte de que el desarrollo de los tumores sigue un ritmo circadiano, para la quimioterapia oncológica debe buscarse el momento del día de mayor sensibilidad de las células tumorales. Al contrario, para exterminar plagas, será conveniente aplicar el plaguicida cuando se precisen menores cantidades de tóxico. De esta manera se utilizarían sólo las dosis justas en cada caso.

En nuestro laboratorio hemos encontrado variaciones estacionales de distintos parámetros bioquímicos, entre los que destacan las enzimas glucosa-6-fosfatasa y arilhidrocarburohidroxilasa en hígado de rata, que en verano descienden a un tercio de sus valores en invierno; recordemos que estas enzimas juegan importantes papeles en la detoxificación y la toxificación, respectivamente. También hemos visto las variaciones estacionales de las DL-50 de algunos tóxicos, como el paraquat.

Los parámetros biológicos que, como hemos expuesto, experimentan unas variaciones cíclicas diarias, estacionales, anuales, etc., pueden ser regulados o afectados por cambios ambientales de carácter periódico o no. Así, en nuestro laboratorio se ha comprobado (Repetto y Sanz, 1985) que durante la fase de luna nueva los peróxidos lipídicos en hígado de rata descienden a la mitad de su valor medio habitual. Igualmente, durante un eclipse de luna la glucosa en sangre de conejo normal descendió más del 20 por 100, mientras que los lípidos totales aumentaron el 50 por 100.

Podemos admitir que, cuando se produce una cierta alineación entre el Sol, la Tierra y la Luna, como ocurre en las fases de luna llena y nueva y en los eclipses, además de las conocidas variaciones de las fuerzas gravitatorias, por redistribución de

masas en el espacio, se altera también la distribución de cargas eléctricas en la atmósfera terrestre (normalmente en una proporción de 5 iones positivos, que son excitantes, por cada 4 negativos, que son sedantes), como consecuencia de lo cual se originan alteraciones electrofisiológicas, psíquicas y bioquímicas. Estas variaciones también se producen por efecto de los frentes de iones que preceden a las tormentas.

Nuestro equipo también ha visto cómo en día de tormenta, en cerebro de rata normal, la glucosa desciende un 30 por 100, mientras que la actividad de la enzima aldolasa aumenta un 100 por 100.

Procesos similares que en los eclipses, pero de mayor intensidad, pueden desarrollarse cuando cada 11,2 años aparecen las llamadas manchas solares, que son chorros de protones del sol atraídos por las masas negativas de Júpiter y la Tierra cuando se alinean. Es sabido que en las épocas de manchas solares se afectan los seres vivos y las comunicaciones telefónicas y de radio.

También hemos visto que, con ocasión de terremotos con epicentro a 250 km de nuestro laboratorio, el glucógeno hepático de rata no tratada desciende un 83 por 100.

Es lógico admitir que estas alteraciones fisiológicas por causas cósmicas (meteorológicas y geológicas) han de traducirse en variaciones de los efectos tóxicos de las sustancias químicas, cuyo estudio corresponde a una disciplina que hemos denominado *cosmotoxicología*.

BIBLIOGRAFÍA

- Aréchiga H. Los sistemas biológicos en la salud y en la enfermedad. *Gac. méd. mex.* 138, 1: 42-49. 2002.
- Aschoff J. Biological Rythmus. *Handbook of behavioral neurobiology*, vol. 4. New York. Plenum Press. 1981.
- Brent RL, Weitzman M. The current state of knowledge about the effects, risks and science of children's environmental exposures. *Pediatrics*, 2004, 113,4, 1158-1166.
- Calabrese EJ. *Age and susceptibility to toxic substances*. New York: J. Wiley & Sons, 1986.
- Caldwell J, Gardner I, Swales N. An introduction to drug disposition. *Toxicol Pathol*, 1995; 23(2):102114.
- Cardinali, D.P., Frascini, F, Reiter, RJ, Golombek, D.A., et al. Chronobiological activity of melatonin: Mediation by gabaergic mechanisms. En: *The Pineal Gland and Its Hormones: Fundamental and Clinical Perspectives*. New York. Plenum Press, 1995.
- Doyle MR, Davis SJ, Bastow RM, et al. The ELF4 gene controls circadian rhythm and flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 419, 74-75. 2002.
- Erikson TB, Ahrens WR, Aks SE, Baum CR, Ling LJ. *Pediatric toxicology*. New York, McGraw-Hill, 2005.
- Evans WE et al. Pharmacogenomics, drug disposition, drug targets and side effect. *N Eng J Med*. 2003, 348, 539-549.
- Fuhrman GJ, Furhman FA. Effects of temperature on action of drugs. *Ann Rev Pharmacol*, 196 1; 1:65-78.
- Golombek DA. La quimera del tiempo; relojes biológicos. *Ciencia hoy*. 5-30. 1996.
- Golombek DA, Pizzio GA. Chronobiological activity of melatonin. En Pandi-Perumal (ed.) *Melatonin, from molecules to therapy*. New York. NovaScience Publishers. 2006.
- González G, Valladolid M. *El tercer ojo y los ritmos biológicos de los vertebrados*. Madrid: Ciencia e Industria, 1994.
- Hernández FJ, Sánchez JJ, Abreu P, Alonso R. La glándula pineal como transductor neuroendocrino. *Endocrinología y Nutrición*, 2001, 48, 10, 303-312.
- Kastrup E, Boyd J, Gifford S. *Facts and Comparisons*. St. Louis, MO: Facts & Comparisons Inc., 1985.
- Keplinger ML, Lanier GE, Diechmann WB. Effects of environmental temperature on the acute toxicity of a number of compounds in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1959; 1:156-161.
- Kerzee JK, Tomlinson CR, Marlowe JL, Puga A. *Molecular signatures of dioxin toxicity*. En ME Burczinsky (ed.), *An introduction to toxicogenomics*, Boca Raton, CRC Press, 2003, pp. 147-161.
- Klaassen CD, *Cassaret and Doull's Toxicology*, 6ª. ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- Levi F, Metzger G, Depres P. Implications of biological rhythms for toxicology. *Drug Information J*, 1994; 28(1):195-202.
- Meydani M. Impact of aging on detoxification mechanisms. En: Kotsoni FN, Mackey M, Hjelle J. (eds.) *Nutritional toxicology*. Nueva York: Raven Press, 1994.
- Miller MD, Marty MA, Arcus A, et al. Differences between children and adults: implications for risk assessment at California EPA. *Int J. Toxicol*. 2002, 21: 403-418.
- Rao GN. Significance of environmental factors on the test system. En: Hoover et al (ed.). *Managing conduct and data quality toxicology studies*. New York: Princeton Sc. Pub. CO. Inc., 1986.
- Repetto M., Sanz P. Crono y Cosmotoxicología. *Rev. Sandorama* 2, 5-11, 1985
- Sanz P. Los polimorfismos genéticos como causa de la variabilidad individual de la toxicidad. En: Repetto M. (ed.) *Toxicología avanzada*. Madrid: Díaz de Santos, 1995.

- Sanz P. *Toxicogenómica*. En: M. Repetto (ed.) *Ampliación de Toxicología de Postgrado*. CD. Área de Toxicología Universidad de Sevilla. 2007.
- Sanz P, R-Vicente MC, Villar P, Repetto M. Uncontrollable atmospheric conditions which can affect animal experimentation. *Veteri Human Toxicology*. 1988, 30, 5: 452-454.
- Scheuplein R, Charnley G, Dourson M. Differential sensitivity of children and adults to chemical toxicity. I Biological basis. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2002, 35: 429-447.
- Shah AK. The timing of violence amongst psychiatric in-patients. *Rev Med Shir Soc Med Nat Iasi*, 1993; 97(2):261-263.
- Shito T, Ando T, Okamoto T, Nakano S. Chronopharmacokinetics and chronotoxicity of lithium. *Chronobiol-Int*, 1992; 9(2):114-123.
- Smith RL, Bababunmi EA. *Toxicology in the tropics*. Londres: Taylor & Francis, 1980.
- Smolensky MH, Reinberg A, Bicaoua-Rocker S. Indirect evidence of circannual changes in the activity of human males. En: *Rythmes et reproduction*. París: Masson, 1980.
- Vanden Driessche T, Guisset JL, Petian GM. *Membranes and circadian rhythms*. Berlín: Springer Verlag, 1995.
- Varios. Relevance of Chronobiology and Pharmacology. *Archives of Toxicology*, 1976; 36:3-4.
- Vicente Córdoba C, Legaz ME. *Fitofísica ambiental*. Madrid: Ed. Pirámide, S. A., 1984.
- Walsh CT, Schwartz-Bloom RD. *Levin's Pharmacology*. 7ª ed. New York, London. Taylor & Francis. 2005.
- Wetterberg L, Aperia B, Beck J. Melatonin and cortisol levels in psychiatric illness. *Lancet*, 1982; 2: 100.

9

INTERACCIONES ENTRE FÁRMACOS

Recuérdese que los términos «fármaco» y «medicamento» no son sinónimos (véase Glosario, Capítulo 2). Desde una óptica toxicológica, debemos considerar las interacciones que pueden producirse entre: medicamentos-medicamentos, medicamentos-hierbas medicinales, medicamentos-alimentos, medicamentos-álcohol, medicamentos-contaminantes, alimentos-alimentos, alimentos-álcohol, alimentos-contaminantes, alimentos-aditivos alimentarios, etc., y también entre medicamentos absorbidos por pacientes que sufren determinadas patologías (Tabla 9.1).

De una forma empírica, retrospectiva, se han ido conociendo casos en los que la actividad de un fármaco resulta modificada por la administración, más o menos simultánea (concomitante), de otro, o por la intervención de agentes físicos como temperatura, vibraciones, sonido, etc. (Capítulo 8).

Ciertamente, dos o más xenobióticos absorbidos simultáneamente pueden actuar de forma independiente, sin interferirse entre sí, pero continuamente se conocen ejemplos de que la coincidencia puede dar lugar a aumento de los efectos incluso con aparición de respuestas tóxicas o, por el contrario, disminución de la respuesta.

Según se sabe, las interacciones, tanto de tipo farmacocinético como farmacodinámico, pueden producirse en cualquiera de los procesos de absorción, distribución, acción sobre los receptores, metabolismo y excreción. El resultado puede ser beneficioso en algunos casos, pero también puede

ser perjudicial para el individuo; esto depende no sólo de las sustancias en sí, sino de las distintas especies y de los mismos individuos.

Desde el punto de vista práctico, los fenómenos de interacción pueden ser beneficiosamente aprovechados para forzar los efectos terapéuticos, pero también pueden dar lugar a numerosos accidentes tóxicos. Por ello las autoridades sanitarias prohíben cada vez más la asociación de medicamentos.

En definitiva, resumiremos que las interacciones pueden dar lugar a:

- a. aumento de los efectos tóxicos
- b. aumento de la actividad terapéutica
- c. disminución de la actividad terapéutica o alimentaria

Un interesante procedimiento para el estudio de la interacción de los medicamentos es el método isobolográfico ideado por Loewe. En unos ejes de coordenadas se marcan las dosis administradas de cada uno de los productos, y se señalan las mezclas que dieron lugar a una determinada respuesta tóxica o la muerte (DL50, p. ej.); uniendo los puntos se obtendrá una línea representativa de las proporciones más perjudiciales (Fig. 9. 1).

Una interesante *web* de consulta sobre las interacciones potenciales de un medicamento con otro es la denominada *Atlas*, que puede verse en: www.iqb.es/cbasicas/farma/farma/atlas, accesible también a través de la *web* busca-tox.com.

Tabla 9.1. Ejemplos de incompatibilidades de medicamentos

Medicamentos	Incompatibles	Patologías
antiácidos	fenitoína	
antagonistas H ₂ (cimetidina)	teofilina warfarina	
antieméticos	sedantes	
antihistamínicos	antidepresivos hipotensores sedantes	glaucoma hipertrofia prostática asma
antitusígenos	sedantes	glaucoma hipertrofia prostática
broncodilatadores		hipertensión diabetes trastornos de tiroides hipertrofia de próstata
descongestionantes nasales estimulantes		diabetes nerviosismo irritabilidad arritmias hipertensión
hipnóticos	sedantes	bronquitis crónica enfisema glaucoma hipertrofia prostática
laxantes		insuficiencia renal afección gástrica náusea o vómito trastornos de tiroides hipertrofia de próstata
reemplazantes de nicotina	antidepresivos antiasmáticos chicle con nicotina tabaco	hipertensión arterial trastornos cardíacos

(*) Cuando el laxante contiene fosfatos, potasio o magnesio.
Modificado de Council on Family Health y U.S. FDA, 2006.

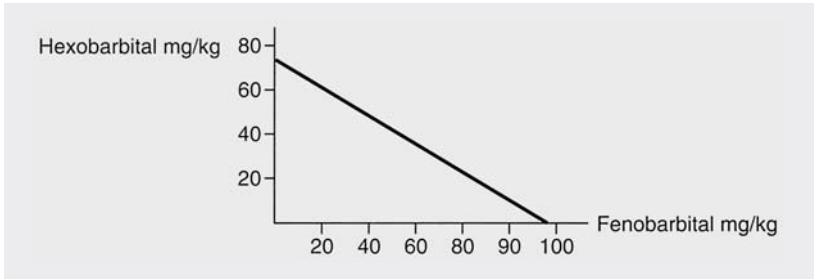


Figura 9.1. Proporciones conjuntas de mayor toxicidad.

Los tres mecanismos fundamentales que originan la interacción de los fármacos son:

1. *Interacción fisicoquímica*, en la que dos o varios fármacos reaccionan entre sí produciendo su neutralización, o inactivación, insolubilización o precipitación, con anulación de su efecto, normalmente porque impiden la absorción, o bien porque dan lugar a nuevas sustancias con efecto diferente.

2. *Interacción farmacocinética*, en la que un fármaco modifica la concentración tisular que normalmente debería alcanzar otro al interferir en cualquiera de las fases cinéticas.

3. *Interacción farmacodinámica*, cuando un fármaco disputa a otro el receptor, modifica la sensibilidad de éste, o actuando sobre distinto receptor, aumenta o disminuye el efecto del primero.

INTERACCIÓN FISICOQUÍMICA

También recibe el nombre de *interacción galénica*, porque es la que ocurre cuando en una jeringa o preparado se mezclan sustancias capaces de reaccionar entre sí. A veces se produce en el ambiente cuando un soluto, por ejemplo un ácido tio-barbitúrico, es insolubilizado por el carbónico del aire, o cuando los gases se neutralizan mutuamente, o cuando materia finamente pulverizada (polvo) se carga superficialmente de otra sustancia y la transporta profundamente a los alveolos en mayor cantidad a la que dicha sustancia llegaría inhalada aisladamente. La interacción fisicoquímica también puede tener lugar dentro del organismo, interfiriendo especialmente los procesos de absorción y de excreción.

INTERACCIÓN FARMACOCINÉTICA

Es muy compleja y aparece en todos los pasos cinéticos, como veremos a continuación:

Influencias sobre la absorción

Sabemos (Capítulo 3) que desde el estómago no se realiza absorción en grado significativo más que de productos de carácter ácido. Las drogas básicas y las sustancias que requieren transporte activo no

se absorben a través de la mucosa gástrica, sino en el intestino delgado. Sólo un 20 % del alcohol ingerido pasa a la sangre desde el estómago.

Por ello, la velocidad de vaciamiento gástrico puede ser un factor limitante en la absorción de los fármacos. El efecto de muchos fármacos puede estar disminuido, e incluso abolido, cuando se ingieren con alimentos, porque éstos retrasan el vaciamiento gástrico. Por el contrario, el efecto y la toxicidad son incrementados cuando se administra una disolución del producto con el estómago vacío.

Las sustancias (Tabla 9.2) que inhiben el vaciamiento gástrico retrasan su propia absorción y la de otros fármacos ingeridos simultáneamente; éste es el caso de los alcoholes, la aspirina, los anticolinérgicos (como atropina), opiáceos (codeína, morfina), benzodiazepínicos, antihistamínicos, cloroquina, etc., que también enlentecen el tránsito o movilidad intestinal. Por el contrario, el barbitúrico, que individualmente no afecta al vaciamiento, al coincidir con la aminopirina, neutraliza el efecto retardador de ésta.

La coincidencia en el estómago de más de una sustancia puede dar lugar a formas de la antes citada interacción fisicoquímica.

Así, los iones calcio, aluminio, hierro y magnesio forman derivados insolubles con las tetraciclinas, e inhiben el paso a la sangre (interferencia por la leche o los antiácidos).

La presencia de los citados iones en los medicamentos antiácidos interfiere la absorción de otras muchas drogas; veamos unos ejemplos:

—El *pentobarbital* forma un complejo con el Al y el Mg, con disminución del tiempo de sueño; el complejo es reversible y la excreción es independiente, pero evita mayores niveles en sangre.

—La *sulfadiazina*, en forma de sal sódica, también es retrasada por los alcalinizantes en su paso a la sangre, pero en forma de ácido libre no es afectado por el hidróxido de aluminio. Esto sugiere que el fenómeno se debe aquí a la solubilidad de la sulfadiazina, que se incrementa en medio ácido y disminuye cuando éste es neutralizado por el hidróxido.

—La *quinina* y otros alcaloides son muy poco solubles a pH altos; los alcalinos los precipitan.

—La *isoniazida*, a pesar de que su absorción se realiza en el intestino delgado, y nada en el estómago, también es retrasada por los antiácidos.

Tabla 9.2. Factores que influyen en la tasa de vaciamiento gástrico

	Vaciamiento gástrico	
	Acelerado	Retrasado
1. Factores fisiológicos		
Líquidos	+	
Sólidos		+
Ácido		+
Grasa		+
Presión osmótica aumentada		+
Aminoácidos		+
Distensión gástrica	+	
Gastrina		+
Secretina		+
Colecistocinina		+
Glucagón		+
Postura (decúbito o lateral derecho)	+	
Densidad de la energía de la comida	+	
2. Factores farmacológicos		
Fármacos anticolinérgicos:		
atropina		+
propanetelina		+
tricíclicos		+
trihexifenidil		+
nitrato de metilatropina		+
Fármacos bloqueantes:		
ganglionares:		
hexametonio		+
Analgésicos narcóticos:		
morfina		+
petidina		+
diamorfina		+
pentazocina		+
Otros:		
Isoniazida		
Nitrato sódico		
Cloroquina		+
Alcohol		+
Sulfosuccinato de dioctil sódico	+	
Fenitoína	+	
Metocloropropamida	+	
Reserpina	+	
Anticolinesterásicos	+	
Bicarbonato sódico	+	
Hidróxido de aluminio		+
Hidróxido de magnesio		+

—La *ampicilina*, al ser un antibiótico de corta vida media, debido al retraso de su absorción por los antiácidos, especialmente por los aluminicos, disminuye considerablemente su efectividad.

En general, los medicamentos antiácido por su carácter alcalino, al aumentar la fracción no ionizada de los fármacos de carácter básico, como el diazepam aceleran la absorción e éstos.

También forman agregados moleculares que retrasan la absorción, las mucinas, aspirina, glutimida, meprobamatos y las sustancias que regulan la liberación entérica de medicamentos.

Otro tipo de interacciones en la absorción consiste en la afectación de enzimas que intervienen en el transporte de las sustancias a través de la pared intestinal. Así, la difenilhidantoína inhibe la enzima fólcorreductasa que hidroliza el ácido fólico, paso necesario para que éste pueda ser absorbido.

Algunos antihistamínicos son biotransformados en la mucosa intestinal mediante oxidación por el CYP450, que puede ser inhibido por la eritromicina; por ello, en algunos individuos la administración de este antibiótico supone la absorción de mayor dosis del antihistamínico y riesgo de una arritmia cardíaca fatal.

La movilidad del intestino y, consecuentemente, el vaciamiento del estómago y el tránsito de los alimentos por el tubo gastrointestinal es enlentecido por numerosas sustancias (Tabla 9.2) opiáceos, sedantes, anticolinérgicos, antihistamínicos, el etanol y los alimentos grasos (sobre estos dos últimos, véanse sendos apartados más adelante).

Algunas sustancias intervienen mediante un mecanismo de intercambio iónico; así, la colestiramina y el colestipol, resinas de intercambio aniónico utilizadas para disminuir el colesterol sanguíneo, se fijan a moléculas ácidas y neutras, como los digitálicos, anticoagulantes orales, fenilbutazona, tiroxina, clortiazida, etc., formando macromoléculas no absorbibles, interrumpiendo, incluso, el ciclo enterohepático. También afectan a este ciclo el fenobarbital y la carbamazepina.

En resumen, entre las interacciones que afectan la absorción, podemos distinguir las que producen:

a) Variaciones de pH que, al modificar la proporción de fármaco no-ionizado, repercuten en su paso a través de la mucosa.

b) Modificaciones en la membrana, de tipo histológico (erosión, engrosamiento, desecación, etc.) o de tipo metabólico (enzimático), que alteren la difusión a su través. Esto es válido tanto para el tracto gastrointestinal como para el pulmón y la piel.

c) Alteraciones de la velocidad de vaciamiento gástrico y de la motilidad intestinal, que afectan el tiempo de contacto del fármaco con la mucosa absorbente duodenal.

d) Formación intraluminal de derivados insolubles, quelatos o complejos no absorbibles.

En definitiva, las interacciones en la absorción afectan tanto la velocidad de entrada a la sangre como la cantidad total de fármaco en ésta (biodisponibilidad), y las repercusiones de ambos parámetros serán diferentes según que el fármaco sea de corta o de larga vida media.

Así, cuando se aumenta la velocidad de absorción de un medicamento de vida media corta, se consiguen mayores niveles hemáticos y mayor efecto; igualmente, cuando se aumenta la biodisponibilidad de un fármaco de vida media larga, se eleva el riesgo más que con los fármacos de vida corta.

Interferencias en la distribución

La mayoría de los fármacos son transportados por la sangre en forma de complejo con la albúmina, las glucoproteínas y las lipoproteínas, pero hay sustancias con gran afinidad por éstas que desplazan a aquéllas de sus uniones. El ácido acetilsalicílico, por ejemplo, no solamente realiza este efecto, sino que además acetila la proteína, y esta albúmina acetilada presenta aún menor afinidad por otros fármacos.

En los últimos años han alcanzado gran interés algunos transportadores de fármacos como las llamadas *P-glucoproteínas* (P-gp), y entre ellas las conocidas como MDR1, MDR2, y MDR3, así como las transportadoras de aniones orgánicos (OAT), de cationes orgánicos (OCT), de polipéptidos (OATP), las denominadas *proteínas asociadas a resistencias multidrogas* (MRP), *proteínas resistentes de cáncer pulmonar* (BCRP), etc., cuya síntesis puede ser inducida o inhibida por la presencia de otros fármacos. Actualmente se sabe que fármacos como: ciclosporina, ketoconazol, quinidina, reserpina, rifampina, ritonavir, verapamilo, etc. son inhibi-

dores competitivos del transporte hemático de colchicina, digoxina, fexofanadina, vincristina, etc.

Muchos fármacos también se unen a macromoléculas que no tienen actividad como receptores, de forma que el xenobiótico queda como «no biodisponible». Sin embargo, la posterior llegada de un segundo fármaco con mayor afinidad por la macromolécula puede dar lugar a la liberación del primero, que pasa a su estado libre, de forma que la macromolécula ha actuado como un reservorio transitorio. Así, la fenilbutazona puede desplazar a salicilatos, penicilina, sulfonamidas, warfarina, etc.; aunque la mayoría de las veces la efectividad del fármaco desplazado no es muy importante, los que se unen en gran proporción a las proteínas pueden poner en riesgo al individuo, como ocurre con la warfarina que se retiene en el 99% de su dosis y su brusca liberación puede provocar hemorragias; por esta razón, la fenilbutazona se utiliza cada vez menos como antiinflamatorio.

Como consecuencia de todo esto, algunos xenobióticos pueden ser desplazados y no ser transportados, mientras que otros, al ser liberados violentamente en las proximidades de los receptores, se comportarán como si sus dosis hubieran sido mayores, y pueden provocar intoxicaciones (Tabla 9.3).

Tabla 9.3. Interacción de drogas a nivel hemático. Factores de desplazamiento 10^{-6}

Fármaco	Desplazantes		
	Ácido sacílico	Probenecid	Piramidón
Clordiazepóxido	9,23	19,01	15,4
Meprobamato	436	2.614	2.119
Insulina	1,89	3,92	3,17
Levopromazina	3,36	6,94	5,62
Imipramina	98,2	202	164
Difenilhidantoína	219	452	366
Anfetamina	40	84,3	68,3
Litio	neg.	neg.	neg.
Estradiol	neg.	neg.	neg.
Tolbutamida	1.022	2.111	1.710
L-Dopa	721	neg.	1.207
Cloropromazina	neg.	89,6	72,6
Mefobarbital	454	938,8	760

Destaquemos por su importancia los choques hipoglucémicos, observados tras la administración de distintos productos a enfermos tratados con hipoglucemiantes orales, y los trastornos tóxicos producidos por la misma razón a los epilépticos sometidos a tratamiento con difenilhidantoína, cuando absorben otro fármaco, por ejemplo, ácido acetilsalicílico o pirazolona.

Ahora bien, parece que las interacciones por desplazamiento que tienen más trascendencia clínica son las que afectan a fármacos que están fundamentalmente circulantes porque tienen un volumen de distribución pequeño; efectivamente, los que poseen un gran volumen de distribución se hallan repartidos por todo el organismo, con sólo una pequeña fracción en la sangre, por lo que las interacciones no liberan gran proporción del fármaco.

Por esta razón, también afectan la distribución los fármacos que modifican la proporción de agua corporal, porque alteran el volumen de distribución. Así los diuréticos aumentan la acción de muchos medicamentos (como el efecto hipotensor de los vasodilatadores), o, por el contrario, la disminuyen los que retienen agua (como fenilbutazona, indometacina, etc.).

Afortunadamente, el fenómeno de la interacción por desplazamiento es temporal, porque el xenobiótico en forma libre es más fácilmente metabolizado y excretado.

En cuanto a los desequilibrios electrolíticos, puede señalarse, como ejemplo, que la pérdida de ion sodio producida por los diuréticos se acompaña de retención de litio, incrementándose el riesgo en el tratamiento por éste.

Interacciones en la biotransformación

Esta importante faceta de la interacción es suficientemente estudiada en el tema de las inducciones e inhibiciones enzimáticas. Cuando se modifica el metabolismo de un fármaco, por ejemplo, acelerando su transformación en un metabolito activo, el efecto será mayor, o al contrario (Tablas 5.3, 5.4, 9.4, 9.5, 9.6, 9.9 y 9.10).

El metabolismo de los xenobióticos puede afectarse por el efecto de otro que inhiba o estimule su biotransformación.

Si se produce inhibición, la vida media del primero quedará ampliada, y con ello su efecto. El

Tabla 9.4. Fármacos que modifican el metabolismo de otros

Fármaco	Efecto del otro
Barbitúricos	+++
Etanol	+
Óxido de nitrógeno	+
Halotano	+
Éter	+
Coramina	+++
Anfetaminas	0
Difenilhidantoína	+++
p-metadona	+++
Trimetadona	0
Meprobamato	++
Clorpromacina	++
Clordiazepóxido	+
Tolbutamida	+++
Carbutamida	++
Fenilbutazona	+++
Aminopirina	+
Morfina	—
Aspirina	0
Clordano	++++
DDT	++++
Dieldrín	+++
Testosterona	++
Cortisona	+
Prednisolona	+
Progesterona	+
Estradiol	—

Tabla 9.5. Fármacos con metabolitos activos cuya biotransformación es estimulada por otros

Alprenolol	4-hidroxiaprenolol.
Carbamazepina	10,11-epóxido de carbamazepina.
Ciclofosfamida	4-hidroxiciclofosfamida y aldofosfamida.
Fenacetina	Paracetamol (acetaminofeno).
Fenilbutazona	Oxifenbutazona.
Fenproporex	Anfetamina.
Imipramina	Desimipramina.
Paratión	Paraoxón.
Primidona	Fenobarbital.
Propranolol	4-hidroxiopropranolol.

(Según Flórez J. *Información Terapéutica de la Seguridad Social*. INS, 1991, vol. 5, núm. 1.)

Tabla 9.6. Inhibición metabólica que incrementa la actividad clínica

Fármacos cuyo metabolismo es inhibido	Inhibidores
Alcohol	Disulfiram Cloranfenicol Clorpropamida Metronizadol
Anticoagulantes (warfarina, dicumarol)	Alcohol (agudo) Alopurinol Cloranfenicol Co-trimoxazol Disulfiram Fenilbutazona y Oxifenbutazona (1) Metronizadol
Azatioprina y 6-mercaptopurina Difenilhidantoína	Alopurinol Alcohol (agudo) Cloranfenicol Dicumarol Feniramidol Fenilbutazona Isoniazida
Hipoglucemiantes orales	Cloranfenicol Dicumarol Fenilbutazona y Oxifenbutazona (1) Sulfafenazol
Isoniazida	Cloranfenicol

(1) También desplazan sitios de fijación a proteínas.

(Según Flórez J. *Información Terapéutica de la Seguridad Social*. INS, 1981, vol. 5, núm. 1.)

disulfirán inhibe a la enzima aldehidodeshidrogenasa (ALDH), por lo que retrasa el metabolismo de acetaldehído, fenitoína, etc. Así ocurre también después de la administración de vacunas o de interferón, que disminuye transitoriamente la formación de citocromo P-450, y con ello la biotransformación y eliminación de numerosos xenobióticos que pueden alcanzar concentraciones tóxicas.

Efectivamente, la síntesis de miembros de la amplia familia de enzimas del CYP, consecuente a la variedad de genotipos existentes (polimorfismo genético), suelen experimentar inhibiciones o inducciones por la presencia de diversos fármacos, lo que modifica su frecuente participación en la biotransformación de otros xenobióticos, como, por ejemplo: la rifampicina actúa de inductor en la biotransformación oxidativa de estatinas, omepra-

zol, sildenafil, tolbutamida, triazolan, warfarina, etc. Las estatinas, inhibidores de la 3-hidroximetil-3-glutaril-Coenzima A reductasa, enzima clave en la síntesis del colesterol, son ampliamente usadas para disminuir el colesterol plasmático con gran efectividad. Pero se ha visto que cuando se combinan con múltiples fármacos (fibratos, ciclosporinas, antifúngicos azoles, antibióticos, macrólidos, verapamilo, amiodarona, alcohol, etc.), con los que compite por los CYP para su biotransformación y eliminación, actúan como miocitotóxicos y hepatotóxicos; sobre la fibra muscular producen necrosis, fragmentación y rhabdmiolisis, con fulminante y masiva destrucción de músculo esquelético, que libera mioglobina en enorme cantidad, conducente a fallo renal y posibilidad de muerte (Maiques, Franch y Fluixa, 2004).

En ocasiones, un compuesto inhibe las enzimas metabolizantes de otro, como el dicumarol, que inhibe la hidroxilación del fenobarbital, o el dicumarol, la iproniacida, fenilbutazona, p-aminosalicílico, disulfiram, etc., que inhiben la p-hidroxilación de la difenilhidantoína. Esta misma hidroxilación es inhibida por el propio metabolito, lo que también ocurre en otros compuestos, para los que la velocidad de biotransformación disminuye al elevarse la concentración de sus metabolitos.

Los flavonoides presentes en el pomelo (toronja), o el alcohol etílico en consumo crónico son inhibidores enzimáticos, mientras que el benzopireno en las carnes asadas, la mostaza, etc., son inductores.

En el pomelo hay un inhibidor del CYP3A4, que interviene también en la biotransformación del anticoagulante warfarina y del antiolesterolémico atorvastatin, lo que incrementa considerablemente la biodisponibilidad y riesgo tóxico de ambos.

Otro mecanismo de interacción es el de la coincidencia de inhibidores enzimáticos, por ejemplo, de la MAO, en individuos que reciben tales fármacos y conjuntamente ingieren quesos viejos, algunos tipos de vinos (Chianti), hígado de pollo, etc. (que poseen tiramina), o chocolates, plátanos, hidrolizados de levaduras, etc., que contienen aminas tipo dopa, serotonina, etc., o vinos tintos y cervezas con alto contenido en histamina.

Cuando el medicamento inhibe a las amino oxidasas, la suma de los neurotransmisores fisiológicos y de los liberados por las aminas de los alimentos, ninguno de los cuales pueden destruirse, puede

alcanzar valores que provocan hipertensión arterial, con riesgo grave de hemorragias internas.

Las inhibiciones poseen un carácter muy selectivo, y se producen preferentemente sobre determinadas isoenzimas dentro de una familia de enzimas o sobre alguna de las actividades que catalizan dichas enzimas; por ejemplo, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRIs), como el euforizante fluoxetina, son esencialmente inhibidores del CYP2D6, mientras que el inmunosupresor ciclosporina y el antibacteriano eritromicina lo son del CYP3A4. Estos efectos se tienen en cuenta al desarrollar nuevos medicamentos, como ha ocurrido con el bloqueador de los receptores de H_2 ranitidina, para sustituir a la cimetidina inhibidora de isoenzimas CYP y evitar interacciones.

Dos compuestos que deban ser metabolizados por el mismo mecanismo verán aumentada su vida media si se absorben simultáneamente, al competir ambos por las mismas enzimas metabolizantes; esto ocurre con el alcohol y la tolbutamida, por ejemplo.

Si se estimula el metabolismo, se podrán obtener metabolitos activos, con lo que el efecto será mayor o diferente, o metabolitos inactivos y más fácilmente excretables. En el primer caso destacan por su interés los sistemas de oxidación, y en el segundo los de acetil y glucuroniltransferasas.

En relación con la inducción de las oxidasas se tienen interesantes ejemplos. El metabolismo del p-acetamol a su derivado hepatotóxico benzoquinonimina se intensifica por el pretratamiento con fenobarbital, que induce las oxidaciones hepáticas.

El fumador suele tener inducidos diversos sistemas enzimáticos a causa de la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el humo, por lo que requiere incrementos de las dosis de algunos medicamentos (el 50 % para la teofilina) para obtener el efecto deseado.

Son ejemplos conocidos la disminución de los efectos de los cumarínicos, difenilhidantoína, anti-conceptivos, etc., cuando se administran junto con barbitúricos.

Un enfermo que recibe barbitúricos, y a quien se controla el tiempo de hemorragia mediante análisis y dosificación de dicumarol, precisa mayores dosis de éste que otra persona que no tome barbitúricos, pero si en un momento dado se suprime el barbitúrico, puede sobrevenir grave hemorragia por exceso del cumarínico.

Además del barbitúrico son inductores del CYP450 los antiepilépticos carbamazepina y fenitoína, el antibiótico rifampicina y algunos esteroides cuya administración acorta la duración de la acción e intensidad de otros medicamentos que sean sustratos de la enzima inducida. Algunos xenobióticos, como el etanol, pueden actuar de forma bifásica: durante la intoxicación aguda inhiben el CYP, pero en el consumo crónico lo inducen, lo que aunque no tiene gran relevancia en el metabolismo del alcohol, realizado fundamentalmente por la alcohol deshidrogenada, disminuyen el efecto de anticoagulantes o barbitúricos metabolizados por la misma isoenzima; por estos motivos, dosis hipnóticas de barbitúricos son poco efectivas en el alcohólico sobrio pero muy activas en el borracho.

La isocarboxida y otros IMAO no sólo inhiben la MAO, sino que sensibilizan los receptores de los simpatomiméticos, razón por la cual las dosis adicionales de éstos pueden desencadenar trastornos.

Muy graves e interesantes son el síndrome serotoninico, el síndrome maligno por neurolepticos y el de hipertermia maligna (véase Capítulo 16).

Con las catecolaminas y amins biógenas se presentan variados fenómenos de interacción. Si en un individuo que ha sido tratado con reserpina hasta producirle hipotensión, se trata de superar ésta con noradrenalina, puede originarse una hipertensión. La causa está en que la reserpina bloquea los lugares de inactivación de la noradrenalina, por lo que su nivel en sangre se elevará mucho. Por la misma razón los tricíclicos junto con las anfetaminas producen graves crisis de hipertensión. Es sabido que el disulfirán (antabús) interrumpe el metabolismo del etanol; igualmente prolonga la vida media de la difenilhidantoína.

Interacciones en la excreción

Los laxantes y aceleradores del tránsito intestinal reducen la absorción, mientras que los sedantes, al producir estreñimiento, aumentan la posibilidad de absorción.

El primer efecto es aplicado en el tratamiento de las intoxicaciones agudas en que se provoca el vaciado e incluso el lavado gastrointestinal.

Los mecanismos de excreción (tanto por vía biliar como renal) que se pueden afectar por la

interacción son el *transporte activo* y la *difusión pasiva*.

Mediante el transporte activo los fármacos se excretan a los canales biliares y a los túbulos renales, gracias a un sistema de transporte que puede ser común para varios fármacos en general de carácter ácido. Así un fármaco puede bloquear la excreción renal del otro, mediante competencia con el mismo sistema de transporte para la secreción tubular. Esto provocará el incremento de la vida media del otro fármaco con posibilidad de presentación de fenómenos tóxicos (Tabla 9.7).

Así, el medicamento antigotoso (uricosúrico) probenecid compite con otros medicamentos en el proceso de secreción tubular, lo que puede incrementar los efectos tóxicos de otros fármacos al retrasar la eliminación de los mismos, pero esa competencia puede ser aprovechada en terapéutica; por ejemplo, en el tratamiento de infecciones resistentes, el probenecid puede disminuir la eliminación de penicilina administrada conjuntamente y favorecer el mantenimiento de altos niveles hemáticos del antibiótico. Por el contrario, diuréticos que

son secretados por el túbulo renal pueden interferir en la eliminación de ácido úrico, y contribuir a la aparición de gota.

Similarmente, el bloqueo del mecanismo de resorción tubular aumentará la excreción urinaria, disminuyendo la efectividad. Este efecto será producido por todas las sustancias diuréticas (por ejemplo, el alcohol), cualquiera que sea su lugar de acción.

Algunas veces, las modificaciones de la excreción son debidas a trastornos mucho más simples, como puede ser el cambio de pH. A un pH ácido los productos ácidos no estarán ionizados y serán retenidos por el túbulo, mediante un proceso de retrodifusión pasiva, mientras que al alcalinizar se forzará la eliminación (caso de los barbitúricos).

El fenómeno inverso ocurrirá con las sustancias de carácter básico. Así, los productos alcalinizantes disminuyen la excreción de aminofilina, aminopirina, penicilina, prometazina, xantinas, etc., y se potencia la acción de éstas.

Estos procesos de aumento de excreción (aclaramiento) de una sustancia ácida (como salicílico o fenobarbital), al alcalinizar la orina mediante bicarbonato, antiácidos o tampones, o de una sustancia básica (como anfetaminas, efedrina, quinidina, nicotina, etc.), al acidificar con cloruro amónico o ácido ascórbico, son aprovechables en el tratamiento de los intoxicados, pero sólo son útiles en el caso de ácidos y bases orgánicas de carácter débil (ácidos de pKa comprendido entre 3 y 7,5, y bases de pKa entre 7,5-10), ya que el aclaramiento de ácidos y bases fuertes no se afecta, porque para llevarlos a la forma no-ionizada haría falta poner la orina a pH incompatibles con la fisiología.

Algunos fármacos, como el fenobarbital, elevan la excreción biliar, en parte porque aumentan la síntesis de proteínas que intervienen en el mecanismo de conjugación-excreción. Todo esto incrementará la excreción de otras sustancias.

INTERACCIÓN FARMACODINÁMICA

Aparece cuando más de un fármaco actúa sobre un mismo receptor o sobre un mismo sistema fisiológico, o funcional, y también cuando ambos fármacos actúan sobre distintos receptores para dar lugar a efectos sinérgicos o antagónicos inespecíficos (Tabla 9.8).

Tabla 9.7. Interacciones por interferencia en el transporte activo en el túbulo renal

El transporte y eliminación de	Es inhibido por:
Clorpropamida	Fenilbutazona Dicumarol
Metotrexato	Salicilato Probenecid Sulfamidas
Penicilinas	Probenecid Sulfimpirazona Indometacina
Furosemina	Probenecid
Sulfimpirazona	Probenecid
PAS	Probenecid
Gentamicina	Furosemina
Cefaloridina	Furosemina
Fármacos uricosúricos	Salicilatos (pequeñas dosis)
Tiacidas y furosemina	Fenilbutazona Indometacina

(Según Flórez J. *Información Terapéutica de la Seguridad Social*. INS, 1991, vol. 5, núm. 1.)

Tabla 9.8. Efectos adversos debidos a interacciones medicamentosas

Efectos	Asociaciones
Hipertensión	Inhib. MAO+tiramina (queso)
Arritmias cardíacas	Inhib. MAO+metanfetamina
Hemorragias	Warfarina+fenilbutazona Warfarina+fenilramidol
Parálisis respiratoria	Neomicina+succinilcolina Neomicina+éter
Hipoglucemia	Tolbutamida+fenilbutazona Tolbutamida+sulfisoxazol Tolbutamida+feniramidol Digital+clorotiácida Digital+reserpina Insulina + etanol

MAO : monoaminoxidasas.
 IMAO: inhibidores de las monoaminoxidasas.

Interferencias sobre los receptores

Cuando dos o más sustancias actúan sobre los mismos receptores (sean enzimas o membranas especializadas) pueden producirse reacciones de antagonismo o de potenciación que parece se deben a fenómenos de tipo alostérico.

No es necesario que una sustancia antagonista bloquee totalmente el receptor; basta con que, al unirse a él, se modifique su conformación espacial o los potenciales de membrana, de tal manera que se impida la posterior unión de la segunda sustancia, y se producirá el antagonismo. Estas mismas modificaciones pueden mejorar la capacidad del receptor para el segundo agente, con lo cual ocurrirá un fenómeno de sensibilización o de potenciación (los IMAO sensibilizan los receptores a los simpatomiméticos).

Ambos fenómenos se presentan con tóxicos de naturaleza, incluso, muy similar, como son los compuestos organofosforados; al actuar conjuntamente diferentes miembros de esta familia química, se produce unas veces aumento y otras disminución de toxicidad.

En clínica se aprovecha la competencia por los receptores para interferir la acción nociva de sustancias endógenas o exógenas. Así, en el primer caso podemos utilizar anticolinérgicos, antihistamínicos, antiestrogénicos, betabloqueantes, etc., o,

en el segundo, usar atropina para controlar el síndrome muscarínico por tóxicos anticolinesterásicos (organofosfatos, prostigmina), o prostigmina en la parálisis por curare, o naloxano en la intoxicación por opiáceos (Tabla 9.9).

Algunos metales (hierro, litio, talio) enlentecen la entrada de fármacos a los órganos diana.

Interacciones funcionales

Aquí los fármacos no compiten por un mismo receptor, ni actúan sobre receptores antagonísticos, sino que lo hacen sobre el mismo sistema fisiológico en forma de una interferencia de carácter funcional. Consiste en la modificación de mecanismos distintos que desarrollan efectos clínicos en la misma dirección, como los anticoagulantes orales y el ácido acetilsalicílico, que suman sus efectos contra la hemostasia, al revés que los anticonceptivos, que los restan. Igualmente, hay potenciaciones del efecto de ansiolíticos, sedantes, antihistamínicos, betabloqueantes y reserpínicos por el alcohol; en sentido contrario, la suma de efectos estimulantes de las anfetaminas, cafeína, anticolinérgicos, etc.

Los antidepresivos tricíclicos se potencian con la reserpina, porque ésta libera serotonina y catecolaminas, con lo cual se alcanza considerable excitación.

En el sistema endocrino, el efecto de la insulina es aumentado por los salicilatos a grandes dosis y por los betabloqueantes, mientras que es antagonizado por los glucocorticoides, los anticonceptivos orales, las tiazidas y el dióxido.

El diurético furosemida aumenta la nefrotoxicidad de algunas cefalosporinas, mientras que la furosemida o el ácido etacrínico aumentan la ototoxicidad de los antibióticos aminoglucósidos.

Interacciones de medicamentos con alimentos

Las interacciones de medicamentos con los constituyentes de los alimentos son numerosas, y aunque algunas pueden ser beneficiosas, por aumentar la biodisponibilidad o disminuir los efectos secundarios (por ejemplo, afectación de la mucosa gástrica por los AINES, o las náuseas por los estrógenos), la mayoría son perjudiciales; recor-

Tabla 9.9. Potenciaciones y antagonismos de la neurotransmisión.

		SUSTANCIAS QUE:			
		Actúan sobre el receptor		Modifican las concentraciones del transmisor	
Neuro-transmisor	Receptor	Lo activan (mimetizan)	Lo inhiben	La aumentan	La disminuyen
Dopamina	Dopamina	Mezcalina Apomorfina	Fenotiazina	L-DOPA (precursor) Anfetaminas (secreción)	alfa-metil-paratirosina Reserpina (agota)
Noradrenalina	alfa	Fenilefrina	Fentolamina	Imipramina IMAO Cocaína	Reserpina (agota) alfa-metil-paratirosina (seudoprecursor)
	beta	Adrenalina	Propranolol		
Serotonina	Serotonina	5-metoxi-N, N-dimetiltryptamina	LSD Metisergida Difenhidramina	Tricíclicos Tryptófano (precursor)	p-clorofenilamina (inhibe hidroxilación del tryptófano)
Histamina	H ₁	2-metilhistamina	Dimenhidrinato	Histidina	Bromocresina
	H ₂	betazola	Cimetidina		
Acetilcolina	muscarínico (lento) nicotínico (rápido)	Pilocarpina Carbazol Nicotina	Atropina Escopolamina Propantelina Curarina Succinilcolina	Piridostigmina Organoforados	Toxina botulínica
Encefalina	Morfina	Morfina Metadona Meperidina			

daremos las más interesantes y dedicaremos por separado un apartado especial a las interacciones con el alcohol etílico (Tablas 9.10 y 9.11).

Diversos medicamentos estimulan el apetito, como los sedantes o tranquilizantes y antipsicóticos, antihistamínicos y antiserotoninérgicos, anticonceptivos orales, corticosteroides etc., mientras que son numerosos los fármacos que lo inhiben, bien porque produzcan excitación o porque provoquen náuseas o vómitos, como son las anfetaminas y sus derivados, los inhibidores de la MAO, los estrógenos, antineoplásicos, digitálicos, L-dopa, etc.

Las dietas ricas en grasas disminuyen la absorción y eficacia de los antivirales VIH, y antibióticos como penicilina y azitromicina, y al retrasar la evacuación gástrica permiten la acción destructora de su acidez sobre la eritromicina (lo que no afecta al estolato de eritromicina ni a la claritromicina); por el contrario, favorecen la absorción de medica-

mentos liposolubles, como griseofulvina, espirolactona, nitrofurantoína, teofilina, atovaquona, etc.

Las proteínas disminuyen la acción del antiulceroso sucralfato, y pueden formar complejos o quelatos con tetraciclina o fluoroquinolonas; es bien conocido que estos medicamentos también forman quelatos con el calcio de la leche y de los productos lácteos, al igual que con los antiácidos con magnesio, aluminio o calcio, cuyas absorciones deben guardar una separación de dos horas con la ingestión de alimentos. Las proteínas envejecidas presentes en alimentos madurados o fermentados, como quesos curados, embutidos, arenques, cerveza, vino tinto, etc., contienen altas proporciones de tiramina, histamina y otras aminas que pueden provocar crisis hipertensivas y hemorragias en enfermos tratados con inhibidores de la MAO, quienes no debieran ingerir tales alimentos hasta tres semanas después de interrumpida la medicación.

Tabla 9.10. Interacciones de medicamentos con alimentos.

Medicamento (nombre genérico)	Interacción con nutriente	Efectos	Recomendaciones
Acetaminofeno	Alimentos ricos en pectina (p-acetamol)	Retraso de la absorción (manzana, pera)	Tomar una hora o dos después de la comida
Acetazolamida	Lácteos, vegetales, almendras, castañas	Alcalinización de la orina, incrementa la reabsorción del fármaco	Ajustar la ingesta
Amikacina	Lácteos, vegetales, almendras, castañas Carne, pescado, crustáceos, mariscos, huevos, queso, tocino, manteca de cacahuete (maní), maíz, nueces, ciruela, pan, galletas, pastas, bizcochos	Alcalinización de la orina disminución de la actividad antibacteriana Acidificación de la orina, aumento de la actividad antibacteriana	Ajustar la ingesta
Anticoagulantes orales	Alimentos ricos en vitamina K (brócoli, coles, coles de Bruselas, espinacas, nabo, lechuga, etc.)	Antagonismo	Dieta equilibrada
Aspirina (uso crónico)	Alimentos/bebidas que contengan cafeína Jugos cítricos Alimentos en general	Gastritis Gastritis Retrasa la absorción	Limitar la ingesta de cafeína; algunos cafés descafeinados contienen sustancias también irritantes Ajustar la ingesta Con estómago delicado, tomar con un vaso de agua y con alimentos o leche
Captopril	Alimentos en general	Disminuye la absorción del medicamento	Tomar una hora antes o dos horas después de las comidas. Aumentar la ingesta de vitamina C
Carbamazepina	Alimentos en general	Incrementa la absorción del fármaco por aumento de la secreción biliar	Tomar con las comidas
Cefradina	Alimentos en general	Retrasa la absorción y reduce el pico de concentración sérica. Incrementa la acidificación del estómago con destrucción del antibiótico	Tomar con un vaso de agua una hora antes o dos horas después de las comidas. Evitar las frutas ácidas y el alcohol.
Ciclosporina	Con alimentos. Leche	Aumenta la disponibilidad	Tomar con alimentos
Ciprofloxacina	Alimentos y bebidas que contengan cafeína Alimentos en general	Efectos adversos inesperados. Retraso depuración de cafeína Disminución de la absorción y del pico de la concentración plasmática	Limitar la cafeína Tomar una hora antes o dos horas después de las comidas
Clinamicina	Alimentos ricos en pectina	Forma complejos que reducen absorción	Ajustar la ingesta de esos alimentos
Clorpromazina	Té o café	10% de la droga precipita, se une o cambia en café, 90% en té	No tomar con té o café

(Continúa)

Tabla 9.10. Interacciones de medicamentos con alimentos (*continuación*)

Medicamento (nombre genérico)	Interacción con nutriente	Efectos	Recomendaciones
Diazepam	Alimentos. Leche	Los alimentos, en general, aumentan disponibilidad	Tomar con alimentos pero no con leche ni antiácidos
Digoxina	Alimentos ricos en fibra y pectina	Formación de complejos que reducen absorción	Separar horario de tomas
Eritromicina succinato	Alimentos en general	Mejor absorción	Debe ser tomado durante o con las comidas
Eritromicina	Alimentos en general	Disminuye absorción del medicamento, alterando el tránsito y la motilidad GI.	Tomar con vaso de agua una hora antes o dos horas después de las comidas
Espirinolactona	Alimentos en general	Incrementa absorción y biodisponibilidad de la droga por solubilidad biliar	Tomar con las comidas
Fenitoína	Alimentos en general	Retrasa vaciamiento gástrico, aumenta la secreción biliar, mejorando la absorción	Tomar con las comidas
Fenobarbital	Lácteos, vegetales, almendras, castañas	Alcalinización de la orina e incremento de la reabsorción	Ajustar la ingesta de ciertos alimentos
	Dieta baja en proteínas.	Inhibición actividad citocromo P-450, incremento de la duración acción	Incrementar la ingesta de proteínas
Fluorquinolonas	Alimentos diversos con cationes: Ca, Fe, Mg, Zn	Complejos que disminuyen absorción el 50%	Separar ingestas 2 horas
Griseofulvina	Alimentos ricos en grasas	Incrementa absorción y solubilidad debido al incremento de la secreción biliar	Tomar con alimentos ricos en grasas, o suspender en aceite de maíz al menos que esté contraindicado
Hidralazina	Coadministración de alimentos	Menor primer paso, por bloqueo enzimático en intestino	
Hidroclorotiazida	Coadministración de alimentos Glutamato Monosódico (MGS)	Retrasa vaciado gástrico Los efectos adversos del MSG intensificados por diuréticos. Síndrome anginoso	Tomar con las comidas Evitar productos que contengan MGS
Hierro	Almidones, clara y yema de huevo, cereales, fibra, y leche	Disminuye la absorción por formación de complejo con el nutriente	Ajustar la ingesta de aquellos alimentos Tomado con las comidas evita irritación
IMAO (fenelcina, isocarboxácida, tranilcipronina)	Alimentos envejecidos o fermentados con tiramina (quesos, embutidos, ahumados, vinos, etc)	Crisis hipertensivas	Evitar estos alimentos durante el tratamiento
Imipramina	Carne, pescado, crustáceos, huevo, queso, manteca de cacahuet (maní), maíz, tocineta, nueces, ciruelas, pan, galletas, pastas, bizcocho	Acidificación de la orina, incremento de la excreción del medicamento	Ajustar ingesta de los citados alimentos

(Continúa)

Tabla 9.10. Interacciones de medicamentos con alimentos (*continuación*)

Medicamento (nombre genérico)	Interacción con nutriente	Efectos	Recomendaciones
Levodopa	Proteínas	Los aminoácidos compiten en la absorción	Separar ingesta de proteínas
Litio	Alimentos en general	Retrasa el vaciamiento gástrico y el tiempo de tránsito GI. Incrementa absorción	Contrarrestar el efecto laxante tomándolo al final de las comidas. Beber bastante agua al día
	Dieta baja en sal	Reducción de la excreción de litio (más del 50%) e incremento de la toxicidad	Evitar cambios sustanciales en la ingesta de sodio
	Bebidas y alimentos que contengan cafeína	Reducción de la eficacia de la droga	Limitar cafeína
Loxapina	Alimentos en general		Tomar con vaso de agua en las comidas
Metildopa	Aminoácidos neutros	Competición en penetración a barrera hematoencefálica.	Ajustar la ingesta de alimentos ricos en proteínas
Metrorexato	Lácteos, vegetales, almendras, castañas	Alcalinización de la orina e incremento de la excreción.	Ajustar la ingesta de alimentos.
Nitrofurantoina	Alimentos en general	Retrasa el vaciamiento gástrico e incrementa la producción de bilis y aumento de la disolución y absorción	Tomar con comida
	Dieta baja en proteína, lácteos, vegetales, almendras, castañas	Alcalinización de la orina con incremento de la excreción de la droga	Ajustar ingesta de aquellos alimentos
Penicilina oral	Alimentos	Disminuyen absorción	Separar ingestas 2 horas
Propranolol	Alimentos en general	Reducción del primer paso hepático e incremento de la absorción	
Quinidina	Lácteos, almendras, castañas, etcétera	Alcalinización de la orina; incremento de la toxicidad.	Ajustar la ingesta de ciertos alimentos
Riboflavina	Alimentos en general	Incremento de la absorción; retraso vaciamiento gástrico y del tránsito GI.	Tomar durante las comidas
Teofilina	Dieta alta en proteínas o baja en carbohidratos	Incremento actividad del citocromo P-450; reducción vida media de la droga	Ajustar dieta
	Dieta alta en grasas	Aumento absorción y efecto	Tomar medicación 1 h antes
	Carne a la barbacoa	Aumenta metabolismo hepático/decremento de la vida media	Evitar comidas a la barbacoa
	Bebidas con cafeína	Excitación	Limitar cafeína
Tetraciclina	Lácteos y hierro	Forman quelatos, con disminución absorción	Separar ingestas 2 h
Tiamina	Alimentos en general	Disminución absorción y motilidad GI ; aumenta el tiempo de tránsito	Tomar una hora o dos después de las comidas

Tabla 9.11. Interacción del alcohol étílico con los medicamentos.

Medicamentos	Efectos
Cefalosporina Cianamida Cimetidina Cloranfenicol Clorpropamida Disulfiram Griseofulvina Ketoconazol Metronidazol	Aumentan efecto del alcohol o del acetaldehído al inhibir el metabolismo de estos Síndrome conocido como <i>efecto antabús</i> o <i>disulfiram</i>
Aspirina	Lesiones en mucosa gástrica. Aumento tiempo de hemorragia. Hepatotoxicidad
Anticoagulantes Ciclosporina Clometiazol Clorpromazina Difenilhidantoína	Aumento del efecto del medicamento (inhibición de biotransformación)
Ansiolíticos (benzodiazepinas) Antihistamínicos Barbitúricos Carbamazepina Clorpromazina Opiáceos	Potencian su efecto depresor. Riesgo de depresión respiratoria
Hipotensores	Hipotensión postural
Antidiabéticos orales Penicilina Rifampicina Warfarina	El consumo crónico de alcohol induce enzimas que aumentan la biotransformación del medicamento: menor efecto; Tolerancia
p-acetamol	Consecuentemente, riesgo de hepatotoxicidad por metabolito.
Alopurinol Hidralazina Hidroclorotiazida Imipramina Insulina Metrotexato	El etanol aumenta el ácido úrico en sangre Gran hipotensión. Hipotensión postural Potenciación del efecto diurético Alteración del comportamiento Severa hipoglucemia Potenciación de la hepatotoxicidad
Cocaína	Formación de etilcocaína, fuertemente hepatotóxica

Observaciones: Los efectos agudos aparecen con tomas de más de dos UBE de alcohol.
Las inducciones enzimáticas se observan en el consumo crónico de alcohol.

Los alimentos vegetales con alto contenido en vitamina K (col, remolacha, lechuga, guisantes, aguacate o te y el hígado) disminuyen la actividad de los anticoagulantes orales, como warfarina o acenocumarol. Los ajos disminuyen la acción de los inhibidores de las proteasas (antiVIH) y otros antivirales, en tanto que aumentan el efecto de los antidiabéticos orales, con riesgo de hemorragias en los que toman cápsulas de extracto de ajos. La soja

anula la acción antiestrogénica del tamoxifeno, empleado en el control del cáncer de mama, pero incrementa la toxicidad de haloperidol, warfarina, etc. El zumo de naranja, con su vitamina C, incrementa la absorción de hierro, en tanto que el pomelo (toronja), como se expone más adelante, aumenta la toxicidad, y no debe consumirse simultáneamente, de antagonistas del calcio (hipotensores), antihistamínicos y antirrechazo de trasplantes.

El regaliz, por su contenido en ácido glicírrico, de actividad similar a la aldosterona, produce retención de líquidos y de sodio, con pérdida de potasio; anula a los hipotensores diuréticos tiazídicos y betabloqueadores.

Como efectos inversos, puede consignarse que los medicamentos antiácidos disminuyen la absorción de hierro, vitaminas B₁, D y K, y de ácido fólico. Y los laxantes grasos impiden la absorción de las vitaminas liposolubles, A, D, E y K y otros medicamentos lipófilos, mientras que los que contienen aluminio impiden la absorción de fosfatos y de vitamina A.

Caso particular del alcohol etílico

Especial interés, por la extensión de su consumo y por la gran cantidad de mitos que se difunden relacionados con él, presenta el comportamiento del alcohol etílico, que es muy diferente cuando ese consumo es ocasional o agudo (se considera este último cuando se ingieren más de 1-2 *unidades de bebida estándar*, UBE, de 10 gramos de etanol, cantidad media en un vaso de cerveza o de vino; los de destilados, aguardientes o licores contienen un múltiplo de ella) frente a cuando es habitual o crónico, y que puede presentarse en cualquiera de los tres mecanismos de interacción que hemos considerado (véase Tabla 9.11).

En primer lugar, la toma simultánea de alcohol y analgésicos o antiinflamatorios tipo aspirina o no esteroideos (AINES), aumenta el riesgo de daños y hemorragias en la mucosa gástrica y duodenal. Por otra parte, como neurodepresor, el etanol enlentece el vaciamiento gástrico y la absorción de las sustancias que lo hacen en el intestino.

Si no hay incompatibilidad fisicoquímica, lo que no es frecuente porque la mayoría de los medicamentos y drogas de abuso son solubles en etanol, la ingestión de alcohol al mismo tiempo que medicamentos puede favorecer la disolución de estos, su absorción y distribución (biodisponibilidad) y su entrada en el sistema nervioso central, lo que significa un riesgo adicional de los psicofármacos, por incremento de la intensidad del efecto neurodepresor. Esta es una de las causas por las que el alcohol incrementa la acción de los psicodepresores (antihistamínicos H₁, barbitúricos, benzodiazepínicos, carbamatos, fenotiazinas, glutetimida, etc.), además de potenciarse el efecto de ambos

por mecanismo sinérgico; por esta razón también aumenta la vasodilatación y la hipotensión con nitroglicerina, betabloqueantes, etc.). Por último, al ser la biotransformación del etanol más simple que la de otros compuestos, en caso de coincidencia se establece una competencia por las enzimas intervinientes, con preferencia hacia el etanol y retraso en el catabolismo de otros, que ven aumentada su permanencia ($t_{1/2}$) y también la del propio alcohol; esto ocurre con la cimetidina (anti H₂), meprobamato, p-acetamol, verapamilo, etc. y con los alimentos grasos.

El consumo ocasional o agudo puede causar la inhibición de enzimas que participan en la biotransformación de medicamentos y dar lugar a mayor tiempo de permanencia ($t_{1/2}$) y concentración hemática (biodisponibilidad) de fármacos como antihistamínicos, benzodiazepinas, ciclosporinas, clometiazol, clorpromazina, fenitoína, fenobarbital, opiáceos, etc.

Por el contrario, tanto en el consumo agudo como crónico de etanol, la toma concomitante de los medicamentos disulfiram (Antabus®), disulfuro de bis(etiltiocarbamoilo) o cianamida cálcica (Carbimida®), también usada como fertilizante agroquímico, e inductora de efectos, por contaminación en los trabajadores expuestos, en ocasiones origen del llamado *mal del lunes*, si beben abundantemente en el fin de semana). Al ser estos productos inhibidores de la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH), se interrumpe la biotransformación del etanol en su primer metabolito, el acetaldehído, que se acumula y causa vasodilatación, hipotensión, náuseas, vómitos, sudoración, rubefacción, etc., síndrome desagradable buscado para la deshabitación de los bebedores, y que se conoce como *efecto antabus*, y se presenta también con cefalosporinas, clorpropamida, ketconazol, nitroimidazoles, sulfonilureas etc.

El consumo simultáneo de alcohol y el citostático y antiinflamatorio metrotexato potencia la hepatotoxicidad de ambos; asimismo, alcohol y cocaína permiten la formación en el hígado de etilcocaína o etilbenzoilecgonina, incorrectamente llamada «cocaetileno», muy hepatotóxica.

La ingesta habitual o crónica de etanol origina inducción de enzimas implicadas en su biotransformación (oxidasas) que, al participar también en la eliminación de otras sustancias, favorece la más rápida desaparición de estas (disminuye biodisponibilidad y $t_{1/2}$) y su menor actividad terapéutica;

esto ocurre con antidiabéticos orales, cumarinas, fenitoína, p-acetamol, rifampicina, warfarina, etc. La más rápida tasa de biotransformación del p-acetamol en su metabolito activo benzoquinonimina, puede conducir a lesión hepática-toxicidad.

SINERGISMO, ADICIÓN Y POTENCIACIÓN

Son conceptos que a menudo se emplean erróneamente estimándolos como sinónimos.

Sinergia es palabra griega que significa la cooperación de dos agentes a un mismo fin; de esta cooperación podrá resultar un efecto equivalente a la suma del propio de cada agente (sinergia aditiva) o un efecto aún mayor (sinergia de potenciación). Estas variaciones de la resultante pueden aparecer incluso al incrementar la dosis de una misma sustancia.

La curva de dosis-efecto de una sustancia nos hace ver que cuando se duplica una dosis no se multiplica por dos el efecto; unas veces el efecto es mayor y otras es menor al doble.

Veamos el ejemplo representado en la gráfica de la Figura 9.2.

Al administrar una dosis simple (1) se obtiene el 10 % de efecto máximo, pero con una dosis doble (2) se logra un efecto del 40 %; con una dosis séxtuple, triple que esta última, sólo se consigue el 90 por 100. Se ve por tanto que:

El aumento de los efectos no se corresponde linealmente con los de las dosis. Por debajo del 50 % del efecto máximo, los efectos conseguidos son superiores a lo que corresponderían, mientras que por encima del 50 % la relación efecto-dosis disminuye.

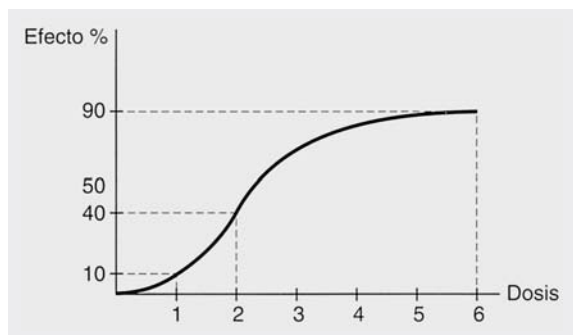


Figura 9.2.

En la primera fase de la curva se habla de un efecto «aditivo» o de «potenciación», que también aparece cuando se administran simultáneamente, o con poca diferencia de tiempo, dos fármacos distintos. Entonces, el efecto aparecido puede ser muy superior a la suma de los efectos propios de las dos dosis tomadas independientemente.

La modificación del efecto es más evidente, y muy importante en farmacología y en toxicología, cuando dos o más sustancias combinan sus acciones tras ser absorbidas simultánea o próximamente (absorción concomitante). En la Figura 9.3 podemos observar cómo varía el efecto en función de la dosis de una sustancia A, cuando está sola o cuando está presente una dosis fija de una sustancia B; podrían obtenerse distintas curvas dosis-efecto de A con dosis variables de B. También podemos comparar las curvas de la evolución, en el tiempo, del efecto de una dosis única de A, de B, y de A + B (Fig. 9.4).

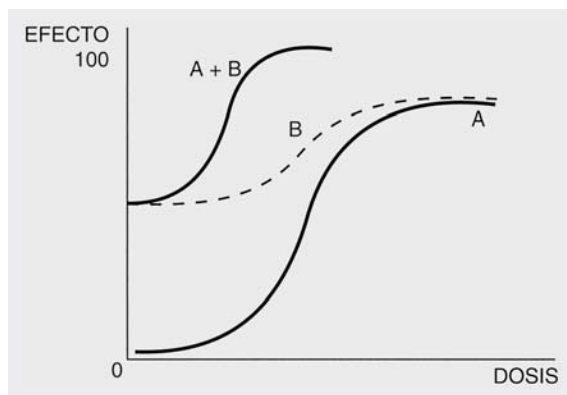


Figura 9.3.

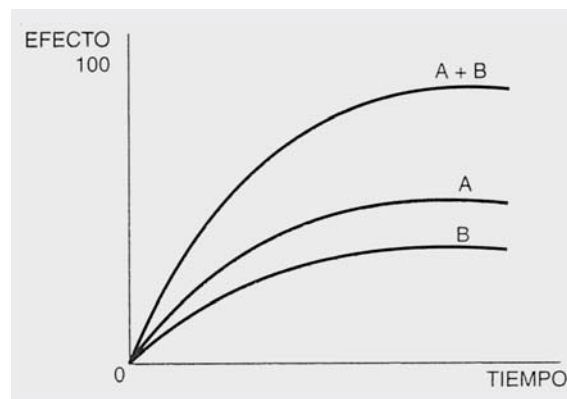


Figura 9.4.

Antagonismo $7 + 8 = 5$	Efecto aditivo $7 + 8 = 15$	Potenciación $7 + 8 = 50$
-----------------------------------	---------------------------------------	-------------------------------------

Figura 9.5. Posibilidades de interacción (antagonismo o sinergia aditiva o de potenciación) de dos productos que, por separado, producen efectos de 7 y 8, respectivamente.

En resumen, para expresar gráficamente las posibilidades de interacción de dos fármacos, antagonismo o sinergia (con efecto aditivo o de potenciación), podemos considerar que, si una dosis determinada de un fármaco A produce, aisladamente, un efecto 7, mientras que otra dosis de un producto B produce, también por separado, un efecto 8, cuando se administran ambas dosis simultáneamente, pueden obtenerse tres resultados: que el efecto conjunto sea menor (antagonismo), que sea suma o que sea mayor (Figura 9.5).

Finney (1971) propuso un modelo para calcular la toxicidad aguda teórica de varias sustancias que se absorben simultáneamente. Las sustancias deben actuar sobre los mismos receptores y producir similar tipo de efecto tóxico agudo, y deben tener paralelas sus líneas de regresión de probits frente a logaritmos de dosis. Si f_A , f_B , f_C son las fracciones absorbidas de cada producto, la dosis letal media de la mezcla vendrá dada por:

$$\frac{1}{DL-50m} = \frac{f_A}{DL-50_A} + \frac{f_B}{DL-50_B} + \frac{f_C}{DL-50_C}$$

Cuando los resultados prácticos proporcionan $DL-50m$ superiores o inferiores al calculado puede hablarse de antagonismo o de potenciación.

YATROGENIA

Esta palabra procede de la griega *yatros*, médico, y se refiere a acciones producidas por el médico o por los medicamentos.

La enorme posibilidad de producción de reacciones medicamentosas indeseables o perniciosas, en un ambiente cultural donde se abusa de la polifarmacia, origina una de las formas más frecuentes de yatrogenia (véase Capítulo 2; Tabla 9.12).

Para reducir este peligro, las autoridades sanitarias de todos los países se esfuerzan en recomendar

la más cuidadosa prescripción y la elaboración de medicamentos con el menor número posible de agentes activos. Además, se están estableciendo, con carácter nacional y en cada uno de los centros hospitalarios, los llamados servicios de Farmacovigilancia y de Toxicovigilancia, encargados de registrar y computarizar todas las reacciones indeseables o extrañas apreciadas en los tratamientos farmacológicos, junto con todas las circunstancias relacionadas. Con los resultados de estas estadísticas retrospectivas se pretende alertar a los médicos y a toda la población sobre los peligros del uso indiscriminado, irresponsable o abusivo de los fármacos y, muy especialmente, de las reacciones entre los medicamentos y entre éstos y los alimentos y los contaminantes ambientales, o de productos tóxicos introducidos en el mercado.

Por su gran interés y utilidad reproducimos seguidamente las diez certeras recomendaciones que la revista *Drug Safety News* (3 de julio de 1985) hizo a los médicos clínicos.

DECÁLOGO PARA EL MÉDICO QUE RECETA

1. Recetarás el menor número de medicamentos que puedas.
2. Conocerás bien los medicamentos que recetas.
3. No cambiarás fácilmente un medicamento que conoces por otro que desconoces: y si te decides a usar un medicamento nuevo, antes te familiarizarás con su farmacología, sus interacciones, su metabolismo y sus efectos indeseados.
4. No te privarás de consultar libros y datos que tratan de reacciones e interacciones medicamentosas. Ningún médico o farmacólogo, ni siquiera un especialista en farmacología clínica, puede recordar sin consultarlos todas las reacciones.
5. Serás especialmente cauto cuando recetes medicinas que producen muchas y variadas interacciones, tales como los anticoagulantes y los antiagregantes orales, los antiinflamatorios y los que actúan sobre el sistema nervioso central.
6. Examinarás de vez en cuando la lista de medicamentos que está recibiendo tu paciente. Si la lista se está haciendo demasiado larga, procurarás aligerarla de algún medicamento. Si no te pareciera posible, vuelve a repasar la lista, teniendo bien a la vista las interacciones medicamentosas.

Tabla 9.12. Ejemplos de interacción de medicamentos.

A	B	Aumento	Dismin.	Acción	Mecanismo
<i>Alcanilizantes</i>	Aminofilina Aminopirina Digoxina Penicilina Prometazina Xantinas	 + + +	 + 	Potenciación Potenciación	Disminución de la excreción Disminución de la excreción Disminución de la absorción Disminución de la excreción Disminución de la excreción Disminución de la excreción
<i>Analgésicos</i> Acetilsalicílico	Diazepam Insulina Hidantoína	 + + +	 	Depresión del SNC Hiperglucemia	Desplazamiento de las proteínas plasmáticas Desplazamiento de las proteínas plasmáticas Desplazamiento de las proteínas plasmáticas
Pentazocina Fenilbutazona	Meperidina Dipirona	 	 + +	Efecto analgésico Efecto analgésico	Antagonismo Aumento del metabolismo
<i>Anestésico</i> Gamma OH	Diazepam Fentanilo Pentazocina	 + + +	 	Depresión del SNC Depresión respiratoria Depresión del SNC	
<i>Antibióticos</i> Cloranfenicol	Aminopirina Fenobarbital Glibenclamida Penicilina	 	 +	Potenciación Potenciación Hipoglucemia	Inhibición enzimática Inhibición enzimática Inhibición enzimática Inhibición enzimática
<i>Anticolinérgicos</i> Atropina	Reserpina		+	Efecto antisecretor	Antagonismo
<i>Antiepilépticos</i> Aminopirina	Insulina	+		Hipoglucemiante	Desplazamiento de las proteínas
<i>Antihistamínico</i> Prometazina	Estreptomina Prednisona	 +	 +	Relajación muscular Efecto corticoide	Inducción enzimática
<i>Barbitúricos</i>	Dipirona Pentazocina Cumarinas Anticonceptivos	 	 + + +	Efecto analgésico Efecto analgésico Efecto anticoagulante Efecto anovulatorio	Inducción enzimática Inducción enzimática Inducción enzimática Inducción enzimática
<i>Corticosteroides</i>	Furosemda Lanotósido C Insulina Nortriptilina	 + + + +	 	Toxicidad Hiperglucemia Sedante	Desplaz. del potasio Desplazamiento del potasio Antagonismo Inhibición metabólica
<i>Diuréticos</i> Furosemda	Digoxina	+		Toxicidad	Desplazamiento del potasio
<i>Sulfamidas</i>	Insulina	+		Hipoglucemia	Desplazamiento de las proteínas
<i>Vasodilatadores</i> Aminofilina	Broncodilatad. Dopamina	 +	 	Potenciación Relajación muscular	
<i>Vitaminas</i> B ₆ C	Tetraciclina Hierro	 +	 	Efecto antibiótico	Descomposición
<i>Varios</i> Disulfiram Inhibidor MAO	Warfarina Barbitúricos Fenindiona Tiramina	 + + + +	 	Efecto anticoagulante	Inhibición metabólica Inhibición metabólica

7. Tendrás presente las interacciones de las medicinas con algunos alimentos, con el alcohol e incluso con algunos productos químicos de uso casero.

8. De vez en cuando analizarás con tu paciente todos los medicamentos que está tomando, en particular los que se venden sin receta.

9. Serás especialmente cauto cuando recetes a niños o ancianos, a los pacientes que están graves y a los que tienen una nefropatía, pues los efectos indeseados son más frecuentes en estos grupos de pacientes.

10. Si alguno de tus pacientes presenta signos que no encajan en la evolución habitual de su enfermedad, pensarás en la posibilidad de una reacción o de una interacción medicamentosa. Bien puedes encontrar ahí la respuesta.

BIBLIOGRAFÍA

- Bada J, Salva M. *Reacciones adversas de los medicamentos y enfermedades yatrogénicas*. Barcelona: Ed. Toray, 1980.
- Baker S, Neuhaus G. *Toxicological problems of drug combinations*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1972.
- Baxter K. *Interacciones Farmacológicas*, 2.ª ed. española, Pharma Editora S.L., Barcelona, 2007.
- Clurr LE, Petrie JC. *Clinical effects of interaction between drugs*. Nueva York: Excerpta Medica, 1974.
- Finney DG. *Probit analysis*, 3.ª ed. Londres; Cambridge University Press, 1971.
- Flórez J. *Información Terapéutica de la Seguridad Social*. Instituto Nacional de la Salud. Madrid, vol. 5, núm 1. 1991.
- Flórez J, Mediavilla A, Armijo JA (eds.). *Farmacología humana*. 4ª ed. Barcelona. Masson, 2003.
- Maiques A, Franch M, Fluixa C. Estatinas: eficacia, seguridad e indicaciones. *Inf. Terapéut. Serv. Nal. de Salud*. Madrid. 28, 4, 89-100. 2004.
- Mengual A, Gila JA. Interacciones del alcohol con fármacos. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 1994; 18, 3: 76-81.
- Morselli PL, Cohen S, Garattini S. *Drug interactions*. Nueva York: Raven Press, 1974.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Farmacología*, 5ª ed., Madrid, Elsevier. 2004
- Repetto M. Toxicología del alcohol etílico. En: M. Repetto (ed.) *Ampliación de Toxicología de Postgrado*. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla, 2007.
- Repetto M. Toxicología del etanol. En: M. Repetto *et al.* (eds.) *Toxicología avanzada*. Madrid. Díaz de Santos, 1995.
- Salazar E, Pimentel E. Interacciones entre alimentos y fármacos. *Acta Odontológica Venezolana*. Caracas, 40, 2002.
- Soda T. *Drug-induced sufferings: medical, pharmaceutical and legal aspects*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980.
- Varios. *Interaction of alcohol and other drugs*. Toronto: Addiction Research Foundation, 1972 y 1973.
- Walsh CT, Schwartz-Bloom RD. *Levin's Pharmacology*, 7º ed., New York, London. Taylor & Francis. 2005.

10

ANTAGONISTAS Y ANTÍDOTOS

La teoría de los receptores conduce a dos conceptos, en relación con las sustancias farmacológicamente activas: el agonista y el antagonista.

El agonista o efector es el fármaco o, para nosotros, el tóxico, agente químico con afinidad para algún receptor biológico, sobre el que provoca una modificación de su actividad fisiológica. Estos receptores podrán ser enzimas o membranas especializadas.

Como vimos en el Capítulo 6 (Toxicidad selectiva), la potencia de los agonistas depende de dos cualidades: la *afinidad*, capacidad fisicoquímica para unirse al receptor, y la *eficacia*, capacidad para producir cambios o acciones sobre el receptor, que se manifestarán como efectos.

En consecuencia, el antagonista será el fármaco que se oponga a la acción del agonista. Pero esta oposición se podrá realizar por dos mecanismos: compitiendo con el agonista por el receptor, o estimulando una actividad orgánica contraria a la inducida por el tóxico, para que anule o supere ésta.

Deducimos, pues, que habrá dos tipos de antagonistas, los específicos y los inespecíficos.

Los antagonistas específicos son los que actúan sobre el mismo receptor que el agonista, compitiendo con él, de forma que prevalecerá el que se halle en mayor cantidad; es decir, el resultado será función de las concentraciones respectivas (ley de acción de masas).

El antagonista específico puede bloquear el receptor antes de que lo haga el agonista, o desplazar a éste de su unión, interrumpiendo la acción tóxica.

Por su parte, el *antagonista inespecífico* no actúa sobre el mismo receptor que el agonista, sino sobre otro muy diferente, en el cual produce una acción que se opone a la originada por el tóxico.

Cuando la sustancia que se opone al efecto tóxico lo hace actuando no sobre los receptores biológicos, sino sobre el propio tóxico, tenemos el *antídoto*. De esta forma el antídoto se enfrenta a la acción del tóxico por inactivación o impidiendo su conexión con los receptores; así, el antídoto puede realizar una neutralización tipo acidobásica, o destruir un compuesto por oxidación (alcaloides o cianuro por permanganato potásico, en el estómago), o impedir su paso a la sangre por adsorción superficial (carbón activo o arcilla), o por absorción (albúmina, clara de huevo, aceites minerales), o bloquear la unión con los receptores por formación de un complejo molecular o quelato, que además, por ser hidrosoluble, puede ser excretado por el riñón.

En consecuencia, pueden resumirse los mecanismos de actuación de los antagonistas, como sigue:

— *Antagonismo químico*, por inactivación o destrucción del tóxico; entonces el antagonista se denomina *antídoto*. Ejemplos: compuestos básicos débiles frente a los ácidos, oxidantes, anticuerpos específicos, etc.

— *Antagonismo toxicocinético*: el antagonista modifica alguna de las fases toxicocinéticas (absorción, distribución, biotransformación, eliminación) del tóxico. Ejemplos: carbón activo, quelantes, inhibidores enzimáticos, diuréticos, laxantes. Estos antagonistas son también antidotos al actuar sobre el tóxico.

— *Antagonismo competitivo*: el antagonista compite con el tóxico por los mismos receptores, e incluso es capaz de desplazarlo si ya estuviese unido. Ejemplo, oxígeno para el monóxido de carbono, oximas frente a los organofosforados (Ríos *et al.*, 2005).

— *Antagonismo fisiológico*: el antagonista actúa sobre otros receptores y provoca efectos distintos a los del tóxico, contrarrestándolos. Ejemplos: atropina frente a inhibidores de la acetilcolinesterasa.

PRINCIPIOS GENERALES PARA EL EMPLEO DE ANTÍDOTOS Y ANTAGONISTAS

Recordemos que el efecto de un tóxico es dependiente de la dosis o, más exactamente, de la concentración del producto en el lugar de los receptores o zona de acción. Pero esta concentra-

ción es, a su vez, función del tiempo, en un doble sentido: a) el de la velocidad de llegada del tóxico al lugar (a mayor velocidad, mayor concentración se alcanzará y mayor será el número de receptores afectados), y b) en un sentido contrario, la velocidad de eliminación o inactivación del tóxico. En definitiva, por encima del umbral de toxicidad, para una concentración dada, el efecto dependerá del tiempo de contacto.

Si representamos sobre unos ejes, en ordenadas las concentraciones del tóxico en el lugar de los receptores, y en abscisas el tiempo en que ocurre el contacto tóxico-receptor, podremos marcar un área, sobre el umbral de toxicidad, que representa el tiempo en que se presenta el mayor efecto tóxico (Fig. 10. 1).

Existirán tres posibilidades de reducir el área de la zona sombreada:

A) Disminuir la pendiente del tramo ascendente de la curva (Fig. 10.2). Esto significa, en la práctica, impedir que se absorba tóxico aún no absorbido, mediante neutralizadores, precipitadores, etc. (antídotos), o acelerando la excreción mediante eméticos o catárticos (antagonistas).

B) Disminuir la pendiente de la porción descendente, lo cual significa actuar sobre el tóxico ya

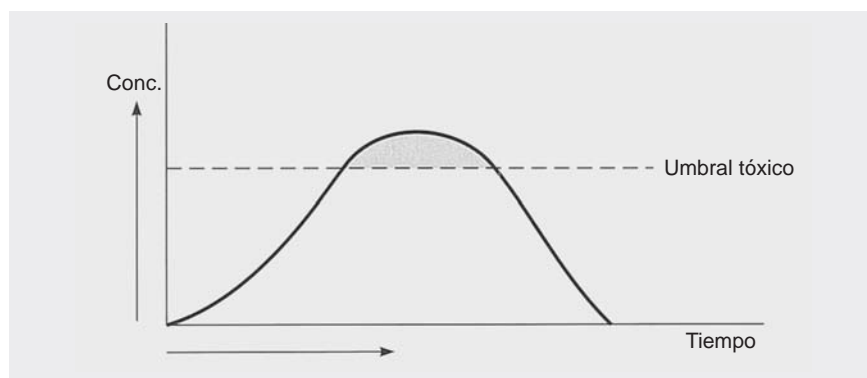


Figura 10.1. El área sombreada representa la acción tóxica.

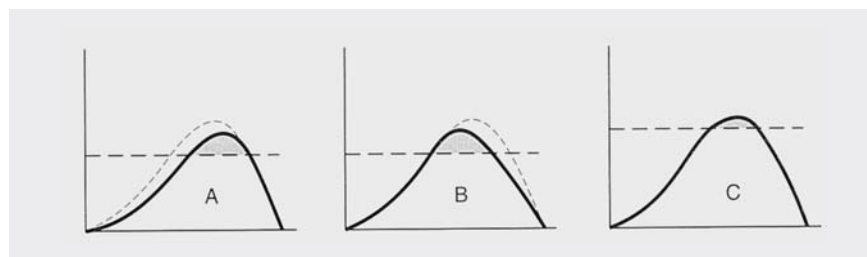


Figura 10.2. Tres formas de disminuir el efecto tóxico.

absorbido, mediante inactivación o bloqueo (antídotos) o bien acelerando su eliminación por vía renal o pulmonar (antagonistas).

C) Elevar el umbral de toxicidad, de manera que una misma concentración de producto origine menos efecto. Esto requiere el empleo de sustancias que antagonicen el efecto del tóxico.

Entre el vulgo, e incluso entre personal sanitario, es frecuente la idea de que cada tóxico posee un antídoto específico; pero en la práctica no se dispone de un verdadero antídoto o un antagonista en más del 2 por 100 de las intoxicaciones. También es muy frecuente encontrar en la bibliografía confusamente mezclados antagonistas y antídotos.

Procuraremos clasificarlos, para lo cual nos atenderemos a sus respectivas definiciones.

Así, si el antídoto actúa sobre el tóxico y lo inactiva o impide su acción, podrá realizar esto por varias vías (Tabla 10. 1):

a) Destrucción del tóxico: neutralización, oxidación, reducción e hidrólisis.

b) Bloqueo: impidiendo su paso a la sangre o su acción sobre los receptores: dilución, adsorción, absorción, insolubilización o precipitación, quelación (complejos solubles inactivos).

c) Transformación en producto menos tóxico.

De la misma manera, los antagonistas se oponen a la acción del tóxico (Tabla 10.2) por los siguientes mecanismos:

a) Favoreciendo su eliminación.

b) Competiendo en su metabolismo, para que no se formen metabolitos más tóxicos.

c) Competiendo con el tóxico por los receptores específicos.

d) Recuperando o superando el defecto funcional.

PRINCIPALES ANTAGONISTAS

Correspondiente al grupo 1 de mecanismos de acción (Tabla 10.2), entre los agentes que favorecen la eliminación, se está usando una disolución de polietilenglicol (PEG) (60 g/l), que contiene, además, sulfato, bicarbonato y cloruro sódicos y cloruro potásico en forma isotónica; reduce en más

del 50 por 100 la absorción de muy diversos tóxicos (medicamentos, metales, cocaína en *body packers*, etc.) ingeridos; administrado en gran cantidad (4-6 litros) por vía oral o nasogástrica, a lo largo de varias horas, obliga a la excreción por vía rectal. Debe vigilarse la hipoglucemia y la alcalosis metabólica.

Una forma especial de antagonistas son los antagonistas metabólicos o antimetabolitos. Se trata de sustancias de estructura química muy parecida a la de compuestos naturales que, en el organismo vivo, constituyen un eslabón en los procesos de síntesis de sustancias fundamentales para la vida o la reproducción celular. Aunque son sustancias de más interés farmacológico que toxicológico, merecen ser recordadas.

Así, tenemos el metotrexato, análogo del ácido fólico, cuyo aprovechamiento impide, al inhibir la enzima folicorreductasa, que es la encargada de transformarlo en ácido folínico, coenzima o vitamina necesaria para la síntesis de las bases pirimídicas, el crecimiento de células neoplásicas.

Las sulfamidas son análogos del ácido paraminobenzoico, al que sustituyen en la síntesis del ácido fólico, y la interfieren, impidiendo así el crecimiento bacteriano (quimioterapia).

La mercaptopurina, análoga a la base púrica hipoxantina, compete con ésta en la cadena metabólica de síntesis de los ácidos nucleicos. De la misma manera, el fluoracilo, derivado fluorado de la correspondiente base pirimidínica, compete con ésta en la biosíntesis de los ácidos nucleicos, bien por inhibición de la enzima timidilato-sintetasa, o bien por la formación de un ácido ribonucleico anómalo, que interrumpe la cadena biosintética. Entre otros antimetabolitos, citemos la p-clorofenilalanina, la alfa-metilparatirosina y el ácido fusárico.

La primera bloquea la enzima triptofanohidroxilasa, interfiriendo la conversión de triptófano en 5-hidroxitriptófano, lo cual impide la formación de serotonina. Aunque en el hombre no se han obtenido resultados claros, la administración de p-clorofenilalanina a animales produce vigilia prolongada.

La alfa-metilparatirosina (AMPT) y el ácido fusárico afectan a la enzima tirosinahidroxilasa, interrumpiendo la biosíntesis de dopamina y norepinefrina. Y como se ha afirmado que los fármacos que bloquean los receptores de la dopamina mejoran los efectos de la privación de morfina, se

Tabla 10.1. Clasificación de los antidotos por su mecanismo de acción

Tóxico sobre el que actúa	Antídoto
Mecanismo I. Destrucción o transformación química	
a) Neutralización	
a) De ácidos	Jabones, bicarbonatos, hidróxidos cálcico, magnésico o aluminico.
b) De álcalis	Limón, vinagre; ácidos cítrico o acético, 1%.
b) Oxidación	
Alcaloides	Permanganato potásico, 1:10.000.
Cianuro	Permanganato potásico, 1:10.000.
c) Reducción	
Fósforo	Sulfato de cobre al 0,2%.
d) Hidrólisis	
Cocaína	Anticuerpos catalíticos monoclonales (Landry <i>et al.</i> , 1993).
Mecanismo II. Bloqueo	
a) Dilución para disminuir la concentración, procurando utilizar sustancias no asimilables.	
Caústicos, alcohol	Agua, leche. (actualmente proscrito, véase Cap. 16)
Disolventes, fósforo	Aceite mineral.
Insecticidas	Aceite mineral.
Medicamentos, drogas, metales	Polietilenglicol.
b) Adsorción	
Tóxicos diversos	Carbón activo, 5-50 g.
Alcaloides, toxinas	Caolín, alúmina.
c) Absorción	
Metales, caústicos	Agua albuminosa.
Diversos	Resinas de cambio iónico.
d) Insolubilización, precipitación	
Ba	Sulfato sódico, 0,3 g/kg.
Hg, Bi	Rongalita (formaldehído-sulfoxilato sódico), 5%.
Nitrato de plata	Cloruro sódico.
Heparina	Protamina.
Oxálico, fluoruro	Calcio Gluconato, 10 ml al 10%, iv.
Digoxina, colchicina	Anticuerpos FAB.
Antidepresivos tricíclicos	
Biotoxinas	Antitoxinas (antisueros)
e) Quelación	
As, Hg, Au	BAL, DMSA, 5 mg/kg cada 4 horas.
Pb, U, Pu	BAL, EDTA, DTPA, Penicilamina.
Cu	Penicilamina, EDTA.
Fe, Al	Desferroxiamina, 5 g/kg oral, después goteo 20 mg/kg cada 12 h.
Ta	Dietilditiocarbamato, 30 mg/kg/día.
Mecanismo III. Transformación en producto menos tóxico	
Cianuro	Tiosulfato, 10 % iv. lento.
Cianuro	Metahemoglobina, Hidroxicalamina, EDTA, Co ²⁺ .
Formaldehído	Amoníaco, 0,2 %.
Detergentes catiónicos	Jabón.
Yodo	Almidón, 10 %.

Tabla 10.2. Clasificación de los antagonistas por su mecanismo de acción

Tóxico	Antagonista
Mecanismo I. Favorecen la eliminación	
a) Eméticos	Ipecacuana, apomorfina.
b) Purgantes	Sulfato sódico o magnésico. Disolución de polietilenglicol. Xantinas, tiazidas, perfusiones de manitol, urea, etc.
c) Diuréticos	
d) Desplazadores	
Gases	Oxígeno.
Bromuro	Cloruro, 5 g/ al día.
Sr, Ra	Calcio.
Mecanismo II. Evitan o retrasan la formación de metabolitos más tóxicos por competencia metabólica	
Metanol	Etanol, 1 mg/kg, iv cada 4 h, durante 4 días. 4-metil-pirazol (Fomepizole)
Etilenglicol	Etanol, 1 mg/kg, iv cada 4 h., durante 4 días. 4-metil-pirazol (Fomepizole)
Selenocistationina	Cistina.
Fluoracetato	Acetato de glicerol 0,5 mg/kg.
Paracetamol	N-acetilcisteína
Mecanismo III. Competencia por receptores específicos	
Anfetamina	Clorpromazina, 1 mg/kg.
CO	Oxígeno.
Ta, Li	Sales de K.
Morfina, Opiáceos	Naloxona, 0,4 mg/kg, Levalorfan, 0, 02 mg/kg iv. Naltrexona, Nalmefene, 0,5-1,5 mg iv.
Curare	Neostigmina, edrofonio.
Inhibidores de la colinesterasa	Oximas (pralidoxima).
Fenotiazinas	Difenhidraminas, 1,5 mg/kg, im.
Benzodiazepinas	Flumazenilo.
Mecanismo IV. Recuperación o superación del efecto funcional.	
Inhibidores de acetilcolinesterasa	Atropina, 1-4 mg iv cada media hora.
Drogas colinérgicas, (neostigmina, edrofonio, muscarina)	Atropina.
Cumarina	Vitamina K.
Metahemoglobina	Azul de metileno.
Digital	K, betabloqueantes, procainimida.
Glucagón o insulina/glucosa	Betabloqueantes y de los canales de Ca ⁺⁺ .

pensó que la AMPT podría utilizarse para el tratamiento de morfina y anfetaminodependientes.

La nalorfinina es la N-alilnormorfina, derivado de la morfina al sustituir el grupo metilo unido al nitrógeno por un grupo alilo. Es un antagonista competitivo de la morfina, a la que disputa los receptores específicos, motivo por el cual cuando se administra a un individuo sometido a los efectos de la morfina, le suprime la mayor parte de la sintomatología.

Sin embargo, cuando se aplica a individuos morfina-dependientes, les induce rápidamente un síndrome de abstinencia; en personas normales origina acción similar a la morfina, con depresión respiratoria, por ser también un agonista parcial; ya no se comercializa. Es ineficaz en la intoxicación por pentazocina. De forma análoga, el levalorfan, derivado alílico del levorfanol (3-hidroxi-N-metil-morfina), posee actividad antagonista de la morfina.

Mayor potencia que los anteriores, tanto desde el punto de vista terapéutico (resulta útil contra los efectos de la pentazocina) como en lo concerniente a los efectos indeseables (es antagonista puro), posee el naloxone (N-alilnoroximorfona), que debe ser utilizado con precaución porque puede precipitar el síndrome de abstinencia en drogodependientes y en niños recién nacidos de drogadictas. Otro antagonista puro de opiáceos es la naltrexona (ciclopropilnoroximorfona), que también desencadena el síndrome de abstinencia; así mismo, el nalmefene, cuyo efecto es de mayor duración que el del naloxone, no tiene actividad agonista opioide.

El descubrimiento de las encefalinas y endorfinas, presentes en el cerebro y con una farmacodinamia similar a la de la morfina (como moderadoras de la neurotransmisión), hace suponer que el mecanismo del síndrome de abstinencia nace de que el uso de la morfina antagoniza la formación de endorfinas por esta razón; al cesar la administración de la droga, se producen considerables trastornos neurales por deficiencia de la endorfina.

Un grupo de antagonistas de gran interés terapéutico está integrado por las oximas, regeneradoras de la acetilcolinesterasa, como la pralidoxima o PAM (metiloduro de 2-piridilaldoxima) y el toxogonín u obidoxima (4-OH-imino-metil piridinmetildiclorico). Estas sustancias desplazan a los compuestos organofosforados (de extenso uso como plaguicidas) de su unión con la acetilcolinesterasa; esta unión inhibe la enzima en las sinapsis, por lo que la acetilcolina no es destruida, sino que aumenta excesivamente su presencia y produce graves trastornos en la conducción nerviosa (Fig. 10.3).

A pesar de la mayor afinidad de la enzima por la oxima, posteriormente se libera de ella y queda regenerada.

De esta forma, las oximas son antagonistas específicos de los organofosforados; sin embargo, este tratamiento es efectivo en las primeras horas de la intoxicación, antes de que se produzca la fosfatización irreversible de la enzima (envejecimiento de la inhibición), pero también es útil posteriormente para bloquear al organofosforado que se redistribuye; en la misma intoxicación se emplea

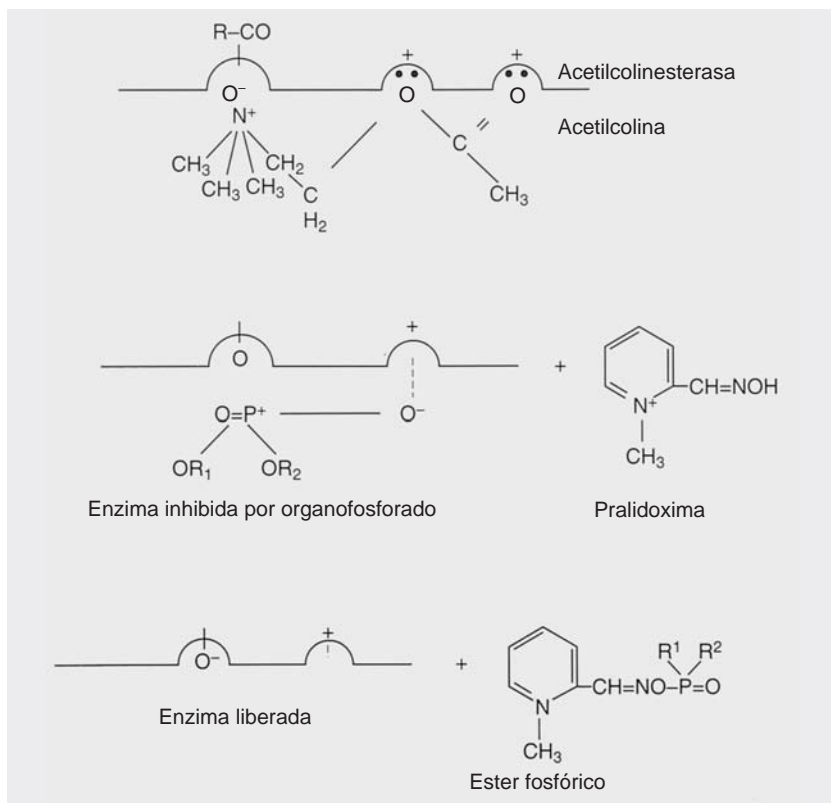


Figura 10.3. Inhibición y regeneración de la acetilcolinesterasa.

la atropina, como antagonista funcional o inespecífico, con magnífico resultado.

Entre los mecanismos antagonistas de evitación de formación de metabolitos más tóxicos tenemos los ejemplos relativos a la biotransformación del metanol y el etilenglicol, la cual, en ambos casos, es realizada inicialmente por una misma enzima, la alcoholdehidrogenasa. El primero se transforma en ácido fórmico, y el segundo en los ácidos glicólico, glioxílico y oxálico, lo que puede evitarse proporcionando a la enzima un sustrato competitivo, como son el etanol o mejor el 4-metil-pirazol.

La cocaína produce una vasoconstricción generalizada, incluso con espasmo coronario, que presenta al cadáver con gran palidez por falta de sangre periférica; para antagonizar este efecto se ha ensayado sin éxito el propranolol y con más efectividad los bloqueantes de calcio no cardiodepresores, como la nitrendipina. Al estudiar los mecanismos hepatotóxicos hemos visto la formación de metabolitos de la cocaína, de distinta toxicidad según la concomitancia de diferentes compuestos.

Como un antagonista inespecífico de la amitriptilina se ha ensayado el *verapamilo*, bloqueador de los canales de Ca^{++} , que permite controlar los efectos cardiotoxicos del antidepresivo.

Sin embargo, en esta intoxicación no se ha obtenido beneficios con el uso del *naloxone*, que al parecer produce efectos inespecíficos favorables frente a las sobredosis de etanol, benzodiazepínicos y fenotiazinas.

En la intoxicación por betabloqueantes o por bloqueadores de los canales de calcio se obtienen buenos resultados con glucagón o con combinación de insulina y glucosa, así como con octreotida en las sobredosis por antidiabéticos orales de sulfonilurea, aunque este octapéptido cíclico de actividad similar a la hormona somatostatina, da lugar a diversos efectos secundarios e interacciones medicamentosas.

En la intoxicación por benzodiazepínicos (BZ) es muy eficaz una imidabenzodiazepinona, el *flumazenil* (Ro-15-1788), antagonista de los BZ por sus receptores, y como resulta capaz de revertir tanto los efectos de agonistas puros como los de agonistas inversos, se está ensayando en el tratamiento de la intoxicación etílica, basándose en el hecho de que el etanol afecta al sistema GABA y desarrolla tolerancia cruzada con las benzodiazepinas. El flumazenil no ha demostrado tener utilidad

en intoxicaciones causadas por otros psicodépresores como barbitúricos, meprobamatos, metadona, ni antidepresivos tricíclicos.

Según Jacobsen (1995) hay pocos antagonistas absolutos, como la naloxona y el flumazenil, pues la mayoría sólo son coadyuvantes, pero no sustitutos de la terapia de mantenimiento.

PRINCIPALES ANTÍDOTOS

El mejor antídoto conocido es el carbón activo, que se presenta en forma de polvo constituido por pequeñísimas esferas que ofrecen una gran superficie con cargas eléctricas capaces de retener por adsorción a la mayor diversidad de sustancias químicas, como compuestos orgánicos, gases, vapores, etc., pero es poco efectivo con los ácidos y bases fuertes, sales metálicas, alcoholes, disolventes, cianuros y sustancias de absorción rápida; su capacidad de unión es muy superior a la de las resinas. Se administra por vía oral en suspensión acuosa para bloquear la absorción de sustancias presentes en el estómago y el intestino, e incluso es capaz, estando en el tubo gastrointestinal, de extraer sustancias circulantes en la sangre o unidas a los componentes biliares (interrumpe el ciclo enterohepático).

Después de administrado conviene extraerlo, con las sustancias adsorbidas, mediante vómito, lavado gástrico o laxante.

En numerosas obras de toxicología y de divulgación se habla del mal llamado «antídoto universal», constituido por óxido de magnesio, ácido tánico y carbón activo, en proporciones 1:1:2. Se dice que es extraordinariamente útil para inactivar los tóxicos en el estómago porque: el óxido de magnesio neutraliza los ácidos sin formación de gas, el ácido tánico forma sales insolubles con los alcaloides y algunos metales, y el carbón activo adsorbe, superficial pero fuertemente, numerosas sustancias orgánicas e inorgánicas.

Sin embargo, desde hace años esta mezcla está totalmente desacreditada porque se ha demostrado que la presencia de los otros dos componentes interfieren la actuación del carbón activo, que es el ingrediente de mayor utilidad y, además, el ácido tánico puede producir lesiones hepáticas, aparte de que los tanatos insolubles son hidrolizados en el intestino, concluyendo rápidamente su efecto protector.

Otro supuesto «antídoto universal», en ocasiones totalmente contraindicado, contiene leche, té y diversos ingredientes.

Sobre la verdadera utilidad de muchos antídotos existe gran confusión, que la Sección de Toxicología de la Comisión de Comunidades Europeas, en colaboración con la Asociación Europea de Centros Antitóxicos y la Organización Mundial de la Salud (OMS), está tratando de clarificar. Hasta el momento se han revisado 150 pretendidos antídotos, que se han distribuido en tres categorías (Tabla 10.3):

- a) Antídotos de reconocida eficacia.
- b) Antídotos de discutida eficacia o insuficientemente probados.
- c) Antídotos de reconocida ineficacia.

Los antídotos más eficaces son los que forman con los metales y el arsénico complejos internos o quelatos. Estas moléculas, hidrosolubles y por tanto excretables por vía renal, contienen tan bloqueado el elemento tóxico, que éste es ya incapaz de ejercer una acción tóxica.

Recordemos que estos complejos químicos están formados por una molécula o un ion negativo denominado ligando, capaz de unirse con un átomo metálico (generalmente un metal de transición) mediante enlaces covalentes coordinados, además, incluso, de los enlaces iónicos; de esta manera, el metal, que queda situado centralmente, rodeado del ligando, se halla fuertemente unido a él, formando una molécula extraordinariamente estable y no disociable; de aquí el nombre de *quelato* (del griego, pinza de cangrejo).

En el organismo, el agente quelante no sólo bloquea los metales presentes en los líquidos biológicos, sino que también extrae los iones depositados

en huesos, sistema nervioso, etc. De esta manera, cuando se sigue analíticamente la presencia del metal en la sangre de un intoxicado sometido a tratamiento con un quelante, se suele observar un aumento de la concentración en sangre, en la primera fase del tratamiento; este hecho no representa mayor gravedad en la intoxicación, porque el elemento tóxico se halla bloqueado y no puede reaccionar con los receptores.

Los inconvenientes del uso de estos antídotos estriban en que también producen depleción de otros elementos metálicos de interés fisiológico, y en que pueden provocar algunas reacciones de hipersensibilidad y de afectación renal. A pesar de ello, por el momento, constituyen la terapéutica de elección en las intoxicaciones metálicas.

En las Figuras 10.4 a 10.9 se exponen las fórmulas de los quelatos de mayor utilidad clínica.

La desferroxiamina es un antídoto del hierro; consiste en un polímero del ácido hidroxámico, el ácido trihidroxámico, que se une al hierro trivalente (por lo que no afecta a la hemoglobina) formando un quelato, la ferrioxamina, hidrosoluble, excretable en la orina.

El EDTA-Ca, sal cálcica y disódica del ácido etilendiamino-tetraacético, es un antídoto de gran utilidad en la intoxicación por plomo, al igual que la penicilamina (dimetilcisteína), cuya principal aplicación es como quelante del cobre, tanto en la intoxicación por este metal, como en la enfermedad de Wilson, en la que se producen depósitos anormales de cobre en hígado, cerebro o riñón, por un defecto congénito de ceruloplasmina, proteína transportadora del cobre.

El BAL, ditiopropanotriol o dimercaptopropanol, se aplicó inicialmente como agente comple-

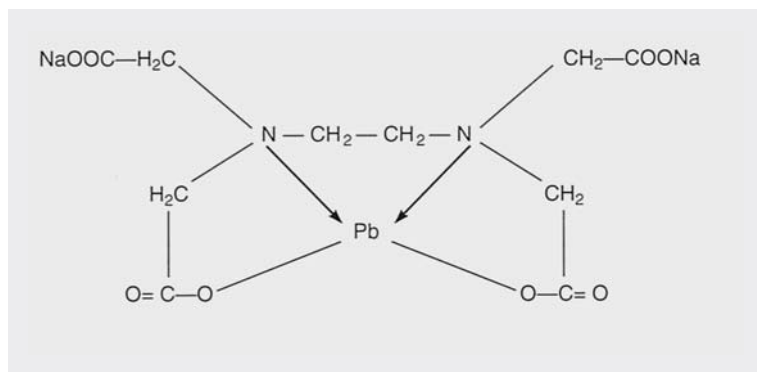


Figura 10.4. EDTA disódico plúmbico.

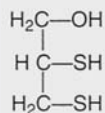


Figura 10.5. 2,3-dimercaptopropan-1, ol, dimercaptopropanol. BAL (British antilewisite).

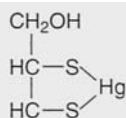


Figura 10.6. Complejo BAL - Hg.

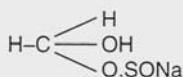


Figura 10.7. Formaldehído - sulfoxilato sódico. Rongalita.

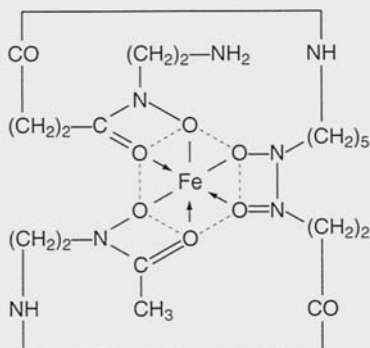


Figura 10.8. Ferrioxamina.

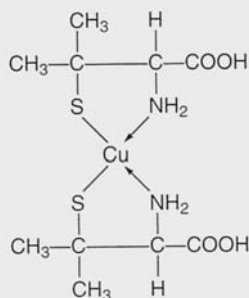


Figura 10.9. Bipenicilaminato cúprico.

jante del arsénico, y sigue siendo su mejor antídoto; también es muy útil para complejar el mercurio y es insustituible en la encefalopatía saturnina, para extraer del SNC los depósitos de plomo, ya que por su liposolubilidad penetra en el encéfalo mejor que los quelantes hidrosolubles.

Precisamente, por esta misma razón, debe proibirse el uso de la ditizona (difentiltiocarbazona) para el tratamiento de la intoxicación por talio, como ha sido recomendada. Se ha visto que el compuesto formado atraviesa perfectamente la interfase hematoencefálica, agravando la intoxicación porque, al parecer, el complejo no es muy estable. Se obtienen mejores resultados con dietilditiocarbamato y con azul de Prusia (dosis de 250 mg/día).

Las penicilinas, cefalosporinas, cimetidina y los productos vegetales silibilina y aucubina parecen bloquear el mecanismo de entrada de la amatoxina al hepatocito (no aparece el tóxico en la bilis), y resultan útiles frente a la toxina de la *Amanita faloides*.

Como sustituto del BAL se ha propuesto el DMSA (ácido dimercaptosuccínico) y el DMPS (dimercapto-propansulfonato sódico), que parecen eficaces como quelantes del mercurio, arsénico, antimonio, cromo, etc., y con mayor excreción urinaria que aquél, especialmente para el cinc.

Un interesante y complejo proceso de acción antidótica es el seguido para el tratamiento de la intoxicación por ion cianuro. Sabemos que el mecanismo de acción de este tóxico se basa en su gran afinidad por el Fe^{3+} , por lo que se une al de la citocromooxidasa, impidiéndole su reducción y posterior participación en la cadena respiratoria (Fig. 10.10). Cuando el cianuro está en el estómago, puede complejarse a ferrocianuro, mediante ingestión de sal ferrosa o férrica, o bien transformarlo en tiocianato (sulfocianuro), poco tóxico por poseer también estructura de complejo interno, mediante un sulfuro. Pero cuando el cianuro está en la sangre hay que proteger la citocromooxidasa; para ello lo más rápido es formar metahemoglobina, administrando nitritos (nitrito de amilo por vía inhalatoria, nitroglicerina por vía sublingual o más recientemente, 4-amino-propano), con lo que el Fe^{++} de parte de la hemoglobina de la sangre pasa a Fe^{+++} , y por su rápida distribución bloqueará el ion cianuro. Finalmente, deberá regenerarse la hemoglobina, por reducción de la metahemoglobina con azul de metileno.

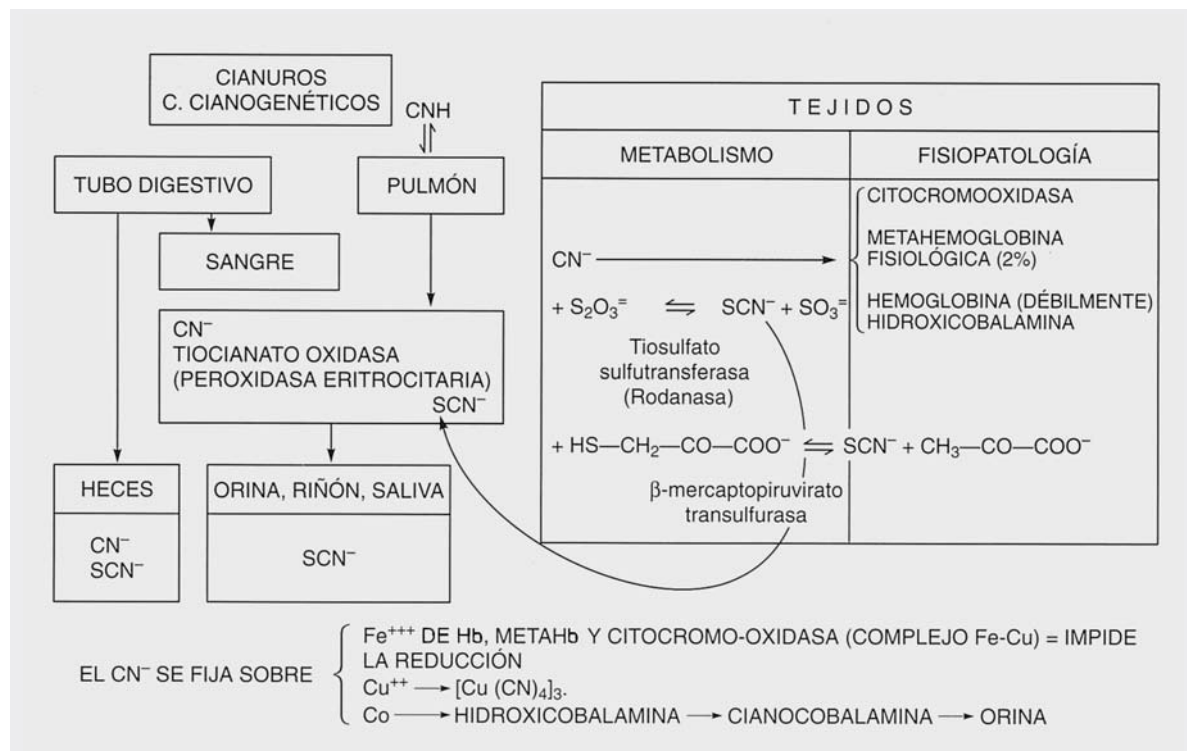


Figura 10.10. Intoxicación cianhídrica.

Algunos autores (Bismuth *et al*, 1984) no son partidarios de esta actuación sino del empleo de hidroxicoBALAMINA, que origina cianocobalamina, forma poco tóxica de la vitamina B₁₂, y también el EDTA dicobáltico, que, con el ion cianuro, produce cobalto y cobalticianuro, complejos estables, hidrosolubles, excretables por la orina. Estos tratamientos originan efectos indeseables de tipo cardiocirculatorio que aconsejan reservarlos sólo para intoxicaciones graves. Por el contrario, se sigue recomendando la administración de tiosulfato sódico, que, por la intervención de la enzima rodanasa (transulfurasa), transforma el cianuro, incluso en unión al Fe³⁺, en tiocianato sódico, hidrosoluble, excretable por la orina, el sudor y las lágrimas.

El conocimiento del mecanismo de toxicidad del paracetamol o p-aminofenol ha permitido desarrollar una terapéutica antidótica. El paracetamol, paraaminofenol o acetaminofeno (N-acetil-p-aminofenol) es ampliamente utilizado como analgésico y antipirético; aparte de algunas reacciones secundarias o adversas, en su empleo terapéutico, la sobredosificación afecta fundamentalmente el

hígado, con necrosis y fallo hepático, que conduce a encefalopatía, coma y muerte.

Las enzimas microsómicas transforman el paracetamol en benzoquinonimina, un metabolito muy reactivo que establece enlaces covalentes con macromoléculas hepáticas, especialmente con el glutatión; cuando éste se consume y las reservas bajan del 30 por 100, se lesionan otros constituyentes celulares y se produce la necrosis. No podemos combatir el defecto de glutatión administrándolo, porque no penetra fácilmente en la célula, pero sí es eficaz la aplicación de precursores de esta sustancia, como son varios tioles nucleófilos, del tipo de la cisteína, cisteamina, metionina, acetilcisteína, etc., administrados dentro de las 10 primeras horas de la intoxicación por paracetamol. El empleo de estos tioles debe ser prudente, porque provocan acciones no deseables de tipo gastrointestinal y nervioso. La N-acetilcisteína (NAC), comercializada en disolución acuosa y en gránulos, se administra si la concentración de paracetamol en una sangre tomada hacia las 4 horas de la ingesta, indica riesgo de

Tabla 10.3. GRUPO I

Clasificación y propuesta por la OMS, UE y Federación Mundial de Centros de Toxicología Clínica y centros contra las intoxicaciones para las sustancias utilizadas como antídotos y agentes terapéuticos relacionados

Antídoto	Indicación principal	Otras posibles aplicaciones	Urgencia tratamiento	Clasificación
Antídoto universal				4
Acetilcisteína	Paracetamol		B	1*
		Hidrocarburos clorados	B	2
		Amanitina		
Anticuerpos específicos (FAB)	Digitoxina/digoxina/ digitálicos		B	1
Antitoxinas y sueros antivenenos	Reptiles, arácnidos, etc.		A-C	1*-3
Ascórbico ácido	Metahemoglobinemia			4
		Peróxidos orgánicos	A	3
Atropina	Síndrome colinérgico		A	1
Aurintricarboxílico ácido (ATA)	Berilio		C	3
Azul metileno	Metahemoglobinemia		A	1
Bencilpenicilina	Amanitina		B	2
Beta-aminopropionitrilo	Cáusticos		A	3
Calcio cloruro	HF, fluoruros, oxalatos		A	1
		Antagonistas del calcio	A	2
Calcio folinato/ácido fólico	Antagonistas ácido fólico		C	1
		Metanol	C	3
Ciclofosfamida	Oro, Paraquat		B	4
Cisteamina	Paracetamol			4
Dantroleno	Hipertermia maligna		A	1*
		Síndrome neuroléptico maligno	B	2
Desferroxamina	Hierro, aluminio		B	1
		Paraquat	B	2
Diazepam	Cloroquina		A	2
Dietil ditiocarbamato	Talio			4
Dimercaprol (BAL)	Arsénico, metales pesados		B	1
4-dimetilaminofenol (4-DMAP)	Cianuro		A	2
		Sulfuro de hidrógeno	A	3
Edetato dicobáltico	Cianuro		A	2*
Edetato sodio calcio	Plomo		B	1
		Cadmio, manganeso	B	2
Etanol	Metanol, etilenglicol, éteres glicol		B	1*
		Alkoxilanos	B	2
FAB (ver anticuerpos)				
Fentolamina	Intoxicación alfa-adrenérgica		A	2
Fisostigmina	Síndrome anticolinérgico central por atropina y derivados		A	1
		Síndrome anticolinérgico central por otros tóxicos	B	2

(Continúa)

Tabla 10.3. GRUPO I (Continuación)

Clasificación y propuesta por la OMS, UE y Federación Mundial de Centros de Toxicología Clínica y centros contra las intoxicaciones para las sustancias utilizadas como antídotos y agentes terapéuticos relacionados

Antídoto	Indicación principal	Otras posibles aplicaciones	Urgencia tratamiento	Clasificación
Fitomenadiona	Derivados de cumarina		C	1
Flumazenil	Benzodiazepinas		B	1
Fosfatos				4
Fructosa	Etanol			4
Glucagón	Insulina		A	1
		Betabloqueadores	A	2
Guanidina	Botulismo		C	3
Hidroxibalaminina	Cianuro		A	2
Isoprenalina	Betabloqueadores		A	2
Levalorfan				4
Metionina (oral)	Paracetamol		B	1
4-Metilpirazol	Etilenglicol, metanol		A	2
		Coprin y disulfirán	A	2
N-Acetil penicilina	Mercurio		C	3
Nalorfina	Morfínicos			4
Naloxona	Opiáceos		A	1*
Neostigmina	Bloqueo neuromuscular, síndrome anticolinérgico periférico		A	1*
Nitrito amilo	Cianuro		A	2
Oximas	Organofosforados		B	1*
Oxígeno	Cianuro, monóxido de carbono, sulfuro de hidrógeno		A	1*
Penicilamina	Cobre, metales pesados		C	1*
Pentético ácido (DTPA)	Metales pesados		B	2
Piridoxina	Isoniazida, firomitrina		A	1*
		Etilenglicol	A	2
Potasio hexacianoferrato (azul de prusia)	Talio		C	1*
Potasio permanganato	Fluoruros			4
Prenalterol	Betabloqueadores		A	2
Propranolol	Intoxicación betaadrenérgica		A	1
Protamina sulfato	Heparina		A	1*
Silibilina	Arnanitina		B	3
Sodio nitrito	Cianuro		A	2
		Sulfuro de hidrógeno	A	3
Sodio nitroprusiato	Ergotismo		A	1*
Sodio salicilato	Berilio		C	3
Sodio tiosulfato	Cianuro		A	1
		Bromatos, cloratos, yodo	A	2
Succímero (DMSA)	Metales pesados		B	2
Sulfamidina	Amanita faloides			4
Taninos				4
Tióctico, ácido	Amanita faloides			4
Tocoferol	Paraquat		C	3
		Monóxido de carbono	C	3
Tolonio cloruro (azul de toluidina)	Metahemoglobinemia		A	2
Trientina (trietilen tetramina)	Cobre		B	3
Unitiol (DMPS)	Arsénico, metales pesados		B	2

Tabla 10.3. GRUPO II (Continuación)

Agentes utilizados con la intención de evitar la absorción de tóxicos, aumentar su eliminación o tratar sintomáticamente sus efectos sobre las funciones corporales

Agentes	Aplicación	Urgencia tratamiento	Clasificación
A. EMÉTICOS			
Apomorfina		A	3
Cobre sulfato			4
Ipecacuana		A	2*
Sodio cloruro			4
B. CATÁRTICOS Y DISOLUCIONES USADAS PARA LAVADO INTESTINAL			
Aceite de castor (ricino)	B		3
Magnesio citrato	B		2
Magnesio sulfato	B		2
Manitol	B		2
Sodio sulfato	B		2
Sorbitol	B		2
Fluidos lavado intestinal	B		2
C. AGENTES PARA MODIFICAR EL pH URINARIO			
Acetazolamida			4
Ácido clorhídrico	B		3
Amonio cloruro	B		3
Arginina clorhidrato	B		3
Sodio bicarbonato	A		1*
D. PARA EVITAR ABSORCIÓN DE SUSTANCIAS TÓXICAS EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL			
Almidón	Iodo	A	1
Carbón activo	Adsorbente general	A	1*
Colestiramina	Digitalis, cumarina, kepone	B	3
Potasio ferrocianuro	Cobre	A	3
Silicona	Agente antiespumante	A	2
Sodio bicarbonato	Hierro, mercurio, organofosforados	A	2
Sodio sulfato	Plomo, bismuto, bario	A	3
Tierra de fullers	Absorbente general, diquat, paraquat	A	2*
E. AGENTES PARA EVITAR ABSORCIÓN Y/O DAÑO EN LA PIEL			
Calcio gluconato gel	Ácido fluorhídrico	A	2
Macrogol 400	Fenol	A	1

CLAVE DE SIGNOS EMPLEADOS:

*: Antídotos esenciales (IPCS/CEE Proyectos, 1985).

Precocidad de aplicación para conseguir efecto;

A: de uso inmediato (30 minutos)

B: de uso en las dos primeras horas

C: de uso en las seis primeras horas

Clasificación por su utilidad:

1: generalmente aceptados como útiles

2: ampliamente usados, pero universalmente aceptados como útiles

3: utilidad cuestionable

4: obsoletos o sin valor

hepatotoxicidad según nomograma de Rumack y Matthew (véase Capítulo 14, Figura 14.2). La NAC también parece útil frente a los hidrocarburos alifáticos clorados.

La hepatotoxicidad puede tardar una semana en manifestarse, aunque puede detectarse antes por control de enzimas hepáticas y por el notable aumento de la vida media del producto en el suero; cuando esta vida media es superior a 4 horas, puede considerarse como probable la necrosis, y aparecerá coma con tiempo superior a 12 horas. Se recomiendan 4 dosis de 2,5 g de l-metionina cada 4 horas, o 15 dosis de 100 mg/kg de acetilesteína.

En la interpretación del análisis toxicológico debe tenerse en cuenta que el p-aminofenol es el principal metabolito de la fenacetina (acetilfenetidina o etoxifenilacetamida) y de la acetanilida.

Por otra parte, se ha ensayado la colestiramina para interrumpir el ciclo enterohepático, ya que al formar compuestos insolubles con las sales biliares, impide la reabsorción de ciertos tóxicos que siguen esta vía, como la digitalina, clordecona, antidepresivos, benzodiazepínicos, etc.

Los compuestos inorgánicos de arsénico pueden transformarse en derivados orgánicos menos tóxicos por la administración de S-adenosilmetionina, que actúa como donador de radicales metilo.

La sobredosificación de litio, empleado en la terapéutica de las depresiones, y que actúa sustituyendo al potasio, se realiza por administración de disolución de cloruro potásico para forzar el desplazamiento; también se elimina por diálisis neutra o por hemodiálisis. El empleo de psicodpresores como benzodiazepínicos, meprobamatos, fenobarbital, butirofenona y fenotiazinas, parece dificultar la entrada de litio en las células.

La inmunoterapia con antisueros se aplica desde 1908 en intoxicaciones por mordeduras de serpientes, alacranes, etc. (aunque no es precisa con las especies europeas) y en el botulismo.

La extensión de la inmunoterapia a otras intoxicaciones está limitada en principio a disponer de los correspondientes anticuerpos, y a la capacidad de éstos para alcanzar los compartimientos en que se encuentre el tóxico; esto reserva la inmunoterapia a los tóxicos de membrana celular y a los de pequeño volumen de distribución, ya que las sustancias de gran distribución intracelular no serán asequibles a los anticuerpos.

En los últimos tiempos se obtienen muy buenos resultados en la intoxicación digitálica con los llamados FAB (fragmentos de anticuerpos ligadores de antígenos), obtenidos de bovinos, muy efectivos contra la digoxina y menos contra la digitoxina y el lanatósido C. Un factor limitante en la utilidad de los FAB es la irreversibilidad de la unión del tóxico a los receptores, o una baja cinética de liberación de esta unión. Por ello los resultados fueron negativos con los anticuerpos antiparaquat.

Pero han sido efectivos los FAB caprinos contra la colchicinas y contra los antidepresivos tricíclicos.

Landry *et al.* (1993) han obtenido un anticuerpo monoclonal que cataliza, sin consumirse, la hidrólisis de cocaína en metil-ecgonina y ácido benzoico, inactivos.

BOTIQUINES DE ANTÍDOTOS

Es frecuente la consulta acerca de cuáles debieran ser los antídotos indispensables o mínimos que debiera haber en un botiquín de emergencias; S. Nogué (1999) elaboró una propuesta en tal sentido, que transcribimos a continuación:

Principios generales seguidos para la inclusión de un antídoto en un determinado nivel asistencial:

1. Que la sustancia sea efectiva y de eficacia contrastada. Existen 56 de estas sustancias
2. Urgencia en la aplicación del antídoto (p. ej. minutos para la hidroxycobalamina o días para la d-penicilamida)
3. Frecuencia de la intoxicación, según sea el medio rural, urbano o industrial
4. Relación riesgo-beneficio y complejidad de administración (vía oral frente a vía intravenosa, antídoto convencional o inmunoantídoto)
5. Accesibilidad (p. ej. atropina frente a suero anticolchicínico)
6. Conservación: ya sea a temperatura ambiente, exigencia de nevera o necesidad de fotoprotección, etc.
7. Caducidad (p. ej. 5 años para preparados comerciales frente a 12 meses en las fórmulas magistrales)
8. Coste (de las 0,3 €, del EDTA cálcico disódico a los más de 4.000 €, de los antídotos antidigital)

Botiquín de antídotos en un domicilio particular

En principio no es necesario ningún antídoto específico y sería innecesaria la presencia de ipecacuana o de carbón activado. Es necesaria la educación sanitaria para la inmediata descontaminación ocular y cutánea tras la proyección de líquidos tóxicos o corrosivos, y queda entre interrogantes si es efectiva la dilución digestiva inmediata con agua, leche o agua albuminosa tras la ingesta de productos domésticos, sean o no cáusticos.

Botiquín de antídotos en un Centro de Salud de Asistencia Primaria

A las consideraciones anteriores habría que añadir:

- Eméticos: jarabe de ipecacuana o apomorfina
- Antídotos competitivos: naloxona, flumazenilo, oxígeno, atropina, bicarbonato sódico
- Antídotos restauradores: glucosa y piridoxina
- Antídotos bloqueadores: etanol y penicilina

Botiquín de antídotos en un centro penitenciario

Son válidos todos los antídotos reseñados para el Centro de Salud de Asistencia Primaria, añadiendo un adsorbente como el carbón activado.

Botiquín de antídotos en una empresa

En este caso sería necesario añadir, aparte de lo ya mencionado hasta ahora:

- Antídotos reductores: Ácido ascórbico (Cr^6 a Cr^3) y azul de metileno (metahemoglobinizantes)
- Antídotos quelantes: hidroxocobalamina y sales de calcio y magnesio
- Otros específicos según actividad de la empresa

Botiquín de antídotos en un Servicio de Urgencias extrahospitalario y medicalizado

A la lista anterior incorporamos los siguientes:

- Antídotos competitivos: sales de calcio
- Antídotos restauradores: glucagón

Botiquín de antídotos en un Hospital básico (nivel I)

Añadir a las consideraciones anteriores:

- Antídotos competitivos: fitomenadiona, fisostigmina, protamina, ácido folínico
- Antídotos restauradores: n-acetil-cisteína
- Antídotos quelantes: almidón, desferroxa-mina
- Otros: sorbitol (pediatría), sulfato sódico

Botiquín de antídotos en un Hospital Intermedio (nivel II-III)

A todo lo anterior se añade:

- Antídotos bloqueadores: silibinina
- Antídotos restauradores: pralidoxima
- Antídotos quelantes: dimercaprol, EDTA cálcico disódico, d-penicilamida, suero antiofídico

Botiquín de antídotos en el Hospital de Referencia Toxicológica

Son necesarios:

- Antídotos competitivos: oxígeno hiperbárico
- Antídotos quelantes: ácido dimercaptosuccínico, suero antibotulínico, anticuerpos antidigital
- Antídotos bloqueantes: fomepizol

Botiquín de antídotos en el Hospital de Referencia Nuclear

Añadir a las consideraciones anteriores:

- Antídotos quelantes: ácido dietilentriamino-pentaacético (DTPA), ácido dimercaptopropano-

sulfonato (DMPS), ferrocianuro férrico (azul de Prusia).

— Otros: solución de Shubert, bicarbonato sódico.

BIBLIOGRAFÍA

- Bozza Marrubini M *et al.* *Intossicazioni acute*. Milán: Ed. Medico Farmacéutica, 1987.
- Bismuth C *et al.* Priorité de l'oxygénation dans l'intoxication cyanhydrique. *J Toxicol Med*, 1984; 4:107.
- Dart RC. *The 5 minute toxicology consult*. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins. 2000.
- Federación Mundial de Centros de Toxicología Clínica. Lista indicativa de antidotos. *J Toxicol Clin*, 1991; 3-4210-212.
- Federación Mundial de As. Centros de Toxicología y Centros Antitóxicos y OMS, 1984.
- Flanagan RJ, Jones AL, Maynard RL. *Antidotes*. London: Taylor & Francis, 2001.
- Goldstein A, Aronow L, Kalman S. *Principles of drug action*. Nueva York: John Wiley, 1974.
- Hoffman RS, Nelson LS, Howland MA, Lewin NA, Flomenbaum NE, Goldfrank LR. *Goldfrank's Manual of toxicologic emergencies*. New York. McGraw-Hill Companies, 2007.
- Goseel TA, Bricker JD. *Principles of clinical toxicology*. New York: Raven Press, 1984.
- Jacobsen D. The relative efficacy of antidotes. *Clinical Toxicol*, 1995; 33, 6: 705-708.
- Loomis TA. *Essentials of toxicology*. Filadelfia: Lea & Febiger, 1976.
- Ministerio de Sanidad y Consumo. *Información de Medicamentos*, traducción al español de la 8. ed. de *Drug Information for Health Care Professional* (USP, DI). Madrid, 1989.
- Morell V. Enzyme may blunt cocaine's action. *Science*, 1993; 259: 1828.
- Nogué S. Botiquines de antidotos en distintos niveles asistenciales. *Boletín de la Sección de Toxicología Clínica de la Asociación Española de Toxicología*, 1995; 5: 1-3.
- Ríos JC, Repetto G, Galleguillos I, Jos A, del Peso A, Repetto M. High concentrations of pralidoxime are needed for the adequate reactivation of human erythrocyte acetylcholinesterase inhibited by dimethoate in vitro. *Toxicology in Vitro*. 2005;19: 893-897.
- Rossof IR. *Encyclopedia of clinical toxicology. A comprehensive guide and reference*. New York. The Parthenon Publishing Group. 2002.
- Tenenbein M, Cohen S, Sitar DS. Whole bowel irrigation as a decontamination after acute drug overdose. *Arch Intern Med*, 1987; 147: 905-907.

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD Y DEL RIESGO. TOXICOLOGÍA EXPERIMENTAL

FUENTES DEL CONOCIMIENTO TOXICOLOGICO

La estimación del riesgo tóxico supone un complejo proceso que balancea los riesgos y los beneficios para organismos o poblaciones del empleo de las sustancias. La elaboración de una metodología propia, que se ha exportado a otras áreas sanitarias, *confirma a la Toxicología una posición en el rango de las ciencias*. La evaluación de la eficacia y de la seguridad frente al riesgo derivado del uso de sustancias utilizadas como plaguicidas, medicamentos, aditivos, cosméticos, o compuestos industriales, o de los lugares que pudieran presentar riesgo por exposición, es una imposición de las legislaciones nacionales y supranacionales para asegurar la protección del hombre y del medio ambiente, y precisa del adecuado conocimiento de sus perspectivas toxicológicas.

Existen tres fuentes principales que proporcionan información sobre las propiedades toxicológicas y la cinética de las sustancias químicas: en primer lugar, son estudios no experimentales, bien de informes de casos de intoxicación ocurridos con anterioridad en cualquier ámbito, incluyendo los clínicos, forenses, veterinarios, ambientales, etc., o son estudios epidemiológicos o de campo que evalúen prospectiva o retrospectivamente la influencia de los compuestos sobre poblaciones expuestas.

En segundo lugar, pueden aplicarse modelos teóricos de predicción, que gracias a la utiliza-

ción de complejos algoritmos matemáticos en potentes ordenadores tratan de modelar las características de actuación de sustancias conocidas, a partir de información fundamentalmente fisicoquímica, para predecir el comportamiento de otras, incluso antes de que sean sintetizadas. Los principales sistemas modelan la cinética ambiental, la farmacotoxicocinética y las relaciones estructura actividad (Tabla 11.1).

Finalmente, la experimentación con modelos biológicos, es decir, la utilización del método científico de ensayo y error, aplicando las sustancias sobre seres vivos o tejidos procedentes de ellos, en

Tabla 11.1. Fuentes del conocimiento toxicológico.

1.- Estudios no experimentales:

- Informes de casos: clínicos, forenses, veterinarios, ambientales.
- Epidemiológicos / de campo (prospectivos y retrospectivos).

2.- Modelos matemáticos de predicción:

- Cinética ambiental de compuestos químicos.
- Fármaco-toxicocinética (PB-PK).
- Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR).

3.- Experimentación con modelos biológicos (Toxicología experimental):

- *In vivo*: Animales, Vegetales, Humanos.
 - *In vitro*.
 - Estudios de microcosmos, mesocosmos y de campo.
-

lo que se denomina Toxicología Experimental. Básicamente, se realiza *in vivo* en animales o vegetales, *in vitro* con fracciones de los mismos, en estudios conjuntos con múltiples especies, bien de microcosmos o de mesocosmos y, en algunas ocasiones, en humanos (Repetto, 2008).

Todo ello persigue lo que actualmente se denomina *Toxicología basada en la evidencia*, es decir, en la mayor evidencia que pueda conseguirse.

Nota.- Se sugiere al lector poco familiarizado con símbolos o términos empleados en este capítulo, que consulte el Glosario.

EXPERIMENTACIÓN TOXICOLÓGICA: OBJETIVOS, FUNDAMENTOS Y TIPOS

Objetivos básicos de la experimentación toxicológica

Entre ellos se encuentra el contribuir al conocimiento de los peligros, o toxicidad intrínseca, de las sustancias; de los efectos tóxicos provocados y de su reversibilidad; de los mecanismos moleculares y de las dianas biológicas sobre las que actúan; de la diferente susceptibilidad tóxica de especies, sexos y grupos poblacionales; de la cinética y el metabolismo en los organismos y en el ambiente; de la sensibilidad y especificidad de los medios diagnósticos; de la eficacia de las medidas terapéuticas y profilácticas; y finalmente de integrar toda la información disponible para estimar el riesgo que conlleva su utilización en diferentes aplicaciones, estableciendo niveles de seguridad en la exposición a las mismas (Dybing *et al.*, 2002), en definitiva, la *predicción* de las consecuencias de la interacción de los xenobióticos con los seres vivos (Fig. 11.1). A diferencia de la mayoría de las disciplinas experimentales, existen normativas muy rígidas que deben ser seguidas en la experimentación toxicológica con fines reguladores, que exigen la evaluación de las sustancias con diferentes requerimientos según su uso previsto, aplicando protocolos de ensayo estandarizados y el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio y de las normativas de protección de los animales de experimentación. Entre los parámetros que las normativas exigen para valorar la toxicidad, descollaba hasta ahora la dosis letal

Tabla 11.2. Objetivos de la experimentación toxicológica

CONOCER:
1. Los peligros o la toxicidad intrínseca: clasificación y etiquetado.
2. Los efectos tóxicos y su reversibilidad (fisiopatología).
3. Los mecanismos y las dianas (órganos, células, moléculas).
4. La diferente susceptibilidad entre especies, sexos y grupos.
5. La cinética y el metabolismo.
6. Los medios diagnósticos.
7. Las medidas terapéuticas.
8. Evaluar el riesgo y establecer niveles de seguridad y las medidas de prevención.

media (DL_{50}), lo que, como veremos, ha variado en los últimos años (Tabla 11.2).

Principios de la experimentación toxicológica

La experimentación toxicológica se fundamenta en una serie de principios básicos.

1º Es posible reproducir experimentalmente en animales la mayoría de los procesos tóxicos

Para la mayor parte de los tóxicos es posible encontrar algún modelo animal que permita modelar su acción en los humanos. Evidentemente existen excepciones, unas debidas a que el proceso es de origen idiosincrásico y precisa que un individuo posea unas características especiales que lo hagan mucho más sensible que el resto de la población, o bien a que el mecanismo de acción precise de la concurrencia de una serie de circunstancias especiales, a veces desconocidas, muy difíciles de reproducir, como ocurre en algunos procesos inmunitarios.

Algunos autores (Litchfield, 1962), comparando 89 efectos de 6 tóxicos sobre rata, perro y hombre, llegaron a la conclusión de que cuando un efecto no aparece en ninguna de las dos primeras especies, tampoco lo hará en el hombre, pero si el tóxico afecta a una sola de aquéllas, también afec-

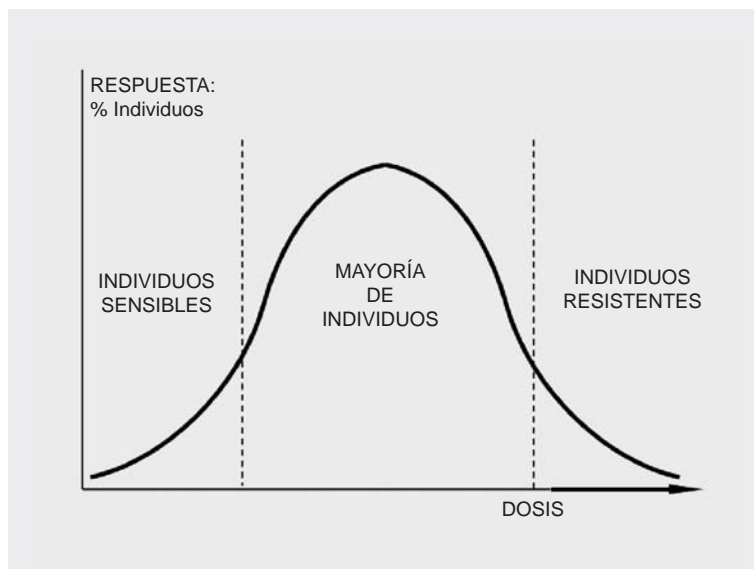


Figura 11.1. Distribución dosis-respuesta, según la sensibilidad de los individuos.

tará al hombre. Independientemente de todos los factores diferenciales ligados a la especie, debe tenerse en cuenta que gran parte de las observaciones que se extraen de los animales no son, generalmente, los síntomas (manifestaciones de las alteraciones fisiopatológicas) de la intoxicación, sino sólo los signos, es decir, los síntomas perceptibles por un observador. Por ello, muchas reacciones que fácilmente se producen en el hombre, como dolores, náuseas, vértigos, trastornos visuales, fotosensibilidad, tinnitus (sensación auditiva subjetiva de campanilleo), etc., no pueden detectarse en los animales.

Es conveniente insistir en que los ensayos de toxicidad no se diseñan para demostrar que un compuesto es seguro, sino para caracterizar los efectos que puede producir (Klaassen y Watkins, 2005). Posteriormente esos datos servirán para caracterizar su riesgo.

2º La aplicación a animales de dosis altas de tóxicos es un procedimiento útil para descubrir posibles peligros para el hombre

El número de individuos sobre los que se realiza la experimentación está limitado en la práctica en comparación con las amplias poblaciones que estarán expuestas. Por ello, para obtener resultados estadísticamente válidos es preciso emplear

dosis suficientemente altas para que los efectos ocurran con la suficiente frecuencia para ser detectados (Neubert, 1999; Klaassen y Watkins, 2005). Lógicamente ello se fundamenta en que existe una correlación directa entre la dosis aplicada y los efectos observados, aunque la pendiente y la forma de la relación dosis-efecto pueden ser distintas para los diferentes tóxicos. Por ello, al aumentar la dosis se incrementan los efectos observados.

Parece ser que las diferencias interespecies se deben fundamentalmente a variaciones toxicocinéticas y de biotransformación de los tóxicos, y aunque se pueden encontrar distintos metabolitos en la orina de animales de diferentes especies, se ha visto que lo que más varía entre éstas es la proporción de proteínas séricas transportadoras, la biodisponibilidad y la vida media de eliminación. Sin embargo, cuando se administran grandes dosis, los mecanismos cinéticos se saturan y las diferencias tóxicas entre especies se acortan.

3º Es posible extrapolar cuantitativamente a humanos muchos de los efectos tóxicos observados en animales

Se ha efectuado una amplísima investigación para tratar de determinar la correlación entre la toxicidad animal y la humana, llegándose a la con-

clusión de que ningún animal, ni siquiera el primate, responde a los tóxicos exactamente igual que el hombre. A pesar de ello, la mayoría de los efectos que experimentan los animales de laboratorio por la acción de los xenobióticos los manifiesta también el hombre, y a la inversa. En general, las diferencias son más de tipo cuantitativo que cualitativo (véase Capítulo 8).

Estudiando los efectos de 278 productos sobre 6-10 especies de mamíferos, Krasovskii (1976) demostró que existe una correlación lineal entre el logaritmo del peso corporal medio de la especie y el logaritmo de la DL_{50} de cada tóxico. Se ha tratado de aplicar esta correlación para deducir la DL mínima estimada para humanos, a partir de las DL_{50} en animales; utilizando los datos correspondientes a los siete productos que causan más intoxicaciones en Gran Bretaña se comprobó que los valores estimados de DL coinciden con las DL calculadas para humanos a partir de las DL animales, aunque, como también han visto otros autores, este sistema es válido siempre que se utilicen datos de, al menos, tres o cuatro especies de mamíferos, por la posibilidad de que en algunas de estas el comportamiento sea muy diferente.

Desde el punto de vista cuantitativo, los humanos se encuentran en el mismo rango de toxicidad de los animales si ésta se expresa en relación a la superficie corporal. Sin embargo, cuando se expresa en función del peso corporal, lo que resulta mucho más sencillo, los humanos son aproximadamente diez veces más sensibles a los tóxicos que los animales (Klaassen y Waltkins, 2005).

4° Es posible reproducir *in vitro* determinados efectos tóxicos manifestados *in vivo*

Según la hipótesis de la toxicidad basal (Ekwall y Ekwall, 1988) la mayoría de los tóxicos provocan toxicidad aguda por interferencia en los mecanismos celulares comunes a la mayoría de las células. Ello implica que los efectos tóxicos se manifestarán en la mayoría de los tipos celulares, y que pueden estudiarse *in vitro*, con las limitaciones que posteriormente se indicarán. Pero además, es posible utilizar modelos *in vitro* para investigar mecanismos muy específicos de

acción, como la unión a receptores, la inhibición de enzimas, etc.

Se ha propuesto una variedad de procedimientos *in vitro* como alternativas a la DL_{50} . Halle y Gores (1988) prepararon una gran base de datos denominada *Registro de Citotoxicidad*. En ella incluyeron 1912 concentraciones inhibitorias de sustancias seleccionadas de centenares de estudios *in vitro* y las DL_{50} de 347 compuestos. En base a esto concluyeron que es posible la predicción de la DL_{50} a partir de datos obtenidos *in vitro*, ya que la relación viene dada por la siguiente función:

$$\log (DL_{50}) = 0,435 \times \log (CI_{50}X) + 0,625$$

expresado en mmol

El Estudio Multicéntrico de Citotoxicidad *in vitro* (MEIC) trató de conocer si era posible predecir la concentración letal humana a partir de procedimientos *in vitro* (Ekwall *et al.*, 2000). Para ello se seleccionaron los 50 compuestos de los cuales existían mejores datos de toxicidad aguda en humanos y se comprobó, en primer lugar, que las correlaciones entre la concentración letal en humanos y la DL_{50} en rata y ratón eran muy bajas ($R^2=0,61$ y $0,65$, respectivamente). Al comparar los datos en humanos con los obtenidos en 69 modelos *in vitro*, se observó que las líneas celulares, particularmente las humanas, presentaban una correlación mejor que la obtenida con los animales ($R^2=0,74$ de media). A partir de ahí se seleccionó una batería de tres líneas celulares humanas que, una vez compensada para la presencia de la barrera hematoencefálica, obtuvo una correlación de $0,83$, mucho mejor que la obtenida a partir de animales.

5° Pueden emplearse determinadas especies animales o vegetales como centinelas o representantes de los efectos tóxicos en otras especies

Para extrapolar los resultados al hombre se procura emplear una especie con similar sensibilidad para cada tipo particular de efecto tóxico, aunque esto es condicionado además por cuestiones de tipo práctico. Sin embargo, en los estudios medioambientales es imposible evaluar los compuestos en todas las especies existentes, por lo que se

seleccionan varias de cada nivel trófico como representantes de grandes grupos de organismos. Las usadas como centinelas suelen escogerse atendiendo a su sensibilidad, disponibilidad y facilidad de mantenimiento y uso. Por ejemplo, dentro de los cladóceros de agua dulce suele emplearse la *Daphnia magna* para compuestos puros y para vertidos, si bien en Norteamérica se emplea principalmente la *Daphnia pulex* para vertidos. En el caso de aguas marinas se usa la *Artemia salina*, aunque presenta menor sensibilidad que la *Daphnia*.

Tipos de investigaciones toxicológicas experimentales

Según su finalidad, podemos establecer tres tipos de investigaciones: a) la regulada, b) la no regulada y c) las actividades de enseñanza y formación (Tabla 11.3).

a) La *investigación toxicológica regulada o reglamentada*, generalmente denominada como «evaluación de la toxicidad», pretende la clasificación de las sustancias y la evaluación del riesgo de las mismas. Se realiza para satisfacer los requerimientos legislativos, fundamentalmente para el registro (previo a la autorización para su comercio) de sustancias o el control de contaminantes. Este aspecto regulador diferencia a la toxicología de otras disciplinas afines como la bioquímica o la fisiología. Para el denominado *Registro de nuevas sustancias o productos*, como medicamentos, fitosanitarios, productos industriales, etc., se realizan estudios experimentales con la finalidad de clasificar las sustancias y evaluar el riesgo o la seguridad. Incluye la evaluación de los peligros que supone la exposición a los mismos, es decir, la capacidad tóxica (o toxicidad intrínseca) de esas sustancias por exposición aguda, subcrónica y crónica, y el establecimiento de la relación dosis efecto, calculando la dosis letal media (DL_{50}) en casos agudos o el nivel sin efecto adverso observado (NOAEL) en los casos de dosis repetidas, además del estudio de su cinética y metabolismo en el organismo, así como de su degradación ambiental (Barlow *et al.*, 2002; Balls y Combes, 2006). También están regulados el *Control y la monitorización de la contaminación*, evaluando la capacidad tóxica de muestras

ambientales o alimentos (ejemplo, toxinas en moluscos bivalvos), y de la calidad de cada lote producido de determinados productos, como las vacunas.

b) La *investigación toxicológica no regulada* no está impuesta por normativas y puede dividirse en básica y en aplicada. La *investigación básica* tiene como finalidad esencial la búsqueda del conocimiento en sí mismo, sin implicaciones prácticas directas. Es el grupo más amplio, con enfoques similares a los de otras muchas disciplinas, e incluye el estudio de mecanismos de acción, interacciones, efectos, etc. La toxicología «investigacional», surge desde un deseo de estudiar los efectos tóxicos más profunda y específicamente de lo que permiten los ensayos rutinarios regulados (Anderson y Conning, 1993). Mientras que la toxicología reguladora se concentra fundamentalmente en el cribado y en las primeras fases, el trabajo de investigación surge a partir de ahí. La *investigación aplicada* está dirigida a contestar preguntas con un objetivo práctico, como pudiera ser la selección o el tamizado de entre nuevas sustancias, comparando la actividad biológica de las mismas. El ejemplo clásico es el desarrollo de medicamentos, pero también se aplica, por ejemplo, con los fitosanitarios o agroquímicos. Ade-

Tabla 11.3. Tipos de investigaciones toxicológicas experimentales según su finalidad

A. Investigación regulada o evaluación toxicológica:	
• Registro de nuevas sustancias o productos, como medicamentos, fitosanitarios, productos industriales, etc., con fines clasificatorios y de evaluación del riesgo o la seguridad mediante:	
— La evaluación del peligro.	
— La cinética y metabolismo en el organismo, y su degradación ambiental.	
• Control y monitorización de la contaminación.	
B. Investigación no regulada:	
• Investigación básica: mecanismos de acción, interacciones, etc.	
• Investigación aplicada:	
— La selección o tamizado de nuevas sustancias.	
— El diagnóstico o la monitorización de la presencia de sustancias.	
C. Experimentación docente y formativa.	

más se realiza el diagnóstico o la monitorización de la presencia de sustancias por sus efectos, es decir, se aplican bioensayos en casos de intoxicaciones alimentarias con toxinas como las botulínicas o el control de efectos de contaminantes en diferentes etapas intermedias de tratamiento de aguas o residuos para obtener información sobre la efectividad de las mismas.

c) Finalmente existe un tipo especial de experimentación toxicológica cuya finalidad no es investigar para obtener nuevos conocimientos, sino como procedimiento complementario en la *enseñanza y formación* de estudiantes y profesionales, con el objetivo fundamental de proporcionar un entrenamiento e instrucción práctica.

Como posteriormente se insistirá, los estudios toxicológicos regulados están sometidos a estrictas normativas específicas, pero todos los tipos citados deben cumplir las normativas generales de protección y experimentación animal.

DISEÑO Y COMPONENTES DE LOS MODELOS TOXICOLÓGICOS EXPERIMENTALES

La configuración de los modelos experimentales empleados en Toxicología se fundamenta en varios elementos básicos, que incluyen el sustrato biológico, el plan de exposición, los indicadores evaluados y el modelo predictivo. El *sustrato biológico* es el material generalmente orgánico, vivo o no, sobre el que se aplica el xenobiótico siguiendo un plan de exposición, y cuyas reacciones ante tal estímulo queremos estudiar, y a veces comparar o extrapolar al hombre. Estas alteraciones se valoran mediante los denominados biomarcadores de toxicidad, que son los parámetros que determinamos para cuantificar las modificaciones producidas en la estructura o fisiología de los componentes del sustrato de ensayo.

La validez del modelo experimental dependerá de la buena conjunción entre su sustrato biológico y los indicadores de toxicidad aplicados, aunque también presentan gran transcendencia la pauta utilizada para la exposición al tóxico y el procedimiento empleado para evaluar la significación estadística de los resultados. Finalmente, puede ser necesaria la aplicación de un modelo predictivo

Tabla 11.4. Componentes de los modelos toxicológicos experimentales

1. El Sustrato biológico/Especie animal.
2. Número y distribución por grupo de los individuos.
3. Selección de las dosis y los grupos.
4. Elección de la vía de exposición.
5. Periodo de exposición.
6. Biomarcadores de toxicidad / Toma de muestras.
7. Análisis de los resultados.
8. Modelo predictivo.
9. Condiciones generales.

que traduzca los resultados obtenidos a expresiones o valores más fáciles de manejar. Por lo tanto el modelo experimental podría definirse matemáticamente como:

Modelo Experimental = sustrato biológico + pauta de exposición + valoración del biomarcador + tratamiento de los resultados + modelo predictivo

En muchas ocasiones se denomina al «sustrato biológico» como «modelo», hablándose así de que «el modelo animal empleado fue rata Wistar». Sin embargo debemos remarcar que, como ya se ha indicado, el modelo experimental engloba a muchos más elementos. El diseño experimental incluye también la disposición de las unidades experimentales (grupos, réplicas, repeticiones), el plan de exposición (concentraciones, modo, frecuencia, periodo) y el momento y determinación de los biomarcadores (Festing *et al.*, 2002). En las ocasiones en que se pretende estudiar la toxicocinética y el metabolismo de las sustancias, los modelos experimentales se componen de los sustratos biológicos y de un protocolo de detección o determinación en diferentes medios de las concentraciones de las sustancias aplicadas y / o sus metabolitos.

Como se indica en la Tabla 11.4, el planteamiento de un protocolo tradicional de toxicología experimental presenta, *a priori*, nueve componentes que deben ser decididos antes de iniciar la investigación, teniendo en cuenta el tipo de sustancia que pretende estudiarse y el uso previsto de la misma.

El sustrato biológico/especie animal

Es el material, generalmente orgánico, vivo o no, sobre el que se aplica el xenobiótico. Puede tratarse de un animal, un cultivo celular, una enzima, etc. Por ello se distingue entre experimentación *in vitro*, o *in vivo*, que puede realizarse sobre animales, plantas o humanos. Se sobreentiende que un estudio *in vivo* es efectuado sobre un organismo completo, y que un estudio *in vitro* es el que se verifica sobre una parte del mismo, generalmente en un recipiente, que clásicamente era de vidrio.

El empleo de animales de experimentación por los primitivos farmacólogos y toxicólogos fue sistematizado por Trevan (1927) para la determinación de la dosis letal por vía oral, evolucionando en gran medida desde entonces. La selección de la especie animal se realiza atendiendo a criterios de disponibilidad, sensibilidad y similitud.

En relación con la disponibilidad o conveniencia, en general se utilizan animales pequeños por razones económicas que condicionan la infraestructura, consumo de alimentos, gasto de producto y eliminación de residuos. La comodidad de manejo, reproducción y suministro hacen que los más empleados sean rata, ratón, conejo, cobayo, hámster y perro. En líneas generales, las especies más convenientes para las administraciones por las vías oral y parenteral son la rata y el perro, raramente el ratón; para la aplicación tópica, el conejo, y para ensayos de sensibilización, el cobayo está siendo sustituido por el ratón (Tabla 11.5).

Los roedores tienen un periodo de gestación corto, una alta tasa de fertilización, y amplias camadas, por lo que es barato producir grandes cantidades para investigación, a la vez que son muy útiles para estudiar el potencial reproductivo y la toxicidad sobre el desarrollo (Tabla 11.6). Por su corta vida media son útiles en los estudios crónicos (Zúñiga *et al.*, 2008). Sin embargo, las ratas y ratones presentan una alta velocidad metabólica, pueden ser sensibles al estrés, no poseen vesícula biliar, no tienen reflejo emético, pueden producir ácido ascórbico y su principal enzima metabolizadora de la familia P 450 es el CYP2C, frente al CYP3A en humanos. Las ratas presentan respiración nasal obligada y no son un buen modelo en estudios de inhalación para extrapolación a humanos. El tamaño puede ser

Tabla 11.5. Especies animales empleadas comúnmente en estudios de toxicología reguladora

Tipo de estudio	Especie de elección	Especie alternativa
Toxicidad aguda	Rata, ratón	
Toxicidad por dosis repetidas	Roedor (rata), no roedor (perro)	Ratón, mono
Carcinogenicidad	Rata, ratón	
Mutagenicidad	Ratón	
Desarrollo y reproducción	Rata, conejo	Ratón, hamster, mono
Neurotoxicidad	Rata	Ratón, gallina
Inmunotoxicidad	Ratón, cobayo	Rata

Tabla 11.6. Cepas de roedores más empleadas en estudios toxicológicos. Características

Rata:
Sprague-Dawley:
— Albina, no consanguínea, gran base de datos.
— Tendencia a la obesidad y a neoplasias mamarias.
— Propensión a enfermedades renales geriátricas, por lo que no debiera emplearse para estudios de nefrotoxicidad.
Wistar:
— Albina, no consanguínea.
— Buena supervivencia para ensayos de dos años, pero propensa a neoplasias mamarias e hipofisiarias.
Fischer 344:
— Albina, consanguínea, pequeña y muy usada.
— Propensa a leucemia y neoplasias testiculares e hipofisiarias.
Ratón:
CD-1:
— Albina, no consanguínea, muy empleada.
— Propensa a neoplasias hepáticas y amiloidosis.
C3H:
— Consanguínea, muy empleada.
— Propensa a neoplasias hepáticas.
C57BL:
— Negra y consanguínea.
BALB/c:
— Albina, consanguínea.
— Propensa a atrofia testicular.

una ventaja o no dependiendo del estudio. Los ratones requieren poco material de ensayo y alimento, aunque permiten un reducido número de extracciones y volumen de sangre por estudio. En general, los monos y cobayos son mejores modelos que los roedores para estudios de efectos tóxicos sobre las gónadas (Jacobson-Kram, Keller, 2001).

La especie debe tener sensibilidad adecuada para el efecto estudiado, por lo que en casos concretos, como estudios de neurotoxicidad, se emplean aves, peces, gatos y monos. Finalmente, según el criterio de similitud, desde el punto de vista científico lo lógico es utilizar una especie cercana a aquella a la que se pretendan extrapolar los resultados, que habitualmente es el hombre. En general, y siguiendo la escala filogenética, se considera que de menor a mayor similitud con el hombre se encuentran: Rata-ratón < conejo < cobayo < perro < cerdo < mono < hombre. Sin embargo, la similitud entre especies dependerá de las características de cada tóxico concreto aplicado. Estas diferencias suelen ser de tipo cuantitativo más que cualitativas, y deberse a causas toxicocinéticas. Por ello, dado que las diferencias metabólicas son muy grandes entre las especies, es muy útil la comprobación *in vitro* de los perfiles metabólicos del compuesto en tejidos hepáticos de varias especies para facilitar la selección de la especie sobre la que se realizará el estudio *in vivo*.

Generalmente, la mayor seguridad y fiabilidad de los datos se obtiene empleando siempre más de una especie animal; aunque los más utilizados son los roedores, se recomienda repetir los ensayos con otras especies no roedoras. Cuando sea posible se usará la mitad de individuos de cada sexo; en caso de utilizar animales de un solo sexo, al expresar los resultados del estudio deberá indicarse claramente esta circunstancia.

En la práctica, pueden usarse animales de laboratorio de tres tipos principales: *convencionales* (generalmente albinos consanguíneos), *patológicos*, como las ratas hipertensas o el ratón desnudo, que no tiene timo ni defensa inmunitaria, y los *manipulados* quirúrgica, química o genéticamente. Los animales transgénicos se utilizan para estudios muy particulares; derivan de un huevo recientemente fertilizado, extraído de una hembra, al que se inyectan unas secuencias de ADN (si las secuencias se colocan en un cromosoma sustituyendo a secuencias similares de ADN, se denomina inserción homóloga, pero si se hace al azar, se denomina no homóloga). El animal que nace de este huevo recibe el nombre de fundador, y sus descendientes, que portan el ADN exógeno, constituyen una línea de animales transgénicos. Estos animales son muy útiles para el estudio de los mecanismos de regulación de la expresión de los genes, y de la interferencia que los tóxicos introduzcan, así como de la trascendencia cinética o metabólica de poseer algu-

Tabla 11.7. Clasificación de los animales de laboratorio según su flora bacteriana.

-
1. Animales gnotobióticos: de flora conocida. Se subdividen en:
 - 1.1. Axénicos: estériles, sin ningún germen, nacidos, criados y mantenidos en aislamiento. Se simbolizan como GF (*germen free*).
 - 1.2. Gnotoxénicos: proceden de los anteriores, a los que se ha inoculado algún germen concreto.
 2. Animales agnotobióticos: no se puede asegurar que tengan continuamente una flora conocida. Se subdividen en:
 - 2.1. Heteroxénicos y también:
 SPF = *specific pathogen free*.
 PF = *pathogen free*.
 COBS = *caesarian obtained, barrier sustained*.
 Se obtienen por cesárea y son criados y mantenidos en condiciones ambientales sanitarias muy controladas para evitar contaminación.
 - 2.2. Holoxénicos son los clásicos o convencionales criados y mantenidos en condiciones ordinarias.
 - 2.3. Neoholoxénicos: son animales originariamente axénicos o heteroxénicos, criados en otras condiciones.
 3. Animales silvestres, o no producidos para experimentación. No deben ser utilizados para investigación farmacológica ni toxicológica.
-

nas proteínas modificadas o carecer de ellas. En la experimentación *in vitro* se emplean también células transgénicas.

Los animales deben proceder siempre de un bioterio o animalario de garantía, que asegure el empleo de ejemplares sanos, de una cepa establecida, con alimentación apropiada y escrupulosa higiene. En casos especiales se precisan sólo individuos homocigóticos, o consanguíneos, procedentes del cruce entre hermanos en sucesivas generaciones. Otras veces se exige una esterilidad tal, que se induce el nacimiento de los animales mediante cesárea y son conservados y criados en lugares y con alimentación estéril (véase Tabla 11.7).

Durante un tiempo, los animales libres de gérmenes estuvieron considerados como unos reactivos biológicos extremadamente útiles, pero posteriormente se ha discutido su fiabilidad. Se aduce que los animales normales tienen una flora que ocupa los nichos posibles en su tubo digestivo, evitando que los recursos alimentarios sean utilizados por floras infecciosas; esto se llama «efecto barrera», y no existe en los animales libres de gérmenes, ni en los pretratados con antibióticos, que experimentan la llamada «translocación de patógenos». Esto es importante porque la flora influye en el desarrollo y maduración del sistema inmunitario asociado al extenso tejido linfóide del tubo digestivo; teniendo en cuenta que el 80 % de las células inmunocompetentes del organismo están en el tubo digestivo, y que la mayor parte de las inmunoglobulinas se produce en la mucosa intestinal, se comprende que los animales libres de gérmenes sean insuficientes en Ig y no desarrollen tolerancia inmunitaria.

Aparte de que estos animales tienen altos niveles de colesterol en suero, la presencia de flora bacteriana resulta importante en la cancerogénesis. Los *Clostridium* y los *Bacteroides* aceleran la producción de tumores inducidos por sustancias químicas, porque agravan las lesiones de la mucosa, mientras que *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* los inhiben, al favorecer la reparación de la lesión. Mediante estudios *in vitro* con cultivos de colonocitos se ha visto que los ácidos grasos de cadena corta, como el butirato, que se originan en la fermentación y la putrefacción intestinal, revierten la expresión del fenotipo neoplásico a no-neoplásico.

En algunos estudios toxicológicos se utilizan larvas de anfibios, como en el método de Reiss aplicado a la investigación de los efectos tóxicos de las micotoxinas; se ensaya la actividad de aflatoxina B₁, diacetoxicirpenol y esterigmatocistina, en el desarrollo de huevos y larvas de rana y de tritón.

Los estudios toxicológicos con plantas están promovidos no sólo en interés de los productos fitosanitarios y del conocimiento de la fitotoxicidad de productos de uso agrícola (y sus frecuentes contaminaciones), sino también por la necesidad de conocer el metabolismo, transformación y retención de las sustancias tóxicas por los vegetales de consumo animal o humano, que no pueden superar lo que se conoce como límite máximo de residuos (LMR). Algunas técnicas utilizan plantas inferiores para el análisis toxicológico, como la desarrollada por nosotros (Repetto y Sanz, 1977) para la detección de herbicidas en sangre de intoxicados, u otras muestras, mediante cultivos de algas en placa de agar, al estilo de los antibiogramas. Sobre placas de agar sembradas con microalgas se colocan pequeños discos de papel impregnados del material sospechoso; la presencia de paraquat se detecta por la aparición de halos de inhibición del crecimiento del cultivo. Por el contrario, otros compuestos como los herbicidas hormonales 2,4-D o el 2,4,5-T, o herbicidas carbámicos o triazínicos, estimulan el crecimiento, con lo cual se originan halos de gran densidad.

Número y distribución de las unidades experimentales por grupo

Para el éxito del experimento es básico un buen diseño experimental. Existe una gran cantidad de publicaciones y libros que pueden consultarse sobre el mismo (Pérez García *et al.*, 1998; Zúñiga *et al.*, 2008; Festing *et al.*, 2002).

Cada experimento se compone de varias unidades experimentales, como son una jaula de animales, un animal, un frasco de cultivo o un pocillo de una placa de cultivo. En el caso de las placas de cultivo, puede considerarse como una unidad a los pocillos de una columna con el mismo tratamiento.

El tamaño muestral, es decir, el número de unidades experimentales o individuos necesario para cada grupo del experimento, se calcula con méto-

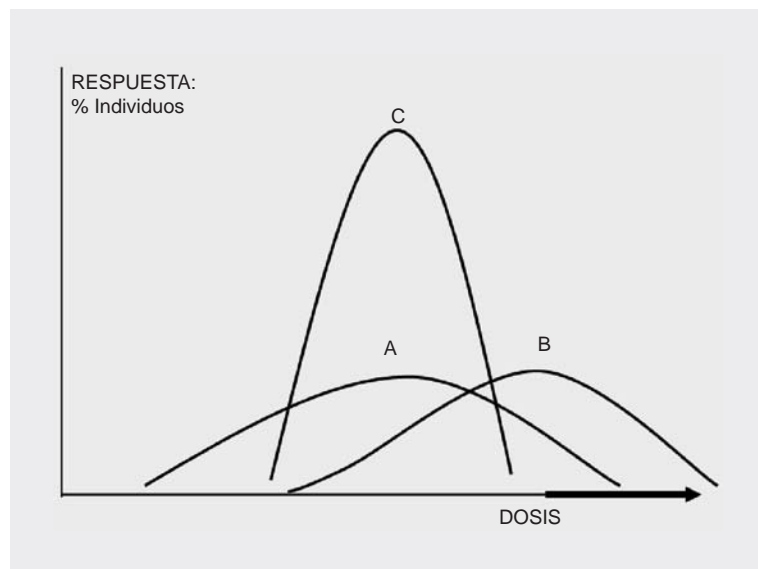


Figura 11.2. Distribución dosis-respuesta, en tres poblaciones diferentes.

dos estadísticos para usar el menor número posible que asegure la validez estadística de los resultados. En cualquier grupo habrá individuos más y menos sensibles, que se distribuirán de forma gaussiana en relación al logaritmo de la dosis (Figura 11.1). Cuanto más homogénea sea la población, más homogénea será la respuesta (porcentaje de individuos que experimentan el efecto) a ese compuesto, más alta será la curva y más estrecha su base, por lo que se precisará un número menor de individuos. Por eso se emplean habitualmente animales lo más parecidos posible: por ejemplo, consanguíneos, procedentes del cruce entre hermanos en sucesivas generaciones.

La Figura 11.2 muestra el comportamiento de tres poblaciones de diferente homogeneidad de respuesta frente a una misma sustancia; al ser la población C más compacta, se requerirá un número menor de animales.

Es esencial la aleatorización o asignación al azar de las unidades experimentales a cada grupo de tratamiento. Con ello se minimiza la heterogeneidad que pueda existir entre las unidades experimentales, es decir, las diferencias en respuesta debidas a factores no controlables (ejemplo, animales no consanguíneos) o controlables pero no evitables (ejemplo, sujetos humanos con dietas alimentarias diferentes).

En los estudios con animales suele emplearse el diseño de aleatorización completa, que es el

indicado cuando se asume que las unidades experimentales son iguales. Por ejemplo, si queremos comparar los efectos de cuatro niveles de dosis de un compuesto con el control, usando seis animales en cada grupo, asignaremos los animales uno a uno a cada grupo siguiendo el azar, o mucho mejor, empleando una tabla de números aleatorios. Así se está aplicando realmente un análisis de la varianza con un factor de variación.

En los ensayos *in vitro* suele emplearse la aleatorización por bloques con replicados en diferente momento. El procedimiento por bloques aleatorios facilita el empleo de unidades aleatorias no iguales, o la comprobación de varias variables simultáneamente. En una primera fase se reúnen las unidades parecidas para formar un grupo homogéneo, denominado bloque. A continuación, se van asignando aleatoriamente los tratamientos a cada uno de los individuos dentro de cada bloque.

En todos los experimentos es imprescindible un grupo control o blanco, que tiene un número de animales o unidades igual o superior a los restantes grupos, y suele ser tratado de igual forma que los expuestos, pero no se le administra el compuesto. Un «control positivo» es el expuesto a alguna sustancia o procedimiento para provocar el efecto que se quiere estudiar en los grupos tratados. Si se utiliza para compararlo con los tratados, puede denomi-

narse «compuesto de referencia». Para evitar sesgos es muy conveniente el trabajo en forma ciega, es decir con muestras codificadas sin que el experimentador conozca su composición.

En los diseños factoriales se modifican varias variables en el mismo experimento, con lo que se trata de averiguar como éstas interactúan entre sí, y también los efectos de cada una de ellas. Permiten reducir enormemente los recursos empleados ya que se evita ensayar todas las posibles combinaciones de variables. Aunque son procedimientos muy avanzados, no suelen emplearse en estudios reguladores.

Selección de las dosis y grupos

La selección de las dosis aplicadas a cada grupo experimental ha sido objeto de discusiones en organismos internacionales, sin que exista un consenso adecuado. En cualquier caso, dependerá del tipo de estudio que se desee realizar, siendo enormemente útil la realización previa de ensayos piloto. Las dosis intermedias entre la máxima y la mínima suelen escogerse separándolas geométricamente, usando un factor multiplicador ≤ 2 .

Para decidir la dosis de partida, se recomienda partir de datos obtenidos *in vitro* o por QSAR, o por similitud estructural con otros compuestos. En los ensayos de toxicidad aguda se utilizan al menos tres grupos, para permitir una demostración clara de la relación dosis-respuesta. Una vez obtenida la dosis letal media, es muy útil la recta de regresión obtenida. Si la pendiente es muy acusada, con lo que pequeñas variaciones en la dosis provocarán grandes cambios en toxicidad, pueden hacerse estudios con $1/10$ de la DL_{50} . Si la pendiente tiende a ser plana, se recomienda emplear $1/5$ de la DL_{50} (Giráldez y Romero, 2001). En los estudios cinéticos debe emplearse también un rango de dosis para comprobar si a dosis altas se producen fenómenos de saturación en los mecanismos de transporte o biotransformación.

Si bien el número de animales empleado en la determinación de la toxicidad aguda ha disminuido en un 50 % con el empleo de las nuevas alternativas *in vivo* (véase después), con la realización de ensayos *in vitro* previos puede conseguirse una

reducción de un 30 % más, ya que se seleccionan mejor las dosis de partida para los ensayos *in vivo*. Efectivamente, el ensayo «arriba y abajo» permite resultados con 6-9 animales.

En los ensayos por dosis repetidas, lo ideal es que la dosis menor no produzca toxicidad, pero que sea superior a la exposición esperada en humanos; que la intermedia sea ligeramente tóxica; y que la mayor sea claramente tóxica pero sin llegar a provocar la muerte a más del 10 % de los individuos del grupo. Sirve para identificar los órganos diana de los efectos tóxicos. Para los ensayos *in vitro* se siguen los mismos criterios.

Elección de la vía de exposición

En los ensayos experimentales con animales, la exposición se realiza de acuerdo con el tipo de producto y la posible vía por la que el hombre lo pueda absorber. Así, un medicamento oral, cutáneo o parenteral requerirá tales vías de experimentación; un contaminante atmosférico deberá ser estudiado por las vías inhalatoria y cutánea.

El sistema más cómodo para administrar el producto es añadirlo a la comida o a la bebida, pero, debido a numerosos factores, esto no es a veces posible y, además, no resulta seguro el cálculo de la cantidad realmente ingerida y la desperdiciada. Por ello, en caso de que la vía de administración elegida sea la oral, se puede realizar fácilmente mediante intubación gástrica, cuidando de que la sonda no penetre por la tráquea. El volumen administrado por ese procedimiento no debe superar 10 mL/kg de peso corporal del animal.

Las rutas parenterales requieren mayor preparación. Las más utilizadas son: inyección subcutánea (SC), intramuscular (IM), intraperitoneal (IP) e intravenosa (IV). La administración subcutánea es fácil, y permite el empleo de disoluciones o suspensiones grasas, inaplicables por vía venosa, pero las sustancias cáusticas o de pH no fisiológico producen mayor irritación; la absorción resulta más lenta. La vía intramuscular es más rápida; normalmente se aplica en los glúteos y músculos sacroespinales. La vía intraperitoneal consigue una absorción casi tan rápida como la intravenosa, y es útil cuando el número de aplicaciones es reducido, porque la agresión repetida en el lugar origina adherencias hísticas que pueden alterar los resultados.

En la administración parenteral los volúmenes deben limitarse a menos de 0,5 mL para roedores y 2 mL para animales mayores; cuando hay que aplicar cantidades superiores debe dividirse e inyectar las fracciones en diferentes lugares, aunque volúmenes acuosos excesivos pueden producir hiperhidratación y afectar la función renal. En general, el disolvente ideal es la disolución salina isotónica, a pH comprendido entre 5 y 8. Si el producto no es hidrosoluble, puede aplicarse en suspensión, por vía oral o intraperitoneal si el tamaño de partícula es pequeño y se homogeneiza bien. Es muy importante atender a la naturaleza del vehículo o medio de dilución empleado, y siempre es necesario el estudio de un grupo de animales como control, a los que se aplique el vehículo solo, en idénticas condiciones ambientales y alimentarias, para asegurar que dicho vehículo no provoca ningún tipo de reacción.

Para determinar la DL_{50} por vía dérmica (toxicidad aguda percutánea) se aplica el producto sobre la piel del lomo del animal, previamente afeitada. Para estudiar la toxicidad por vía inhalatoria, donde la toxicidad aguda se expresa como concentración letal media (CL_{50}), se mantienen los animales en cámaras especiales en las que sólo el hocico esté expuesto al tóxico, evitando la absorción percutánea.

La cadencia de la administración debe también decidirse, ya que no presenta los mismos efectos una administración intravenosa en una sola vez (bolus) que a lo largo de varias horas.

En las exposiciones en toxicología acuática e *in vitro* suele ser necesaria la disolución de los compuestos no hidrosolubles mediante algún disolvente orgánico, que después se disuelve en el medio de cultivo. Para los cultivos en filtros de células con dos polos, es posible aplicar los compuestos bien por el polo apical o por el basal.

Periodo de exposición

Los estudios de toxicidad pueden desarrollarse con una sola administración (toxicidad aguda) o con tratamientos durante periodos cortos (toxicidad subcrónica, denominación que, de acuerdo con las directrices de la OCDE, debe sustituirse por la de *toxicidad por dosis repetidas*), medios o largos (toxicidad crónica). Jamás debe olvidarse

la observación a largo plazo y la posible inducción de carcinogénesis y teratogénesis, la modificación de la fertilidad y todo lo que abarcan las expresiones toxicidad para la reproducción y el desarrollo.

En los ensayos *in vitro*, el periodo de exposición es también de gran importancia, y debe escogerse en cada caso concreto y el indicador que se vaya a valorar. En los estudios de inhibición enzimática en homogeneizados o fracciones celulares, la exposición de alrededor de 30 minutos suele ser suficiente para la mayoría de los ensayos. En tests agudos acuáticos o con cultivos celulares suelen emplearse periodos que van desde unas pocas horas hasta varios días (Riddell *et al.*, 1986).

Biomarcadores de toxicidad/toma de muestras

Los biomarcadores de toxicidad (véase también Capítulo 13) deben seleccionarse antes de comenzar los experimentos según el tipo de investigación. Al igual que en los estudios *in vitro*, debe tenerse en cuenta la secuencia habitual de modificación de indicadores. Así, un cambio en las concentraciones de calcio intracelular ocurre en fracciones de segundo, mientras que la inducción en la expresión de una enzima requiere varias horas. Existe un amplio rango de posibilidades que incluye controles básicos de aspecto, postura, peso, consumo de agua y alimento; comportamiento; exámenes físicos, estudios hematológicos y de bioquímica sérica y urinaria; y autopsia, estudio macroscópico e histológico. En las Tablas 11.8 y 11.9 se recogen los principales indicadores exigidos en estudios regulados de toxicidad.

Dentro de la filosofía actual de minimizar el sufrimiento de los animales de experimentación, se está intensificando la aplicación de los sistemas de diagnóstico por la imagen, algunos diseñados expresamente para animales pequeños, como ecografía (ultrasonografía), resonancia magnética nuclear, espectroscopía de resonancia magnética, tomografía de emisión de positrones, tomografía computarizada de barrido, imagen por espectros visible o infrarrojo, etc.; con ellos se pueden detectar cambios anatómicos, en los tejidos duros y

Tabla 11.8. Observaciones que se deben realizar a los animales.

Aspecto físico (diariamente): Posiciones extrañas. Posiciones de la cola, orejas, aletas. Piloerección. Salivación. Lacrimeo. Moqueo. Excretas.	Recuento leucocitario y plaquetario. Hemoglobina. Hematocrito. Resistencia de los hematíes.
Comportamiento: Consumo de agua y alimentos. Actividad/inactividad espontáneas. Comportamiento exploratorio. Agresividad. Fonación, vocalización. Sedación. Estudios del condicionamiento operante.	Quimismo sanguíneo (periódicamente y al final): Glucemia. Proteínas. Coeficiente albúmina/globulinas. Colesterol, lípidos, triglicéridos. Transaminasas. Fosfatasa alcalina. Creatinfosfocinasa. Alantoína. Urea. Inmunoglobulinas.
Exámenes físicos: (véase Tabla 11.9) Tono muscular. Temblores musculares. Convulsiones. Convulsiones tras estímulo. Parálisis. Catatonía. Alteración de reflejos: corneal, palpebral, de retirada, etc. Tamaño de pupila. Opacidad corneal. Sensibilidad al dolor. Lesiones en piel.	Orina (periódicamente y al final): Volumen. pH, color. Sedimentos. Glucosa. Albúmina. Cuerpos cetónicos. Pigmentos biliares. Sangre. Alantoína.
Exámenes electrofisiológicos: polígrafo, ECG, EEG, etc.	Autopsia de animales fallecidos o sacrificados: Posición de la cabeza, extremidades y cola. Exámenes macroscópicos. Peso de los órganos. Histopatología: óptica y electrónica
Hematología (periódicamente y al final): Hemograma.	

blandos, en el metabolismo e, incluso, en la función y expresión de los genes. Con estos métodos de estudio se obtienen numerosos datos en imágenes en tres dimensiones, lo que, además de proporcionar mayor información, permite reducir el número de animales de experimentación.

Para cuantificar la toxicidad aguda en exposiciones por vía inhalatoria o en medio acuático, el parámetro más empleado suele ser la DL_{50} y la CL_{50} pero también se utilizan las dosis que provocan un determinado efecto, como DE_{50} o CE_{50} (dosis o concentración efectiva media), muy empleadas en procedimientos *in vitro*. Los pará-

metros básicos en los estudios por dosis repetidas son el NOAEL y el LOAEL, con sus contrapartidas en forma de concentraciones.

La toma de muestras debe programarse perfectamente, ya que la cantidad necesaria puede suponer que solamente sea posible realizarla una sola vez durante el experimento, o que incluso provoque la finalización del mismo por muerte del animal o alteración del cultivo. Si facilitan la misma información, son preferibles las tomas de muestras que no sean destructivas. Habrá que valorar la necesidad y la posible interferencia del empleo de anestesia (Tabla 11.10).

Tabla 11.9. Exámenes físicos en pruebas de toxicidad.

Sistema	Observación	Signos de toxicidad
Nervioso y motor	Comportamiento. Movimiento. Reactividad a estímulos. Reflejos cerebral y espinal. Tono muscular.	Actitud, vocalización, sedación. Crispación, temblor, ataxia, catatonía, parálisis, movimientos forzados, convulsiones. Anestesia, pasividad, hiperestesia, irritabilidad. Pereza, ausencia. Rigidez, flacidez.
Sistema nervioso autónomo	Tamaño de pupila. Secreciones. Nasal.	Miosis, midriasis.. Salivación, lagrimación. Descarga.
Respiratorio	Carácter y respiración.	Disnea, bradipnea, Cheyne-Stokes, Kussmaul.
Cardiovascular	Palpación región cardíaca.	Bradicardia, arritmia, estremecimiento.
Gastrointestinal	Función. Aspecto abdominal. Heces.	Diarrea, estreñimiento. Flatulencia, contracción. No formadas, coloración.
Piel	Color, turgor, integridad.	Enrojecimiento, erupción, piloerección, flacidez.
Mucosa	Conjuntiva, boca.	Congestión, hemorragia, cianosis, amarilla.
Ojo	Párpado. Globo. Córnea.	Ptosis. Exoftalmos, nistagmo. Transparencia, opacidades.
Otros	Temperatura de piel y rectal. Lugar de inyección. Estado general.	Alta, baja . Hinchazón. Postura anormal, adelgazamiento.

Análisis de los resultados

Una vez realizado el trabajo experimental es necesario procesar los datos obtenidos. El análisis de los resultados comprende la aplicación a los mismos del análisis estadístico, la identificación y criba de las interferencias, el análisis de los datos y la interpretación de los resultados (Tabla 11.10).

El estudio estadístico es necesario incluso cuando los efectos son evidentes, ya que es preciso tener en cuenta la variabilidad de los resultados para extraer conclusiones. Al mostrar los resultados debe incluirse la magnitud y el intervalo de confianza, desviación estándar o error estándar para indicar la precisión, y el valor exacto de los valores de probabilidad, en vez de decir $p < 0,05$. La falta de significación estadística no implica que no existan efectos, ya que podría ocurrir que el experimento sea pequeño, o la variabilidad muy grande.

Los métodos estadísticos aplicados en Toxicología dependen de la finalidad del estudio, del

diseño, y de la naturaleza de los resultados. Tras el análisis estadístico descriptivo se realiza el inferencial, que variará según que las variables sean categóricas, es decir cualitativas, o bien cuantitativas.

Para variables no continuas o categóricas suele emplearse la χ^2 de Pearson. En el análisis estadístico de datos cuantitativos (variables continuas, por ejemplo, hematología, peso) se suele comprobar si existe diferencia entre las medias de los diferentes tratamientos. Pueden aplicarse:

- Métodos paramétricos: más versátiles y útiles, pero tienen condiciones de aplicación muy exigentes. Asumen que las varianzas son iguales, que los residuales siguen una distribución normal y que las observaciones son independientes entre sí.
- *ANOVA*: Si concluye que no hay diferencias entre los grupos, el estudio es suficiente. Si se encuentran diferencias (por

Tabla 11.10. Hoja de registro de datos- anestesia.

Especie:				
Sexo:				
F. Nacimiento:				
Peso:				
Pretratamiento	1	Dosis:	Vía:	Fecha:
	2			
	3			
Tratamiento	1	Dosis:	Vía:	Fecha:
	2			
	3			
	Tiempo (minutos) / tratamientos			
	1º	2º	3º	4º
<i>Narcosis</i>				
Excitación				
Ataxia				
Caída				
Pérdida del reflejo de enderezamiento				
Reflejo plantar				
Analgesia				
Relajación muscular - masticadores- patas				
Taquipnea				
Bradipnea				
Hipotermia				
Flacidez				
Reflejo palpebral				
Reflejo corneal				
Opacidad corneal				
Parada respiratoria				
<i>Recuperación</i>				
Automatismos				
Agitación				
Quejidos				
Tono muscular				
Sensibilidad cutánea				
Reflejo del enderezamiento				
Marcha normal				
Desaparición de la excitación				
Excreción				
<i>Observaciones:</i>				

ejemplo, $p < 0,05$), y existen varios grupos, el resultado *se confirma* con un método *post hoc*: Dunnett, Tukey, Fisher, Newman-Keuls.

- *Test de la t de Student*: no debe emplearse si se comparan más de dos grupos de tratamiento, ya que se pierde potencia y se incrementa la posibilidad de falsos resultados positivos.
- Pruebas no paramétricas: de aplicación más general: Mann-Whitney, Kruskal-Wallis y Friedman.

La correcta aplicación de los métodos en toxicología y evaluación del riesgo es fundamental para asegurar la validez de los resultados, y se emplean algunos procedimientos típicamente desarrollados para la investigación toxicológica. No sólo es necesario modelar la relación dosis-efecto, sino que también hay que correlacionarla con conceptos reguladores como la Ingesta Diaria Admisible (IDA), para lo cual se desarrolló el NOAEL, o mayor dosis ensayada experimentalmente con la que no se han observado efectos, y que, a pesar de las críticas, aún se emplea en estudios no carcinogénicos. También se aplican modelos de predicción mucho más complejos como el de la dosis cota (BMDL).

En los últimos años, los procedimientos han ido evolucionando desde técnicas simples hacia construcciones más complicadas. Cada área toxicológica (neurotoxicología, irritación, corrosividad, teratogenicidad, etc.), parece requerir enfoques diferentes (Ryan, 2000). Sin embargo, el avance en el conocimiento de los mecanismos de acción llevara aparejado el desarrollo de procedimientos más útiles (Bailer y Piegorsch, 2000).

Modelo predictivo

En muchos casos, es preciso definir un modelo predictivo, es decir, establecer una guía que permita interpretar los resultados obtenidos, que a veces será tan simple como especificar unos valores de referencia. Expresado de otra manera, el modelo predictivo es una norma explícita de toma de decisiones para convertir los resultados de los indicadores en uno o más sistemas de ensayo en una predicción de peligro toxicológico *in vivo* en la

especie considerada. El ejemplo más sencillo son los intervalos de valores de la DL_{50} que permiten clasificar a los compuestos como tóxicos, muy tóxicos, etc.

Condiciones generales

Antes de comenzar un experimento, es preciso redactar el protocolo detallado de lo que se pretende hacer. Ello facilita enormemente el desarrollo del mismo y la revisión de los resultados, y ahorra la repetición innecesaria de estudios en los que no se tuvieron en cuenta variables importantes.

En el diseño de los experimentos debieran colaborar expertos en estadística, siendo aconsejable que éstos tengan experiencia en experimentación toxicológica, y que los investigadores sean capaces de transmitirles exactamente cual es la finalidad de cada estudio. En algunos casos muy concretos puede emplearse un diseño de tipo no estadístico, en el sentido de que los datos requeridos puedan procesarse sin precisar análisis estadístico.

Las condiciones que deben aplicarse en los estudios toxicológicos, particularmente de los regulados, son aún más estrictas que las impuestas por la legislación de protección y experimentación animal, que se expondrán posteriormente. Es particularmente trascendente el diseño previo detallado, el seguimiento de protocolos oficiales, de los principios de buena práctica de laboratorio, el cumplimiento del periodo de adaptación del animal antes de la exposición, periodos que van de una semana, para ratas, a un mes, para perros, la manipulación y mantenimiento homogéneos de los grupos, evitar producir dolor y estrés y las interferencias por anestésicos. El espacio libre del que debe disponer cada animal es fijado en las normativas, y por lo tanto, se limita el número de animales que pueden colocarse en cada jaula, dependiendo de su especie, peso, edad, etc.

En todo caso debe realizarse una observación previa de los animales, y una selección por pesos. Es necesario mantener a todos en ambiente idéntico y efectuar la administración y observación siempre a las mismas horas, para evitar influencias ambientales y los ritmos o ciclos circadianos. También está reglamentada la temperatura, humedad, renovación de aire, iluminación, y otros muchos aspectos.

Finalmente, el experimentador debe estar atento y si aparecen señales de sufrimiento innecesario de los animales, es decir, si detecta los denominados «*Humane endpoints*» o indicadores humanitarios, debe solucionarlo, bien corrigiendo el experimento, o si fuera necesario, finalizándolo anticipadamente (OCDE, CCAC). Indican que el animal ha entrado en un estado de sufrimiento irreversible que invalida los resultados o no aporta información relevante para el mismo. Los casos más claros serán la aparición de úlceras en estudios de corrosividad o de tumores de tamaño importante en estudios a largo plazo.

Al objeto de evitar resultados anómalos, después de utilizar animales en una experimentación toxicológica no debieran volver a emplearse, a menos que se tenga la seguridad de que no existirán interferencias. Los procedimientos de sacrificio deben ser rápidos y lo menos estresantes posible. Cuando la aplicación de anestesia previa pudiera interferir en los biomarcadores estudiados, como sucede en el caso de determinación de muchas enzimas, será preciso seleccionar un método de eutanasia que no interfiera, y sobre todo, ser realizado por una persona con la adecuada preparación.

En el caso de los cultivos celulares, la densidad celular puede condicionar los resultados y la expresión de efectos. Por ejemplo, una densidad celular muy alta provocará que las células dejen de multiplicarse, por lo que los efectos sobre la proliferación celular pudieran ser enmascarados.

PRINCIPALES ENSAYOS TOXICOLÓGICOS REGULADOS

Independientemente de los estudios básicos o aplicados que se realizan para profundizar en los mecanismos por los que se producen los efectos tóxicos, en Europa existe unidad de criterios en cuanto a la clasificación de las sustancias por su peligrosidad para los seres vivos y los ecosistemas, y sobre los protocolos de ensayo que hoy se utilizan para valorar la peligrosidad de cada sustancia antes de ser comercializada. Aunque las legislaciones establecen requerimientos específicos de estudios diferentes según el uso previsto para esas sustancias, como se describe posteriormente, básicamente suelen estudiarse los que se incluyen en la

Tabla 11.11. Como se ha comentado, es preciso emplear los protocolos oficiales de ensayo de la Unión Europea (UE) o en su caso los de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) (Balls y Combes, 2006). Una vez realizados los apropiados estudios experimentales es posible clasificar cada sustancia, etiquetándola convenientemente en el grupo de toxicidad correspondiente (tóxico, nocivo, etc.), incluyendo explicaciones sobre los riesgos específicos (frases y símbolos R) y los consejos de prudencia (frases y símbolos S), junto con los pictogramas correspondientes, según prevén las citadas normativas.

Toxicidad aguda

La investigación de los efectos agudos pretende clasificar a las sustancias por su peligrosidad. Recordemos que se entiende por toxicidad aguda la capacidad de una sustancia para producir efectos adversos tras una sola exposición; estos efectos pueden variar desde una mera irritación cutánea a la muerte.

Por ser un parámetro muy evidente, se ha considerado tradicionalmente (Trevan, 1927) la dosis letal media (DL_{50}) como el mejor indicativo de la capacidad tóxica de una sustancia. Sin embargo, el avance de los conocimientos toxicológicos y la mayor frecuencia actual de las intoxicaciones crónicas han disminuido el valor y significación de la DL_{50} . A pesar de que diversas legislaciones siguen clasificando la peligrosidad de las sustancias sólo en función de su toxicidad aguda, está claro que ésta no puede considerarse como una constante biológica del producto, sino que es un valor influible por numerosas variables, que lo reducen al carácter de un mero parámetro relativo de referencia, que facilita además la selección de las dosis de ensayo en otros tipos de estudios. En consecuencia, no se hace necesario esforzarse en obtener la DL_{50} con gran precisión, siendo suficiente conocer el rango de toxicidad de la sustancia, lo que simplifica el estudio y disminuye el número de animales empleados.

A esta consideración se unen dos estimaciones que reducen el margen de interés de la DL_{50} :

a) Una DL_{50} inferior a 25 mg/kg es tan fuertemente tóxica, que no merece la pena determinarla con mayor exactitud.

Tabla 11.11. Principales ensayos toxicológicos regulados.

1. Toxicidad aguda.
Procedimientos:
Dosis fija.
Clase tóxica aguda.
Arriba y abajo.
Objetivo: clasificación por DL_{50} o efectos evidentes.
Al menos dos especies (una roedora y otra no-roedora) y por dos vías de exposición, siendo obligatoria la oral.
Una sola exposición y 14 días de observación.
2. Capacidad corrosiva: dérmica y ocular.
3. Capacidad irritante: dérmica y ocular.
4. Capacidad sensibilizante.
5. Toxicidad por exposición repetida o prolongada.
Tipos: Medio plazo (subcrónica) o dosis repetidas: 14, 28 ó 90 días.
Largo plazo (crónica): Mínimo 3 meses, 1-2 años.
Animales: Usualmente: 25 roedores y 6 perros por nivel de dosis.
Lotes: 2-4 niveles, según DL_{50} , con 10 animales de cada sexo por nivel de dosis, como mínimo.
6. Carcinogenicidad.
7. Mutagenicidad:
Mutaciones génicas <i>in vitro</i> .
Daño cromosómico <i>in vitro</i> .
Efectos <i>in vivo</i> .
8. Toxicidad para la reproducción y el desarrollo:
Estudios multigeneracionales de reproducción: críado, una generación y dos generaciones.
Estudios de toxicidad para el desarrollo.
Disrupción endocrina.
9. Toxicidad para el medio ambiente:
Ensayos en una especie: acuáticas y terrestres.
Ensayos de microcosmos.
Ensayos de macrocosmos.
Estudios de campo.
10. Cinética en el organismo y degradación en el medio ambiente:
Toxicocinética.
Degradación.
Bioconcentración.
11. Otros: Neurotoxicidad, comportamiento, etc.
12. Propiedades fisicoquímicas.

b) DL_{50} superiores a 5.000 mg/kg representan tan baja toxicidad aguda, que tampoco deben ser investigadas con exactitud.

Como consecuencia de todo ello, se clasifican las sustancias en cuatro categorías conforme a la DL_{50} aproximada por vía oral o a la dosis discriminante obtenida por el procedimiento de la dosis fija: muy tóxicos, tóxicos, nocivos y sin clasificar (Tabla 11.12).

El antiguo método utilizado desde 1927 hasta 2002 para el cálculo de la DL_{50} consistía en emplear varios grupos experimentales tratados simultáneamente con dosis diferentes, a partir de cuyos resultados se calculaba la DL_{50} utilizando el procedimiento probit. Hemos de insistir en que de acuerdo con las normativas actuales de la OCDE y UE, desde 2002 no se admite el empleo de este procedimiento con ensayos simultáneos de varias dosis para vertebrados, sino que se recurre a procedimientos secuenciales que reducen el consumo de animales y el sufrimiento de los mismos. Son sistemas jerarquizados en los que se elige una dosis inicial de acuerdo con la toxicidad teórica o prevista de la sustancia estudiada, y se ensaya una sola dosis cada vez; los resultados orientan al experimentador sobre la dosis que debe emplear en la siguiente etapa. Los principales procedimientos para evaluar la toxicidad aguda por vía oral son los denominados de la dosis fija, de la clase tóxica aguda y el procedimiento arriba y abajo (Tabla 11.13).

El *método de la dosis fija* (Van de Heuvel *et al.*, 1990), que fue admitido por la UE en 1990 y por la OCDE en 1992, se diferencia de los otros métodos en que los sucesivos pasos del estudio con otros lotes de animales no son decididos sólo por la proporción de muertes en los animales ensayados, sino también por los efectos tóxicos evidentes. No permite calcular la DL_{50} , pero sí clasificar los compuestos. El método de dosis fija se lleva cabo en dos fases. En un estudio preliminar se investigan, de manera secuencial, los efectos de varias dosis administradas por vía oral a animales de un solo sexo, generalmente ratas hembra, observándolos al menos durante 7 días. Con unos 5 animales se estima la relación entre la dosis y la toxicidad, así como la dosis letal mínima. En el estudio principal se administra la sustancia por vía oral a grupos de 5 machos y 5 hem-

Tabla 11.12. Criterios de clasificación de sustancias y preparados según su toxicidad.

VÍAS DE ABSORCIÓN			
Categoría	Oral	Cutánea	Inhalatoria
	<i>Rata</i> DL ₅₀ : mg/kg	<i>Rata, conejo</i> DL ₅₀ : mg/kg	<i>Rata, 4 horas</i> CL ₅₀ : mg/L/4h
Muy tóxico	≤ 25	< 50	< 50
Tóxico	25-200	50-400	0,5-2
Nocivo	200-2.000	400-2.000	2-20
Riesgo subcrónico*	≤ 50/día	≤ 100/día	< 0,5/6 h/día
Sensibilización			

* Aparición de lesiones graves funcionales o morfológicas en tratamientos de 28-90 días. Igualmente para toxicidad crónica (2 años).

bras a una de las dosis preestablecidas (5, 50, 500 o 2.000 mg/kg), seleccionando aquella que probablemente provoque toxicidad manifiesta pero ninguna muerte y observando los efectos durante al menos 14 días; si se cumple la predicción y se observa toxicidad manifiesta pero sin muertes, no es preciso proseguir; si no se produce toxicidad manifiesta, se aplicará la dosis inmediatamente superior a otros grupos de animales; si los animales mueren o muestran una fuerte reacción tóxica, se aplica la dosis inmediatamente inferior, repitiendo el proceso si fuera necesario. De esta manera se identifica la dosis discriminante, es decir, la mayor de las establecidas que no provoca toxicidad clara. Con ella es posible clasificar al compuesto (Tabla 11.14).

En 1996, la OCDE adoptó el *procedimiento por clase de toxicidad oral aguda*, que tampoco pretende calcular la DL₅₀ de forma precisa, sino determinar una gama de exposición en la que se espera letalidad que sirva para clasificar la sustancia. Se utilizan tres animales (rata) del mismo sexo por etapa, confirmando los resultados en el otro sexo en la siguiente, y empleando la dosis superior o inferior en la etapa posterior según los resultados obtenidos; según la mortalidad o la gravedad del estado de intoxicación de los animales, suelen requerirse de dos a cuatro etapas, principalmente con dosis de 25, 200 y 2.000 mg/kg, con una secuencia parecida al método de dosis fija, con igual periodo de observación. Supone una notable reducción del número de animales empleados, y se ha comprobado su fiabilidad mediante un estudio internacional de validación patrocinado por Ale-

mania y la OCDE. Se intenta que la dosis de inicio produzca mortalidad en al menos un animal, pero si no hay datos previos se comienza por 200 mg/kg. Puede realizarse una prueba límite con 2.000 mg/kg en tres animales de cada sexo, que se complementaría con otra a dosis inferiores si se detectara mortalidad.

El *procedimiento arriba y abajo* emplea un solo animal en cada etapa, generalmente una rata hembra, y aplica un factor de 3.2 hacia arriba o abajo a la dosis previa, según se produzca o no la muerte del animal (Bruce, 1985, GT 425). Se comienza con una dosis inferior a la DL₅₀ prevista o con 175 mg/kg si no hay información disponible sobre la toxicidad del compuesto. Tras 48 horas se administra al segundo animal una dosis calculada según se produjera la muerte o no del primero, y así sucesivamente hasta que se presente una de estas posibilidades: 3 animales consecutivos sobrevivan en las dosis altas, ocurran 5 cambios de sentido en 6 animales o al menos 4 animales han seguido el primer cambio de sentido y el cociente de probabilidad sobrepasa un determinado valor. La OCDE proporciona gratuitamente un programa informático para realizar los cálculos. En la mayoría de los casos se precisan sólo cuatro animales a partir del primer cambio de sentido. El ensayo límite se aplica cuando se supone una baja toxicidad. Se efectúa aplicando una dosis de 2.000, o excepcionalmente 5.000 mg/kg a 1 animal. Si muere, se realiza el ensayo completo, pero si no fallece, se confirma la baja toxicidad usando secuencialmente 4 animales.

Tabla 11.13. Metodos regulados de evaluación de la toxicidad aguda, toxicidad crónica y neurotoxicidad.

OCDE	UE	PROCEDIMIENTO	Nº Animales
Código		TOXICIDAD AGUDA	
420	B1 bis	Toxicidad aguda (oral) método de dosis fija.	12 rata
423	B1.tris	Toxicidad aguda (oral) método de la clase tóxica aguda.	12 rata
425		Toxicidad aguda por vía oral- Procedimiento arriba y abajo.	15 rata
403	B2	Toxicidad aguda por inhalación.	40 rata
(433)		Toxicidad aguda por inhalación: Procedimiento de la dosis fija.	24 rata
(436)		Toxicidad aguda por inhalación: Procedimiento de la clase tóxica aguda.	
402	B3	Toxicidad aguda por vía dérmica.	35 rata
(434)		Toxicidad aguda por vía dérmica: Procedimiento de la dosis fija.	20 rata
404	B4	Toxicidad aguda - irritación de la piel.	3 conejo
405	B5	Toxicidad aguda - irritación ocular.	3 conejo
406	B6	Sensibilización de la piel.	30 cobayo
429	B42	Sensibilización dérmica: Nódulo linfático Local.	25 ratón
404	B40	Corrosión dérmica.	3 conejo
430	B40	Corrosividad <i>In vitro</i> : Resistencia eléctrica transcutánea (TER).	1 rata
431	B40 bis	Corrosividad <i>In vitro</i> : Modelo de piel humana .	0
(435)		Corrosividad <i>in vitro</i> : método de la membrana barrera.	0
432	B41	Fototoxicidad- Ensayo <i>in vitro</i> de fototoxicidad 3T3 NRU.	0
		TOXICIDAD CRONICA	
407	B7	Toxicidad por administración continuada (28 días) por vía oral.	40 rata
	B8	Toxicidad por administración continuada (28 días) por inhalación.	
412	B9	Toxicidad por administración continuada (28 días) por vía cutánea.	40 rata
408	B26	Ensayo de toxicidad subcrónica oral. Estudio de toxicidad oral por dosis repetidas durante 90 días en roedores.	40 rata
409	B27	Ensayo de toxicidad subcrónica oral. Estudio de toxicidad oral por dosis repetidas durante 90 días en no roedores.	
411	B28	Ensayo de toxicidad subcrónica dérmica. Estudio de toxicidad dérmica por dosis repetidas durante 90 días en roedores.	
413	B29	Ensayo de toxicidad subcrónica inhalación. Estudio de toxicidad inhalación por dosis repetidas durante 90 días en roedores.	
452	B30	Ensayo de toxicidad crónica .	160 rata
453	B33	Estudios combinados de toxicidad crónica con carcinogenicidad.	400 rata +
410		Toxicidad dérmica por dosis repetidas: estudio de 21/28-días.	
422		Estudio combinado de toxicidad por dosis repetida con el de cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo.	480 rata
		NEUROTOXICIDAD	
424	B43	Estudio de neurotoxicidad en roedores.	
418	B37	Neurotoxicidad retardada por sustancias organofosforadas tras exposición aguda.	
419	B38	Neurotoxicidad retardada por sustancias organofosforadas por exposición repetida durante 28 días.	
426		Neurotoxicidad para el Desarrollo.	

Tabla 11.14. Evaluación e interpretación de los resultados del método de *dosis fija* de toxicidad oral aguda.

Dosis	Resultado para 5 machos y 5 hembras	Interpretación
5 mg/kg	Supervivencia menor del 100 %. Supervivencia del 100 %, pero toxicidad manifiesta. Supervivencia del 100 %, pero sin signos de toxicidad.	Compuesto muy tóxico. Compuesto tóxico. Ensayar dosis de 50 mg/kg.
50 mg/kg	Supervivencia menor del 100 %. Supervivencia del 100 % pero toxicidad manifiesta. Supervivencia del 100 % sin signos de toxicidad.	Compuesto muy tóxico o tóxico. Ensayar dosis de 5 mg/kg. Compuesto nocivo. Ensayar dosis de 500 mg/kg.
500 mg/kg	Supervivencia menor del 100 %. Supervivencia del 100 % pero toxicidad evidente. Supervivencia del 100 % pero sin signos de toxicidad.	Compuesto tóxico o nocivo. Ensayar dosis de 50 mg/kg. Compuesto sin toxicidad aguda significativa. Ensayar dosis de 2.000 mg/kg.
2.000 mg/kg	Supervivencia menor del 100 %. Supervivencia del 100 %, con o sin toxicidad manifiesta.	Ensayar 500 mg/kg Compuesto sin toxicidad aguda significativa.

El tiempo que generalmente se precisa para que se produzca la muerte por intoxicación aguda es de 24 horas, pero, como en ocasiones (por ejemplo, con el paraquat), el efecto puede aparecer mucho más tarde, debe mantenerse la observación de los animales 10 o 15 días. Es recomendable proseguir la observación durante un mes, y posteriormente proceder al sacrificio, necropsia y estudio histológico de todos los animales utilizados.

Los estudios de toxicidad aguda suelen realizarse en dos especies empleando las vías oral, dérmica e inhalatoria. Como se ha visto, para la vía dérmica se aplica la sustancia sobre el dorso afeitado del animal, mientras que para la inhalatoria debe evitarse la exposición simultánea de la piel. Se han desarrollado procedimientos basados en las estrategias de la dosis fija y la clase tóxica aguda. La selección de la dosis de inicio en los diferentes procedimientos se realiza atendiendo a toda la información disponible, incluyendo las propiedades fisicoquímicas, las predicciones de relación estructura actividad, los datos de otras pruebas de toxicidad y el uso previsto de la sustancia. En todo caso debe realizarse una observación previa de los animales y una selección por pesos. Es necesario mantener a todos en ambiente idéntico (desde 5 días antes del ensayo) y efectuar la administración en ayunas a la misma hora, para evitar influencias ambientales y los ritmos o ciclos circadianos.

Capacidad corrosiva

El efecto corrosivo de una sustancia es la destrucción irreversible de los tejidos después de su aplicación. Actualmente se recomienda por la UE y OCDE seguir un protocolo jerarquizado para detectar corrosivos o irritantes severos sobre ojos y piel. Tras considerar las propiedades fisicoquímicas, el pH y el resultado de ensayos *in vitro* validados, los compuestos pueden ser clasificados directamente como irritantes severos sin llegar a ensayarse en animales. Sólo cuando no han resultado irritantes *in vitro* puede pasarse a su ensayo *in vivo*. En primer lugar, las sustancias fuertemente alcalinas (pH = 11,5) o ácidas (pH = 2), no deben someterse a estudios cutáneos ya que esta propiedad es suficientemente previsible para clasificarla como corrosiva. Además, la inclusión de un sistema predictivo de relación estructura actividad en la primera etapa simplifica en gran medida el procedimiento.

En la evaluación de la capacidad corrosiva sobre la piel, fueron aceptados regulatoriamente en el año 2000 el *Ensayo de la Resistencia Eléctrica Transcutánea* en piel de rata o humana (TER) (GT 430) y el *Ensayo Metabólico con Piel Humana reconstituida* (GT 431). El ensayo TER es un procedimiento *ex vivo* que identifica correctamente corrosivos y no corrosivos gracias a la disminución en la resistencia eléctrica que se pro-

duce entre dos compartimientos separados por una membrana dérmica al ser atacada por el compuesto. El ensayo de piel reconstituida se realiza con un cultivo comercial que se aproxima bastante, tanto morfológica como funcionalmente, a la piel y, al comprobar la disminución en la metabolización del colorante MTT, permite distinguir además entre corrosivos y corrosivos severos. En el método CORROSITEXTM se controla el tiempo que precisa un compuesto para destruir una biomembrana de colágeno que separa dos compartimientos de un frasco, permitiendo el paso de un colorante de un compartimiento a otro; sólo se admite en algunas legislaciones y para determinados tipos de sustancias.

Solamente cuando con los procedimientos anteriores no es posible clasificar como corrosiva a la sustancia, puede evaluarse la acción corrosiva dérmica y ocular en conejo siguiendo el procedimiento de Draize, aplicando las sustancias en la piel afeitada del dorso o en el ojo y evaluando las alteraciones producidas. Se empieza con un solo animal y solamente cuando no aparece corrosividad se confirma con otros. Las especies utilizadas pueden ser ratas, conejos y cobayos, pero son de elección los conejos albinos. Un día antes de realizar la aplicación por vía cutánea, se limita la zona del lomo del animal y se elimina el pelo por rasuración o mediante crema depilatoria. En el mismo animal se debe probar la sustancia a estudiar y el vehículo para comparar los efectos. El producto químico se aplica disuelto, mezclado con el vehículo o en el caso de ser un sólido no soluble, se puede humedecer previamente con agua hasta formar una pasta. Una vez aplicado al lomo se mantiene al animal inmovilizado para que no se arañe ni se lama y, dependiendo de las características, se puede colocar un parche oclusivo. El tiempo de exposición no debe pasar de 4 horas. A continuación se elimina el producto aplicado suavemente agua tibia y se comienzan las observaciones de los efectos del tratamiento. Las lecturas de los resultados debieran realizarse «a ciegas», es decir, sin conocer qué es lo que se ha aplicado, por la subjetividad que conllevan; las reacciones cutáneas se anotan según la escala de Magnusson Kligman: 0: sin cambios visibles; 1: eritema ligero en manchas localizadas; 2: eritema moderado y confluyente; y 3: eritema intenso y tumefacción.

El procedimiento secuencial para la evaluación ocular parte de la realización de la prueba dérmica, por lo que las sustancias que demuestren poder corrosivo o irritación severa, no deben someterse al ensayo ocular y clasificarse directamente como corrosivos o irritantes oculares.

Capacidad irritante dérmica y ocular

Se define como *efecto irritante* a la producción de cambios reversibles sobre la piel, después de la aplicación del producto. No debe evaluarse con compuestos clasificados como corrosivos sobre la piel o los ojos, ya que se sobreentiende que son efectos más potentes. Los efectos tanto dérmicos como oculares se evalúan también en conejo, comenzando siempre por los dérmicos.

El ensayo se debe realizar en conejos albinos, adultos y sanos, con un número aconsejado de tres por lote. Las condiciones de mantenimiento son las mismas que en todos los estudios de toxicidad, pero en estos se deben someter a los animales a un estudio profundo de los ojos y desechar los que presenten alguna alteración en cornea o en conjuntiva. Si se prevé que se pudiera producir dolor al animal puede usarse un anestésico local antes de la administración.

El modelo de piel humana reconstituida EPISKIN es una alternativa de sustitución del ensayo de irritación dérmica en conejo. Utiliza como biomarcador la reducción del colorante MTT, aunque también puede apoyarse en la liberación de IL-1a para aumentar su sensibilidad o confirmar resultados negativos. El procedimiento EpiDerm precisa de la confirmación de los resultados negativos mediante otro procedimiento.

La administración de la sustancia de ensayo se realiza por instilación de 0,1 mL en uno de los ojos de cada animal, en el saco conjuntival, revirtiendo el párpado inferior. Si la sustancia es sólida se debe pulverizar lo más fino posible y medir el volumen a administrar, y si la administración es en aerosol se debe realizar manteniendo el ojo abierto y en una sola aplicación a 10 cm de distancia. El periodo de observación no debe fijarse de forma rígida, pero debe ser lo suficientemente largo para permitir una evaluación definitiva del carácter reversible o irreversible de los efectos observados, y no suele exceder de 21 días.

A pesar de que se ha realizado un gran número de estudios de validación de procedimientos *in vitro* para irritación ocular, hasta ahora no se ha aceptado ninguno en forma generalizada. Algunos países admiten para la evaluación de la irritación ocular producida por cosméticos el *ensayo de la membrana corioalantoidea* de embrión de pollo (HET-CAM), o el ensayo de ojo aislado de conejo. Se han considerado válidos para el cribado de corrosivos cutáneos e irritantes severos el procedimiento del ojo de pollo aislado y el sistema de la *córnea bovina aislada* (BCOP).

Capacidad sensibilizante

El ensayo clásico de evaluación de la sensibilización dérmica o, en general, de antigenicidad se ha realizado tradicionalmente en cobayo (OCDE GT 406, UE B.6). En la versión del test de maximización se realiza la aplicación intradérmica a 15 animales (antes se exigían 30), mientras que en el test del parche ocluido de Buehler la aplicación se realiza tópicamente. Posteriormente se evalúa la respuesta inflamatoria. Para conseguir suficiente sensibilidad se inyecta el compuesto junto al coadyuvante de Freund, lo que provoca bastantes reacciones adversas.

Para compuestos puros se ha considerado que el *ensayo del nódulo linfático* local (LLNA) en ratón está científicamente validado y debiera usarse para la evaluación de la capacidad de sensibilización dérmica en lugar del ensayo en cobayo, que es más doloroso y estresante, además de emplear más animales (OCDE GT 429). Se cuantifica la proliferación linfocitaria en los ganglios linfáticos a los que drene la zona de aplicación del producto, y se considera que éste es alergizante si incrementa la población al menos tres veces con respecto al control. Ha sido aceptado por 4 agencias norteamericanas como alternativa al ensayo en cobayo. ESAC/ECVAM también apoyó la preferencia del LLNA sobre el método en cobayo, que debería reservarse para casos especiales (2000).

También se propone el empleo del ensayo en la *oreja del ratón* (MEST), la liberación de IgE en cultivos expuestos y la aplicación de parches dérmicos en humanos (CAN). Los procedimientos más prometedores *in vitro* son el cultivo de células dendríticas humanas a partir de mononucleares

periféricos evaluando la liberación de IL-1 β o la producción de sus ARNm, junto al empleo de modelos de piel humana reconstituida, cultivos de células de Langerhans, cultivos de queratinocitos y cocultivos de células T y células dendríticas.

La Directriz 407 de la OCDE de estudio por dosis repetidas de 28 días fue revisada en 1995 para permitir su uso como primera etapa para detectar efectos inmunotóxicos (Barlow et al., 2002). Se incluyó la pesada del timo y el estudio histopatológico de las placas de Peyer, timo, nódulos linfáticos y médula ósea. Para una mejor evaluación se sugirió posteriormente realizar un estudio histopatológico especializado de las células y los órganos linfoides y linfáticos, y en caso de detectar alteraciones, aplicar un ensayo de eritrocitos de carnero. El estudio de 90 días, Directriz 408, puede ser más sensible, no sólo por el periodo de exposición, sino también por el empleo de mayor número de animales.

Pueden emplearse algunos ensayos en humanos en la evaluación de la alergenicidad residual de productos hipoalergénicos, en la evaluación de alergias cruzadas o en la evaluación de posible alergenicidad de productos biotecnológicos en los que se hayan introducido genes de una especie con capacidad alérgica conocida. Debido a consideraciones éticas, lo ideal sería emplear suero de estos pacientes y ensayarlos *in vitro*, así como establecer controles de toxicovigilancia tras su introducción en el mercado.

Toxicidad por exposición repetida o prolongada

Por acuerdo internacional, para evitar confusiones, se sustituyó la expresión «toxicidad subaguda» por la de toxicidad subcrónica y finalmente (OCDE, 1995) por la de toxicidad por dosis repetidas, para aludir a ensayos con administraciones diarias, durante un periodo de tiempo inferior al 10 por 100 de la vida media del animal empleado.

Los efectos por exposiciones prolongadas y de órgano diana se estudian básicamente en ensayos por dosis repetidas durante 14, 28 días por vía oral (OCDE GT 407), dérmica (GT 410) e inhalatoria (GT 412), y posteriormente en estudios de 90 días (OCDE GT 408). También existe un procedimiento de cribado combinado de dosis repetida y toxici-

dad para la reproducción. Estos procedimientos exigen la investigación de alteraciones morfológicas e histológicas, a la vez que funcionales, bioquímicas y comportamentales.

Los objetivos fundamentales de los estudios por dosis repetidas son conocer los efectos a largo plazo y determinar la dosis sin efecto adverso observado (NOAEL). Se identifican los órganos diana y la posible reversibilidad de los efectos, detectando si son acumulativos o retardados. Son estudios de experimentación animal que se realizan en dos especies y en ambos sexos. La administración es diaria, y se llevan en paralelo 4 lotes por sexo (uno como control sin tratamiento y tres lotes con tres niveles de dosis diferentes). La duración de estos estudios será distinta atendiendo a las propiedades fisicoquímicas del producto a ensayar y de la especie animal.

Los estudios de toxicidad crónica a medio y a largo plazo no se diferencian, en el fondo, más que en su longitud. Los primeros deben durar, por lo menos, 3 meses y los segundos de 1 a 2 años, nunca menos de 6 meses. Durante este tiempo se prolongan las observaciones y análisis de los animales, conforme se expone en las Tablas 11.8 y 11.9.

La longevidad está en razón directa al peso corporal; los 70 años de promedio de la vida humana se equiparan a los 2-4 años de la rata: por tanto, el plazo de administración para los estudios de cronicidad tendrá en cuenta esas proporciones. En general, y de acuerdo con la OMS, para los estudios de cronicidad se recomiendan plazos de 6-18 meses. A los 90 días debe sacrificarse una muestra de todos los grupos en estudio, para observación histológica.

La administración del producto debe realizarse todos los días, pues se ha observado que si se efectúa 5 días a la semana, en lugar de los 7, el descanso de las 48 horas puede permitir la recuperación de los efectos tóxicos. La selección de la dosis puede efectuarse en pruebas previas de 4 semanas. Como referencia suele emplearse la DL_{50} y el tiempo promedio en que se produce la muerte con esa dosis. De acuerdo con estos parámetros, se calculan, al menos, tres niveles, de forma que el nivel de dosis más alta produzca algún efecto tóxico, específico o no. Con la dosis inferior no deben aparecer efectos adversos; en el caso de medicamentos, aquélla debe ser como mínimo del orden de la dosis terapéutica o que

produzca concentraciones sanguíneas semejantes a las que origina ésta en humanos. De esto se exceptúan los medicamentos, como los citostáticos, cuyo efecto propio es tóxico.

En cada uno de estos niveles deben usarse lotes con un mínimo de 10 roedores incluyendo ambos sexos (20-30) o de 4-8 no-roedores por nivel y sexo, con otro grupo control de igual número. Esto es importante para poder estimar las incidencias (enfermedades, muertes, etc.) de origen no tóxico. Además se incluye un grupo satélite tratado con la dosis máxima para observar la reversibilidad.

Se realizan observaciones físicas y analíticas de bioquímica clínica. Finalmente, se sacrifican todos los animales, se les realiza la autopsia y estudio anatomopatológico macroscópico; se pesan todos los órganos y se disponen para estudio microscópico. Debe ponerse especial atención a órganos como bazo, timo y nódulos linfáticos, que pueden revelar efectos inmunotóxicos.

Carcinogenicidad

El ensayo por dosis repetidas en rata y ratón de ambos sexos con análisis anatomopatológico completo es el procedimiento básico para evaluar la capacidad carcinogénica. Es un ensayo a largo plazo, realizado casi en exclusiva en rata o ratón, empleando el perro como especie no roedora. Se evalúa la capacidad de inducción tumoral de un agente sobre la mayor parte de la vida del animal, es decir, de año y medio a dos años (OCDE GT 451, 1981). Sin embargo este ensayo requiere mucho tiempo, dedicación, es muy costoso y exige un gran número de animales, más de 400 animales por cada una de las dos especies empleadas. Además su extrapolación al hombre es compleja.

Básicamente se emplean al menos 50 animales por sexo y grupo, de unas seis semanas al inicio, observando al menos semanalmente cambios clínicos que incluyen palpación para detectar masas tumorales y control del peso, así como del consumo de alimento durante el primer mes. Se realiza estudio hematológico al menos dos veces, necropsia básica a todos los individuos, y estudio histopatológico de todos los órganos al menos a los grupos control y de dosis más alta. Otros parámetros

generalmente investigados en estudios crónicos no se incluyen debido a la gran variabilidad de los mismos en animales viejos. Otra opción es realizar estudios combinados de toxicidad crónica con carcinogenicidad (OCDE GT 453 1981).

Se están proponiendo nuevos modelos de carcinogenicidad con animales transgénicos, que presentan la ventaja de precisar menor tiempo de exposición para desarrollar los tumores. Se emplean fundamentalmente el ratón p53+/- Deficiente, el ratón Tg.AC, al que se le ha introducido el gen Tg.AC-v-Ha-ras, el ratón rasH2, al que se le añadió el gen c-Ha-ras, y el ratón XPA-/- deficiente en reparación. En el momento actual, los modelos transgénicos pueden usarse eficientemente como parte de estrategias basadas en la evidencia para la evaluación del riesgo, pero no como definitivos (Worth y Balls, 2002). En ciertas circunstancias, la información proporcionada por un estudio de carcinogenicidad en una segunda especie no es concluyente, y serían mucho más útiles estos ensayos cortos.

Recientemente se han desarrollado nuevos protocolos para dos ensayos de transformación celular *in vitro*, los ensayos en células Balb/c 3T3 y en la línea celular de embrión de hámster sirio SHE, que han mejorado su predictividad para detectar carcinógenos y su reproducibilidad entre laboratorios. Se espera que puedan mejorarse con el empleo de células humanas.

En relación con los carcinógenos epigenéticos, es decir, los que actúan por mecanismos no genotóxicos, generalmente manifiestan sus efectos en una sola especie, sexo o tejido, y a dosis altas. Por ello, no son previsible mediante las baterías de genotoxicidad. Por lo tanto, compuestos que no son genotóxicos *in vivo* e *in vitro* pueden requerir el bioensayo de carcinogenicidad en roedores según su uso y si la exposición humana prevista es alta. Entre los procedimientos propuestos para detectar carcinógenos no genotóxicos se incluyen la detección de mitogénesis (por ejemplo, por activación del receptor AhR para dioxinas y compuestos relacionados, CAR para inductores tipo I o fenobarbital, y PPARa para proliferadores de peroxisomas), los ensayos de transformación celular *in vitro*, el empleo de líneas celulares transgénicas, la detección de patrones de metilación en el ADN (ejemplo, MethylLight) y los sistemas predictivos.

Mutagenicidad

En la actualidad no existe un único test de mutagénesis capaz de proporcionar por sí solo información realmente relevante sobre la actividad del compuesto en estudio, sino que es imprescindible la realización de una batería de pruebas en las que se combinan tests *in vitro*, sensibles a mutaciones que afectan incluso a un solo par de bases y que, además, permitan adquirir un cierto conocimiento sobre los mecanismos de acción, junto con otros *in vivo*, realizados en condiciones más realistas que, a pesar de su menor sensibilidad y de ser en general de realización más engorrosa, permiten integrar determinados factores que no son suficientemente considerados al utilizar sistemas experimentales procariotas o bien de un nivel de organización inferior al del individuo.

El primer procedimiento básico *in vitro* aceptado regulatoriamente fue el ensayo de reversión de la mutación en *Salmonella typhimurium*. Este ensayo, desarrollado por Ames, se basa en que los compuestos mutagénicos provocan la reversión de una mutación en un gen codificante de una enzima, con lo que la bacteria mutada es capaz de multiplicarse en un medio deficiente en histidina que no permite la supervivencia de las no mutadas. Este ensayo se realiza en paralelo en presencia de un sistema con capacidad metabolizadora, como una fracción postmitocondrial hepática de animales inducidos. Siguiendo la estela de este procedimiento, durante la década de 1980 se diseñaron más de un centenar de tests de genotoxicidad, es decir, de la capacidad de alterar el ADN. Ello dio lugar a una intensa actividad investigadora impulsada muy especialmente desde el ámbito de la industria farmacéutica, que veía en estas pruebas la posibilidad de una alternativa rápida y económica a los tests de carcinogénesis a largo término. Sin embargo, estas esperanzas han debido ser posteriormente matizadas.

Hasta el año 2000 habían sido aceptados por las autoridades diversos ensayos *in vitro*, todos ellos tests de *genotoxicidad*, que no fueron sometidos a un proceso de evaluación científica tan riguroso y completo como el que actualmente se exige (Tabla 11.15). Existen, por ejemplo, adaptaciones del ensayo basadas en el mismo principio para su realización con *Escherichia coli* y en la levadura *Sacharomyces cerevisiae*. Entre los ensa-

Tabla 11.15. Métodos regulados de investigación de la toxicocinética y de evaluación de la toxicidad sobre la reproducción y desarrollo, carcinogenicidad y mutagenicidad.

OCDE	UE	PROCEDIMIENTO	Nº Animales
Código		TOXICOCINÉTICA	
417	B36	Toxicocinética	120 rata
427	B44	Absorción dérmica: método <i>in vivo</i> .	
428	B45	Absorción dérmica: método <i>in vitro</i> .	0
		TOXICIDAD SOBRE LA REPRODUCCIÓN Y DESARROLLO	
414	B31	Ensayo de toxicidad para el desarrollo prenatal.	60+48
415	B34	Ensayo de toxicidad para la reproducción en una generación.	60
416	B35	Ensayo de toxicidad para la reproducción en dos generaciones.	
421		Método de cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo.	480 rata
422		Estudio combinado de toxicidad, por dosis repetida, con el de cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo.	480 rata
426		Neurotoxicidad sobre el Desarrollo.	
		CARCINOGENICIDAD	
451	B32	Estudios de carcinogenicidad.	400 rata+ratón
453	B33	Estudios combinados de toxicidad crónica con carcinogenicidad.	400 rata
		MUTAGENICIDAD	
473	B10	Mutagénesis (ensayo citogenético <i>in vitro</i> en mamíferos, aberración cromosómica).	0
475	B11	Mutagénesis (ensayo citogenético <i>in vitro</i> en médula ósea de mamíferos, análisis cromosómico).	
474	B12	Mutagenicidad (ensayo de micronúcleos en eritrocitos de mamíferos <i>in vivo</i>).	50 rata
471	B13/B14	Mutagénesis: ensayo de mutación reversa en bacteria (<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>).	0
480	B15	Mutagénesis (mutación génica en <i>Saccharomyces cerevisiae</i>).	
481	B16	Recombinación mitótica en <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	
476	B17	Mutagenicidad (ensayo de mutación génica <i>in vitro</i> en células de mamífero).	0
482	B18	Daño y Reparación del ADN (síntesis no programada de ADN en células de mamífero <i>in vitro</i>).	
479	B19	Ensayo <i>in vitro</i> de intercambio de cromátidas hermanas.	
477	B20	Ensayo de letalidad recesiva ligada al sexo en <i>Drosophila melanogaster</i> .	
	B21	Ensayo de transformación de células de mamífero <i>in vitro</i> .	
478	B22	Ensayo de dominancia letal en roedores.	
483	B23	Ensayo de aberración cromosómica en espermatogonias de mamífero.	
484	B24	Ensayo de la mancha del ratón.	
485	B25	Traslocación heredable en ratón.	
486	B39	Ensayo de síntesis no programada de ADN con células hepáticas de mamífero <i>in vivo</i> .	
(487)		Ensayo <i>in vitro</i> del micronúcleo.	

yos realizados con células de mamífero destacan también la detección de mutaciones génicas y además los ensayos citogenéticos para identificar alteraciones en la estructura cromosómica.

La aproximación reguladora habitual para la evaluación de la genotoxicidad consiste en un sistema jerarquizado en el cual en el primer nivel se emplean al menos dos ensayos *in vitro*: un ensayo de mutagenicidad en bacteria (OCDE GT 471, usualmente el test de Ames con *Salmonella*, con y sin activación metabólica, y un ensayo citogenético (OCDE GT 473), usualmente análisis de metafases en linfocitos humanos o líneas celulares de roedores. Se requieren dos indicadores diferentes, ya que los compuestos pueden provocar mutaciones génicas o daño cromosómico (Worth y Balls, 2002). La batería puede reducirse si existen justificaciones científicas, como la falta de absorción, o aumentarse, por ejemplo, ante alertas estructurales sobre su posible genotoxicidad o vías toxicocinéticas poco comunes (Eisenbrand *et al.*, 2002).

Estos ensayos iniciales se emplean para tratar de establecer la potencia de un compuesto para provocar un efecto mutagénico, y es particularmente importante para compuestos que presenten un uso generalizado tratar de confirmar *in vivo* tales efectos. Es decir, que al contrario que en sistemas secuenciales para otros tipos de toxicidad, un resultado negativo *in vitro* se suele considerar suficiente para excluir la capacidad mutagénica, y un resultado positivo no es suficiente para indicar un riesgo mutagénico.

Algunas agencias reguladoras promueven el empleo del ensayo en linfoma de ratón (GT 473) en lugar del test citogenético, ya que el primero detecta tanto mutaciones puntuales como daño cromosómico. Sin embargo es complicado de realizar y precisa el conteo exacto de las colonias. También podrían emplearse células manipuladas genéticamente para expresar una o más enzimas de las fases I y II de biotransformación, evitando la necesidad de sistemas exógenos de metabolización, con lo que los metabolitos se generan intracelularmente.

Los ensayos *in vivo* de genotoxicidad se consideran insatisfactorios y limitados a algunos tipos de mecanismos y dianas. La aproximación usual en genotoxicidad *in vivo* consiste en investigar el daño citogenético en médula ósea, bien mediante

el ensayo del micronúcleo (GT 474), o mediante la detección de alteraciones cromosómicas por análisis de metafases. Un resultado positivo en médula ósea indica capacidad genotóxica sobre células germinales y también carcinogenicidad por vía genotóxica.

Otros ensayos *in vivo* son el test de la dominancia letal que detecta la muerte fetal, el ensayo de la mancha en el ratón por exposición embrionaria, la traslocación cromosómica en el ratón o el ensayo de recesividad letal ligada al sexo en *Drosophila*.

Se pueden emplear otros ensayos *in vivo* aún no validados si existe evidencia toxicocinética de que hay otro órgano diana diferente de la médula ósea. Entre ellos se incluye la síntesis no programada de ADN (UDS) en hígado (GT 486) y el empleo de roedores transgénicos

Los cambios en el número de cromosomas (poliploidia o aneuploidia) pueden investigarse *in vitro* e *in vivo* mediante técnicas de análisis de metafase y de marcado, pero requieren mucha dedicación. En relación con la aneuploidia, puede evaluarse fácilmente en un ensayo de micronúcleo *in vitro*, aunque su validación ha resultado compleja.

Toxicidad para la reproducción y el desarrollo

La reproducción y el desarrollo comprenden una compleja sucesión de procesos fisiológicos encadenados desde la producción de los gametos, la fertilización, la implantación, la organogénesis, el desarrollo fetal, el desarrollo postnatal y la maduración sexual.

La toxicología de la reproducción incluye el estudio de los trastornos sobre la fertilidad de los padres y sobre el desarrollo de los hijos:

a) Los trastornos tóxicos de la fertilidad masculina o femenina abarcan los efectos negativos sobre la libido, comportamiento sexual, afectación de la espermatogénesis o de la ovogénesis, de la actividad hormonal o las respuestas fisiológicas que puedan interferir la capacidad de fertilizar, o el proceso de fertilización o el de desarrollo del huevo fecundado hasta la fase de implantación, incluida esta última.

b) La toxicología del desarrollo comprende los efectos inducidos o manifestados en la época prenatal, así como los que aparecen tras el nacimiento. Se incluyen los efectos embriotóxicos o fetotóxicos como disminución del peso corporal, retraso del crecimiento y del desarrollo, lesiones en los órganos, muerte, aborto, defectos estructurales (efectos teratogénicos), defectos funcionales, defectos peri-postnatales, trastornos en la lactancia, y problemas del desarrollo físico o mental tras el nacimiento hasta la fase de desarrollo de la pubertad normal, con inclusión de ésta.

Por lo tanto, para detectar las alteraciones consideradas, básicamente es preciso realizar dos tipos de pruebas: los estudios multigeneracionales y los estudios de desarrollo embrio-fetal.

Estudios multigeneracionales de reproducción

Informan de efectos en la libido, potencia y fertilidad, capacidad de desarrollar los embarazos, lactancia, supervivencia pre y postnatal; crecimiento, desarrollo de los hijos y su capacidad reproductiva; e identificación de órganos diana.

Se administra la sustancia continuamente a la generación parental antes de la fecundación (P) y a las subsecuentes generaciones (F1, F2, etc.) con evaluación del número de descendientes y de sus alteraciones macro y microscópicas. Actualmente ya no se considera necesario extender rutinariamente los estudios a la tercera generación, ya que aunque ocasionalmente se disminuye el NOAEL, no suelen detectarse más efectos. Por el contrario, puede ser más útil estudiar una nueva camada de las dos primeras generaciones (Bradlow, 2002). Estos ensayos son complejos, largos, caros y requieren muchas horas de trabajo, por lo que se acepta se realicen en una sola especie, generalmente la rata.

Dado que se trata de un conjunto muy complejo de posibles efectos, la OCDE ha ido adoptando diversos protocolos específicos para la evaluación de los efectos sobre la reproducción en mamíferos, alguno de los cuales son los aceptados por la Unión Europea como procedimientos de evaluación.

Método de cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo (GT 421)

Es el ensayo de diseño más simple, útil como cribado o para seleccionar dosis en estudios posteriores. Se realiza el sacrificio de las crías a los 4 días de edad, lo que restringe los indicadores estudiados en los hijos (abortos, pérdidas, prematuridad, distocia, fecundidad, proporción de sexos, diferenciación sexual, crecimiento y desarrollo) y limita la investigación de la conducta materna (tiempo hasta la cópula, conducta sexual, duración de la gestación, habilidad en la lactancia). Se estudian alteraciones anatomopatológicas en los órganos sexuales de los padres, lo que se podría ampliar a los hijos. Se realiza en rata.

Estudio combinado de toxicidad por dosis repetida y cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo (GT 422)

Se trata de un procedimiento similar al anterior, aunque incluye posibles indicadores opcionales, como niveles hormonales, cuerpo lúteo, etc., aprovechando mejor los animales del ensayo por dosis repetidas. También se realiza en rata.

Estudio de reproducción en una generación (GT 415/B34)

Es similar al anterior, pero podría extenderse para incluir estudios del desarrollo físico y conductual, memoria y aprendizaje. Puede realizarse en rata o ratón.

Estudio de reproducción en dos generaciones (GT 416/B35)

Es el ensayo de reproducción más riguroso en mamíferos entre los protocolos de la OCDE y UE. Supone un estudio profundo de crecimiento, desarrollo y función sexual en la generación F1, con monitorización de la F2. Incluye con mayor profundidad los indicadores comentados en los demás procedimientos.

Estudios de toxicidad para el desarrollo

El estudio de desarrollo prenatal (GT 414/ B31) tiene como objetivo identificar efectos letales, teratogénicos (malformaciones) o de otro tipo en el embrión o feto, además de los efectos sobre la madre. El tratamiento de las hembras se realiza al menos desde la implantación hasta el sacrificio un día antes del parto. Se recuentan los embriones y las reabsorciones y muertes fetales, peso fetal (muy sensible), la relación entre sexos, y se estudia detalladamente la morfología externa, visceral y esquelética.

Deben emplearse las especies más relevantes, por ejemplo, con metabolismo similar del compuesto a los humanos. En general, se producen falsos positivos por tener mayor sensibilidad que los humanos. Se usan obligatoriamente dos especies, una roedora (preferiblemente la rata) y una no roedora (como el conejo). El conejo tiene diferente placenta y fisiología del embarazo que los roedores, y presenta reducción de extremidades con la talidomida, al contrario que la rata. El conejo es inapropiado para antibióticos y materiales poco absorbibles, ya que producen diarrea y reducción del consumo de alimentos. Desde 2001 se recomienda un mínimo de 20 animales por dosis, frente a los 12 usados antes.

En el ensayo de neurotoxicidad sobre el desarrollo (GT 426) la sustancia se administra a los animales durante la gestación y la lactancia, realizando la observación para descubrir anomalías neurológicas importantes o en el comportamiento; la valoración del desarrollo físico, ontogenia del reflejo, la actividad motora y las funciones motora y sensorial, el aprendizaje y la memoria; y la evaluación neuropatológica durante el desarrollo postnatal y la madurez.

Como procedimientos alternativos para evaluar la embriotoxicidad, el Centro Europeo para la Validación de Métodos Alternativos validó científicamente (2001) tres ensayos:

- Un ensayo *in vitro* con células precursoras embrionarias de ratón (EST), que permite distinguir entre compuestos moderados, fuertes y no embriotóxicos. No precisa de animales por lo que en la actualidad es la mejor opción.

- El cultivo de embrión completo de rata (WEC), con la misma aplicación que el anterior, pero precisando usar roedores.

- El ensayo con cultivo de células disociadas de encéfalo de embrión de rata en micromasas (MM), que identifica embriotóxicos potentes.

Otros ensayos, como el de embrión de rana *Xenopus laevis* (FETAX), no han podido ser validados por ICCVAM, al considerar que precisan optimizarse para su empleo regulatorio (2001). El ensayo de selección de embriotoxicidad en pollo (CHEST) es relativamente sencillo, pero no permite distinguir entre toxicidad general y efectos específicos sobre el desarrollo.

Se ha propuesto una gran variedad de procedimientos específicos para detectar y cuantificar la capacidad disruptora endocrina, pero existe gran controversia sobre su verdadera relevancia. Ningún ensayo había sido aceptado, por lo que ha sido necesario realizar urgentemente estudios de validación de diferentes procedimientos.

Los principales ensayos *in vivo* de disrupción endocrina propuestos son:

- Ensayo uterotrófico de 3 días para detectar capacidad estrogénica. Se controla fundamentalmente el incremento del peso uterino debido a estimulación de la mitogénesis. Se ha comprobado recientemente que pueden emplearse animales inmaduros en vez de adultos ovariectomizados.

- Ensayo de Hershberger de 5 o 7 días para la detección de andrógenos y antiandrógenos en roedores macho. En este caso se investiga el cambio del peso de vesículas seminales y próstata. Podrían también usarse animales inmaduros en vez de los castrados, empleados clásicamente.

- Ensayo de pubertad en machos durante 30 días con indicadores tiroideos. Permite también la detección de alteraciones de causa tiroidea exponiendo ratas macho de 23 días y evaluando la pubertad, histología y serología.

- GT 407 Ampliado. Consiste en ampliar el ensayo de dosis repetidas de 28 días en roedores. Se aumenta el estudio histológico y de bioquímica clínica para detectar diversos tipos de alteraciones endocrinas, además de las neurológicas. Podría usarse para cribado.

- Ensayo in útero de desarrollo (lactancia): exposición in útero y estudio general de reproducción incluyendo alteraciones neuroconductuales, de actividad, hormonales, malformaciones, pubertad, espermatogénesis...

— GT 416 Ampliado. Estudio de reproducción en dos generaciones ampliado con indicadores endocrinas para detectar actividad androgénica, estrogénica, tiroidea y neuroconductual.

Los principales ensayos *in vitro* de disrupción endocrina propuestos son:

— Modelos predictivos de relación estructura actividad (QSAR).

— Procedimientos de unión a receptores.

— Proliferación celular: ensayo E, que empleando la línea celular humana MCF-7 detecta estrógenos (y antiestrógenos), o versiones similares usando levaduras.

— Expresión de genes informadores, más sensibles que los anteriores.

— Esteroidogénesis en células de Leydig: producción de testosterona en tejido de testículo.

— Inhibición de aromataza y por tanto de la síntesis estrogénica (ejemplo, línea celular humana H295R).

En 1999 un comité específico de la Agencia de Protección Ambiental norteamericana (EDSTAC EPA) propuso un sistema de cribado y ensayo de disruptores endocrinos, formado básicamente por:

— Tests *in vitro* de unión a receptores y activación transcripcional para estrógenos y andrógenos.

— Test *in vitro* de esteroidogénesis en tejido testicular.

— Ensayo uterotrófico de 3 días *in vivo* en roedores.

— Ensayo de pubertad de 20 días en hembras de roedor con evaluación tiroidea.

— Ensayo de Hershberger de 5-7 días en roedores macho.

Toxicidad para el medio ambiente

En cuanto a los efectos tóxicos sobre el medio ambiente, cabe distinguir si el objeto del estudio son grupos o poblaciones aisladas (materia de la Toxicología ambiental) o si se pretende el estudio global de los efectos sobre los ecosistemas (materia de la Ecotoxicología).

Existen cuatro niveles de estudios ecotoxicológicos:

— *Ensayos en una especie*: se emplean en el laboratorio representantes de cada uno de los niveles tróficos por separado. Por ejemplo, algas como productores primarios, daphnias como consumidores primarios, peces como consumidores secundarios, etc. (Tabla 11.16).

— *Ensayos de microcosmos*: con exposición conjunta en laboratorio de diversas especies.

— *Ensayos de macrocosmos*: se realizan en unas piscinas en el exterior con gran variedad de especies.

— *Estudios de campo*, realizados en espacios aún más amplios.

La profundidad y el número de los estudios dependen del tipo de producto y de su producción prevista. Son mucho más limitados para medicamentos que para vertidos o compuestos industriales o, sobre todo, para plaguicidas.

Para la evaluación en no mamíferos destacan los siguientes procedimientos de toxicidad aguda en pez, en *Daphnia magna* y en alga, que permiten en gran parte la clasificación de las sustancias. En una segunda etapa suele evaluarse la toxicidad prolongada, los efectos en etapas iniciales, en embriones de peces, en el crecimiento de plantas terrestres y en la reproducción en *Daphnia magna*. También se estudia la toxicidad y reproducción en lombriz de tierra, la toxicidad en *Chironomid*, la reproducción en *Enchytraeidae*, los microorganismos del suelo, los efectos en abejas y la toxicidad y alteración de la reproducción en aves.

Algunas normativas para la evaluación de vertidos, sobre todo los de la Agencia de Protección Ambiental norteamericana, incluyen otros muchos procedimientos con organismos como *Daphnia pulex*, erizos, rotíferos, etc.. También se utiliza un ensayo de inhibición de la luminiscencia en la bacteria *Vibrio fischeri* (Repetto *et al.*, 2003).

La primera propuesta de una estrategia integrada de gran impacto en la evaluación medioambiental de las nuevas sustancias notificadas en la Unión Europea se denomina ensayo del umbral de toxicidad en pez por etapas descendentes (*Fish acute threshold (step-down) test approach*). Sustituye el ensayo de determinación de la CL₅₀ en pez, obligatorio para los compuestos del nivel básico, por un ensayo a un único nivel umbral (UTC), reduciendo por tanto el

Tabla 11.16. Métodos regulados de evaluación ecotoxicológica.

OCDE	UE	PROCEDIMIENTO	Nº Animales
Código		SISTEMAS ACUÁTICOS	
203	C1	Toxicidad aguda en peces.	42
204		Ensayo de toxicidad prolongada de 14 días en pez.	42
210		Toxicidad en etapas tempranas de la vida en pez.	600
215	C14	Ensayo de crecimiento de peces juveniles.	120
212	C15	Ensayo de toxicidad a corto plazo en embriones de peces.	0
202	C2	Toxicidad aguda en <i>Daphnia</i> .	
211	C20	Ensayo de reproducción en <i>Daphnia magna</i> .	
C3		Ensayo de inhibición de algas.	
218		Ensayo de toxicidad en <i>Chironomid</i> de sedimento/agua usando salpicadura de sedimento.	
219		Ensayo de toxicidad en <i>Chironomid</i> de sedimento/agua usando salpicadura de agua.	
220		Test de reproducción en <i>Enchytraeidae</i> .	
(221)		Ensayo de inhibición del crecimiento en <i>Lemna sp.</i>	
		SISTEMAS TERRESTRES	
207	C8	Toxicidad sobre lombriz de tierra: ensayo en suelo artificial.	
222		Test de reproducción en lombriz de tierra (<i>Eisenia fétida/andrei</i>).	
208		Ensayos de crecimiento de plantas terrestres.	
216		Microorganismos del suelo, Test de transformación de nitrógeno.	
217		Microorganismos del suelo, test de transformación de carbono.	
(227)		Ensayo del vigor vegetativo.	
213	C16	Abejas: Ensayo de toxicidad aguda por vía oral.	
214	C17	Abejas: Ensayo de toxicidad aguda por contacto.	
205		Ensayo de toxicidad en la dieta en aves.	60
(223)		Ensayo de toxicidad aguda oral en aves.	
206		Ensayo de reproducción en aves.	2832

empleo de animales y el costo. La concentración umbral empleada es la menor CE_{50} obtenida en ensayos con *Daphnia* y algas. Si los peces no mueren, se considera que la CL_{50} es mayor que la UTC. Si los peces resultaran más sensibles, se realizaría una exposición a una concentración 3,2 veces menor, y así sucesivamente hasta poder calcular la CL_{50} aplicando el método de interpolación binomial. El procedimiento supone una reducción del 65,0 % al 72,8 % del número de peces empleados en la evaluación de compuestos industriales, por lo que fue apoyada por la Oficina Europea de Compuestos Químicos y validada en 2006 por el Centro Europeo para la Validación de Métodos Alternativos.

Cinética en el organismo y el medio ambiente

Independientemente de conocer los efectos y los mecanismos de actuación de los compuestos, es necesario estudiar su toxicocinética y biotransformaciones, así como su comportamiento ambiental, para poder efectuar una eficiente evaluación del riesgo. Para cualquier tipo de producto se necesita conocer no sólo su absorción y distribución, sino también los cambios que experimenta en esos procesos, y la concentración efectiva en los órganos dianas. Los estudios de toxicocinética son también útiles para: decidir la profundidad a la que deben realizarse los estudios toxicológicos, ya que, por ejemplo, pueden

reducirse si los compuestos no se absorben; la selección de las especies apropiadas de ensayo, niveles de dosis y duración de los estudios de toxicidad; la interpretación y evaluación de otros datos de toxicidad; y la comprensión de los mecanismos de toxicidad (SCF, 2001; Dybing *et al.*, 2002).

Aunque los protocolos oficiales de toxicocinética sólo incluyen todavía estudios *in vivo* (OCDE GT 417, UE B.37), con la excepción de la absorción dérmica, se han desarrollado numerosos procedimientos *in vitro* que se están aplicando de forma rutinaria, no ya como alternativas, sino como

procedimientos de elección, por ejemplo, en el desarrollo de medicamentos.

La absorción percutánea se cuantifica con membranas dérmicas humanas o de rata en célula de difusión, estudiando la proporción de sustancia que las atraviesa. Este robusto procedimiento *in vitro* (OCDE GT 428) fue aceptado en 2002 tras numerosas controversias de índole político y a pesar de que no existía todavía un procedimiento validado *in vivo* (GT 427).

Generalmente los resultados obtenidos bien en forma aislada o incluidos en esquemas jerarquiza-

Tabla 11.17. Métodos regulados de investigación de la degradación y la acumulación.

OCDE	UE	PROCEDIMIENTO
Código		DEGRADACIÓN
301A	C4-A	Biodegradación: Pérdida de carbono orgánico disuelto (COD).
301E	C4-B	Biodegradación: Prueba de detección de la OCDE modificada.
301B	C4-C	Biodegradación: Desprendimiento del dióxido de carbono (CO ₂).
301F	C4-D	Biodegradación: Respirometría manométrica .
301D	C4-E	Biodegradación: Frasco cerrado.
301C, 302	C C4-F	Biodegradación: MITI (Ministerio de Industria y Comercio Internacional de Japón).
	C5	Degradación: demanda bioquímica de oxígeno.
	C6	Degradación: demanda química de oxígeno.
111	C7	Degradación: degradación abiótica: hidrólisis en función del pH.
302B	C9	Biodegradación: ensayo de Zahn – Wellens.
303A	C10	Biodegradación: ensayo de simulación de lodos activados.
303B		Biodegradación inherente, simulación (biofilms).
209	C11	Biodegradación: ensayo de inhibición de la respiración de lodos activados.
302A	C12	Biodegradación: ensayo SCAS modificado.
106	C18	Adsorción/desorción usando un método de equilibrio.
121	C19	Estimación del coeficiente de adsorción (KOC) en suelo y lodos usando HPLC.
	C21	Microorganismos del suelo: ensayo de transformación de nitrógeno.
	C22	Microorganismos del suelo: ensayo de transformación de carbono.
307	C23	Transformación anaeróbica y aeróbica en suelo.
308	C24	Transformación aeróbica y anaeróbica en sistemas de sedimentos acuáticos.
304A		Biodegradabilidad inherente en suelo.
306		Biodegradabilidad en agua de mar.
309		Test de simulación - Transformación aeróbica en la superficie del agua.
(310)		Biodegradabilidad: CO ₂ en recipientes cerrados (espacio en cabeza).
(311)		Biodegradación anaeróbica de compuestos orgánicos en lodos digeridos- producción de gas.
312		Lixiviado en columnas de suelo
		BIOCONCENTRACIÓN
305	C13	Bioconcentración: ensayo con flujo constante en pez; 132 peces.

dos se integran en modelos predictivos de cinética y metabolismo. En la actualidad están perdiendo interés los modelos basados en los datos y la división en compartimientos, ya que son mucho más efectivos los de fundamento fisiológico (PBPK) (Worth y Balls, 2002; Eisenbrand *et al.*, 2002).

El comportamiento ambiental de las sustancias se investiga realizando una serie compleja de ensayos de degradación en diferentes condiciones, de transformación aeróbica y anaeróbica y de adsorción/desorción (Tabla 11.17). La capacidad de bioconcentración se evalúa en un ensayo de flujo continuo en pez (TG 305, C.13).

Otros tipos de estudios

Para otros estudios especiales se utiliza la especie más adecuada según las características del compuesto, empleando indicadores más sofisticados, como los de neurotoxicidad y los de comportamiento.

Los *estudios de neurotoxicidad* suelen realizarse en rata, bien por exposición durante 28, 90 o más días en los estudios crónicos, o bien tras una exposición y al menos 14 días de evaluación (GT 424). La frecuencia de las observaciones es alta, aunque depende de la duración del estudio. Las observaciones clínicas son muy detalladas incluyendo cambios en el sistema nervioso autónomo, de conducta, etc. Los estudios funcionales incluyen la valoración de la reactividad a diferentes tipos de estímulos sensoriales, de la fuerza muscular y de la actividad motora mediante sistemas automatizados. Además del control de peso y del consumo de agua y alimento se realiza estudio oftalmológico y neuropatológico, al que se añade la investigación bioquímica clínica si se ejecuta como un estudio de toxicidad crónica.

Los estudios de neurotoxicidad retardada por organofosforados tras exposición aguda o tras 28 días de exposición se realizan en gallinas domésticas, protegidas con atropina de los efectos colinérgicos agudos. Se observa, durante 21 o 14 días tras la última administración, la aparición de anomalías de comportamiento, ataxia y parálisis. Se realizan mediciones bioquímicas, especialmente se controla la inhibición de la esterasa diana de neuropatía (NTE) en gallinas seleccionadas aleatoriamente de cada lote, normalmente a las 24 y 48 horas de la

administración y tras el sacrificio se procede al examen histopatológico de los tejidos nerviosos. Aunque pueden emplearse ensayos *in vitro* para detectar sustancias capaces de producir polineuropatía retardada, los resultados negativos no excluyen que la sustancia estudiada sea neurotóxica.

En los estudios de la neurotoxicidad sobre el desarrollo se administra a ratas la sustancia durante la gestación y la lactancia. En la descendencia se investigan anomalías neurológicas o en el comportamiento, se valora el desarrollo físico, la ontogenia del reflejo, la actividad motora, la función motora y sensorial, el aprendizaje y la memoria y las alteraciones neuropatológicas. Adicionalmente se pueden utilizar procedimientos neuroquímicos, electrofisiológicos, patológicos o de comportamiento.

Los *estudios de comportamiento* son muy interesantes en Toxicología debido a que muchos tóxicos producen alteraciones de comportamiento con anterioridad a otras variaciones en parámetros clínicos. En el estudio farmacodinámico de sustancias psicotrópicas se han desarrollado diversas técnicas para evaluar su efecto sobre el comportamiento de los animales. El animal de elección para estos estudios es la rata, seguida de los primates, la paloma y

Tabla 11.18. Consumo diario aproximado de alimentos y agua.

Especie	Edad	Peso	Alimento (g)	Agua (ml)
Aves dom.	8 sem.	500 g	200	200
Gato		2 kg	100	100
Cobayo		500 g	30	85
Conejo	1 año	2 kg	100	330
Hámster	14 sem.	125 g	15	85
Mono	2 años	5 kg	400	500
Oveja		100 kg	2500	
Paloma	8 sem.	500 g		
Pato	8 sem.	2,5 kg	250	500
Perro	4 sem.	10 kg	250	500
Rana		33 g		
Rata	3 sem.	50 g	15	25
Rata	14 sem.	250 g	20	25
Ratón	8 sem.	25 g	5	5
Vaca		500 kg	10.000	

otros. Antes de utilizar los animales, se les aísla, para impedir cualquier estimulación visual, auditiva, olfativa (feromonas), etc., en locales de ambiente controlado. Se les reduce la alimentación (incluso rebajándoles el peso al 80 por 100 del normal) para que se sientan gratificados por la comida (Tabla 11.18).

El método más sencillo para estudiar el comportamiento es la simple observación del animal antes y después de suministrarle el tóxico, pero es compleja la obtención de parámetros suficientemente objetivos. Mediante el uso de laberintos pueden valorarse algunas capacidades como el ingenio, la memoria, etc.; para medir la resistencia a la fatiga se ha utilizado la rueda giratoria.

La ataxia es un trastorno de la coordinación que aparece en diversas alteraciones nerviosas; cuando se manifiesta al andar se denomina *ataxia locomotriz* (deambulación del borracho, etc.) y es un signo de incoordinación que puede objetivarse fácilmente. Pueden impregnarse las patas del animal con tinta de tapon y dejarle que circule por un túnel de madera de un metro de largo por 0,20 de ancho y de alto, cuyo suelo se cubre por una banda de papel; posteriormente se enlazan las huellas de cada paso con líneas que formarán las hipotenusas de sendos triángulos rectángulos (los catetos se dibujan en el sentido de la marcha y perpendicularmente a éste, formando entre sí ángulos rectos); se calculan las áreas obtenidas por los animales tratados y los testigos, y se evalúa la ataxia como el coeficiente de variación de la media de las áreas de los triángulos.

Paulatinamente se han ideado instrumentos que valoran objetivamente algunas facultades del animal y su modificación por las drogas. Uno de estos sistemas es el actímetro, que consiste en una placa sobre la que se pone el animal, y cuando éste se mueve cierra circuitos de bajísimo amperaje, inapreciables para el animal, pero que producen una señal que se registra gráficamente. El mismo resultado puede obtenerse mediante células fotoeléctricas o cámaras, con los que se determina la actividad espontánea del animal y su comportamiento exploratorio.

Otro instrumento es el analgesímetro, que consiste en una plancha caliente, que permite conocer inhibiciones de respuesta de retirada por disminución de la sensibilidad térmica. Objetivo similar posee otro artificio consistente en un habitáculo

para el animal, que recibe calor en la cola, con intensidades variables; puede cronometrarse el tiempo de respuesta del animal a las señales.

Mediante una caja con dos compartimientos comunicados, puede medirse la capacidad de respuesta del animal para pasar de un lado a otro ante señales luminosas, sonoras o débiles estímulos eléctricos por la rejilla del suelo (en este caso, el animal realiza una respuesta de evitación). Estos métodos pertenecen ya al grupo de estudios del *condicionamiento operante*. Se llama condicionamiento a un proceso de aprendizaje del animal, que puede reforzarse mediante una recompensa (comida o droga) cada vez que el animal realiza lo aprendido, o mediante un castigo (descarga eléctrica), si no lo realiza, cuando recibe la señal luminosa o sonora. Merced a instrumentos electrónicos, cada vez más complejos empleados en las cajas de Skinner se pueden programar muy diferentes esquemas de señales y refuerzos, a tiempos variables, y exigir al animal una intervención muy activa, como la de pulsar palancas, en momentos críticos, como condición para que se produzca el refuerzo de gratificación o se impida el de castigo.

Después de repetir convenientemente el programa, en distintas sesiones, llega a obtenerse un perfil del comportamiento estable del animal, de tal manera que pueden conocerse estadísticamente cuáles son sus respuestas. Si entonces se introduce una nueva variable, como es la administración de un fármaco, podrá verse en qué orden afecta éste al comportamiento.

Este sistema es muy útil para el estudio de sustancias capaces de producir drogadicción, pues prontamente se descubrirá si se desarrolla una pauta de autoadministración. Las especies más empleadas son la rata, el mono y la paloma.

Propiedades fisicoquímicas

Aunque no se trate de estudios de experimentación con seres vivos, es también necesario realizar la caracterización de una larga serie de características fisicoquímicas que permiten identificar determinados peligros de las sustancias y preparados, como la inflamabilidad o las propiedades explosivas, así como otras que ayudan a predecir algunas de sus características toxicodinámicas y toxicocinéticas (Tabla 11.19).

Tabla 11.19. Métodos regulados para la caracterización de las propiedades fisicoquímicas.

OCDE	UE	PROCEDIMIENTO
Código		PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS
102	A1	Temperatura de fusión y congelación.
103	A2	Temperatura de ebullición.
109	A3	Densidad relativa.
104	A4	Presión de vapor.
115	A5	Tensión superficial.
105	A6	Hidrosolubilidad.
107, (123)	A8	Coeficiente de partición (n-octanol/agua): Método del frasco en agitación.
117, (122)	A8	Coeficiente de partición (n-octanol/agua), método por HPLC.
	A9	Punto de inflamación.
	A10	Inflamabilidad (sólidos).
	A11	Inflamabilidad (gases).
	A12	Inflamabilidad (en contacto con agua).
	A13	Propiedades pirofóricas de sólidos y líquidos.
113		Ensayo previo de estabilidad térmica y estabilidad en el aire.
	A14	Propiedades explosivas.
	A15	Temperatura de autoinflamación (líquidos y gases).
	A16	Temperatura relativa de autoinflamación para sólidos.
	A17	Propiedades oxidantes (sólidos).
	A21	Propiedades comburentes (líquidos).
118	A18	Número, peso molecular medio y distribución del peso molecular en polímeros.
119	A19	Contenido de sustancias de bajo peso molecular en polímeros.
120	A20	Comportamiento de disolución/extracción de polímeros en agua.
101		Espectro de absorción UV-VIS.
106	C18	Adsorción - Desorción por un método de equilibrio de lotes.
108		Capacidad de formación de complejos en agua.
110		Distribución del tamaño de las partículas / Distribución de las fibras en longitud y diámetro.
111	C7	Degradación abiótica: Hidrólisis en función del pH.
112		Constantes de disociación en agua.
114		Viscosidad de líquidos.
116	(A7)	Liposolubilidad de sólidos y líquidos.
121	C19	Estimación del coeficiente de Adsorción (Koc) en suelo y en lodos mediante HPLC.

MÉTODOS ALTERNATIVOS. TOXICIDAD *IN VITRO*

La presión de las asociaciones protectoras de animales y una mayor sensibilización de la sociedad ha conducido a la reducción del número de animales utilizados, a un refinamiento de las técnicas de ensayo para producir menor sufrimiento y, al propio tiempo, obtener mayor información con menos

experimentos, así como a sustituir animales mediante la introducción de los que se denominan métodos alternativos. Estas orientaciones fueron denominadas por Russell y Burch (1959) como las tres erres (3 R) (reducción, refinamiento y reemplazo). El concepto de alternativas adquiere un sentido especial en este contexto e incluye a todos los métodos o técnicas que pudieran sustituir a los experimentos realizados con animales, reducir el número de animales

empleados en cada ensayo, o mejorar los procedimientos ya existentes con el fin de disminuir el estrés y evitar el sufrimiento de los animales. Los campos más importantes en los que se sitúan los métodos alternativos son la educación, la investigación biomédica y la valoración de la toxicidad de los compuestos químicos (Repetto y Repetto, 1995).

La revisión de la gran gama actual de procedimientos alternativos posibles puede estructurarse como sigue (Tabla 11.20):

1. Con el objetivo de evitar la repetición innecesaria de ensayos son precisas las mejoras en el

Tabla 11.20. Métodos experimentales alternativos.

1. Evitar la repetición innecesaria de experimentos *in vivo* e *in vitro*:
 - Protocolos, estrategias y estudios previos: Flexibilidad. Estrategias integradas. Disponibilidad de la información, intercambio.
2. Modelos Matemáticos de Predicción: «*in silico*»:
 - Cinética ambiental de compuestos químicos.
 - Farmacotoxicocinética (PB-PK).
 - Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR).
3. Mejoras en el diseño de estudios con animales:
 - Reducción: número de animales usados.
 - Refinamiento: minimización del dolor y distrés; nuevos modelos.
4. Uso de organismos inferiores no protegidos:
 - Bacterias, hongos, protozoos, algas, plantas, animales invertebrados.
5. Vertebrados en etapas iniciales de desarrollo:
 - Peces, anfibios, reptiles, pájaros, mamíferos.
6. Métodos *in vitro*:
 - Órganos: baños, perfusión, cultivo, cortes, órganos reconstituidos.
 - Explantes, reagregados celulares, micromasas, cocultivos.
 - Cultivo primario de células dispersadas.
 - Líneas celulares / transgénesis / células madre.
 - Sistemas libres de células.
7. Otros:
 - Estudios en humanos: Voluntarios, epidemiológicos, vigilancia.
 - Modelos en la enseñanza y formación: Modelos mecánicos, sistemas audiovisuales, y simulaciones por ordenador y de realidad virtual.

almacenamiento, uso e intercambio de la información toxicológica. Esto implica no solamente la existencia de bases de datos internacionales perfectamente actualizadas, sino también, la aceptación legal de los resultados obtenidos en otros países para los mismos compuestos gracias al uso de protocolos comunes.

Otro aspecto básico consiste en aplicar estrategias secuenciales e integradas de ensayo y no listas de ensayos requeridos. Es decir, debiera ser posible seleccionar los ensayos que sea necesario realizar a cada sustancia dependiendo de los resultados que se vayan obteniendo, en lugar de realizar todos los estudios de forma obligatoria. Se precisan, por tanto, estrategias inteligentes de evaluación toxicológica (Combes y Balls, 2005).

2. El uso de modelos matemáticos que relacionan cuantitativamente la estructura química y la actividad bioquímica y fisiológica de los compuestos químicos (QSAR). Esta alternativa no experimental es muy interesante y se apoya en el desarrollo de sistemas computarizados, por lo que suelen denominarse como estudios «*in silico*». Aunque los conocimientos no permitan predecir con seguridad la toxicidad de los xenobióticos apoyándose sólo en datos teóricos, tras la experiencia acumulada en la preevaluación de medicamentos, estos procedimientos se encuentran ya en situación de ser incluidos como directrices oficiales, aunque están surgiendo ciertas dificultades en su validación. También se han desarrollado modelos que predicen la cinética ambiental de compuestos químicos, y su farmacotoxicocinética (PB-PK)

3. Las mejoras en el diseño de los experimentos con animales, para aumentar su validez y disminuir el sufrimiento y el número de animales empleados; aquí incluimos también la aplicación de procedimientos estadísticos no sólo en la fase de evaluación de los datos sino también en la de diseño experimental.

4. También se utilizan seres vivos menos evolucionados como los invertebrados, bacterias, algas, hongos, protozoos y plantas, que generalmente no están protegidos por la legislación clásica de experimentación animal.

5. El empleo de vertebrados en las etapas iniciales de su desarrollo presenta ventajas éticas sobre el uso de animales adultos. Es muy útil el empleo de embriones de peces, anfibios, reptiles, pájaros y mamíferos.

6. Las técnicas *in vitro*, que comprenden el uso de organismos inferiores, como bacterias, algas y hongos; de fracciones subcelulares o incluso material no biológico; de sistemas celulares a corto plazo, como las suspensiones celulares, tejidos de biopsia, rodajas de tejidos, y órganos perfundidos; y de cultivos celulares en forma de células, tejidos u órganos mantenidos en un medio nutriente durante al menos 24 horas. Se denominan «*in vitro*» en contraposición a los estudios «*in vivo*», y porque inicialmente se realizaban los estudios en recipientes de vidrio.

Según su finalidad, los ensayos *in vitro* pueden ser pruebas sustitutivas de los ensayos con animales, o bien pruebas de criba previas a las de aquellos, o con el carácter de complementarias para mejorar la sensibilidad y especificidad de los estudios con animales. Es decir, que los métodos *in vitro* no pretenden suplantar globalmente a los ensayos *in vivo*. Por otro lado, hay que tener presente que los procedimientos *in vitro* tienen entidad propia entre los métodos experimentales y proporcionan una información más profunda sobre los mecanismos de acción tóxica que la obtenida *in vivo*. Además, independientemente de su intención o finalidad específica, los ensayos *in vitro* suelen agruparse para constituir baterías de pruebas, cuyos resultados, conjuntamente considerados, permitirán la interpretación del objetivo propuesto (Eisenbrand *et al.*, 2002; Repetto, 2008).

El estudio de las transformaciones metabólicas y procesos de toxicidad y desintoxicación de un compuesto químico puede realizarse no ya utilizando un ser vivo entero, sino tan sólo un órgano aislado o una pequeña porción del mismo o, incluso, un cultivo de células. De esta manera, pueden conocerse mejor las biotransformaciones que introduce cada órgano, la capacidad de éste en cada caso y circunstancias, y sus características funcionales, como respiración celular, síntesis proteica y depósitos grasos. Además, el sistema permite obtener mezclas catabólicas menos complejas que las que proporcionan las excretas normales de heces y orina para identificar metabolitos. Esta experiencia *in vitro* posibilita establecer unas condiciones, que pueden controlarse, especialmente adecuadas al estudio de los mecanismos de acción de los tóxicos a nivel celular y subcelular, y forma

parte de los llamados procedimientos alternativos que se proponen para disminuir el empleo de animales de experimentación.

Una forma cada vez menos empleada de realizar estos estudios puede ser la utilización del órgano (hígado, corazón, pulmón, riñón, etc.) sin extraerlo del animal, que se mantiene vivo, pero aislando la víscera de la circulación general. Se reproduce artificialmente la circulación, sustituyendo la sangre por un medio salino enriquecido con albúmina, eritrocitos, etc., que se inyecta por la arteria de irrigación del órgano, y se recoge de la vena de salida. Para esto suelen utilizarse órganos de animales como perro o gato, y hasta tan pequeños como la rata.

La perfusión también puede realizarse con órganos enteros extraídos del animal y, últimamente, se están empleando órganos no patológicos de cadáveres humanos, de manera que se obvian los inconvenientes de transportar al género humano los resultados obtenidos con animales.

Otro tipo de experimentación emplea cultivos de órganos; para ello se obtienen trozos del órgano, que reciben el nombre de «explantes», y que son suficientemente finos para permitir la penetración por difusión del líquido de cultivo, con el oxígeno disuelto, pero bastante gruesos para que resulte pequeña la proporción de células dañadas por el corte. Un órgano difícil de cultivar es el hígado. La técnica general consiste, en esencia, en perfundir la preparación histológica, en condiciones estériles, con un medio nutritivo y el tóxico en estudio. La operación se realiza en cubetas termotáticas cerradas, con entradas para el líquido fisiológico, el tóxico y oxígeno; poseen también electrodos de estimulación o de medidas de pH, sensor de oxígeno y anhídrido carbónico, etc. El líquido perfundido se extrae y se analiza continuamente, y al final puede efectuarse el estudio histológico de la muestra.

Los cultivos de células disgregadas requieren un tratamiento con tripsina; después, las células se multiplican en capas monocelulares, que se adhieren a las paredes del recipiente de cultivo, y ello permite la observación microscópica directa. Incluso es posible trabajar con células que viven naturalmente aisladas, como son los linfocitos y los protozoos. Sobre ellos puede estudiarse el efecto de los tóxicos en la síntesis del ARN y de proteínas, desarrollo, proliferación, diferenciación, etc. El

método de centrifugación llamado «elutriación» permite separar células de distinto tipo, e incluso de diferente estado de desarrollo.

Fundamentalmente se utilizan líneas celulares establecidas, que presentan la gran ventaja de su homogeneidad y disponibilidad, aunque no suelen reproducir fielmente el tejido maduro. Su fácil manipulación genética permite modelarlas en diferentes sentidos, como la inclusión de citocromos P450 humanos, la activación o represión de genes como p53, BCL2, etc. El empleo de células madre pluripotenciales abre nuevas posibilidades de disponer de células humanas capaces de diferenciarse a los diferentes tipos de tejidos maduros.

Finalmente, la centrifugación diferencial faculta obtener fracciones subcelulares, como membranas, microsomas, mitocondrias, polisomas, sobre los cuales poder investigar aisladamente la acción del tóxico.

A continuación es necesario evaluar las acciones y efectos producidos (Tabla 11.16). Determinados indicadores revelan la capacidad citotóxica general de los xenobióticos; son los que valoran la viabilidad, la morfología y la reproducción celular, o la actividad metabólica, inte-

gridad de las membranas celulares y subcelulares, etc. Otros indicadores son específicos de órganos, sistemas o funciones, como por ejemplo, actividad de receptores, síntesis, almacenamiento o liberación de determinadas enzimas, transmisores o anticuerpos, captación de precursores, etc. En ocasiones, los indicadores se eligen atendiendo a las actividades previstas del xenobiótico que se va a ensayar en cada caso. Las mejoras tecnológicas permiten cuantificar de forma sencilla y aplicar en estudios toxicológicos un gran abanico de biomarcadores (Bhagal *et al.*, 2005).

Otros modelos son especialmente empleados en educación, como los sistemas audiovisuales, los modelos mecánicos, o las simulaciones por ordenador. Los estudios humanos, incluyen los epidemiológicos, la toxicovigilancia tras la introducción de los productos en el mercado, y el empleo de voluntarios. La utilización de humanos plantea diferentes interrogantes de tipo ético, que no debieran reservarse sólo a la experimentación con animales. Sin embargo, la información obtenida puede ser muy valiosa. Así, varios estudios recientes con voluntarios han demostrado que algunos métodos oficiales

Tabla 11.21. Biomarcadores usados en estudios *in vitro*.

1	Morfología celular y tisular	Forma, tamaño, diferenciación. Membranas, organelas.
2	Viabilidad celular	Colorantes, adhesión, fagocitosis.
3	Proliferación celular	Proteínas, ADN, ciclo celular.
4	Actividad metabólica	Sustancias reguladoras. Uso de la energía, enzimas. Bioluminiscencia, calorimetría. Síntesis de macromoléculas. Inducción selectiva de proteínas. Proteómica
5	Citoesqueleto / Membranas	Composición y estabilidad. Permeabilidad iónica. Sistemas de transporte.
6	Sistemas de señalización	GJIC, citocinas.
7	Ácidos nucleicos	Expresión / inhibición genes. Mutación / degradación/ apoptosis.
8	Sistemas biotransformadores	MFO, P450.
9	Sistemas de defensa	GSH, G6PDH, metalotioneínas.
10	Biomarcadores específicos	Unión y activación de receptores, contractilidad, potencial de acción, mediadores, secreción de sustancias.

de experimentación toxicológica con animales, como, por ejemplo, el de irritación dérmica, poseen muy mala capacidad predictiva de la toxicidad humana.

Justificación de los ensayos *in vitro*

Las principales razones por las que los métodos de investigación *in vitro* debieran tender a sustituir en lo posible a la experimentación animal son:

1. *Morales y éticas*, ya que en la experimentación animal se somete a estrés y sufrimiento a seres vivos (Repetto, 1989). Se consideran particularmente crueles los ensayos *in vivo* para detectar la capacidad irritativa dérmica y ocular (test de Draize), y los de toxicidad aguda para calcular la dosis letal media. Estas consideraciones son aún más trascendentes si se tiene en cuenta que para la evaluación toxicológica de cada compuesto químico se precisan alrededor de 1.500 animales, pero que pueden llegar a ser 5.000, e incluso 12.000 para plaguicidas.

2. *Económicas*, debido a que el coste de los ensayos de toxicidad con animales, especialmente los que utilizan especies no roedoras como perros o primates, es tan alto que supone un obstáculo para el desarrollo de muchos medicamentos y compuestos químicos. El coste de la evaluación toxicológica de un producto en animales oscila entre 56.000 y 3.000.000 €. Además, al requerir estos estudios mucho tiempo para poder completarse (2-3 años), producen un enorme retraso en el lanzamiento comercial de los productos.

3. *Científicas*, ya que la experimentación tradicional con animales es fundamentalmente empírica; muchos de los efectos que en ella se observan están originados en procesos complejos a veces no suficientemente conocidos o entendidos. Por el contrario, las experiencias con células o con fracciones celulares permite limitar o fraccionar los procesos fisiopatológicos, lo que favorece el entendimiento de las fases, incluso de la interacción molecular y la medición en términos cuantitativos de acciones y efectos, lo que, a su vez, hace posible la comparación objetiva de unas sustancias con otras. Además, desde la implantación de las sistemáticas oficiales de evaluación de la toxicidad de compuestos químicos en anima-

les, se han producido importantes errores en los resultados. Las principales causas de los fallos han sido la no consideración de determinados tipos de efectos tóxicos, como los teratogénicos inducidos por la talidomida, el empleo de métodos inadecuados, el no seguimiento de los protocolos, etc., que han obligado, entre otras acciones, a la implantación de los códigos de buena práctica de laboratorio. Por todo ello, es necesario un abordaje menos empírico y más científico que el actual, que recoja los avances técnicos y toxicológicos producidos en las últimas décadas, y que mejore los métodos de experimentación y de extrapolación.

4. *Logísticas*, ya que aunque los ensayos con animales fueran capaces de predecir correctamente el riesgo que los productos suponen para el hombre, sólo tendríamos de suficiente número de animales, laboratorios, técnicos y toxicólogos para evaluar una mínima parte de los más de 1.000 nuevos compuestos que se introducen cada año en el medio ambiente.

5. *Sociopolíticos*, debidos a la presión de diferentes grupos sociales que exigen la abolición de la experimentación animal apoyándose en motivos éticos. Paradójicamente, otros sectores reclaman mejoras en las regulaciones y en la protección de la salud de la población humana ante exposiciones a compuestos químicos.

6. *Legales*, ya que la legislación europea y española establece que «no deberá realizarse un experimento si se dispone de otro método científicamente satisfactorio y contrastado que permita obtener las mismas conclusiones, sin implicar la utilización de animales» (Directiva del Consejo 86/609/CEE; R.D. 1201/2005). Esta legislación es, en teoría, claramente limitante de la experimentación animal en su conjunto, aunque en la práctica pone muchas trabas a la validación de nuevos procedimientos alternativos, como se comentará posteriormente.

Ventajas e inconvenientes de los ensayos *in vitro*

En forma muy esquemática, las principales *ventajas* de los métodos de experimentación toxicológica *in vitro* con respecto a los empleados *in vivo* comprenden:

- Son ética y moralmente más aceptables que los ensayos *in vivo*, ya que no es necesario poner en contacto a los animales vivos con los tóxicos a ensayar.

- En los casos en que los precisan, requieren un número considerablemente menor de animales, pues con fracciones de los órganos de un solo animal pueden realizarse cientos, incluso miles, de ensayos *in vitro*.

- Utilizan material biológico muy homogéneo obtenido con técnicas estandarizadas.

- Posibilitan además el uso de material de origen humano, de cadáveres o por biopsia en sujetos vivos, o procedentes de operaciones quirúrgicas, lo que puede simplificar en gran medida el proceso de extrapolación de los datos obtenidos.

- Permiten estudiar las acciones del compuesto sobre una determinada población celular o fracción subcelular aislada en la que se presuponga la diana principal o secundaria. Con ello se evitan las interferencias producidas por otros órganos, células u orgánulos sobre la diana que estemos estudiando.

- Facilitan determinados estudios especializados, como los electrofisiológicos, de captación, transformación y eliminación de sustancias, etc.

- Son más fácilmente objetivable y cuantificables que los ensayos *in vivo*, por poderse someter directamente a medición por técnicas fisicoquímicas (espectrofotometría, etc.).

- Los resultados presentan mayor reproducibilidad que los métodos con animales, al consistir cada ensayo en reacciones de unos pocos componentes, en condiciones controladas, sin interferencias de otros factores como el estrés animal, los cambios estacionales, las influencias meteorológicas, etc.

- Posibilitan una mayor precisión en el control directo de la dosificación, es decir, la cantidad de tóxico en interacción con el órgano diana, al ser factible trabajar directamente sobre ésta.

- Permiten el control absoluto de la duración del periodo de contacto con el producto evaluado, puesto que el tóxico puede aplicarse y retirarse a voluntad del investigador.

- Facilitan el estudio de los mecanismos de acción tóxica, diferenciando la lesión primaria de las que se desencadenan a continuación, al ser posible interrumpir o modificar el proceso en cualquier momento. Además, reducen el periodo de

latencia y facilitan el estudio cronológico de las acciones tóxicas.

- Al ser modelos más simples, permiten estudiar las influencias toxicocinéticas más fácilmente y con mayor profundidad.

- Suponen un importante ahorro de tiempo al facilitar los resultados con mayor rapidez.

- Tienen un coste económico bastante menor, y precisan instalaciones menos complejas que las exigidas legalmente para realizar estudios de toxicidad con animales.

- Requieren menores cantidades de los productos ensayados que los métodos *in vivo*. Ello es particularmente importante cuando se trata de sustancias recién sintetizadas o en periodo de prueba.

En contraposición a lo antes expuesto, los métodos de experimentación toxicológica *in vitro* presentan una serie de *inconvenientes*:

- La necesidad de utilizar más de un sistema de ensayo. Es decir, la alternativa a los métodos que emplean animales son baterías de ensayos *in vitro* que combinen varios sustratos biológicos e indicadores de toxicidad.

- La carencia de las complejas interacciones existentes entre los distintos órganos de un ser íntegro, además de las dificultades encontradas para reproducir la arquitectura tisular tridimensional de los organismos superiores.

- La generalmente limitada duración de la actividad fisiológica, fundamentalmente de las células especializadas, y con ello las dificultades existentes para detectar toxicidades retardadas o crónicas. Además, suelen ser modelos relativamente estáticos.

- La ausencia, en la mayoría de los modelos, de ciertos fenómenos toxicocinéticos como la capacidad de activar y detoxicar los compuestos químicos ensayados.

- Las dificultades para ensayar sustancias poco solubles, volátiles, gaseosas o que se descomponen rápidamente o explotan en contacto con el medio de cultivo.

- La posibilidad de obtener resultados erróneos debidos al ensayo en condiciones no adecuadas o cuando el compuesto las modifica por sí mismo (cambios de pH, osmolaridad).

– La complejidad de la extrapolación, sobre todo cuando no se dispone de información sobre las concentraciones que producen efectos tóxicos *in vivo*.

En los apartados precedentes se han descrito diversos procedimientos *in vitro* usados en toxicología reguladora. En el caso concreto de medicamentos, como alternativas de sustitución al ensayo en conejo de pirogenicidad mediada por endotoxinas Gram-negativa fueron validados por ECVAM en 2006 cinco ensayos *in vitro*: liberación de IL-1 en sangre humana completa, IL-6 en sangre humana completa, IL6 en PBMC, IL-6 en MM6, e IL-1 en sangre humana completa criopreservada. Otros procedimientos evalúan vacunas y determinadas toxinas como la botulínica.

Como vía de localización de procedimientos experimentales tanto *in vivo* como *in vitro* se sugiere se utilice el módulo sobre alternativas del Sistema de Búsqueda de Información Toxicológica Buscattox accesible en la página <http://busca-alternativas.com> o el foro de discusión sobre alternativas a la experimentación animal 3erres <http://www.rediris.es/list/info/3erres.html>.

MÉTODOS DE TOXICOLOGÍA MOLECULAR

Los estudios de toxicología molecular se realizan con procedimientos *in vivo*, *in vitro* y con combinaciones de ambos. El rápido desarrollo de nuevos métodos en biología molecular permite incrementar enormemente nuestro conocimiento de las interacciones químicas y el efecto sobre los procesos de control celular. Aunque en el pasado estas técnicas se habían reservado para estudios mecanísticos, actualmente se están integrando entre los descriptivos y los reguladores. Una vez comprobadas las implicaciones de diferentes genes en la inducción o evitación de las mutaciones y el cáncer, se están relacionando diversos efectos tóxicos con los polimorfismos genéticos en enzimas y receptores, con la inducción de diferentes marcadores de estrés, reguladores del ciclo celular y la diferenciación celular, de las interacciones intercelulares, de la expresión de receptores, de la apoptosis, etc. En el capítulo de mecanismos de toxicidad se citó el

ejemplo del receptor Ahr de los hidrocarburos aromáticos, y su interacción con un fragmento de un gen, y también la participación de genes en la apoptosis, etc.

Como modelos experimentales pueden utilizarse componentes celulares aislados, incluyendo enzimas, receptores, sinaptosomas, liposomas, membranas o ADN. Dado que no es siempre posible obtener material humano, pueden construirse bacterias o líneas celulares transgénicas en las que la introducción de genes humanos que expresen una proteína, enzima o receptor de interés toxicológico, permita reproducir, al menos en parte, la situación humana, incrementando la predictividad de los efectos tóxicos sobre el hombre, o modificando las vías metabólicas que aumentan la sensibilidad hacia determinados efectos. Otras posibilidades son la utilización de vectores introducidos en células de mamíferos, que son posteriormente rescatados y transferidos a bacterias para distinguir mutaciones, y la introducción de elementos respuesta o informadores que se activan en determinadas condiciones, lo que permite utilizarlos como detectores celulares (por ejemplo, emisión de luz, expresión de una enzima, etc.).

Además, las técnicas de biología molecular permiten no sólo comprobar específicamente la afectación tóxica del ADN y de los fenómenos de transcripción y traslación de la información genética a una determinada proteína (ADN-ARN-proteína), sino que también ayudan a establecer relaciones estructura-actividad, como en el caso del estudio de receptores. Con el empleo de sondas específicas para una determinada secuencia de oligonucleótidos de ADN o ARN, se detectan éstos usando marcaje radioactivo, enzimático, o con quimioluminiscencia. Mayor sensibilidad se alcanza mediante amplificación con diferentes técnicas, incluyendo las diversas variedades de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Utilizando enzimas específicas de restricción y técnicas de secuenciación se identifican las posibles variaciones en la secuencia de las bases de cada gen. La expresión proteica, especialmente importante para las enzimas, los receptores y los mediadores de los diversos procesos celulares, se evalúa por técnicas inmunológicas (ELISA, inmunocitoquímica), y la actividad funcional, mediante técnicas bioquímicas clásicas.

LAS REGLAMENTACIONES SOBRE LA EXPERIMENTACIÓN TOXICOLÓGICA

La experimentación toxicológica y, más aún, la enfocada a la evaluación de peligros, presenta la particularidad, frente a la realizada en la mayoría de las disciplinas experimentales (fisiología, biología, genética, etc.), de que debe llevarse a cabo cumpliendo una serie de normativas, entre las que figuran las específicas según el uso previsto de la sustancia, las relativas a los protocolos de ensayo, las de buena práctica de laboratorio, las de protección y experimentación animal, las de seguridad e higiene en el trabajo, etc. A continuación se relacionan las más trascendentales.

Requerimientos reguladores según el uso de la sustancia

La legislación internacional exige que cualquier nueva sustancia que vaya a ser puesta en el mercado sea objeto por parte de su fabricante o importador de una «declaración» con un amplio estudio de sus características fisicoquímicas, analíticas, toxicológicas y ecotoxicológicas (difusión, persistencia y efectos sobre los ecosistemas). Dependiendo del uso previsto para las sustancias o productos (plaguicidas, medicamentos, aditivos, cosméticos, compuestos industriales, etc.), cada legislación específica establece diferentes exigencias, en cuanto a la profundidad de los estudios que deben realizarse. En la práctica, esto supone la aplicación de un número mayor o menor de los ensayos requeridos, dependiendo, en algunos casos, de la exposición prevista.

La Unión Europea modernizó en 2006 su legislación en materia de sustancias químicas creando el sistema REACH, un sistema integrado único de *registro, evaluación y autorización* de sustancias químicas. Este sistema sustituye más de 40 directivas y reglamentos y crea un procedimiento único aplicable a todos los productos químicos. Pretende mejorar la protección de la salud humana y del medio ambiente, manteniendo al mismo tiempo la competitividad y reforzando el espíritu de innovación de la industria química europea. El sistema REACH obliga a las empresas que fabrican e

importan sustancias y preparados químicos a evaluar los riesgos derivados de su utilización y a adoptar las medidas necesarias para gestionar cualquier riesgo identificado.

El sistema REACH propone una serie de niveles de evaluación según el volumen de producción de la sustancia: de 1-10 Tm al año se prefieren sólo métodos *in vitro*; de 10-100 Tm se aplica el nivel básico de ensayos; de 100-1.000 Tm se añaden estudios a largo plazo, jerarquizados según la información disponible, el uso y la exposición prevista; y para producciones superiores a 1.000 Tm se aplican ensayos complementarios a largo plazo y jerarquizados (Tabla 11.22).

Para los medicamentos, la Unión Europea (UE) ha recomendado la duración mínima que deben tener los estudios en función del tiempo que esté previsto que los enfermos deban recibir la medicación. Así, cuando los pacientes deban tomar solamente una dosis del medicamento en días aislados o esporádicos, el estudio con animales debe abarcar al menos dos semanas. Si la medicación puede continuarse hasta una semana, el estudio debe ser superior a un mes, y si está previsto que la medicación dure un mes, el estudio debe superar los tres meses. Cuando se estime que la administración del medicamento a un paciente puede superar los 30 días, o sumar 30 días en un año, la experimentación animal debe prolongarse durante más de 6 meses.

Además, existen legislaciones específicas para biocidas, lejías y detergentes, sprays de defensa personal y aerosoles, fitosanitarios, medicamentos, cosméticos, radiaciones, etc., con requerimientos de ensayo diferentes para cada uno de ellos. En la Tabla 11.23 se recogen algunas referencias legislativas sobre los mismos.

Protocolos de ensayo

Dado que se pretende que los resultados de un estudio sean universalmente válidos para el registro de un compuesto, es imprescindible utilizar protocolos de ensayo estandarizados comunes, previamente aceptados por los reguladores. En el apartado previo de métodos regulados se han ido describiendo y en sus tablas figuran los códigos que los identifican.

Tabla 11.22. Principales estudios toxicológicos requeridos por el sistema REACH para la comercialización de sustancias.

Para 1-10 toneladas producidas o importadas al año:

Propiedades fisicoquímicas.
Irritación y corrosividad cutánea *in vitro*.
Irritación y corrosividad ocular *in vitro*.
Mutación génica en bacteria *in vitro*.
Sensibilización dérmica *in vivo* (LLNA).
Toxicidad aguda por vía oral.
Toxicidad acuática en invertebrados y plantas acuáticas.
Degradabilidad.

Para 10-100 toneladas producidas importadas al año:

Los anteriores, más:
Irritación dérmica *in vivo*.
Irritación ocular *in vivo*.
Mutagenicidad: citogenicidad micronúcleo *in vitro*, y mutación génica *in vitro*.
Toxicidad aguda por vía dérmica o inhalatoria.
Toxicidad por dosis repetidas 28 días una especie y vía.
Cribado de toxicidad para la reproducción y desarrollo *in vivo*.
Toxicocinética *in vivo*.
Toxicidad a corto plazo en pez.
Inhibición de la respiración de lodos activos.
Degradación abiótica y adsorción/desorción.

Para 100-1.000 toneladas producidas o importadas al año:

Los anteriores, más:
Toxicidad por dosis repetidas 28 y 90 días dos sexos.
Toxicidad para el desarrollo *in vivo*.
Toxicidad para la reproducción en dos generaciones.
Toxicidad a largo plazo en invertebrados.
Toxicidad a largo plazo en pez.
Degradación.
Bioconcentración / acumulación.
Efectos en organismos terrestres.

Para >1.000 toneladas producidas o importadas al año:

Los anteriores, más:
Toxicidad para el desarrollo.
Toxicidad para la reproducción en dos generaciones.
Carcinogenicidad *in vivo*.
Toxicidad para la reproducción a largo plazo en aves.
Toxicidad a largo plazo en plantas.
Degradación (completa).

La Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE) es una organización intergubernamental de 30 países industrializados que se encarga de coordinar y armonizar las políticas gubernamentales, y responder y tratar objetivos y problemas comunes. Desde 1982 publica las Directrices de Ensayo de la OCDE, que es una colección de métodos usados para evaluar el peligro de los compuestos y preparaciones. Incluyen ensayos de propiedades fisicoquímicas, efectos sobre la salud humana y el medio ambiente, así como su acumulación y degradación en el mismo. Desde ese momento, estas directrices están reconocidas en todo el mundo como las herramientas de referencia en la evaluación de compuestos químicos, y aseguran la aceptación de los resultados de un estudio efectuado en otro país, evitando la repetición innecesaria de ensayos (Balls y Combes, 2006). Actualmente existen unas 90 directrices, y otras muchas como borradores. Las directrices pueden obtenerse a través de la Web de la OCDE (<http://www.oecd.org/>).

Los métodos de ensayo de la Unión Europea para determinar las propiedades intrínsecas de las sustancias químicas se encuentran reunidos en el Reglamento (CE) n° 440/2008 de la Comisión, por el que se establecen métodos de ensayo de acuerdo con el Reglamento (CE) n° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH). Coinciden en gran medida con los protocolos de la OCDE y están disponibles en forma gratuita en la Web de la Oficina Europea de Compuestos Químicos (<http://ecb.jrc.it/testing-methods/>).

En forma similar, la *Conferencia internacional de armonización de la evaluación de medicamentos* (ICH), que incluye a las tres principales regiones económicas, es decir, Europa, EEUU y Japón, promulga desde 1990 directrices armonizadas para la evaluación de la eficacia y seguridad de los medicamentos humanos y veterinarios, lo que facilita el intercambio mutuo de los resultados.

En su ámbito de actuación, la Agencia de Protección Ambiental norteamericana (EPA) también dispone de protocolos de ensayo ambiental. Además, algunos sistemas de calidad, como los que citaremos a continuación, disponen también de protocolos detallados similares a los comentados.

Tabla 11.23. Referencias legislativas relacionadas con la evaluación toxicológica (I).

Materia	Legislación Europea	Legislación Española
Clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.	D 2006/121/CE modifica D 67/548/CEE actualizada por D 92/32 CEE	— RD 363/1995
Registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH) y creación de la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos.	R 1907/2006	
Clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos.	D 1999/45/CE actualizada por: - 2001/58/CE - 2000/60/CE	R. D. 255/2003 “ “
Control de riesgos de accidentes graves por sustancias peligrosas.	D 96/82/CE (Seveso II) D 98/433/CE D 2003/105/CEE	RD 1254/1999 RD 119/2005 RD 948/2005
Almacenamiento de productos químicos.		RD 379/2001; RD 2016/2004
Transporte de Mercancías peligrosas en carretera.	D 94/55/CE	
En ferrocarril.	D 96/49/CE	

Buenas Prácticas de Laboratorio

En 1970 la Agencia de Alimentos y Medicamentos norteamericana (FDA) discrepó con una importante compañía farmacéutica sobre los estudios de toxicidad realizados a un producto antiprotzoario. Como consecuencia, se inició una minuciosa revisión de los protocolos seguidos por aquel y otros laboratorios farmacéuticos, que condujo a denuncias y condena de cárcel para algunos investigadores. Todo ello produjo una gran conmoción, por lo que la FDA elaboró unos principios o códigos sobre buena práctica de laboratorio (*FDA Federal Register, USA. Nonclinical Laboratory Studies. Good Laboratory Practice Regulations*, 1978).

A fin de prevenir la diversificación de programas de aplicación, la OCDE designó en 1979 un grupo de expertos que elaboró los «Principios de Buenas Prácticas de Laboratorio de la OCDE», que fueron adoptados en 1981 y actualizados posteriormente en una Decisión del Consejo de la OCDE en 1997.

En la Unión Europea, se aplicó en 1987 la normativa de la OCDE, y actualmente se rige por la Directiva 2004/10/CE sobre la aproximación de

las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas relativas a la aplicación de los principios de buenas prácticas de laboratorio y al control de su aplicación para las pruebas sobre las sustancias químicas y la Directiva 2004/9/CE relativa a la inspección y verificación de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

En España se traspuso la legislación comunitaria en 1993 y sufrió varias adaptaciones a la normativa comunitaria (RD 822/1993, RD 2043/1994, RD 1369/2000). La OP/3249/2007 designó a la Empresa Nacional de Acreditación (ENAC) como órgano de evaluación y certificación de las buenas prácticas de laboratorio en ensayos no clínicos de sustancias químicas industriales, que ya actuaba como tal desde 1995 para fitosanitarios.

Estos principios se conocen como Códigos de buena práctica de laboratorio (BPL, en inglés *GLP*) y recogen todos los requisitos exigibles para que un estudio experimental sea homologable o aceptable no sólo por el propio país, sino también en el extranjero (reconocimiento mutuo), y no se circunscribe a la toxicología experimental, sino que afecta también a los certificados de análisis de composición, farmacocinéticos, bioensayos, etc.

Tabla 11.23. Referencias legislativas relacionadas con la evaluación toxicológica (II).

Materia	Legislación Europea	Legislación Española
Seguridad general de los productos.	D 2001/95/CE	RD 1801/2003
Sustancias psicotrópicas.	Decisión 2005/387/JAI del Consejo	
Medicamentos.	D 65/65/CEE D 75/318/CEE D 81/852 D 2001/83/CE	Ley 25/1990
Medicamentos huérfanos.	Reglamento 141/2000/CEE Reglamento 847/2000	
Medicamentos homeopáticos.	D 92/73/CEE	
Medicamentos veterinarios.	D 81/851 y 852 D 2001/82/CE	Ley 13/2007
Medicamentos homeopáticos veterinarios.		RD 110/1995
Cosméticos.	D 76/768/CEE	RD 1599/1997
Lejías y Detergentes.		RD 3360/1983 RD 349/1993 RD 770/99
Biocidas.	D 98/8/CE -R 1896/2000/CE -R 2032/2003/CE	RD 1054/2002
Fitosanitarios (plaguicidas y compuestos agrícolas).	91/414/CEE	RD 2163/1994
Aditivos en productos alimentarios.	D 96/77/CE	RD 142/2002
Aditivos Edulcorantes.	D 94/35/CE	RD 2002/1995 RD 1917/1997
Contaminantes en productos alimenticios.	Reglamento 466/2001/CE	
Materiales y objetos plásticos en contacto con alimentos.	Reg 1935/2004	RD 118/2003
Etiquetado productos alimenticios.	D 79/112/CEE y modificaciones D 97/4/CEE D 2000/13/CE	y RD 1334/1999
Productos alimenticios tratados con radiaciones ionizantes.	D 1999/2/CEE D 1999/3/CEE	RD 348/2001
Productos alimentarios a partir de organismos modificados genéticamente.	Reg 1829/2003 Reg 1830/2003	

Los requisitos se refieren a la capacitación, cualificación y asignación de responsabilidades para todo el personal, métodos operativos escritos denominados Procedimientos Normalizados de Trabajo, PNT o *SOP* (con especial atención a los controles de calidad), seguimiento de la cadena de custodia, instalaciones adecuadas, mantenimiento de instrumentos, archivos y registros, etc. En lo que se

refiere a los bioterios o animalarios, las GLP exigen la instalación de barreras sanitarias, pasillos limpios y de servicio independientes, aire filtrado, con temperatura, humedad y ventilación controlada, etc. (Repetto, 1988).

Es necesario remarcar que estos principios pueden ser aplicables a cualquier investigación toxicológica básica o aplicada, pero que su cumplimiento

Tabla 11.23. Referencias legislativas relacionadas con la evaluación toxicológica (III).

Materia	Legislación Europea	Legislación Española
Sustancias y productos indeseables en alimentación animal.	2002/32/CE	RD 465/2003
Aditivos alimentación animal.	70/524/CEE y modif.	RD 1329/1995
Seguridad juguetes.	88/378/CEE	RD 880/1990
Protección de los animales de experimentación.	86/609/CEE Convenio E 2-8-89	RD 1201/2005 Ley 32/2007
Buenas Prácticas de Laboratorio.	87/18/CEE 88/320/CEE -1999/11/CEE y rectificación (DO L148 de 15.6.1999) D 2004/9/CE codif D 2004/10/CE codif	RD 822/1993 RD 1369/2000 y R.D. 2043/1994 Orden 14-4-2000 Orden PRE/3249/2007
Buenas Prácticas Clínicas (medicamentos) humanos.	2005/28/CE	RD 223/2004 OM PRE/2938/2004
Protección de la salud y la seguridad de los trabajadores de riesgos químicos.	D 98/24/CEE D 98/24/CEE	RD 374/2001
Límites de exposición ocupacional.	D 98/24/CEE D 2000/39/CE; D 2006/15/CEE	
Trabajadoras embarazadas.	92/85/CEE	Ley 31/1995
Exposición ocupacional a cancerígenos.	D 2004/37/CE -97/42/CEE 88/364/CEE	RD 665/1997 RD 1124/2000 RD 349/2003
Calidad aguas consumo humano.	98/83/CE	RD 140/2003
Aguas.	2000/60/CEE	RD 1/2001
Prevención y control integrado de la contaminación.	D 2008/1/CE	Ley 16/2002; RD509/2007 RD 208/2007
Registro Emisiones contaminantes.	R166/2006	
Residuos.	D 75/422/CEE D 91/689/CEE D 96/59/CE D 94/62/CE	Ley 10/1998 RD 1378/1999 RD 833/1988 RD 653/2003
Contaminantes orgánicos persistentes.	D 79/117/CE	
Contaminantes atmosféricos.	D 97/68/CE; D2008/50/CE	Ley 34/2007
Radiaciones ionizantes.	D 97/43/Euratom D 96/29/Euratom	RD 815/2001 RD 783/2001
Campos electromagnéticos.	D 2004/40/CE R 1999/519	RD 1066/2001
Ruido.	D 2003/10/CE D 2002/49/CE	Ley 37/2003 RD 286/2006

es requerido de forma explícita únicamente para estudios con finalidad reguladora, como el registro de un nuevo producto. Estos requerimientos se extienden a todos los estudios realizados, es decir, incluye las analíticas químicas de los compuestos, las bioquímicas, las caracterizaciones de las propiedades fisicoquímicas, los ensayos *in vivo* e *in vitro*, etc.

Con el paso del tiempo, estos principios desarrollados para estudios toxicológicos han sido exportados a otras áreas muy diversas, siendo la base de otros sistemas de calidad.

Protección de los animales de experimentación

La gran presión social y los avances científicos realizados han tenido una importante repercusión política y legislativa, lo que ha dado lugar a varias normativas de gran trascendencia, procurando la reducción del número de animales utilizados en los laboratorios, evitar la duplicidad de estudios, y el empleo de procedimientos que eviten sufrimientos a los mismos, así como propugnar el desarrollo de métodos alternativos que no requieran el uso de animales.

Tanto el legislador como el experimentador se encuentran con el dilema de respetar la nueva filosofía sin que se produzca menoscabo del progreso de la investigación científica. Así, el toxicólogo tiene el deber moral de diseñar sus experimentos de forma que obtenga la mayor cantidad de información posible a partir del menor número de animales.

Una forma de conseguir esta finalidad es comenzar los estudios de toxicidad con métodos *in vitro* y, cuando ya se han alcanzado suficientes conocimientos sobre el producto en cuestión, confirmarlos y ampliarlos mediante ensayos con animales, lo que ya supone una gran disminución en el número de éstos.

Básicamente, y según la legislación europea y española, se establecen como aspectos básicos en la protección y experimentación animal los siguientes (Tabla 11.24):

— Los experimentos sólo deben ser realizados por personal competente o bajo su directa responsabilidad. El personal se clasifica según las cuatro

funciones, complementarias entre sí, que desempeñe, como:

a) *Cuidador*: con preparación acreditada para el cuidado

b) *Experimentador*: con titulación media o superior y formación específica en protección y experimentación animal

c) *Responsable* (uno por procedimiento): titulación superior en Ciencias Experimentales y formación específica en protección y experimentación animal

d) *Especialista en ciencias del animal de experimentación*: en bienestar animal o en salud animal (veterinaria)

— No debe realizarse un experimento con animales si existe otro procedimiento, científicamente satisfactorio, razonable y disponible, para obtener la información deseada.

— No deben utilizarse animales silvestres ni vagabundos.

— Utilizar el menor número posible de animales.

— Elección cuidadosa de la especie y con el menor grado posible de sensibilidad neurofisiológica.

— Causar el menor dolor, sufrimiento, angustia o lesión a los animales.

— Los centros de cría y suministradores y los que realicen experimentación animal deben estar registrados y notificar trimestralmente a la autoridad competente los experimentos llevados a cabo.

— En los centros usuarios debe existir un comité ético de bienestar animal

— Los centros deben disponer de condiciones adecuadas de cuidado y alojamiento, medio ambiente, alimentación y bebida; supervisión del estado de bienestar y de salud animal por titulados superiores competentes; y realizar todas las actuaciones ateniéndose a procedimientos normalizados de trabajo (PNT) escritos y autorizados.

— Autorización previa para: especies no comunes, en peligro de extinción, estudios fuera del establecimiento, sin anestesia, o que causen intenso dolor.

Por lo tanto, independientemente del estudio de que se trate, toxicológico, farmacológico, básico o regulado, la utilización de animales de experimentación está regido por numerosas normativas que tratan de asegurar el buen uso y la protección de los animales, como se recogen en la Tabla 11.26.

Tabla 11.24. Aspectos básicos de las normativas de protección y experimentación animal.

Animales:

- Registro de uso e información a las autoridades.
- Estirpe normalizada, proveedor de garantía.
- Prohibición de uso de animales errantes o domésticos.
- Estabulación independiente de especies.

Animalarios:

- Registrados ante las autoridades.
- Barreras sanitarias.
- Separación de zonas de «servicio» y «limpias».
- Paredes, techos y suelos sin rincones ni hendiduras.
- Temperatura: roedores: 20-24° C, otros: 15-21° C.
- Humedad: 55 % (límites: 40-70 %) en pasillos y servicios.
- No corrientes ni recirculación del aire. Iluminación uniforme, en fases de 12 horas.

Espacio mínimo por animal:

- Rata: 350 cm²; perro: 1 m² + 1 m² de parque.
- Dispositivos de alarma: para casos de incendio, fallos de ventilación, etc.

Alimento y cama:

- Controlados. Sin aditivos ni contaminantes.

Cuarentenas:

- Roedores: 5-15 días.
- Otros: 20-30 días.
- Supervisión del bienestar y la salud animal.
- Prácticas higiénicas máximas (tipo quirófano).

Procedimientos:

- Siguiendo los principios de las tres erres.
- Procedimientos normalizados de trabajo (PNT).
- Reducción máxima del sufrimiento de los animales y sacrificio bajo anestesia, siempre que sea posible.
- El trabajo con animales SPF o GF incrementa exigencias de esterilidad (aire, cama, alimentos, etc.).
- Acreditación BPL para estudios regulados.
- Protocolos oficiales para estudios regulados.

En los ensayos *in vitro* que precisan utilizar tejidos de animales deben también tenerse en cuenta las normativas comentadas. Cuando se utilizan tejidos humanos, deben cuidarse con esmero las implicaciones éticas de los procedimientos, y extremar las precauciones de seguridad ante la posibilidad de contagio de enfermedades.

Legislación de Protección de los trabajadores

Los trabajadores pueden ser afectados tanto por los compuestos ensayados, como por las enferme-

dades originadas por los animales: alergias, virasis, etc., por lo que, para evitarlo, es imprescindible el cumplimiento de las normativas correspondientes. Es particularmente importante evitar el contacto con las sustancias ensayadas (Tabla 11.25).

ANÁLISIS DEL RIESGO TÓXICO

El análisis del riesgo es uno de los principales objetivos de las instituciones nacionales e internacionales implicadas en proteger a las poblaciones y al medio ambiente de los efectos perjudiciales de las sustancias, y requiere el conocimiento de las

Tabla 11.25. Normas para preparación, manejo y administración de sustancias en los ensayos de toxicidad.

1. En toda la planta de experimentación no se debe fumar, beber, comer (caramelos, chicles, etc.), ni aplicarse cosméticos.
2. Lavarse las manos con jabón desinfectante.
3. Usar siempre guantes, mascarilla, gafas, bata distinta y calzado especial o «puppies». Si se perfora un guante, quitárselo inmediatamente, lavarse las manos y ponerse uno nuevo.
4. Colocar sobre la mesa de trabajo una hoja de papel absorbente donde se harán todas las manipulaciones. Cuando se trabaje con material en polvo, humedecer el papel.
5. El pesado, la disolución de los productos y de las distintas dosificaciones se harán con la mayor asepsia y en vitrina. Las cantidades que se vayan a aplicar por animal o día se repartirán en ampollas o viales y se conservarán hasta su utilización en nevera y protegidos de la luz. Los frascos y ampollas se mantendrán abiertos el menor tiempo posible.
6. En las administraciones parenterales las jeringuillas, agujas, mariposas y sondas deberán ser estériles y se evitará el posible contacto con el aire, la mesa, etc. La apertura de las ampollas y frascos se hará en condiciones de asepsia; limpiar el cuello con gasa humedecida con alcohol; con la misma gasa se sujetará la ampolla o frasco al abrirla.
7. Durante toda la manipulación se evitará la formación de espuma y aerosol (no inyectar aire, no separar la aguja de la jeringuilla, etc.) y la exposición del manipulador.
8. Se evitará el contacto con orina y heces de los animales tratados.
9. Todo el material desechable contaminado, papel absorbente, gasas y heces, etc., se introducirá en recipientes para residuos tóxicos.
10. El material no desechable que contenga restos de producto se enjuagará inmediatamente bajo el chorro de agua para su fregado posterior.
11. La mesa de trabajo se fregará con agua y jabón o productos descontaminantes y se enjuagará con agua abundante.
12. Lavarse las manos con jabón desinfectante.

relaciones cualitativas y cuantitativas entre los riesgos y los beneficios que se derivan de la exposición a las mismas (Figura 11.3).

Por lo tanto, se pretende balancear los riesgos frente a los beneficios producidos por el uso de un compuesto, fijar los límites de preocupación y unos niveles guía, establecer prioridades de investigación y evaluar las consecuencias de las decisiones previas.

Recordemos que *riesgo* es la probabilidad de que se produzcan efectos adversos o daños por exposición a un agente, como consecuencia de las propiedades del mismo y de las circunstancias o grados de la exposición. Por lo tanto, para que exista un riesgo es necesario que exista la posibilidad de exposición a un *peligro potencial*; por ejemplo, un frasco con cianuro sódico supone gran peligro, pero si se mantiene en una caja de seguridad el riesgo es mínimo, porque la probabilidad de que dé lugar a una exposición es escasa. Mientras que el peligro potencial se puede determinar por procedimientos experimentales, el riesgo ha de ser estimado por estudios epidemiológicos de una

población expuesta, o por inferencia matemática a partir de datos experimentales.

RIESGO = PELIGRO × EXPOSICIÓN

El análisis del riesgo tóxico comprende cuatro etapas independientes en las que participan diferentes profesionales. Tras la evaluación científica del riesgo, es necesario gestionar los riesgos tomando las medidas preventivas y limitaciones pertinentes atendiendo a consideraciones técnico/políticas, informar a las entidades implicadas y al público, y controlar la eficacia de las medidas de control adoptadas.

La *evaluación del riesgo* suele realizarse en cuatro etapas, que comprenden:

- la valoración inicial de los peligros inherentes a la sustancia;
- el estudio de la relación existente entre la dosis aplicada y los efectos producidos, que habitualmente se denomina como estudio de seguridad / toxicidad;

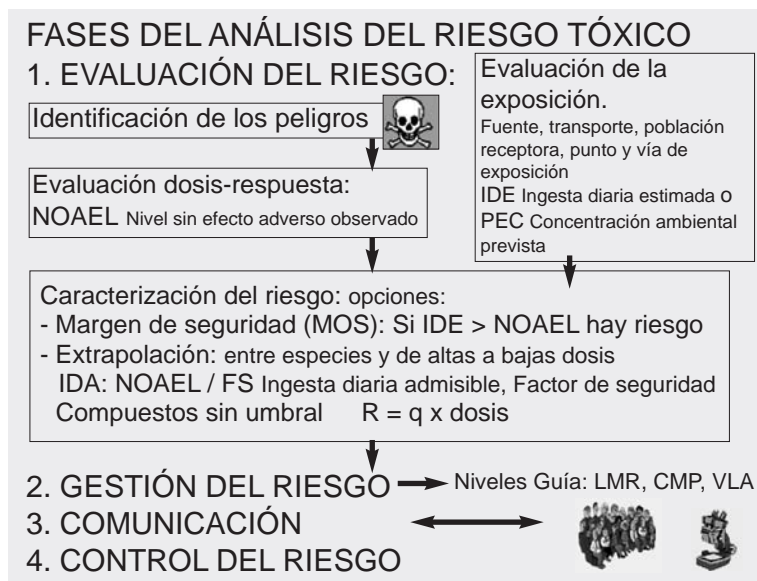


Figura 11.3. Fases del riesgo tóxico.

— la evaluación de las concentraciones o dosis a las que una determinada población puede ser expuesta;

— la caracterización del riesgo por integración de todos los datos obtenidos para concluir cuantificando el riesgo, además de la incertidumbre de su estimación.

No siempre son precisa todas las etapas, ya que a veces con la primera es suficiente. Otras veces los legisladores emplean sólo una parte para hacer clasificaciones ordenadas por la toxicidad de diferentes compuestos. En ocasiones se combina con los datos de exposición para elaborar listas de prioridad de riesgos.

Identificación de los peligros potenciales

Consiste en identificar las sustancias que pueden suponer peligros para la salud, la descripción de las formas específicas de toxicidad que pueden causar (neurotoxicidad, carcinogenicidad, etc.) y las condiciones bajo las cuales esas formas de toxicidad pueden expresarse en las poblaciones expuestas. De esta forma se establece la relación de causalidad entre el compuesto y los efectos indeseables que puede provocar

Los peligros químicos se asocian con la exposición a sustancias en cualquier época de la vida. Las características de peligrosidad, es decir la clasificación como «tóxico, muy tóxico, nocivo, corrosivo, irritable, carcinogénico, tóxico para la reproducción, mutagénico, etc.», son asignadas con arreglo a los criterios establecidos por la legislación.

Un mismo compuesto puede provocar diferentes efectos dependiendo del tipo de exposición (ruta, duración, época, dosis), por lo que la evaluación del riesgo supone un proceso muy complejo. Además se producen interacciones entre compuestos, y los receptores de los compuestos pueden mostrar sensibilidad muy diferente, como en el caso de niños, adultos, ancianos, diferentes especies animales, etc.

En la evaluación del riesgo se emplean muy diversas herramientas. Con frecuencia la base de la información empleada para identificar peligros suele proceder de la aplicación a corto o a largo plazo del compuesto a animales de laboratorio, en un proceso largo y costoso. Los ensayos *in vitro* se han limitado durante años a ensayos cortos de mutagenicidad, que resultan mucho más baratos, y se están extendiendo en la actualidad a otras áreas toxicológicas reguladas.

Para la toxicidad aguda, se calculan los valores DL_{50} o CL_{50} , o la dosis discriminante si se ha utili-

Tabla 11.26. Legislación relativa a la protección de los animales (bienestar animal).**Europa**

- EEC (1986a) Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities*, 1986, L358, 1-29
- EEC (1986b) European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg, 51 pp.

España

- E (1989) Orden de 13 de octubre de 1989 por la que se establecen las normas de registro de los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación de titularidad estatal, así como las de autorización para el empleo de animales en experimentos, en desarrollo del *Real Decreto* 223/1988, de 14 de marzo. *BOE* 250, 18-10-89, 32682-32683
- E (1990) Instrumento de ratificación del Convenio Europeo sobre protección de los animales de experimentación y otros fines científicos, hecho en Estrasburgo el 18 de marzo de 1986. *BOE* 256, 25-10-90
- Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. *BOE* núm. 252, 21 octubre 2005, 34367-34391
- Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. *BOE* nº 268 8-nov-2007

Normativas específicas de las Comunidades Autónomas españolas*Andalucía**

- Ley 11/2003, de 24 de noviembre, de Protección de los Animales. (*BOJA* nº 237, de 10 de diciembre de 2003).
- Decreto 142/2002, de 7 de mayo, por el que se crea y regula el Registro de establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación y otros fines científicos. (*BOJA* nº 55 de 11 de mayo de 2002).
- Decreto 199/2005, de 20 de septiembre, por el que se modifica el Decreto 142/2002, de 7 de mayo (*BOJA* 189).

Aragón

- Ley 11/2003, de 19 de marzo, de protección animal, de la Comunidad Autónoma de Aragón. (*BOA* nº 35, de 26 de marzo).
- Orden de 25 de agosto de 1988, del Departamento de Agricultura, Ganadería y Montes, por la que se dictan normas sobre protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos. (*BOA* de 14 de septiembre de 1988).

Cantabria

- Orden de 2 de febrero de 1989, de la Consejería de Ganadería, Agricultura y Pesca, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (*BOC* de 20 de febrero de 1989).

Cataluña

- Ley 5/1995, de 21 de junio, de protección de los animales utilizados para experimentación y para otras finalidades científicas. Comunidad Autónoma de Cataluña. *BOE* 190, 10-7-95 *Diario Oficial de la Generalitat de Catalunya* (DOGC) nº 2073, 10 de julio de 1995.
- Decreto 214/1997 de 30 de julio, que regula los animales utilizados para experimentación y para otras finalidades científicas. *Diario Oficial de la Generalitat de Catalunya* nº 2450, 7 de agosto de 1997.
- Decreto 286/1997, de 31 de octubre, modificación del Decreto 214/1997, de 30 de julio, por el que se regula la utilización de animales para experimentación y para otras finalidades científicas. (*DOGC* nº 2518 de 14 de noviembre de 1997).
- Decreto 164/1998 de 8 de julio, que modifica el Decreto 214/1997, de 30 de julio que regula los animales utilizados para experimentación y otras finalidades científicas. *Diario Oficial de la Generalitat de Catalunya* nº 2680, 14 de julio 1998.
- Ley 22/2003, de 4 de julio, de protección de los animales (*DOGC* 3929, de 16.7.2003, *BOE* de 8 de agosto). El Artículo 24 prohíbe la instalación, en todo el territorio de Cataluña, de granjas, centros de cría o centros de suministro de primates que tengan como objeto su reproducción o comercialización para experimentación animal.

Comunidad de Madrid

- Orden de 4 de agosto de 1989, del Consejero de Agricultura y Cooperación, por la que se dan normas sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (*BOCM* de 24 de agosto de 1989).

Comunidad Foral de Navarra

- Orden Foral de 5 de agosto de 1991, del Consejero de Agricultura, Ganadería y Montes, sobre protección de los animales utilizados en experimentación y fines científicos en la CF de Navarra (*BON* del 23 de agosto de 1991).

País Vasco

- Orden de 25 de junio de 1991, del Consejero de Agricultura y Pesca, por la que se dictan normas sobre protección de los animales utilizados para la experimentación y otros fines científicos. (*BOPV* 136, del 4 de julio)

zando el procedimiento de dosis fija. También se investiga la capacidad corrosiva e irritante, pero como en el caso anterior, no se suele establecer un NOAEL o un LOAEL.

La gran ventaja de disponer de datos procedentes de humanos es que la evaluación del riesgo puede hacerse directamente evitando complejos procesos de extrapolación. Los datos epidemiológicos suelen proceder de la observación de efectos sobre la salud. La mayoría proviene de informes de casos, evaluación de correlaciones y estudios de cohortes ocupacionales o epidemiológicos, que son los más deseables. Los estudios epidemiológicos difieren de los ensayos clínicos y estudios con voluntarios, en que, a diferencia de los últimos, la aplicación del agente o la exposición laboral o ambiental de un grupo de personas ya ha tenido lugar antes de iniciar la evaluación. Para evaluar el riesgo de enfermedad o muerte, se examinan poblaciones que han sido expuestas a un agente y se compara con una población control no expuesta pero lo más parecida posible a la anterior (edad, sexo, raza, nivel socioeconómico, área geográfica, estilo de vida, influencia medioambiental, etc.). Lo más complicado es establecer la correlación con la exposición a una determinada sustancia. Cuando los efectos son a largo plazo, como en el caso de carcinógenos, las dificultades aumentan.

Cuando se pretende evaluar el riesgo de un sitio posiblemente contaminado, se revisa la información referida a la historia del lugar, los procesos tecnológicos, las actividades humanas que se han desarrollado en el área y cualquier otro dato de interés. Se realiza además la caracterización de los contaminantes, es decir, se determina cuales son los contaminantes presentes que pudieran afectar a la salud humana o al medio ambiente.

Evaluación dosis-respuesta (toxicidad/seguridad)

Los estudios de evaluación de la toxicidad persiguen profundizar en los efectos tóxicos producidos, así como establecer la relación dosis (o concentración) - respuesta (efecto), que consiste en la estimación de la relación entre la dosis o el nivel de exposición a una sustancia y la incidencia y la gravedad del efecto. Idealmente debieran establecerse relaciones cuantitativas, por lo que

suelen emplearse modelos matemáticos. También conviene distinguir la existencia de individuos más sensibles.

El objetivo final además de disponer de la curva dosis-respuesta, y de conocer si existe un umbral de toxicidad (véase apartado 4.1), es poder predecir la dosis o concentración de la sustancia por debajo de la cual no son de esperar efectos adversos en la especie considerada (NOAEL), en el caso de compuestos con umbral, o la pendiente de la relación, en casos sin umbral. Para ello se investigan al menos los procedimientos regulados para la evaluación de los distintos tipos de efectos, que han sido considerados previamente en este capítulo.

Evaluación de la exposición

La *evaluación de la exposición* consiste en estimar de forma realista a qué cantidad y por cuanto tiempo pueden estar los individuos en contacto con el tóxico. Se consigue mediante la determinación de las emisiones, vías de transferencia y tasas de movimiento de una sustancia y de su transformación o degradación, a fin de hacer una estimación de las concentraciones o dosis a las cuales están o pueden estar expuestas las poblaciones humanas o los compartimientos del medio ambiente (es decir, medio acuático, medio terrestre y aire). Consiste en la especificación de la población que podría estar expuesta al compuesto, identificando las rutas a través de las que podría producirse la exposición, y estimación de la magnitud, duración y patrón en el tiempo de las dosis que los seres vivos podrían recibir (NRC, 1983, NRC, 1994).

En el caso de las poblaciones humanas es necesario diferenciar claramente la exposición ocupacional y la que reciben los consumidores de la exposición indirecta a través del medio ambiente. En los casos ambientales, para que se produzca riesgo es preciso que exista una *ruta completa de exposición*, que se compone de:

- a) una fuente contaminante que emite el compuesto,
- b) un medio ambiental de transporte (aire, agua, suelo, biota),
- c) un punto de exposición en el que se establece el contacto del receptor con el medio contaminado con una intensidad y patrón definidos,

- d) una población receptora cuyo tipo y tamaño deben identificarse, y
- e) una vía de exposición (oral, inhalatoria o dérmica) que permita su absorción.

Para tratar de predecir la exposición se emplean modelos de cinética y biotransformación ambiental que tienen en cuenta las características de la sustancia, del ambiente concreto y de las poblaciones una vez efectuada su cuantificación de forma directa o indirecta. Para grupos pequeños de individuos pueden hacerse predicciones separadas de exposición. Sin embargo, para grupos numerosos de individuos es necesario aplicar modelos estadísticos que estimen o simulen la distribución de la exposición en la población, por ejemplo, empleando la técnica de Monte Carlo.

Por lo tanto, entre los datos básicos para conocer el nivel de exposición se incluyen:

- a) las mediciones realizadas,
- b) la cantidad comercializada de la sustancia,
- c) la forma en que se comercializa o utiliza (por ejemplo, sustancia sola o como componente de un preparado),
- d) las categorías de uso y grado de confinamiento,
- e) los datos de la elaboración, cuando proceda,
- f) las propiedades fisicoquímicas de la sustancia y las que le confiere la elaboración (por ejemplo, formación de aerosol),
- g) las vías probables de exposición y el potencial de absorción,
- h) la frecuencia y duración de la exposición y
- i) el tipo y tamaño de la(s) población(es) expuesta(s), cuando tal información esté disponible.

La evaluación de la exposición suele resumirse, finalmente, calculando la *ingesta diaria estimada* (IDE) o la *concentración ambiental prevista* (PEC). En el primer caso, es necesario tener en cuenta que a través del agua y los alimentos se ingieren componentes naturales de los mismos y también contaminantes, residuos de productos fitosanitarios y de medicamentos veterinarios, aditivos, tóxicos derivados, etc. En la exposición ambiental además de tener en cuenta que los productos suelen llegar a la cadena alimentaria, es preciso considerar la exposición directa a través de

las vías inhalatoria, principalmente, y en forma secundaria por la dérmica.

En el año 1900, al estudiar Warren la toxicidad letal de disoluciones de distinta concentración de cloruro de sodio sobre la pulga de agua o *Daphnia magna* (Straus) intentó por primera vez establecer la relación cuantitativa entre la dosis o la concentración de un tóxico y el tiempo en que éste incide sobre el ser vivo, planteando la ecuación $(C-C_0) \times t = k$, donde C_0 es la mínima concentración medible o con efecto biológico.

Diez años después, Ostwald y Dernoschek sugirieron que la expresión $C^x \times t = k$ se adaptaba mejor a los datos experimentales; posteriormente, el alemán Fritz Haber (1924), que estudiaba la toxicidad de gases de guerra sobre gatos estimó que, bajo ciertas condiciones, la concentración del gas en el ambiente y el tiempo necesario para que los animales murieran al respirarlo constituyen un valor fijo, es decir, se cumple una relación sencilla concentración-tiempo expresable como $c \times t = k$ conocida como *Ley de Haber* (véase Capítulo 2, Factor tiempo). Ciertamente, del producto de la concentración del tóxico en el medio y del tiempo de exposición depende la dosis absorbida.

El hecho de que la representación gráfica del logaritmo de c frente al de t sea lineal ha facilitado la aplicación de esta expresión en estudios de toxicidad, principalmente por entomólogos y para ensayos con disolventes orgánicos (Flury y Wirth, 1934), y a pesar de que en unas ocasiones sobreestime y, en otras, subestime los efectos, y por tanto el riesgo, ha sido generalmente admitida a efectos prácticos, e incluso tenida en cuenta para normativas legales.

Como insisten Doull y Rozman (2000 y publicaciones previas), para definir la exposición se deben manejar dos tipos de variables independientes, una simple, la concentración o la dosis (que son función del número de moléculas), y otra compleja, el tiempo, que conlleva aspectos cinéticos y dinámicos, así como los de frecuencia y duración de la exposición. Otra variable compleja es el tipo de efecto (E) que se estudie, y que puede ser diferente del letal. Utilizando las variables concentración y tiempo se puede buscar la combinación de ambas que produzca un efecto adverso específico; se tendrían así expresiones del tipo $c^x \times t^y = k^E$, cuyas representaciones gráficas

cas en forma logarítmica son rectas con pendientes próximas a -1 , y con extremos en los límites de ambas variables para el efecto considerado (véase Fig. 11.4).

Hacia 1940, el estadístico Bliss, sin ayuda de computadoras, encontró que, dando a la expresión de Ostwald y Dernoschek la forma $(C-C_0)^n = k$, se tenía una fórmula de aplicación más general. Su representación gráfica logarítmica presentaba dos segmentos lineales con una inflexión, lo que fue interpretado como la expresión de dos diferentes mecanismos de toxicidad dependientes de la concentración o bien de la longitud del periodo de exposición.

Diversos autores (Flury y Wirth, 1934; Hayes, 2001; Witshi, 1999; Miller *et al*, 2000; Rozman, 2000, etc.) han discutido acerca de si las variables c y t tienen la misma importancia en el cálculo de la toxicidad, como estimó Haber, o si la concentración es, para algunos tóxicos, más importante que el tiempo, y sobre las excepciones que incumplen la ley de Haber, así como si en lugar de la expresión $c \times t = k$, sería mejor la de $c \times t = k \times E$.

Por su parte, Doull y Rozman (2000), para establecer el margen de exposición (MOE) en las estimaciones del riesgo, han propuesto comparar la k obtenida por vía experimental con el valor de k según la fórmula de Haber, mediante el cociente $k^{ex}/k^H = MOE$. Miller *et al* (2000) consideran muy interesantes las posibilidades futuras del uso de gráficas tridimensionales que representen las relaciones entre c , t y los niveles variables de respuesta para un efecto (punto final) dado.

Finalmente, Rozman (2000) estima que son necesarios más estudios para demostrar experimentalmente las expresiones propuestas, y contribuir así a una mayor solidez de la teoría toxicológica.

Caracterización del riesgo

La última fase de la evaluación del riesgo se denomina *caracterización del riesgo* y consiste en la estimación de la incidencia y gravedad de los efectos adversos probables en una población humana o en un compartimiento del medio ambiente, debidos a la exposición real o prevista a la sustancia; puede incluir la *estimación del riesgo*, es decir, la cuantificación de dicha probabilidad.

La caracterización del riesgo supone la integración de la información recogida en las tres etapas anteriores para desarrollar una estimación cuantitativa o cualitativa de la probabilidad de que alguno de los peligros asociados al compuesto se produzca en los individuos expuestos (NRC 1994). Tras integrar los datos de la evaluación de toxicidad y de estimación de la exposición, deben cuantificarse los riesgos efectuando la extrapolación desde la fuente de obtención de los datos, generalmente animales expuestos a altas dosis, hacia condiciones más probables de exposición, como grupos humanos expuestos, durante largo tiempo, a pequeñas dosis por muy diversas vías.

Hasta hace poco, para evaluar el riesgo sobre la salud humana se consideraban *dos grandes grupos de compuestos*, los carcinógenos y los no carcinó-

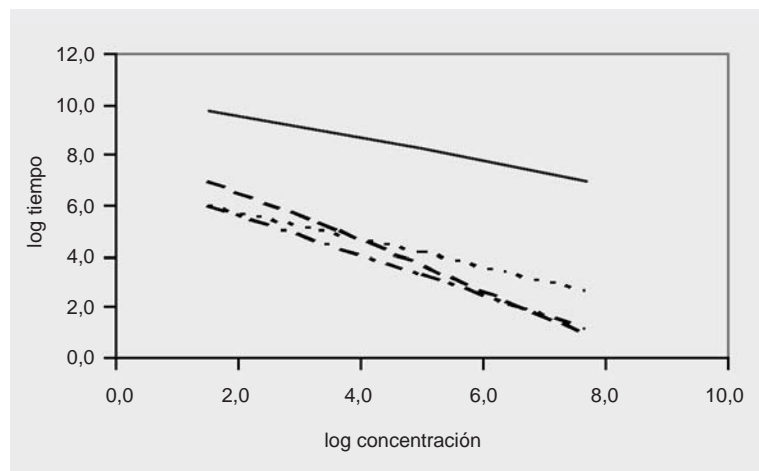


Figura 11.4. Representaciones de la Ley de Haber, tomado de Doull y Rozman, 2002.

genos. Sin embargo, esta clasificación ha quedado obsoleta, y hoy día, atendiendo a los mecanismos por los que se producen los efectos tóxicos pueden distinguirse dos tipos fundamentales de agentes, según se identifique o no un *umbral de efecto*.

Caracterización del riesgo de compuestos con umbral

La mayoría de los compuestos presentan un umbral de toxicidad. Sólo provocan efectos sistémicos si se sobrepasa una determinada dosis (umbral), por lo que podrá evitarse que produzcan efectos adversos simplemente manteniendo los niveles de exposición por debajo del umbral, es decir, aplicando un margen de seguridad. Es el grupo más numeroso e incluye a los compuestos no cancerígenos, pero también a los cancerígenos no genotóxicos. Este tipo de cancerígenos no mutagénicos, también denominados mitogénicos, incrementan el riesgo de cáncer generalmente al acelerar el ritmo de división celular interactuando sobre el complejo sistema de regulación de la división celular.

La caracterización del riesgo se realiza sobre la base de este umbral, ya que se protegerá a la población manteniendo los niveles de exposición por debajo del mismo. Como umbral se emplea el *Nivel/concentración sin efecto adverso observado* (NOAEL/NOAEC), que es la dosis más alta ensayada a la que no se observan efectos estadísticamente significativos para todos los indicadores toxicológicamente relevantes considerados, incluyendo la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo o vida media. Es un índice que se emplea fundamentalmente para exposición crónica. Si no fuera posible determinar el NOAEL, se utilizaría el *Menor Nivel/concentración con efecto adverso observado* (LOAEL/LOAEC), que es la dosis más pequeña ensayada a la que se observan efectos adversos.

La caracterización del riesgo puede hacerse estableciendo un *margen de seguridad* o bien realizando la extrapolación aplicando *factores de seguridad*.

Margen de seguridad (MOS)

La caracterización del riesgo se basa en establecer el cociente NOAEL/Exposición, denominado

como cociente de riesgo, margen de seguridad o razón de caracterización. Si la exposición estimada es igual o sobrepasa el NOAEL, existirá riesgo. Si la exposición no llega al NOAEL, el experto deberá decidir si la magnitud por la que el NOAEL excede a la exposición estimada, es decir el margen de seguridad, no es suficiente y debe considerarse la situación como preocupante.

Para estimar el margen de seguridad se tiene en cuenta una serie de parámetros como la variabilidad intra e interespecie de los datos experimentales, la naturaleza y la severidad del efecto, la población humana afectada, las diferencias en la exposición y la curva dosis-respuesta.

La caracterización del riesgo utilizando el margen de seguridad se ha mostrado como un procedimiento muy sencillo, pero es totalmente dependiente del «juicio del experto» (Vermeire *et al.*, 1999). Por ello se han desarrollado diversos métodos de *extrapolación* de los resultados experimentales hacia los valores regulados, que emplean una nomenclatura no estandarizada por las diversas agencias reguladoras. Solamente citaremos el procedimiento de la Ingesta Diaria Admisible o Aceptable y un sistema probabilístico.

Ingesta Diaria Aceptable (IDA)

La población general está fundamentalmente expuesta a los compuestos tóxicos a través del alimento y el agua de bebida. La IDA se define como la ingesta diaria de un compuesto durante toda la vida, que parece no provocar riesgo apreciable de acuerdo con el conocimiento disponible en ese momento.

$$IDA = \text{NOAEL} / FS$$

Para calcular la IDA en humanos se evalúa el compuesto, se escoge el NOAEL del indicador de toxicidad más sensible y se divide por un factor de seguridad apropiado para la extrapolación a humanos (denominados según las diversas tendencias como factores de seguridad, de evaluación, factores de incertidumbre, de extrapolación, de ajuste, de conversión, etc.). Al extrapolar a la población humana los resultados experimentales en animales o los datos procedentes de un pequeño número de individuos, se presentan incerti-

dumbres difíciles de calcular, como son las debidas a variaciones intra e interespecies, del periodo de exposición, la naturaleza de los efectos adversos, la validez de los datos, etc. Por ello se ha propuesto aplicar unos factores de seguridad que van de uno a varios miles, que dividen la dosis experimental o los datos epidemiológicos. Cuando los datos se han obtenido con humanos, si el riesgo previsible no es muy grande y cuando la población presumiblemente expuesta tampoco lo es, se aceptan factores de 1 a 5. En los casos en que los datos procedan de animales, si el riesgo es grande y si se supone que va a estar expuesta la población general, se propone un factor de 1.000. Para los aditivos alimentarios no carcinógenos, se acepta dividir por 100 (10 por ser el hombre más sensible que los animales y nuevamente por 10, para cubrir la heterogeneidad del género humano) la dosis sin efecto adverso observable. En caso de no disponer de datos del NOAEL puede emplearse el LOAEL y un factor de seguridad diez veces mayor.

El mismo sistema de la IDA fue adaptado para contaminantes denominándola *ingesta diaria tolerada* (IDT). En 1988 la US EPA la aplica para contaminantes ambientales, pero empleando los términos *dosis de referencia* (RfD) y *factor de incertidumbre* (UF), para evitar emplear los términos «aceptable» y «segura», y la ATSDR denominándolos *niveles de riesgo mínimo* (MRL). En este último caso se emplean factores de seguridad mucho más pequeños basados en criterios científicos. También se han desarrollado otros procedimientos que introducen flexibilidad y juicios de expertos o que tratan de subdividir el factor de incertidumbre.

Métodos Probabilísticos: Benchmark Dose Level

Los métodos probabilísticos suponen una aproximación completamente diferente a la IDA. La Dosis Cota o *Benchmark Dose Level* (BMDL) (Slob y Pieters, 1998) es una aproximación probabilística completa, que permite comparar las diferentes incertidumbres implicadas en la evaluación del riesgo, incluyendo la incertidumbre de la estimación de la exposición, la incertidumbre del punto de inicio toxicológico, y la incertidumbre

de los factores de evaluación. El concepto de la dosis cota tiene en cuenta la información de la curva dosis-respuesta y las incertidumbres en la estimación del verdadero umbral experimental en el animal, dependiendo de la calidad del estudio. El BMDL se define como el límite inferior de confianza al 95 % de la *dosis de efecto crítico* (CED), como punto inicial para la extrapolación al hombre. A partir de ahí podrían aplicarse factores de seguridad.

Caracterización del riesgo de compuestos sin umbral

Se considera que cualquier dosis por pequeña que ésta sea de estos compuestos puede dar lugar a efectos tóxicos. Este grupo incluye a los cancerígenos genotóxicos o mutagénicos, que en la práctica constituyen la mayoría de los compuestos cancerígenos, pero también a otros compuestos como los inmunotóxicos. Están regulados de una forma mucho más rígida y cautelosa, asumiendo que una molécula puede dar lugar a una célula mutada, y esto a cáncer, por lo que no se regulan niveles seguros. Tiende a buscarse el nivel cero, o al menos, el menor técnicamente posible.

Una vez que de forma cualitativa se confirma que una sustancia es carcinógena o probable carcinógena en humanos, es preciso cuantificar el riesgo que supone su exposición. Desde 1970 se fueron desarrollando diversos modelos estadísticos o de distribución para extrapolar a dosis bajas en humanos los resultados obtenidos en los ensayos a largo plazo de carcinogenicidad en roedores. Entre los modelos de evaluación cuantitativa del riesgo desarrollados se incluyen los métodos probit, logit, Weibull, etc. La regla del peso corporal admite que los logaritmos de las variables o parámetros biológicos de los mamíferos muestran una regresión lineal con los logaritmos del peso corporal, lo que parece cumplirse también para los efectos producidos por los tóxicos (Krasovskij, 1976). El método probit produce curvas cóncavas con dosis bajas y es menos prudente que el modelo del impacto singular, aunque exige un límite superior de confiabilidad del 99 por 100, y una línea que, pasando por éste, tenga una pendiente 0 igual a 1, que supone 1 probit por cada amplitud 10 de dosis. El modelo del impacto sin-

gular presupone que cada efecto se debe a la acción de una unidad eficaz de dosis sobre un receptor singular; equivale al modelo lineal dosis-efecto. Para desarrollarlo se determina el límite superior de confiabilidad (LSC) del 99 por 100 para el efecto observado a una dosis dada (d), y se establece el límite deseado para el efecto (E), por ejemplo, 1 en 1.000.000 (es decir, que la exposición durante toda la vida a un compuesto sólo aumente los casos de cáncer en un individuo de cada millón). Entonces, la dosis D que produciría un efecto que, con probabilidad del 99 por 100, sea inferior a E viene dada por:

$$D = d \cdot E / \text{LSC}$$

También se desarrollaron modelos mecanicistas, como el de impacto singular, multiimpacto, modelos multietapa y su versión linealizada, y los estocásticos de dos etapas. En 1986 la EPA, se decantó por emplear el *modelo multietapa linealizado* (LMS) como opción preferente en la evaluación del riesgo (Lovell y Thomas, 1996). Asume que todos los carcinógenos actúan por un mecanismo común, y que cualquier carcinógeno incrementa esa parte del proceso en marcha.

El modelo multietapa linealizado se ha mostrado útil en diversos marcos reguladores. Consiste en ajustar el modelo multietapa como una ecuación

polinómica y, usando el componente lineal del polinomio, q1, llevar a cabo la extrapolación. El componente lineal es equivalente a la pendiente de la relación dosis-respuesta a dosis bajas. El mejor ajuste, o la pendiente de la estimación de máxima probabilidad (MLE), q1, o límite superior de confianza al 95 %, valores que son usados para la extrapolación de dosis bajas para obtener, la dosis asociada al incremento específico en el riesgo de 10^{-6} , generalmente denominada *dosis virtualmente segura* (VSD) (Lovell y Thomas, 1996). Expresado de forma más sencilla, a partir de la curva dosis-respuesta se calcula matemáticamente por el procedimiento adecuado el factor de riesgo q, por lo que

$$\text{Riesgo} = q \times \text{dosis de exposición} = \text{cánceres esperados} / \text{millón de personas expuestas durante toda la vida}$$

Caracterización del riesgo para el medio ambiente

La evaluación del riesgo ecológico (ERA) se ha separado recientemente como un área diferente en la evaluación del riesgo. Para evaluar los riesgos ecológicos es preciso entender que los ecosistemas sanos proporcionan recursos renovables y alimento, permiten el almacén de agua y su control, la

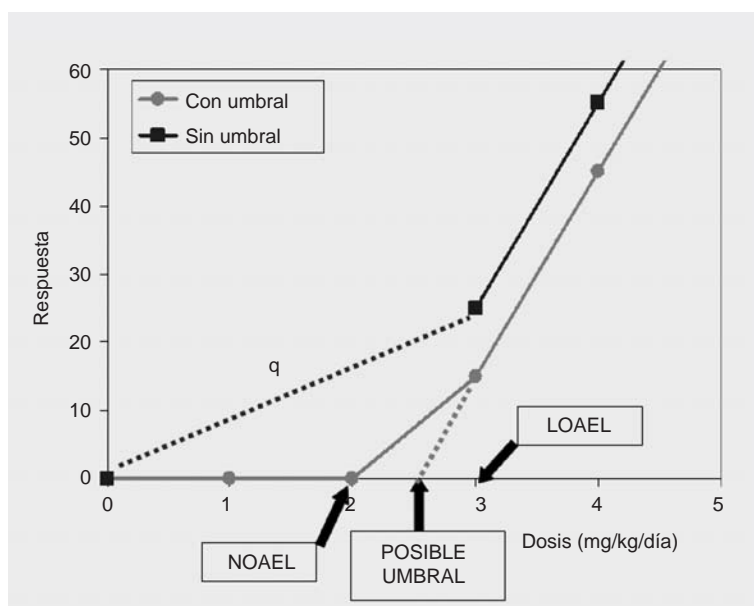


Figura 11.5. Relaciones dosis-respuesta en compuestos con y sin umbral.

biodegradación y retirada de contaminantes del agua y aire, el control de enfermedades y plagas, la moderación de climas extremos, etc.

Metodológicamente, la evaluación del riesgo ecológico se fundamenta en procedimientos estandarizados de análisis del impacto y monitorización ambiental. Se emplean ensayos con especies animales (peces, insectos), análisis geográficos por computador, y simulaciones computarizadas del ecosistema. Adicionalmente, el juicio experto juega un papel fundamental, ya que los ecosistemas son complejos y no permiten experimentos y modelados completos.

Para cada compartimiento ambiental, la caracterización del riesgo de compuestos con umbral lleva consigo, en la medida de lo posible, una comparación de la concentración ambiental prevista (*PEC*) con la *concentración prevista sin efecto (PNEC)*, para poder derivar el cociente *PEC/PNEC*. Si el cociente *PEC/PNEC* es menor o igual que la unidad, la caracterización del riesgo dará como resultado que, en ese momento, no se requieren más ensayos o datos aparte de los que ya se apliquen. Si el cociente es mayor que uno, se juzgará si se necesitan más datos o ensayos para aclarar la situación o si se han de tomar medidas para reducir el riesgo, basándose en la magnitud del cociente y en otros factores relevantes como, por ejemplo:

1. indicaciones del potencial de bioacumulación,
2. la forma de la curva toxicidad / tiempo en los ensayos de ecotoxicidad,
3. indicaciones de otros efectos adversos basados en los estudios de toxicidad, por ejemplo, la clasificación como mutágeno, tóxico y muy tóxico o como perjudicial con frase de riesgo R40 («Posibilidad de efectos irreversibles») o R48 («riesgo de efectos graves para la salud en caso de exposición prolongada»),
4. datos sobre sustancias de estructura análoga.

La gestión o el manejo del riesgo

Se trata del proceso de identificación, evaluación, selección, e implementación de acciones para reducir el riesgo para la salud humana y los ecosistemas. El objetivo es aplicar acciones integradas, con fundamento científico, y de un costo adecua-

do, que permitan reducir o prevenir los riesgos teniendo presente consideraciones sociales, económicas, culturales, éticas, políticas y legales. Es el proceso mediante el que la estimación del riesgo se integra con otra información para efectuar el balance entre los riesgos y beneficios y tomar decisiones sobre la necesidad de reducir el riesgo. Es una fase llevada a cabo por técnicos y/o políticos.

Consiste básicamente en autorizar o no la utilización del producto con una finalidad concreta, estableciendo niveles guía cuando son necesarios, es decir, limitando su uso a determinadas actividades. En caso de duda se aplica el principio de precaución con la finalidad de proteger las poblaciones. Ello es particularmente importante en el caso de las sustancias carcinógenas, mutágenas y tóxicas para la reproducción (CMR).

Es necesario tener en cuenta que un mismo compuesto puede absorberse por varias vías. Además, una vez establecido el límite global, como la IDA, es necesario distribuir los contenidos máximos de cada compuesto que se autoricen en cada alimento que lo contenga, teniendo en cuenta la proporción que cada alimento supone en la dieta, para que no se supere el total admisible.

Los niveles legislados para limitar la exposición se incluyen en normativas legales de obligado cumplimiento o se introducen como niveles de referencia en directrices recomendadas. Partiendo de la IDA (OMS), la *dosis de referencia* oral e inhalatoria (RfD, RfC, US EPA), los niveles mínimos de riesgo (MRL, ATSDR) y otras, se establecen los *límites máximos de residuos* (LMR, UE), la ingesta semanal tolerable provisional (PTWI, OMS) que se utilizan en plaguicidas y medicamentos veterinarios, la *ingesta diaria tolerable* y las *concentraciones máximas permisibles* (CMP) de contaminantes en alimentos o en aire, *valores guía en el agua*, la *ingesta diaria aceptable temporal* y los *niveles máximos de aditivos*, los diferentes tipos de *valores límites ambientales* (VLA) y los *valores límites indicativos* (UE) en la legislación laboral, las directrices de calidad del aire (OMS), etc.

Comunicación del riesgo

La comunicación del riesgo consiste en la interpretación y difusión de la evaluación y de las deci-

siones tomadas en relación con el riesgo de forma que sean comprensibles por el público en general o sin conocimientos especiales. No se trata sólo de información, sino de comunicación en los dos sentidos. Una buena estrategia de comunicación del riesgo debiera aceptar e involucrar al público como interlocutor legítimo, realizar una cuidadosa planificación y evaluación del esfuerzo necesario, escuchar las preocupaciones de la población, realizarse con honestidad, franqueza y apertura, coordinarse y colaborar con otras fuentes, satisfacer las necesidades del medio de comunicación, tener claridad, transparencia, razonamiento y consistencia

Control o seguimiento del riesgo

Una vez que se han tomado las decisiones, es preciso que las autoridades reguladoras se aseguren del cumplimiento de los cambios normativos adoptados, efectuando la monitorización o seguimiento del riesgo. Generalmente, se aplican programas de inspección en los puestos de trabajo, de los residuos emitidos al medio ambiente, de los residuos en agua potable o alimentos humanos o de animales, del control de la venta de sustancias, etc. Además, la única manera de confirmar la bondad de una predicción es realizar evaluaciones epidemiológicas transcurridos unos años tras la toma de medidas. Por ello es necesaria la toxicovigilancia o seguimiento del riesgo.

El sistema REACH

Como ya se ha indicado en el apartado de reglamentaciones, el Reglamento REACH (Directiva 1907/2006/CE) aporta diversas novedades de gran trascendencia en la evaluación y gestión de sustancias y preparados, entre las que destaca la transferencia a la industria de la obligación de garantizar que únicamente se fabrican, importan, comercializan o usan aquellas sustancias que no afectan negativamente a la salud humana o al medio ambiente.

La Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, con sede en Helsinki es la encargada de gestionar los aspectos técnicos, científicos y administrativos del sistema REACH y garantizar la coherencia de la toma de decisiones a escala

comunitaria. Esta Agencia también gestiona el mecanismo de registro y desempeña una función clave en el proceso de evaluación. Además, recibe las solicitudes de autorización y emite dictámenes y recomendaciones en el ámbito de los procedimientos de autorización y restricción.

Se espera que durante los once primeros años de aplicación del sistema REACH, se registren cerca de 30.000 sustancias ya comercializadas. Además, se prevé que aproximadamente un 80 % de las sustancias registradas no necesiten ningún trámite más.

Por lo tanto, para las sustancias o preparados peligrosos se contemplan las siguientes opciones:

1. *Registro*: el productor o importador presenta a las autoridades un expediente con la información exigida por la legislación para las sustancias producidas en más de 1 Tm/año (relevancia de la sustancia y uso de esos datos para su manipulación segura).

2. *Evaluación*: la autoridad del país examina detenidamente la información y decide caso por caso qué ensayos son necesarios, o establece la propia seguridad de la sustancia. Se aplica para sustancias producidas en cantidad mayor de 100 Tm/año y a aquellas sustancias preocupantes (sospecha de persistencia o de bioacumulación).

3. *Autorización*: previa para cualquier uso; se requiere para las sustancias extremadamente preocupantes:

- carcinogénicas, mutagénicas o tóxicas para la reproducción (CMRs) categoría 1 y 2,
- persistentes, bioacumulables y tóxicos o muy persistentes y muy bioacumulables (PBTs/mPmBs), e
- identificadas como causantes de efectos serios e irreversibles en humanos o el medio ambiente equivalentes a los anteriores, caso a caso, como disruptores endocrinos

4. *Restricción*: Aquellas sustancias, como tales o en forma de preparados o contenidas en artículos, respecto de las cuales haya una restricción en el anexo XVII, no se fabricarán, comercializarán ni usarán a menos que cumplan las condiciones de dicha restricción. La restricción se realiza si existe un riesgo inaceptable para la salud humana o el medio ambiente derivado de la fabricación, uso o comercialización de la sustancia y al que deba hacerse frente a escala comunitaria.

El sistema REACH presenta una serie de requerimientos como la clasificación y etiqueta-

do, la identificación de sustancias PBT y mPmB, la evaluación e informe de seguridad química y la determinación de la necesidad de medidas de gestión del riesgo. Todo ello pretende facilitar la comunicación de la información sobre los peligros de las sustancias y asegurar un alto nivel de protección de la salud humana y el medio ambiente, así como la libre circulación de sustancias en el mercado interno, favoreciendo la competitividad e innovación.

Como se recoge en la Tabla 11.22, el Reglamento establece los requisitos de información relativos a las propiedades fisicoquímicas y efectos toxicológicos y ecotoxicológicos de las sustancias. Esta información se encuentra tabulada en los anexos VII a X en función del rango de tonelaje que se aplique en cada solicitud de registro. Para las sustancias fabricadas en más de 10 toneladas al año, es preciso realizar la evaluación de la seguridad química con el objetivo de comprobar que los riesgos están controlados y si no es así, qué medidas de control de riesgo son necesarias para la protección de la salud humana o del medio ambiente. La realiza el fabricante o importador para todo uso identificado, o el usuario si el uso no ha sido identificado.

La *evaluación de la seguridad química* se realiza en una serie de etapas (Figura 11.6) que comprenden:

Evaluación de los peligros para la salud humana

Esta etapa pretende determinar para la sustancia su clasificación y etiquetado (Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE) y obtener el nivel determinado sin efecto (DNEL), introducido por el REACH. La metodología DNEL pretende armonizar la aproximación usada en la evaluación del riesgo ocupacional con la empleada para otros tipos de riesgos, como los medioambientales. El DNEL es el nivel máximo de exposición de las personas a una sustancia, por encima del cual no se debe producir exposición a las mismas.

Para obtener cada DNEL debe realizarse la identificación del NOAEL para los diferentes efectos (Tablas 11.13 y 11.15), la obtención del punto de inicio adecuado, la aplicación del factor de evaluación global y finalmente la selección del DNEL para la caracterización del riesgo. El procedimiento es muy similar al del cálculo de la



Figura 11.6. Evaluación de la seguridad química de acuerdo con el Reglamento REACH

IDA, ya que se parte del NOAEL, que se divide por el llamado factor de evaluación. El factor de evaluación individual se encuentra tabulado de acuerdo con los pasos necesarios en la extrapolación, entre especies y para tener en cuenta la variabilidad de los grupos humanos. El factor de evaluación global se obtiene por multiplicación de todos los factores individuales y se aplica directamente al N(L)OAEL:

$$\text{DNEL} = \text{N(L)OAEL} / (\text{FE1} \times \text{FE2} \times \dots \times \text{FE}_n) = \text{N(L)OAEL} / \text{FE Total (mg/kg/día, mg/m}^3\text{/día...)}$$

Sin embargo, no se trata de un valor único, sino que deben calcularse muy diversos DNELs, teniendo en cuenta las poblaciones expuestas (trabajadores, consumidores), las rutas de exposición, la duración y frecuencia de la exposición (largo o corto plazo), la exposición combinada por varias rutas y los efectos sistémicos y efectos locales.

Evaluación de los peligros por las propiedades físico químicas

Muy diversos efectos tóxicos provienen de forma directa de las características fisicoquímicas de las sustancias, por lo que se investigan las recogidas en la Tabla 11.19.

Evaluación de los peligros para el medio ambiente

Aplicando una sistemática similar a la empleada para la evaluación de los peligros humanos se efectúan ensayos en muy diversas especies de acuerdo con el tonelaje (Tabla 11.16).

Evaluación PBT o mPmB

Debido al tratamiento diferenciado que se aplica a las sustancias persistentes, bioacumulables y tóxicas, éstas deben identificarse adecuadamente, sobre todo aplicando procedimientos de investigación de la degradación y acumulación, incluidos en la Tabla 11.17.

Si como resultado de los estudios anteriores la sustancia resulta clasificada como peligrosa (Dir. 67/548 o 1999/45/CE) o PBT o mPmB, entonces

se prosigue a las fases siguientes. En caso contrario, se detiene la evaluación de la seguridad química.

Evaluación de la Exposición

Para el Reglamento REACH, la evaluación de la exposición es el elemento central del proceso de evaluación de la seguridad química. La evaluación de la exposición pretende estimar la exposición para todos los usos y todas las poblaciones mediante la elaboración de escenarios de exposición que permitan el cálculo de la exposición. Un escenario de exposición es el conjunto de condiciones que describen la manera en que se fabrica o usa una sustancia durante su ciclo de vida, y el modo en que el fabricante o importador controla o recomienda a los usuarios controlar la exposición de los humanos y el medio ambiente. Como novedad, los escenarios relevantes deben incluirse como un anexo en la ficha de datos de seguridad. La participación del usuario es de enorme valor en esta fase.

Caracterización del Riesgo

A continuación se realiza la caracterización del riesgo para cada posible escenario de exposición y para las poblaciones que pudieran estar expuestas, es decir, trabajadores, consumidores y personas expuestas indirectamente a través del medio ambiente. Básicamente se realiza dividiendo los niveles de exposición obtenidos en los escenarios de exposición entre los DNEL. Este proceso debe reiterarse y actualizarse conforme se producen cambios en sus factores. Se realiza calculando el Cociente de caracterización del Riesgo (RCR)

$$\text{RCR} = \text{Nivel de Exposición} / \text{DNEL}$$

Si la exposición es < DNEL, el riesgo estará controlado; si la exposición es > DNEL, el riesgo no estará controlado. Se realizará como un proceso reiterativo, actualizando las condiciones de exposición. Deben calcularse RCR para todas las variables consideradas, como ya se ha indicado en el cálculo del DNEL. En las evaluaciones ambientales se utiliza la misma sistemática, pero se aplican las concentraciones ambientales previstas.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson D, Conning DM. *Experimental toxicology*. 2^a ed. Cambridge: Royal Soc. Chem., 1993.
- ATSDR. *Evaluación de riesgos en salud por la exposición a residuos peligrosos*. Departamento de Salud Humana y Servicios de los EEUU. Agencia para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, CPEHS, México, 1995.
- Ballantyne B, Marrs T, Syversen T. *General and applied toxicology*, 2^a ed. New York: Stockton Press, 2000.
- Balls M. Are animal tests inherently valid? *Altern Lab Anim* 2004; 32, Suppl.1: 755-758.
- Balls M, Combes R. The OECD health effects test guidelines: a challenge to the sincerity of commitment to the three Rs. *Altern Lab Anim*. 2006; 34:105-8.
- Balls M, van Zeller AM, Halder ME. *Progress in the reduction, refinement and replacement of animal experimentation*. Amsterdam: Elsevier Science, 2000.
- Balls M, Blaauboer BJ, Fentem JH, Bruner L, Combes RD, Ekwall B *et al*. Practical aspects of the validation of toxicity tests procedures. The report and recommendations of ECVAM Workshop 5. *Altern Lab Anim* 1995; 23: 129-147.
- Barlow SM, Greig JB, Bridgesc JW, Carered A, Carpye AJM, Gallif CL *et al*. Hazard identification by methods of animal-based toxicology. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40: 145-191.
- Bendford D (2000) The acceptable daily uptake. A tool for ensuring food safety. *ILSI Europe Concise monograph Series*. ILSI Press. ILSI Europe, Brussels, <http://www.ilsio.org>
- Bhogal N, Grindon C, Combes R, Balls M Toxicity testing: creating a revolution based on new technologies. *Trends in Biotechnology* 2005; 23: 299-307.
- Bliss CI. The relationship between exposure, time, concentration and toxicity in experiments on insecticides. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1940, 33, 721-766.
- Bottrill K. The use of biomarkers as alternatives to current animal tests on food chemicals. *ATLA* 1998; 26: 421-480.
- CEE. *Technical guidance on risk assessment of existing substances*. Bruselas: CEE 1994.
- Combes R, Balls M. Intelligent testing strategies for chemicals testing – A case of more haste, less speed? *ATLA* 2005; 33: 289-297.
- Doull J, Rozman KK. Using Haber's law to define the margin of exposure. *Toxicology*, 2000, 149, 1-2.
- Dybing E, Doe J, Groten J, Kleiner J, O'Brien J, Renwick AG *et al*. Hazard characterisation of chemicals in food and diet: dose response, mechanisms and extrapolation issues. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40: 237-282.
- Eisenbrand G, Pool-Zobel B, Baker V, Balls M, Blaauboer BJ, Boobis A *et al*. Methods of in vitro toxicology. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40: 193-236.
- Ekwall B, Ekwall K. Comments on the use of diverse cell systems in toxicity testing. *ATLA* 1988; 15: 193-201.
- Ekwall, B, Ekwall, B, Sjöström, M. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part VIII. Multivariate partial least squares evaluation, including the selection of a battery of cell line tests with a good prediction of human acute lethal peak blood concentrations for 50 chemicals. *ATLA* 2000; 28, Suppl. 1: 201-234.
- Ekwall B, Clemenson C, Ekwall B, Ring P, Romert L. EDIT: a new international multi- centre programme to develop and evaluate batteries of in vitro tests for acute and chronic systemic toxicity. *ATLA* 1999; 27: 339-349.
- Fan AM and Chang LW *Toxicology and risk assessment*. New York: Marcel Dekker, 1996.
- Fariña J. La autopsia ecográfica. *Rev. Clin. Esp.*, 1996, 196, 49-51.
- Festing M.F.W. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments in papers submitted to *ATLA*. *ATLA* 2001; 29: 427-446.
- Festing MFW, Overend P, Gaines Das R, Cortina Borja M, Berdoy M. *The design of animal experiments: Reducing the use of animals in research through better experimental design*. London: Royal Society of Medicine Press Limited. 2002.
- Flury F, Wirth W. Zur Toxikologie der Lösungsmittel. *Archiv. Gewerkepath. Gewerbehyg.*, 1934, 5,1-90.
- Guarner F. El colon como órgano: habitat de la flora bacteriana. *Alim. Nutri. Salud.*, 2000, 7,4, 99-106
- Haber F. Zur Geschichte des Gaskrieges. En: *Fünf Vorträge aus den Jahren 1920-1923*. Verlag von Julius Springer. Berlin. 1924, 77-92.
- Hakkert BC, Stevenson H, Bos PMJ, van Hemmen JJ. *Methods for the establishment of health-based recommended occupational exposure limits for existing substances*. Zeist, The Netherlands, TNO Nutrition and Food Research, TNO Report, 1996: V96. 463.
- Halle, W, Goeres, E. *Register der zytotoxizität (IC50) in der zellkultur und möglichkeiten zur abschätzung der akuten toxizität (LD50)*. En: Oehme P, Loewe H, Goeres E, (eds.) *Beiträge zur Wirkstoffforschung*, Berlin: Institute für Wirkstoffforschung, 1988.
- Hayes W. *Principles and methods of toxicology*. 4^a Ed. Ann Arbor. New York: Taylor and Francis, 2001.
- Hayes WJ.jr. General principles: dosage and other factors influencing toxicity. En: *Toxicology of pesticides*. Baltimore, MD, 1975, 37-106.
- IPCS, *Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for healthbased exposure limits*. Geneva, Switzerland, International Programme on Chemical Safety, WHO/UNEP/ILO, Environ. Health Criteria 170, 1994.

- Jacobson-Kram D, Keller KA. *Toxicology testing handbook. Principles, applications, and data interpretation*. New York: Marcel Dekker, 2006.
- Klaassen C, Watkins JB. *Casarett y Doull Fundamentos de toxicología*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, 2005.
- Krasovskij GN. Extrapolation of experimental data from animal to man. *Environ Health Perspect*, 1976; 13:51-58.
- Kroes R. Pan-European research challenges in toxicology and epidemiology: twinning for the better. *Toxicol. Lett.* 2000; 112-113: 573-575.
- Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol*, 1983; 54:275-287.
- Maurice S. Food Safety in Europe (FOSIE): risk assessment of chemicals in food and diet: overall introduction. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40: 141-144.
- Miller FJ, Schlosser PM, Janszen DB. Haber's rule: a special case in a family of curves relating concentration and duration of exposure to a fixed level of response for a given endpoint. *Toxicology*, 2000, 149, 1-2.
- Neubert D. Risk assessment and preventive hazard minimization. Capítulo 51. En: Marquardt H, Schäfer SG, McClellan RO Welsch F (eds). *Toxicology*. San Diego, CA: Academic Press; 1999. 1153-1190.
- NRC. *Science and judgement*. National Research Council, National Academy of Sciences, Washington: National Academy of Sciences Press 1994.
- OCDE. *Lignes directrices pour les essais de Produits chimiques*. París: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, 1981-2006 <http://www.oecd.org/>
- OMS-PNUMA. *Principios y métodos para evaluar la toxicidad de las sustancias químicas*. Publicación núm. 402, 1980.
- Ostwald W, Dernoschek A. Ber die Beziehung zwischen Adsorption und Giftigkeit. *Kolloid-Zeitschr.*, 1910, 6 (6),297-307.
- Paine AJ. The design of toxicological studies. Chapter 11. En: Ballantyne-B, Marrs-T, Turner-P. (eds.) *General and applied toxicology*. New York: Stockton Press, 231-244, 1993.
- De la Peña de Torres E, Guadaño Larrauri A y Repetto Kuhn G. Métodos Alternativos y complementarios en Experimentación Animal. En: Perez García CC, Díez Prieto MI, García Partida (eds.). *Introducción a la experimentación y protección animal*, León: Universidad de León, 159-167, 1998.
- Perez García CC, Díez Prieto MI, García Partida. *Introducción a la experimentación y protección animal*, León: Universidad de León, 159-167, 1998.
- Repetto M. Ética de la experimentación animal. *Revista de Toxicología* 1989; 6(2):185-193.
- Repetto M. Determinación experimental de la toxicidad. *Revista de Toxicología* 1984; 1(2): 77-96.
- Repetto G. Recientes avances en la validación y aceptación de métodos alternativos *in vivo e in vitro*. *Revista de Toxicología* 1995; 12: 3-9.
- Repetto G, Repetto M. Métodos alternativos: estudios toxicológicos *in vitro*. En: Repetto M, (ed.). *Toxicología avanzada*. Madrid, Editorial Diaz de Santos, 37-59, 1995.
- Repetto G, del Peso A, Salguero M, Repetto M. Inventory of the Spanish Institutions and Scientists Involved in Alternatives to the use of Laboratory Animals (Refinement, Reduction or Replacement) *Revista de Toxicología* 1999; 16: 50-127, <http://www.aetox.com>
- Repetto G, de la Peña E, Jos A, del Peso A, Utilización práctica de recursos informáticos en la aplicación de las 3Rs: Consulta bibliográfica y uso de bases de datos. En: Castaño A. Curso-Taller de reducción, refinamiento y reemplazo de animales en investigación, desarrollo y docencia». Córdoba: Red Española de Métodos Alternativos- REMA, 2007 <http://www.remanet.net>
- Repetto M y Sanz P *Glosario de términos toxicológicos*. IUPAC (Duffus *et al.*, 1993). Versión Española Ampliada. Sevilla: AET. 100 pp, 1995, [http:// buscattox.com](http://buscattox.com)
- Repetto G, Gotelli C, del Peso A y Gascó P. Tendencias en Evaluación del Riesgo Tóxico. Módulo 12. En M. Repetto (ed.) *Postgrado de Toxicología*. Ilustre Colegio Oficial de Químicos. Sevilla. CD-ROM. 2008.
- Repetto G. *et al.* Evaluación Toxicológica y de riesgos específicos; En: M. Repetto (ed.). *Postgrado de Toxicología*. Ilustre Colegio Oficial de Químicos. Sevilla. CD-ROM. 2008
- Repetto, G, A del Peso, A Jos. Ecotoxicological characterization of complex mixtures. Capítulo 14. En: C Mothersill y B Austin (eds.). *In vitro methods in aquatic toxicology*. Chichester: Springer Praxis, 295-326, 2003.
- Repetto M. Metodología de la investigación toxicológica. En: Repetto M, (ed.). *Toxicología avanzada*. Madrid: Editorial Diaz de Santos, 1-36, 1995.
- Ríos JC, Repetto G, Jos A, del Peso A, Salguero M, Cameán A, Repetto M. Tribromophenol induces the differentiation of SH-SY5Y human neuroblastoma cells *in vitro*. *Toxicology in vitro* 2003; 17: 635-641.
- RIVM. *Uniform system for evaluation of substances*. The Netherlands: National Institute of Public Health and Environmental Protection, 1994.
- Rhodes C. Principles of testing for acute toxic effects. En: Ballantyne B, Marrs T, Syversen T. *General and applied toxicology* 2ª ed. Vol.1. London: Macmillan Reference, 33-54, 2000.
- Rodricks JV, Rieth SH. Toxicological risk assessment in the courtroom: are available methodologies suitable

- for evaluating toxic tort and product liability claims? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1998; 27: 21-31.
- Rozman KK. The role of time in toxicology or Haber's *c x t* product. *Toxicology*, 2000, 149, 35-42.
- Russel WMS, Burch RL. *The principles of human experimentation techniques*. London: Methuen, 1959.
- Salem H y Katz SA. *Alternative toxicological methods*. Boca Raton: CRC Press, 2003.
- Sanz P, Rodríguez-Vicente MC, Villar P, Repetto M. Uncontrollable atmospheric conditions which can affect animal experimentation. *Veter and Hum Toxicol* 1988;
- SCF. *Guidance on Submissions For Food Additive Evaluations by the Scientific Committee on Food*. Brussels: European Commission SCF/CS/ADD/GEN/26 Final, 2001.
- Slob W, Pieters M N. A probabilistic approach for deriving acceptable human intake limits and human risks from toxicological studies: general framework, *Risk Anal*, 1998; 18: 787-798.
- SOT. Risk Assessment: What's It All About? US Society of Toxicology, Communiqué Newsletter, Special Issue 2000: 4-5, 2000.
- Sword IP, Thomson R. *Standard Operating Procedures in vitro Toxicology*. Lancaster: MTP Press, 1980.
- Trevañ JW. The error of determination of toxicity. *Proc Royal Soc*, 1927; 101B: 483-514.
- UE Reglamento (CE) n° 440/2008 de la Comisión, de 30 de mayo de 2008, por el que se establecen métodos de ensayo de acuerdo con el Reglamento (CE) n° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH) DO L 142 de 31.5.2008, p. 1/739
- UE Comisión Europea. Libro Blanco sobre la Estrategia para la Futura Política en Materia de Sustancias y Preparados Químicos. Bruselas, 27.2.2001 COM(2001) 88 final <http://www.europa.eu.int/comm/environment/chemicals/whitepaper.htm> 2001.
- UE Parlamento Europeo. *Reglamento (CE) n° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) n° 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) n° 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión*. Diario Oficial de la Unión Europea L 396 de 30 de diciembre de 2006, 3-280
- UE Parlamento Europeo. *Directiva 2006/121/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, por la que se modifica la Directiva 67/548/CEE del Consejo, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, embalaje y etiquetado de las sustancias peligrosas, para adaptarla al Reglamento (CE) n° 1907/2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), y por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos*. Diario Oficial de la Unión Europea L 396 de 30 de diciembre de 2006, 281-282.
- Vermeire T, Stevenson H, Pieters MN, Rennen M, Slob W, Hakkert BC. Assessment factors for human health risk assessment: a discussion paper. *Critical Reviews in Toxicology* 1999; 29: 439-490.
- Warren E. On the reaction of *Daphnia magna* to certain changes in its environment. *Quart. J. Microsc. Sci.*, 1900, 43, 199-224.
- Witschi H. Some notes on the history of Haber's law. *Toxicology*, 1999, 50, 164-168.
- Williams, P L, James RC, Roberts SM. *Principles of toxicology. Environmental and industrial applications*. 2ª ed. New York: John Wiley & Sons. Inc., 2000.
- Woodward KN. Hazard identification, risk assessment, regulation and legislation. En: Niesink RJM, de Vries J, Hollinger MA (eds.) *Toxicology: Principles and applications*. Boca Ratón: CRC Press, 415-443, 1996.
- Worth AP, Balls M. Alternative (non-animal) methods for chemical testing: current status and future prospects. *ATLA* 2002; 30 Supp 1: 1-125.
- Zeiger E. Strategies and philosophies of genotoxicity testing. What is the question? *Mutation Research* 1994; 304: 309-314.
- Zúñiga JM, Orellana JM, Tur JA. *Ciencia y tecnología del animal de laboratorio*. Alcalá de Henares, Universidad de Alcalá Ed. 2008.

El advenimiento de la era tecnológica ha permitido la proliferación de los productos químicos. Se calcula que en la actualidad existen más de treinta y cinco millones de sustancias, la mayoría de carácter orgánico. Unas cien cincuenta mil sustancias se encuentran comercializadas en forma de preparados y reactivos químicos, medicamentos, productos de uso agrícola, plaguicidas, biocidas, productos de limpieza, etc. La producción mundial de sustancias y preparados es de cuatrocientos millones de toneladas. Unas diez mil sustancias se comercializan en cantidades superiores a diez toneladas y unas veinte mil en cantidades comprendidas entre una y diez toneladas. La falta de información toxicológica sobre la mayoría de las sustancias ha motivado la puesta en marcha de programas internacionales para su correcta evaluación, como se ha comentado en el Capítulo 11.

La proximidad entre estos productos y el hombre hace que, en la actualidad, las intoxicaciones no sean fenómenos raros, aislados, de tipo criminal, sino algo cotidiano, consecuente a la contaminación del medio urbano y de los recintos industriales, de las aguas, de los alimentos, del uso y mal uso de los medicamentos, de los plaguicidas, de los productos de limpieza, etc. Como exigencia del creciente número de intoxicaciones se ha desarrollado una rama de la toxicología, la Toxicología clínica, cuyo objetivo no consiste solamente en proporcionar la mejor asistencia terapéutica, sino también en promover campañas y actividades de prevención de las intoxicaciones.

Podemos definir a la Toxicología clínica como la *disciplina que se ocupa de la prevención, el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de las intoxicaciones en el hombre y los animales*; queremos insistir en este extremo porque consideramos tan interesante la toxicología humana como la veterinaria.

Como afirma el toxicólogo mexicano Óscar Torres (1995), el toxicólogo clínico debe saber utilizar los recursos de otras ramas de la medicina y de la toxicología. De acuerdo con Vale (1992), además de capacitación clínica, ha de poseer los conocimientos toxicocinéticos y bioquímicos necesarios para establecer estrategias terapéuticas basadas en los mecanismos de toxicidad; además debe ser capaz de interpretar los hallazgos patológicos, incluidos los forenses. Debe, también, conocer las limitaciones de los métodos analíticos y de los servicios de información toxicológica.

La mayor parte de estos profesionales trabajan o proceden de servicios de urgencias o de cuidados intensivos, y se han formado en Toxicología de forma autodidacta (frecuentemente luchando contra esquemas preestablecidos), con entrenamiento en medicina interna y, en el mejor de los casos, con alguna especialización en Toxicología, pero normalmente sin una formación académicamente programada.

Una cuestión que ha sido objeto de amplios debates es si los estudios de Toxicología clínica deben ser materia de pregrado o de postgrado; entendemos que cualquier médico o veterinario debe poseer una información mínima sobre las

intoxicaciones, que tendrá que obtenerla durante la licenciatura, independientemente de que existan especialidades para postgraduados.

Como hemos visto en el Capítulo 1, la enseñanza de la Toxicología en las facultades de Medicina y Veterinaria ha tenido una orientación legal que le resta perspectivas; los nuevos planes de estudio en España están cambiando la situación pues en algunas facultades se ha comenzado a impartir Toxicología en varias asignaturas (patologías médicas, medicina preventiva, junto a enfermedades infecciosas, medicina de urgencias, etc.), e incluso en algunas Universidades hay una asignatura de Toxicología clínica.

Sin embargo, aún queda por reconocerse en España y en muchos países una especialidad profesional de Toxicología clínica, como existe en otras naciones. En la actualidad, tan sólo cinco hospitales españoles cuentan con un servicio específico para la atención de intoxicados agudos como Unidades de Toxicología Clínica; son los siguientes: Clínico de Barcelona, Clínico de Zaragoza, Clínico de Valencia, Río Ortega de Valladolid y Son Dureta de Palma de Mallorca.

Aunque el intoxicado es un enfermo, su patología no es habitual, y el tratamiento exige unos conocimientos poco comunes sobre la fisiopatología producida por cada tóxico, su metabolismo, sus posibles antagonistas, las posibilidades de incrementar su excreción o inactivación, las secuelas que pueda dejar, etcétera.

CENTROS ANTITÓXICOS

La dificultad de tener acceso a este caudal de conocimientos dio origen a la creación de los Centros de Lucha contra las Intoxicaciones o Centros Antitóxicos (CAT). Un centro ideal de esta naturaleza debe contar con tres servicios diferentes (Figura 12.1).

- Servicio de información y asesoramiento.
- Servicio de análisis.
- Servicio de tratamiento.

Servicio de información y asesoramiento toxicológico (SIT o CIT)

Su misión es la de proporcionar, por medio del teléfono, correo o personalmente, la mayor información posible que contribuya al diagnóstico y tratamiento de una intoxicación. Es decir, no aplican tratamiento a los intoxicados, sino que informan y asesoran. Para ello deben poseer una surtida biblioteca, bancos de datos y ficheros especializados que permitan la rápida y segura adquisición de los datos; aunque los facultativos que lo atienden no deben informar de memoria, tampoco deben limitarse a leer las fichas respectivas, sino que han de gozar de sólida formación en la materia, para proporcionar una contestación rápida que integre los conocimientos teóricos, experiencias anteriores, datos epidemiológicos, etc. Los solicitantes de la información pueden ser médicos privados o de centros sanitarios, otros profesionales sanitarios (veterinarios, farmacéuticos, químicos, etc.) o el público y, lógicamente, la forma y orientación de la respuesta estarán condicionadas por la naturaleza del consultante, en el sentido de obtener mejor aprovechamiento y evitar interpretaciones erróneas (Tablas 12.1 a 12.9).

Tabla 12.1.

SERVICIO DE INFORMACIÓN (SIT)

Biblioteca especializada
Hemeroteca especializada
Separatas
Resúmenes
Microfilms
Bases de datos informatizados
Conexión «on line» con otras bases

FICHEROS

Respuestas

Recuperación información
Relación intercentros

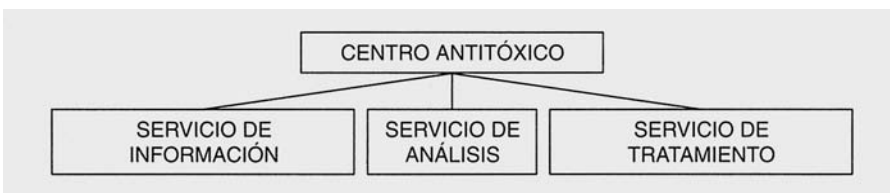


Figura 12.1.

Tabla 12.2.

FICHEROS TOXICOLÓGICOS

1. De productos comerciales { Medicamentos
Fitosanitarios
Industriales
Domésticos
2. De principios activos o sustancias químicas básicas
3. Colecciones de Muestras
4. Sintomatológico
5. Información Recuperada: Casuística

Tabla 12.3.

Fichero de: SUSTANCIAS QUÍMICAS*Principios activos*

Clasificación por:

Nombre químico
Familia química

Contenido:

Estructura (fórmula)
Sinónimos
Nombres comerciales
Usos

Toxicología:

Dosis
MAC, TLV, ICA
Vías de absorción principales
Mecanismos fisiopatológicos
Sintomatología: Aguda - Crónica

*Complicaciones**Secuelas**Sinergias**Antagonismos**Tratamiento:*

Etiológico
Sintomático

Análisis:

Muestras
Técnicas
Cifras (concentraciones de referencia)

Tabla 12.4.

Fichero de: PRODUCTOS COMERCIALES

Clasificación por:

Nombres
Usos
Marcas
Aspecto

Contiene:

Composición
Presentación
Tipo
Forma
Dimensiones
Color

Núm. y cantidad por envase

Fabricante

Dirección

Teléfono

Remite a:

Sustancias más tóxicas

Tabla 12.5.

COLECCIÓN DE MUESTRAS

Clasificación por:

Grageas
Cápsulas
Comprimidos
Productos caseros
Insecticidas
Envases
Herbolarios

Contiene:

Nombre
Nombre comercial
Marca

Tabla 12.6.

Fichero: SINTOMATOLÓGICO

Clasificación por:

Síntomas principales

Contiene:

Tóxicos productores

Tabla 12.7.

Fichero de: INFORMACIÓN RECUPERADA
Clasificación por: Nombre químico
Contiene: Información de casos Circunstancias Tratamiento Evolución Análisis

Tabla 12.8.

SERVICIO DE ANÁLISIS
Diagnóstico Confirmación Evolución del tratamiento Investigación: De técnicas analíticas Metabólica y farmacológica

Tabla 12.9.

SERVICIO DE TRATAMIENTO
De intoxicación aguda: urgencias, cuidados intensivos De intoxicación crónica De toxicodependientes
Conexión con servicios de: Información Análisis Psiquiatría

Según J. Haynes, director del SIT de Texas (1995), el 72 por 100 de las presuntas intoxicaciones se pueden solucionar por teléfono, lo que supone un gran ahorro para los centros clínicos.

Como escribió Proudfoot (1985), la organización, el horario de funcionamiento y la pericia varían considerablemente de un servicio a otro, por múltiples razones, y «si se quiere obtener el máximo beneficio de una consulta, es importante conocer sus limitaciones», además de preguntar correctamente. También el consultante debe ser consciente de que la información disponible puede ser escasa, y paciente mientras que el informador busca y ordena la información o bien termina de evacuar otra consulta anterior.

Servicio de análisis toxicológico

Su misión es la de efectuar el diagnóstico analítico de una intoxicación, localizando el tóxico en la sangre, orina o contenido gástrico del enfermo, o en productos, alimentos o gases que haya podido absorber. Inicialmente, en beneficio de la rapidez, para permitir precozmente una terapéutica apropiada, suele ser suficiente la identificación del tóxico, posteriormente, y sobre todo, para controlar la eficacia terapéutica y el curso de la desintoxicación, puede ser necesaria la determinación cuantitativa del tóxico en sangre y orina del intoxicado en forma periódica (Tabla 12.8).

Acerca de la importancia de los análisis clínico-toxicológicos nos dice mucho el que, según estadísticas recientes, en el 80 % de los casos de presunta intoxicación suele ser suficiente la valoración del clínico basada en la información transmitida por el paciente o familiares, la anamnesis y el cuadro clínico, pero en el 55 % de las intoxicaciones hay discrepancias entre esa información y el resultado de un análisis toxicológico correcto.

Los laboratorios normales de análisis químicos o clínicos son, en general, insuficientes para efectuar la investigación de la mayoría de los tóxicos en las muestras biológicas, porque para ello se requiere, cada vez con mayor exigencia, debido a la proliferación de los productos químicos, instrumentación muy costosa y delicada y personal extraordinariamente capacitado. Esto hace difícil la instalación y muy costoso el mantenimiento de un laboratorio de toxicología, con la agravante de que algunos centros que podrían resolver determinados problemas analíticos prefieren inhibirse por las repercusiones oficiales que suelen tener los casos de intoxicación.

Por todas estas razones se hace precisa la existencia de unos centros de análisis toxicológicos de ámbito regional, que disminuyan costos centralizando gastos y extremen la capacitación con máxima dedicación y especialización de su personal. Parece recomendable la existencia de redes de laboratorios de tres categorías de complejidad: unos de primer nivel, en centros sanitarios, capacitados para análisis elementales; un segundo nivel de laboratorios en departamentos universitarios e instituciones, especializados en determinados tipos de análisis (metales, plaguicidas, alimentos, etc.); y en el tercer nivel, los centros regionales, que actuarán como tutelares y de referencia (véase Tabla 14.1).

Servicio de tratamiento de intoxicados

Puede presentar tres versiones: tratamiento de intoxicados agudos, de intoxicados crónicos y de toxicodependientes; cada una de estas modalidades posee características propias, que hacen que, en la práctica, a veces funcionen por separado, en departamentos clínicos preexistentes (Tabla 12.9).

De todas formas, la mayor funcionalidad de cualquiera de ellas se produce cuando actúan en íntima conexión con servicios de información y análisis. Además, en todos los casos en que existiera voluntariedad en la intoxicación (suicidio, adicción o dependencia, intoxicaciones por negligencia), una vez que se logra la recuperación orgánica del enfermo, debe ser enviado a un departamento de psiquiatría para continuar la terapéutica.

El tratamiento de los intoxicados debe enfocarse en consonancia con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que define la calidad asistencial en cuanto es capaz de garantizar que todo paciente reciba el conjunto de servicios diagnósticos, terapéuticos y cuidados más adecuados. Por esta razón la Sección de Toxicología clínica de la Asociación Española de Toxicología ha elaborado un extenso documento, titulado Calitox-06, con 24 indicadores de calidad para evaluar la calidad de la asistencia urgente a intoxicados agudos por los Servicios hospitalarios de urgencias, que tiene en consideración tres grupos de indicadores, integrados por:

- a. existencia de protocolos de tratamientos específicos para determinados tóxicos
- b. disponibilidad de antidotos
- c. disponibilidades analíticas toxicológicas en el centro.

Si bien la coexistencia de los tres servicios citados configura un CAT ideal, las dificultades materiales y de personal especializado hacen que, en la mayoría de los países, los servicios estén apoyados en diferentes instituciones. Así, los servicios de tratamiento suelen ubicarse en determinados hospitales o clínicas de los núcleos de población importantes, mientras los servicios de información y los de análisis dependen de organismos judiciales, universitarios o sanitarios, y suele existir uno por región. En la actualidad se estima (OMS) que debe haber un CAT completo, o por lo menos un Servicio de Información Toxicológica, por cada 5

millones de habitantes, y preferiblemente deben tener ámbito y enfoque regionales, para atender específicamente las características económicas, industriales, agrícolas, hábitos medicamentosos, etc., de la zona, y muy particularmente la diferente toxicidad de la fauna y flora locales.

COORDINACIÓN INTERCENTROS

El primer centro antitóxico (CAT) del mundo fue organizado en 1953, en Chicago, por la Academia de Pediatría del Estado de Illinois. El éxito de este centro queda reflejado en el hecho de que durante los años de 1980 en los EE UU llegaron a funcionar unos 600 ya que muchos hospitales querían tener su propio servicio de información, la mayoría de ellos relacionados entre sí por la «National Clearinghouse for Poison Control Centres» (División de Control de Tóxicos de la Administración de Alimentos y Drogas del Ministerio de la Salud), y la Asociación Norteamericana de CAT. Pronto aparecieron centros de información en Europa; en París, en el Hospital Fernand Widal; en Zurich, subvencionado por la industria farmacéutica en la Facultad de Medicina... Hoy hay en Francia 15 CAT, en las ciudades más importantes; 17 en Alemania, 7 en Italia, 5 en Gran Bretaña, 3 en Bélgica, etcétera.

El primer servicio de información toxicológica por teléfono que comenzó a funcionar en España es el del Instituto Nacional de Toxicología de Madrid, que lo hizo en 1971. Los de Sevilla y Barcelona se iniciaron en 1990.

Sin embargo, se vio pronto que la proliferación de SIT no era paralela a su buen funcionamiento, y la Asociación Americana de Centros de Control de Tóxicos (AAPCC) estableció unos criterios para asegurar la calidad y conceder la acreditación; como consecuencia, los citados 600 servicios bajaron en 1999 a 79 de los que 61 estaban certificados por la AAPCC (Lugo y Haynes, 2006). Se había impuesto un planteamiento de futuro basado en la calidad, con la implantación de unos principios y unos requisitos para la aplicación de criterios cuantificables y no-cuantificables así como indicadores que permitan aproximarse hacia la llamada *calidad total* (Repetto, 2006). Por su parte, la Asociación europea de centros de toxicología clínica ha elaborado unos estándares de calidad con 43 indicadores para evaluar el funcionamiento de los servicios de información.

En la actualidad existen tres asociaciones continentales de CAT: la europea, la norteamericana y la suramericana, reunidas en una Federación Mundial de Asociaciones, integrada en la Organización Mundial de la Salud, y mediante congresos, publicaciones y relaciones directas contribuye activamente a la lucha contra las intoxicaciones.

Otras dos misiones de los CAT son las de investigación epidemiológica y prevención.

La interconexión entre los CAT estimula la investigación dirigida a la resolución de los numerosos problemas toxicológicos, a todos los niveles, que quedan por conocer.

Por otra parte, los CAT de todos los países hacen una meritoria labor preventiva, mediante publicaciones y actos de divulgación, sobre los riesgos inherentes al uso de los productos tóxicos, incluidos los productos industriales, domésticos y medicamentos. En algunos países se organizan a tal fin, con participación de diferentes estamentos sanitarios, campañas denominadas «Semana antitóxicos» o «Día del tóxico». En España es muy meritoria y digna de destacar la labor que realiza el Grupo Inter-Ucis de Toxicología Aguda, de Barcelona (GITAB), creado en 1980 para el intercambio de conocimientos y apoyo mutuo en la mejora de la calidad de asistencia al intoxicado e implantación de la Toxicología clínica como especialidad.

Farmacovigilancia y Toxicovigilancia

Tanto los CAT, como las grandes instituciones sanitarias, o bien los organismos de Sanidad, se han interesado en la *farmacovigilancia* y la *toxicovigilancia*. Esta función consiste en la recogida de cuantos datos pueda tenerse noticia sobre interacciones medicamentosas y reacciones anómalas o adversas de todo tipo. Se pretende así obtener el mayor número de datos epidemiológicos y efectuar estudios retrospectivos que incrementen los conocimientos en estas materias y aplicarlos a la prevención. Otra interesante misión de los servicios de farmacovigilancia es la detección de los casos de abuso y mal uso de los medicamentos, dentro y fuera de las instituciones hospitalarias.

En la Unión Europea, las normativas sobre la farmacovigilancia parten de la Directiva 1975/319/CEE, modificada por la Directiva 2000/38/CE; en España, figura en la Ley del Medicamento

(1990), se crea por el Real Decreto 2000/1995 y ha sido actualizada por el R.D. 711/2002.

Según éste, el *Sistema Español de Farmacovigilancia* posee una estructura descentralizada, que integra las actividades que se realizan para recoger y elaborar información sobre reacciones adversas a los medicamentos. Está coordinado por el Ministerio de Sanidad y Consumo a través de la Agencia Española del Medicamento. Su objetivo es la identificación, cuantificación, evaluación y prevención de los riesgos asociados al uso de medicamentos, como una forma de velar por la salud pública.

Consiste en mantener una vigilancia permanente sobre la seguridad de los medicamentos, particularmente para el descubrimiento de la aparición de una *reacción adversa*. Se define ésta como *cualquier respuesta nociva no intencionada, que tenga lugar tras la absorción de dosis habituales de un medicamento*. La reacción se califica como *grave* cuando ocasione la muerte, exija hospitalización, origine discapacidad o produzca anomalías congénitas o de nacimiento, muy especialmente cuando se desconocía que el medicamento fuese capaz de producirlas (*reacción adversa inesperada*).

Un importante objetivo de la farmacovigilancia es establecer alguna relación entre las reacciones adversas y condiciones o circunstancias de la administración del medicamento (por ejemplo, absorción concomitante de otros medicamentos o productos químicos) o patologías presentes en el sujeto (insuficiencia hepática o renal, que prolonguen la vida media del producto, etc.).

Las fuentes de donde se obtiene la información son:

a) Notificación espontánea efectuada por profesionales sanitarios sobre casos individuales de sospechas de reacciones adversas. Se realiza mediante un formulario conocido como *tarjeta amarilla*.

b) Estudios preclínicos y clínicos con el medicamento.

c) Estudios realizados durante la comercialización del producto.

d) Bases de datos sanitarias.

e) Publicaciones médicas y farmacéuticas.

f) Datos relacionados con la fabricación, conservación, distribución, venta, dispensación y hábitos de prescripción, utilización y administración del producto.

g) Datos relacionados con posibles usos incorrectos o abusos.

h) Cualquier otro tipo de información.

Los profesionales sanitarios (médicos, farmacéuticos, enfermeros o cualquier otro) que tengan conocimiento de cualquier sospecha de reacción adversa tienen la obligación de notificarla a la autoridad competente, mediante el formulario de recogida de tales sospechas (*tarjeta amarilla*), así como de conservar toda la documentación clínica relacionada, para poder efectuar o completar el seguimiento, y de colaborar con los responsables y organismos pertinentes. Muchas reacciones adversas se descubren como consecuencia de consultas a los centros de información toxicológica.

Por su parte, los laboratorios y las entidades que comercializan los medicamentos tienen también que cumplir una serie de requisitos y actuaciones para colaborar con el sistema de farmacovigilancia, cuyo incumplimiento puede conducir a la anulación de la autorización para la comercialización del producto sospechoso.

Los hallazgos se comunican a bancos de datos nacionales e internacionales, a la Agencia Europea del Medicamento y a los fabricantes

La *toxicovigilancia*, término creado en 1978 en una reunión conjunta de la OMS y la Federación Mundial de Asociaciones de CAT, es, por definición, la protección de una población en cuanto a los riesgos tóxicos a que está expuesta.

Según L. Roche, tal acción necesita de la colaboración estrecha de diferentes equipos:

- Terapeutas (clínicos).
- Servicios de información.
- Analistas.
- Psicosociólogos (las 4/5 de las intoxicaciones agudas son debidas a trastornos del comportamiento: suicidios, toxicodependencias, abortos, etc.).

Lógicamente, una organización así debe conectar estrechamente a:

- Servicios hospitalarios, especialmente pediátricos.
- Servicios de urgencia y reanimación.
- Servicios de medicina del trabajo.
- Servicios de medicina legal.

Aunque menos organizados que los servicios de farmacovigilancia, los de toxicovigilancia funcionan de forma paralela; sus funciones son las de *vigilancia epidemiológica de las intoxicaciones agudas*, incluyendo su previsión, prevención, detección, diagnóstico y tratamiento (Ferrer, 2002); su objetivo es la detección y evaluación de las intoxicaciones. Frecuentemente las sospechas y actuaciones se inician en los centros de información toxicológica, en los de asistencia primaria y en los Servicios de Urgencia de la Red Hospitalaria, quienes inmediatamente alertan a las autoridades sanitarias y, de forma voluntaria informan sobre el producto causante, los daños originados, las circunstancias y la evolución del paciente; uno de los logros de la toxicovigilancia es la rápida detección y comunicación a las autoridades, de intoxicaciones producidas por la contaminación ambiental o la introducción al mercado de productos contaminados o adulterados y de variedades vegetales tóxicas, a veces importados ilegalmente de otros países. En España los servicios de toxicovigilancia están coordinados por la Sección de Toxicología Clínica de la Asociación Española de Toxicología.

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS INTOXICACIONES

Una importante función de los centros de información toxicológica es la prospección epidemiológica de las intoxicaciones, que aunque, no sea una misión exclusiva de los mismos (también juegan un gran papel otras entidades, como asociaciones profesionales, etc.), permite el aprovechamiento de los datos recopilados, pues de ellos pueden extraerse valiosos conocimientos para orientar el desarrollo de la Toxicología clínica y para las actuaciones de carácter preventivo y legislativo.

Así ha sido reiteradamente reconocido por la Unión Europea, como en la Declaración 86/138/CEE acerca de «Actuaciones sobre Prevención y Tratamiento de Intoxicaciones Agudas Humanas» y en la Resolución 90/C 329/03 sobre «Recogida de datos de intoxicaciones. Elaboración de informes normalizados».

Ciertamente hay publicadas revisiones desde los años cincuenta, pero cada autor había utilizado distintos parámetros y obtenido proporciones rela-

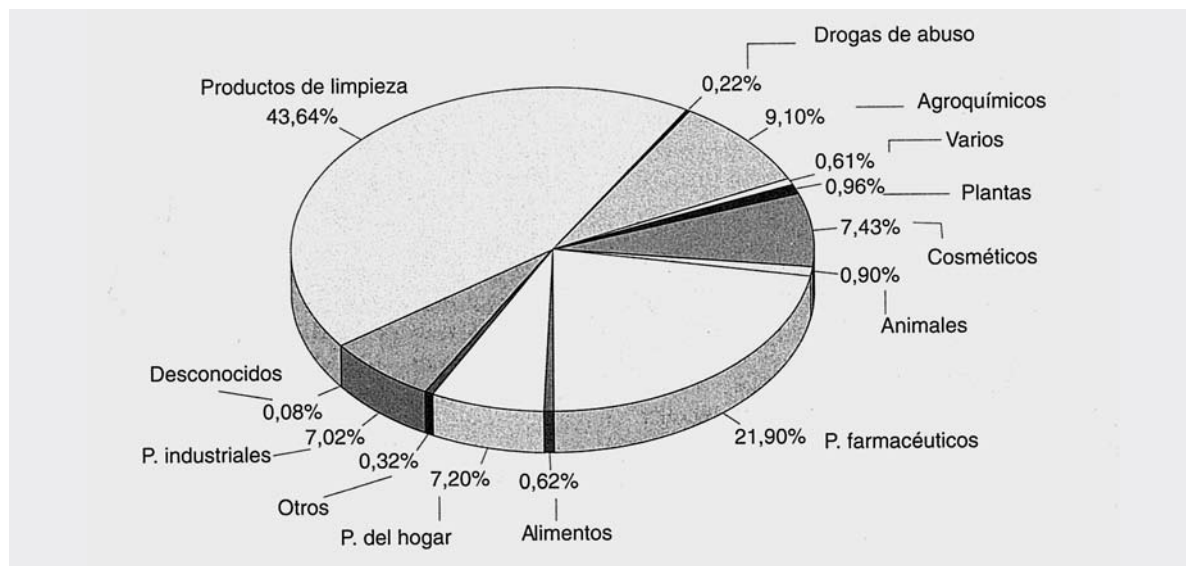


Figura 12.3. Productos que motivaron consultas toxicológicas en España. 1994.

En 2005 el número de consultas se aproximó a 150.000

Fuente: Memoria Instituto Nacional de Toxicología. Madrid.

tivas a diferentes factores o circunstancias, por lo que los resultados son difícilmente comparables y no permiten deducir las tendencias.

La recopilación de los datos se realiza a partir de dos tipos de fuentes: centros hospitalarios y servicios de información.

Los primeros contabilizan el número de ingresos por causa tóxica y calculan su proporción frente al total de urgencias en el centro o al número de personas (población) que, se supone, el centro sirve. El más completo de los realizados en España es el estudio multicentro (sobre 15 hospitales), realizado por A. Ferrer (1995), que recoge 779 intoxicaciones, que suponen un 0,87 por 100 de las urgencias; el 16 por 100 de los casos requirió internamiento.

En un estudio posterior realizado por la misma autora y colaboradores (2003), recopilando los casos atendidos en el servicio de urgencias de un hospital a lo largo de cinco años, sólo el 1% de ellos eran intoxicaciones agudas; los agentes causantes de las mismas fueron, en el 52,25 %, drogas de abuso (principalmente alcohol y benzodiazepinas), en el 18,80 %, los medicamentos (muy frecuentemente, en un 10% de los pacientes, había asociación de drogas y medicamentos), y el resto productos diversos, principalmente los cáusticos.

El 18,37% de las intoxicaciones se resolvió con tratamiento evacuante, el 15% con antidotos, y el 0,27% con tratamiento eliminador; sólo se registró un 0,41% de fallecimientos, correspondiendo a cáusticos, intoxicaciones suicidas y drogas de abuso, principalmente opiáceos. Y del resumen conjunto de los años 1999 a 2006, con los datos de 24 hospitales españoles y el estudio detallado de 4.664 casos, se extrae que el 28,4 % requirió hospitalización y el 82,8 % tratamiento, con 1,74 % de fallecimientos; los tóxicos más frecuentemente implicados fueron los cáusticos (28 %), gases (27 %) y los plaguicidas (9,6 %). El tipo de intoxicación ha sido en estos años, doméstica (66,30 %), laboral (17,17 %), suicida (12,26 %), etc.

Otra revisión revela que la proporción actual entre intoxicaciones voluntarias y accidentales es de 5/2, siendo estas últimas más frecuentes en niños menores de 7 años. El agente de las intoxicaciones voluntarias ha variado, de ser los barbitúricos en la década de 1950 a los antidepresivos, benzodiazepinas, drogas de abuso, principalmente heroína y cocaína, plaguicidas, cáusticos y monóxido de carbono de nuestros días; y sigue siendo válido, como había apuntado de nuestros días; y sigue siendo válido, como había apuntado Vale (1996), que la mortalidad actual por intoxicaciones

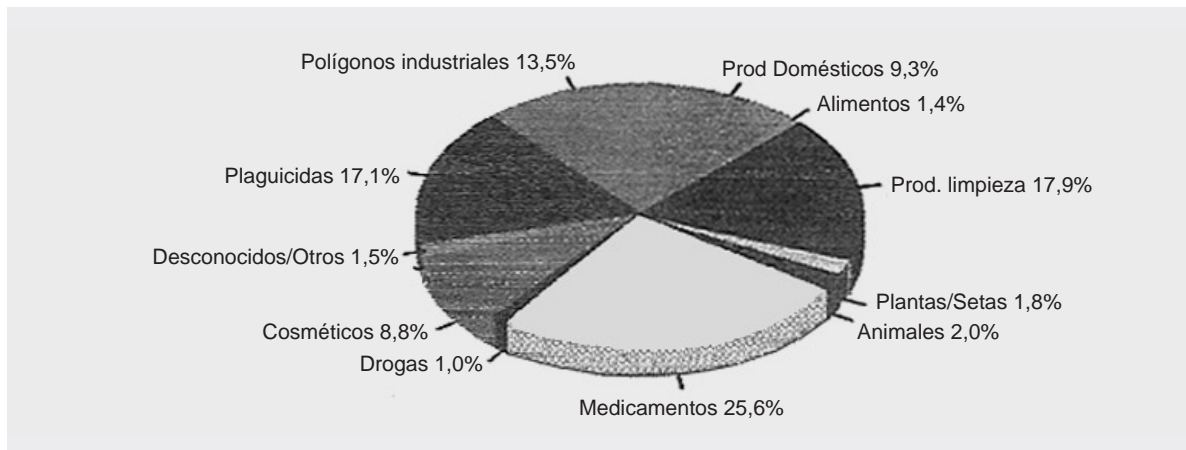


Figura 12.2. Productos que motivaron consultas toxicológicas al Servicio Regional en Sevilla. 2002.
Fuente: Memoria M. Rosario Repetto, 2002.

es inferior al 1 por 100. Según Watson (2000), la mortalidad intrahospitalaria por intoxicación, en el Reino Unido, se sitúa entre 1-5 por cada mil ingresos.

Sin embargo, un estudio epidemiológico en EE UU (Fingerhut, 1998) revela que la intoxicación es la tercera causa de muerte, detrás de los accidentes de automóvil y las armas de fuego, y según el Ministerio de Sanidad español (2003), el 10% de los ingresos hospitalarios se deben a la utilización indebida de los medicamentos.

Por otra parte, de los datos de los Institutos de Medicina Legal, de 1995, extraemos que la proporción de casos de muertes que requirieron informe toxicológico, fue en Sevilla del 24 por 100 y en Zaragoza de 9 por 100.

Es curioso señalar que a partir de 1977 se registró en Inglaterra una importante disminución de ingresos por intoxicaciones, coincidiendo con el cambio del suministro de gas ciudad por el de gas natural (sin monóxido de carbono) y la menor disponibilidad de medicamentos hipnóticos y sedantes.

Los datos de los centros de información toxicológica proceden de las consultas por posibles intoxicaciones. Los correspondientes a la Unión Europea (Comisión Europea, 1993) se refieren a 12 estados, con 800.000 llamadas en ese año, lo que supone una proporción media de 209 consultas por cada 100.000 habitantes. Demuestra que el riesgo tóxico en los niños es de 10 veces el de los adultos; y los agentes etiológicos más frecuentes son los medicamentos (principalmente benzodiazepinas,

paracetamol, ácido salicílico), con un 50 por 100, seguidos de los productos domésticos (17 por 100).

Según la Poison Control Centers Association de los EE UU, sobre 1.154.000 consultas recibidas en 2003, el 39% correspondía a presuntas intoxicaciones de niños menores de 3 años, y el 52% a menores de 6. Sin embargo, las muertes en menores de 6 años han disminuido en los últimos años. Entre 1993 y 1997, de 5,4 millones de llamadas, el 61% se refería a menores de 2 años, pero efectos clínicos significativos sólo aparecieron en el 1% y peligró la vida en el 0,05%.

En una revisión de muertes infantiles en Inglaterra y Gales (1968-2000), realizada por Flanagan *et al* (2005), el número de muertes por intoxicación en menores de 10 años descendió un 80%; la mayoría se produjo por inhalación de gases en fuegos, seguida por medicamentos y productos de uso doméstico.

El Servicio de Información Toxicológica, del Instituto Nacional de Toxicología, centralizado en Madrid, que recibe al año unas 150.000 consultas, las relativas a posibles intoxicaciones en niños de entre 1,5 y 3 años suponen un 50 % de la totalidad,

Se tiene constatado que las horas entre las 7 y las 9 de la tarde, los días de fiesta y los periodos de vacaciones son los que registran el mayor número de intoxicaciones infantiles.

Una iniciativa muy interesante por su utilidad con fines preventivos ha sido la creación, por la Asociación Nacional de Médicos de St. Louis

(MO, EE UU)) en 1988, del «Registro de PedTox» para recoger todos los casos de intoxicaciones infantiles.

Los Centros o Servicios de Información Toxicológica recopilan, a su vez, una información de gran valor sobre la toxicidad de productos químicos y medicamentos, la aparición de brotes epidémicos de intoxicaciones, prevalencia de algunos tipos de intoxicaciones y su distribución por zonas geográficas, por sexo, edad, etc., que pueden ser de gran utilidad para estudios epidemiológicos y en la toma de decisiones de política sanitaria y de consumo (por ejemplo, en la retirada del mercado de hierbas supuestamente medicinales, o de materiales para juegos infantiles, etc.).

Sin embargo, estos datos frecuentemente no coinciden con los procedentes de otras fuentes, que también son totalmente fiables, pero cuya comparación puede originar confusiones, si no se conocen las razones de las discrepancias. Dichas razones han sido explicadas por Hoffman (1998) y Fenton (2001) como sigue:

1. Ni los suicidas ni los adictos a las drogas suelen consultar a los SIT, por múltiples razones; además, cuando se les produce la muerte les sobreviene tan rápidamente que, generalmente, no hay tiempo para tratamiento médico ni para telefonar

a un SIT. De esta forma, los datos aportados por los SIT y las Unidades hospitalarias son inferiores a los de la Toxicología forense, que debe conocer todos los casos.

2. Igual situación se presenta con otras intoxicaciones rápidamente mortales en que tampoco se consulta a un SIT ni se presta asistencia médica.

3. Reacciones indeseables o desproporcionadas consecuentes a situaciones o condiciones patológicas del individuo (hipersensibilidad, shock anafiláctico, insuficiencia renal, etc.), con rápida resolución fatal.

4. En las intoxicaciones producidas por sobredosis con medicamentos de uso común o por tóxicos bien conocidos (como el monóxido de carbono o alimentos en mal estado), para cuyo tratamiento el médico confía en sus propios conocimientos y no consulta a un SIT.

Todas estas y otras razones obligan a asumir como lógicas las discrepancias entre los datos estadísticos de los SIT, de los servicios hospitalarios y de los de toxicología forense.

En la Figura 12.2 se detalla la etiología de los agentes implicados en las consultas realizadas en España durante 1994, el 43,64 por 100 de las cuales fueron motivadas por productos de limpieza y el 21,90 por 100 por medicamentos. No es extraño

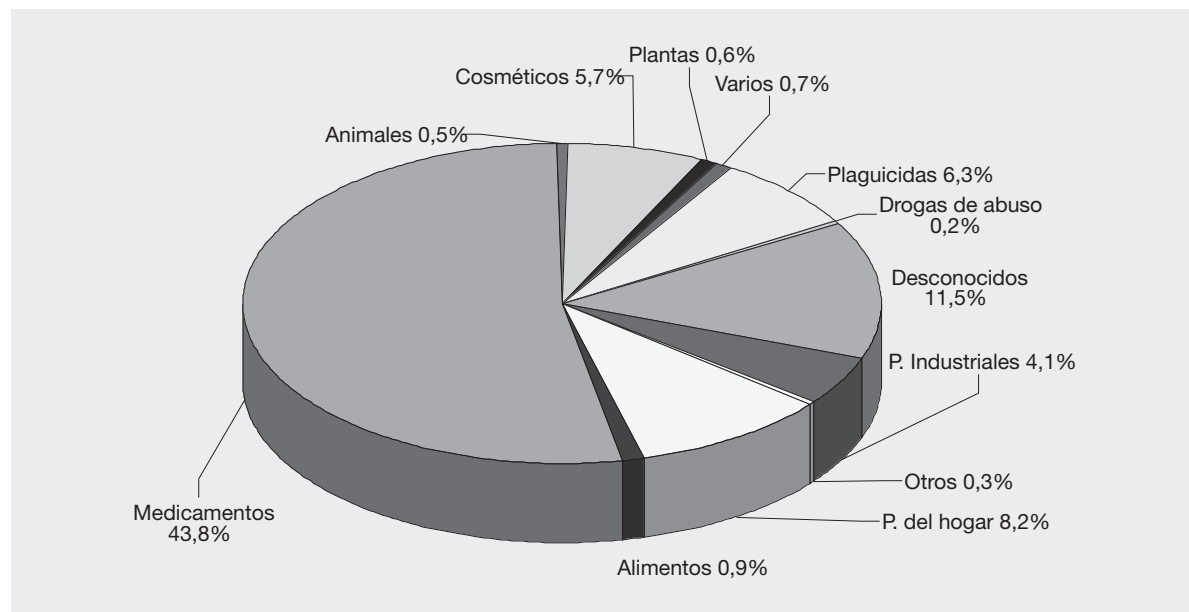


Figura 12.4. Etiología de las consultas al SIT de Madrid. 2006

que estos datos no coincidan con los valores medios europeos, ya que tampoco los nacionales españoles son idénticos a los regionales registrados por el servicio de información de Sevilla (Figura 12.3), de los que el 17,9 por 100 corresponden a productos de limpieza, el 25,6 por 100 a medicamentos y el 17,1 por 100 a plaguicidas.

Se evidencia así que, como ya dijimos, la epidemiología de las intoxicaciones está influida por muy diferentes características locales, que justifican la existencia de, al menos, un servicio de información toxicológica por cada región.

Pero también la etiología cambia con el tiempo; así, puede compararse la Figura 12.1 con la Figura 12.3 en que se exponen los porcentajes de la incidencia de agentes en las consultas recibidas en el SIT de Madrid durante el año 2006. Los medicamentos suben al 43,8 por ciento, representados principalmente por neurofármacos (26,%), y los del aparato respiratorio (18,7 %), mientras que los productos de limpieza bajan al 17,4 por ciento.

BIBLIOGRAFÍA

- American Association of Poison Control Centers: Criteria for certification as a regional poison control center. *Vet Hum Toxicol*. 1991;20:117-118.
- Asociación Española de Toxicología; Sección de Toxicología clínica. *Calitox-6*. www.aetox.es; <http://wzar.unizar.es/stc>.
- Bayer MC, Rumack BH, Wanke LA. *Toxicologic emergencies*. Ed. Robert J. Brady Company, 1984.
- Bozza-Marrubini, ML *et al*. *Intossicazioni acute*. Milano: Ed. Medico Farmaceutica, 1987.
- D'arcy PF, Griffin JP. *Drug-induced emergencies*. Bristol: John Wright, 1980.
- Duncan W, Leonard B. *Clinical toxicology*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1977.
- Fenton JJ. *Toxicology. A case-oriented approach*. Boca Ratón: CRC Press, 2001.
- Ferrer A, Bona MA, Medrano P, Royo R, Civeira A, Rivas M. Características de los pacientes atendidos por intoxicaciones agudas en un Servicio Hospitalario de Urgencias. *Actas del XV Congreso Español de Toxicología*. Valencia. 2003.
- Fingerhut LA, Cox Cs. Poison mortality, 1985-1995. *Public Health Rep* 1998; 113:218-233.
- Gisbert Calabuig JA. *Medicina legal y toxicología*. Valencia: Fundación García Muñoz, 1985.
- Gossel TA, Bricker JI. *Principles of clinical toxicology*. New York: Raven Press, 1984.
- Govaerts M, Degroote S. *Bibliotèque des centres anti-poison*. París: Masson, 1976.
- Hoffman RS. Poison Information Centers and poison epidemiology. En: *Goldfrank's Toxicologic emergencies*, 6.ª ed., Standford, Connecticut, Appleton & Lange, 1998.
- Kastrup E, Boyd Y, Gifford S. *Facts and comparisons*. St. Luis: Facts & Comparisons, 1982.
- Lugo AM, Haynes JT. Evolución de los Centros antitóxicos: Preparación para los nuevos cambios. En: M. Repetto ed. *Toxicología de Postgrado*. CD. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla. 2006.
- Proudfoot A. *Intoxicaciones agudas*. Barcelona: Doyma, 1985.
- Repetto MR, Repetto M. *Correlación de niveles terapéuticos, tóxicos y letales de medicamentos, sustancias químicas y drogas en el hombre*. Tenerife: 3.º Congreso Iberoamericano de Toxicología, 1995.
- Repetto MR. Futuro de los Servicios de Información Toxicológica. Su calidad. En: M. Repetto (ed.) *Toxicología de Postgrado*. CD. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla. 2006.
- Repetto MR, Repetto M. La interpretación clínico-toxicológica de concentraciones de xenobióticos en fluidos biológicos. En: Repetto, M. *Ampliación de Toxicología de Postgrado*. CD-ROM. Universidad de Sevilla, 2007.
- Roche L. *Toxicovigilancia*. París: Masson, 1979.
- Sunshine I, Govaerts A, Gaultier M, Roche L, Vincent V. *Les centres anti-poisons dans le monde*. París: Masson, 1966.
- Vale JA. Medical toxicology. Clinical aspects. *Arch Toxicol* supl. 15, 1992: 12-20.
- Vale JA. Congreso Internacional de la Asociación Europea de Centros Antitóxicos y de Toxicología Clínica. Marsella, 1996.
- Watson I (ed.) Guidelines. Laboratory analysis for poisoned patients: joint position paper. *Ann Clin Biochem*, 2002; 39: 328-339
- Younis J, Litovitz T, Villanueva P. Characterization of US poison centers. *Vet Hum Toxicol*. 2000; 42:43-53.

DIAGNÓSTICO DE LA INTOXICACIÓN

En la toxicología primitiva se afirmaba que el diagnóstico de una intoxicación debería hacerse ante un cuadro clínico dramático, aparatoso, sin causa aparente de enfermedad. Aunque esto pueda ser cierto, en la actualidad es mucho más frecuente el número de intoxicaciones que cursan de una forma extraordinariamente suave, incluso sin dar la apariencia de un trastorno patológico, o presentando unas manifestaciones sindrómicas generales y confusas. Ello aconseja que, en nuestros días, haya que «pensar» en la posibilidad de una intoxicación ante todo cuadro, de aparición brusca o sinuosa, con antecedentes o sin ellos, de administración, ingestión o contacto con sustancias químicas, alimentos o medicamentos, y con una sintomatología que no encaje en entidades nosológicas evidentes.

En cuanto a las intoxicaciones agudas, por ejemplo las que pueden surgir tras la ingestión de una dosis excesiva de un medicamento, se ha propuesto la llamada *regla de las 4 horas*, que dice «*si no ocurre nada durante las primeras cuatro horas después de la ingestión, no ocurrirá nada*», entendiendo por «nada» ningún síntoma, ni signos, ni cambio psicológico detectable. Evidentemente, no puede tomarse la regla con validez absoluta, y sus excepciones más notables son el paracetamol y los medicamentos de liberación retardada.

El diagnóstico de una posible intoxicación debe efectuarse desde un triple frente: *clínico, biológico y químico*.

El diagnóstico clínico deberá tener en cuenta las consideraciones antes mencionadas y el hecho, hoy frecuente, de que una intoxicación no presente la sintomatología que suele encontrarse en los textos clásicos de patología. Esto es debido a que la crónica recepción de diferentes y numerosos agresores químicos ambientales, la polifarmacia, la automedicación, etc., van produciendo una acumulación de efectos residuales, con inducción de una fisiopatología insidiosa, que se manifiesta con síntomas que no encajan en los cuadros académicos porque éstos suelen estar contruidos exclusivamente con datos de intoxicaciones agudas, de manifestaciones exageradamente evidentes.

Hay una serie de síntomas que suelen aparecer en los estados tóxicos, aunque también son propios de muy distintas enfermedades; son las náuseas, vómitos, diarreas o estreñimiento; alteraciones en la piel o mucosas (eritemas, urticaria, eccema, petequias, ictericia); dolores sin causa aparente, en región epigástrica, nuca, abdomen, articulaciones; alteraciones del sistema nervioso central y periférico: coma, somnolencia, delirio, ataxia, vértigos, parálisis, convulsiones, temblores, parestesias, analgesias; miosis o midriasis; visión borrosa; alteraciones respiratorias (disnea, bradipnea) o circulatorias (hipotensión o hipertensión, vasodilatación, vasoconstricción, cefalalgias, hemorragias) hipertermia; afecciones renales (oliguria, albuminuria, hematuria), etcétera. Los signos clínicos que aparecen en la lesión hepática son ictericia o subic-

tericia, prurito, decoloración de las heces, coluria, urobilinuria, bradicardia, defecto de coagulación (Tabla 13.1). También son de tener en cuenta las complicaciones y síndromes que pueden producirse por distintos tóxicos (véase Cap. 16).

Para diagnosticar la profundidad de inconsciencia o coma es útil, por sencillo, el método Edimburgo, basado en las respuestas del paciente al dolor (presión en el borde de la oreja, desaconsejándose la fricción del esternón) y a las órdenes; los cuatro grados del coma quedan así:

Grado 0: Totalmente consciente.

Grado 1: Obnubilado, pero obedece órdenes orales.

Grado 2: No obedece órdenes, pero responde bien al dolor.

Grado 3: Responde poco al dolor.

Grado 4: No reacciona al dolor.

La inespecificidad de estos trastornos, a menos que la anamnesis oriente hacia un posible tóxico, obliga al clínico a recurrir a los exámenes de laboratorio, que pueden dividirse en dos grandes grupos, los análisis biológicos y bioquímicos y los químico-toxicológicos.

Lógicamente, no podemos olvidar la incidencia de casos de muerte por intoxicación aguda, de gran importancia práctica en la medicina forense, por lo cual revisaremos los principales signos anatomo-patológicos macroscópicos que pueden contribuir al correspondiente diagnóstico.

SIGNOS ANATOMOPATOLÓGICOS DE LA MUERTE POR INTOXICACIÓN

En líneas generales, puede afirmarse que no existen síntomas orgánicos específicos de la muerte por intoxicación, y menos aún de la acción de un tóxico determinado.

Sin embargo, pueden encontrarse cuadros que, sin ser específicos, hagan sospechar una etiología tóxica. Por su parte, cuando se estudian en el laboratorio de Histopatología los tejidos de un intoxicado, puede llegarse a uno de los siguientes grados de certeza diagnóstica (Garfía, 1992), según la solidez de la relación causa-efecto que se consiga establecer entre los hallazgos histológicos y la posible causa de la intoxicación: 1) causal (rela-

ción firme, diagnóstico claro), 2) posible/compatible (las lesiones no son específicas, pueden deberse al agente sospechado, pero también a otro), 3) negativo (no se encuentra relación).

Relacionaremos seguidamente tales signos y sus más comunes agentes etiológicos, con la advertencia de que, al nombrar un elemento o un producto químico, hacemos extensión a sus sales y derivados orgánicos e inorgánicos, aunque la simplificación reste exactitud.

Disposición del cadáver

En algunos casos, la postura del cadáver y su aspecto pueden servir de orientación para el diagnóstico.

Así, el intoxicado por monóxido de carbono presenta, habitualmente, una acentuada rigidez cadavérica, con gran contracción muscular, que le confiere una postura que vagamente recuerda a la de un boxeador, con las manos cerradas y el pulgar cubierto por los restantes dedos.

La intoxicación por estricnina imprime al cadáver una rigidez que difiere de la normal en que aparece muy pronto, y perdura largo tiempo, hasta dos semanas después de la muerte; sin embargo, la estricnina no produce el trismo y rigidez de cuello propios del tétanos. Recordemos que la rigidez cadavérica, lento proceso de contracción muscular generalizada, comienza habitualmente hacia las dos horas de la muerte y crece en intensidad hasta las seis horas, en que empieza a disminuir.

Coloración de la piel y tóxicos que suelen producirla

Rosa: ácido cianhídrico, barbitúricos; *rojo cereza*: muy evidente en la piel, pero también visible en las uñas y dientes, por el monóxido de carbono; *marrón o gris azulado* por tóxicos metahemoglobinizantes; *amarillo* (ictericia) por fósforo, arsénico, setas faloides.

La presencia de *manchas azul oscuras o violáceas* evidencia exceso de anhídrido carbónico, es decir, insuficiente oxigenación (cianosis); la sangre con exceso de CO₂, o con CO pierde su capacidad de coagular. El sulfuro de hidrógeno da a la sangre y tejidos color *oscuro* (propio del sulfuro de hierro).

Tabla 13.1. Ejemplos de correspondencia entre síntomas clínicos y agentes tóxicos.

Sintomatología	Posibles agentes
<i>Síndrome cutáneo</i>	
Eritema y exantema.	As, Hg, I, Br, CO, CNH, atropina, barbitúricos, salicilatos, <i>Salmonellas</i> , sulfamidas.
Erupciones, ampollas, bullas.	CO, barbitúricos, meprobamatos, metacualona, antidepresivos tricíclicos.
Acné.	Cl, Br, I, Hg, anilina.
Eccema.	As, Cr, Cl, I, Br, Hg.
Púrpuras.	F, Hg, As, CO, CNH, benceno.
Necrosis.	Cromatos, As, Ag, CO.
Úlcera seca.	Ácidos fuertes.
Úlcera blanda.	Álcalis
Melanodermia, queratodermia.	As.
<i>Síndrome ocular</i>	
Estrabismo, diplopía, midriasis, parálisis bucofaríngea y respiratoria.	Botulismo.
Neuritis óptica, midriasis.	Metanol
Midriasis, fotofobia, sequedad, taquicardia, alucinaciones.	Atropina.
Midriasis.	Atropina, tricíclicos, botulismo, metanol.
Miosis.	Morfina.
<i>Síndromes neurales</i>	
Polineuritis.	Pb, As, Hg, Mn, sulfuro de carbono, etanol, apiol, ergotoxinas.
Temblores, convulsiones.	Cafeína, etanol, estricnina, As, Pb, tétanos, rabia, uremia.
Inconsciencia, hipertonía hiperreflexiva, mioclonía.	Metacualona, difenhidramina.
Inconsciencia (comas convulsivos).	IMAO, organofosfatos, dibenzoazepinas (tricíclicos).
Inconsciencia (comas agitados).	Fenotiazinas, etanol.
Inconsciencia (comas en calma).	Barbitúricos, benzodiazepínicos
Inconsciencia (comas depresivos) con depresión respiratoria, miosis (pupilas puntuales).	Morfina, heroína y relacionados.
<i>Síndromes neuropsíquicos</i>	
Alucinaciones.	Atropina (medicamentos y plantas que la contienen), anfetaminas, cocaína, LSD, <i>cannabis</i> (dosis elevadas), antiparkinsonianos.
<i>Síndrome cardiovascular</i>	
Hipertensión.	Cocaína, adrenalina.
Alteración del ECG.	Dibenzoazepinas, digital, quinidina, cloroquina.
Arritmias.	Tricíclicos.
Colapso.	Barbitúricos, dibenzoazepinas, carbamatos (meprobamatos), nitrobenzoceno, cloropicrina, yoduros, ácido salicílico, ácido nicotínico.
Taquicardia.	Atropina, ácido salicílico, anfetaminas.
Hemopatías.	Pb, CO, cloratos, nitritos, benceno, nitrobenzoceno, anilinas, sulfamidas.

Las zonas *verdes* en el abdomen revelan putrefacción (sulfohemoglobina).

Una gran *palidez* sugiere intoxicación por cocaína, que origina acentuada vasoconstricción.

Los barbitúricos, morfina y otros producen eritemas y púrpuras en piel y mucosas.

Corazón y aparato circulatorio

Normalmente, en las intoxicaciones no se produce la parálisis simultánea de los dos ventrículos; en general, falla sólo el ventrículo izquierdo. Cuando el ventrículo derecho continúa funcionando, se instaura rápidamente edema pulmonar, que se reconoce por el abundante líquido espumoso que surge al cortar el pulmón. Solamente cuando existía una lesión cardíaca previa se produce el fallo aislado del ventrículo derecho. Por ello es más frecuente que los intoxicados fallezcan con edema pulmonar.

En los casos, más extraños, de insuficiencia del corazón derecho (que da estasis venosa), se observa fuerte coloración rojiza (plenitud sanguínea) de los órganos: hígado, bazo, riñones, cerebro, tiroides, piel, etc.

El miocardio no suele presentar alteraciones, pero en ocasiones experimenta degeneración grasa difusa (óxido de carbono, disolventes orgánicos, fósforo, freones, arsénico).

Pulmón

Hemos visto que el fallo del corazón izquierdo conduce a edema pulmonar; la agonía prolongada origina atelectasias, especialmente en los lóbulos inferiores, al tiempo que los estados acidóticos inducen hiperventilación pulmonar, sobre todo en los lóbulos superiores.

Es característica una intensa congestión pulmonar en la intoxicación por cocaína, a causa de la asfixia que se produce como consecuencia del síndrome respiratorio (la cocaína origina gran hipertensión que puede producir un cuadro anginoso).

Cerebro

El fallo cardiocirculatorio permite la estasis venosa con hiperemia, razón por la cual la corteza está más oscura que la médula cerebral.

Puede existir edema cerebral, que da aspecto brillante y húmedo al órgano. Por su parte, la tumefacción seca produce el aplanamiento de los relieves de las circunvoluciones; puede presentarse tumefacción húmeda, que además posee edema. Son agentes: plomo, arsénico, cianhídrico, éter y disolventes, cocaína, morfina, barbitúricos, monóxido de carbono. Cuando el tóxico altera la permeabilidad capilar se producen las «púrpuras» en forma de pequeñas hemorragias circulares: plomo, fósforo, arsénico, disolventes, quinina.

Hígado

Aparte de los fenómenos circulatorios ya descritos, suele presentar la degeneración grasa de las células estrelladas y del hepatocito, muy frecuente en toda alteración de la respiración celular.

El hígado puede aparecer atrófico o hipertrófico, blando, duro o grasa. Este caso, denominado *esteatosis*, se presenta debido al arsénico, fósforo, etanol, disolventes, botulismo, setas.

Bazo

El bazo posee distinto aspecto en la hiperemia venosa (pulpa esplénica ingurgitada de sangre) y en el colapso, cuya depleción hemática lo deja claro y blando.

Riñón

En la estasis sanguínea por fallo cardíaco derecho existirá hiperemia en conos y médula.

Las lesiones capilares afectan primero el glomérulo y después toda la nefrona. Primeramente, las asas glomerulares se vuelven permeables para los cuerpos hemáticos (hematuria), las albúminas y los complejos albúminatóxicos. Si éstos son reabsorbidos por los túbulos, pueden originar nefrosis por lesión del epitelio tubular, e incluso por acumulación.

También pueden observarse depósitos grasos en el epitelio tubular, como síntoma de deficiencia metabólica celular.

Producen glomerulonefritis: mercurio, arsénico, bismuto, fenol.

Degeneración grasa: arsénico, fósforo, disolventes, botulismo.

Esclerosis: plomo, fósforo.

Oliguria o anuria: mercurio, arsénico, oxálico, metahemoglobinizantes, quinina.

En ciertas ocasiones, las lesiones hepáticas y renales evolucionan casi simultáneamente, con presentación de un síndrome de hepatonefritis tóxica de diversa complejidad. Primero aparecen trastornos digestivos; después, ictericia, coluria, oliguria con albuminuria, azoemia, hipocloremia y hemorragias, y alteraciones nerviosas.

Estómago e intestino

Pueden presentar:

- a) Olores de diferentes productos.
- b) Coloración de la pared del estómago:
 - *blanco-grisáceo:* mercurio, plomo, ácidos, fenol;
 - *amarillo:* cromatos, amoníaco, nítrico, pícrico, formol;
 - *castaño oscuro:* ácidos.
- c) Congestión e irritación de la mucosa, con sufusiones hemorrágicas o sin ellas: plomo, mercurio, arsénico, fósforo, ácidos, alcoholes, estrocnina, nicotina, morfina, atropina, barbitúricos, botulismo, *Salmonellas*.

DIAGNÓSTICO BIOLÓGICO

Posee tres abordajes diferentes:

- Estudio de las constantes o parámetros biológicos y bioquímicos.
- Experimentación con animales y vegetales.
- Ensayos inmunológicos y radioinmunológicos.

Parámetros biológicos y bioquímicos: Biomarcadores

(véase IBE y BLV, Capítulos 2 y 11)

Se utilizan unos valores mensurables o parámetros que han sido denominados *biomarcadores* o *indicadores biológicos*, y se dividen en:

a) *biomarcadores de exposición*, que permiten detectar y cuantificar que un individuo ha absorbido un xenobiótico, y cuantificar la absorción, nor-

malmente mediante la determinación del tóxico o de alguno de sus metabolitos en muestras biológicas como tejidos, fluidos o aire espirado por el sujeto. Pretenden conocer la concentración del tóxico que realmente está actuando; muchos de ellos están recogidos por diversas legislaciones como «índices biológicos de exposición».

Para interpretar las exposiciones y para el diagnóstico toxicológico es muy útil el empleo de tablas de valores de referencia de concentraciones de xenobióticos en fluidos biológicos humanos, como la publicada por Repetto y Repetto (2007), cuyo extracto se encuentra en la Tabla 14.2, y que puede consultarse en <http://www.busca-tox.com>.

Cuando interesa conocer si la exposición a un agente químico está dando lugar a una carga corporal significativa, se utilizan los *biomarcadores de acumulación*, mediante la determinación del tóxico en tejidos, como el adiposo, pelos, uñas, etc., que, preferentemente, retienen dicho tóxico.

Existe otro tipo de biomarcador de exposición, más preciso terminológicamente, que indica un cambio leve o una *respuesta adaptativa* producida para prevenir el daño, destoxicando, ligando, excretando al tóxico, etc. Muchas veces son difíciles de distinguir de los:

b) *biomarcadores del efecto*, sustancias endógenas o cambios biológicos o bioquímicos que revelan modificación reversible o irreversible de las constantes fisiológicas; son los biomarcadores más estudiados, e incluyen modificaciones en la composición celular de la sangre, alteraciones en algunas actividades enzimáticas; aparición de aductos del ADN o incrementos localizados de m-ARN; aumento de determinadas proteínas, aparición de anticuerpos específicos contra un xenobiótico o contra fracciones celulares (membrana, núcleo, etc.) por lo que reciben el nombre de autoanticuerpos; o bien modificaciones en las funciones fisiológicas (respiración, diuresis, etc.) o en las estructuras histológicas.

Si el agente es un genotóxico, se busca la excreción urinaria de productos de rotura del ADN, y en linfocitos periféricos, en células epiteliales bucales o en biopsias de tejidos, posibles aductos con los ácidos nucleicos, aparición de aberraciones cromosómicas, o intercambio en cromátidas hermanas, y formación de micronúcleos. Como indicadores de estrés oxidativo puede emplearse el

incremento de malonildialdehído en el suero debido a la lesión de membranas, la formación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina por daño oxidativo del ADN o la inducción de sistemas antioxidativos como la catalasa, glutatión reductasa, etc.

La inhibición específica de acetilcolinesterasa (AChE) y colinesterasa sérica (ChE) se produce muy rápidamente y persiste durante semanas por exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos, por lo que la disminución de un 30-50 % de la AChE eritrocitaria respecto a la basal es estimada como un marcador de exposición, considerándose de efecto a partir de un 70% de inhibición. Por el contrario, los inductores enzimáticos tipo I, compuestos de tipo alifático, inducen potentemente las oxidasas de función mixta y particularmente del citocromo P-450II B1, mientras que los inductores tipo II, compuestos aromáticos, inducen específicamente los citocromos P-450I A1 y A2, evaluados de acuerdo a AHH, EROD, ECOD o PROD.

La metalotioneína es una proteína de estrés cuya síntesis se estimula como actuación defensiva para almacenar en forma inactiva metales como el cadmio. Otras proteínas de estrés, como la Hsp70, se sintetizan ante determinados estímulos adversos. Los aductos con proteínas como la albúmina o la hemoglobina son muy útiles ya que no son reparados y permanecen durante la vida de las mismas, es decir, confirman que la exposición ocurrió en los últimos 120 días, para el caso de la hemoglobina.

En el ámbito medioambiental se utiliza de forma específica el adelgazamiento del cascarón del huevo de aves silvestres por exposición a antian-drogénicos; la superposición de genitales en gasterópodos hembra denominada imposex producida por compuestos como el tributilestano; la estimulación de la síntesis de vitelogenina en especies ovíparas por compuestos estrógenicos, etc.

c) biomarcadores de la susceptibilidad que son factores genéticos, reconocibles por estudios de ADN y sus fragmentos de restricción, y clonado de genes e investigación de polimorfismos, de actividades enzimáticas o excreción de determinados metabolitos; se puede determinar la capacidad individual de reparación del ADN. También son biomarcadores de susceptibilidad la estructura o funcionalidad de los receptores, cuyo conocimiento permite prever la particular sensibilidad o susceptibilidad de los distintos individuos.

Por lo tanto, un biomarcador es una medición en un sistema biológico que refleja cuantitativamente la interacción con el agente. Los biomarcadores de exposición y de efecto se utilizan para valorar la exposición, graduar los efectos de los compuestos y monitorizar la recuperación, mientras que los biomarcadores de susceptibilidad se emplean para identificar grupos de riesgo.

Desde un punto de vista práctico, entre los *requisitos* que deberían cumplir los biomarcadores ideales figuran:

α. La relevancia biológica para el tipo de efecto o de compuesto que pretenda controlarse.

β. La sensibilidad suficiente, de forma que refleje un cambio subclínico temprano en la etapa reversible, para que permita adoptar medidas preventivas.

χ. La especificidad para un tipo de compuestos o de mecanismo de acción, aunque en ocasiones interesa que sean muy sensibles y poco específicos para detectar todo tipo de exposiciones.

δ. La toma de muestras debiera ser éticamente aceptable, lo menos invasiva posible y en particular no destructiva para especies silvestres.

ε. El método de cuantificación debiera ser reproducible y tener un costo y nivel de dificultad aceptables; y finalmente,

φ. La variabilidad natural y las modificaciones temporales del indicador debieran ser controlables o al menos conocidas.

En comparación con la monitorización química, la monitorización biológica es, en general, más sensible, más útil para manifestar los efectos de mezclas de compuestos, detecta sólo la acción del compuesto biodisponible, puede permanecer alterado aunque el tóxico ya haya desaparecido y suele tener un coste inferior, pero suele ser menos reproducible, presentar más variabilidad interindividual y ser dependiente de la especie y del medio ambiente. Ello implica que antes de aplicar ampliamente un biomarcador debe caracterizarse perfectamente tanto en su aspecto analítico como en su variabilidad.

En definitiva, los biomarcadores son restos de las sustancias o sus metabolitos presentes en el organismo de un individuo, o alteraciones inducidas en el mismo por aquellas de forma característica, aunque no necesariamente específica (es decir, siempre que se absorbe determinada sustancia, por

encima de ciertas dosis, se produce tal alteración), que resultan de utilidad para conocer el grado de afectación por los tóxicos, especialmente cuando se absorben de forma crónica. Tienen particular aplicación en la monitorización por el uso continuado de medicamentos, en la exposición a contaminantes ambientales y en toxicología forense y en la laboral, mediante la comparación de los resultados analíticos con tablas que tratan de relacionarlos con el estado clínico del sujeto y el riesgo en que se halla (Repetto y Repetto, 2007; Jakubowski *et al.*, 2006; INSHT, 2006). Pero debe tenerse presente que los valores límites establecidos para el ámbito laboral no son aplicables a la exposición de la población general por contaminantes ambientales.

Con el objeto de diagnosticar intoxicaciones, también se han aplicado ensayos de los habitualmente conocidos como análisis clínicos, tanto biológicos como bioquímicos, y aunque algunos ellos posean suficiente especificidad y aceptable capacidad diagnóstica, en general no representan linealmente la alteración de la función investigada o el daño histológico. Habitualmente no son indicadores precoces, ya que frecuentemente no ofrecen valores anómalos hasta que la función orgánica se deteriora en un 50 por 100 o, por el contrario, se recuperan muy posteriormente a ella.

El ensayo biológico más importante es el recuento de hematíes, así como su tamaño y alteraciones (punteados). En orina interesa, en principio, el color, pH, presencia de glucosa, albúmina y proteínas, y en el sedimento urinario, hematíes, cilindros y cristales.

Pero un estudio más amplio se estructura sobre el siguiente esquema, acomodable a las características de cada órgano (véase Capítulo 7).

1. Pruebas de la función del órgano

- 1.1. De la capacidad metabólica (de carbohidratos, proteínas y lípidos).
- 1.2. Del aclaramiento.

2. Actividades enzimáticas séricas o urinarias

- 2.1. Aumento: vertido por citolisis.
- 2.2. Inhibición.

Numerosas intoxicaciones pueden ser detectadas, si no identificadas, a través de un análisis clínico. Alteraciones en el color o en el olor de la orina y cristales en el sedimento sugieren ya la presencia

de diferentes sustancias; en la orina podemos detectar hallazgos significativos, como los siguientes:

- Aminoaciduria, en la intoxicación por plomo.
- Proteinuria, junto con serina y treonina, más incremento de ribonucleasa en la lesión tubular por cadmio.
- Aminopeptidasa en afectación tubular por mercurio.
- Ácido neuramínico aumentado, por cobalto.
- Pigmentos biliares por cloroformo, tetracloruro de carbono, fósforo, arsina, etc.

Alteraciones en los recuentos de hematíes o de leucocitos también pueden poner sobre aviso. La presencia de los corpúsculos o cuerpos de Heinz en los hematíes evidencia la intervención del plomo o de oxidantes de la hemoglobina. En la Tabla 13.2 se recogen algunas de estas alteraciones clínicas consecuentes a la absorción de diferentes tóxicos o fármacos. Existen largas relaciones de resultados anormales en los análisis como consecuencia de los xenobióticos.

Por otra parte, el hecho de que los tóxicos actúen sobre los sistemas enzimáticos, induciéndolos o inhibiéndolos, puede permitir detectar una intoxicación al determinar la actividad de diferentes enzimas hemáticas: acetilcolinesterasa, succinilcolinesterasa, fosfatasa, catecol-O-metiltransferasa, etc. Se detecta disminución sérica de la MAO en las afectaciones por Hg, S₂C y tetraetilplomo (Tabla 13.3).

El glutatión reducido actúa como protector de las membranas celulares y especialmente de los eritrocitos, por lo que sustancias débilmente oxidantes, como plomo, aminas, benceno, etc., lo oxidan y producen hemolisis, especialmente cuando hay déficit de G-6-PDH.

La enzima eritrocitaria más importante es la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G-6-PDH), presente en todos los tejidos, especialmente en el graso y el tumoral maligno, pero escasa en el suero. Cuando es deficitaria por causa genética (con lo que el individuo es muy sensible) o por intoxicación por sustancias que interfieren la oxidación-reducción, aparecen en los hematíes corpúsculos de Heinz (de metahemoglobina) y posteriormente se produce rotura del eritrocito, originándose

Tabla 13.2. Pruebas bioquímicas alteradas por medicamentos

Color		Color	
ORINA		Glucosa (método de Benedict) (<i>cont.</i>)	
Acetofenetidina	Oscuro	Fenoles	
Amitriptilina	Azul-verdoso	Probenecid	
Cloroquina	Amarillo-marrón	Pirazolonas	
Deshidroxiantraquinona	Naranja	Salicilatos	
Difenilhidantoína	Rojizo	Estreptomicina	
Hierro	Oscuro	Sulfamidas	
Metildopa	Oscuro	Tetraciclina	
Nitrofurantoína	Marrón	Tiazidas	
Fenotiazinas	Naranja		
Primaquina	Amarillo		
Quinina	Marrón oscuro		
Sulfamidas	Amarillo oscuro		
		Serotonina	
Bilirrubina		Acetanilida	
Fenotiazina		Mefenesina	
Perfenazina		Fenotiazina	Disminuido
		Plátano	
Catecolaminas			
Tetracloruro de carbono		Porfirinas (método fluorimétrico)	
Metildopa		Alcohol	
Quinina		Antiepilépticos	
Quinidina		Barbitúricos	
Tetraciclina		Clorpromacina	
Formaldehído		Fenilhidracina	
		Procaína	
Creatina/creatinina		Sulfamidas	
Andrógenos			
Corticoides		Urobilinógeno	
Diuréticos tiacínicos		Aminosalicílico	
		Antipirina	Disminuido
Estrógenos		Cloranfenicol	
Fenotiazinas		Clorpromazina	
Tetraciclina		Sulfamidas	
Vitaminas			
Glucosa (método de Benedict)		SUERO	
Aminopirina		Fosfatasa ácida	
Aminosalicílico		Andrógenos (en mujeres)	
Ascórbico		Fluoruros	
Bismuto		Oxalatos	
Cefalotina		Fosfatos	
Hidrato de cloral			
Cloranfenicol		Fosfatasa alcalina	
Corticoides		Alopurinol	
Formaldehído		Anabólicos	
Indometazina		Andrógenos	
Isoniazida		Colchicina	
Nalidíxico		Fluoruros	
Nicotínico		Indometacina	
Penicilina		Metildopa	
		Penicilamina	
		Fenotiazinas	
		Anticonceptivos	
		Tolbutamida	

(continúa)

Tabla 13.2. Pruebas bioquímicas alteradas por medicamentos (*Continuación*)

Color		Color	
Bilirrubina		SGOT (<i>cont.</i>)	
Anabólicos		Cloroquina	
Andrógenos		Colchicina	
Benzodiazepínicos		Imipramina	
Cloro		Gentamicina	
Isoniazida		Isoniazida	
Metildopa		Metildopa	
Nitrofurantoína		Fenotiazinas	
Fenotiazinas		Anticonceptivos	
Sulfamidas			
Curva tolerancia glucosa		SGPT	
Anticonceptivos	Disminuye	Anabólicos	
Ácido nicotínico	Disminuye	Andrógeno	
		Ciclosidina	
SGOT		Imipramina	
Ampicilina		Guanetidina	
Anabólicos		Isoniazida	
Andrógenos		Fenotiazidas	
Cefalotina		Anticonceptivos	

consecuentemente anemia hemolítica. Algunas personas responden así a la ingestión de habas (*Vicia faba*) e incluso por inhalación del polvo de las mismas, ocasionando la enfermedad conocida como fabismo, de hipersensibilidad familiar a las habas, que tiene carácter congénito. También la producen el antipalúdico primaquina, la fenilhidrazina, fenacetina, sulfamidas, PAS, pirazolonas, fenilbutazona, TNT, naftalina, metales, etc., y varias plantas. Para comprobar la sensibilidad de un individuo puede realizarse la prueba de Bentler, incubando eritrocitos con acetilfenilhidrazina, y observando disminución de NADPH y de glutatión reducido, así como aparición de corpúsculos de Heinz. Por su parte, la elevación de los niveles séricos de la transaminasa glutámico-pirúvica (GPT o ALT), glutámico-oxalacética (GOT o AST) y creatinfosfocinasa (CPK o CK) es indicadora de lesiones celulares. Así, sabemos que: el incremento de las aldolasas indica daño hepático y muscular (miocardio y esqueléticos); incrementos de CPK, distrofias musculares y lesión miocárdica; de GOT, lesión miocárdica y hepática; GPT, lesión hepatocelular; glucogenasa y lipasas, daño

pancreático; LDH, necrosis tisular, miocárdica, renal, hepática; colinesterasa, síndromes nefróticos.

En las intoxicaciones agudas suelen hallarse aumentadas las enzimas siguientes, relacionadas en orden de mayor a menor aumento de niveles: LDH, GOT, GPT, glutámico-deshidrogenasa (GLDH), succínico-deshidrogenasa (SDH), fructosa-1,6-di-P-aldolasa, ornitil-carbamiltransferasa (OCT). El incremento de fosfatasa alcalina es indicativo de necrosis celular. Como otros ejemplos podemos citar que en la intoxicación por monóxido de carbono se encuentran elevadas GOT, SDH (sorbitol deshidrogenasa) y GLDH; en la intoxicación por setas faloideas, LDH y a veces G-6-PDH. Por otra parte, numerosos tóxicos modifican las globulinas séricas: el CO baja las inmunoglobulinas en general, y sube la α_2 -globulinas; el tricloroetileno eleva las β -globulinas séricas; el benceno produce hipoalbuminemia, pero eleva las inmunoglobulinas y las β -globulinas; el sulfuro de carbono disminuye las α -lipoproteínas pero eleva las β . Muchos tóxicos producen antígenos.

Tabla 13.3. Parámetros bioquímicos de interés diagnóstico en toxicología clínica.

Parámetro/símbolo	Muestra biológica	Valor		Sugerencias diagnósticas
		Alto	Bajo	
N-acetil-β-glucosaminidasa (NAG)	Orina	*		Nefropatía tubular.
Acetilcolinesterasa (AChE)	Eritrocito	*	* *	Nefropatía. Hepatopatía. Intox. por anticolinesterásico.
Colinesterasa (ChE)	Suero		*	Intox. por anticolinesterásico.
Ácido aminolevulínico (ALA)	Orina	*		Intox. por Pb.
Ácido hipúrico	Orina	*		Hepatitis. Exps. a tolueno.
Ácido vanililmandélico	Orina	*		Noradrenalina.
Ácido mandélico	Orina	*		Expos. a estireno.
Alanina-aminopeptidasa (AAP)	Orina	*		Nefropatía.
Alcoholdehidrogenasa (ADH)	Suero	*		Alcoholismo.
Aldolasa (ALD)	Suero	*	*	Hepatitis, Intox. por CO. Ag, Cu, I, Urea.
Amilasa	Sangre	*		Pancreatitis aguda.
Aminolevulinicodeshidratasa (ALAD)	Sangre		*	Intox. por Pb.
Aminopectidasa	Orina Leucocitos	* *		Intox. por Hg. Intox. por tricloroetileno.
Aminotransferasa	Suero	*		Intox. por hidrocarburos.
Amoniaco	Sangre Orina	* *		Nefritis. Hepatitis.
Cociente CGY/GOT	Suero	>>1	<1	Hepatitis crónica. Hepatitis aguda.
Cociente de DeRitis (GOT/GPT)	Suero		<1	Hepatitis.
Cociente de Repetto-Sanz (ADH/GGT)	Suero	>1 *	*	Cirrosis. Alcoholismo activo. Cirrosis alcohólica.
Creatinfosfocinasa (CPK)	Suero	*		Necrosis muscular.
Coproporfirina	Orina	*		Hepatitis tox. Porfirias.
Creatina	Sangre	*		Necrosis renal.
Creatinina	Sangre	*		Necrosis renal.
Fosfatasa alcalina (F. Alc.) (ALP)	Suero	* * *	*	Hepatitis. Neoplasias. Icter. Obs. Intr. (EDTA, SH ₂ , I ⁻ , F ⁻ As, Carbamatos Nefropatía.

(Continúa)

Tabla 13.3. Parámetros bioquímicos de interés diagnóstico en toxicología clínica (*Continuación*).

Parámetro/símbolo	Muestra biológica	Valor		Sugerencias diagnósticas
		Alto	Bajo	
Gammaglutamiltransferasa (GGT)	Suero Biopsia hígado Orina	* * *		Hepatitis. Preneoplasia. Nefropatía.
Glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G-6-PDH)	Suero Eritrocito		* *	Metales y compuestos orgánicos. Metales y compuestos orgánicos.
Glutamato deshidrogenasa (GLDH)	Suero	*	*	Hepatopatías. Intox. barbitúricos. Heparina, metales, sulfanilureas.
Glutamato oxacetato transaminasa GOT o aspartato aminotransferasa (AST)	Suero	* *		Hepatitis, Miositis, Inf. miocardio. Intox. por CO.
Glutamato piruvato transaminasa (GPT) o alanina aminotransferasa (ALT)	Suero	*		Hepatitis. Intox. barbitúricos. Lesión hepatocito (permeabilidad).
Glutatión	Suero		*	Alter. mec. oxidat.
Glutatión transferasa (GST)	Orina	*		Nefrosis.
Lactato deshidrogenasa (LDH)	Suero Orina	* *		Necrosis tisulares. Intox. faloidina Anfetamínicos. p-acetamol. Nefrosis.
Leucinaminopeptidasa (LAP)	Suero Orina	* * *	*	Hepatitis crónica. Icter. Obst. Intr. EDTA. Metales. Choque anafiláctico.
Lipasas	Suero	*		Pancreatitis, Ictericia obst. Intra.
Monoaminoxidasas (MAO)	Suero		*	Intox. por Hg, tetraetil plomo, S ₂ C
Nitrógeno de α -aminoácidos	Suero	*		Hepatitis crónica tox.
Nitrógeno no proteico	Sangre	*		Intox. por metales.
Ornitil-carbamil-transferasa (OCT)	Suero	*		Hepatitis agudas.
Protobilinógeno			*	Porfirias.
Proteínas	Orina	*		Intox. por metales.
Ribonucleasa	Orina	*		Intox. por cadmio.
Transferrina deficiente en carbohidratos (CDT)	Suero	*		Alcoholismo crónico
Troponina	Suero	*		Necrosis cardíaca
Uroporfirina	Orina	*		Porfirias.

Algunos autores, como Wolf, afirman que los niveles séricos de cuatro enzimas pueden ser suficientes para detectar las patologías hepáticas; son la GPT, GOT, GGT (gamma-glutamyl transferasa o transpeptidasa) y ChE (colinesterasa). Estas enzimas deben determinarse simultáneamente, es decir, en la misma muestra de sangre, para obtener un enzimograma que da mayor información que los valores aislados.

La tasa plasmática de una enzima depende de la velocidad con que sale del hepatocito afectado y, por tanto, de la gravedad y extensión de la lesión, que permeabiliza la membrana citoplasmática.

La relación GOT/GPT se conoce como cociente de Ritis; es <1 en la hepatitis, cuando sólo está afectada la permeabilidad de la pared de la membrana celular, y es >1 cuando también está alterada la membrana de las mitocondrias y hay necrosis celular.

En la hepatitis crónica activa están elevadas las GOT, GPT y GGT, y el cociente GGT/ GOT es superior a 1. Esta relación aumenta grandemente de valor en todas las formas de intoxicación alcohólica crónica (hepatitis alcohólica, hígado graso y cirrosis), porque el nivel sérico de GGT se eleva manifiestamente; mientras que su valor normal medio es de 50 UI en la mujer y 60 en el hombre, los alcohólicos presentan fácilmente valores superiores a 100 y hasta de 1.000. Sin embargo, para nosotros (Repetto y Sanz, 1985) es más representativo de la afectación por alcohol el aumento de la alcohol-deshidrogenasa (ADH) y el cociente ADH/GGT refleja más precozmente que el GGT/GOT la afectación hepática por el alcohol; sin embargo, en la cirrosis dicho cociente presenta valores bajos, lo que refleja el gran deterioro del parénquima.

La elevación de la transferrina deficiente en carbohidratos es actualmente el biomarcador más específico del alcoholismo, que puede confirmarse definitivamente mediante la cuantificación de la presencia etilglucurónido en cabello, un metabolito del etanol que sólo se retiene en este anexo cutáneo en casos de alto consumo de etanol.

La presencia de aminopeptidasa en leucocitos periféricos es propia de intoxicación por tricloroetileno. La $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ de la membrana de los hematíes y de otras células es inhibida por numerosos tóxicos, entre ellos el S_2C .

Experimentación animal y vegetal

La aplicación de emuntorios, o de sustancias que se suponga contienen tóxicos, a determinados animales o vegetales permite comprobar la presencia de aquellos y fue primitivamente el único ensayo posible.

Aunque puede utilizarse para este fin cualquiera de los animales de experimentación habituales, y siguiendo con ellos las diferentes vías de administración (oral, parenteral, cutánea, instilación), hay algunas especies con definidas aplicaciones particulares. Así, la paloma es especial reactiva para los alcaloides líquidos cicutina y nicotina; el ratón blanco es muy sensible a la morfina, presentando el fenómeno de la cola en forma de S, y a la toxina botulínica; las lagartijas, y más aún la cola aislada, han servido para detectar los tóxicos de selectividad nerviosa y neuromuscular. Especial interés reviste la técnica de López Lomba para el estudio de los alcaloides, barbitúricos y sales metálicas mediante peces espinosos mantenidos en agua ligeramente alcalina.

Sin embargo, ante toda experimentación toxicológica con animales, hay que tener en cuenta que éstos son muy sensibles a las bases putrefactivas o ptomaínas (Tabla 4.9), por lo cual se deberá ser muy circunspecto al interpretar fenómenos tóxicos tras la aplicación de materias que hayan podido sufrir putrefacción y descarboxilación de sustancias proteicas.

También los vegetales, sobre todo los microscópicos, pueden utilizarse para la detección de tóxicos. El método más antiguo que se registra es el de Gossio, consistente en el empleo de un hongo arsenófilo (el *Penicillium brevicaulis*) capaz de transformar derivados fijos de arsénico en arsinas volátiles, detectables por su olor aliáceo. En alguna ocasión el fenómeno ha producido intoxicaciones al liberarse gran cantidad de arsinas, por el crecimiento del penicilio, en aguas residuales o en pinturas de habitaciones húmedas, que contenían sales de arsénico.

Ya hemos comentado nuestra aplicación de cultivos de algas microscópicas en placas de agar para la detección de la presencia de productos herbicidas en sangre de intoxicados (Capítulo 11).

Citemos, por último, la afinidad de plantas como el lirio de agua por el mercurio, que permite

Tabla 13.4. Clasificación de los principales biomarcadores humanos y ambientales según su especificidad o selectividad.

BIOMARCADOR (+/-)	TÓXICOS	MUESTRA
Especificidad máxima		
+ Detección del compuesto o sus metabolitos – Acetilcolinesterasa, VLB 70% – Aminolevulínico-DH (ALAD) + Protoporfirina (IX o ZnPP) – Esterasa diana de neuropatía (NTE) – Adelgazamiento del cascarón del huevo de aves silvestres + Imposex: superposición de genitales + Vitelogenina en especies ovíparas + Carboxihemoglobina, VLB: 3.5% + Cianhemoglobina	Compuestos estables Organofosforados y carbamatos Plomo Plomo OP causantes del S. retardado: mipafox, metamidafos Antiandrogénos: DDE Tributilestaño Compuestos estrógenicos Monóxido de carbono Cianuro	Varias Sangre, tejidos Sangre Sangre Linfocitos Cerebro Cascarón Gasterópodos Suero Sangre Sangre
Especificidad media		
+ Transferrina deficiente en carbohidratos (CDT) + Oxidasas de función mixta y citocromo P-450II B1 + Citocromos P-450I A1 y A2, evaluados mediante AHH, EROD, ECOD o PROD – Vitamina A y tetrayodotiroxina (T4) + Metalotioneínas + Metahemoglobina, VLB: 1.5%	Alcoholismo Inductores tipo I, alifáticos: CCl ₄ , cloroformo, nitrosaminas Inductores tipo II, aromáticos: hidrocarb. arom. policíclicos clorados (PCB), policloro dibenzofuranos (PCDF), policloro dibenzodioxinas (PCDD) PCB Metales Oxidantes débiles: fenilhidrazina, Pb, anilina, nitrobenzeno	Suero Hígado y tejidos o estudio funcional Hígado y tejidos o estudio funcional Sangre Linfocitos, tejidos Sangre
Especificidad baja		
+ Proteínas de estrés HsP + Malonildialdehído + Enzimas antioxidativas: GSH, SOD, GSH-R + Aduetos con proteínas: Hemoglobina, Albúmina + Aduetos del ADN (reparables) + 8-hidroxidesoxi guanosina + Roturas cromosómicas (cometa, micronúcleos) + Mutaciones, intercambio de cromátidas o intercalación – Reparación del ADN	Diversos Diversos, estrés oxidativo Diversos, estrés oxidativo Diversos, estrés oxidativo Genotóxicos Diversos, estrés oxidativo Genotóxicos Genotóxicos Genotóxicos	Tejidos Suero Tejidos Eritrocitos, Sangre Linfocitos, epitelio bucal Linfocitos, epitelio bucal Linfocitos, epitelio bucal Linfocitos, epitelio bucal Linfocitos, epitelio bucal

detectar la presencia de este elemento en aguas residuales industriales, sin más que observar el espléndido crecimiento de dicha planta en tales condiciones.

Ensayos inmunológicos

Los métodos analíticos basados en fenómenos de inmunorreacción, al principio de aplicación exclusivamente biológica, se han desarrollado con la preparación de reactivos específicos cada vez más complicados y la intervención de modernas técnicas fisicoquímicas. De esta forma los primitivos ensayos de detección de anticuerpos han pasado a constituir técnicas de detección y valoración de sustancias químicas definidas, con aplicación en endocrinología (para la valoración de hormonas naturales), en farmacología (seguimiento de fármacos) y en toxicología (para la búsqueda y determinación de tóxicos).

Por estas razones, los estudiaremos con detalle en el Capítulo 15, dentro del apartado de *Métodos previos y simplificados de análisis toxicológico*.

BIBLIOGRAFÍA

- Bozza-Marrubini ML. *Intossicazioni acute*. Milano: Ed. Medico Farmaceutica, 1987.
- Faulner W. *Handbook of clinical laboratory Data*. Ohio: C.R.C., 1968.
- Fuhner H. *Toxicología médica*. Barcelona: Ed. Científico-Médica, 1956.
- Garfía A. La importancia del laboratorio de Histopatología en la autopsia médico-forense. *Rev Esp de Med Legal*, 1992; 72-73: 143-152.
- Heyndrickx A. *Human toxicology* Bruselas: European Press, 1978.
- INSHT. *Límites de exposición profesional para agentes químicos en España*. Madrid. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2006. <http://www.mtas.es/insht/>.
- Jakubowskin M, Trzcinka-Ochocka M. Biological monitoring of exposure trends and key developments. *J. Occup. Health*, 2005, 47: 22-48.
- Maes RAA. *Topics in forensic and analytical toxicology*. Proceedings of the Annual European Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists. Munich: 1977.
- Magio ET. *Enzimme-immunossay*. Florida: C.R.C. Press Inc., 1985.
- Muller RK. *Diagnose und Therapie akuter Intoxikationen*. Leipzig: 1982.
- Muñoz MJ, Carballo M, Torre AI, García E. Utilización de métodos ecotoxicológicos en control y vigilancia ambiental. En: Repetto M (ed) *Toxicología de Postgrado-06*. CD-ROM, Área de Toxicología. Universidad de Sevilla, 2006.
- Ponsold, A. *Manual de medicina legal*. Barcelona: Ed. Científico-Médica, 1955.
- Proufoot. A. *Intoxicaciones agudas*. Barcelona: Doyma, 1985.
- Rouzius JM. *Thanatologie, mort par intoxication*. Acta medicae legalis et socialis. Vol. XXX. París: Passon, 1980.
- Repetto MR, Repetto M. Correlación de niveles terapéuticos, tóxicos y letales de medicamentos, sustancias químicas y drogas en el hombre. *Actas 3^{er} Congreso Iberoamericano de Toxicología*. Tenerife. 1995.
- Repetto MR, Repetto M. Tabla de concentraciones de xenobióticos en fluidos biológicos humanos como referencia para el diagnóstico toxicológico (actualización). En Repetto, M. (ed.) *Ampliación de Toxicología de Postgrado*. CD. Universidad de Sevilla, 2007. Puede consultarse en <http://www.busca-tox.com>.
- Russel L. Pathology of poisoning. En: Gravey R, Baselt R. *Introduction to forensic toxicology*. California: Biomedical Publications, 1981, págs. 69-86.
- Simonin C. *Medicina legal Judicial*. Barcelona: Ed. Jims, 1966.
- Woodmnan DD. Assessment of hepatic function and damage in animal species. *J Appl Toxicol*. 1988; 8:249-254.

Por análisis toxicológico se entiende el conjunto de procesos analíticos encaminados a poner de manifiesto la presencia de una sustancia de las consideradas tóxicas (baja dosis tóxica, DT) en una muestra. Conforme a la diversificación actual de la ciencia toxicológica (Cap. 1, Fig. 1.1), los problemas que se presentan al toxicólogo son infinitos, y las muestras pertenecen a la más amplia gama de variedades. Efectivamente, del Área fundamental Toxicología analítica se derivan varias ramas aplicadas, como son toxicología analítica clínica, toxicología analítica forense, toxicología analítica laboral, toxicología analítica alimentaria, toxicología analítica ambiental, etc., que conforman las correspondientes subespecialidades profesionales, ya que si bien un toxicólogo analista puede ser capaz, si dispone de los medios adecuados, de resolver problemas de las diferentes ramas, se debe reconocer que cada una de ellas presenta características peculiares, desde el tipo de muestra y su procesamiento y métodos prácticos hasta la forma de interpretar los resultados y redactar el informe, que ha de adaptarse a quien va dirigido (un juez, un ejecutivo, un político, un médico clínico o forense o laboral, etc.). Aunque en el momento actual aumentan los casos de toxicología ambiental y ecotoxicología, la mayor demanda a los laboratorios de toxicología analítica siguen siendo a causa de intereses clínicos o forenses.

Como en cualquier eventualidad clínica el diagnóstico de la intoxicación debe apoyarse en el aná-

lisis de laboratorio, no sólo para descubrir o confirmar el agente etiológico, sino también para, dentro de lo posible, evaluar la impregnación tóxica y para controlar los procesos de eliminación y eficacia del tratamiento aplicado (Repetto, 1981; Nogué, 1983).

Ahora bien, un laboratorio de análisis clínicotoxicológicos presenta características diferentes del dedicado a toxicología forense. Por ejemplo:

1. *La urgencia* de disponer el resultado es «máxima» en laboratorio de finalidad clínica y «relativa» en el forense. También es relativa la urgencia en la intoxicación crónica.

2. *La información* (anamnesis) que recibe el analista para orientar el análisis es bastante frecuente en el primer caso y muy escasa en el segundo.

3. Las *muestras* biológicas que llegan al laboratorio de toxicología clínica suelen ser sangre (suero) y orina, mientras que el toxicólogo forense dispone también de vísceras y faneras.

4. *La concentración* del producto en las muestras del intoxicado son generalmente más bajas en los casos clínicos (especialmente en las intoxicaciones subagudas y crónicas, y en pacientes sometidos a tratamiento depurador) que en los casos forenses (generalmente de intoxicación sobreaguda y muerte inmediata).

5. *La determinación* del tóxico en los casos forenses puede ser de carácter cualitativo o semicuantitativo, pues suele ser suficiente encontrar en el

medio orgánico un xenobiótico para llegar al diagnóstico mientras que con fines clínicos normalmente es necesaria la determinación cuantitativa para evaluar el grado de impregnación y gravedad de la intoxicación, de donde deducir las medidas terapéuticas más convenientes. Por otra parte, en los casos forenses puede tener poca relevancia el dato cuantitativo, al ser difícil su interpretación si se desconocen circunstancias como momento de la absorción, tiempo transcurrido, actuaciones evacuadoras, etc.

Consecuentemente, el laboratorio de toxicología clínica debe proporcionar los resultados con *rapidez, precisión y exactitud* (WHO-WFA CTC, 1980), lo que exige disponer de métodos *rápidos, sensibles y específicos* (Gotelli, 1978).

6. Un problema importante se refiere a la envergadura o grado de instalación que debe tener un laboratorio de toxicología. En la reunión conjunta Word Federation of Associations of Clinical Toxicology Centers and Poison Control Centers y la

World Health Organization (Genève, 1981) se sugirió la posibilidad de tres niveles de complejidad, que posteriormente fueron considerados por Repetto, 1985 y 2006 (Tabla 14.1):

NIVELES DE COMPLEJIDAD EN LOS LABORATORIOS DE TOXICOLOGÍA

a) *Laboratorio de nivel primario*, instalado en los centros sanitarios, anexo al laboratorio de análisis clínico. Su equipamiento y personal es el mínimo, imprescindible para desarrollar técnicas de inmunoensayo, colorimétricas y cromatográficas y poder detectar de forma cualitativa las sustancias (medicamentos, plaguicidas, etc.) que con mayor frecuencia produzcan intoxicaciones en la localidad o zona.

Aunque la utilidad de estos laboratorios es innegable, debe tenerse presente la advertencia de

Tabla 14.1. Laboratorios de Toxicología. Niveles de complejidad.

Nivel	Ubicación	Tipos de análisis	Muestras	Utillaje ⁴
I. Básico	Centro sanitario Inst. Prov. Med. Legal	Cualitativos más frecuentes ¹ Cuantitativos frecuentes	Orina Sangre Drogas	Inmunoensayos ⁵ . Cromatografía de capa fina ^{4,5} . Cromatógrafo de gases.
II. Intermedio	Deps. Universitarios Insts. Reg. Med. Legal	Determinados tóxicos ² concretos (plaguicidas, contaminantes, drogas, etc.)	Ambientales Alimentos Productos Sangre, orina	Inmunoensayos. Espectrofotómetro AA. Cromatógrafos de gases. Cromatógrafos de líquidos.
III. Superior (de Referencia)	Centros de Toxicología	Todos los posibles ⁶ Evaluación toxicológica ³	Cualesquiera Cualesquiera	Cromatógrafos de gases. Cromatógrafos de líquidos unidos a espectrómetros de masas. Espectrómetro de Plasma. Bioensayos. Instalaciones específicas. Instalaciones específicas.

Tomado de Repetto, 2006.

Observaciones:

1. De los tóxicos con mayor incidencia local

2. Tóxicos en los que el laboratorio esté especializado

3. De productos industriales o farmacéuticos, biotoxinas, residuos, vertidos, etc.

4. Están proscritos los *kits* y las reacciones coloreadas por su escasa fiabilidad

5. Solamente para cribados de orientación; admitidos en laboratorios clínicos pero no en los forenses; no se deben emitir informes definitivos con estas técnicas sin confirmación por técnicas instrumentales.

6. Debe disponerse de *patrones certificados y de sustancias de referencia*.

Goulding (1974) de que «laboratorios de segunda fila» pueden hacer más daño que beneficio. Efectivamente, los métodos rápidos y directos (sin

extracción del tóxico de la muestra), como son las reacciones coloreadas y las inmunológicas, están sujetos a numerosas interferencias y reacciones

Tabla 14.2. Hitos en el análisis químico-toxicológico.

1775	Descubrimiento de la arsina (H_3As) y su combustión: Carlos Gustavo Scheele, químico sueco.
1781	«la única prueba de una intoxicación es identificar el veneno en el cuerpo del intoxicado», Plenck, farmacéutico alemán.
1813	<i>Traité des poisons</i> , con métodos analíticos. Mateo José Buenaventura Orfila, médico y químico español.
1836	Aplicación de la prueba del arsénico según Scheele: Jacobo Marsh, químico inglés.
1839	MJB Orfila identifica el arsénico en órganos distintos del tubo gastrointestinal y demuestra la distribución del tóxico.
1842	Prueba por electrodeposición de As, Sb y Hg, por Reinsch.
1855	Determinación de fósforo: Eilhard Mitscherlich, químico alemán.
1874	Distinción entre alcaloides y ptomaínas: Selmi, químico italiano.
1889	Espectroscopía de la carboxihemoglobina: Seyler y Balthazard.
Métodos extractivos/separativos	
1844	Sistemática para tóxicos inorgánicos: Fresenius (1845) y von Babo (1847). Método sulfonítrico: Denigés. Mineralización en horno de microondas (1980).
1850	Método de extracción de alcaloides (nicotina): Stas, farmacéutico belga. Modificación del anterior por Otto (método Stas-Otto, 1885). Destilación / microdifusión (Conway). Sistema de «espacio en cabeza» (1980).
Métodos cromatográficos separativos	
	Líquido-líquido (1960). HPLC separativa (1970's). Líquido-sólido. En fase sólida (SPE) (1990). Microextracción en fase sólida (SPME) (1990's). Microextracción en fase sólida, en espacio en cabeza y derivatización en la propia fibra (HS-SPME-der.) (2000). Extracción dinámica en fase sólida (SPDE) (2000). Cromatografía de fluidos supercríticos (1990's).
Técnicas instrumentales de determinación	
1950's	Cromatografía sobre papel y en capa fina. Colorimetría y Espectrofotometría UV, IR, FI.
1960's	Espectrofotometría de absorción atómica. Activación neutrónica. Cromatografía GL y LL (HPLC).
1970's	Inmunoensayos.
1980's	Espectrometría de plasma (ICP). Técnicas GLC y MS acopladas.
1990's	Técnicas acopladas: HPLC-MS. GLC-MS-MS, HPLC-MS-MS, etc. ICP-MS. Electroforesis capilar (CE). CE-MS.

cruzadas, proporcionan elevados porcentajes (del orden del 25 por 100) de falsos resultados positivos o negativos, y no distinguen entre fármaco primitivo y sus metabolitos, lo que puede conducir a importantes complicaciones clínicas.

b) *Laboratorios de nivel intermedio*, como la generalidad de los existentes en cátedras universitarias, centros de medicina del trabajo, etc., que disponen de algún instrumental como espectrofotometría U.V. o de absorción atómica, cromatógrafos, etc., y están capacitados para la determinación incluso cuantitativa de tóxicos concretos, como metales, plaguicidas, etc., con una cierta especialización. Pueden rendir un importante servicio clínico.

c) *Laboratorios de nivel superior*, correspondiente a un verdadero centro de toxicología, con la mejor instrumentación científica, incluida la espectrometría de masas, y capacitados para realizar sistemáticas analíticas toxicológicas generales y actuar como centros de referencia de los anteriores.

Se han publicado otras propuestas de clasificación de los laboratorios, como la que representa la posición conjunta de la Asociación nacional de bioquímicos clínicos y el Servicio nacional de información toxicológica del Reino Unido (Watson, 2002), en un intento, tantas veces frustrado, de incluir el análisis toxicológico entre las actividades ordinarias de los laboratorios generales hospitalarios; aparte de estimar la interpretación con una intención toxicológica de los parámetros bioquímicos ordinarios, considera dos tipos de laboratorios:

a) laboratorio básico de toxicología, que debería existir en todos los hospitales que admiten pacientes con sospecha de intoxicación; deben ser capaces de emitir resultados en menos de dos horas, tras buscar, por lo menos: carboxihemoglobina, metahemoglobina, etanol, digoxina, paracetamol, salicilatos, litio, hierro, etc.;

b) laboratorio de ensayos toxicológicos específicos, que no se estima necesario que exista en todos los hospitales sino que haya uno de cobertura regional. Debe ser capaz de efectuar tamizados generales (*screening*) toxicológicos y de determinar acetilcolina, etanol, metanol, etilenglicol, paraquat, fenitoína, metrotexato, arsénico, mercurio, plomo, por lo menos.

7. El número y distribución de los laboratorios de toxicología depende de las características socioeconómicas del país. No es fácil la creación y

mantenimiento de estos laboratorios, como lo indica el que en EE UU tan sólo el 29 por 100 de los Poison Centers disponía de laboratorio propio (National Clearing House por Poison Control Bulletin, 1982).

Los laboratorios de nivel superior sólo se justifican funcional y económicamente con una distribución regional, soportados financieramente por los ministerios de Sanidad, Educación o Justicia; se sugiere que los laboratorios de los distintos niveles inferiores existentes en una región estén coordinados con el de nivel superior, para el establecimiento de métodos y técnicas estandarizadas, formas de expresión de resultados, interpretación clínica, etc.

FASES DE ACTIVIDAD EN UN LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA

Las actividades en el laboratorio tienen tres fases claramente distintas (Flanagan, 2002):

1ª fase. Preanalítica: incluye la recepción y registro de la muestra y su documentación; estudio de la información disponible sobre la presunta intoxicación, incluyendo los antecedentes (sospechas, medicaciones, actividad laboral o aficiones del intoxicado, etc.); datos clínicos suministrados por el médico que lo atendió, etc.; decisión sobre la prioridad del análisis frente a otras solicitudes recibidas.

2ª fase. La propiamente analítica o realización de los análisis que correspondan.

3ª fase. Interpretación de los resultados y redacción de un informe, atendiendo a la información clínica y toxicológica y /o en colaboración con un médico toxicólogo; aunque no es necesario que el informe llegue a un diagnóstico definitivo, que correspondería al médico clínico o médico forense, según el caso, debería proporcionar a éstos una base toxicológica suficiente para ello. En caso necesario, para aclarar todas las eventualidades, deben realizarse nuevos análisis de las mismas muestras o de otras; por ello, se deben conservar apropiadamente las muestras un tiempo prudencial, manteniendo en todo momento la cadena de custodia.

El abordaje de estas actividades ha evolucionado enormemente a lo largo de los años, en que se han producido innovaciones o hitos que merecen ser recordados, como se resume en la Tabla 14.2.

LA MUESTRA PARA EL ANÁLISIS TOXICOLÓGICO

Unas veces la sustancia problema puede ser un líquido orgánico (sangre, orina, saliva) o porciones de tejidos (hígado, riñón, cerebro, uñas, pelos) en los que se debe buscar la presencia de un producto exógeno (xenobiótico) con el objeto de informar a los tribunales de justicia (toxicología judicial) o para establecer el diagnóstico y controlar el curso terapéutico (toxicología clínica). Otras veces, la muestra problema o «prueba» suele ser un comprimido medicamentoso, restos vegetales, residuos en una taza, vaso o botella. En ciertas ocasiones, el objeto de análisis toxicológico es un alimento, una bebida, el envase de una conserva, o unos cigarrillos (toxicología social o económica). En otras oportunidades las muestras proceden del aire urbano o de un recinto industrial o de la sangre u orina de los trabajadores (toxicología ambiental o laboral), o de los diferentes compartimientos de un ecosistema (aire, aguas, sedimentos, plantas, gusanos, aves, huevos, mamíferos, etc.).

Mención especial requiere el uso de muestras artificialmente preparadas, con destino al ensayo de técnicas analíticas o a su periódico «control de calidad». Algunos analistas obtienen dichas muestras adicionando tóxicos a sangre, orina o vísceras, acondicionando así lo que llaman muestras *envenenadas, fortificadas o reforzadas*. No debe perderse de vista que tales preparaciones en modo alguno son equiparables a muestras reales extraídas de un individuo (humano, animal de experimentación o planta) intoxicado, porque el tóxico no se hallará igualmente unido a las proteínas, ni existirá la misma distribución intracelular y extracelular, ni se presentarán las interferencias o dificultades debidas a metabolitos o derivados del producto tóxico (restos moleculares, glucuronatos, sulfatos, etc.), todo lo cual condiciona que los procesos extractivos requieran diferente complejidad, y que los resultados puedan ser diferentes.

Unas muestras de extraordinaria utilidad en toxicología como patrones o controles son las denominadas *muestras certificadas* o estándares de *referencia*, proporcionadas por instituciones nacionales o internacionales de estándares, metrología o referencia.

Esta extensa variedad de clases de muestras exige que el abordaje del análisis toxicológico

adquiera muy diferentes características. Ello también obliga a seleccionar adecuadamente las muestras, prepararlas y acondicionarlas apropiadamente y remitirlas al laboratorio de forma que no pierdan utilidad para el fin que se las destina. Básicamente, las muestras deben ser homogéneas y representativas.

Hay casos en que es necesario impedir las fermentaciones, putrefacciones, evaporaciones... y se hace preciso añadir sustancias conservadoras, mantener refrigeración, etc.; pero en otras ocasiones tales precauciones pueden resultar incluso perjudiciales. Más adelante, en este mismo capítulo, se aconsejan las precauciones a seguir en cada caso.

Cuando las muestras se preparan apropiadamente pueden remitirse al laboratorio por correos o por servicios de mensajería, según la clase de muestras, pero siempre teniendo en cuenta las legislaciones locales en cuanto al tipo de envases (primarios y secundarios) y la necesidad o no de refrigeración, y debe indicarse claramente si existe riesgo potencial de infección (hepatitis, sida, etc.) en caso de rotura durante el transporte o para los manipuladores en el laboratorio.

Por otra parte, todos los laboratorios deben disponer de un sistema documental que garantice la «cadena de custodia» de las muestras, en todo momento.

CADENA DE CUSTODIA

El concepto *cadena de custodia* engloba el conjunto de normas de actuación que garantizan la identidad de una muestra o prueba y, consecuentemente, de los resultados analíticos. Está basado en la cumplimentación de una serie de documentos, normalmente formularios impresos, en que se verifican o certifican todos los pasos que siguen las muestras desde su obtención hasta su destrucción o conservación posterior, así como la identificación de las personas que hayan intervenido en todo el proceso.

Se distinguen las cadenas abiertas, cerradas y mixtas:

Cadenas de custodia abiertas son aquellas en que intervienen organismos y personas de distinta entidad, que se transfieren la prueba y su control de unos a otros, observando normas que pueden ser diferentes.

Cadenas de custodia cerradas, en que todo el proceso de gestión de la muestra es realizado por miembros de un mismo organismo según una normativa única.

Las *cadenas mixtas* son cadenas cerradas en la que también participan personas ajenas al organismo, como transportistas, etc. (Flores *et al.*, 2006)

El objetivo básico es la garantía de que los resultados que ofrece el laboratorio corresponden realmente a la muestra que, en un principio, debió tomarse, y obviar errores que no estén relacionados con el método analítico (lo que se certifica con la documentación especificada en los códigos de Buenas Prácticas de Laboratorio).

La cadena (así llamada porque no debe romperse o interrumpirse en ningún momento) se inicia en el instante de la recogida de la muestra, con la *cadena de custodia externa* mediante anotación de la fecha y hora, clase de muestra, lugar de la toma, condiciones y circunstancias de la recogida, del envasado, acondicionado (aditivos añadidos, etc.) y medios por los que se remite al laboratorio. Todas las personas por las que, en cualquier momento, hayan pasado las pruebas así como las que se hacen cargo de ellas para su transporte deberán dejar constancia de su identidad y firmar este documento.

A la llegada al laboratorio, se inicia la *cadena de custodia interna*, en nuevos documentos que habrán de registrar:

- Fecha y hora de la recepción.
- Identidad de la persona que recibe la muestra.
- Identidad y firma del portador.
- Naturaleza, cantidad y condiciones en que se recibe la prueba.
- Documentación que la acompaña (documento de la cadena de custodia externa, solicitud de análisis, etc.).
- Identificación de la prueba mediante un número de registro, preferiblemente a través de código de barras.
- Lugar y condiciones (frigorífico, almacén, etc.) en que se conservará hasta su análisis.
- Destino posterior.

Obviamente, antes de iniciar los análisis deberá comprobarse la concordancia de todos los datos que aseguran la identidad de la muestra, así

como sus condiciones de conservación, y hacerlo constar en el informe. Finalmente, en la documentación de la cadena se consignará el destino que se da a la muestra (paso a otro laboratorio, conservación, devolución, destrucción, etc.), y cualquier otra eventualidad que pudiera sobrevenir, con identificación y firma de las personas que intervengan.

Consideraciones generales sobre las muestras biológicas

a) *Muestras hemáticas*. Dado que los xenobióticos son distribuidos por la sangre a todos los tejidos, la concentración sanguínea suele ser (aunque no siempre) un indicador de la impregnación tisular y de la afectación. La mayor parte de los xenobióticos orgánicos van disueltos en el plasma o unidos a las proteínas y lipoproteínas séricas; sólo algunos se transportan por los hematíes. Como al coagular la sangre y separarse el suero puede haber pérdidas por arrastre, es preferible reservar el suero para los estudios enzimológicos. Por tanto, la sangre total y el plasma son las muestras más representativas. El ideal es que el laboratorio reciba sangre total, sin coagular y sin hemolizar, adicionada con fluoruro sódico sólido (5 mg/ml) que, al secuestrar el calcio (forma fluoruro cálcico insoluble), impide la coagulación y, por ser inhibidor enzimático, evita la fermentación y la putrefacción. Posteriormente el analista decidirá si utiliza la sangre total o la centrifuga para separar el plasma y trabajar con él, pues resulta más cómodo y libre de interferencias y pigmentos que la sangre, y no forma, como ésta, tantas emulsiones con los disolventes orgánicos.

En toxicología clínica es frecuente el empleo de suero o plasma para la investigación de compuestos orgánicos.

Como el plomo va unido al estroma de los hematíes, para determinar este elemento es imprescindible sangre total, pero el NaF interfiere, y se debe usar EDTA.

b) *Orina*. Es una matriz fácil de trabajar, con pocas interferencias, pero muchos xenobióticos se excretan mal por esta vía, por lo que el análisis puede o no ser representativo. No precisa adición de conservadores.

c) *Contenido gástrico, líquido de lavado gástrico o vómitos*. No presentan demasiados inconvenientes prácticos, y su análisis puede ser rápido por ser fácil la separación del xenobiótico. Pero los resultados no son representativos de la intoxicación porque se refieren a xenobiótico no absorbido (aunque esté dentro del cuerpo, no ha pasado a la sangre y no pudo actuar sobre los receptores).

d) *Vísceras*. El hígado, seguido del riñón y el cerebro, son los órganos que más xenobióticos acumulan, por lo que se prefieren como muestras analíticas. No deben ser adicionados de agentes conservadores (porque pueden contaminar o interferir el análisis) sino mantenidos, cuando sea posible, a baja temperatura pero sin congelar.

Las normas que actualmente están en vigor en España, para la selección y preparación de muestras destinadas al análisis toxicológico en sus modalidades: judicial, clínica y ambiental, son:

A) Muestras de interés judicial

Su selección, preparación y remisión debe hacerse de conformidad con la Orden del Ministerio de Justicia de 13 de febrero de 1968, que fue propuesta por Tena, Bertrán y Repetto, modificadas por Orden del Ministerio de Justicia, de 8 de noviembre de 1996 (BOE de 23-12-96).

Cuando interesa la investigación de un tóxico determinado por existir sospechas o conocimiento de su incidencia, las muestras más convenientes para el análisis se señalan en la Tabla 14.3 Pero cuando no hay sospechas o pistas y debe realizarse

una sistemática toxicológica general, es preciso remitir al laboratorio las siguientes muestras:

- Un frasco bocal con estómago y su contenido, y además vómitos y los lavados gástricos que en el tratamiento de urgencia se hicieran con agua sola.
- Un frasco seco con sangre limpia en cantidad de unos 50 ml, cuando procede de cadáver; en este caso no es factible separar el suero porque la sangre no coagula, pero no precisa conservador.
- Un frasco con orina (el máximo que sea posible extraer).
- Un frasco bocal con aproximadamente 100 g de hígado y la vesícula biliar. Es la víscera más interesante para la investigación de tóxicos orgánicos y metálicos.
- Un frasco bocal con aproximadamente 100 g de cerebro, especialmente indicado en intoxicaciones por disolventes orgánicos, productos de limpieza en seco, anestésicos y plaguicidas orgánicos, fósforados y clorados.
- Un frasco bocal con aproximadamente 100 g de cuña renal. Esta cantidad deberá aumentarse ante la sospecha de intoxicación por mercurio, fósforo, cadmio, manganeso, etc.
- Un recipiente con 100 g de pulmón.

Observaciones

1. Cuando se sospechen intoxicaciones por arsénico, plomo, berilio, talio, estroncio, uranio y flúor, deberán remitirse muestras de uñas, cabellos o huesos.

Tabla 14.3. Muestras de mayor interés para la investigación de los grupos que se especifican.

	Sangre	Orina	Cont. estom.	Cerebro	Hígado	Riñón	Bilis	Huesos, uñas, pelos	Muestra de sust. sospechosa
Drogas de adicción	X	X		X	X	X	X	X	X
Alcohol etílico	X								
Disolv. orgánicos	X	X	X	X					X
Medicamentos	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Plaguicidas	X	X	X	X	X	X	X		X
Metales	X	X	X	X	X	X		X	X
CO y gases	X								
Setas		X	X						X

2. En caso de que interese la investigación de tóxicos gaseosos o volátiles, será preciso evitar que los frascos contengan cámaras de aire, y éstos, herméticamente cerrados, se deben mantener el mayor tiempo posible en el frigorífico.

3. Todos los frascos deben ser etiquetados con expresión de su contenido y procedencia. Podrán precintarse, pero no debe utilizarse lacre, para evitar la contaminación por éste.

4. Nunca se añadirán agentes conservadores a las muestras, a excepción de:

- Sangre para determinación de alcohol. Se usará fluoruro sódico sólido.
- Tejidos para estudio histológico. Se usará formol al 10 por 100 para cubrir la muestra troceada.

Especial interés revisten las normas para:

Preparación de muestras sanguíneas con destino a la determinación de alcoholemia, drogas, monóxido de carbono o disolventes orgánicos

Desinfección del instrumental. Deberá realizarse por agua en ebullición; nunca con alcohol ni desinfectantes. Preferentemente será nuevo, de un solo uso.

Desinfección de la piel. Se efectuará con disolución acuosa de sublimado, agua con jabón o agua pura; nunca se empleará alcohol, tintura de yodo u otros disolventes con fracciones volátiles. Después de la extracción se realizará la desinfección adecuada.

Cantidad de sangre que se debe extraer. El método normalizado del Instituto de Toxicología sólo precisa unos 5 ml de sangre, con los cuales se pueden verificar varias determinaciones paralelas. Pueden prepararse otra muestra para un contraanálisis.

Frasco para remitir la muestra. Debe utilizarse un frasquito pequeño, de los empleados para análisis clínicos o para antibióticos, perfectamente lavado, enjuagado repetidas veces con agua bidestilada y absolutamente seco. La sangre deberá llenarlo totalmente, y estará perfectamente ocluido y el tapón asegurado. Podrán utilizarse viales comerciales de los destinados a análisis clínicos, y preferentemente los que llevan incorporado la aguja hipodérmica y el conservador y practicado el vacío en su interior, siempre que se llenen por completo.

No se empleará jamás tubo de ensayo tapado con algodón.

Aditivos conservadores. Se debe adicionar a cada frasco una cantidad de 50 mg de fluoruro sódico sólido como conservador así como 50 mg de oxalato potásico como anticoagulante para los 5 ml de muestra indicados; se mezclará bien después de tapar. Para el CO no es preciso conservador. Asimismo, se procurará evitar que la muestra reciba calor; pero si la muestra se preparó adecuadamente, puede remitirse por correo.

Etiquetado. Cada frasco será provisto de una etiqueta en la cual debe consignarse:

- Nombre de la persona a quien se extrajo la sangre.
- Fecha y hora de la extracción.

Documentación. Estas muestras deberán ser acompañadas con un oficio certificativo, firmado por el facultativo que realice la extracción, en el que se consigne si la misma y la preparación de las muestras se verificó de acuerdo con estas normas, además de indicar el nombre de la persona a quien se extrajo la sangre y fecha y hora de la extracción. También se consignará qué autoridad judicial ordenó la extracción, en caso de que la remisión se efectúe directamente desde Casas de Socorro o servicio sanitario, etc.

Sangre de cadáveres. Aunque la norma establece la recogida de sangre venosa (sin especificar) o de las cavidades cardíacas, los conocimientos actuales aconsejan tomarla de la vena femoral, cuya concentración es más representativa (véase capítulo de Toxicocinética, apartado de *Redistribución postmorte*) y también el humor vítreo.

Muestras de cabellos. Como se expuso en el capítulo de Toxicocinética, el pelo, en general, y el cabello, en particular, se ha convertido en una muestra de enorme valor en la investigación de la absorción crónica de numerosos tóxicos y, especialmente, de drogas de abuso; es una muestra muy fácil de obtener, incruenta, de conservación indefinida y que troceada permite un análisis secuencial que proporciona lo que hemos llamado *perfil cronológico* de la absorción o consumo.

La muestra ideal se corta de la zona occipital, donde el cabello suele ser más grueso, cuidadosamente con unas tijeras desde el mismo cuero cabelludo; se debe obtener un mechón del grosor de un

lápiz, que se deposita sobre una hoja de papel a la que se fija con una tira de papel adhesivo colocada transversalmente al mechón. Sobre el papel se señala cual es el extremo cercano a la raíz (proximal) y cual es el libre o distal.

Muestras procedentes de exhumación

También requiere atención la recolección de muestras de un cadáver enterrado. La normativa para las muestras procedentes de *exhumación* es la siguiente:

Si la inhumación fuere reciente y aún se reconocieran las vísceras, se remitirán éstas como en el caso de autopsia. En su defecto, deberán recogerse los restos aún visibles o bien el magma existente en las distintas zonas.

Deben siempre acompañarse muestras de los revestimientos del ataúd y de las tierras que le rodean, sobre todo cuando la inhumación se realizó en el suelo. Todas las muestras irán colocadas en frascos de vidrio y las de tierra deberán contener unos 100 g de la tierra de encima y 100 g de debajo del ataúd.

Según señala el Decreto de 13 de julio de 1967, y la O. M. de 30 de junio de 1987, las muestras deben ser remitidas por los juzgados directamente al departamento del Instituto Nacional de Toxicología que corresponda (Madrid, Barcelona o Sevilla), por el medio más rápido, y con la información más completa.

Se hará constar cuando se sospeche que el intoxicado pudiese estar afectado de alguna enfermedad infectocontagiosa (hepatitis, sida, etcétera).

B) Muestras de toxicología clínica

Tanto para el diagnóstico analítico, como para el control de la evolución terapéutica de un enfermo intoxicado, las muestras más útiles son sangre, orina y contenido gástrico; en casos concretos pueden seleccionarse uñas, cabellos o heces. La normativa recomendable es la siguiente:

Sangre: La muestra óptima es sangre total sin coagular (véase lo expuesto anteriormente).

Conservador. Dos gotas de heparina o de disolución al 10 por 100 de fluoruro sódico o EDTA.

K₂, por cada 5 ml de sangre. Pero debe tenerse en cuenta que el NaF interfiere en la determinación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica, por lo que a tal fin se usará EDTA.

Cantidad. Como mínimo se suministrarán:

— 5 ml para determinación de elemento inorgánico o de sustancia orgánica concreta (sospechada).

— 10 ml para la investigación toxicológica general orgánica y otro tanto para la inorgánica.

Casos especiales. Para la investigación de *disolventes orgánicos* en sangre (alcoholes, benceno, éter, etc.) y gases (cianhídrico, óxido de carbono, etc.), el frasco o tubo que contenga la sangre deberá estar *totalmente lleno* (sin cámara de aire) y tapado *herméticamente*. El conservador de elección será fluoruro sódico.

Orina: No se añadirá ningún conservador. Sólo en casos especiales se requiere orina de 24 horas.

Cantidad mínima. 30 ml por cada determinación.

Para una sistemática general, mínimo: 100 ml.

Contenido gástrico: La mayor cantidad posible obtenida por vómito, aspirado o lavado. Ningún conservador.

Dado que el hallazgo de una sustancia en el contenido gástrico sólo indica su presencia, en mayor o menor cantidad, y que posiblemente ha sido ingerida (ya que también puede proceder, según se vio en el capítulo de Toxicocinética, cuando se trata de sustancias de naturaleza básica, de salida desde la sangre y, por tanto, haber sido absorbida por cualquier otra vía) y, además, el hecho de que se halle en el estómago supone, en general, que no ha pasado aún a la sangre, que es el vehículo para que alcance y afecte a los órganos diana, su presencia en el estómago no permite considerarla como responsable de una intoxicación ni, mucho menos, interpretarla en términos cuantitativos. Es decir, y como ejemplo: una cantidad de alcohol en el estómago no se corresponde en absoluto con la alcoholemia ni con el grado de afectación etílica del sujeto.

Todos los envases deben ser etiquetados con el nombre del enfermo, servicio clínico y centro sanitario, y en el escrito de remisión, además de

repetir estos datos y los que pudieran dar orientación al análisis, se debe consignar el nombre y teléfono o dirección electrónica del facultativo solicitante, para que se le pueda comunicar el resultado en el menor tiempo posible.

C) Muestreo de contaminantes ambientales

La normativa más completa en España es la elaborada por el Instituto de Seguridad e Higiene en el Trabajo, que incluye métodos de toma de muestras de aire en ambiente laboral, así como muestras biológicas del trabajador (aire exhalado, sangre y orina), con el objeto de su comparación con los valores límites de referencia publicados (INSHT, 2006) para la evaluación y control de los riesgos derivados de la exposición y absorción por cualquier vía, principalmente por las vías respiratoria y dérmica, a los agentes químicos que pudieran estar presentes en los puestos de trabajo. También se acompaña de los métodos oficiales de dicho Instituto para el análisis de cada tipo de muestra y contaminante; sin embargo debe tenerse en cuenta que, por su propia naturaleza, aunque los métodos de muestreo y análisis recomendados son útiles para cualquier aplicación, los aludidos valores límites reglamentados no son aplicables para la evaluación de la contaminación del medio ambiente que pueda afectar a la población general.

De conformidad con la naturaleza física y química de los contaminantes, se distinguen diferentes variedades de muestreo, como las siguientes:

1. Polvos, nieblas, gases y vapores recogibles sobre filtros de soportes sólidos, constituidos por ésteres de celulosa, membranas de plata, resinas, etc. Los portafiltros se colocan dirigidos hacia abajo, para evitar el depósito por sedimentación, y se conectan a bombas aspiradoras cuyo flujo y el volumen del aire filtrado se establece según las recomendaciones para cada caso.

2. Gases y vapores recogibles mediante frascos lavadores (*impingers*) cargados con líquidos absorbentes; la naturaleza de éstos y demás requisitos es variable.

3. Vapores orgánicos absorbibles en tubos de carbón activo. Estos tubos, de 4 mm de diámetro interior y 70 mm de longitud, contienen carbón

activo de 20/40 mallas; a veces se conectan dos tubos en serie, o es preciso emplear tubos de mayores dimensiones.

En todos los casos se utilizan bombas aspirantes perfectamente calibradas, y el tiempo de muestreo debe ser grande para obtener resultados representativos, características y valor que no poseen los muestreos instantáneos.

El muestreo de aguas para estudiar su posible contaminación requiere tomas a tres niveles de profundidad, y en distintos lugares. Cuando la muestra se destina a estudio de contaminación microbiana es preciso recogerla directamente en frasco estéril (igual que el tapón), y si esto no fuera posible, por lo menos, deben enjuagarse ambos, repetidas veces, en la misma agua de la que se tomará la muestra.

INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS QUÍMICO-TOXICOLÓGICO

Para iniciar un proceso de análisis químico-toxicológico, las primeras y fundamentales operaciones han de encaminarse a separar del medio problema o muestra las sustancias que posean interés toxicológico. Si esta separación no es correcta, si las posteriores purificaciones del extracto obtenido no son suficientes, y si no se logra aislar entre sí a los diversos tóxicos que pudieran estar presentes simultáneamente, existirán muchas probabilidades de que el resultado final sea erróneo. Pero antes que nada hay que partir de una muestra homogénea; si la muestra no está bien triturada, mezclada y homogeneizada no será representativa y los resultados nunca serán reproducibles.

Cuando el número de sustancias químicas utilizadas por el hombre era escaso, podía aceptarse la fiabilidad de técnicas de identificación basadas en reacciones coloreadas o microcristalinas, realizadas muchas veces sobre la sustancia problema, sin someterlas a separaciones o purificaciones. Pero en la actualidad, cuando se han sintetizado más de treinta y cinco millones de sustancias, el problema es infinitamente más difícil, y el abordaje y resolución exigen el empleo de las más modernas técnicas fisicoquímicas, y, existiendo éstas, el análisis no puede, en conciencia, dar un resultado sobre

la base de un mero cambio de color, de la forma de unos cristales o de procedimientos más o menos arcaicos, influidos por infinitas variables. Por esto, el químico toxicólogo ha de extremar su esfuerzo en el aislamiento y purificación, para tener la máxima seguridad en la identificación. La persecución de esta seguridad presenta a veces un dilema: los procesos de purificación pueden exponer a defectuosos rendimientos cuantitativos, y hasta a la pérdida de algún tóxico; aunque esto, normalmente, será preferible a un resultado seudopositivo, el químico tiene frecuentemente que establecer en cada caso cuál es el margen entre la purificación necesaria y la suficiente.

Como consecuencia de todo lo expuesto, se deduce claramente que existen dos modalidades de análisis toxicológico, según se posean o no pistas sobre la sustancia que se busca y, por otra parte, todo proceso analítico supone una serie de fases que permitan el aislamiento y la determinación del tóxico.

MODALIDADES DEL ANÁLISIS QUÍMICO-TOXICOLÓGICO

Son dos:

A) Cuando no se sospecha de ningún tóxico concreto (se han de buscar todos), se requiere seguir una sistemática analítica toxicológica general.

B) Cuando se busca un determinado tóxico. Puede hacerse por:

a) Separación del medio.

b) Técnicas de identificación directas (sin separación) sólo aplicables en muestras poco complejas o con técnicas muy especiales, como:

- Inmunoensayos.
- Cromatografía gaseosa, sola o combinada con espectrometría de masas, mediante fracciones de vapor (espacio en cabeza).
- Cromatografía de líquidos.
- Espectrofotometría de absorción atómica, etcétera.

Esta opción es la menos frecuente. En general se requiere separación del medio, con procesos de purificación y, a su vez, concentración del produc-

to o analito problema. Cuando se busca uno determinado, se eligen los procedimientos de separación, purificación, etc., más apropiados a su naturaleza química, con el fin de obtener los mejores rendimientos. Ello permite, también, el empleo de menor cantidad de muestra.

De acuerdo con las *buenas prácticas de laboratorio*, se deben establecer *procedimientos normalizados de trabajo* que garanticen un trabajo sistemático y unos resultados seguros.

FASES DE UN ANÁLISIS QUÍMICO TOXICOLÓGICO GENERAL

Son las siguientes:

- I. Separación o extracción del tóxico de la muestra problema.
- II. Fraccionamiento del extracto.
- III. Purificación de los extractos obtenidos.
- IV. Detección de la sustancia xenobiótica.
- V. Identificación del tóxico.
- VI. Determinación o valoración cuantitativa.

En ocasiones, la determinación cuantitativa exige recomenzar el análisis, una vez identificado el tóxico, para aplicar los métodos de extracción y purificación más específicos para ese tóxico en particular, de forma que la recuperación del mismo sea máxima, a consecuencia de mayor separación y menor descomposición y pérdida y, finalmente, emplear la técnica de valoración más apropiada.

DOTACIÓN BÁSICA DE UN LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

¿Qué puede entenderse por «dotación básica»? Aunque la pregunta es muy general, abarca dos aspectos importantes:

a) el personal, que indudablemente debe estar constituido por titulados superiores y auxiliares, con formación específica en química analítica, química orgánica e instrumentación fisicoquímica, además de en toxicología general y particularmen-

te en toxicocinética, para saber elegir las muestras de interés e interpretar los resultados;

b) instalaciones y material; aparte de la equipación de vidrio y reactivos y de equipos comunes de cualquier laboratorio, para un laboratorio de Toxicología merecedor de tal nombre en la actualidad, podemos resumir como requisitos mínimos, de acuerdo con Menéndez (2006), los siguientes:

b.1. Sistema de extracción de muestras:

Según las preferencias, las posibilidades económicas, la naturaleza de las muestras a recibir, el número de muestras a analizar por día y la rapidez requerida en la respuesta, se puede elegir entre:

- *extracción líquido/líquido*, con embudos de llave o de decantación, o sistemas micro (tubos de agitación y separación mediante pipetas);
- *extracción en fase sólida en columnas* comerciales disponibles en el mercado internacional;
- sistema de *microextracción en fase sólida* y/o de *extracción de tóxicos* volátiles por el método de «*espacio en cabeza*» (véase Capítulo 15), bien de forma manual o bien automática, dependiendo del número de muestras a analizar.

b.2. Detección previa:

- Equipo para la realización de ensayos de tamizado (*screening*) por cualquiera de las modalidades de enzimoimmunoensayo existentes.

b.3. Identificación y cuantificación

- *Mínimo*:
 - *Equipo de cromatografía de gases* (CG) con detectores FID y NPD, absolutamente indispensable en nuestro tiempo.
Si se prevé la necesidad de analizar plaguicidas organoclorados sería necesario un CG con detector ECD.
 - Si es necesario analizar elementos metálicos y no-metálicos, un equipo de *espectrometría de absorción atómica*, dotado de sistemas de «cámara de grafito», «vapor frío» y «generación de hidruros».
 - Asimismo, para la digestión de muestras orgánicas un horno de microondas.

- *Conveniente*: Equipo de CG/Espectrometría de masas
 - Equipo de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR ó HPLC) con detector UV de microarrays, y si es posible económicamente un equipo CLAR/Espectrometría de masas/API.

Indispensable

Amplia dotación de *patrones* normales y marcados isotópicamente de *calidad certificada*, que abarquen los xenobióticos más comunes de uso local.

ORIENTACIÓN DE LOS ANÁLISIS TOXICOLÓGICOS

Frecuentemente, el químico al que se pide un análisis toxicológico se enfrenta con un vastísimo problema, cuya resolución, si no se le suministran algunas pistas, consumirá considerable esfuerzo, tiempo y dinero. Por el contrario, datos orientadores permitirán no sólo reducir el campo de estudio y utilizar técnicas más apropiadas, sino que también evitarán tener que insistir en ensayos de comprobación si, cuando se identifica el tóxico, éste se corresponde con la información recibida. En efecto, aunque la información que se proporcione al analista no le permita prescindir normalmente de una sistemática general, por lo menos, suele ser extraordinariamente útil en la confirmación de los resultados que vaya obteniendo, o por el contrario, obligarle a continuar la investigación hasta conseguir resultados concordantes, si fuera posible.

La orientación puede provenir de muy diversos orígenes, pero, en líneas generales, suele corresponder a dos grandes grupos de datos:

- Información general.
- Información clínica.

Información general

Pertenecen a este grupo todos los antecedentes y datos anamnésticos que pueden tener alguna relación con la intoxicación, como son:

- profesión del intoxicado, si maneja productos químicos;
- tratamiento médico a que pudiera estar sometido anteriormente;
- presencia de productos químicos, o medicamentos o sus envases, en el lugar donde se produjo la intoxicación (es muy conveniente el envío al laboratorio de estas sustancias, para que sirvan de testigo y para determinar si su composición no corresponde a la teórica);
- información de familiares, vecinos o compañeros del enfermo.

Información clínica

El médico que atienda al intoxicado o que realice la autopsia debe proporcionar los datos clínicos o necrópsicos que obtenga, pues, aunque no sucede siempre (Capítulo 13), pueden resultar muy valiosos. En el campo judicial, esta información está contemplada en la citada O.M.

VARIABLES QUE INFLUYEN EN LOS RESULTADOS ANALÍTICOS

Las principales causas de variación pueden agruparse en:

- Momento de toma de la muestra.
- Estabilidad del compuesto en la muestra y homogeneidad de ésta.
- Amplitud y reproducibilidad del método analítico.
- Interferencias en el método analítico.

En relación con los inmunoensayos enzimáticos, véase la Tabla 15.6.

Momento de toma de la muestra

Cuando el individuo absorbe una sola dosis de tóxico, la concentración en sangre, orina o vísceras dependerá lógicamente del momento toxicocinético en que se tome la muestra o se produjera la muerte, para muestras *postmortem*; por ejem-

plo, si se extrae sangre inmediatamente después de administrado un tóxico, éste puede encontrarse en la fase distribución, con acumulación transitoria en determinados órganos, y muy baja concentración en la sangre hasta que se establezca el equilibrio; las diferencias son muy importantes en los fármacos de vida media corta (por ejemplo, heroína); también influye la redistribución tardía del tóxico, tanto *in vivo* como postmorte. Los niveles más representativos son los que corresponden al *estado de equilibrio* del tóxico en todo el organismo. Para mayor seguridad se puede en los estudios *in vivo*, y sobre todo para los de «monitorización», obtener dos muestras con una o dos horas de intervalo.

Gráficos de concentraciones frente al tiempo, como se ofrecen en las Figuras 14.1, 14.2 y 14.3, ayudan a interpretar los análisis con fines clínicos y pronósticos.

En los casos de una absorción crónica, y especialmente cuando interesa monitorizar una medicación o en el campo de la toxicología laboral, las muestras tienen un valor escaso cuando se obtienen en momentos que no correspondan con el estado estacionario o de equilibrio. Si se toman en la fase de absorción, tanto las concentraciones del fármaco, como los valores farmacocinéticos que se calculen, serán erróneos por defecto. El estado estacionario en la absorción crónica se refleja mejor en muestras de sangre tomadas antes de la próxima absorción. Para fármacos con vida corta es aconsejable extraer dos muestras, las primeras dos horas antes de la absorción (estado de equilibrio), y las segundas dos horas después de ésta (momento del pico o máxima concentración probable); aunque debe tenerse en cuenta que el estado de equilibrio no se establece hasta que la absorción no se prolonga como mínimo durante un periodo de 5-7 veces el tiempo de vida media del fármaco. Para xenobióticos con vida media larga es suficiente una extracción en la fase de equilibrio. En caso de signos de toxicidad debe efectuarse entonces la extracción.

En Toxicología Laboral u Ocupacional, los momentos óptimos para la toma de muestras biológicas son:

- a. Al comienzo de una jornada laboral (aproximadamente a las 16 horas de que se interrumpiera la anterior).

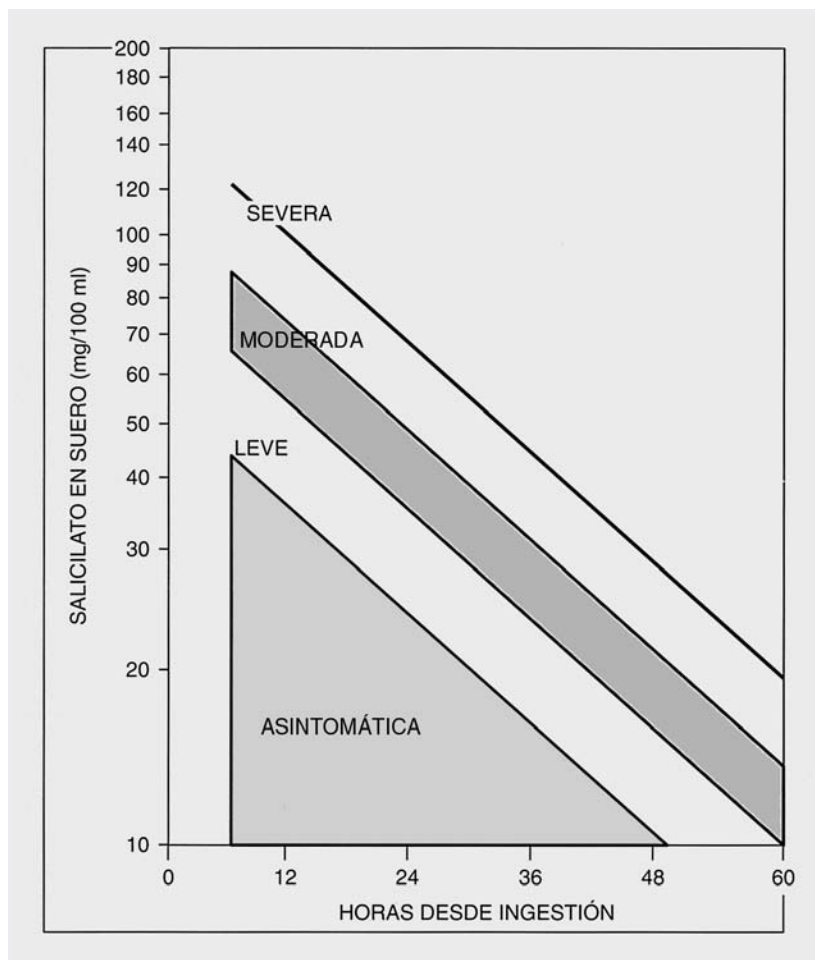


Figura 14.1. Nomograma de Done en la intoxicación por salicilato.

b. Al empezar la última jornada semanal, que permitirá conocer el tóxico acumulado durante la semana.

A partir de muestras obtenidas de cadáveres pueden obtenerse resultados anómalos por varias razones:

a) Al determinar la alcoholemia a un individuo que sufrió un accidente con traumatismo torácico, se encuentran valores bastante más altos que los reales, porque la compresión sobre el estómago expulsa el alcohol hacia fuera; cuando en la autopsia se toma sangre de la cavidad torácica se pueden obtener valores de 6 g de alcohol por mil, o superiores. En estos individuos debe extraerse humor vitreo ocular.

b) Conforme avanzan los procesos autolíticos putrefactivos, medicamentos, alcohol y otros xenobióticos experimentan una «redistribución postmorte» de unos órganos y vasos sanguíneos a otros, impulsados por los gases de la putrefacción y la acción de la gravedad, hacia las partes más declives del cadáver, según la posición de éste, y favorecido por la pérdida de consistencia de los tejidos que aumenta la permeabilidad. (véase *Redistribución postmorte*, en capítulo de Toxicocinética).

Estabilidad del compuesto en la muestra

Frecuentemente el fármaco es transformado por las enzimas del plasma; este inconveniente se

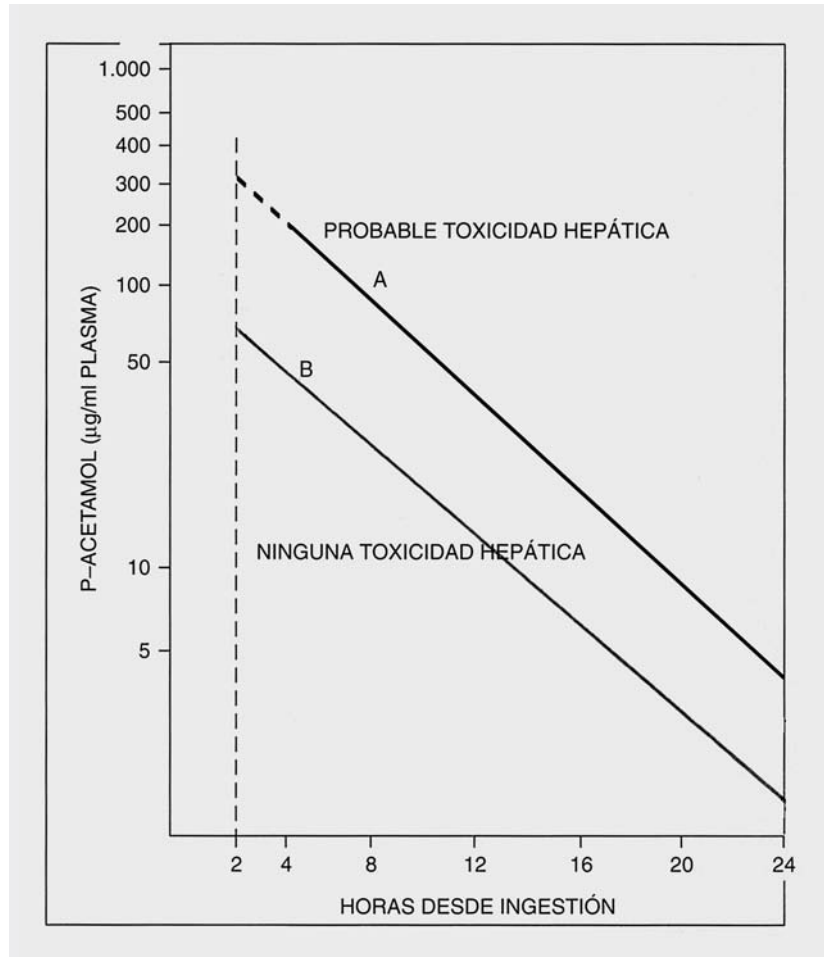


Figura 14.2. Representación semilogarítmica de niveles de p-acetamol en plasma frente al tiempo, Nomograma de Rumack-Matthew. Hay casos de lesión hepática por encima de la línea B (150 mg/ml).

reduce en las muestras de sangre total, que precisan un conservador para que no coagulen; el aditivo (por ejemplo el FNa) puede, al propio tiempo, inhibir los procesos de degradación.

Se sabe que la vida media de degradación a temperatura ambiente de la difenilhidantoína, fenobarbital y primidona en plasma es aproximadamente de 7 días, mientras que el clonazepam es inestable incluso a 4 grados.

Como demostró Kawai (1995), durante la putrefacción de la muestra biológica, la *Pseudomona sp.* que puede estar presente es capaz de biotransformar los glicoles, por ejemplo el dietilenglicol (DEG) en los ácidos etoxiacético y etoxiglicolacético; esto lleva a Ferrari (2007) a justificar la imposibilidad de hallar DEG en los cadáveres de los intoxicados en Panamá (2006, véase Prefacio.

Desastres tóxicos), lo que supone un error surgido en la Fase Preanalítica.

En definitiva, hay una razón más para preferir como muestra la sangre total adicionada de fluoruro sódico cristalino, independientemente de que en suero o en plasma puedan encontrarse valores bajos de xenobióticos que se transportan unidos a los hematíes.

Amplitud y reproducibilidad del método analítico

En este punto nos parece pertinente apuntar una precisión terminológica, dada la frecuencia con que se confunden los términos, mientras que la Ciencia es básicamente conceptual; nos referimos a los con-

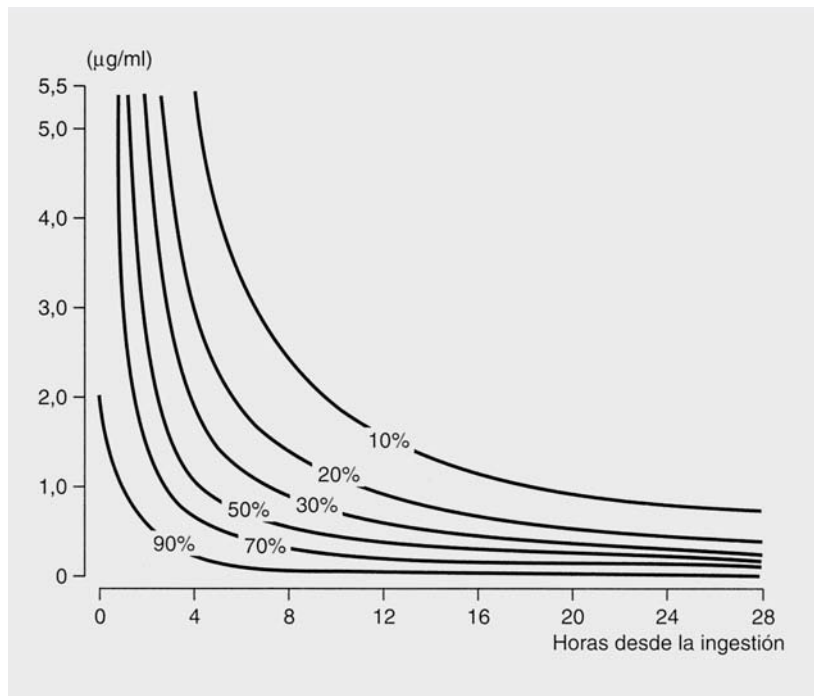


Figura 14.3. Relaciones entre la concentración de paraquat en plasma ($\mu\text{g/ml}$), el tiempo transcurrido desde la ingestión y la probabilidad (%) de supervivencia (Hart, 1985).

ceptos de método y de técnica. Conforme precisa el diccionario de la Real Academia de la Lengua Española, *método* es el procedimiento y orden que se sigue en las ciencias y abarca todo el modo de obrar; es decir, en un análisis químico supone el conjunto de operaciones que van desde la preparación de la muestra, la aplicación de las diversas técnicas, instrumentales o no, que sean precisas, y los pasos a seguir hasta obtener el resultado; en ocasiones, dentro de un método general hay métodos parciales, como los de extracción, filtración, evaporación, etc. mediante el apropiado uso de determinadas *técnicas*, que son los recursos instrumentales disponibles.

Los métodos analíticos deben ser amplios, capaces de, mediante un proceso sistemático, abarcar el mayor número posible de sustancias tóxicas, todo lo contrario de los métodos de tamizado (*screening*) que se limitan a grupos concretos (véase Tabla 15.7).

También han de ser muy sensibles, pues, a partir de muestras del orden de 2 ml, han de ser capaces de detectar concentraciones inferiores a los 50-100 microgramos, pero más importante aún es que los resultados se repitan cada vez que se analiza la misma muestra. Ello exige la continua participación en programas de control de calidad, tanto dentro del propio laboratorio como interlaboratorios.

Hemos dicho que un laboratorio debe disponer de métodos rápidos, sensibles y específicos para poder proporcionar en el menor tiempo posible resultados aunque las concentraciones del tóxico sean bajas en la muestra, lo que nos obliga a conocer los límites de sensibilidad, cualitativo y cuantitativo, de nuestros métodos, que también deben ser específicos.

Interferencias en el método

El método analítico debe ser específico pues debe distinguir unos productos de otros, por muy parecidos químicamente que puedan ser; es decir, debe distinguir incluso a los metabolitos o productos de biotransformación del primitivo. Por ello el analista debe desestimar todo método que pueda ser afectado por reacciones cruzadas (que confunden unos productos con otros) y debe conocer el límite de confianza o de *fiabilidad* o «punto de corte» (*cut off*, en inglés), que son aquellos resultados por debajo de los cuales no se está absolutamente seguro de que procedan del tóxico que se identifica o se valora (Repetto *et al.*, 1995).

NORMATIVAS DE GARANTÍA DE CALIDAD EN LOS ANÁLISIS TOXICOLÓGICOS

Las normativas más antiguas destinadas a garantizar la calidad de los resultados de análisis toxicológicos son, probablemente, las relativas al control del dopaje impuestas por el Comité Olímpico Internacional y algunas federaciones deportivas; después, la Sociedad de Toxicólogos Forenses norteamericanos y la administración americana sobre drogas de abuso (*Drugs Enforcement Authority*, DEA) han desarrollado las suyas; finalmente la Asociación Internacional de Toxicólogos Forenses (TIAFT) ha publicado sus recomendaciones en 1994, con el compromiso de revisarlas periódicamente, y que debieran ser tenidas en cuenta por todos quienes realicen análisis toxicológicos con destino judicial o forense, de la misma forma que los de carácter clínico deben atenerse a las normas generales de las asociaciones de analistas clínicos.

Directivas anteriores de la OCDE o de la UE no se refieren específicamente a análisis toxicológicos sino a la evaluación experimental de la toxicidad.

Las muy completas normas de TIAFT abarcan:

1. Exigencias o características mínimas, tanto materiales como de personal (titulaciones, formación, categorías, etc.).
2. Clases, selección y cadena de custodia en las muestras.
3. Recomendaciones sobre la organización del trabajo de laboratorio.
4. Programas de control y de garantía de calidad internos y externos.
5. La justificación de los resultados y características de la emisión del informe.
6. El archivo de pruebas y documentos; próximamente se le añadirá un apartado sobre seguridad e higiene en el laboratorio (Repetto *et al.*, 1995).

Dentro de la gran preocupación actual por la fiabilidad de los resultados, se están extremando las exigencias del cumplimiento de los Códigos de Buenas Prácticas de Laboratorio, de las Normas de Garantía de Calidad y de la acreditación de los laboratorios y de su personal, y en el momento actual, la norma UNE EN ISO 17025, ya que sin cuya estricta observancia de todas ellas los informes analíticos corren, cada vez más, el riesgo de ser rechazados. De entre los requisitos de obligado cumplimiento, debemos resaltar los siguientes:

- a. Capacitación del personal del laboratorio, con rechazo del intrusismo y exigencia de titulación y formación apropiada.

- b. Establecimiento de una cadena de custodia de la muestra, desde el momento de su obtención y traslado al laboratorio, la recepción por éste y todo el itinerario en el mismo hasta su análisis, almacenamiento posterior y destrucción. La cadena de custodia implica diligenciar documentos escritos que certifiquen cada uno de los pasos.

- c. Aplicación estricta de Métodos Normalizados u Oficiales de análisis, si los hubiera, y en caso contrario el seguimiento de Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT), elaborados por el propio laboratorio, sin ninguna libertad por parte del analista de introducir variaciones sobre la norma escrita, partiendo de la premisa de que *un método o procedimiento carece de valor si no está escrito y no ha sido previamente validado*.

En dichos documentos deben figurar los datos, propios de la Química Analítica, obtenidos por métodos estadísticos, relativos a la fiabilidad del procedimiento completo (*precisión, reproducibilidad, exactitud y especificidad*), así como los *límites de detección* y de *cuantificación* de cada sustancia. En relación con este último, y a consecuencia de la cada vez mayor sensibilidad de las técnicas analíticas, se ha impuesto el concepto de *umbral de positividad* o *punto o límite de corte* (*cut off*, en inglés) de cada técnica para cada analito, que se define como *la concentración más baja que puede admitirse como resultado positivo válido*, y corresponde a la concentración de un analito en una muestra concreta, por encima de la cual el método es capaz, con una certeza superior al 95%, de determinar que el analito está presente, mientras que por debajo de aquella concentración la probabilidad disminuye. También debe constar la *desviación estándar*.

- d. Empleo de *sustancias certificadas* como patrones analíticos primarios, obtenidas de firmas comerciales o instituciones de garantía que proporcionen certificado de pureza, de concentración del analito que se investiga y de aplicabilidad al objetivo que se pretende.

- e. Participación frecuente y sistemática en *programas de control* y de *garantía de calidad internos* (organizados por el propio laboratorio) y *externos* (organizados por otros laboratorios, preferentemente los denominados *laboratorios de referencia*, por ser reconocidos como excelentes).

Como ejemplo de la rigurosidad de las normativas actuales, puede consultarse la Decisión de la Comisión de la Unión Europea en relación con los métodos analíticos aplicables a la determinación de residuos tóxicos en animales y sus productos (CE, 2002).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS ANALÍTICOS

El resultado que proporciona un análisis toxicológico no puede ser considerado, generalmente, en un sentido absoluto y matemático.

Por un lado, se presenta la eventualidad de que en el laboratorio no se logre detectar el agente etiológico de una intoxicación; ello puede deberse a dos causas fundamentales:

a) Defectos operatorios, con escasa recuperación del tóxico, por mala técnica extractiva, insuficiente separación de su unión con las proteínas, los glucurónidos, etc.; por excesivas pérdidas en los procesos de purificación o por descomposición (hidrólisis, oxidación, pirólisis) del producto antes o durante las operaciones analíticas; o por utilizar técnicas de detección poco sensibles.

Con los avances de las ciencias y tecnologías de laboratorio, es posible la determinación de la mayor parte de los tóxicos en las distintas muestras biológicas, aunque el tiempo que exige la complejidad de estos análisis disminuye la utilidad del resultado para el diagnóstico clínico, si bien que, por muy tarde que se obtengan los datos, siempre son útiles para la confirmación y para el conocimiento epidemiológico.

b) Desaparición del tóxico del cuerpo del intoxicado antes de que se extraiga la muestra orgánica. Normalmente, se cree que el individuo está recuperado cuando consigue eliminar o excretar el tóxico, pero esto no es siempre cierto; a muchas sustancias puede aplicarse el calificativo «golpea y corre», pues desencadenan un proceso fisiopatológico que puede continuar aunque desaparezca el inductor; recordemos, como ejemplo, el edema cerebral que aparece en el intoxicado por monóxido de carbono tres o cuatro días después de la intoxicación aguda, o la destrucción del parénquima pulmonar 12 días después de haber absorbido paraquat, que se elimina fundamentalmente en 24 horas. Un individuo

puede morir por intoxicación después de haber eliminado el tóxico, como consecuencia de las lesiones que le produjo y, por tanto, resultará imposible detectar el producto en sus vísceras; esto ocurre más frecuentemente en personas que han sido sometidas a modernas técnicas de desintoxicación y supervivencia clínica.

En cuanto a otros factores a tener en cuenta al interpretar concentraciones halladas en muestras de cadáveres, véase el apartado «A. Momento de la toma de la muestra», principalmente en lo que se refiere al momento toxicocinético en que se produjera la muerte o la toma de la muestra. En el capítulo de Toxicocinética, apartado de Distribución, se citan dos trabajos, uno de Curry y Sunshine (1960), y otro de Boratto, McIntyre y Drummer (2002), en que se comparan las concentraciones de fármacos en sangre e hígado *postmorte*, viéndose que son mayores en el último órgano.

Por otro lado, y desde un punto de vista cuantitativo, se observan numerosas discordancias entre las concentraciones del tóxico en sangre y orina de un enfermo y su sintomatología clínica; la frecuencia de esto queda manifiesta en falta de coincidencia, o los amplios márgenes, de las cifras de dosis tóxicas estimadas por diferentes autores. Puede decirse que las tablas de correlación entre los niveles del producto en los líquidos orgánicos y el estado clínico no suelen tener a veces más que un fin meramente orientativo, por las siguientes razones:

1. Muchos de estos datos carecen del suficiente soporte estadístico, pues proceden de pequeño número de observaciones de diferentes autores, que han podido utilizar distintos criterios clínicos. La más clara excepción a este supuesto la presenta la correlación clínica de la alcoholemia, ampliamente comprobada por numerosos investigadores después de amplios estudios estadísticos.

2. Confusión entre valores correspondientes a sangre total, suero o plasma, o las diferentes concentraciones que puede haber en orina cuando existe oliguria o se provoca diuresis forzada. En casos de sobredosis se encuentran grandes diferencias en las concentraciones de las sangres arterial y venosa, que se debe a un retraso en el proceso de distribución el cual no ha permitido aún el establecimiento del equilibrio.

3. Diferencias individuales; al afinar tanto como supone la estimación de fármacos que son activos en dosis muy pequeñas, se ponen de manifiesto diferentes respuestas entre distintos individuos, debido a numerosos factores:

a) Diferente sensibilidad de los receptores, por causa genética, adquirida (tolerancia), o circunstancial. Una importante dificultad para la interpretación de los resultados analíticos desde el punto de vista clínico y forense deriva de los fenómenos de tolerancia que permiten que un individuo habituado a un tóxico pueda deambular portando concentraciones hemáticas del mismo que serían letales para la mayoría.

b) Distinta capacidad de las proteínas plasmáticas para retener los fármacos que transportan; por esta razón a mayor cantidad de producto libre habrá mayor respuesta. Esto puede tener una causa transitoria, como la coexistencia en el plasma de otros productos desplazadores, o bien puede tener origen genético. Así, por ejemplo, Nelía y Cortés han informado que los filipinos experimentan mayor actividad farmacodinámica que los europeos con las mismas dosis de salicílico, porque es mayor la cantidad de éste que permanece libre en el plasma. Este factor podría evitarse si en el análisis toxicológico se distinguiesen las concentraciones de tóxico libre y el ligado a proteínas, lo cual no suele hacerse.

c) Adaptación metabólica, que no sólo produce tolerancia para eliminar antes una dosis (o disminuir más rápidamente la llamada carga corporal), sino que también puede desviar la síntesis de metabolitos hacia otros más o menos tóxicos. Generalmente, en el análisis toxicológico se busca y valora el producto original, y se ignoran metabolitos activos o, por el contrario (según la técnica empleada), se determina el conjunto de tóxico primario y sus derivados; lógicamente, los resultados no serán concordantes. Una misma dosis de amitriptilina (Sjoquist, 1968) puede producir, en distintos individuos, diferencias plasmáticas de hasta 40 veces.

d) Acción de más de un fármaco que, por potenciación o antagonismo, modifiquen la normal respuesta del individuo a la dosis de cada uno de ellos. Esto es frecuente por la polimedicación, la ingestión simultánea de alcohol, y hasta por los contaminantes ambientales. La coincidencia de

sustancias en el organismo origina cambios iónicos y electrolíticos con mutuas modificaciones de la farmacocinética y farmacodinámica.

e) Confusión de tóxicos relacionados químicamente, pero de diferente metabolismo y excreción. Por ejemplo, no es posible comparar datos de excreción urinaria de distintos barbitúricos, pues, si bien los de acción prolongada se eliminan en la orina en elevadas proporciones sin cambio alguno, los de acción corta se destruyen en el hígado. Efectivamente, del barbital o dietilbarbitúrico se puede encontrar en la orina el 80 por 100, y del fenobarbital el 30 por 100; los de acción corta apenas si son detectables en esta excreta, aunque el individuo esté gravemente afectado; así, de pentobarbital se excreta el 0 por 100, igual que de tiopental o pentotal, de hexobarbital, heptobarbital y ciclobarbitál; el más conocido representante de los barbitúricos de acción media, el alilisobutilbarbitúrico, se elimina por la orina en un 20 por 100. Se admite que, en líneas generales, y con grandes variaciones individuales, las concentraciones de barbitúricos en sangre potencialmente letales son 35 mg/l, los de acción corta; 80 mg/l los de acción media, y 100 mg/l, los de acción larga o prolongada.

f) Diferente farmacodinamia de una sustancia según la hora del día y la época; con el desarrollo de la cronotoxicología se está viendo que la misma dosis puede producir diferentes concentraciones plasmáticas, y éstas, a su vez, distintas respuestas farmacodinámicas según el momento de la absorción o de la toma de la muestra.

4. Diferencias de sensibilidad y exactitud en las técnicas analíticas; se observa cómo concentraciones, calculadas por técnicas modernas, que pueden considerarse normales y sin peligro, se habrían estimado peligrosas hace unos años, por la menor sensibilidad de los métodos analíticos entonces empleados.

5. Empleo de técnicas (espectrofotometría UV, o de fluorescencia, reacciones coloreadas, inmunoensayos y cromatografía de capa fina), que no discriminan entre xenobiótico y metabolitos activos e inactivos.

6. Por último, tenemos que incluir entre las causas de alteración de los resultados toxicológicos el empleo de técnicas analíticas desarrolladas con disoluciones acuosas del producto. Este procedimiento, que puede ser útil en un plano teórico, en

la práctica es causa de errores al no haber considerado que en las muestras orgánicas hay proteínas y lípidos que hacen valer unos coeficientes de reparto en las operaciones de extracción; además, tampoco tienen en cuenta las interferencias que los restos orgánicos, los metabolitos en general y los derivados moleculares del tóxico primitivo producirán en el análisis cuando, en lugar de utilizar una muestra artificial, se tiene que trabajar con una muestra orgánica.

Podemos resumir con Osterloh y Snyder (1998), que la interpretación de los resultados analíticos para establecer su correspondencia con el estado clínico suele estar influido por numerosos factores, como son:

I. La presencia de varios xenobióticos, que pueden dar lugar a interacciones tanto de sinergia y potenciación como antagónicas, por lo que no deben interpretarse aisladamente las concentraciones de los diferentes tóxicos.

II. Las características y condiciones individuales del intoxicado, como son: hipersensibilidad, tolerancia, patologías previas o derivadas de la intoxicación, tiempo transcurrido desde la absorción del tóxico, tratamientos de desintoxicación que se le hubieran aplicado, etc.

III. Saturación de los procesos cinéticos a causa de dosis altas, principalmente los de transporte, biotransformación y excreción, lo que hace que la correspondencia de la concentración con el estado clínico no sea lineal.

Sería erróneo deducir de todo lo anterior que los análisis toxicológicos poseen escasa fiabilidad y, por tanto, reducida utilidad. Lo único cierto es que, para interpretar los datos cuantitativos correctamente, debe tenerse presente que, muchas veces, no poseen un valor auténticamente absoluto, variando de un individuo a otro y ante diferentes circunstancias; recuérdese especialmente lo expuesto en el apartado «Momento de la toma de la muestra», en este capítulo. Está suficientemente demostrada la capacidad diagnóstica de un resultado cualitativo o semicuantitativo para resolver casos de interés forense o clínico, y precisamente las modernas técnicas terapéuticas, como la hemoperfusión, no se pueden prescribir sobre la base exclusiva de la sintomatología, sino que exigen saber la naturaleza

del tóxico, para determinar si la terapéutica será útil o no, y conocer las concentraciones hemáticas periódicas, que orientarán sobre la repetición o la interrupción del tratamiento por innecesario o inútil, cualquiera que sea el estado clínico (Tabla 14.4).

En definitiva, la interpretación de los resultados analíticos no es fácil y debe hacerse atendiendo a las características y circunstancias del sujeto y del producto, así como de las implicaciones toxicocinéticas, especialmente en función del tiempo transcurrido desde la absorción del tóxico hasta la toma de la muestra, las medidas terapéuticas aplicadas y de la existencia o no de referencias sobre las correlaciones entre gravedad de la situación clínica y las concentraciones hemáticas, urinarias o tisulares, que aún son escasas. A título de orientación se ofrece la Tabla 14.4.

El riesgo de la excesiva sensibilidad instrumental

El sucesivo desarrollo y mejora de las técnicas instrumentales analíticas, que permiten la detección y la cuantificación de analitos en cantidades cada vez más pequeñas, supone un continuo avance de la Química analítica, que hace posible el conocimiento cada vez más profundo y exacto de la materia, pero presenta el riesgo de que puede llegar a confundir al toxicólogo. Ciertamente, la extraordinaria sensibilidad de los métodos y técnicas modernas es capaz de revelar en cualquier muestra biológica la presencia de iones metálicos, muchos de ellos esenciales, o de sustancias orgánicas diversas (medicamentos, contaminantes, plaguicidas, etc.) en proporciones tan pequeñas que, realmente, no tienen ninguna relevancia toxicológica, al menos en relación con la toxicidad aguda. Por ello, el hallazgo de minúsculas proporciones de sustancias tóxicas debe ser interpretado con enorme prudencia para no concederle una importancia irreal; deben considerarse las características toxicocinéticas de la sustancia, la posibilidad de un tiempo o proceso de eliminación, los valores reconocidos como concentraciones normales o habituales en individuos sanos y en individuos expuestos o intoxicados, etc., antes de asumirlo como un resultado positivo desde la perspectiva toxicológica.

Tabla 14.4. Interpretación aproximada de concentraciones en medios biológicos.

SUSTANCIA	CONCENTRACIONES (mg/l)									
	HABITUALES/NORMALES/ITERAPÉUTICAS					TÓXICAS				
	Sangre	Suero plasma	Orina	Sangre	Suero plasma	Orina	Sangre	Suero plasma	Orina	Orina
Acebutolol		0,2-1,5								
Acetona	3-20	0,4		100	200	46		15	500	
Ácido acetilsalicílico		20-100			150				500	500
Ácido fórmico		0-12			120					
Ácido nalidíxico,		10-30	50-200		40					
Ácido oxálico		1,4-2							10	
Ácido salicílico (z)		20-250		210	150-300				500	
Ácido valproico		30-75	180		80				200	
Alprazolam		0,01-0,05			0,075				0,1	
Aluminio		0-0,015	0,002-0,02		0,1					
Amitriptilina	0,05-0,2	0,04-0,2			0,3-0,5	05-10	2	1,5	2,5	
Amoníaco		0,2-2	130-370							
Anfetamina		0,02-0,15	1-5		0,2	25			0,5	25-700
Antidepresivos tric:		0,1-0,25			0,5				1	
Arsénico	0-0,01	0-0,02	0,002-0,05	0,6 (aguda) 0,01 -0,5 (c)	0,05	1-20 (aguda) 0,05-5 (c)	10	10	0,2	
Atenolol		0,1-1			2				30	
Atropina		0,002-0,03			0,1		0,2	0,2	1,5	
Barbitúricos										
Acción prolongada		5-20			10		50			
Acción media		0,3-10			20		30			
Acción corta		0,1-8			10		20	10		
Bario (sal soluble)	0-0,0024		0-0,006	0,25	3,5 250 mEq/l	0,28	2			
Benceno	0-0,0006					1			1	
Benzoilecgonina		0-0,1	0-5			1			15	
Buprenorfina		0,001-0,005	0,001			0,02				
Buspirona		0,001-0,004								
Cadmio	0,0006 (nf) 0,0016 (f)	0-0,00036	0-0,0014	0,1	0,05	0,1-1	1		5,6	
Cafeína		2-10	0-10		15	15	80	80	25	
Camazepam		0,1-0,6			2					

(continúa)

Tabla 14.4. Interpretación aproximada de concentraciones en medios biológicos. (Continuación)

SUSTANCIA	CONCENTRACIONES (mg/l)									
	HABITUALES/NORMALES/TERAPÉUTICAS					TÓXICAS				
	Sangre	Suero plasma	Orina	Sangre	Suero plasma	Orina	Sangre	Suero plasma	Orina	Orina
Captopril	0,15-1	0,05-0,5			6		60			
Carbamazepina (z)		3-10			10		20			
Carboxihemoglobina (z)	1-3,5 % (nf) 5,8 % (f)			> 10 % (nf) > 15 % (f)			50%			
Carisoprodol		10-35		38	35-40		100			165
Cianuro (z)	0,02 (nf) 0,04 (f)	0,004-0,1	0-0,3 (nf) 0,01-0,8 (f)	0,2	1 (a)		1			0,5
Cinc	4-7,6	0,6-1,3	0,26-0,85		2					[42]
Clorazepato		0,02-1			2					
Clordiazepóxido		0,4-2		5	3	1	20			8
Cloroformo		0,04-5			10		10-30			20-70
Clorpromazina (z)	20-230 (h)	20-500 (h)								
en niños		0,01-0,3 0,5 (h)		1	0,5-1		3			1,2
Cobalto	0-0,001	0,04-0,08								
Cobre	0,8-1,6	0-0,0004	0-0,001	0,8						
Cocaína		0,6-1,5	0,004-0,05		2					5
Codeína	0,03-0,1	0-0,3	0-10		0,5		1			1
Cromo	0-0,0004	0,01-0,1	5-20		0,2	25	1,6			35
Dextrometorfán		0-0,0004	0-0,0015		1	0,09-1				50
Dextropropoxifeno	0,05-0,4	0,01-0,04			0,1		3			3
Diazepam	0,5	0,05-0,5			0,6	2-20	2			20
Difenhidramina		0,1-1		5	1,5-15 (g)		10			20
Digitoxina		0,02-0,1			0,6	2-20	8			40
Digoxina.		0,003-0,025								0,03-0,1
Disulfirán		0-0,002	0,025-0,125		0,003	0,005				0,005
Doxepina		0,05-0,4			0,4-5					8
Efedrina		0,01-0,15			0,15-0,5	0,5-10	8			7-12
Estricina		0,02-0,1	2-30		1	[37]	[5]			[547]
Etanol	1,5-30			500	0,1		0,5-5			0,2
Etilenglicol		0			200-500		4.000			5.000
Fenacetina		0,01-10			50		300			600

Tabla 14.4. Interpretación aproximada de concentraciones en medios biológicos. (Continuación)

SUSTANCIA		CONCENTRACIONES (mg/l)								
		HABITUALES/NORMALES/TERAPÉUTICAS			TÓXICAS			LETALES/POSTMORTE		
		Sangre	Suero plasma	Orina	Sangre	Suero plasma	Orina	Sangre	Suero plasma	Orina
Metanfetamina	0,05									
Metanol		0,05	0-1,5	0,5-4		0,2	25	0,23	10	28
Metilendioxianfetamina (MDA)			0-0,4	0-10	200	100		1.000	400	
Metilendioximetilamfetamina (MDMA)						1,5 (a)	50 (a)	6	4	50-175
Metilfenidato			0-0,3	0-17		0,5-6,5 (a)	[0,5-10]	0,6	[0,42]	[170]
Metoxianfetamina			0,01-0,06	0,1-1		0,5	1-40	2,8		
Metronidazol			0-0,2	0-5		0,3	5	0,3		10
Morfina	0-0,1		3-10 (30)			200 (a)				
Naloxona			0-0,1	0-0,5		0,1	0,5	0,2	0,1	5
Naltrexona			0,01-0,03							
Nicotina			0,001-0,006 (nf)	0,07 (nf)						
# Cotinina			0,01-0,4 (f)	0,1-3 (f)		1	5	5		17
Níquel			0,01-0,35 (f)			1				5
Nitrazepam	0,001-0,003		0-0,003	0-0,002		0,005	0,1-2,5	[7,5]	5	[47]
Nitrofurantoína			0,03-0,1			0,2		1		1-10
Nortriptilina			0,5-2	50-100		3	100-400			
Oxalato	1,7		0,05-0,2	0,2-5		0,2		10	1	25-100
Oxazepam			1-2,4	8-50		3,7/>20 (e)	100	10	20	150
Oxicodona			0,1-1,4			2		3	3	
Óxido nítrico			0,005-0,1	0,2-2		0,2	1-5	5	5	
Paracetamol	17-22 % (h)		300 (h)					350 (80 ml/l)		
Paracuat			10-25			30		50	150	140
Pentaciorfenol					0,1	0,2	0,6	1	2	0,6-10
Pentazocina	0,03-0,16		0,05-1	0-0,6		30	4	50	40	30
Pentobarbital			0,01-0,2	1	0,5	1	3	3	3	3-10
Plomo (Z)			1-5	0,5-1,8	8	10		15	15	15-50
Propoxifeno	0,04-0,3		0-0,005	0,012-0,08	0,7; 0,4 (c)		3,5			
Propranolol	0,05-0,4		0,05-0,5			0,6	2-20	2	2	20
Quinidina	0,3-6		0,02-0,9		1	1		4	4	1-2
Quinina			0,3-5	10-100	10	5-15		30	15	
			2-8	5-10		10		10	12	140

Selenio	0,076-0,14	0,05-0,15 35-75	0,002-0,03	0,4 200	0,4	1	2
Sulfonamidas							
Sulpirida		0,03-0,6					
Talio	0-0,005	0-0,00034	0-0,002	1	1	0,5	2
Temazepam		0,02-0,8		1		0,8	8
Teobromina		10-15		20			
Teofilina en niños		8-15 5-10		15-20 15		50	45 150-300
Tetracioruro de carbono				20	8	260	100
Tetrahidrocannabinol (THC)	(f. pasivo) (f. hachís)	0,001-0,007 0,004-0,2	0,02-0,08 0,05-0,25			0,002	
Tiapríde		1-2					
Tiocianato	3-12 (f)	1-4 (nf) 7-17 (f)	1-4 (nf)	6-35	1,5-15		200
Tioridazina		0,5-1		2		5	5 0,5-2
Toibutamida		40-100		100-500		[600]	[3.500]
Tolueno	0-0,001		1		0-5	4	10 1-5
Tramadol	0,3-1,2	0,1-0,3					
Triazolam		0,002-0,02		0,03		0,04 50 nmol/l	2
Tricloroetanol	2-20	1,5-15		30		100	100 30
Tricloroetileno	30-90 (h)	25-80 (h)		33		5	20
Trifluoperazina		0,005-0,05		0,1-1		0,4	3
Trimetoprim		1,5-2,5		10			
Verapamilo	0,08-0,3	0,05-0,5	[0,36]	1		1	2,5
Warfarina		1-7		10		100	
Xileno	0,001					3	3
Zidovudina		0,3-1		2			
Zoxazolamina		1-5					

Tomado de Repetto MR y Repetto M 2007. La versión completa y actualizada puede consultarse en Buscatox: busca-tox.com.

(a) = efecto tóxico severo tras una única y elevada dosis.

(c) = intoxicación crónica.

(e) = en intoxicación por etilenglicol.

(f) = nivel en fumadores.

(nf) = nivel en no fumadores.

(g) = sueño a coma.

(h) = nivel en anestesia quirúrgica.

(P) = en forma de paraaminofenol.

(z) = se acumula en hemáties.

≠ = metabolito.

[] = caso aislado.

EL INFORME TOXICOLÓGICO

Es el documento que el laboratorio remite al solicitante del análisis o a quien corresponda; especialmente en los casos policiales y forenses, no debe limitarse a un simple formulario o boletín con el dato estricto del resultado, o marcando con cruces determinados casilleros, sino que debe ser un escrito con varias partes bien definidas, aunque se envíe por correo electrónico, ya que se trata de una *declaración pericial*, que en términos forenses recibe el nombre de *dictamen*.

Las principales características de un informe pericial son *claridad* (que sea entendible por no expertos, aunque no hay que huir de términos técnicos que pueden explicarse), *fiabilidad* (realizado de conformidad con los conocimientos científicos, métodos y técnicas de mayor reconocimiento general en el momento) y *objetividad* (realizado con independencia, sin presiones ni afinidades, especialmente en la interpretación de los datos).

Un informe debe estructurarse en las siguientes partes:

1°. *Introducción, Encabezamiento*. En primer lugar hay que consignar quién solicitó el informe, al cual se dirigirá éste.

Seguidamente, si la hubiera, debe citarse la consulta o estudio que se solicita al laboratorio, aunque el analista no tiene que limitarse estrictamente a lo solicitado sino que debe extenderse en la investigación tanto como su profesionalidad le aconseje. Además, según la norma UNE EN ISO 17025, para los informes de ensayo debe indicarse la fecha o fechas de realización del estudio y el número clave que se asigna al informe.

2°. *Muestras recibidas*. Se señalará cuales son las muestras recibidas en el laboratorio y si están inequívocamente identificadas; debe realizarse una prolija descripción detallada de las mismas y de su estado de conservación; en el caso de que las muestras hagan dudar de la fiabilidad del resultado hay que indicarlo claramente; se indicará fecha y hora de recepción de las muestras y la vía por la que han llegado y si hay constancia de su procedencia (donde y quien la obtuvo) y si se acredita haber mantenido una *cadena de custodia externa* desde la obtención hasta la llegada al laboratorio, en cuyo momento se debió iniciar la *cadena de custodia interna*. Con todo ello se

establece la *trazabilidad* y garantía de la muestra.

Diferentes sistemas de calidad o normativas específicas de análisis fijan además determinadas imposiciones de datos que deben figurar obligatoriamente en los informes. Por ejemplo, según la norma ISO-17025 el informe debe incluir una declaración de que los resultados se refieren únicamente a los objetos sometidos a ensayo, etc.

3°. *Análisis*. A continuación se hace la referencia al proceso de análisis; deben citarse muy someramente los métodos y técnicas empleados en las fases de extracción, detección, identificación y cuantificación (basta con decir si se realizó una destrucción de materia orgánica en horno de microondas, o se hizo una extracción con disolvente orgánico líquido-líquido o por columna, y se identificó y cuantificó por cromatografía de gases o de líquidos y si se confirmó con detector de masas, la categoría de los patrones empleados, etc.), y si se han seguido procedimientos normalizados de trabajo (PNT). También debe indicarse si los métodos empleados son considerados oficiales por alguna entidad, si están validados y por quien, y si el laboratorio ha sido acreditado para efectuarlos. Para ostentar la calidad y fiabilidad de cada método y sus resultados, conviene anotar la incertidumbre, límites de detección y de cuantificación y especificidad del mismo. Aunque normalmente no hay que expresarlo en los informes, conviene tener disponible, por si posteriormente se solicitara, documentación de dichos límites y grado de incertidumbre, así como las certificaciones de las revisiones y calibraciones periódicas de los instrumentos, pues pueden ser solicitados en algunos casos conflictivos.

4°. *Resultados*. En la expresión de los resultados hay que ser muy claro y conciso; se recomienda utilizar unidades de medida del sistema internacional (SI), es decir, unidades de masa en microgramos (µg), miligramos (mg) o gramos (g) por unidades de masa en gramos, o de volumen en mililitros (ml) o litros (L); aunque están permitidos los resultados en moles o equivalentes, pueden dar lugar a confusiones entre personas poco familiarizadas con ellos. Como norma general, mantenemos que la elección de las unidades debe hacerse de manera que permitan expresar los números con pocas cifras y pocos decimales, de forma que se minimicen errores y se facilite la

escritura y la memorización. No debieran usarse las expresiones en tantos por ciento (%) más que cuando se refieran a riqueza o pureza, pues exigen aclarar si son en peso /volumen, en volumen /volumen, etc. y originan confusiones.

Cuando no se logre detectar el tóxico buscado o ninguno de ellos, por razones de exactitud y prudencia en el informe no se deben utilizar expresiones como: resultado negativo, tóxico ausente o no presente, etc., sino *no detectado*, sin olvidar el límite de detección del método seguido. Es decir, debe quedar muy claro cuales son las sustancias buscadas, las halladas y las cuantificadas.

5°. *Conclusiones*. El resultado debe volver a referirse en un apartado de conclusiones o resumen, que debe ser claro y conciso, que incluya las sustancias detectadas, que aclare qué tipo de sustancias son, para qué se usan, o de dónde pueden provenir. Si todo el informe debe estar redactado con expresiones claras y, sin perder categoría profesional, con pocos términos exclusivos de especialistas, pues debe ser entendible por personas no versadas, el apartado de conclusiones tiene que ser el más claro, inteligible y contundente, pues muchas veces es la única parte del informe que muchos leen.

6°. *Interpretación*. Debe añadirse una valoración o interpretación toxicológica en forma separada de los resultados. Como ya se ha expuesto, no debe ser un diagnóstico definitivo, misión del médico clínico o forense que cuente con toda la información sobre el caso, sino una valoración toxicológica profesional, preferentemente realizada en colaboración con un médico toxicólogo, indicando si las sustancias halladas en las muestras biológicas lo están en los rangos estimados como normales, tóxicos o letales, teniendo en cuenta las circunstancias que rodean al caso; cuando en el análisis se detectó más de un tóxico, la interpretación toxicológica debe considerar el efecto conjunto y no el de cada uno de ellos aisladamente.

7°. *Destino de las muestras*. Debe añadirse un párrafo en que se afirme si ha quedado muestra sobrante que posibilite otros estudios que fueran precisos o si en los realizados se consumió toda la recibida; en caso afirmativo hay que señalar la forma y condiciones en que custodiarán o destruirán si es autorizada por la autoridad.

8°. *Firma*. Finalmente, el informe debe ser firmado por el o los graduados facultativos que hayan

intervenido en su desarrollo y redacción, con inclusión de la titulación académica, capacitación y cargo, así como la fecha. En determinadas ocasiones, en que se desee mantener el anonimato del analista por razones de seguridad, es posible la firma ilegible más un número clave individual, lo que no impedirá que posteriormente se deba realizar personalmente la ratificación y defensa del informe si se le solicita. Por último, el informe debe llevar el visto bueno (VºBº) del responsable o director del laboratorio, cuya firma solo garantiza que el informe fue realizado por los facultativos firmantes.

Estructura similar, adaptada a cada caso, tienen otros informes toxicológicos no necesariamente analíticos, como los de contaminación ambiental y ecotoxicología, estudios de evaluación de la toxicidad de las sustancias, estudios preclínicos de fármacos, etc.

BIBLIOGRAFÍA

- CE. Decisión de la Comisión en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados. 2002/657/CE. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 17.8. 2002.
- CIBA Found. Symposium: *The poisoned patient: The role of the laboratory*. Amsterdam: Elsevier, 1974.
- Curry A. *Poison detection in human organs*. Springfield: Ch. Thomas, 1978.
- Drummer OH, Gerostamoulos J. Postmortem drug analysis: analytical and toxicological aspects. *Ther Drug Monit* 2002;24:199-209.
- Ferrari LA. Aspectos clínicos, histopatológicos, analíticos y forenses en las intoxicaciones masivas por dietilenglicol. *Ciencia forense latinoamericana*. 2007;1,1, 4-15.
- Flanagan RJ. Interpretation of analytical toxicology results and unit of measurement conversion factors. *Ann Clin Biochem* 1998;35:261-267.
- Flores I, Contreras MT, Sabater J, Radován R. La garantía de calidad en toxicología. En: M. Repetto (ed) *Toxicología de postgrado*, CD. Universidad de Sevilla, 2006.
- Guelen P, Van der Kleijn E. *Rational antiepileptic drug therapy*. Amsterdam: Elsevier, 1978.
- INSHT. *Métodos validados de muestreo y de análisis. Límites de exposición profesional para agentes químicos en España*. Madrid. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 2006. <http://www.mtas.es/insht/MTA>.

- Kawai F. Bacterial degradation of glycol ethers. *App. microbiol. and biotech.*, 1995. 44,3-4, 532-538.
- Korte T, Pykäläinen J, Lillsunde P, Seppälä T. Comparison of rapid test with EMIT, d.a.uTM and GC-MS for the analysis of drugs in urine. *J Anal Tox*, 1997; 21: 49-53.
- Mule H. *Immunoassays for drugs subject to abuse*. Ohio: C.R.C. Press, 1974.
- Osterloh JD, Snyder JW. Laboratory principles and techniques to evaluate the poisoned or overdosed patient. En: Golfrank *et al. Toxicologic Emergencies*, 6^a ed., Stanford, Connecticut, Appleton & Lange, 1998.
- Parker J. Postmortem drug level changes. En: Winek Ch. (ed.) *Toxicology annual*. New York: M. Dekker, 1975, págs. 151-162.
- Reffling C. Poison residues in human tissues. En: Stolman A. (ed.) *Progress in chemical toxicology*, vol. 3. New York: Academic Press, 1967, págs. 363-388.
- Repetto MR, Repetto M. *Correlación de niveles terapéuticos, tóxicos y letales de medicamentos, sustancias químicas y drogas en el hombre*. Tenerife: 3er. Congreso Iberoamericano de Toxicología, 1995.
- Repetto MR, Repetto M. Interpretation of drugs concentration in human fluids. *J. Clin. Toxicol.*, 1998, 38, 135-136.
- Repetto MR, Repetto M. Tabla de concentraciones de xenobióticos en fluidos biológicos humanos como referencia para el diagnóstico toxicológico (actualización). En: M. Repetto (ed.) *Ampliación de Toxicología de Postgrado*. CD. Universidad de Sevilla, 2005. Puede consultarse en <http://www.busca-tox.com>
- Repetto, M *et al. Toxicología avanzada*. Madrid: Ed. Díaz de Santos, 1995.
- Sharman R, Street M. *Immunological considerations in toxicology*. Florida: C.R.C. Press, 1979.
- Sunderman FW, Sunderman F., Jr. *Laboratory diagnosis of diseases caused by toxic agents*. St. Louis: Warren Green Inc., 1970.
- Sunshine I. *Methodology for analytical toxicology*. Ohio: C.R.C. Press, 1975.
- TIAFT. Laboratory guidelines for toxicological analysis. *Tiaft Bull*, 1994; 24(1):7-16.
- Watson I. UK. National Poisons Information Service and Association of Clinical Biochemists. Laboratory analyses for poisoned patients: joint position paper. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 328-339
- Winek Ch. Drug and chemical blood levels. En: Winek Ch. (ed.) *Toxicology annual*. New York: M. Dekker, 1975, págs. 203-226.
- Wong SHY. *Therapeutic drug monitoring and toxicology by liquid chromatography*. New York: Marcel Dekker, 1985.

15

SISTEMÁTICAS ANALÍTICAS TOXICOLÓGICAS

CLASIFICACIÓN DE LOS TÓXICOS CONFORME A LOS PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS

De acuerdo con lo expuesto en el capítulo anterior, en relación con la necesidad de iniciar el análisis toxicológico por operaciones de extracción, separación o aislamiento del tóxico, a partir de la muestra problema, la naturaleza fisicoquímica de las sustancias establece claras diferencias de comportamiento.

Así, podemos valernos de la cualidad de algunas sustancias de pasar con facilidad al estado de gas o de vapor. Por otra parte, si por algún medio destruimos toda la materia orgánica que pudiera haber en una muestra, sólo nos quedarán los tóxicos inorgánicos, mientras que por tratamiento con diferentes disolventes podremos separar las sustancias que nos interesen.

De aquí la clásica división de los tóxicos, atendiendo a los procesos útiles para su aislamiento, en:

- Tóxicos separados en forma de gas o de vapor (volátiles).
- Tóxicos inorgánicos.
- Tóxicos orgánicos.

Ahora bien, entre los productos integrantes de cada uno de estos grupos existen grandes diferen-

cias fisicoquímicas que, merced a los conocimientos actuales, permiten establecer una clasificación más fina (Tabla 15. 1).

SISTEMÁTICAS ANALÍTICAS TOXICOLÓGICAS

El elevado número de sustancias de interés toxicológico impide que, en un análisis, se ensayen uno a uno, sucesivamente, los métodos específicos para la separación y la identificación de cada tóxico. A menos que se busque una sustancia concreta, de conformidad con antecedentes que así lo indiquen o requieran, es necesario seguir unos procedimientos metódicos o sistemáticos que, mediante una programación lógica, permitan aislar y detectar, o desechar, la presencia de cada grupo de sustancias de similares características químico-físicas.

Conforme a la anterior clasificación general de tóxicos, las Sistemáticas Analíticas Químico-Toxicológicas son tres:

- Sistemática para gases y vapores.
- Sistemática para tóxicos inorgánicos.
- Sistemática para tóxicos orgánicos.

Antes de comenzar un análisis toxicológico amplio o total (cuando no se tiene orientación sobre la sustancia que se debe hallar), es preciso

Tabla 15.1. Métodos de aislamiento o separación de tóxicos.**A) Separación de compuestos volátiles (en forma de gas o de vapor).**

Por destilación, con o sin arrastre por aire, vapor de agua, nitrógeno, por microdifusión o por espacio en cabeza:

1. Calentamiento: hidrocarburos de bajo punto de ebullición.
2. Acidificación previa: CO , CN^- , $\text{S}^{=}$, P^{3-} , As^{3-} .
3. Alcalinización previa: aminas.
4. Reducción previa: As^{5-} , P^{5-} .
5. Microextracción en fase sólida.

B) Separación de elementos inorgánicos.

1. Mineralización o desproteinización.
2. Extracción por formación de quelatos: As, Cu, Hg, Pb, etc.
3. Separación por métodos electrolíticos o polaro-gráficos: As, Bi, Hg, Sb.
4. Determinación directa de elementos disueltos, mediante técnicas instrumentales (Tabla 15.2).

C) Separación y determinación de aniones: cromatografía iónica, electrodos selectivos.**D) Separación de compuestos orgánicos.**

Sin o con tratamiento previo de la muestra (desproteinización y liberación de conjugados):

1. Disolución de muestra sólida y filtración.
2. Mezcla de muestra líquida (sangre, orina, aguas, etc.) con disolvente inmiscible y decantación.
3. Extracción en caliente, mediante:
 - Condensador de reflujo.
 - Aparato de Soxhlet.
 - Baño de ultrasonidos (*sonicación*).
 - Horno de microondas.
 - Presión elevada.
4. A partir de muestras líquidas, disoluciones o extractos procedentes de 1, 2, ó 3:
 - Extracción líquido-líquido.
 - Extracción *en Fase sólida*, con productos sólidos, columnas, cartuchos, discos, barras, etc. y posterior elución.
 - Dispersión en *matriz de fase sólida*.
 - Técnicas cromatográficas de:
 - adsorción,
 - partición,
 - fase normal,
 - fase inversa (*reversa*),
 - intercambio iónico,
 - par iónico,
 - tamiz molecular.
 - Separación selectiva molecular (con polímeros marcados).
 - Por inmunoafinidad (anticuerpos).
 - Separación de isómeros (*quiral*).
 - *Microextracción en fase sólida* (sobre fibra de resina y aplicación directa en CG, CL, EC, etc.).
5. Técnicas instrumentales separativas.
 - Cromatografía de gases (CG).
 - Cromatografía de líquidos (CL, HPLC).
 - Electroforesis capilar (EC).
 - Sistema de fluidos supercríticos.

dividir la muestra de que se disponga en cuatro porciones, tres de las cuales se dedican, respectivamente, a cada una de las tres sistemáticas señaladas; la cuarta porción se reserva para posteriores operaciones o comprobaciones, si fuera necesario, o para determinación cuantitativa específica.

SISTEMÁTICAS PARA GASES Y VAPORES

Tradicionalmente, la separación de hidrocarburos de bajo punto de ebullición se realizaba mediante destilación fraccionada o con cámaras o artificios de difusión del vapor (células Conway, matraces de Widmarck, Cavet, etc.).

Desde el advenimiento de la cromatografía gaseosa y el desarrollo del método denominado de «espacio en cabeza» o más propiamente de «cámara de vapores en equilibrio con el líquido» el análisis se ha simplificado notablemente. Basta poner una parte de la muestra en un vial, cerrarlo con tapón perforable, termostatar el vial a 60° y extraer, con jeringa para gases, una toma de los vapores de la parte superior del frasco. Se inyecta en un cromatógrafo, acondicionado para separación de hidrocarburos, y se compara el cromatograma con otros de sustancias patrones. Es conveniente utilizar un estándar interno, y saturar la muestra con cloruro sódico o sulfato amónico sólidos, lo que favorece el equilibrio entre las fases líquida y gaseosa. El procedimiento es óptimo para la determinación del alcohol en sangre o en bebidas, así como hidrocarburos en muestras biológicas, incluso vísceras,

Un gran avance en la determinación de volátiles orgánicos lo ha proporcionado la introducción del método de *microextracción en fase sólida* (SPME) (véase Tóxicos Orgánicos), que consiste en disponer de una jeringa cuyo émbolo se prolonga por una fibra de sílice cubierta de una resina capaz de retener a compuestos gaseosos y volátiles, cuando se hace salir por la aguja al ambiente (sea de un recinto o de un frasco) donde se mantiene unos minutos, y posteriormente se desorbe en el bloque de inyección de un cromatógrafo.

Para la investigación de la presencia de alcohol etílico en presuntos bebedores (normalmente conductores de vehículos de motor) se utilizan los alo-

holímetros, sensores de alcohol o *etilómetros*, capaces de determinar etanol en el aire espirado; los primitivos instrumentos, basados en reacciones de oxidación-reducción o de combustión estaban sujetos a gran número de interferencias (les afectaban todas las sustancias capaces de oxidarse), pero los actuales que utilizan la medida de la conductividad, la espectrometría infrarroja o la espectrometría de masas son muy fiables, siempre que se cumplan las normas de mantenimiento y calibración de los aparatos. Dadas las discrepancias entre los expertos en cuanto a la correspondencia entre «alcohol en aliento» y «alcohol en sangre», a efectos legales se utilizan dos baremos distintos, sin que deba tratarse de trasladar los valores de uno al otro. Los primeros se expresan en miligramos de etanol por litro de aire exhalado (mg/La), mientras que se recomienda expresar la alcoholemia como gramos de alcohol por litro de sangre (g/Ls).

Cuando se alcaliniza una muestra y se calienta pueden separarse aminas volátiles (anilinas, anfetaminas, etc.), y cuando se acidifica la muestra se separan los tóxicos ácidos. Este método sigue siendo útil para la separación del amoníaco, ácido sulfhídrico o del monóxido de carbono de la sangre, al objeto de su posterior determinación, en forma gaseosa, por espectrofotometría infrarroja, o cromatografía de gases con detector de conductividad térmica, o en la clásica célula de Conway.

Independientemente de los ensayos aislados antes referidos, puede seguirse la siguiente sistemática general para tóxicos separables, en forma gaseosa, concretamente, para los iones: CN^- , S^{2-} , As^{3-} , AS^{5-} , P^{5-} , y elementos As^0 y P^0 .

La primera fase se realiza colocando la muestra, homogeneizada y ligeramente diluida, en un frasco lavador, cuyo tubo de salida, en su parte final, se rellena con algodón impregnado en acetato de plomo; en ocasiones (muestras biológicas) es preciso efectuar previamente la «mineralización de la muestra», como se expone más adelante. En el extremo del tubo se coloca un disco de papel de filtro bañado en disolución de sulfato ferroso (para el cianuro), o de nitrato de plata o de cloruro mercuríco (para As y P) y posteriormente secado. En su lugar puede ponerse un tubo en forma de U, con disolución de cloriformo o piridina, de un reactivo (dietilbarbitúri-

co para CN^- , o dietilditiocarbamato de plata para As y P).

Se calienta el frasco 30 minutos en baño de agua a 60-80°, y al propio tiempo se hace pasar por el frasco lavador una suave corriente de aire o de nitrógeno. Si en la muestra había fósforo amarillo o arsénico, aparecerá una mancha oscura en el papel o una coloración en el líquido captador. Retirando el papel de filtro o el líquido, se harán sobre él reacciones específicas, para identificar el elemento productor.

Si no apareció coloración alguna, se aborda la segunda fase; se añade ácido sulfúrico diluido al frasco, que se cierra rápidamente, se vuelve a poner en el baño y se reanuda el paso de gas. Si en la muestra hubiera algún sulfuro, o materia en putrefacción, el SH_2 desprendido será retenido por el acetato de plomo, que adquirirá color negro. Si hubiera un arseniuro o un fosfuro, los iones As^{3-} o P^{3-} oscurecerán el nitrato de plata (la mancha del As^{3-} puede ser rojiza). En tal caso se retirarían el papel o el líquido colector para los ensayos específicos.

Este procedimiento se basa en el método desarrollado por el químico inglés Jacobo Marsh en 1836, basado, a su vez, en el descubrimiento de la arsina y su combustión por el químico sueco Carlos Gustavo Scheele (1775), y que aún se sigue aplicando en el sistema de hidruros metálicos con la espectrofotometría de absorción atómica.

Para detectar el ion CN^- el papel reactivo se prepara impregnándolo en disolución de sulfato ferroso, se seca y se baña en disolución de hidróxido sódico, y se vuelve a secar. Al incidir sobre el papel, el CN^- se reconocerá por la formación del azul Turnbull de ferrocianuro ferroso. Puede efectuarse determinación colorimétrica cuantitativa si se recoge el gas en disolución de barbitúrico en piridina o cloroformo.

Si en ninguno de los ensayos anteriores se obtuvo resultado, o si de todas formas se desea, se pasa a la tercera fase. Se añade al frasco lavador grana de cinc purísimo (sin trazas de arsénico, etc.), que, con el ácido aún presente en el frasco lavador, desprenderá hidrógeno naciente. Éste reducirá a As^{3-} o P^{3-} cualquier arseniato o fosfato que hubiera en la muestra, y tras el calentamiento, y paso de gas para favorecer el arrastre, se detectará en el papel o líquido reactivo.

Iones como CN^- , SO_4^{2-} , NH_4^+ , halogenuros, etc., se pueden determinar cómodamente por potencio-

metría con electrodos selectivos; los derivados de fósforo se cuantifican mediante su transformación a ion fosfato y reacción con molibdato amónico para formar azul de molibdeno que se valora por colorimetría. El procedimiento más exacto para medir As es la espectrofotometría de absorción atómica con sistema generador de hidruros (véase más adelante).

Gases tóxicos en la atmósfera

Un apartado especial requiere el análisis de muestras de aire para determinar gases tóxicos en él. Existen varios procedimientos para ello:

a) Papeles y tubos reactivos: ambos están impregnados de sustancias que reaccionan con determinados gases o vapores produciendo ciertas coloraciones. Es un procedimiento poco recomendable pues está sujeto a múltiples errores, tanto cualitativos (alteración del reactivo por su escaso plazo de utilidad y cambios térmicos, interacción con otros productos del ambiente, etc.), como cuantitativos, por los errores cometidos en la medición del aire que se hace pasar por el reactivo y en la valoración colorimétrica de apreciación visual.

b) Absorción mediante disoluciones o disolventes apropiados a cada caso, contenidos en frascos lavadores de gases, por donde pasa el aire succionado por una bomba aspirante; después el aire pasa por un gasómetro para determinar el débito. La disolución obtenida se analiza posteriormente en el laboratorio, o por un autoanalizador en el propio lugar. También pueden recogerse los gases mediante absorción sobre carbón activo, contenido en un tubo por el que se hace circular el aire (véase Cap. 14).

c) Captación de una muestra de aire mediante una vasija en la que se efectuó previamente el vacío; el análisis se realiza en el laboratorio, mediante cromatografía gaseosa, espectrofotometría infrarroja, etcétera.

d) Analizadores automáticos, basados en técnicas espectrofotométricas, cromatográficas o de espectrometría de masas, que en el propio lugar toman una cantidad medida de aire y le valoran determinados parámetros, según la conformación del instrumento

e) Captación mediante sistema de microextracción en fase sólida (véase más adelante).

SISTEMÁTICAS PARA TÓXICOS INORGÁNICOS

La más amplia y tradicional sistemática analítica inorgánica se desarrolla en dos etapas:

a) *Mineralización de la muestra.* La destrucción de la materia orgánica presente en la muestra es importante porque ella puede retener firmemente los elementos inorgánicos; esto es especialmente cierto cuando se trata de sangre o vísceras de un intoxicado, a cuyas proteínas irán unidos los tóxicos minerales.

Para efectuar la mineralización se han propuesto diferentes técnicas, tanto por vía seca como por vía húmeda. Por vía seca se realiza la *incineración*, consistente en calentar la muestra progresivamente hasta convertirla en cenizas y tratar con ácido; adolece de la posibilidad de pérdidas de elementos volátiles (As, Hg, Pb) a las altas temperaturas que se alcanzan. La *fusión alcalina* consiste en mezclar la muestra con carbonato o hidróxido sódico y calentar hasta fusión; con ello se liberan los elementos y forman compuestos hidrosolubles. Por vía húmeda se efectúa la mineralización por una drástica oxidación de la materia orgánica, bien a presión atmosférica o a sobrepresión, en vasija cerrada.

El procedimiento clásico es una modificación del método nitro-sulfúrico ideado por Denigés. La muestra se pone en una cápsula de porcelana, en un vaso de precipitados, o en un matraz Kjeldall (cuando se temen pérdidas por volatilización), y se cubre con ácido nítrico fumante ($d = 1,51$). Se deja algún tiempo para favorecer la oxidación de iones As^{3-} ó P^{3-} , que pudieran volatilizarse, a iones arseniato o fosfato, mucho más fijos. Se calienta después, suavemente, hasta casi sequedad y se añaden nuevas porciones de ácido nítrico hasta la disolución de la muestra. Entonces se agregan varios mililitros de ácido sulfúrico concentrado (a excepción de cuando se busca plomo, pues precipitaría el sulfato) y se continúa el calentamiento, hasta casi la sequedad. Si la mezcla está muy oscura se repiten las operaciones las veces necesarias hasta obtener un líquido amarillento. La posterior adi-

ción de agua oxigenada o de ácido perclórico termina la decoloración y permite disponer de un líquido claro después de filtrar.

Puede realizarse la mineralización en un reactor a presión, vasija de acero o de una aleación de aluminio, muy resistente, con un contenedor interior de teflón inatacable, que elimina las pérdidas por volatilización y desarrolla el proceso con gran rapidez y mínimo consumo de ácidos; este procedimiento fue mejorado utilizando vasijas resistentes y herméticas de teflón que se pueden calentar directamente en hornos de microondas (digestores), lo que permite una rápida mineralización.

Una importante precaución que hay que tener en cuenta es la de no añadir ácido nítrico si la muestra contiene formaldehído o ha sido adicionada con él, ya que se podría provocar una explosión violenta. En tales circunstancias es aconsejable calentar la muestra previamente hasta la evaporación del formaldehído.

En ocasiones no es necesario mineralizar, sino que es suficiente con *desproteínizar*, lo que se consigue con un ácido fuerte como clorhídrico, tricloroacético o nítrico y posterior separación de los restos por centrifugación o por ultrafiltración con membranas con poros de tamaño apropiado.

b) Una vez obtenida la mineralización y la disolución de la muestra, se divide el líquido en tres partes, en una de las cuales se sigue una marcha analítica para cationes, en la otra una sistemática para aniones, y se reserva la tercera para cualquier eventualidad.

No detallamos aquí las referidas sistemáticas por ser materia de estudio en Química Analítica.

Por otra parte, con la disolución obtenida pueden efectuarse ensayos con técnicas opcionales que, en ocasiones (cuando la muestra es líquida y no contiene sustancias que interfieran), pueden aplicarse directamente sin el tratamiento que acabamos de describir.

Sin embargo, las disoluciones referidas, la orina o las aguas de distinta procedencia suelen presentar aún dos inconvenientes que es preciso subsanar para tener éxito en el análisis.

En primer lugar, frecuentemente contienen impurezas que interfieren la determinación; en segundo lugar, la concentración de los metales es tan baja en ocasiones, que no alcanza los límites de detección o de cuantificación de las técnicas instrumentales.

El primer inconveniente puede soslayarse mediante tratamiento de la disolución, acidificada con nítrico o con carbón activo, en caliente.

Preconcentración

A pesar de la creciente sensibilidad de las técnicas instrumentales modernas, la tendencia a utilizar muestras cada vez más pequeñas y de buscar concentraciones más bajas (trazas) obliga a introducir en la sistemática analítica un paso llamado de *preconcentración*, que permite incrementar la proporción del analito en la muestra o en el extracto. Para obtener una disolución enriquecida de los elementos a determinar, se forman quelatos con reactivos orgánicos como ditizona, dietilditiocarbamato, dibenzilditiocarbamato, pirrolidinditiocarbamato, etc., que son extraíbles por disolventes orgánicos como cloroformo, diclorometano, metilisobutilcetona, etc. El extracto orgánico se evapora hasta sequedad, y el residuo se redisuelve en etanol. Esta nueva disolución concentrada puede ser redigerida con ácido nítrico, seguido de agua oxigenada, antes de someterla al análisis instrumental (López-Artíguez *et al.*, 1993). También se utilizan técnica electroanalíticas, extracciones con disolventes, extracciones en fase sólida, en columnas de cambio iónico y la coprecipitación. Esta última permite la precipitación simultánea de varios iones, mediante el uso de reactivos orgánicos o inorgánicos (generalmente hidróxidos metálicos).

Especiación

Un grave inconveniente de la sistemática antes referida es que sólo nos permite conocer la concentración total de un metal en la muestra, sin especificar en qué grado o grados de oxidación (valencia) se halla, ni si se encuentra formando parte de distintos compuestos, incluso orgánicos o hasta en forma de quelato, cada uno de los cuales posee muy diferente toxicocinética y toxicodinámica; al final de la sistemática, particularmente si se han utilizado reactivos oxidantes, el metal estará libre, y en la forma iónica de grado de oxidación más alto (mayor valencia). Sabemos que, en general, los metales y metaloides (no-metales)

en su forma metálica o elemental son poco tóxicos, ya que la toxicidad es cualidad variable entre sus distintas formas o especies químicas; es decir, que más que la cantidad global del elemento interesa definir la composición de las moléculas (especie química) en que participa el metal, lo que se denomina *especiación*, y su concentración.

Pueden distinguirse tres grupos de especies químicas de interés toxicológico: las que forman entre sí sistemas redox, por ejemplo: a) el que constituyen los compuestos con arsénico tri o pentavalente, más tóxicos los primeros, o los de cromo tri o hexavalentes, más tóxicos éstos, o por hierro II y III, cuya interconversión participa en la formación de especies reactivas de oxígeno, etc.; b) las especies en que el elemento está insertado en una molécula orgánica, y c) las macromoléculas (Tabla 15.2).

Durante el muestreo y la preparación de la muestra pueden introducirse cambios en la especie del elemento, lo que obliga a tenerlo presente y suavizar las condiciones; para la extracción de las especies pueden emplearse sistemas de lavado, destilación, absorción, extracción con disolventes a presión y temperaturas normales o superiores en horno de microondas, microextracción en fase sólida o con fluidos supercríticos. Seguidamente, se deben separar las distintas especies extraídas del mismo metal o de otros diferentes; ello suele realizarse mediante cromatografía líquido-líquido (HPLC) en sus diferentes modalidades, como cro-

Tabla 15.2. Principales especies metálicas de interés toxicológicos.

Sistemas redox	As (III), As (V) Cr (III), Cr (VI) Fe (II), Fe (III) Sb (III), Sb (V) Se (IV), Se (VI)
Compuestos organometálicos	Metil- As, Ge, Hg, Sb, Se, Sn Etil - Hg, Pb Butil- Sn Fenil- Sn Ciclohexil – Sn Octil- Sn
Macromoléculas	Metaloproteínas Metalofármacos

Tomado de A. Sayago *et al.*, 2006.

matografía de partición normal o en fase reversa, de par iónico, de exclusión molecular, quiral, o mediante el acoplamiento HPLC con ICP-MS, así como la cromatografía de gases (para especies organometálicas), electroforesis capilar o técnicas electroanalíticas (López-Artiguez, 2007).

Veamos seguidamente las principales técnicas analíticas inorgánicas de aplicación toxicológica:

Técnicas electroanalíticas

Pueden distinguirse (Tabla 15.3):

a) *Potenciometría*. Se basa en la medida de diferencias de potencial entre dos electrodos sumergidos en una disolución (pHmetría). La construcción de electrodos específicos para cada caso ha permitido la identificación y determinación directa de los halogenuros, ion cianuro, ion perclorato, dióxido de azufre o de nitrógeno, cationes, etc. Hay electrodos específicos para los distintos grados de valencia.

b) *Conductimetría*. La medición de la conductividad o conductancia de disoluciones proporciona varias formas prácticas de determinación de sustancias orgánicas o inorgánicas. Es óptima para el control del contenido iónico global de las aguas potables.

c) *Voltametría*.

c.1. *Polarografía*. Basada en la cuantificación de la intensidad de difusión de iones, hizo concebir grandes ilusiones, pero su aplicación toxicológica ha quedado reducida a muy contados usos.

c.2. *Voltametría de gota desnuda o de redisolución anódica*. Como en la polarografía, utiliza para cátodo un goteo de mercurio, sobre el que, según el potencial aplicado, se deposita cada elemento; posteriormente se cambia de signo el potencial, lo que redisuelve el elemento instantáneamente, con gran aumento de la señal.

d) *Deposición electrolítica*. Esta técnica, fundamentada en la electrolisis, proporciona un medio de rápida detección y separación, para posterior identificación y determinación de los elementos: arsénico, antimonio, bismuto y mercurio, con una sensibilidad del orden de los 10 µg. Pueden interferir selenio, telurio y azufre, por lo que, insistimos, la técnica sólo debe aprovecharse para la separación, debiendo realizarse después ensayos específicos de identificación.

Tabla 15.3. Técnicas instrumentales aplicadas al análisis toxicológico inorgánico.

Potenciométricas:

pHmetría.
Electrodos selectivos.

Electroforesis capilar:

Voltamétricas:

Polarografía.
Voltametría de gota desnuda (redisolución anódica).

Espectrofotométricas:

Colorimetría.
Absorción atómica:
Llama.
Electrotérmica (con horno o cámara de grafito).
Vapor frío.
Sistema de hidruros volátiles.
Emisión de plasma (ICP, DCP y fluorescencia).

Espectrometría láser (LAMMA).

Microsonda (emisión R-X).

Cromatográficas:

Gas líquido.
Líquido-líquido.
Capa fina de alta resolución.

Activación neutrónica.

Se prepara una lámina de cobre electrolítico o un alambre grueso de cobre, de 2-3 mm de diámetro y 150 mm de longitud, que se enrolla sobre un lápiz para obtener una espiral. Se sumerge ésta en ácido nítrico diluido (2N) hasta que su superficie quede limpia y brillante: se lava con agua destilada y ya se dispone para la prueba.

En un tubo de ensayo grande (de 50 ml) se coloca la muestra bien homogeneizada con agua y 10 ml de ácido clorhídrico concentrado. Se introduce la espiral de cobre en la mezcla, dejándola colgada del borde del tubo. Se coloca éste en un baño de agua hirviendo durante una hora.

Al cabo de este tiempo se saca el alambre, se lava con agua y se observa. Si el cobre adquirió una apariencia plateada, se debe a mercurio; si la coloración es negra, puede deberse a arsénico, antimonio, bismuto, selenio, telurio o azufre (que puede proceder de descomposición de la materia orgánica). Por diferencia de pesadas podríamos tener el resultado cuantitativo (electrogravimetría).

El depósito obtenido se disuelve en ácido nítrico, y se somete la disolución a análisis de cationes.

Existen también algunas reacciones que se efectúan sobre la propia espiral, que son rápidas, pero menos seguras.

Determinación directa por espectrofotometría de absorción atómica (EAA)

Esta técnica instrumental es, en la actualidad, juntamente con la espectrometría de emisión de plasma (ICP), la mejor (sólo superada por la de activación neutrónica) para la determinación de pequeñas cantidades de elementos inorgánicos.

Cuando éstos se encuentran en disolución acuosa, el análisis no presenta problemas a un buen instrumentalista, pero cuando coexiste materia orgánica pueden producirse respuestas erróneas. Algunas de ellas se eliminan con accesorios como el corrector de deuterio, la cámara de grafito, etc.

En casos en que la concentración del elemento sea muy pequeña hay que recurrir a operaciones de enriquecimiento mediante formación de complejos con reactivos orgánicos (véase apartado Preconcentración), o al uso de navecillas o cápsulas de introducción de muestras; en estos accesorios se evapora una cantidad determinada de la disolución problema, y después se introduce la navecilla en la llama del espectrofotómetro.

Algunos elementos de gran interés toxicológico, como el As, Sb, etc., presentan dificultades en su determinación por EAA, lo cual ha sido resuelto mediante la formación del hidruro del elemento, y su determinación espectrofotométrica en estado de vapor, sin el concurso de llama. De aquí el nombre de espectrofotometría sin llama o sistema de hidruros metálicos (SHM). La misma técnica es aplicable al Hg, con el nombre de espectrofotometría de vapor frío.

Espectrometría de emisión de plasma

Es una técnica de emisión, no de absorción, que utiliza el plasma (gas ionizado capaz de conducir la corriente eléctrica) para excitar los átomos de

los elementos a determinar; existen dos sistemas para producir el plasma: *a)* el conocido como ICP (plasma acoplado inductivamente), que se origina en un fuerte campo magnético que mueve y calienta, por efecto Joule, el gas, y *b)* el DCP (plasma por corriente directa), que se forma entre varios electrodos en cortocircuito. Estos instrumentos no emplean lámparas como en la EAA, sino un ordenador que controla el barrido de las longitudes de onda, lo que permite realizar de forma secuencial análisis de varios elementos; esto supone mayor rapidez analítica, aunque sea menos sensible que la EAA. Una versión del ICP es la *espectrometría atómica de fluorescencia*, que incorpora una lámpara de cátodo hueco.

Técnicas cromatográficas. Electroforesis

Aunque se han usado las cromatografías sobre papel, capa fina y capa fina de alta resolución para investigar elementos o compuestos inorgánicos, en realidad estas técnicas no se utilizan en la actualidad.

La cromatografía de gases, como requiere que la sustancia problema sea volatilizable, presenta poca utilidad en los análisis inorgánicos; su mayor aplicación en este campo es la determinación de compuestos organometálicos, como el metilmercurio.

Por el contrario, la cromatografía de líquidos posee muchas aplicaciones para el análisis de metales y, especialmente, para la determinación de aniones.

Últimamente se está proponiendo la determinación de cationes y aniones inorgánicos por *electroforesis capilar* aunque por el momento no parece que vaya a desplazar a las técnicas anteriormente citadas.

SISTEMÁTICAS PARA TÓXICOS ORGÁNICOS

Este tipo de sistemática pretende la separación de casi todos los tóxicos de naturaleza orgánica, e incluye los que clásicamente se denominaban «orgánicos fijos» (no volatilizables), junto con los

que, además de poderse separar en forma de vapor, también pueden ser extraídos por disolventes orgánicos.

Es un método clásico, aún interesante por su extensa aplicabilidad y su capacidad didáctica.

Fase A. Extracción:

con disolvente apolar;
con etanol.

Fase B. Purificación del extracto.

Fase C. Fraccionamiento del extracto, para grupos:

— ácidos,
— básicos,
— neutros.

Fase D. Ensayos previos. Detección.

Fase E. Identificación:

Técnicas instrumentales.
Confirmación identidad.
Cuantificación.

Hidrólisis y digestiones

En las muestras biológicas los xenobióticos y sus metabolitos pueden encontrarse unidos a las grasas y proteínas celulares, o en forma de transporte unidos a las proteínas plasmáticas, o bien disueltos en el plasma y líquidos intra y extracelulares, tanto en forma libre como en forma de conjugados. (Véase Cap. 4).

Ocasionalmente puede interesar determinar aisladamente el compuesto en forma libre, que se puede separar mediante membranas semipermeables (diálisis o ultrafiltración), pero normalmente se valora la totalidad del xenobiótico presente en la muestra. Para ello es necesario romper las uniones proteicas y desproteinizar e hidrolizar los ésteres conjugados.

Cuando se trabaja con plasma u orina, antes de efectuar las extracciones se puede realizar la hidrólisis de los conjugados por vía química (ácida o alcalina) o enzimática, que aumentan el rendimiento de la extracción de tóxicos como los opiáceos, fenotiazinas, cannabinoides, etc. La hidrólisis química puede afectar los xenobióticos lábiles a las condiciones de la reacción (atropina, cocaína, benzodiazepínicos, etc.), lo que no ocurre en la hidrólisis enzimática. Para realizar ésta se pone la muestra a pH 5,3 con CIH 0,2 N, se le añade un

volumen 100 veces menor de una solución acuosa de mezcla de glucuronidasa (12 unidades/ml) y arilsulfatasa (60 u/ml) y se incuba a 36° C durante 12-24 horas; la aplicación de cada una de las enzimas puede hacerse en dos operaciones sucesivas. Por su parte, los conjugados pueden determinarse mediante cromatografía líquida (HPLC) (Franzelius, 1998).

A partir de aquí es aplicable la fase C de fraccionamiento, dentro de una sistemática general, o los métodos simplificados que se tratan más adelante.

Si la muestra es sangre total o vísceras, puede realizarse inicialmente una desproteinización o digestión previa; aunque se han propuesto las técnicas que exponemos más adelante (fase B).

Purificación del extracto, el procedimiento más cómodo es la digestión secuencial con enzimas proteolíticas; 10-20 g de tejido homogeneizado con 20 ml de tampón Tris 1M, de pH 10,5, se adicionan con 1-5 mg de tripsina o proteasa subtilisina A seguida de proteinasa K, y se incuba varias horas a 50° C. Esta operación es aplicable como procedimiento de purificación del extracto (fase B.5) después de evaporar totalmente el disolvente orgánico y suspender en agua. Posteriormente puede seguirse la fase C, de fraccionamiento en la sistemática general, o los métodos simplificados.

Extracciones con disolventes orgánicos

La separación o extracción de un compuesto presente en una muestra líquida o sólida se realiza con disolventes capaces de arrastrar aquél y de separarse de la muestra.

La solubilidad de un producto es función de su polaridad, de forma que las sustancias iónicas o polares se disuelven en disolventes polares, y las no-iónicas, no-polares o lipídicas lo hacen en disolventes apolares o lipófilos. Recordemos que una sustancia ionizable, disuelta en agua, pasa mayoritariamente al estado no ionizado, extraíble por disolventes orgánicos, cuando se acidifica o alcaliniza el medio, según el carácter ácido o básico de la sustancia; todo ello lo resume la expresión latina *similia similibus solventur* (lo similar disuelve a lo similar), que fue el lema de un simposio internacional sobre fenómenos de solubilidad (2000).

En ocasiones, puede ser suficiente mezclar la muestra con el disolvente y agitar para lograr la disolución o la extracción del resto de la muestra; pero el rendimiento de una extracción en estas condiciones suele ser bajo. Se incrementa con aplicación de calor, bien mediante el uso de un refrigerante de reflujo que condensa y devuelve los vapores del disolvente, en evitación de pérdidas y explosiones, bien mediante un aparato de Soxhlet que permite una percolación, repetida durante horas, de la muestra con el disolvente en ebullición. Más modernos son la sonicación mediante un baño de ultrasonidos, la irradiación en horno de microondas, o el calentamiento a presión, métodos rápidos y económicos, con bajo consumo de disolventes.

De acuerdo con esto, con la facilidad para ser evaporados, la capacidad para formar las incómodas emulsiones y con los riesgos que suponga para el operador (Tabla 15.4), se elige el disolvente a utilizar en cada caso.

Para favorecer el paso de compuestos lónicos a disolventes orgánicos se puede saturar la fase acuosa con sales como cloruro sódico o sulfato amónico, lo que también reduce las emulsiones.

Los disolventes polares más empleados son el agua y el etanol, y entre los apolares, el n-hexano, éter etílico y diclorometano. Ahora bien, todos ellos deben ser de extrema pureza, porque, cuando después de las extracciones se concentran a pequeño volumen, las impurezas que pudiesen contener también se concentran e interfieren las señales de la moderna instrumentación analítica.

Así, por ejemplo, el éter suele contener aditivos antioxidantes, como el hidroxibutiltolueno (BHT), y en general la mayoría de los disolventes orgánicos van contaminados con plastificantes extraídos a recipientes o tuberías de plástico.

Las impurezas de algunos disolventes pueden reaccionar con grupos funcionales de los tóxicos, como aminas, aldehídos o cetonas; en el diclorometano puede haber cloruro de cianógeno, que

Tabla 15.4. Relaciones de los disolventes más comunes, ordenados de mayor a menor polaridad

	Punto de ebullición	Punto de inflamación	Máxima conc. permisible en el área, ppm
Ácidos y sales inorgánicas (en solución acuosa)			
Ácidos orgánicos			
Piridina	115	20	5
Agua			
Metanol	65	11	200
Etanol	78	12	1.000
Acetona	56	-18	1.000
Cloroformo	61	No	50
Dicloruro de metileno (diclorometano)	40	No	500
1,2-dicloroetano			
Ésteres			
Benceno	80	-10	25
Tolueno	111	4	200
Sulfuro de carbono	46	-30	20
Éter dietílico	35	-40	400
Ciclohexano	81	-17	400
Tricloroetileno	87	No	100
Tetracloruro de carbono	77	No	25
Decalina	40	No	50
n-heptano (éter de petróleo)			
n-hexano	69	-23	500

produce compuestos cianos; los peróxidos en el éter pueden oxidar los compuestos que extrae; el etanol añadido como inhibidor de la formación de fosgeno en el cloroformo o diclorometano puede originar etilcloroformiato, etc.

Fase A. Extracción del medio

Las extracciones pueden efectuarse por métodos líquido-líquido, líquido-sólido o sólido-líquido. En el primer caso se parte de una muestra líquida (agua, orina, plasma, suero, sangre desproteinizada, etc.), que se agita en un embudo de decantación, o se trata en un extractor continuo líquido-líquido, en caliente, con el disolvente orgánico apropiado; en el segundo caso se pasa la muestra homogeneizada líquida, al pH conveniente, por una columna cromatográfica con relleno sólido, y después de lavar, se reextrae con el disolvente; en el tercer caso, una muestra sólida (alimentos, vísceras, etc.), troceada finamente, se somete a la acción prolongada del disolvente, generalmente a la temperatura de ebullición, por calentamiento a reflujo o en un extractor de Soxhlet. Actualmente se está aplicando la extracción con fluidos supercríticos (véase más adelante), aunque con escasa aceptación.

Con disolvente apolar

Se somete la muestra a extracción mediante disolventes no polares, como el n-hexano, n-heptano, benceno, capaces de separar sustancias como hidrocarburos de bajo y gran peso molecular, productos organohalogenados y órgano-fosforados, sustancias cannábicas, etc.

Con disolvente polar

Para el resto de los tóxicos orgánicos se sigue utilizando la técnica de Stass-Otto de extracción con etanol en caliente (a reflujo), previa acidificación del medio con tartárico o clorhídrico, que facilitará la extracción de los ácidos y permitirá la solubilización de las bases, en forma de sales.

Las operaciones de extracción se realizan mediante calentamiento a reflujo, preferente-

mente en extractores sólido-líquido o líquido-líquido. Solamente en ocasiones puede resultar suficiente la extracción en embudo o ampolla de decantación.

El disolvente polar más empleado es el etanol; únicamente en casos excepcionales, y cuando se conoce el tóxico que se busca, puede ser aconsejable el uso de otros disolventes como cloroformo, acetato de etilo, etc., para mejorar el rendimiento de la extracción.

Extracción por dispersión en fase sólida

También conocido como *dispersión de matriz en fase sólida* (DMFS); consiste simplemente en mezclar (dispersar) la muestra, sea sólida o líquida, con una materia adsorbente como florisil, silicagel, C₈, C₁₈, etc. y posteriormente lavar y eluir por decantación y filtrado o por colocación en una columna cromatográfica clásica, con un disolvente apropiado para separar las sustancias de interés, como se expone a continuación.

Extracción por columnas

En los últimos años han adquirido gran difusión las técnicas de separación mediante columnas cromatográficas.

Resultan suficientemente buenas las separaciones previas que se pueden realizar en columnas con varios tipos de relleno, unos de tierra silíceo modificada, otros de silicagel y polímeros, de polimetisiloxanos, etc.

El relleno de tierra silíceo o la Amberlita XAD-2 (divinilbenceno-poliestireno) sólo actúa como soporte de la fase estacionaria, lo que es ejercido por la disolución acuosa problema, la cual retiene al tóxico y después lo cede al disolvente orgánico (éter etílico para compuestos ácidos y diclorometano para los básicos, preferentemente), cuando se pasa éste posteriormente por la columna. Consecuentemente, este proceso es una extracción líquido-líquido sobre el soporte, que separa sustancias lipófilas en disoluciones acuosas; cambiando el pH de la fase estacionaria se ionizan o no los solutos para extraerlos fraccionadamente.

La extracción en fase sólida (en inglés SPE) puede practicarse conciliando multitud de varia-

bles, de forma que se optimice la separación de los compuestos que interesen; sirve también para purificar extractos obtenidos por otros métodos. La SPE no es más que una cromatografía en columna que, según el relleno, funciona como cromatografía de adsorción (sólido-líquido), cromatografía de partición, de intercambio iónico, de par iónico, de tamiz molecular, de columnas quirales (para separación de estereoisómeros), etc.

Es preciso advertir que, frente a la comodidad y limpieza de la extracción por columnas, resultan más caras, aunque ahorran disolventes, y suelen proporcionar rendimientos inferiores a la extracción directa con disolventes, lo que obliga a controles de calidad, pero permiten la automatización del análisis mediante robots.

Veamos brevemente sus características:

a) La cromatografía de adsorción separa compuestos moderadamente polares de disoluciones no polares; los compuestos muy polares quedan unidos al soporte de forma irreversible. Los soportes más usuales son silicagel (SiOH), tierra de diatomeas (Kieselgur, SiOH), florisil (SiOn) y alúmina (Al₂O₃). Los grupos polares del problema en disolución no acuosa (el agua desactiva al soporte) se unen a los del adsorbente, con una energía variable, y pueden ser eluidos con disolventes de polaridad igual o mayor que el problema; la polaridad más apropiada se consigue con mezclas de disolventes.

b) La cromatografía de partición de fase enlazada es análoga a la extracción líquido-líquido, y utiliza soportes de gel de sílice modificado; los grupos activos superficiales de la silicagel, llamados silanoles, pueden activarse con organoclorosilanos con los que se unen covalentemente formando la «fase enlazada». Ésta puede presentar grupos funcionales polares, no-polares y de intercambio iónico de distintas aplicaciones:

b.1) *Extracción en fase normal*. Se utilizan columnas con grupos polares ciano (CN), dioles (HOCCOH), amino (NH₂), etc., y permiten la extracción de compuestos polares a partir de disoluciones no-polares. La elución se realiza con disolventes únicos o en mezclas, con polaridad igual o mayor que la disolución problema. Los compuestos muy polares pueden quedar firme-

mente unidos al soporte y no ser eluidos. Permite separar aminas, paraquat, fenoles, colorantes, metales, etc.

b.2) *Extracción en fase reversa*. Se emplean soportes de butil (C₄), octil (C₈), ciano, fenil ciclohexil y octadecilmetilpolisiloxano (C₁₈) para separar compuestos no-polares de disoluciones muy polares, ordinariamente muy diluidas con agua; los eluyentes deben tener menor polaridad que la muestra, y generalmente son metanol, acetonitrilo, acetona, etc., o sus mezclas. Se separan drogas y medicamentos, aflatoxinas, compuestos organoclorados, organofosforados, etcétera.

b.3) *Extracción por intercambio iónico*. Requiere que el analito presente cargas positivas o negativas al pH de la disolución. Para analitos de carga positiva, o de carácter básico (aminas, amonios cuaternarios), se usan soportes de ácido carboxílico o sulfámico (columnas «catiónicas») y se eluyen con disoluciones neutras o alcalinas. Para analitos de carácter ácido se emplean columnas denominadas «aniónicas», constituidas por aminas, que se eluyen con disoluciones ácidas.

b.4) *Extracción por par iónico en fase reversa*. Se emplean para extraer compuestos iónicos, añadiendo a la disolución problema un reactivo constituido por un sulfonato o una amina cuaternaria unidos a cadenas hidrofóbicas, como n-heptano-sulfonato o tetrabutilamonio, para formar con el analito un par iónico. La disolución se pasa por una columna de fase reversa (C₁₈) y se eluye de la forma normal para éstas.

b.5) *Separación por tamiz molecular o exclusión por tamaño*. Utiliza soporte de sephadex (gel de dextrano), que una vez hinchado por disoluciones acuosas permite el paso de moléculas grandes, reteniendo otras más pequeñas que pueden eluirse después.

c) *Separación selectiva molecular*. Se realiza mediante *polímeros marcados molecularmente*, que se preparan por reacción de monómeros de la resina con moléculas del tóxico que interesa investigar; cuando se forma el polímero, se trata con disolventes que eliminan los restos del tóxico, y el polímero queda listo para el análisis, como cualquier relleno de columna (Anderson, 2000).

d) *Separación por inmunoespecificidad*, en las que, sobre un soporte inerte, se fijan anticuerpos espe-

cíficos para un tóxico; se aplican fundamentalmente para biotoxinas, principalmente para micotoxinas como aflatoxinas, acrattoxina, etc., y a otros tóxicos.

e) *Separación de isómeros*. La separación de estereoisómeros, y mucho más de los enantiómeros (cuyas imágenes son especulares pero no superponibles) es muy difícil por su similitud de características físicoquímicas, pero muy interesante por sus distintas propiedades farmacológicas y tóxicas. Puede conseguirse mediante columnas cuya fase estacionaria contiene una sustancia quiral (que posee un átomo o conjunto de átomos cuyos sustituyentes o conexiones dan lugar a estereoisómeros); al pasar por la columna una mezcla de enantiómeros se unen al centro estereogénico de la fase estacionaria y se forman dos diaestereoisómeros que se eluyen separadamente. También puede usarse la *electroforesis capilar quiral*.

Una presentación de estos soportes es en forma de discos, como papel de filtro, que retienen al tóxico cuando se pasa la muestra a través de ellos; son especialmente útiles en el análisis de plaguicidas en aguas y otras muestras ambientales y alimentarias. Recientemente se presentan aplicados sobre barras agitadoras (SBSE); consisten en una barrita de imán cubierta de vidrio, sobre el que va una capa del polímero polidimetilsiloxano, cuyo contacto con el tóxico, aunque esté a muy baja concentración, se favorece con el movimiento (Ahmed, 2001).

Otra moderna aplicación de algunos de los soportes citados, en especial los de naturaleza polimérica, es la fabricación de unas prolongaciones de los émbolos de jeringas para gases, que retienen y concentran éstos al aspirar un «espacio en cabeza», o en un ambiente o al mojarlos directamente en un líquido problema, y que después se introducen en el bloque de inyección del cromatógrafo donde liberan el gas o el vapor. La técnica se conoce como *microextracción en fase sólida* (SPME); la prolongación del émbolo es una fibra de sílice fundida cubierta de diferentes sustancias (polidimetilsiloxano, vinilbenceno, carbowax, etc.) para utilizar según el tipo de productos que se pretende separar.

También debemos citar la utilización en Toxicología de la extracción por fluidos supercríticos (SFE).

Un fluido se encuentra en estado supercrítico cuando su presión y su temperatura igualan o superan a las que definen a su punto crítico (aquél en que sus propiedades son iguales en la fase de vapor y en la fase líquida). En esta situación los fluidos poseen similar densidad y poder de solvatación que los disolventes líquidos, pero se difunden más rápidamente, pues tienen la viscosidad de un gas.

Estas propiedades permiten extracciones desde muestras sólidas o semisólidas, muy rápidas y con elevado porcentaje de recuperación; además el empleo de dióxido de carbono como fluido resulta muy económico.

Las propiedades de este gas pueden modificarse añadiéndole pequeñas proporciones de agua, alcoholes diversos u otros disolventes, así como variando la temperatura y/o la presión.

Así mismo, se está aplicando al análisis toxicológico la técnica de *electroforesis capilar*, ya utilizada para separar péptidos y proteínas; consiste en una electroforesis realizada a través de un capilar de sílice fundida, de unos 50 cm de longitud, en un medio tamponado, y conectado a un detector, normalmente, de UV.

Fase B. Purificación del extracto

Los extractos obtenidos por los métodos clásicos arrastran múltiples impurezas, por ello, una vez separado el extracto de los restos sólidos o líquidos de la muestra, suele ser precisa una purificación. Los casos de extractos más impuros son los obtenidos de muestras biológicas, especialmente vísceras como cerebro o hígado; entonces, en el extracto hay una gran proporción de grasas y proteínas o albúminas, así como pigmentos, que hay que separar; cuando la muestra problema es de naturaleza vegetal, también cede a los extractos gran cantidad de pigmentos y grasas, que es preciso eliminar. Otras sustancias que interfieren son las ptomaínas o bases putrefactivas que (véase Cap. 1) han dado lugar a históricas disputas toxicológicas por su similitud química con los alcaloides. Dichas sustancias son aminas producidas por la descarboxilación de aminoácidos durante la putrefacción de las materias proteicas (Tabla 4.9); por ello han sido denominados alcaloides animales o alcaloides de la putrefacción.

Para la purificación de los extractos se han propuesto numerosas fórmulas, que, resumiéndolas a las auténticamente útiles con carácter general, son:

1. Precipitación de las albúminas con diferentes reactivos. Es un método rápido, pero en la precipitación hay pérdidas de sustancias de interés, al ser arrastradas por el precipitado.

- a) *Sulfato amónico*. Disminuye el rendimiento para tóxicos ácidos y neutros.
- b) *Tungstato sódico*. Disminuye el rendimiento de bases.
- c) *Ácido tricloroacético*, al 10 por 100.
- d) *Cloruro de aluminio*. Da bajos rendimientos con ácidos.

2. *Coagulación de las albúminas* con etanol o acetona.

El etanol absoluto es el más comúnmente usado desde que fue propuesto por Stas. La mejor técnica consiste en concentrar el extracto hasta líquido denso mediante evaporación a presión reducida, para calentar lo menos posible y preferiblemente en evaporador rotativo. Al sirupo resultante, una vez frío, se le añade etanol en pequeñas porciones para que la coagulación no sea en bloque. Después de refrigerar, se filtra, y el líquido se vuelve a concentrar y se añade alcohol, operación que se repite varias veces. Finalmente, tras la última concentración, se disuelve el residuo con agua destilada y unas gotas de ácido sulfúrico. Con este proceso se logra eliminar la mayor proporción de las proteínas, así como las grasas, que no se disolverán en el agua.

3. *Técnicas cromatográficas*. Todas las variantes de la cromatografía pueden emplearse, según cada caso, para la purificación del extracto, especialmente cuando lo tenemos en disolvente no acuoso.

- a) *Cromatografía de columna de florisil* (silica magnésico activado), silicagel, alúmina (óxido aluminico).
- b) *Cromatografía sobre papel o sobre capa de silicagel*.
- c) *Cromatografía gaseosa preparativa*.

4. *Técnicas basadas en el reparto diferencial en mezclas de disolventes*, como agua-hexano, agua-acetonitrilo-hexano, etc.

5. *Digestión enzimática proteolítica*. (Véase lo expuesto anteriormente en el apartado Hidrólisis y digestiones.)

Fase C. Fraccionamiento del extracto

El extracto purificado obtenido en la fase B, o bien directamente las muestras líquidas (suero, orina, etc.), se someten a un proceso que separe distintos grupos químicos. Este fraccionamiento persigue un doble objetivo; por un lado puede separar tóxicos que estuvieran conjuntamente presentes, y por otra parte, si posteriormente detectamos la presencia de una sustancia en una de las fracciones, las características grupales de ésta serán ya el primer dato de que dispondremos para la identificación del tóxico.

Se han propuesto diversos procedimientos, pero el que, con carácter general, sigue teniendo mayor aceptación es el de Stas, modificado por Otto y Ogier, y numerosos toxicólogos: se obtienen tres fracciones, una con los productos de carácter ácido, otra con las sustancias básicas y una tercera con los productos neutros. Debe tenerse presente que esta división no es taxativa, y que hay productos, como la cafeína y otras xantinas, que poseen un carácter anfótero y pueden aparecer en cualquiera de las dos primeras fracciones; metabolitos de algunas sustancias básicas se separan también en la fracción ácida como ocurre con los sulfóxidos de las fenotiazinas, los derivados fenólicos de la fenacetina, metabolitos de los benzodiazepínicos, etc.

El fraccionamiento según Stas-Otto se había ido complicando excesivamente en la necesidad de separar los cada vez más numerosos tóxicos, para poderlos identificar o cuantificar por métodos elementales; pero con la aplicación de las técnicas instrumentales cromatográficas capaces, por sí mismas, de separar y determinar las diferentes sustancias, se ha minimizado la necesidad del fraccionamiento, que se aborda por el sistema clásico líquido-líquido o mediante columnas cromatográficas; el primero de ellos se realiza como sigue: la disolución acuosa ácida procedente de la extracción y purificación, se agita en embudo de decantación con disolvente orgánico (Figura 15.1). Aunque se ha propuesto usar cloroformo, acetato de etilo, diclorometano, etc., el disolvente de elección general es el éter dietílico, si bien algunos autores

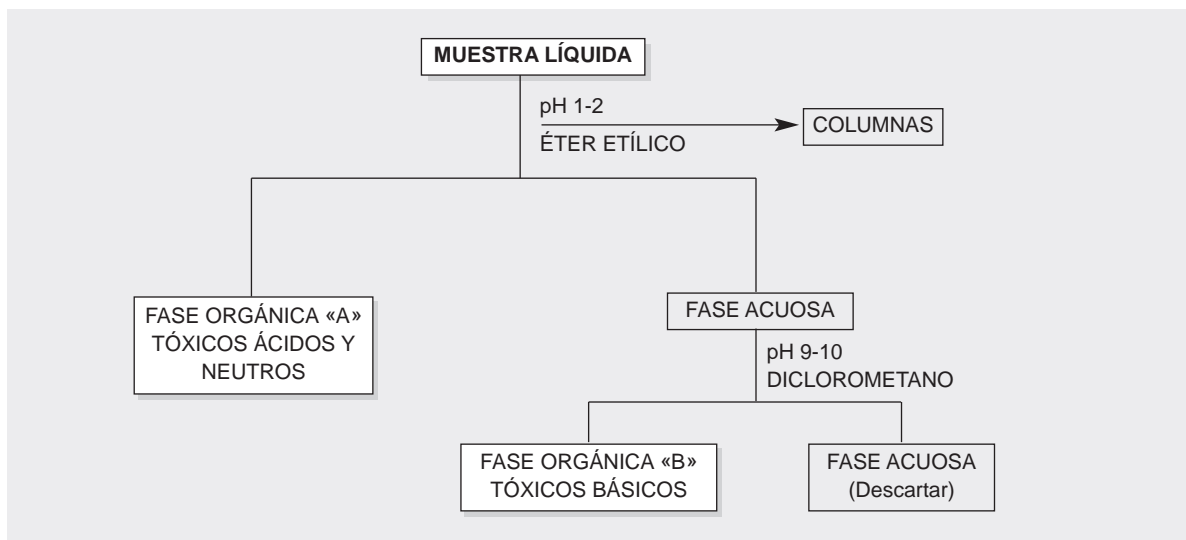


Figura 15.1. Sistemática general para extracción de tóxicos orgánicos a partir de sangre total u otros líquidos.

lo rechazan por temor a la formación de peróxidos explosivos; estos peróxidos pueden eliminarse por tratamiento con sulfato ferroso o columna de alúmina. El extracto o fracción etérea obtenida se denomina «éter ácido» por que en él van las sustancias ácidas (ácido salicílico, barbitúricos, pirazolona, clordiazepóxido) y las neutras (carbamatos). Este éter ácido puede requerir una nueva purificación por alguno de los procedimientos que antes se indicaron o someterse al análisis instrumental.

En este punto se retrocede a la fase acuosa ácida primitiva. Se neutraliza su acidez mediante hidróxido amónico o bicarbonato sódico, hasta dejarla francamente alcalina. Teóricamente debiera efectuarse primero una alcalinización con hidróxido amónico, y después de extraer con éter, alcalinizar con bicarbonato y volver a extraer; de esta manera se cubren todas las posibilidades se separar compuestos anfóteros.

Pero en la práctica, de la misma manera que sólo se suele hacer una extracción para los ácidos, se efectúa una única alcalinización para las drogas básicas, prefiriendo unos autores el hidróxido amónico y otros el bicarbonato, y algunos el hidróxido sódico.

Una vez alcalinizada la disolución acuosa y extraída con éter o diclorometano o cloroformo, se tiene la fracción alcalina que puede contener las

sustancias orgánicas de carácter básico, como los alcaloides, bases de amonio, fenotiazinas, benzodiazepinas, anfetaminas, etc.

Cuando se desea, o se estima necesario por la presencia de impurezas, puede efectuarse una mejor purificación de las fracciones extrayendo con ácido sulfúrico 0, 1 N, invirtiendo su pH y reextrayendo con el disolvente orgánico.

Como hemos visto antes, al tratar de la extracción con columnas cromatográficas, en las de tipo líquido-líquido puede cambiarse el pH de la fase estacionaria (añadiéndole una disolución o haciéndole pasar vapores de ácido clorhídrico o de amoníaco) y separar también fracciones con tóxicos de carácter ácido o básico.

Fases D y E. Detección. Identificación. Confirmación. Cuantificación

Llegados a este punto, un extracto purificado o las fracciones ácida o básica están listas para acometer con ellas las operaciones de detección de un tóxico, su identificación y su cuantificación.

Por *detección* se entiende el hallazgo de una sustancia extraña a la composición de la muestra. Consecuentemente, es necesario la *identificación* de esa sustancia anómala, lo que se realiza comparando la respuesta que dicha sustancia

produce al aplicar una técnica analítica y compararla con la respuesta que igualmente originan unas sustancias puras aplicadas por el analista, y que reciben el nombre de *patrones*. La respuesta aludida puede ser: el desarrollo o el cambio de color, en las hace tiempo obsoletas *reacciones coloreadas*, el desplazamiento o el tiempo relativo en las técnicas cromatográficas, el peso o los iones moleculares en la espectrometría de masas, etc., mientras que los patrones deben corresponder al concepto de «patrones primarios» o «sustancias para análisis» de la Química Analítica, si bien en algunas circunstancias se utilizan patrones secundarios, de menor fiabilidad, recuperados de compuestos comerciales o incluso extraídos de medios biológicos (p.ej. metabolitos), circunstancia que debe tenerse presente y declararse.

Seguidamente es precisa la *confirmación*, que consiste en la comprobación del resultado anterior, mediante un nuevo análisis de *otra* alícuota de la muestra problema, utilizando métodos y técnicas diferentes de las usadas previamente y que tengan un fundamento fisicoquímico distinto. En EE UU, y desde las Directrices de la HHS de 1988 se exige que los resultados obtenidos por cualquier método de tamizado, y muy especialmente los de inmunoensayos, se confirmen por los sistemas cromatografía de gases-espectrometría de masas o por cromatografía de líquidos-espectrometría de masas, para que tengan validez forense.

Por último, la *cuantificación* persigue el cálculo de la concentración del analito en la muestra, a través de la comparación del tamaño o intensidad de la respuesta que produce el analito frente a la que originen concentraciones conocidas del patrón primario. Para obviar inconvenientes del método, como pérdidas de analito a lo largo de las operaciones de extracción, purificación, etc., la cuantificación más correcta es la que se obtiene utilizando, en lugar de patrones puros, los materiales conocidos como «sustancias biológicas certificadas o de referencia» preparadas por entidades de garantía, como National Bureau of Standards (NBS) de Washington, Community Bureau of Reference (BCR) de Bruselas, International Atomic Energy (IAEA) de Viena, etc., y que son muestras biológicas (sangre, orina, hígado, vegetales, etc.) que contienen concentraciones comprobadas del analito que interesa cuantificar, y que se someten íntegra-

mente al mismo método que se sigue con la muestra problema.

Atendiendo a todo ello, debe tenerse muy claro que todas las técnicas analíticas disponibles pueden dividirse en dos grupos:

a) *Técnicas orientativas*, que sirven sólo de tamizado (*screening*), como son los inmunoensayos, espectrofotometría ultravioleta-visible, cromatografía sobre papel o en capa fina, etc. Con los resultados proporcionados por ellas, jamás debería un analista emitir un informe.

b) *Técnicas confirmativas*, que comprueban el anterior resultado, o lo obtienen directamente, pues poseen mayor capacidad de discriminación y seguridad. Además, las buenas prácticas de laboratorio (BPL) aconsejan efectuar la identificación por dos técnicas diferentes, basadas en fundamentos fisicoquímicos distintos; estas técnicas son cromatografía de gases (gas-líquido), cromatografía de líquidos (líquido-líquido) de alta presión o resolución, espectrofotometría infrarroja, y la reconocida como de mayor discriminación y seguridad, el sistema integrado por cromatografía de gases o de líquidos y la espectrometría de masas. En la Tabla 15.5 se resumen las ventajas e inconvenientes más destacados de las distintas técnicas instrumentales, cuando se aplican al análisis toxicológico.

En definitiva, las conclusiones provisionales que se obtengan condicionarán posteriores confirmaciones por espectrofotometría de fluorescencia, cromatografía gaseosa, cromatografía de líquidos, espectrometría de masas y demás técnicas específicas para el tóxico sospechado.

Para mejorar las características cromatográficas de sustancias polares, aumentando su polaridad, volatilidad o su estabilidad térmica, se preparan derivados de los tóxicos extraídos, lo que también proporciona más iones típicos que favorecen la identificación por espectrometría de masas.

La operación, conocida como derivatización, puede consistir en: acetilación (mediante reacción con anhídrido acético) de las aminas primarias y secundarias y los hidroxilos alcohólicos y fenólicos, frecuentes en los metabolitos; sililación o formación de derivados trimetilsililados por reacción de grupos amino e hidroxilos con bistrimetilsililacetamida; metilación o etilación de ácidos carboxílicos por tratamiento con diazometano o diazoetano, etc. Los grupos alcohólicos y fenólicos

Tabla 15.5. Características de las principales técnicas analíticas instrumentales.

Ventajas	Inconvenientes	Ventajas	Inconvenientes
<i>Cromatografía en capa fina:</i>		<i>Cromatografía líquida de alta presión (CLAR HPLC):</i>	
Simplicidad.	Poca sensibilidad.	Sensibilidad.	Equipos costosos.
Economía.	Bajo poder de resolución.		Mantenimiento caro.
Selectividad.	No cuantitativa	Especificidad.	Consumo de disolventes.
Versatilidad.		Versatilidad.	
<i>Cromatografía en capa fina de alta resolución:</i>		Aplicable a sustancias termolábiles.	
Mayor sensibilidad.	Mayor coste.	Cuantitativa.	
Mayor poder de resolución.	Menor simplicidad.	Diferentes columnas, disolventes y detectores.	
Cuantitativa.			
<i>Espectrofotometría visible:</i>		<i>Espectrometría de masas:</i>	
<i>Colorimetría</i>		Proporciona numerosa información molecular.	Equipo costoso.
Simple.	Inespecífica.	Sensibilidad.	Mantenimiento caro.
Económica.	Depende de muchos factores (pH, tiempo, temperatura, etc.).	Gran especificidad.	Personal altamente especializado.
	Laboriosa.	Se aplica acoplada a CG, a HPLC o a ICP.	Exige banco de espectros.
		Cuantitativa (SIM).	
<i>Espectrofotometría UV:</i>		Extraordinaria utilidad en toxicología.	
Simple.	Sólo sirve para sustancias con determinados grupos funcionales.		
Económica.	Inespecífica de metabolitos.		
Cualitativa.	No diferencia.		
Cuantitativa.			
Utilidad como detector en HPLC.			
<i>Espectrometría de fluorescencia:</i>		<i>Electroforesis capilar:</i>	
Mayor sensibilidad que UV	Pocas sustancias fluorescentes.	Separación eficiente.	Baja sensibilidad.
Aplicación cuantitativa.	Generalmente requiere inductores de fluorescencia.	Automatización y miniaturización (microchips).	Escasa implementación en toxicología.
Gran utilidad como detector en HPLC.	Interferencias.	Bajo consumo de reactivos.	
<i>Espectrofotometría Infrarroja:</i>		<i>Resonancia magnética nuclear:</i>	
Altamente específica.	Requiere elevada pureza de muestra.	Determinación de estructuras.	Igual que las anteriores.
Aplicable como detector de CG o HPLC (con transformada de Fourier).	No separativa.	Investigación de metabolitos.	Poco útil en Toxicología analítica.
	Poca sensibilidad.		
<i>Cromatografía en fase gaseosa (CG):</i>		<i>Espectrofotometría de absorción atómica (EAA)</i>	
Alta sensibilidad.	Equipos relativamente económicos.	Muy sensible.	Requiere una lámpara por cada elemento.
Gran versatilidad (diferentes columnas y detectores).	Sólo para sustancias vaporizables y termoestables.	Cuantitativa.	Interferencias.
Selectividad.		Versátil.	
Cuantitativa.			
		<i>Espectrofotometría de plasma:</i>	
		Muy rápida (secuencial o multicanal).	Equipo y mantenimiento costosos.
		Puede combinarse con espectrometría de masas.	Programas diferentes según matrices.
			Interferencias.

también se derivatizan con el anhídrido pentafluoropropiónico; los ácidos carboxílicos forman ésteres con el hexafluoropropanol, etc.

Actualmente se están obteniendo interesantes resultados con la técnica de electroforesis capilar, sistema en que la separación electroforética se realiza en el interior de un capilar, generalmente de sílice fundida, previamente acondicionada, entre cuyos extremos se aplica la corriente eléctrica; el desplazamiento de las sustancias se determina por detectores de luz ultravioleta, de fluorescencia (inducida por luz ultravioleta o por láser) y procesadores de imagen (luz monocromática). Al principio se aplicó a la investigación de aminoácidos, después a ADN y RNA, enzimas y proteínas (metalotioneínas, etc.), pues puede separar las isoformas, y a distintos grupos de sustancias como opiáceos, compuestos organometálicos, plaguicidas, contaminantes, etc., aunque con escasa implementación en los laboratorios de toxicología.

MÉTODOS PREVIOS Y SIMPLIFICADOS DE ANÁLISIS TOXICOLÓGICO

La creciente frecuencia con que se requiere la realización de análisis toxicológicos lleva a algunos laboratorios a sustituir las sistemáticas analíticas generales, seguras pero laboriosas, por métodos simplificados conocidos como de tamizado o *screening*, algunos de los cuales se contentan con investigar la presencia de sólo unos pocos grupos químicos de xenobióticos.

Los métodos de tamizado o *screening* se definen como la combinación de procedimientos analíticos encaminados a identificar un cierto número de tóxicos que se encuentren en altas concentraciones en determinadas muestras; es fundamental no olvidar la escasa especificidad de estos métodos, por lo que los resultados deben ser siempre confirmados por un método más específico.

Entre ellos se pueden distinguir dos variantes:

a) Método abreviado, dirigido a un pequeño número de tóxicos de frecuente incidencia, especial interés o de difícil detección.

b) Tamizado amplio, capaz de identificar hasta unas cincuenta sustancias.

Son métodos aplicables sólo a disoluciones y orina y raramente a sangre y a vísceras; son más

Tabla 15.6. Ejemplos de sustancias que pueden no detectarse en análisis no sistemáticos, dependiendo del método de tamizado, y según los autores citados.

Anestésicos
Antidepresivos no tricíclicos
Antiepilépticos:
Valproato
Fenitoína
Antihistamínicos
Cannabis
Carbamatos
Cocaína
Hidrato de cloral
Metacualona
Morfinomiméticos:
Buprenorfina
Propoxifeno
Neurolépticos
Alpidem
Lormetazepam
Loprazolam
Triazolam
Zolpidem
Zopiclona

Fuente: Taboulet y Azoyan, 1994.a.

económicos que los generales, pero con mayor riesgo de que pasen inadvertidos algunos tóxicos y no se detecten (Tabla 15.6). Por esta razón nosotros ni siquiera citaremos aquellos métodos que sólo buscan los xenobióticos «más probables».

Los métodos simplificados suelen emplear reacciones coloreadas, técnicas inmunológicas, de extracción por determinados soportes o columnas, etc.

A las ventajas de rapidez y economía de los métodos rápidos, se contraponen los inconvenientes de su limitada capacidad de discriminación, tanto en el aspecto cualitativo como cuantitativo, y el reducido número de xenobióticos que investigan.

INMUNOENSAYOS

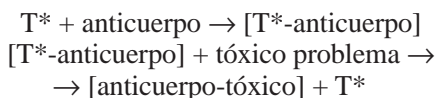
Se fundamentan en la reacción antígeno-anticuerpo, en que el antígeno es el tóxico a determi-

nar y los anticuerpos son inmunoglobulinas (generalmente IgG) obtenidas de animales inmunizados por la sucesiva aplicación de dicho tóxico, o a partir de un clon de células obtenidas a partir de un animal inmunizado (anticuerpos monoclonales). Los anticuerpos monoclonales presentan menor afinidad por su antígeno y, por lo tanto, menor sensibilidad y no mayor especificidad, como podría suponerse. El anticuerpo se suministra unido al tóxico formando una molécula compleja, en que uno de los dos constituyentes está «marcado» para permitir su determinación; la marca puede ser un isótopo radiactivo, un radical libre, una enzima que provoque una liberación, etc.

Las muestras han de ser líquidas, bien disoluciones, orina, suero sanguíneo, saliva, humor vítreo, sudor, o hidrolizados de pelo o de uñas.

Por tanto, básicamente, un inmunoensayo consiste en una reacción competitiva por unirse a un anticuerpo, entre un tóxico presente en la muestra, que actúa como antígeno, y ese mismo tóxico/antígeno que, formando un complejo con su anticuerpo correspondiente, se añade a la muestra de reacción, y estando uno de los dos componentes de este complejo marcado de forma que pueda ser detectado y cuantificado cuando se libere del complejo.

Un esquema general de los inmunoensayos puede ser:



donde T^* es el tóxico marcado y «tóxico» es la misma sustancia en la muestra problema.

La naturaleza de la marca y, consiguientemente, la forma de detectarla, promueven diferentes clases de inmunoensayo, cuya exactitud y sensibilidad estarán limitadas por dos factores: la especificidad del anticuerpo y la sensibilidad del detector utilizado.

Los métodos en los que la determinación del compuesto marcado se realiza sobre la propia mezcla de reacción se denominan *inmunoensayos homogéneos* (son EMIT, CEDIA, FPIA, etc.; ver a continuación), mientras que aquellos en que es preciso la separación del antígeno libre, para evitar interferencia con la marca del complejo, se denominan *inmunoensayos heterogéneos* (EIA, ELISA, RIA, etc.) (Hand y Baldwin, 2004).

Podemos resumir las principales formas de inmunoensayos en las siguientes:

a) *Reacción antígeno-anticuerpo*, con precipitación observable, bien directamente, bien con el concurso de moléculas inertes que den mayor volumen al precipitado, bien con el empleo de técnicas electroforéticas que separen la macromolécula compleja formada (inmunolectroforesis) o simplemente inmunodifusión.

Las moléculas inertes suelen ser micropartículas de látex o bien oro coloidal, y según el procedimiento, el resultado puede ser directa o inversamente proporcional a la cantidad de tóxico en la muestra.

b) *IH, inhibición de la hemoaglutinación*; utiliza como marcador eritrocitos de cordero, a los que se une el fármaco como antígeno, para formar un complejo que, al reaccionar con el anticuerpo, se aglutina o coagula. Sin embargo, en presencia del tóxico se desplaza el complejo y no se produce la coagulación.

c) *FIA, Inmunofluorescencia*; se incluye una sustancia capaz de introducir inmunofluorescencia al complejo antígeno-anticuerpo cuando, al producirse éste, se libera una enzima (por ejemplo, β -galactosidasa) la cual activa la fluorescencia. Una modalidad es la inmunofluorimetría de polarización (PFIA).

d) *EMIT (enzyme multiplied immunoassay technique)*, también conocido como *multiensayo enzimático homogéneo*, que se basa en copular la droga con una enzima lisozima, β -galactosidasa o la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G-6-PDH). Cuando este complejo se une a un anticuerpo, la enzima se inactiva, pero cuando el conjunto reacciona con un antígeno, la enzima queda libre y puede hidrolizar determinados sustratos con producción de alguna modificación mensurable (color, etc.).

e) *CEDIA*. Es similar al EMIT, pero emplea dos fragmentos complementarios de la enzima β -galactosidasa; cuando uno de los fragmentos se une al anticuerpo no puede complementarse con el otro fragmento, y la enzima no es activa. Pero cuando hay tóxico en la muestra, éste se enlaza al anticuerpo, la enzima se completa y actúa sobre el sustrato, produciendo cambio de color mensurable (García *et al.*, 2002).

f) *RIA, radioinmunoanálisis*. Esta técnica requiere la síntesis de un antígeno marcado radiac-

tivamente con algún elemento isotópico, como I^{125} , H^3 , C^{14} . Este antígeno radiactivo forma el complejo con el anticuerpo, y se añade a la disolución problema (orina, plasma, etc.); si en ésta hay el tóxico buscado, producirá desplazamiento o liberación del producto radiactivo, que quedará en la disolución y se podrá separar por centrifugación a 1.500 g. Se lleva una alícuota del sobrenadante a un contador de centelleo gamma, y comparando con curvas patrones se deduce la cantidad de tóxico en la muestra.

Alexander y Machie han propuesto separar la droga filtrando la solución por un papel de cambio iónico, que después se corta en trozos y se trata con la mezcla toxicomarcado-anticuerpo; después de lavar el papel se mide en él la radiactividad residual.

g) *FRAT: técnica de ensayo de radical libre*; requiere el empleo de un espectrómetro de resonancia de spin electrónico capaz de detectar cuándo un reactivo formado por el complejo fármaco-radical libre está unido o no a un anticuerpo específico contra el fármaco. El marcador suele ser un radical nitróxido.

h) *EIA: enzima inmunoensayo*. Se realiza en microplacas con pocillos, en los que se coloca el anticuerpo, que se liga al pocillo; se añade cantidad conocida del tóxico marcado con una enzima y finalmente la muestra; se incuba para permitir que el anticuerpo se fije al tóxico marcado y al de la muestra, si lo contuviera, que compite por el anticuerpo con el tóxico marcado, de forma que, cuanto más tóxico problema haya se libera más del marcado. Después de lavar para eliminar el tóxico libre, se añade un reactivo sobre el que la enzima marcadora fijada provoca una coloración, que se mide, con un valor que será inversamente proporcional al del tóxico en la muestra.

i) *ELISA: ensayo de enzima ligada a un inmunoadsorbente*. Es también un ensayo competitivo parecido al EIA, pero a diferencia de éste, aquí la enzima no marca al tóxico, sino al anticuerpo. Tras el lavado queda sólo la fracción de anticuerpo enlazada al complejo restante, también en cantidad inversa al tóxico en la muestra. Existen dos modalidades:

1. En la modalidad *sandwich*, al anticuerpo fijo se une el tóxico, que a su vez fija el complejo anticuerpo-enzima.

Soporte-Ig-T-[Ig-E]

Después de eliminar por lavado el complejo [Ig-E] no fijado, la actividad de la enzima indicará la cantidad del tóxico presente.

2. En la modalidad competitiva, después de la unión Soporte-Ig-T se añade tóxico patrón conjugado a la enzima que se fijará a la Ig que quede libre sobre el soporte. Se tendrá:

Soporte-Ig-T
Soporte-Ig[T_P-E]

La actividad enzimática representará indirectamente, y en proporción inversa, la cantidad del tóxico en la muestra.

Las enzimas más utilizadas son peroxidasa, fosfatasa alcalina y β -galactosidasa (para medición por fluorescencia).

Estos procedimientos pueden resultar útiles para la detección de numerosos tóxicos, y en la actualidad podemos encontrar en el mercado sueros o anticuerpos para anfetaminas, barbitúricos, cocaína, difenilhidantoína, diazepínicos, digitálicos, LSD, mezcalina, metadona, morfina, pentazocina, cannabinoides, etc.

Ventajas e inconvenientes de los inmunoensayos

La ventaja fundamental es poder efectuar la investigación directamente sobre el líquido problema (generalmente orina), y a que, una vez sistematizados, los ensayos se realizan con gran rapidez, gracias a los equipos o kits comerciales. La sensibilidad es muy grande, pues se llegan a detectar sustancias en cantidades del orden del picomol. Esta gran sensibilidad se convierte en un inconveniente pues presenta el riesgo de aparentar un resultado positivo a causa de una pequeña interferencia; por ello, los propios fabricantes de los reactivos, y después los laboratorios expertos, proponen unos límites de fiabilidad o valores de corte (*cut off* en inglés), para cada tipo de sustancia, por debajo de los cuales no deben considerarse los resultados como positivos de su hallazgo; en ocasiones, estos valores de corte son objeto de discusión entre analistas que consideran que no han sido correctamente adoptados.

Sin embargo, su gran inconveniente es que no poseen absoluta especificidad, porque pueden

producirse reacciones cruzadas que proporcionan falsos resultados positivos como consecuencia de la presencia de moléculas relacionadas con la del tóxico que se investiga (por ejemplo, el suero para heroína da positivo con opiáceos naturales y sintéticos, por lo que debería denominarse reactivo de opioides, aunque no detecta la 6-monoacetilmorfina), también muchos metabolitos y algunas sustancias interfirientes pueden dar resultado positivo; la presencia en la muestra de la enzima lacticodehidrogenasa (LDH), procedente de lesiones celulares, da falsos resultados negativos; así mismo, se producen falsos resultados negativos por envejecimiento o desnaturalización del anticuerpo, lo que ocurre con cambios de pH, presencia de ácidos, sales, detergentes, agua oxigenada, medicamentos retrovirales, etc. (véase Tabla 15.7). Además, el precio de los reactivos es elevado, y su plazo de caducidad es corto. Por otra parte, al precisarse un suero (o anticuerpo) para cada tóxico, y ser aún muy escaso el número de anticuerpos comerciales en relación con la gran cantidad de tóxicos potenciales, no es posible desarrollar *sistemáticas generales*, sino solamente buscar algunos tóxicos concretos. Por su sencillez y rapidez, los inmunoensayos se han introducido en la mayoría de los laboratorios clínicos y toxicológicos; aunque su utilidad es innegable, no ha de olvidarse que sus resultados, en general, no deben tomarse como definitivos, sino que deben ser confirmados por otra técnica instrumental. Por ello, entendemos que la auténtica aplicación del inmunoensayo en toxicología es como técnica de «tamizado».

Por todo ello, estimamos que los inmunoensayos toxicológicos pueden tener utilidad en operaciones masivas de detección del uso de droga, y en la investigación del dopaje deportivo, etc., mejor que para fines clínicos o judiciales, especialmente en éstos, en que el número de intoxicaciones por cada producto no justifica el desembolso, y en los que un resultado falso puede tener graves consecuencias.

Métodos químicos simplificados

La forma menos arriesgada de simplificar una sistemática general es la siguiente: una vez desproteinizada la muestra, se toman dos alícuotas,

Tabla 15.7. Inmunoensayos enzimáticos.

Ventajas	Inconvenientes
<i>Inmunoensayos</i>	
Rapidez.	Poca especificidad.
Poca manipulación de las muestras.	No distingue homólogos.
Sensibilidad.	Posibilidad falsos positivos y negativos.
	Necesita confirmación.
	Poca aplicación cuantitativa.
	Inactivación de antisueros por pH, detergentes, etc.
<i>Reacciones cruzadas:</i> las sustancias que se relacionan producen resultados positivos en la identificación de las siguientes drogas:	
<i>Ensayo de opiáceos:</i>	
- Codeína.	- Levorfanol.
- Hidrocodona.	- Floxin (ofloxacina).
- Hidromorfona.	- Nalorfina.
- Oxycodona.	- Meperidina.
- Doxilamina.	
<i>Ensayo de anfetaminas</i>	
- Cloroquina.	- Ranitidina.
- Clorpromazina.	- Procainamida.
- Metoxifenamina.	- Benfetamina.
- Quinacrina.	- Efedrina.
- Labetolol.	- Fenilpropanolamina.
- Fentermina.	
<i>Ensayo de barbitúricos</i>	
- Glutetimida.	
<i>Ensayo de cannabis</i>	
- Ibuprofeno, ranitidina.	

NOTAS:

1. Para la cocaína no se han señalado reacciones cruzadas. Sin embargo, como el suero sólo reacciona con la benzoilecgonina, se produce resultado negativo en ausencia de este metabolito.
2. Para algunos compuestos anfetamínicos poseen escasa sensibilidad, y dan resultado negativo, a menos que las concentraciones del tóxico sean muy altas.
3. La presencia de la enzima lactatodeshidrogenasa (LDH) en la muestra, por alguna patología, induce falsos resultados positivos, por simular el proceso de oxidación- reducción del NADP del reactivo.
4. Por el contrario, la presencia de agua oxigenada, glutaraldehído, retrovirales o de detergentes en la mezcla de reacción origina falsos resultados negativos, por inhibir dicha reacción.

que se ponen respectivamente a pH ácido y básico con soluciones tampón a veces muy complejas, y se extraen con disolvente orgánico unitario o mezcla de ellos, lo que permite separar los compuestos orgánicos ácidos y neutros por un lado y los básicos por otro, con un mínimo de impurezas, en parte porque se posibilita el empleo de disolventes muy apolares. De esta forma, los extractos obtenidos, una vez concentrados a pequeño volumen, se someten directamente a las técnicas fisicoquímicas de identificación y cuantificación (cromatografía en capa fina y técnicas instrumentales: cromatografía de gases, de líquidos o espectrometría de masas); en ocasiones, previamente se obtienen derivados.

Para algunos fármacos, especialmente de carácter básico, se ha ensayado con éxito el tratamiento de las muestras con acetonitrilo, el cual desnaturaliza las proteínas y extrae el xenobiótico. Después se lava el extracto con soluciones salinas saturadas y se analiza directamente por cromatografía de líquidos de alta presión o resolución (CLAR o HPLC).

Los plaguicidas organofosforados se extraen con *n*-hexano, metanol o éter que, después de purificar por columna de alúmina o florisil, se inyectan en cromatógrafo de gases con detector de nitrógeno-fósforo.

Los plaguicidas organoclorados liposolubles se extraen con hexano o éter de petróleo, se purifica (cuando el contenido graso es elevado, por partición con acetonitrilo) por columna de florisil, seguido de un fraccionamiento con columna de óxido magnésico y celita, eluyendo sucesivamente con mezclas de 5, 10 y 15 por 100 de éter etílico en éter de petróleo; los eluatos se concentran hasta pequeño volumen y se inyectan en cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones.

En el mercado se encuentran preparadas una serie de columnas cromatográficas, o en forma de los ya citados papeles de filtro, que permiten separar fácilmente el xenobiótico de la muestra biológica o no, y recuperarlo con el disolvente adecuado en cada caso; como ya se expuso anteriormente, estas columnas dan muy buenos resultados en procedimientos directos de búsqueda de un tóxico determinado (aflatoxinas, paraquat, barbitúricos, etc.), siempre que se utilice el material de relleno apropiado, se sometan al pretratamiento específi-

co, se ponga al pH correcto y se eluya con el disolvente más conveniente para cada xenobiótico; cuando alguno de estos factores no es el óptimo, el tóxico no se aísla o el rendimiento de extracción es muy bajo.

ANÁLISIS TOXICOLÓGICO DEL PELO

El análisis del pelo con fines toxicológicos ha adquirido en los últimos años una gran difusión, principalmente en su aplicación al diagnóstico del consumo de drogas de abuso, lo que se está utilizando incluso en procedimientos de divorcio; pero realmente la aplicación del pelo, y especialmente el cabello, como muestra toxicológica no es algo nuevo. Ya en 1858 el químico alemán Casper efectuó análisis de arsénico en individuos expuestos, y en 1934 el toxicólogo francés Kohn-Abrest publicaba la determinación de arsénico en pelo de individuos no expuestos, aunque precisaba para ello cien gramos de cabello, bien diferentes de los cincuenta miligramos que son ahora suficientes con los métodos actuales; en la Tabla 15.8 se recogen los antecedentes históricos del uso de esta matriz analítica.

Ya se ha indicado que la muestra debe obtenerse de la zona occipital, cortándola con tijeras muy cerca de la piel, y fijarla sobre un papel cruzándola con una tira de papel adhesivo, para señalar sobre el papel cual es el extremo más próximo a la raíz (el de más reciente crecimiento) y cual el más alejado o distal; conviene que sea un mechón del grueso de un lápiz. En el laboratorio se mide el trozo total, y se fracciona en porciones de un centímetro que, aproximadamente corresponden a lo crecido durante un mes. Cada fracción se coloca en un tubito etiquetado, en el que se lava con disolvente orgánico (acetona, metanol, diclorometano, etc.) y agua, y se seca y pulveriza finamente. Después se pesa y se somete a extracción del tóxico unido interiormente al pelo, para lo que es preciso liberarlo de la unión; para metales se efectúa una mineralización, mientras que para compuestos orgánicos se realiza hidrólisis enzimática (más cara, pero de resultados más limpios), con una proteasa y mezcla de β -glucuronidasa y arilsulfatasa, o bien hidrólisis en medio ácido (de aplicación general) o básico (útil para anfetaminas y cannabinicos). Seguidamente se agita con disolvente orgánico, generalmente etanol o metanol y agua, que

Tabla 5.8. Referencias del pelo como matriz analítica.

Analito	Autor	Año
Arsénico	Casper	1858
	Kohn-Abrest	1934
	Van Italie	1937
	Douris	1951
Barbitúricos	Goldblum <i>et al.</i>	1954
Mercurio	?	1956
Arsénico	Smith	1960
Zinc	Hammer	1971
Mercurio	Lenihan <i>et al.</i>	1972
Clorpromazina, THC	Harrison <i>et al.</i>	1974
Metales varios	Congreso sobre alimentación y cabello (N.York)	1974
	AIEA	1975
Opiáceos	Baumgartner <i>et al.</i>	1979
Morfina y cocaína	Valenti <i>et al.</i>	1981
Mercurio y MeHg	Soria <i>et al.</i>	1992
Opiáceos y cocaína	Jurado <i>et al.</i>	1993
Opiáceos, cocaína y cannabinoides	Jurado <i>et al.</i>	1995

extrarán los xenobióticos orgánicos; se purifican los extractos, se someten a derivatización y técnicas de identificación y cuantificación, como RIA, FPIA, cromatografía de gases con detector de masas, etc.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahuja S. *Chiral separations by liquid chromatography*. Weinheim: VCH, 1991.
- Ardey RE, Alan AR, Bal TS *et al.* *Pharmaceutical mass spectra*. London: Pharmaceutical Press, 1985.
- Baselt R. *Advances in analytical toxicology*. California: Biomedical Pub, 1984.
- Baumgartner W, Black T, Jones P, Bland W «RIA of cocaine in hair: concise communication». *J. Nucl. Med.*, 1982. 23: 790-792.
- Chamberlain J. *Analysis of drugs in biological fluids*. 2ª ed. Florida: C.R.C. Press, 1995.
- Clarke EG. *Isolation and identification of drugs*. 2. ed. London: The Pharmaceutical Press, 1985.
- Curry AS. Acidic and neutral poisons. En: Stolman A (ed.). *Progress in chemical toxicology*. New York: Academic Press, 1963, vol. 1, págs. 135-152.
- De Zeeuw RA. *Evaluation of analytical methods in biological systems*. Amsterdam: Elsevier, 1984.
- Freimuth HC. Isolation and separation techniques for identification of poisons. En: Stolman A (ed.). *Progress in chemical toxicology*. New York: Academic Press, 1963, vol. 1.
- García R, Moreno E, Soriano T, Roca I, Menéndez M. Screening de drogas de abuso en sangre total mediante inmunoensayo enzimático CEDIA originalmente diseñado para el análisis de orina. Aplicación a casos forenses. *Rev. Toxicol.* 2002, 19: 105-108.
- Gere DR, Derrico EM. SFE, theory to practice. *Liquid Chrom-Gas Chrom Int*, 1994; 7(6):325-33 1.
- Hand C, Baldwin D. Immunoassays. En: Moffat AC, Osseltson MD, Widdop B. (Ed.). *Clarke's Analysis of drugs and poisons*. London, Pharmaceutical Press. 2004.
- Jurado C, Gimenez M P, Menéndez M, Repetto M. Simultaneous quantification of opiates, cocaine and cannabinoids in hair. *Forensic Sci. Int.*, 1995. 70: 165-174.
- Jurado C, Kintz P, Menéndez M, Repetto M. Influence of the cosmetic treatment of hair on drug testing. *Int. J. Legal Med.*, 1997b. 110: 159-163.
- Jurado C. El pelo como matriz para el diagnóstico toxicológico. En: Repetto M. *Toxicología de Postgrado*. Sevilla. Area de Toxicología. Universidad de Sevilla. 2006.
- Maickel R. Separation science applied to analysis on biological samples. En: Reid E, Wilson J (eds.). *Drug determination for therapeutic and forensic contexts*. New York: Plenum Press, 1984.

- Menéndez M, Soriano T, García S, Jurado C. Análisis toxicológico orgánico. En M. Repetto (ed.) *Ampliación de Toxicología de Postgrado*, CD. Área de Toxicología Universidad de Sevilla. 2007.
- Moffat A C, Osselton M D, Widdop B. *Clarke's Analysis of drugs and poisons*. London, Pharmaceutical Press. 2004.
- López-Artíguez M. Análisis toxicológico de metales. En: M. Repetto (ed.) *Ampliación de Toxicología de Postgrado*. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla, 2007.
- López-Artíguez M, Cameán A, Repetto M. Preconcentration of heavy metals in urine and quantification by IPC. *J Analytical Toxicol*, 1993; 17:1822.
- Lord H, Pawliszyn J. Microextraction of drugs. *J. Chromatogr. A*, 2000, 902, 17-63.
- Oliver JS. Sample handling in forensic toxicology. En: Reid E, Wilson J (eds.). *Drug determination for therapeutic and forensic contexts*. New York: Plenum Press, 1984.
- Pfieger K, Maurer H, Weber A. *Mass spectral and GC data of drugs, poisons and their metabolites*. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1985.
- Quintela O, Bermejo A, Tabernero M, Strano-Rossi S, Chiarotti M, Lucas A. Evaluation of cocaine, amphetamines and cannabis use in university students through hair analysis: preliminary results. *Forensic Sci. Int.*, 2000; 107: 273-279.
- Repetto M, Giménez MP. Sistemática analítica toxicológica general. *Química e Industria*, 1983; 29(4): 255-258.
- Sayago A, Cameán A, Repetto M, G. Asuero A. Importancia de la especiación de elementos. En: Toxicología Alimentaria. En Cameán A. y Repetto M. (ed). *Toxicología alimentaria*. Madrid: Díaz de Santos, 2006.
- Soriano T, Jurado C, Menéndez M, Repetto M. Tissue enzymatic digestion and solid-phase extraction procedure in systematic toxicological analysis. *Proceeding of TIAFT Congress*, Prague, 2001.
- Subramanian G (ed.). *A practical approach to chiral separations by liquid chromatography*. Weinheim: VCH, 1994.
- Sunshine I. *Handbook of analytical toxicology*. Cleveland: C.R.C., 1969.
- Sunshine I. *Methodology for analytical toxicology*. Cleveland: C.R.C., 1975.
- Taboulet P, Azoyan Ph. Place des examens complémentaires dans la démarche thérapeutique de l'urgence toxicologique. *Médecine d'urgence*, 1994; 10, 1:12-17.
- Wallace J, Blum K, Singh J. The determinations of drugs in biological specimens. En: Winek Ch (ed.). *Toxicology annual*. New York: M. Decker, 1975.

BASES GENERALES PARA LA ASISTENCIA Y TRATAMIENTO DE INTOXICADOS

Recordemos que las intoxicaciones pueden presentar formas agudas, crónicas y de toxicodependencia. Las dos últimas exigen una compleja terapéutica dirigida por especialistas y con frecuencia requieren la colaboración de expertos en diferentes campos de la patología.

La gravedad y trascendencia, por la posibilidad de muerte o de persistencia de secuelas, de una intoxicación aguda exigen que, de forma inmediata, se prodiguen al intoxicado un conjunto de atenciones que, cronológicamente, pueden dividirse en dos órdenes:

1. Asistencia urgente por personal no médico, en forma de «socorrismo» o de «primeros auxilios», también conocido como *extra o prehospitalario*..

2. Tratamiento médico cualificado.

PRIMEROS AUXILIOS AL INTOXICADO

Ante una intoxicación aguda, cualquier persona con alguna instrucción sanitaria debe instaurar unas medidas urgentes, a la vez que contactar con un Servicio Telefónico de Información Toxicológica, para recabar asesoramiento apropiado al caso.

Llamamos «asistencia socorrista» a este tipo de tratamiento de urgencia, en atención a la magnífica

labor que desarrollan los socorristas, especialmente de la Cruz Roja, en innumerables accidentes de todo tipo, en que resulta decisiva la actuación consciente, y a la vez decidida y prudente, de estas personas con amor por el prójimo y una elemental instrucción sanitaria. Ellos suelen conocer no solamente qué *se puede hacer* para aportar algún remedio, sino, y esto es frecuentemente más importante, lo *que no se debe hacer* para no agravar el mal.

La asistencia urgente a un intoxicado dependerá, lógicamente, del tipo y naturaleza del agente tóxico etiológico, pero puede esquematizarse en lo que llamamos *Las tres Reglas de Oro* del tratamiento antitóxico en la fase de toxicocinética; éstas son:

- A) Evitar que se produzca mayor absorción.**
- B) Neutralizar, bloquear o volver inocuo el tóxico.**
- C) Favorecer la eliminación.**

Estas tres reglas deben ensayarse sucesivamente, con la mayor prudencia, y teniendo presente siempre la norma de «ante la duda, abstenerse».

La forma de desarrollar cada una de estas actuaciones (reglas A, B y C) será en función del tipo de tóxico, y sobre todo de la vía de absorción que haya seguido. En líneas generales se actuará como a continuación se indica, aunque posteriormente se debe recurrir al médico para que instaure

Tabla 16.1. Cronología de introducción de actuaciones terapéutica.

Edad Media	Antídotos mágicos, absurdos.
y siguiente	Evacuantes:
	Agua, tisanas diuréticas.
	Sangrías.
	Vomitivos, laxantes.
1878	Lavado gástrico (Faucher) (Mathew, 1966).
1940	Carbón vegetal activado; reintroducido en 1960.
1940's	Quelante de metales: BAL.
1949	Primeros Servicios de Tratamiento de intoxicados:
	Copenhague (Dinamarca); Utrecht (Holanda).
1950's	Diuresis forzada.
	Oximas contra organofosforados.
	Nalorfina, antagonista de opiáceos.
	Primer Servicio de Información Toxicológica: Chicago (EE UU).
1955	Hemodiálisis (Schreiner).
1959	Otros quelantes: EDTA, Penicilamina.
1960	Método escandinavo en intoxicación barbitúrica (Clemmsen y Nilsson).
1962	Jarabe de ipecacuana (Robertson).
	Desferroxamina.
1964	Hemoperfusión (Yatzidis).
1970	Acetilcisteína, contra paracetamol.
1980's	Flumazenil, antagonista de benzodiazepínicos.
	Naloxona, antagonista de opiáceos.
1985	Anticuerpos Fab, antidigoxina.
1990	Nalfemene, antagonista de opiáceos.
1993	Anticuerpo catalítico anticocaína (Landry <i>et al.</i>).

un tratamiento sintomático y antidótico, si lo estima oportuno.

Vía inhalatoria

Gases como óxido de carbono, cianhídrico, sulfhídrico, halógenos, óxidos de azufre o de nitrógeno, amoníaco, etc.

Regla A. Sacar al paciente de la atmósfera contaminada y abrigarlo, previa protección del socorrista. Liberar nariz y boca de mucosidades, restos de comida, prótesis dentarias, etc.

Regla B. Respiración artificial y vigilancia médica. Oxígeno humedecido. Reposo absoluto y

abrigo suave, para evitar el enfriamiento del paciente, pero sin aumentar el consumo de oxígeno. Mantener al intoxicado en semidecúbito lateral izquierdo, con la cabeza baja.

En caso necesario, masaje cardíaco. Casos especiales:

a) Cuando se trata de CNH, forzar la inhalación de nitrito de amilo y urgente hospitalización. Dar comprimidos de nitroglicerina. En el hospital se le inyectará lentamente tiosulfato sódico al 25 por 100, intravenoso. Mejor, EDTA dicobáltico, 300 mg, repetible, o hidroxibalaminas.

b) Cuando se trata de halógenos o gases ácidos: nebulizaciones de disolución de bicarbonato sódico, y rociar hidróxido sódico o amoníaco en el suelo contaminado.

Regla C.

- a) Ventilación.
- b) Ingestión de líquidos y facilitar la diuresis.

Vía cutánea

Impregnación o salpicaduras en piel, boca, ojos, etc., de sustancias cáusticas, como ácidos, álcalis fuertes, compuestos oxidantes, y algunos elementos químicos y productos orgánicos.

Regla A. Secado con trapo o papel, sin frotar¹. Quitar la ropa manchada y las lentillas oculares.

Los ojos afectados deben lavarse urgente y abundantemente con agua del grifo durante al menos diez minutos, sin intentar neutralizaciones, y someter al oftalmólogo.

Regla B. Neutralización.

1. *Ácidos.* Lavar la zona con disolución de bicarbonato sódico; extender una capa de bicarbonato sódico sobre la zona (caso del sulfúrico). Los ojos se lavan *varios minutos* con agua corriente.

2. *Álcalis.* Lavar con disolución de ácido acético (vinagre) o cítrico. Para los ojos, agua abundante.

3. Productos orgánicos como: fenoles, cresoles, plaguicidas organoclorados y organofosforados, gases asfixiantes (gas mostaza, levisita, iperita, cloropicrina), halógenos (cloro, bromo, yodo): Lavar abundantemente con aceite, gasolina o benceno y después con agua y jabón graso. Los gases asfixiantes pueden neutralizarse con soluciones oxidantes, como agua oxigenada, hipoclorito sódico, etc.

4. *Fósforo elemental.* Sumergir en agua, para evitar el contacto con el aire, y retirar los fragmentos con pinzas, suavemente. Lavar la zona, y mantenerla húmeda con disolución de sulfato de cobre al 1 por 100. Si no se dispone, emplear aceite.

5. *Sodio metálico.* Evitar el aire y el agua; cubrir y limpiar con aceite.

¹ Con frecuencia se suele recomendar el lavado con agua, pero esto es contraproducente con el ácido sulfúrico, porque a la acción cáustica se sumaría la quemadura térmica producida por el calor de mezcla sulfúrico-agua. Esta reacción exotérmica se presenta también, aunque en menor grado, con otros ácidos y los álcalis.

Regla C. La eliminación, en estas afectaciones cutáneas, puede incrementarse con el abundante lavado con agua (15 minutos al grifo), que se efectuará después de las operaciones antes recomendadas.

Posteriormente debe acudir al dermatólogo o al oftalmólogo para que instaure terapéutica para las llagas o necrosis que se hubieran producido.

Picaduras y mordeduras venenosas

Se incluye aquí el abordaje de picaduras de insectos (abejas, avispas, hormigas, arañas, garrapatas, ciempiés y escorpiones) o de plantas (ortigas, hiedra, palmeras, yucas, césped, etc.), así como las mordeduras de ofidios (reptiles) y algunos peces y medusas.

Las toxinas de todos ellos son de composición compleja de sustancias que, en forma esquemática, pueden agruparse en cuanto propias de cada especie y género, como sigue:

a) Enzimas, como hialuronidasa, fosfolipasas, fosfodiesterasas, fosfatasa ácida, proteasas, nucleotidasa, ribonucleasa, peptidasa, colinesterasa, esfingomielasa, etc. Actúan hidrolizando mucopolisacáridos y proteínas (lo que favorece la difusión tisular de otros componentes tóxicos), los fosfolípidos de membranas de hematíes y neuronas etc. Producen lesiones tisulares y necrosis y, al igual que los péptidos, son alergénicas, capaces de inducir reacciones locales o sistémicas (anafilaxia).

b) Ácido fórmico, cantaridina u otras sustancias vesicantes.

c) Aminas biógenas, como acetilcolina, norepinefrina, dopamina, serotonina, histamina, bradiquinina, etc., que, como algunos de los péptidos, son vasoactivas y pueden dar lugar a hipertensión arterial o a hipotensión y colapso. También favorecen la absorción del tóxico.

d) Péptidos desgranuladores de los mastocitos, con liberación de histamina, serotonina y derivados del ácido araquidónico inductores de anafilaxia.

e) Péptidos específicos como apamina y melitina, en la abeja, que son cardiotóxicos.

f) Sustancias hemolizantes o que interfieren en la coagulación de la sangre, por defecto o por

aumento: trombinomisile, activador de la protrombina, activador del factor X, etc., que pueden dar lugar bien a petequias y hemorragias, o por el contrario a *coagulación intravascular diseminada* (CIVD). Los restos de hematíes, los coágulos y la coagulación intratubular de mioglobina (liberada por lesión del tejido muscular), conducen a afectación e insuficiencia renal.

g) Sustancias neurotóxicas, polipéptidos de bajo peso molecular, sin actividad enzimática, que bloquean la placa motora ejerciendo una acción anticolinesterásica; a veces se encuentra ácido gamma-aminobutírico (GABA), también inhibidor de la transmisión. Provocan visión borrosa, inhibición de los movimientos oculares, insensibilidad, parestesias, ptosis palpebral, parálisis de músculos torácicos y del diafragma y dificultad respiratoria, desorientación, alucinaciones, etc.

h) Látex cáustico, con resinas y compuestos fenólicos, ácido fórmico, saponinas, etc., presentes en numerosas plantas que, por contacto o inyección mediante quillferos, dan lugar a lesiones cutáneas y reacciones alérgicas.

Esta diversidad de acciones justifica la complejidad de tratamiento, y explica la gran variedad de propuestas que se encuentran en la bibliografía y en la medicina popular.

La actuación más recomendable puede ser:

Regla A. Inmediatamente, aplicar sobre la zona un adsorbente como arena, arcilla, harina, polvo de talco, etc., y alcohol. Procurar retirar el aguijón o los tentáculos adheridos; como algunos de los adsorbentes citados pueden provocar infecciones, incluso tétanos, después de lavar bien con agua y jabón, debe desinfectarse con agua oxigenada y aplicar antisépticos (que no coloreen la piel, para evitar confusiones) y antibióticos y si se cree oportuno, toxoide tetánico.

Deben eliminarse anillos, pulseras, etc. del miembro afectado, por si se produce inflamación del mismo. En la zona de la picadura o mordedura se puede aplicar una bolsa con hielo para enlentece la circulación, aunque sin interrupciones para no provocar efecto de bombeo. El miembro accidentado debe inmovilizarse y el individuo estará en reposo, pudiéndosele administrar un ansiolítico (diazepam).

En mordeduras de ofidios, escorpiones y alacranes se discute si se debe hacer incisión en forma de cruz y succionar, enfriar fuertemente la zona, o colocar torniquete; autores como Meler y White (1995) y otros muchos desaconsejan todo ello.

De acuerdo con las recomendaciones del Colegio Americano de Cirujanos (Schwart *et al.*, 1987), los pacientes de mordeduras deben inmovilizarse, para evitar la difusión del veneno, que se realiza por vía linfática y muy poco por la sanguínea. Por ello si se pone torniquete, éste se aprieta poco, (únicamente un vendaje) sólo para dificultar los flujos venoso y linfático. La incisión debiera hacerse cuanto antes, después de poner el torniquete y debe tener unos 6 mm de longitud y entre 3 y 6 mm de profundidad; debe ser lineal y no en cruz. Se practica sobre un pliegue de piel levantada entre dos dedos. Se puede efectuar succión con la boca (preferiblemente con copa de aspiración), si la mucosa de la misma se encuentra intacta, pues las heridas o laceraciones pueden permitir que se absorba la toxina; sin embargo, no hay peligro si se deglute el tóxico, que se destruye por los jugos gástricos. Tanto el torniquete como la crioterapia suelen favorecer la necrosis local.

La indicación de antiveneno depende del tipo de animal y de disponer del antisuero específico; su inyección sólo debe realizarse en un centro sanitario, por las reacciones secundarias que pueden producirse; se desaconseja la aplicación local del mismo en la zona de la picadura o mordedura, porque ahí se habrá producido edema, que dificulta la absorción del suero; la vía de elección es la intravenosa por goteo.

Dado que el riesgo anafiláctico es grande, los sueros se administran diluidos en solución salina o glucosada; la aplicación debe interrumpirse a la menor señal de reacción y ha de tenerse preparada adrenalina y un antihistamínico inyectable. Para reducir la circulación sanguínea y difusión del veneno se aplica infiltración de adrenalina con novocaína.

El antisuero sólo es útil si se administra precozmente, en las primeras horas tras la picadura, por lo que, a pesar de la recomendación de que sólo se aplique en centro hospitalario, existen en el comercio estuches de emergencias para uso en el campo, que contienen: una banda elástica

para usar como torniquete suave, un antisuero específico o polivalente, un autoinyectable de adrenalina y otro con antihistamínico (clorfeniramina o, mejor, astemizol), para aplicación subcutánea. Algunos autores consideran también asumible el riesgo de las complicaciones del torniquete, la incisión y la succión, especialmente en casos de lejana atención sanitaria, pero otros expertos únicamente aconsejan la inmovilización, la refrigeración y la administración i.v. de gluconato cálcico.

La *hormiga maderera*, que vive en muebles, de los que desprende un fino serrín, y es pequeña, roja, con mandíbulas potentes, muy distinta de la termita, produce mordeduras, a veces en línea, cuyo picor no se calma con antihistamínicos ni corticoides sino tan sólo con fricciones de bicarbonato sódico.

Las picaduras de los mosquitos, con un gran componente alérgico, se calman frotándolas con preparados repelentes de insectos, preferentemente con los que contienen toluamida.

Regla B. Aplicar sobre la zona agua oxigenada, solución de permanganato potásico o vinagre, o bien bicarbonato o amoníaco, para neutralizar el veneno según sea éste alcalino o ácido. Poner pomadas o cremas de antihistamínicos y de corticosteroides sobre la piel y por vía subcutánea. Si la persona fuera hipersensible (alérgicos en general), administrar primero los antihistamínicos y después corticoides por vía oral o parenteral.

Idéntica actuación es aplicable tras contactos con plantas que producen dermatitis alérgicas o de contacto o fotodermatitis.

Si fuera posible, aplicar antisuero específico, pero no otro cualquiera; no es imprescindible para la fauna española.

Regla C. Tiene ya carácter médico, más que socorrista y debe realizarse en centro sanitario. Dar líquidos o suero glucobicarbonatado, intravenoso, y favorecer la diuresis, con reposo. Como terapéutica sintomática, suele requerir tratamiento de:

Dolor: salicilatos, paracetamol; pueden precisarse analgésicos fuertes, aunque en muchos casos están contraindicados los opiáceos, por peligro de parálisis respiratoria. Puede infiltrarse novocaína.

Insuficiencia respiratoria y circulatoria: dar oxígeno y adrenalina, subcutánea (0,5 ml al 1/1.000-1) y aminofilina si hay broncoespasmo. Si se administrara corticoide (hidrocortisona o metilprednisolona) se evitará un edema de glotis, por efecto rebote, con una segunda dosis del mismo.

Peligro de anafilaxia: debe vigilarse la aparición de reacción anafiláctica, y realizarse pruebas de laboratorio, de discrasia sanguínea y aumento de inmunoglobulina IgE, por lo menos.

Cuando sea posible, antes de administrar el antisuero, deben realizarse pruebas cutáneas y oculares de hipersensibilidad, para lo que existen muestras de las toxinas puras. Posteriormente, puede someterse al individuo a un tratamiento de desensibilización.

Prevención de infecciones: Tras las mordeduras animales existe el peligro de infecciones por inoculación de gérmenes de la flora bucal y la ambiental, por lo que conviene antibioticoterapia con ampicilina o trimetoprim y, además, toxoide tetánico.

Calambres musculares y alteraciones vasculares y metabólicas: gluconato cálcico, intravenoso, lento, 10 ml al 10 por 100 y complejo vitamínico B, más vitamina C y, si se sospecha toxina hemolítica, vitamina K.

Convulsiones: diazepam; fenobarbital sódico, intravenoso, 50-100 mg.

Además se deben realizar controles clínicos analíticos de sangre y orina, para detectar afectación hemática o renal.

Si fuera preciso, habrá que realizar intubación traqueal, ventilación asistida y diálisis, en caso de insuficiencia renal.

Vía digestiva

Es la más frecuente y conflictiva.

Regla A. Vómito. Se intenta provocar dando de beber un vaso o dos de agua templada, y después tocando la úvula con el dedo. Los niños deben cogerse por la cintura e invertir ligeramente el tronco, pero no debe insistirse.

Si hubiera disponible, con el agua puede darse una cucharada de jarabe de ipecacuana (no confundir con la tintura ni el extracto); aunque la OMS lo considera «esencial» así como algunos toxicólo-

gos de reconocido prestigio, periódicamente se discute su utilidad y actualmente la Academia Americana de Pediatría y la Asociación Americana de Centros Antitóxicos no lo recomiendan (Erickson *et al.*, 2005). Sólo es útil en la primera hora tras la ingesta del tóxico, y nunca a menores de 6 meses de edad.

Excepciones al vómito: jamás debe intentarse el vómito en las siguientes circunstancias:

- a. Ingestión de cáusticos o corrosivos (peligro de estallido gástrico).
- b. Ingestión de petróleo, hidrocarburos o sustancias disueltas en ellos, o detergentes (peligro de neumonitis química o lipídica por aspiración a aparato respiratorio).
- c. Tóxicos convulsivos o estados convulsivantes.
- d. Estado de inconsciencia o coma.
- e. Caso de abundantes vómitos espontáneos.
- f. Ancianos o niños menores de un año.

Regla B. Neutralización, absorción/adsorción y dilución.

1. *Ingestión de ácidos:* ingerir, poco a poco, dos vasos de agua con un alcalino (nunca un carbonato o bicarbonato, pues desprendería gran cantidad de CO_2).

El ideal es el óxido o hidróxido de magnesio; o medicamentos antiácidos de hidróxido de aluminio.

2. *Ingestión de álcalis:* dos vasos de agua, con vinagre o limón.

Muchos autores recomiendan dar sólo leche o agua albuminosa; autores como Rumack y Burrington (1977) proscriben totalmente la neutralización por haber demostrado la producción de quemadura térmica en el estómago con el calor desprendido en la reacción.

Sustancias neutralizantes o bloqueantes

Se puede usar una de las siguientes:

a) *Carbón activo*, dos cucharadas por vaso de agua. Es el mejor adsorbente, para la mayoría de los tóxicos (véase Cap. 10). No se recomienda el mal llamado «antídoto universal», mezcla de carbón activo, óxido magnésico y tanino, porque el segun-

do libera las bases adsorbidas por el carbón, y el tanino puede exacerbar el cuadro tóxico por afectar al hígado. En defecto de carbón activo, puede usarse pan quemado o harina quemada. El carbón activo es útil precozmente, cuando el tóxico aún está en el estómago, pero también en una fase más tardía, pues es capaz, estando en el intestino, de extraer tóxicos de la sangre, en lo que se ha llamado «diálisis intestinal», que es aplicable para sustancias con larga vida media, pequeño volumen de distribución y poca unión a proteínas, como salicilatos, carbamazepina, teofilina, fenobarbital, quinina, etc., con dosis repetidas, más un laxante para contrarrestar el efecto estreñimiento (véase Regla C.2). También interrumpe la circulación enterohepática.

b) *Claros de huevo* (2 claras por vaso de agua), cuyas proteínas copulan a metales (aunque el complejo formado será prontamente digerido), y además protegen la mucosa gástrica. Se desaconseja la tan recomendada leche, pues su fracción grasa puede incrementar la absorción del fósforo, óxidos metálicos, insecticidas y demás productos liposolubles.

c) *Disolución de sulfato de cobre* al 0,1 por 100 para retener el fósforo elemental, por formación de fosfuro de cobre insoluble.

d) *Resinas cambiadoras de iones*. Pueden ser de utilidad en casos concretos. También los medicamentos antiácidos.

e) *Disolución de permanganato* al 1 por 100, que destruye, por oxidación, alcaloides, cianuros, etc.

f) *Tiosulfato sódico* al 25 por 100 más sulfato ferroso al 15 por 100, en la ingestión de cianuros.

g) *Tiosulfato sódico* al 10 por 100 en la ingestión de yodo.

h) *Bicarbonato sódico*, para el fenol y metanol.

i) *Leche, exclusivamente* en ingestión de cáusticos, fluoruros u oxalatos; nunca con tóxicos liposolubles (por ejemplo, plaguicidas o medicamentos orgánicos).

El problema de la leche

La leche, al ser un líquido acuoso que posee en suspensión o en disolución lípidos, proteínas y calcio, teóricamente presenta cualidades para diluir tóxicos en el estómago, bloquear iones metálicos que se unen a las proteínas y retrasar su absorción, bloquear iones que forman sales insolubles con el

calcio, y suavizar con su grasa la mucosa gástrica lesionada; por ello ha sido tradicionalmente recomendada incluso como medida preventiva ante supuestas exposiciones. Sin embargo, desde hace años viene siendo discutida y reprobada, según las siguientes razones:

- a. Posibilidad de quemaduras térmicas por desprendimiento de calor al reaccionar su agua con cáusticos y corrosivos.
- b. Que su grasa facilite la absorción de tóxicos liposolubles, como ocurre con los aceites vegetales y animales, al contrario que los aceites minerales, que no se absorben.
- c. Que los proteínatos metálicos se digieren prontamente, por lo que el retraso en la absorción de los iones metálicos es poco decisivo.

Caso de intoxicación por moluscos afectados por *marea roja*, es útil tratar de inactivar la saxitoxina en el estómago con bicarbonato sódico, y después administrar carbón activo, laxante y diurético. Debe tenerse presente que se han encontrado las biotoxinas de este grupo no sólo en moluscos bivalvos, sino también en caracoles marinos y canchales, incluso envasados.

Regla C. Eliminación.

1. En caso necesario, repetir el vómito, tras la administración de los neutralizantes o bloqueantes, cuando no esté contraindicado.
2. Acelerar el tránsito intestinal mediante un catártico: sorbitol, lactulosa, manitol, citrato magnésico o sulfato sódico (30 g en un vaso de agua) o aceite de parafina (100-200 g); éste no debe usarse frente a productos espumógenos. Nunca emplear aceite vegetal, que puede aumentar la absorción de los liposolubles. También es útil un enema rectal (véase más adelante, apart. IV).
3. Administración de un diurético y líquidos, bajo prescripción facultativa.

Vía rectal

Cuando existe peligro de intoxicación por error en la administración de supositorios, se debe poner un enema templado de disolución de cloruro o fosfato sódico o cálcico. Nunca enemas de agua pura, que pueden producir intoxicación hídrica; en

defecto de los enemas comerciales, puede usarse de agua templada con sal común.

TRATAMIENTO MÉDICO CUALIFICADO

Después de la asistencia socorrista o de primera urgencia, y de acuerdo con el asesoramiento médico o de un Servicio de Información Toxicológica, o según el cuadro que presente el enfermo, éste debe ser puesto bajo control de especialistas que puedan instaurar un tratamiento clínico efectivo. No debe olvidarse que un individuo intoxicado es un enfermo, y como tal requiere una asistencia médica, y que muchas intoxicaciones presentan reacciones secundarias o retardadas varios días después del fenómeno agudo.

La asistencia clínica del paciente intoxicado presenta unas características marcadamente diferenciales de las de cualquier otro individuo afecto de una enfermedad aguda o crónica. El elevado número de sustancias tóxicas, sus diferentes mecanismos de acción y eliminación, sus incompatibilidades con ciertos medicamentos, etc., presentan una problemática que ha obligado a la creación de la especialidad de Toxicología Clínica en los países desarrollados.

En líneas generales, podemos decir que las bases del tratamiento médico al intoxicado son:

1. Vigilancia y terapéutica intensiva para control y mantenimiento de las funciones respiratoria y circulatoria (prevención de la parada respiratoria y del *shock*). Lo importante es que el paciente siga vivo, para lo que los clínicos ingleses siguen la secuencia *a, b, c*: *a* = limpiar las vías aéreas; *b* = mantener la respiración (*breath*); *c* = mantener la función cardiocirculatoria.
2. Diagnóstico clínico y analítico de la intoxicación y su etiología.
3. Intensificación clínica de las medidas A, B y C de la primera urgencia o socorrista.
4. Tratamiento específico y antidótico.
5. Tratamiento sintomático.
6. Vigilancia y control después de la recuperación aparente.

Ante intoxicados en coma, algunos autores recomiendan aplicar sistemáticamente: 50 ml de

glucosa al 50 por 100 y 0,5-1 mg de naloxona i.v., más vitamina B₁, (tiamina) i.m., y a intoxicados por gases, oxígeno al 100 por 100, previamente a las actuaciones enumeradas.

Veamos los términos generales de cada una de estas líneas de actuación médica.

Mantenimiento de las funciones respiratoria y circulatoria y del SNC

a) Asistencia respiratoria. Comenzará por la limpieza de la boca y vías respiratorias, separación de prótesis dentarias, aspiración de secreciones, etc. Si se observa depresión respiratoria (volumen-minuto inferior a 4 l), se administrará oxígeno por boca a boca, mascarilla o intubación orofaríngea o endotraqueal. Cuando la pO₂, está reducida pero por encima de 60 mm de Hg y la pCO₂, oscila entre 40 y 50 mm se debe instaurar oxigenoterapia, con mascarilla, con un flujo de 4 l/min. Si la pO₂ es inferior a 60 y la pCO₂, superior a 50 se debe actuar con respirador mecánico, y en caso extremado, administrar niquetamida.

Debe tenerse presente que desde hace muchos años están desacreditados y contraindicados los analépticos, incluida la aminofilina (véase apart. 4 de este capítulo).

En resumen, después de la limpieza de las vías respiratorias, debe administrarse oxígeno tan precozmente como sea posible en las intoxicaciones por monóxido de carbono, ácido cianhídrico, ácido sulfhídrico o tóxicos metahemoglobinizantes.

La *oxigenoterapia hiperbárica* es el tratamiento de elección en las intoxicaciones por monóxido de carbono con elevada carboxihemoglobina (sea cual sea el grado de afectación neurológica). Con ella se consigue una rápida eliminación del CO y la recuperación clínica, y se evitan las secuelas neurológicas o *síndrome tardío* consistente en una encefalopatía anóxica con manifestaciones de tipo neurológico y psiquiátrico, que puede aparecer entre los 4 y los 9 días de la intoxicación. Esta técnica se realiza en la llamada *cámara hiperbárica* (conocida vulgarmente como «pulmón de acero») en, por lo menos, 2 sesiones de 45 minutos de duración, a 3 atmósferas absolutas.

Cuando la hipoxemia es debida a intoxicación por opiáceos puede antagonizarse con naloxona, y si fuera por benzodiazepínicos con flumazenilo.

En las ocasiones en que el intoxicado haya experimentado broncoaspiración (generalmente al vomitar), deben administrarse antibióticos (amoxicilina y ácido clavulínico), y mantener vigilancia continua, por la gravedad de esta complicación.

b) Asistencia circulatoria. Es frecuente la hipotensión y el *shock* por disminución de la sangre circulante, como consecuencia de hemorragia, incremento de la permeabilidad capilar, depresión cardíaca o incompetencia de las válvulas venosas en intoxicaciones por hipnóticos o sedantes, alfa o betabloqueadores, antidepresivos tricíclicos, antagonistas del calcio, etc. El cuadro puede controlarse con hidrocortisona (100 mg intravenoso), adrenalina (0,1 mg/kg, intramuscular) o levarterenol y oxígeno terapia. Si hay acidemia se aplica infusión de bicarbonato o lactato; si existen arritmias, digital; si hay congestión cardíaca, administrar diuréticos. Para la hipovolemia, expandores del plasma, con dextrano, o transfusión.

En la intoxicación por betabloqueantes, con intensa braquicardia, hipotensión, insuficiencia cardíaca aguda, etc., está indicada la administración i.v. de atropina y/o glucagón y, en su caso, anticuerpos antidigitálicos.

c) Atenciones al sistema nervioso central

c.1. Reversión del coma. Según las sospechas sobre su etiología, puede actuarse como sigue:

c.1.1. Etiología desconocida: como se ha expuesto anteriormente, se recomienda sucesivamente, y según respuesta del paciente: glucosa, naloxona, tiamina, más flumazenilo (0,25 mg i.v.). Este último no debe administrarse a intoxicados por sustancias excitantes, o a pacientes con epilepsia ni a dependientes de benzodiazepinas, pues puede desencadenar convulsiones.

c.1.2. Sospecha de intoxicación por monóxido de carbono, ácido cianhídrico o sulfhídrico: aplicación de oxígeno al 100 %, o EDTA-dicobalto para el CNH.

c.1.3. Intoxicación alcohólica: administración intramuscular de 100 mg de tiamina (vitamina B₁), seguida de perfusión de suero glucosado, cuando la glucemia sea inferior a 80 mg/dl.

c.1.4. Intoxicación por opiáceos: naloxona 0,4-1,6 mg i.v., seguido de flumazenilo 0,25-1,0 mg i.v.

c.2. *Control de agitación o convulsiones.* Sedación con diazepam o clonazepam, y si fueran refractarias, tiopental o pentobarbital.

Diagnóstico clínico y analítico

Nos atendremos a lo expuesto en los Capítulos 13, 14 y 15, tanto en lo que se refiere al primer diagnóstico, como al control de la evolución terapéutica. Una vez establecida la etiología, se recurrirá a las referencias específicas para el tóxico en concreto.

Intensificación clínica de las medidas de urgencia

a) *Vómito y lavado gástrico.* Cuando se sospecha que se ingirió una cantidad considerable de tóxico, y si el individuo no vomitó o se es tima que lo hizo insuficientemente, y no han transcurrido 6 horas desde la ingestión, el enfermo está asintomático, y las funciones vitales aseguradas, se induce el vómito (con jarabe de ipecacuana o inyección intramuscular de apomorfina, 5 mg para adulto, desaconsejada en niños, repitiendo a los 15 min; se simultanea con una ampolla intramuscular de etilefrina; o se efectúa un lavado gástrico. La posible depresión neurológica o respiratoria provocada por la apomorfina puede revertirse con naxolona. Las contraindicaciones de ambas actuaciones son las mismas que las ya indicadas para el vómito.

El lavado gástrico es una operación delicada que, mal efectuada, puede originar aspiración o paso del contenido gástrico a los pulmones o perforación gástrica o esofágica. Se realiza, con el enfermo en decúbito lateral izquierdo, en posición de Trendelenburg y rodillas flexionadas, introduciendo una

sonda por vía nasal u oral (esta tiene la ventaja de poder ser de mayor diámetro y con orificios que permiten la entrada de hasta comprimidos u otros restos sólidos) hasta el estómago: en el extremo exterior se conecta una jeringa grande con la que se aspira el contenido gástrico y seguidamente se introducen unos 200 ml de agua templada, que se retira igualmente. Ambos aspirados se conservan para su análisis. Posteriormente se pueden añadir al agua sustancias adsorbentes o neutralizantes, que también se extraen, y finalmente se deja en el estómago disolución de sulfato magnésico para que actúe como laxante. Toda la operación es más cómoda y segura con intubación endotraqueal previa, precaución obligada cuando el paciente está inconsciente o carente de reflejos de tos y vómitos, que le defienden de la aspiración bronquial (el riesgo de neumonitis es del 7,9 por ciento).

El rendimiento del lavado gástrico comienza a disminuir a partir de la hora de la ingestión.

Una derivación del lavado gástrico es el *lavado o irrigación intestinal*; consiste en pasar la sonda del estómago hasta el duodeno, y a su través se administra de forma continuada gran cantidad de líquido que lava el intestino y conduce a la eliminación forzada por vía rectal, de sustancias ingeridas por vía oral. Resulta especialmente útil en la absorción de sales metálicas (plomo, hierro, cinc, etc.), no adsorbibles por carbón activo, y también para medicamentos de liberación enteral retardada, etc.; se utiliza para conseguir la evacuación de preservativos portadores de drogas ingeridos por narcotraficantes. Es útil cuando el ingreso del paciente en el centro sanitario es tardío (Tenenbein et al., 1987; Sporer, 1993).

El procedimiento se viene empleando como preparación previa a la colonoscopia.

El líquido está formado por polietilenglicol (60 g/l) en una disolución de electrolitos; puede añadirse carbón y un antiemético.

Su uso no es recomendable en niños, embarazadas, enfermos cardiacos, pacientes crónicos de hemodiálisis, o ante hemorragia, perforación u obstrucción gastrointestinal o íleo paralítico.

b) En estas operaciones sigue siendo útil la administración de carbón activado o permanganato potásico, para adsorber u oxidar el tóxico.

c) *Eliminación.* Para ayudar al organismo a expulsar a los tóxicos se aplican varias técnicas clínicas de eliminación forzada o intensiva, cuya utilidad depende de muy diversas circunstancias

o criterios toxicocinéticos y toxicodinámicos como son: las características cinéticas del tóxico (magnitud de su unión a proteínas, volumen de distribución, cinética de redistribución, ventaja del aclaramiento extracorpóreo sobre el endógeno), así como de la correlación entre la cinética y los efectos clínicos o mecanismos de toxicidad; además hay que considerar los efectos adversos secundarios de cada técnica de depuración y, lógicamente, de las disponibilidades instrumentales. También hay que tener en cuenta la situación orgánica del intoxicado, especialmente la función renal, frente a la diuresis forzada, y la función cardiocirculatoria para las técnicas de circulación extracorpórea, que son aplicables sólo a pacientes muy graves y con altas concentraciones del tóxico.

En definitiva, podemos establecer tres grupos de técnicas de eliminación intensiva:

1º. Técnicas intracorpóreas:

- α. Diuresis forzada.
- β. Diálisis peritoneal.

2º. Técnicas extracorpóreas:

- γ. Hemodiálisis.
- δ. Hemofiltración.
- ε. Hemoperfusión.
- ζ. Plasmaféresis.
- η. Exanguinotransfusión.

Otras:

- θ. Catárticos (laxantes).
- ι. Depuración biliar.
- δ. Ventilación artificial (respiración asistida).
- κ. Trasplante de órganos.

α) *Diuresis forzada*. Al ser el riñón el principal órgano excretor, se puede conseguir la desintoxicación de numerosas sustancias con sólo incrementar el volumen urinario. Es un método útil para sustancias hidrosolubles, con pequeño volumen de distribución y escasa unión a proteínas plasmáticas.

Debe efectuarse bajo estricto control cardiológico, de electrolitos y del equilibrio acidobásico. Se administran diuréticos o infusión de manitol o sueros de pH neutro, alcalino o ácido, según el caso:

Los sueros a pH neutro son útiles para sales metálicas, amanitina y paraquat.

Los sueros alcalinos (bicarbonato o de tham) son eficaces para la eliminación de: salicilatos, dietilbarbitúrico, feniletilbarbitúrico y 2,4-D.

Los sueros ácidos (cloruro amónico) pueden servir para aumentar la excreción de: anfetaminas, fenfluramina, quinina, fenciclidina, etc.

La diuresis es ineficaz para los demás barbitúricos de acción corta o media, las fenotiazinas, difenilhidantoína, antidepresivos tricíclicos, paracetamol, metacualona, etc.

Las contraindicaciones de la diuresis forzada son: la insuficiencia cardíaca o renal, cirrosis hepática, edema pulmonar, *shock* y cuando el tóxico no se excreta por el riñón.

β) *Diálisis peritoneal*. Consiste en inyectar una disolución acuosa isotónica entre las dos hojas del peritoneo (abdomen); el tóxico presente en la sangre, si reúne las condiciones necesarias, pasa mediante ósmosis al líquido inyectado, que seguidamente se retira. Tiene las mismas utilidades y casi idénticas contraindicaciones que la diuresis; sin embargo, por haber en el peritoneo poros de mayor diámetro que en la membrana de la hemodiálisis, permite la salida de tóxicos de mayor tamaño molecular, aunque la velocidad de extracción sea más lenta, por lo que resulta menos efectiva que aquella técnica.

Por la simplicidad y seguridad de ejecución de esta técnica, tiene sobre la hemodiálisis la ventaja de que puede ser realizada en cualquier centro hospitalario por personal menos especializado y sin necesidad de instalaciones específicas. A la vez da lugar a menos complicaciones cardiovasculares y neurológicas.

La diálisis peritoneal se prefiere aplicar en los lactantes y niños pequeños, por sus menores requerimientos técnicos y por su relativamente mayor efectividad en los fallos renales agudos que se producen en estos grupos de edad. A la vez se halla primordialmente indicada en presencia de shock o diatésis hemorrágica y también en aquellos casos en que hallándose indicada la técnica dialítica no se dispusiera del material o del personal especializado que requiere la hemodiálisis.

Como contraindicación relativa de la «diálisis peritoneal» hay que señalar aquellos casos en que se haya sufrido una intervención abdominal reciente, existencia de una peritonitis local o se tenga evidencia de adherencias extensas, las cuales podrían ocasionar dificultades de drenaje.

γ) *Hemodiálisis o riñón artificial*. Está especialmente indicado cuando hay fallo renal, hepático o cardíaco.

Consiste en establecer una toma de sangre de una vena, y hacerla pasar por un circuito de membrana semipermeable, al otro lado de la cual circula un líquido isotónico con el plasma, por lo que sólo dializará de éste las sustancias extrañas o en excesiva concentración: finalmente, se reintegra la sangre a la misma u otra vena.

Es eficaz con los salicatos, barbitúricos, sulfamidas, metanol, etilenglicol, fenibutazonas, compuestos de litio, talio, etc., cuando las concentraciones sanguíneas lo justifiquen. La hemodiálisis está considerada como la técnica dialítica más efectiva, pues consigue un mayor y más rápido aclaramiento plasmático del tóxico que la diálisis peritoneal (de 5 a 10 veces), razón por la cual se prefiere en la práctica a pesar de ser más difícil de realizar y de precisarse material y personal altamente especializado, lo que limita su utilización.

Son contraindicaciones de la hemodiálisis los casos en que el intoxicado se halle en estado de shock profundo o presente una coagulopatía con manifestaciones clínicas (en estos casos hay que llevar a cabo la diálisis peritoneal), o cuando existan antídotos efectivos (por ejemplo, opiáceos y acetaminofeno).

Aunque no se ha extendido, algunos autores han propuesto una «diálisis lipídica», similar a la diálisis acuosa con la excepción de que se hace circular un aceite (de soja) por el lado dializado de la membrana, al objeto de extraer sustancias liposolubles, como glutetimida, alcanfor, etc.

δ) *Hemofiltración*. Una variante de la hemodiálisis es la hemofiltración, en que se hace pasar la sangre sobre una membrana de fibra con poros de 20.000-30.000 daltons, que permite separar sustancias con peso molecular más alto que las que se eliminan por hemodiálisis; como ésta, protege al riñón, y permite separar nefrotóxicos y mioglobina (en rabdomiólisis). Se aplica a aminoglucósidos, paraquat (en situación precoz), benzodiazepinas, compuestos orgánicos de mercurio y a metales (Pb, Al, Fe) unidos a sus quelantes aunque se discute su utilidad.

ε) *Hemoperfusión*. Esta técnica también requiere un circuito extracorpóreo de la sangre, que mediante un bomba se hace pasar por un filtro que separa las células hemáticas; entonces se perfunde el plasma por una columna de carbón activo o de resina de cambio iónico, que retiene el

tóxico. Después se reúne el plasma con las células, una vez lavadas, y se devuelve la sangre al individuo; el principal problema que tenía la técnica (como la hemodiálisis) era la de producir pérdidas de plaquetas que requerían transfusión para evitar hemorragias; esta dificultad está en vías de superarse. Se reconocen muy buenos resultados para los barbitúricos, organofosfatos, tetracloruro de carbono, paraquat, etc., amatoxina, digitoxina, L-tiroxina, aunque es imprescindible un continuo control analítico de los tóxicos en la sangre, para interrumpir la hemoperfusión, y evitar sus riesgos, cuando se reducen las concentraciones a nivel tolerable.

La hemoperfusión, que fue durante 20 años muy admitida y utilizada, está recibiendo actualmente críticas contrarias; se destaca que no sirve para tóxicos con rápida distribución y gran Vd, como el paraquat, ni cuando ya no hay tóxicos circulantes por haberse fijado a sus órganos diana, como es el caso de las amatoxinas cuando ya ha instaurado la hepatopatía (dado el largo período de latencia), o de los antidepresivos tricíclicos cuando predominan los trastornos circulatorios. Como complicaciones se reconoce en la HP: hipotensión, infecciones, sangrado (por déficit de plaquetas) y embolismo tanto por aire como por partículas.

ζ) *Plasmaféresis*. Por centrifugación se separan el plasma y los elementos formes, descartando el plasma que se sustituye por otro nuevo, para recomponer la sangre y reinyectarla. Por ello su utilidad es independiente del peso molecular, polaridad o unión a proteínas del tóxico, aunque no del Vd. Es más eficiente que la HP, va bien con tóxicos de alto Pm, como inmunocomplejos, anticuerpos inmovilizadores y de inmunoabsorción, digoxina unida a Fab, amanitina, mercurio orgánico etc.

η) *Exanguinotransfusión*. Supone sustituir la sangre del paciente. Está, por el momento, especialmente indicada en la intoxicación por fósforo elemental (no en los organofosfatos), y en las metahemoglobinemias tóxicas graves. Presenta el riesgo de hemólisis intravascular.

θ) *Laxantes*. Se utiliza aceite de parafina, 100-200 g (nunca aceite animal ni vegetal), disolución de sulfato sódico (30 g en 250 ml), manitol (100 ml al 25 por 100), o enemas,

En intoxicación por sales metálicas y en quienes portan en el intestino bolsas con drogas (*camellos*,

mulas o body packers), detectables a rayos X, se ha aplicado irrigación intestinal con disolución de polietilenglicol para provocar su expulsión, aunque el procedimiento es discutido por algunos autores.

ι) *Depuración biliar*. Puede aumentarse la excreción de sustancias que se eliminan con la bilis por las heces, mediante agentes *coleréticos* (ácido dehidrocólico, ácido uridinfosfoglucurónico), *colagogos* (yema de huevo), laxantes salinos (sulfato sódico) o sustancias que interrumpen el ciclo enterohepático, copulándose con el tóxico (resinas como colestiramina) o que lo adsorben (carbón activo), etc.

κ) La *ventilación artificial* contribuye a la eliminación de gases y vapores de sustancias volátiles absorbidas por cualquier vía. La efectividad se incrementa cuando el oxígeno se administra a presión superior a la atmosférica (cámara hiperbárica o «pulmón de acero»).

Trasplante de órganos. Cuando la situación clínica del intoxicado es sumamente grave, por deterioro irreversible de algún órgano, se puede recurrir al trasplante de éstos, como por ejemplo:

— Trasplante de pulmón, tras la lesión y fibrosis extensa por paraquat.

— Trasplante de hígado, ante la encefalopatía hepática y gran elevación de transaminasas y déficit de factores de coagulación, en las intoxicaciones por *Amanita phalloides*, p-acetamol, compuestos anfetamínicos (*éxtasis*), tetracloruro de carbono, etc.

Tratamiento específico y antidótico

Como se expone en el Capítulo 10, aunque el término *antagonista* se da a las sustancias que anulan la acción del tóxico, exaltando una función fisiológica opuesta, y el término *antídoto* a los productos que neutralizan o bloquean el tóxico por mecanismos físicos o químicos, en la práctica se confunden ambos conceptos, designándolos como antídoto (Tabla 16.2).

Lamentablemente, son pocos los antídotos de que se dispone en la clínica, y además, muchos de ellos realizan acciones secundarias peligrosas. Así, la penicilamina puede originar fenómenos alérgi-

Tabla 16.2. Dotación mínima de un botiquín de antídotos.

ANTÍDOTO	INDICACIONES
Ácido ascórbico (vit. C)	Cromo hexavalente Bicromato potásico
Atropina	Compuestos carbámicos Compuestos organofosforados
Azul de metileno	Metahemoglobina
Desferroxamina	Hierro
Dimercaprol (BAL)	Aluminio Arsénico
	Bismuto Mercurio Plomo
EDTA Ca-Na ₂	Plomo
EDTA dicobáltico	Cianuros
Etanol	Metanol, dietilenglicol
4-metilpirazol	Dietilenglicol, metanol
Fisostigmina	Anticolinérgicos
Fitomediona (vit. K)	Cumarínicos
Flumazenilo	Benzodiazepinas Comas de origen desconocido
Glucagón	Bloqueadores beta
Glucosa/insulina	Bloq. canales de Ca ⁺⁺
Glucosa	Antidiabéticos orales Insulina Coma de origen desconocido
Hidroxycobalamina	Cianuros
N-acetil-cisteína	Paracetamol Tetracloruro de carbono
Naloxona	Opiáceos
Nalmefene	Coma de origen desconocido
Oxígeno	Ácido cianhídrico Monóxido de carbono Metahemoglobinemia Ácido sulfhídrico
Octreotide	Sulfonilurea
Piridoxina	Isoniazida
Pralidoxima (oximas)	Compuestos organofosforados
Tiamina (vit. B ₁)	Etanol
Tiosulfato sódico	Ácido cianhídrico

Modificado de Nogué *et al.*, 2003.

Véase también Capítulo 10.

cos y el EDTA puede causar nefropatías. El intento de quelar el talio con la ditiocarbazona ha sido abandonado, ya que el quelato llega al cerebro con más facilidad que el ion talio, y allí libera a éste. Por otra parte, algunos antagonistas que durante años se han venido recomendando han sido desprestigiados por la experiencia. Así los analépticos, como el Bemegride (Megimide), que se prescribía en el tratamiento de la intoxicación barbitúrica, y que se ha comprobado que no sólo no es un antagonista, sino que es responsable de una tasa de mortalidad del 20 por 100 de los intoxicados, al inducir diversas complicaciones como arritmias cardíacas y convulsiones, con isquemia cerebral, depresión y daño cerebral permanente; además, su presencia interfiere la determinación del barbitúrico y la glutetimida en sangre. Igualmente resultan peligrosos otros analépticos como el pentametilentetrazol y la niquetamida, a pesar de que éstos, especialmente el primero, son de los pocos admitidos por algunos clínicos, pero incrementan la demanda cerebral de oxígeno, y cuando esto no puede alcanzarse, se originan daños irreversibles.

Mayor riesgo aún se deriva del uso, hoy descartado de la anfetamina, picrotoxina, o estricnina, como analépticos.

Incomprensiblemente, algunos autores siguen recomendando en obras recientes tales fármacos a pesar de los aplastantes resultados del método danés o escandinavo. Hacia 1949 se desarrolló dicho método para el tratamiento de los intoxicados por barbitúricos, con abandono del uso de todo analéptico; la tasa de mortalidad, que entonces era del 25 por 100 de los ingresados, se redujo al 1 por 100 y hasta del 0,5 por 100 (Clemmsen y Nilsson, 1961).

Todo lo anterior pone de manifiesto que el uso de los antidotos y antagonistas requiere una experta indicación y una continua puesta al día en los conocimientos sobre esta materia (véase Capítulo 10).

En resumen, se hace preciso el estudio monográfico e individualizado de cada intoxicación, para abordar su tratamiento con la mayor probabilidad de éxito.

Tratamiento sintomático

Aparte de todas las atenciones terapéuticas ya relacionadas, en clínica no pueden desatenderse las manifestaciones sintomáticas.

El intoxicado agudo debe ser vigilado continuamente, incluso por medio de monitores, y controlando su pulso, presión arterial, temperatura, nivel de conciencia, balance electrolítico, glucemia, etc.

Cuando la temperatura rectal desciende de 36 °C, se considera hipotermia, y el paciente debe ser abrigado y la habitación calentada; puede requerirse el introducir los brazos en agua templada para hacerle subir la temperatura.

Con frecuencia hay que controlar los vómitos, ya que, si al principio de una intoxicación pueden ser beneficiosos, después llegan a ser peligrosos debido a la deshidratación y desnutrición que producen. Se deben controlar con citrato sódico, levulosa o supositorios o inyección de clorpromazina o metoclopramida.

Igualmente, el dolor y los espasmos abdominales pueden controlarse con analgésicos comunes o exigir la administración de papaverina, atropina y morfina, ésta con gran precaución por conllevar grave peligro de paro respiratorio.

Las convulsiones, alucinaciones y delirio se tratan, según el tipo de intoxicación, con barbitúricos, clorpromazina, difenilhidantoína, benzodiazepínicos, etc.

La excreción urinaria se debe mantener mediante líquidos orales y parenterales y esteroides.

El funcionalismo hepático debe coadyuvarse con esteroides y la glucuronoconjugación con uridindifosfoglucosa.

La aparición de edema pulmonar, con disnea, encharcamiento de bases pulmonares, cianosis, respiración rápida, incluso espuma en la boca y gorgoteo, agrava el cuadro. Requieren oxigenoterapia húmeda, posición sentada, aminofilina contra la broncoconstricción, y digital si el edema procede de fallo cardíaco.

Trastornos de tipo neural pueden requerir estimuladores como la pirrolidina-acetamina (piracetam), o neuroreparadores, que colaboren a la síntesis de fosfátidos, como citidindifosfocolina (citicolina). Afectaciones de tipo extrapiramidal, como las originadas por las fenotiazinas, pueden precisar la administración de benzotropina.

Vigilancia y control

Finalmente, las frecuentes secuelas de tipo psicósomático pueden requerir terapéutica prolonga-

da con reguladores del eje hipotálamo-hipofisario y vegetativos, como el sulpiride y tras todos los intentos de suicidio y toxicofilias, es imprescindible una atención psiquiátrica.

COMPLICACIONES DE LAS INTOXICACIONES AGUDAS

En el curso de las intoxicaciones agudas o incluso tras la recuperación inicial pueden aparecer distintos trastornos más o menos ligados directamente a la acción del tóxico o al estado del intoxicado. Citaremos los más frecuentes:

Convulsiones. Aparecen en las intoxicaciones por estimulantes del SNC y los compuestos anticolinérgicos; a veces ocurren simultáneamente con vómitos, lo que puede dar lugar a aspiración bronquial. Cuando son frecuentes o repetidas o prolongadas, se deben controlar con diazepam intravenoso.

Hipertermia (temperatura corporal igual o superior a 40,5 °C). Puede aparecer con estimulantes del SNC, incluidos los salicilatos, así como con anticolinérgicos (antihistamínicos y antipsicóticos), antidepresivos tricíclicos y antibióticos; es frecuente con aceleradores del metabolismo oxidativo, como nitrofenoles, clorofenoxi y salicilatos. Hay aumento de actividad muscular, con frecuentes convulsiones, pero escasa sudoración (véase más adelante el síndrome de hipertermia maligna) (Tabla 16.3).

Por el contrario, en pacientes con gran vasodilatación periférica (por depresores del SNC, alcohol, etc.) o baja producción de calor (coma) puede presentarse *hipotermia* (menos de 35 °C, que a su vez conduce a arritmias y fibrilación ventricular. Debe introducirse al individuo en agua caliente (Tabla 16.4).

Edema pulmonar. Puede ser de origen cardiaco o no cardiaco; la primera forma, bastante frecuente, es debida a insuficiencia cardiaca o a excesiva acumulación de líquidos como consecuencia de la acción antidiurética de algunos tóxicos (barbitúricos, narcóticos, paracetamol, salicílico, anfetamínicos, etc.), o acción nefrotóxica de otros; con cierta frecuencia es de etiología yatrogénica, por excesiva administración de líquidos. Se trata suprimiendo líquidos y administrando diuréticos y oxígeno.

Tabla 16.3. Medicamentos que inducen hipertermia.

Neurolépticos(*), por ejemplo:
Clorpromazina
Flufenazina
Haloperidol, etc.
Conjuntamente con:
Litio
o bien con Anticolinérgicos, por ejemplo:
Antidepresivos
Antihistamínicos
Atracurio
Atropina
Pirenzapina
Suxametonio
Tubocurarina, etc.
O aisladamente (**) con:
Anfetaminas
Antidepresivos
Ortopramidas

Hipótesis fisiopatológicas:

- Bloqueo dopaminérgico en hipotálamo y ganglios basales (regulación de temperatura y tono muscular).
- Estimulación del metabolismo muscular.

(*) Generalmente en enfermos psiquiátricos y/o con especial idiosincrasia.

(**) Especialmente en individuos con: deshidratación, desnutrición o cansancio físico.

Tabla 16.4. Medicamentos inductores de hipotermia.

- Etolol.
- Bloqueantes α -adrenérgicos.
- Bloqueantes β -adrenérgicos.
- Anestésicos generales.
- Hipnóticos.
- Clonidina.
- Insulina.
- Opiáceos.
- Vasodilatadores.

El edema pulmonar no cardiogénico se presenta tras la inhalación de gases irritantes que lesionan el epitelio pulmonar (óxidos de nitrógeno, cloro y sus óxidos, ozono, amoníaco, etc.), y también por efecto de opiáceos, paraquat, los salicilatos, etc., que al parecer lesionan a los capilares.

Responde fundamentalmente a los corticoides, pero no a diuréticos ni a digitálicos.

Como queda anotado, el edema pulmonar aparece con narcóticos y, ciertamente, es la causa de muerte más frecuente en adictos a heroína y morfina, sin necesidad de que la dosis fuera muy alta, sino a través de un fenómeno de anafilaxia, hipoxia y edema fulminante.

Edema cerebral. Se produce por lesiones tóxicas en los capilares cerebrales, pero también por insuficiencia respiratoria, hipoxia, hipotensión, hipoglucemia, etc., y, al igual que el edema pulmonar cardiogénico, se origina por los compuestos que inhiben la liberación por la hipófisis de la hormona antidiurética (ADH); aparece no sólo durante la intoxicación aguda sino, a veces, cuando parece que el paciente se ha recuperado (caso del monóxido de carbono). Se deben reducir los líquidos y administrar diuréticos, oxígeno y corticoides.

Insuficiencia renal. Se produce por compuestos nefrotóxicos (necrosis de células tubulares) o que reduzcan el flujo renal (heroína), y también como consecuencia de hemólisis masiva o de rabdomiólisis (liberación de mioglobina).

Se debe controlar el balance de líquidos y si aumentan urea y creatinina, debe aplicarse hemodiálisis.

Rabdomiólisis. Es un síndrome clínico originado por lesiones, destrucción o necrosis de fibras musculares esqueléticas, con liberación a la sangre de mioglobina, sodio, potasio y de enzimas intracelulares como creatínquinasa (CK).

Tabla 16.5. Productos inductores de rabdomiólisis.

-
- Estrictina.
 - Etanol.
 - Disolventes.
 - Óxido de carbono.
 - Opiáceos.
 - Organofosforados.
 - Biotoxinas:
 - Avispas.
 - Reptiles.
-

Clínicamente se manifiesta como sensibilidad y debilidad muscular, rigidez, calambres, inflamación y dolor muscular (a veces tardío); frecuentemente, la orina se hace oscura por la presencia de mioglobina y hemoglobina (por hemólisis), así como con hematíes, que pueden conducir a fallo renal, por afectación glomerular.

Puede tener las etiologías más diversas, desde traumatismos o compresiones musculares, rigidez, convulsiones e hiperactividad muscular, hipertermia, etc., a intoxicaciones por anfetamínicos, cocaína, estricnina, monóxido de carbono, disolventes, etanol, opiáceos, tricíclicos, organofosforados, etc., y biotoxinas (de reptiles, avispas, hongos, etc.) (Tabla 16.5).

Trastornos psiquiátricos. Después de diversos tipos de intoxicaciones agudas, en que se hayan producido compromisos respiratorios o circulatorios que afecten a la fisiología de las neuronas cerebrales, pueden derivarse afectaciones de tipo psiquiátrico que hagan recomendable o exijan una valoración por un especialista. Esta clase de atención médica es imprescindible tras intentos de suicidio, así como una estricta vigilancia posterior para prevenir frecuentes reincidencias.

Síndrome serotoninico y síndrome maligno por neurolepticos

El primero está constituido por graves trastornos neurológicos, que pueden conducir a la muerte, inducidos por una elevación de la serotonina cerebral. Este aumento de concentración ocurre cuando se absorben altas dosis de un fármaco precursor de serotonina o que inhiba la recaptación de ésta en las sinapsis, o que sea inhibidor del catabolismo de la serotonina (IMAO); el síndrome se desencadena más fácilmente por absorción conjunta o próxima (incluso en un plazo de dos semanas) de sustancias que actúan por diferentes mecanismos de los citados, y que suelen tener una larga vida media. El principal agente inductor es el L-triptófano (L-Trp) y los coadyuvantes son inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO) y los antidepresivos tricíclicos (ADT) u otras medicaciones antidepresivas (Tabla 16.6).

Desde antiguo se conocen las crisis hipertensivas producidas por la interacción de los IMAO y la

Tabla 16.6. Agentes inductores y síntomas del síndrome serotoninico.

Son presurroses de la serotonina
Inhibidores de su recaptación
Inhibidores de su catabolismo (IMAO)
L-Triptófano
+
IMAO
O ANTIDEPRESIVOS TRICÍCLICOS
SÍNTOMAS
• Estimulación SNC: Agitación, temblores, confusión, coma
• Espasmos musculares, trismo, opistótono
• Hipo/hipertermia

tiramina (plátano, quesos, vinos, etc.), o los compuestos simpaticomiméticos; dado que muchos IMAO bloquean a la MAO de forma irreversible, esta enzima sólo vuelve a presentar niveles normales de actividad mediante síntesis, lo que requiere varias semanas después de la absorción.

El síndrome serotoninico (SS) puede ser bloqueado experimentalmente mediante pretratamiento con inhibidores de la síntesis de serotonina o por antagonistas de los receptores de ésta, como la metisergida.

El cuadro clínico consiste fundamentalmente en alteraciones de SNC con agitación, inquietud, temblores, incluso convulsiones, confusión, incoordi-

Tabla 16.7. Medicamentos antimuscarínicos y anticolinérgicos.

• Bloquean receptores parasimpáticos postganglionares.
• Taquicardia, retención urinaria, midriasis, sequedad de boca.
• Atropina.
• Amantadina.
• Antidepresivos Tricíclicos.
• Antihistamínicos.
• Carbamazepina.
• Haloperidol.
• Fenotiazinas.
• IMAO.
• Quinidina.
• etc.

nación y coma, acompañado de espasmos musculares, trismo y opistótonos, por aumento del tono muscular, y trastornos vegetativos con hipo o hipertermia (40 °C).

Esta última obliga al diagnóstico diferencial *con el síndrome maligno por neurolepticos* (SMN) o *síndrome neuroleptico maligno* y el de *hipertermia maligna* (HM).

El SMN aparece en individuos, generalmente enfermos psiquiátricos, en tratamiento con neurolepticos (generalmente haloperidol y flufenazina), y otros antipsicóticos más modernos, como clozapina, risperidina, olanzapina, etc. a veces asociados a litio o a anticolinérgicos; parece que no es decisiva la dosis de antipsicótico para la aparición del síndrome, sino estados de deshidratación, desnutrición, cansancio físico, etc., y posiblemente una especial idiosincrasia (Tablas 16.3 y 16.7).

Se han descrito cuadros similares al SMN con medicamentos no neurolepticos, como amfetaminas, antidepresivos, ortopramidas (moclobemida), etc.

La sintomatología incluye hipertermia, rigidez muscular, alteración de la conciencia y disfunciones del sistema nervioso vegetativo, con alta mortalidad.

Se barajan dos hipótesis fisiopatológicas. Una supone que el antipsicótico provoca un bloqueo dopaminérgico en hipotálamo y ganglios basales, lo que afectaría a la termorregulación, la rigidez muscular, etc. La segunda hipótesis supone que, al igual que se admite para la hipertermia maligna, los neurolepticos estimulan hipermetabolismo muscular, causante de la hipertonicidad y de la hipertermia y de otros síntomas.

Por último, anotemos que numerosos xenobióticos provocan distintos síndromes tóxicos del sistema nervioso (Tabla 16.8).

DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS LESIONES POR RADIACIONES

Las radiaciones ionizantes, en una fase de tipo químico, realizan la radiolisis del agua, con liberación de H_2O^+ y formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que pueden afectar a membranas, citoplasma y orgánulos celulares; esta acción es tanto mayor cuanto más oxígeno haya en el medio; como consecuencia se produce apoptosis y necrosis e interrupción del ciclo celular; unas células y tejidos son más sensibles que otras, destacando por

Tabla 16.8. Síndromes presentes en algunas intoxicaciones del sistema nervioso.

Síndrome	Mecanismo	Tóxicos	Síntomas
Antidepresión	Anticolinérgico	Atropina <i>Amanita muscaria</i> Amitriptilina Doxepina Escopolamina Espasmolíticos Fluoxetina Imipramina Metoclopramida Sertralina	Midriasis Taquicardia Arritmias Sequedad piel y glándulas Retención urinaria Disminución peristaltismo Hipertermia Convulsiones Confusión Delirio Coma
Psicoestimulación	Adrenérgico	Anfetaminas Bufotenina Cafeína Cannabis Cocaína Efedrina Dopamina LSD Mescalina Mazindol Metilfenidato Psilocibina	Midriasis Taquicardia Hipertensión Arritmia Hipertermia Alucinaciones Convulsiones
Estimulación SNC y vegetativo	Colinérgico	Acetilcolina <i>Amanita faloides</i> Edrofonio Fisostigmina Comp. organofosforados Pilocarpina	Miosis Bradycardia Hipotensión Salivación, lacrimo, sudoración Edema pulmonar Incontinencia urinaria Vómitos Dolor abdominal Debilidad muscular Confusión Convulsiones
Depresión SNC	Analgesia Ansiolisis Sueño	Antihistamínicos Barbitúricos Benzodiazepinas Etanol Meprobamatos Opióides Zolpiden Zopiclona	Miosis Bradycardia Hipotensión Hiporreflexia Depresión respiratoria Edema pulmonar Disminución peristaltismo Convulsiones Coma

su sensibilidad las células de gran actividad reproductora, como las del bulbo piloso y epitelio intestinal, linfocitos, cromosomas y médula ósea.

En esta fase biológica, el tipo y la magnitud del daño dependen de la clase de radiación, de su energía, de la dosis absorbida, de la zona afectada y del tiempo de exposición. Estos daños, como en cualquier proceso tóxico, se clasifican, según su periodo de latencia, en *agudos* (a corto plazo), que aparecen en unos minutos, días o semanas, y *diferidos* (a largo plazo), que se manifiestan después de un tiempo de latencia de años, décadas y, a veces, de generaciones. También pueden clasificarse en daños *somáticos* o corporales, y *genéticos*, cuando afectan a las células germinales y dan lugar a efectos en la descendencia, o *teratógenos*, caso de que afecten directamente al feto durante la gestación, si bien en el embrión de una o dos semanas lo normal es la muerte y, posteriormente, las lesiones cerebrales y cáncer.

Los efectos agudos pueden ser locales o generales. Los locales incluyen eritema, quemaduras y úlceras o necrosis de la piel, caída del cabello, necrosis de tejidos internos, esterilidad temporal o permanente, reproducción anormal de tejidos como el epitelio del tracto gastrointestinal, funcionamiento anormal de los órganos hematopoyéticos (médula ósea roja y bazo), o alteraciones funcionales del sistema nervioso y de otros sistemas. Los generales son alteraciones hemáticas, inflamaciones en mucosas (boca, garganta, intestino), diarreas, epítaxis, etc. El llamado *Síndrome de irradiación aguda* es el conjunto de síntomas consecuentes a la exposición del cuerpo o una gran parte del mismo a la radiación. Consiste en náuseas, vómitos, anorexia, pérdida de peso, fiebre y hemorragia nasal e intestinal, etc., y responden a lo que se denominan subsíndromes hematopoyético, cutáneo, gastrointestinal o neurovascular.

Los efectos diferidos pueden ser consecuencia de una sola exposición intensa o de una exposición continuada durante un tiempo, e incluyen cicatrices atróficas locales o procesos distróficos de órganos y tejidos fuertemente irradiados, cataratas, cánceres óseos, cáncer pulmonar, anemias por radiolesiones de la médula ósea y leucemia. Precisamente, el diagnóstico se fundamenta, aparte de la anamnesis, en el seguimiento de la cinética de la depleción de linfocitos y plaquetas, que permite incluso la estimación de la dosis absorbida, y el

estudio de alteraciones cromosómicas y de la médula; además son útiles la determinación de los factores de crecimiento y de las citoquinas.

El tratamiento es quirúrgico de las lesiones y de las quemaduras, así como reposición de los elementos sanguíneos deficitarios. En los sobrevivientes a la exposición debe hacerse un seguimiento a largo plazo, para controlar el estatus inmunitario, disfunciones en algunos órganos y la aparición de cánceres.

Puede consultarse la web del Departamento de Salud de los EE UU, Radiation Event Medical Management (REMM) (<http://remm.nlm.gov>) (2007), destinada a facilitar el diagnóstico y el tratamiento de los afectados, mediante unos algoritmos que permiten dirigir o descartar actuaciones, que incluye las normas de triaje, de descontaminación y el tratamiento de cadáveres contaminados. De acuerdo con estas instrucciones, el triaje supone dar preferencia en razón inversa a la gravedad del paciente; la descontaminación debe hacerse después de que el operador esté perfectamente protegido con un equipo adecuado, que incluye respirador; la descontaminación no debe retrasar la estabilización vital del paciente. Debe despojarse de ropa, zapatos y de todo cuando porte, y aplicarle lavado de todo el cuerpo con agua templada (ni fría ni caliente, que puede agravar las heridas o situación) y jabón neutro, lavado que se repite una segunda vez. Las heridas y los orificios corporales (boca, nariz, oídos, etc.) deben irrigarse con disolución salina; con un dosímetro se investigará si albergan material radiactivo, y si la medida es alta se hará una limpieza quirúrgica, y si es baja se tapan con apósito impermeable. Se administra un quelante adecuado al isótopo (dimercaprol, penicilamina, DTPA, etc.), así como disoluciones salinas (bicarbonato sódico, cloruro amónico, gluconato cálcico, etc.) y antiácidos o protectores gastrointestinales. Todas las ropas y objetos presuntamente contaminados así como el agua de los lavados se deben recoger en contenedores especiales y evitar su dispersión.

PRIORIDADES EN EL TRATAMIENTO DE LAS VÍCTIMAS DE DESASTRES QUÍMICOS

Se considera al médico-jefe de las tropas napoleónicas como al creador de los principios de atención

a los pacientes según criterios de urgencia médica. Esto corresponde a lo que se denomina *triaje*, que se define como la valoración de enfermedades, heridas o lesiones en las víctimas de un desastre, para determinar la prioridad de necesidades y conseguir el mejor empleo de las disponibilidades sanitarias.

Según esto, se estima que la prioridad en la atención médica la tienen aquellas personas que mayor beneficio obtendrán del tratamiento; obviamente se asignará máxima prioridad a aquellas víctimas que sólo vivirán si se les proporcionan cuidados urgentemente. Las personas cuya vida no peligran sin tratamiento y las que previsiblemente morirán a pesar del mismo, tendrán menor prioridad; las víctimas que mediante aplicación de medios de apoyo pueden estabilizarse y permanecer en áreas de espera hasta una mayor atención, se clasifican como de urgencia intermedia.

En caso de que los individuos queden impregnados de humos, aerosoles, vapores, gases densos de productos químicos, deben iniciarse las actuaciones (incluso antes de prestar los primeros auxilios sanitarios) por la descontaminación externa de las víctimas, lo que supone retirarles toda clase de ropas, relojes, gafas, etc., que se introducirán en bolsas de plástico, que se cerrarán e identificarán, y lavar a los afectados con agua abundante y jabón. Debe evitarse que el traslado de las personas y sus enseres disemine la contaminación.

La valoración de la situación clínica de los intoxicados suele hacerse atendiendo a tres tipos de criterios:

1. Tipo de asistencia que parece necesita el paciente, por ejemplo: maniobras de resucitación, soporte hemodinámico, aplicación de un antídoto, etc.
2. Sospechas o identificación del tóxico responsable, a partir de sustancias que puedan tener relación con el sujeto, productos encontrados en su proximidad, medicamentos, drogas, plaguicidas, jeringas, alimentos, reptiles, plantas, etc. o bien signos en el sujeto, como punturas de inyecciones, quemaduras en la boca, color de la sangre, etc.
3. Tiempo transcurrido desde la absorción hasta la atención clínica.

Esta valoración y el inicio de las actuaciones no solamente las puede realizar un médico sino

también personal sanitario (enfermeros) especializado.

Por otra parte, es enormemente importante, en todo desastre tóxico, tomar muestras del agente tóxico presente, identificando claramente su procedencia y su posible relación con los afectados. No debe caerse en los errores cometidos cuando el síndrome del Aceite Tóxico, en que se recogieron muestras de aceite sin consignar la filiación de los enfermos, ni después mezclar unas muestras con otras, para tener una «muestra media» que más tarde resultó absolutamente inútil para los investigadores.

Estas y otras consideraciones, así como entrenamiento en normas básicas de actuación general y de prestación de Primeros Auxilios a accidentados y a intoxicados, deben estar contempladas en los Planes de Emergencia que todas las empresas e instituciones han de poseer.

BIBLIOGRAFÍA

- American Academy of Clinical Toxicology and European Ass. Poison Centres and Clinical Toxicologists. Position Statements: Gut decontamination. *Clinical Toxicology*, 1997; 35: 695-767.
- Bayer MC, Rumack BH, Wanke LA. *Toxicologic emergencies*. Ed. Robert J. Brady Company, 1984.
- Bismuth C et al. *La reanimation des intoxications aiguës*. París: Baillière, 1977.
- Bozza Marrubini M et al. *Intossicazioni acute*, 2. ed. Milano: Médico Farmacéutica, 1992.
- Córdoba D. *Toxicología*. 5ª ed. Bogotá, Editorial El Manual Moderno (Colombia) Ltda 2006.
- Clemmesen C, Nilsson E. Therapeutic trends in the treatment of barbiturate poisoning. The Scandinavian method. *Clin Pharmacol Therap*, 1961; 2:220-229.
- Departamento de Salud de los EE UU. *Radiation Event Medical Management (REMM)*. (<http://remm.nlm.gov>) (2007).
- D'Arcy PF, Griffin JP. *Drug-induced emergencies*. Bristol: John Wright, 1980.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG. *Medical toxicology*. New York: Elsevier, 1988.
- Erikson TB, Ahrens WR, Aks SE, Baum CR, Ling LJ. *Pediatric toxicology: Diagnosis & management of the poisoned child*. New York. McGraw-Hill. 2005.
- Ford MD, Delaney KA, Ling LJ, Erickson T. *Clinical toxicology*. Ontario. WB Saunders Company. 2001.
- Frejaville JP, Bourdon R et al. *Toxicologie clinique et analytique*. París: Flammarion Medicine Sciences, 1980.

- Gago-Martínez A, Ruppen I, Hungerford J. Biotoxinas marinas. En: A. Cameán y M. Repetto, (eds.) *Toxicología alimentaria*. Madrid, Díaz de Santos, S.A., 2006.
- Gossel TA, Bricker JD. *Principles of clinical toxicology*. 3.a ed. New York: Raven Press, 1994.
- Hardy DL. Bothrops asper snakebite and field researchers in Midle America. *Biotropica*, 1994; 26,2:198-207.
- Hayes AW, *Principles and methods of toxicology* 3. ed. New York: Raven Press, 1994.
- Hellenhorn MJ. *Diagnosis and treatment of human poisoning*. Baltimore, Williams & Willkins, 1997.
- Hernández AF, Pla A, Villanueva E. Síndrome serotoninico. *Jano*, 1995; XLIX, 1127:966-97 1.
- Jacobsen D. The relative efficacy of antidotes. *Clinical Toxicology*, 1995; 33, 6:705-708.
- Kaye S. *Handbook of emergency toxicology*. Springfield: Charles Thomas, Pub., 1980.
- Lefevre M. *Urgences toxicologiques*. París: Masson, 1980.
- Lefevre M, Becker E. *First aid manual for chemical accidents*. Pensilvania: Dowden, Hutchinson & Ross Inc., 1980.
- Marruecos L, Nogué S, Nolla J. *Toxicología clínica*. Barcelona: Springer-Verlag Ibérica, 1993.
- Mateu-Sancho J. Animales Ponzonosos. En: M. Repetto, (ed.) *Ampliación de toxicología de Postgrado*. CD. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla. 2007
- Mateu J. *Toxicología médica*. Barcelona: Doyma, 1994.
- Mateu J. *Intotoxic. Base de datos*. Barcelona: Informtoxic España, 1993
- Mathew H, Lawson A. *Treatment of common acute poisoning*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1975.
- Meier J, White J. *Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons*. Boca Ratón: CRC Press, 1995.
- Merck E. *Fichas de datos de seguridad química*. Darmstadt: CD-ROM, 1994.
- Micromedex, Inc. Poisindex. CD-ROM. Colorado (trimestral).
- Nogué S, Munné P, Nicolas JM, Sanz P, Amigó M. *Intoxicaciones agudas. Protocolos de Tratamiento*. Barcelona, Morales i Torres editores, 2003
- Picchioni A. Research in the treatment of poisoning. En: Winek Ch. *Toxicology Annual*. New York: M. Dekker, 1975, págs. 27-47.
- Piqueras J. *Intoxicaciones por plantas y hongos*. Barcelona: Masson, 1996
- Proudfoot A. *Intoxicaciones agudas, diagnóstico y tratamiento*. Barcelona: Doyma, 1985.
- Rossoff IS. *Encyclopedia of clinical toxicology. A comprehensive guide and reference*. New York. The Parthenon Publishing Group. 2002.
- Rumack BH, Burrington JD. Caustic ingestions: A rational look at diluents. *Clin Toxicol*, 1977; 11(1):27.
- Silvestre S. Plantas Tóxicas. En: M. Repetto, (ed.) *Ampliación de Toxicología de Postgrado*. CD. Área de Toxicología. Universidad de Sevilla. 2005.
- Schmitt BD. *Snake bites*. Michigan. McKesson Health Solutions. 2004.
- Schwartz S, Shires G, Spencer F, Storer E. *Principios de cirugía*. 4.a ed. McGraw-Hill, México, 1987.
- Schwartzman S. *Intoxicacoes agudas*. Sao Paulo: Sarvier, 1991.
- Sporer KA. Whole bowel irrigation in the management of ingested poisoning. *West Med* 1, 1993; 159, 5:601-607.
- Stephen K. Management of chemical disaster victims. *Clinical Toxicology*, 1995; 33, 6:609-616.
- Tenenbein M, Cohen S, Sitar DS. Whole bowel irrigation as a decontamination procedure after acute drug overdose. *Arch Intern Med*, 1987; 147:905907.
- True B-L, Dreisbach RH. *Manual de toxicología clínica de Dreisbach. Prevención, diagnóstico y tratamiento*, 7ª edición. México. Editorial El Manual Moderno, 2003.
- Sternbach H. The serotonin syndrome *Am J Psychiatry*, 199 1; 148:705-713.
- Unidad de Toxicología Clínica. *Protocolos de Tratamiento. Intoxicaciones agudas*. 3ª ed. Unizar.es. boletín. 2000. <http://wzar.unizar.es/stc/Barcelona.htm>
- Winchester H. *Clinical management of poisoning and drug overdose*. 2. ed. Philadelphia: Saunders Co., 1990.

Índice analítico

- 2,4-D, 512,
- 2,4,5-T, 51
- 4-D, 311
- Absorción, 353, 370
 - cinética de la, 83
 - de gases o vapores, 105
 - percutánea, 105, 281
 - por vía rectal, 67
- Abejas, 315, 432, 378
- Aborto, 49
- Ácaros, 1
- Accidente químico o tóxico, 48
- Acciones neurotóxicas, 245
- Aceite, parálisis del, XVII
- Acetaminofeno, 123, 167
- Acetilcisteína, 184, 396, 400
- Acetilcolinesterasa, 208, 392, 484
- Acetilconjugación, 126
- Acetiltransferasa, 137
- Acetonitrilo, 229
- Ácido,
 - acetilsalicílico, 200, 321, 371
 - araquidónico, 126, 208
 - cianhídrico, 229
 - etacrínico, 323
 - fluorhídrico, 286
 - fluosilícico, 286
 - gamma-aminobutírico, 239
 - mercaptúrico, 135
 - metanosulfónico, 298
 - nítrico, 189
 - o-ftálico, 298, 303
 - penicilénico, 199
 - retinoico, 309
 - salicílico, 127
 - sulfhídrico, 230, 256
- Aclaramiento, 100
- Acné, 283
- Aconitina, 313
- Acopatía,
 - retrógada, 246
 - walleriana, 246
- Acqua tofana, 5
- Acquetta de Peruzzia, 5
- Acreditación,
 - de los laboratorios, 509
 - de toxicólogos, 19
- Acrilamida, 188, 244, 247, 252
- Acrilonitrilo, 188
- Actímetro, 436
- Actinismo, 342
- Actividad,
 - enzimática, 143, 144, 145
 - espontánea, 436
- Actuaciones,
 - en desastres químicos, 562
 - terapéutica, 546
- Acumulación, 72
 - métodos regulados, 434
- Acupuntura, 240
- Adenocarcinoma, 302
- Adipocira, 139
- Adiposis renal, 276
- Aditivos,
 - alimentarios, 15
 - conservadores, 500
- Administración,
 - parenteral, 414
 - subcutánea, 413
- ADN, 17, 330
 - reacciones con el, 187
- Adrenalina, 313
- Adrenérgicas, 238
 - receptores de, 210
- Adriamicina, 183, 188
- Aductos, 174, 331, 484
- Adultos, 34
- Aerosoles cosméticos, 259

- Aflatoxinas, 123, 221, 268, 271, 272, 320
Afrocaribeños, 349
Afrodisíacos, 3, 49, 300
Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, 461
Agentes,
 alquilantes, 163, 188, 317
 antígeno, 199
 complejante, 395
 físicos, 43
 inmunodepresores, 198
 lacrimógenos, 324
 mutágenos, 329
 naranja, XVIII
 tóxicos, 481
 unidades de, 468
Agonía, 482
Agonista, 207, 238
Agroquímicos, 48
Aguas, 21, 387
 del mar, 48
 del nilo, 3
 fluviales, 48
Ahr, receptores de, 205
Aire, calidad, de, 55
Ajos, 381
Alacranes, 1
Albúminas, coagulación de las, 534
Alcaloides,
 de pirrolizidina, 188
 de vinca, 317
 pirrolizidínicos, XIX, 188, 219, 260
Alcohol(es), 157, 271, 300, 311, 362
 alílico, 198
 en aliento, 523
 en sangre, 523
 etilico, 188, 212, 336, 382
 interacción con medicamentos, 381
 metílico, XXII
 silícico, 183
 terciarios, 214
 y drogas, 53
Alcoholdehidrogenasas, 126
Alcoholemia, 53, 500, 506, 523
Alcoholismo crónico, 316
Aldehídos, 199, 286
Alergenicidad,
 cruzada, 200
 evaluación de la, 425
Alérgenos, 225
Alergia, 349
 psicógena, 353
Alfa y beta-bloqueantes, 362
Algas,
 microscópicas, 490
 verdeazuladas, 49
Algodón, 259
Alimentos, 54
 vegetales, 381
Alondras, 356
Alostéricos, 146
Aloxano, 183, 310
Alquilfenoles, 307
Alquitranes, 48, 199, 220
Alteraciones,
 auditivas y del equilibrio, 221
 de la función cardíaca, 221
 de la función pulmonar, 220
 de la permeabilidad capilar, 219
 dérmicas, 220
 gonadales, 221
 hemáticas, 219
 hepáticas, 221
 oculares, 221
 renales, 221
 respiración celular, alteración de la, 219
 sistema musculoesquelético, 221
Alúmina, 532
Aluminio, 48, 246
Alveolitis irritativas, 258
Amanita faloides, 3, 270, 395
Amanitatoxina, 192, 275
Amanitinas, 168
Amatoxinas, 320
Amberlita XAD-2, 531
Ambientadores, 221
Ames, test de, 427, 429
Amigdalina, 229
Aminas, 123, 219, 221, 285
 lipófilas, 260
Aminoácidos tóxicos, 49
Aminoglucosidos, 221, 275, 317, 322
Aminopiridinas, 314
Aminopirina, 320
Aminotransferasas, 266
Ampicilinas, 294, 370
Anabolismo, 115
Analépticos, 557
Analgesímetro, 436
Análisis,
 clínicos, 486
 de metafase, 429
 del riesgo, 458
 estadístico, 416
 químicos, 11
 quimicotoxicológico, 502
 toxicológico, 493, 503
 del pelo, 542
Anatoxinas, 168
Anciano, 348
Andrógenos, receptor de, 206, 306
Anemias, 219, 317, 318, 319, 349
 hemolítica, 229
Anestésicos, 73, 225, 256, 263, 316

- Anfetaminas, 220, 221, 260, 263, 298, 299, 300, 312, 313
- Anfetamínicos, 268, 276
- Angioedema, 282, 289
- Angiotoxinas, 261
- Anilidas, XX
- Anilinas, 310
- Animales,
de experimentación, 409
protección de los, 449
transgénicos, 410, 427
- Anión superóxido, 127, 179, 181
- Anonimato, 519
- Anovulación, 300
- Anoxia, 225
- Antagonismo, 384
- Antagonista, 207, 238, 387, 388, 557
clasificación de los, 391
- Antiandrógenos, 298
- Antiarrítmicos, 324
- Antibióticos, 313, 317
betalactámicos, 199
- Anticoagulantes, 326
- Anticonceptivos, 313, 317, 376
- Anticuerpos, 195
- Antidepresivos, 299
tricíclicos, 312, 314, 324
- Antídotos, 3, 387, 389, 390, 394, 557
botiquines de, 400
clasificación de, 397
universal, 393, 394
- Antígenos, 195, 349
- Antihistamínicos, 370
- Antimetabolitos, 169, 389
- Antioxidantes, 184, 326
- Antipalúdicos, 324
- Antivirales, 377
- Antraciclina, 313
- Antracosis, 262
- Anuria, 483
- Apamina, 315
- Aparato digestivo, 296
- Apatito, 48
- Apoptosis, 163, 164, 165, 192, 193, 195, 223
diferencia entre necrosis, 165
reactivos de, 190
- Araña negra, 1
- ARE (elemento de respuestas antioxidante), 129
- Arilhidrocarburohidroxilasas, 154
- Arilhidrocarburos, receptores de, 206
- Arilsufatasa, 129
- Aritromicina, 370
- Armas,
biológicas, 50, 52
trióxido de, 167
físicas, 50
NBQR, prohibición, 52
químicas, 50
- Aromatasa, 306
- Aromatización, 307
- Arritmia cardíaca, 370
- Arsenicales, 312
- Arsénico, 2, 73, 213, 219, 229, 275
trióxido de, 167
- Arsina, 220, 229
- Artrópodos, 315
- Asfixia, 226, 482
- Asfixiantes, 50
simples, 226
- Asistencia,
al intoxicado comatoso, 551
circulatoria, 552
clínica, 551
respiratoria, 552
- Asma, 259, 363
- Asociación de medicamentos, 367
- Aspiración de partículas, 262
- Ataxia, 436
- Atelectasia, 260
- Atenciones al sistema nervioso central, 552
- Aterogenesis, 182
- Atómico, 175
- Atoxilo, 322
- ATP, 61
- Atropina, 2230
- Autoinmunidad, 202, 203
- Autolisis, 138
- Avicena, 4
- Ayurveda, 2
- Azocolorantes, 156
- Azocompuestos, 155
- Azufre,
atómico, 175
compuestos, reactivos de, 190
- BAL, 395
- Ballestas, yerba de las, 1
- Baño de ultrasonidos, 530
- Barrera hematoencefálica, 71, 243
- Bases putrefactivas, 140
- Basotelioma, 291
- Batatas, 261
- Batracotoxina, 313
- Bazo, 482
- Belladona, 326
- Benceno, 128, 155, 219, 310, 317, 318, 320, 321
- Benzoapireno, 124, 153, 154, 362, 373
- Benzodiazepínicos, 239

- Benzoilecgonina, 225
 Beriliosis, 262
 Beta-ionona, 270
 Betabloqueantes, 263, 299
 Betaglucuronidasa, 129, 137
 Bexaclorofeno, 349
 Bezoar, 5
 Bhopal, XX
 Biblia, 3
 Bicuculina, 239
 Bienestar animal, legislación, 453
 Bifenilos, 206
 policlorados, XVIII, 144, 307, 321, 311
 Bilis, 76
 Bioacumulación, curvas de, 103
 Bioconcentración,
 capacidad de, 435
 métodos regulados, 434
 Biodisponibilidad, 94
 Bioensayo de carcinogenicidad, 427
 Biomarcadores, 483
 de exposición, 483
 de la susceptibilidad, 484
 de toxicidad, 408, 414
 del efecto, 483
 humanos y ambientales, 491
 usados en estudios *in vitro*, 440
 Biotoxinas, 49, 225, 315
 Biotransformaciones, 115, 130
 de primer paso, 297
 de tercer paso, 297
 fase I o de primer paso, 118
 fase I, 131
 fase II, 132
 Bisfenol A, 301, 307, 308
 Bismuto, 277
 Bisutería, 287
 Bleomicina, 188
 Bocio, 311
 Bociógenas, 311
 Bodega, 231
Body packers, 389
 Bombas,
 de expulsión, 61
 de conjugados, 62
 de fosfolípidos, 62
 de humo, 51
 de sodio, 312
 de vacío, 51
 térmicas, 51
 termobásica, 51
 Borgia, Papa, 4
 Botes de humo, 50
 Botiquines,
 de antídotos, 400
 dotación mínima, 556
 Bradicardias, 312
 Bromatología, 14
 Bromatos, 221, 276, 322
 potásico, XXI
 Bromoacetofenona, 324
 Bromobenceno, 188
 Bromoformo, 188
 Bronceado, 290
 Bronceadores, 284
 Buenas prácticas de laboratorio, 446, 503, 509
 códigos de, 446
 Búhos, 356
 Busulfán, 298, 317
 Butano, 219, 225

 Cadáver, postura del, 480
 Cadáveres, 138
 Cadena,
 de custodia, 497
 externa, 498, 518
 interna, 498, 518
 de la polimerasa, reacción en,
 Cadmio, XVI, 103, 181, 223, 279, 299, 321
 Caféina, 237
 Cajas de Skinner, 436
 Calcio, 146, 189, 191, 194, 225, 235, 311, 313
 Calidad,
 de aire, 55
 de los resultados de análisis, 509
 Calmodulina, 146, 191, 231
 Calpaínas, 165
 Cámaras,
 de gas, 229
 hiperbárica, 228
 Campos,
 electromagnéticos, 45
 magnéticos, 328
 Canales,
 de calcio, 314
 de piel, 292
 de sodio, 61, 312
 iónicos, 236
 Cáncer, 291, 301, 330
 cervical, 308
 cutáneo, 290, 220
 de testículo, 302
 Cancerígenos,
 genotóxicos, 458
 no genotóxicos, 457
 Cancerogénesis, 168, 182, 411
 Cannabimiméticos endógenos, 208
 Cannabinoides, 240, 300
 receptores de los, 2508
 Cannabiosis, 262
 Cannabis, XVIII, 300
 Canon de medicina, 4
 Cantáridas, 3, 219, 300

- Capacidad,
 - bioconcentración, 435
 - carcinogénica, 426
 - corrosiva, 423
 - disruptora endocrina, 431
- Capainas, 193
- Capilares, 73
- Características,
 - del riesgo, 463
 - físicoquímicas, 436
- Caracterización del riesgo, 456
- Carbamatos, 215
- Carbamazepina, 294
- Carbámicos, 211
 - monóxido de, 155
 - tetracloruro de, 192
- Carbón activo, 393
- Carbonilo,
 - de hierro, 227
 - de níquel, 220
- Carbono,
 - quirales, 124
 - tetracloruro de, 194
 - carboplatino, 362
- Carboxihemoglobina, 227, 228
- Carboximiocardioglobina, 228
- Carcinógenos epigenéticos, 335
- Carcinogénesis, 332, 333
- Carcinogenicidad,
 - estudio de, 427
 - evaluación de, 427
- Carcinógenos,
 - epigenéticos, 335, 427, 443
 - genotóxicos, 331
 - test, 427
- Cardenillo, 3
- Cardiopatía alcohólica, 313
- Cardiotónicos, 312
- Cardiotoxicidad de péptidos, 315
- Cardiotóxico, 312
- Cardiotoxina, 316
- Carga corporal, 105
- Carotenoides, 324
- Cascadas de acontecimientos bioquímicos, 223
- Caspasas, 165, 193
- Catabolismo, 115
- Catalasa, 181
- Catalizadores, 115
- Cataratas, 133, 292, 324, 326
- Causticación, 172, 219
- Caústicos, 172, 219
 - y corrosivos, 285
 - primeros auxilios al afectado, 547
- Celentéreos, 313, 315
- Células,
 - cancerosas, 167
 - cebadas, 196
 - de Kupffer, 264
 - dendríticas, cultivo de, 425
 - madre pruripotenciales, 440
 - manipuladas genéticamente, 429
 - plasmáticas, 196
- Centrifugación diferencial, 440
- Centros,
 - antitóxicos, 13, 468
 - bulbares e hipotalámicos, 243
 - del vómito, 296
 - quiral, 212
- Cepas de roedores, 409
- Cerebro, 71
- Certeza diagnóstica, 480
- Ceruloplasmina, 70
- Cerveza, XV, XVIII
- Cesio, 314
- Chaperonas, 169, 194, 206
- China, 349
- Chiriquitoxina, 314
- Christison, 10
- Cianogénicos, 229
- Cianuro, 208, 229, 362, 395
- Ciclofosfamida, 318, 321, 322
- Ciclooxigenasas, 126
- Ciclos,
 - celular, 223
 - circadianos, 423
 - enterohepático, 76
 - estrales, 342
 - menstrual, 299, 363
 - redox, 119, 179, 186
 - salivar, 77
- Cicuta, 3
- Cinc, 263
- Cinética,
 - ambiental, modelos de, 438
 - circadiana, 362
 - de la absorción, 83
 - de la distribución y transporte, 86
 - de la eliminación, 96
 - de Michaelis-Menten, 100
 - de orden cero, 83
 - de primer orden o exponencial, 83
 - del efecto, 110
 - en modelo,
 - bicompartmental, 89
 - multicompartmental, 86, 87
 - lineal y no lineal, 110
- Ciproterona, 221, 298, 321
- Circulación,
 - placentaria, 72
 - sanguínea, 224
 - postmortem, 78
- Cirrosis, 271
 - alcohólica, 313
- Cisplatino, 318, 322

- Citocromos, 121, 183, 197
 - oxidasa, 229
 - P, 150
 - P-450, 121, 229
- Citostáticos, 317
- Clase de toxicidad oral aguda, 421
- Clasificación,
 - de antídotos, 397
 - de las intoxicaciones, 22, 86
 - de sustancias, 421
 - por su peligrosidad, 419
- Claude Bernard, 12
- Clofibrato, 272
- Clomifeno, 299, 300
- Cloramida, 199
- Cloranfenicol, 219, 298, 320
- Cloratos, 276, 322
- Clorfentermina, 310
- Clorhidina, 199, 286
- Cloroacné, XIX
- Cloroactofenona, 324
- Cloroformo, 188, 310
- Cloroquina, 310, 320, 323
- Cloruro de vinilo, 188, 272, 321
- Coagulación, 173
 - de las albuminas, 534
- Cobalto, XVIII, 221, 311, 313
- Cobre, 70
- Cocaína, 221, 225, 241, 268, 270, 300, 313, 382, 400, 482
- Cocarcinógenos, 333
- Cócteles Molotov, 51
- Códigos de buena práctica de laboratorio, 446
- Coeficiente,
 - de acción tóxica aguda, 34
 - de partición, 215
 - de reparto, 65
- Coenzimas, 115
- Cofactores, 115
- Colchicina, 320
- Colestasis intrahepática, 271
- Colesterol, 373
- Colirios, 324
- Coloración de la piel, 480
- Columnas cromatográficas, 542
- Coma, 480
- Combustión incompleta, 226
- Comedones, 286
- Compartimientos,
 - central, 81
 - exploratorio, 436
 - fisiológicos, 81
 - periférico, 81
- Complejo mayor de histocompatibilidad, 195
- Componentes,
 - celulares aislados, 443
 - de los modelos toxicológicos, 408
- Comportamiento, estudios de, 435
- Compuestos,
 - arsenicales, 254
 - con y sin umbral, 459
 - intermedios de oxígeno reducido, 184
 - organofosforados, 252
 - reactivos de azufre, 190
 - sin umbral, 458
- Comunicación del riesgo, 460
- Concentraciones,
 - en medios biológicos, interpretación, 513
 - máximas permisibles, 460
- Concepto de pT, 39
- Condicionamiento operante, 436
- Conducción nerviosa, trastornos de la, 220
- Conductimetría, 527
- Conejo, 431
- Confirmación, 536
- Conjugados,
 - determinación de los, 529
 - hidrólisis de los, 529
- Conjuntivitis, 325, 363
- Conocimiento toxicológico, fuentes del, 403
- Constantes de disposición o disponibilidad, 92
- Consumo de alimentos y agua, 435
- Contaminación estrogénica ambiental, 301
- Contraconceptivos, 268
- Convulsiones, 558
- Corazón, 311, 482
- Cornelia, Ley, 3
- Corpúsculos de Heinz, 319
- Corrosión, 282
- Corrosividad, 424
- Corteza cerebral, 233
- Corticoides, 324, 326
- Cosmotoxicología, 364
- Councilman, cuerpos de, 267
- Coximetría, 228
- Criptorquidia, 302, 306
- Crisántemo, 2
- Cromatografía,
 - de gases, 528
 - de líquidos, 528
- Cromatos, 276, 322
- Cromo, 127, 102, 213 287
- Cronotoxicología, 354
- Crotonitrilo, 322
- Cuantificación, 536
 - cultivos de órganos, 439
- Cuero curado, 287
- Cuerpos de Councilman, 267
- Cultivos,
 - de células dendríticas, 425
 - de queratinocitos, 425
- Cumarinas, 320, 199
- Cumarínicos, 312
- Cumestro, 301
- Curare, 1, 241

- Curvas,
 - de bioacumulación, 104
 - de excreción urinaria, 98
 - de nivel hemático, 88
 - área bajo la, 89
- Daphnia magna, 432
- DDE, 306
- DDT, 14, 61, 122, 247, 301, 305, 311
 - hexaclorofeno, 151
- Declaración de sustancias peligrosas, 55
- Degeneración walleriana, 246
- Degradación, métodos regulados, 434
- Delfos, oráculo del, 2
- Delito, 54
 - de lesiones, 53
- Depilación, 283
- Deposición electrolítica, 527
- Depresión,
 - estacional, 361
- Depuración biliar, 556
- Derivatización, 536
- Dermatitis, 282
 - alérgica por contacto, 288
- Desarrollo,
 - prenatal, estudio de, 431
 - sexual, 359
 - toxicología del, 430
- Desastre químico, 48
 - actuaciones, 562
- Desensibilización, 207
- Desferroxiamina, 394
- Deshidrogenasas, 119
- Desodorantes, 286
- Detección, 535
- Detergentes, 220
- Determinación de conjugados, 5291
- Diabetes, 311
- Diagnóstico,
 - biológico, 483
 - clínico, 479
 - por la imagen, 414
- Diagrama de Wagner, 97
- Diálisis peritoneal, 554
- Dianas, 204
- Diazometano, 219, 377
- Dibromocloropropano, 221, 298
- Dicetonas, 247
- Diclorometano, 136, 227
- Dictamen, 518
- Dicumarol, 374
- Dietas ricas en grasas
- Dietilenglicol, XVI, XX, XXI, XXII
- Dietilestilbestrol, XIX, 301, 302, 308
- Difenilhidrantofina, 370, 317
- Diferencias interespecies, 405
- Difusión, 61, 71
 - facilitada, 61
 - post mortem, 77
- Digestión secuencial, 529
- Digital, 221, 312
- Digitálicos, 312, 314
- Digoxina, 313
- Dimetilbenzoatraceno, 310
- Dimetilformamida, 281
- Dimetilnitrosamina, 167, 175, 268
- Dimetilsulfoxido, 281
- Dinitrofenoles, 214
- Dinitrotolueno, 137
- Dioscórides, 3
- Dióxido de carbono, 225
- Dioxinas, XVIII, XIX, 152, 192, 198, 206, 208, 220, 286, 311
 - elemento de respuesta a la, 206
- Diquat, 188, 192
- Directrices de ensayo de la OCDE, 445
- Diseño experimental, 411
- Dismutación, 181
- Disolventes, 73, 206, 244, 253, 530, 531
 - apolar, 531
 - orgánicos, 274, 323, 501, 530
 - extracciones con, 529
 - polares, 530
- Disritmias ventriculares, 228
- Disrupción endocrina, ensayos *in vitro*, 432
- Disruptores endocrinos, 302, 304
- Distribución,
 - dosis-respuesta, 412, 405
 - y transporte, cinética, 86
- Diuresis forzada, 554
- Diuréticos, 221, 322, 372
- DNEL, 462
- Docencia, 18
- Dolor, sensación de, 240
- Dominancia letal, test de la, 429
- Done, nomograma de, 506
- Dopaje, 53, 55, 56
- Dopaminérgicas, 239
- Dosis,
 - altas, 353
 - cota, 458
 - de efecto crítico, 458
 - de referencia, 460
 - efecto, 36
 - letal(es), 34
 - media, 407
 - morales, 40
 - respuesta, 37, 454
 - sin efecto adverso observado, 426
 - toxicas, 34
 - umbral, 335
 - virtualmente segura, 45
 - y tiempo, 36
- Dotación básica de un laboratorio, 503

- Drogadicción, 57, 436
D-tubocurarina, 211
- Ebers, papiro de, 2
Ebselen, 186
ECA, inhibidores
Eccemas, 220
 por contacto, 288
Ecetilcolinesterasa, 168
Eclipse de luna, 363
Ecotoxicología, 14
 métodos regulados de evaluación, 432
Edad, 347
 contemporánea, 9
 media, 3
 moderna, 5
Edema,
 cerebral, 482, 559
 pulmonar, 259, 482, 558
EDTA-Ca, 394
EDTA dicobáltico, 396
Efecto(s),
 adversos o indeseables, 35
 clínico, 36
 colaterales, 35
 conjunto, 519
 nocivos de los medicamentos, 35
 paradójico, 349
 secundarios, 35
 subclínico, 36
Ehrlich, 12
Eje córtico-hipófiso-gonadal, 297
Ejemplos toxicocinéticos, 107
Eléboro, 1
Electrófilos, 175
Electroforesis capilar, 528, 538, 533
Eleoisisina, 523
Elemento(s),
 aumentador de respuesta (XRE), 206
 de respuestas antioxidante, 129
 metálicos, 168
Eliminación, 74, 97, 362
 cinética de la, 96
 forzada, 553
 vida media de, 97
Elutriación, 440
Embarazadas, 292
Embarazo, 352
Embriotoxicidad, 431
Embriotóxicos, efectos, 430
Emergencia, planes de, 563
Enantiómeros, 212
Enantiómetros, 124
Encefalinas, 240
Encéfalo, 233
Encefalopatías,
 anfetamínicas, 254
 hepática, 254
Endocannabinoides, 240
Endocitosis, 62
Endonucleasa, 165, 191
Endorfinas, 240
Endosulfán, 304
Endotoxinas, 182
Enfermedad,
 autoinmunitaria, 202, 294, 319
 de la guerra del Golfo Pérsico, 328
 de la Mantequilla, XVII
 de Menkes, 70
 de Minamata, XVII, , 14
 de Wilson, 70
 del Itai-itai, XVII
 del trébol, XVI
Enfisema, 220, 260
Enlaces covalentes, 163, 176
Ensayos,
 «arriba y abajo», 413
 de Hersherberger, 431
 de inhibición de la luminiscencia, 432
 de irritación dérmica, 424
 de macrocosmos, 432
 de piel reconstituida, 424
 de recesividad letal, 429
 de toxicidad, 405
 en una especie, 432
 in utero, 431
 in vitro de disrupción endocrina, 432
 in vivo, 439
 in vitro, 439
 justificación, 441
 ventajas e inconvenientes, 441
 uterotrófico, 431
Envenenamiento, 22, 46
 criminales, 4
Enzimas, 115, 129, 143, 485, 487, 490
 mieloperoxidasas, 195
 monoaminoxidasas, 237
 óxido nítrico sintetasa, 189
 sulfotransferasas, 230
 superóxido dismutasa, 181
Epidemiología,
 de las intoxicaciones, 473
 estudios, 476
Epidermis, 279, 317
Epigenéticos, 42, 168
Epoxidohidrolasas, 153
Epóxidos, 120, 131, 153, 154, 175
Eritemas, 282, 290
Eritromicina, 277
 etanol, 157
Eritropoyetina, 318
Erizos, 432

- Erupciones, 282
- Escapes radiactivos, XXII
- Escorpión, 313, 315
- Espacio en cabeza, 523
- Especiación, 526
- Especie(s),
 - animales, 344, 409
 - centinelas, 406
 - ensayos en una, 432
 - metálicas de interés toxicológicos, 526
 - química, 212, 526
 - reactivas,
 - de nitrógeno, 181
 - de oxígeno, 179, 181, 186
- Espectrofotometría,
 - de absorción atómica, (EAA), 528
 - sin llama, 528
- Espectrometría,
 - atómica de fluorescencia, 528
 - de emisión de plasma, 528
- Espermatozoides, 302
- Espermiogénesis, 298
- Espinotelioma, 290
- Espironolactona, 298, 310
- Esqueleto, 73
- Estándares,
 - de calidad, 471
 - de referencia, 497
- Estatinas, 373
- Esteatosis, 482
- Esterasa de implicación neurotóxica, 252
- Esterilidad, XIX
- Esteroides, 268
 - receptores de, 304
- Estibimina, 220
- Estimación de riesgo, 451, 456, 460
- Estireno, 321
- Estómago, 483
- Estornudatorios, 50
- Estrategias inteligentes de evaluación, 438
- Estrechamientos fisiológicos, 296
- Estreptomina, 327
- Estrés,
 - defensa celular contra el, 194
 - factores de, 223
 - oxidativo, 182, 186, 193
 - respuesta al, 194
- Estricnina, 221 239, 480
- Estrógenos, 299
 - receptor de, 206, 305
- Estructura de la piel, 280
- Estudios,
 - con voluntarios, 440
 - de inhalación, 409
 - de toxicidad aguda, 423
 - epidemiológicos, 476
 - estadístico, 416
 - in silico*, 438
 - multigeneracionales, 430
 - toxicológicos con plantas, 411
- Estupefacientes, 53
- Etanol, 123, 188, 239, 256, 268, 270, 310, 313, 316, 320, 374
- Etanolamina, 200
- Etilendiamina, 288
- Etilenglicol, 327
- Etilómetros, 523
- Etinelestradiol, 321
- Etiología de las intoxicaciones, 47
- Evaluación,
 - de la alargenicidad, 425
 - de la carcinogenicidad, 427
 - de la exposición, 454, 464
 - de la irritación ocular, 425
 - de la seguridad química, 462
 - de la sensibilización dérmica, 425
 - de la toxicidad, 407
 - aguda, métodos, 422
 - de medicamentos, 445
 - del riesgo ecológico, 459
 - toxicológica, 446
 - legislación, 446-448
- Exanguinotransfusión, 555
- Excreción, 73
 - urinaria, 98
- Experimentación,
 - animal y vegetal, 490
 - con modelos biológicos, 403
 - toxicológica, 404
 - con animales, 490
- Exposición,
 - control de la, 108
 - evaluación de la, 464
- Éxtasis, 268
- Extracción, 531
 - con disolventes orgánicos, 529
 - en fase reversa, 532
 - en fase sólida, 531
 - por columnas, 531
 - por dispersión en fase sólida, 531
 - por fluidos supercríticos (SPE), 533
 - por intercambio iónico, 532
 - por par iónico en fase reversa, 532
- Extrasístoles, 312
- FAB, 400
- Fabismo, 229, 487
- Factor(es),
 - de estrés 205, 223
 - de necrosis tumoral, 183, 193
 - de translocación, 206
 - tiempo, 32, 116
- Faloidinas, 168, 192, 268, 270, 275
- Farmacocinética y toxicocinética, diferencias entre, 82

- Fármacos, reservorios de, 77
- Farmacovigilancia, 15, 471
- Fatiga, 352
- Feminización, 302, 306
- Fenacetina, 276, 321
- Fenilbutazona, 317, 320
- Fenilendiamina, 200, 287
- Fenilhidrazina, 318
- Fenilmercurio, XIX
- Fenitoína, 294
- Fenobarbital, 156
- Fenotiazinas, 211, 298, 299, 314, 323
- Fenoxiácidos, 321
- Fentanilo, XXI
- Fermentación, 138
- Ferrioxamina, 395
- Fertilidad, trastornos tóxicos de la, 429
- Fibrato, 206, 309
- Fibrilación,
 - auricular, 313
 - ventricular, 313
- Fibroblastos, 222
- Fibrosis, 222
- Ficheros toxicológicos, 469
- Ficotoxinas, 250
- Fiebre,
 - del soldador, 263
 - por humo de plásticos, 263
- Filipinos, 511
- Filtración, 61
- Filtros solares, 292
- Finasterida, 298
- Fisiopatología tóxica, 222
 - en los vasos sanguíneos, 224
- Fitoestrógenos, 301, 303, 309
- Fitotóxicos, 51
- Flavonoides, 373
- Flechas,
 - ácidos, 1
 - herboladas, 1
- Flora,
 - bacteriana, 410, 411
 - y fauna, protección de, 54
- Florisil, 532
- Flumazenil, 393
- Flúor, 48, 73
- Fluoracetato, 2
- Fluorosis, 48
- Fluoruro, 221, 276
 - sódico, 501
- Folículo piloso, 286, 287
- Formación, 18
- Formaldehído, 288
- Fosfatasas, 167
- Fosfina, 231
- Fosfolipasas, 145, 191
 - A, 174, 316
- Fosfolipidosis, 310
- Fosforilación, 146
- Fósforo, 219, 275, 480
 - amarillo, 320
 - de hidrógeno, 231
 - de titanio, 51
- Fosgeno, 50, 220, 227, 258
- Fotoactivación, 293
- Fotoalergia, 290, 293
- Fotolisis, 176
- Fotodermatitis idiopáticas, 290
- Fotoenvejecimiento, 290
- Fototoxicidad, 290, 293
- Fraccionamiento,
 - del extracto, 534
 - según Stas-Otto, 534
- Fragmento sensible, 209
- Frentes de iones, 342, 357
- Frigidez, 300
- Ftalatos, 308, 223
- Fuentes del conocimiento toxicológico, 403
- Fugu, 250
- Fuhrer, 12
- Furosemida, 323, 375
- GABA, 239
- Gabir o Geber, 4
- Galactorrea, 300
- Galactosa, 326
- Gamma-hidroxibutirato, 239
- Ganglio linfáticos, 194
- Gas(es),
 - ciudad, 227
 - de guerra, 324
 - toxicidad, 455
 - de los pantanos, 22
 - hilarante, 231
 - irritantes, 221
 - tóxicos, 225
 - en atmósfera, 524
 - y vapores, sistemática para, 523
- Gen(es),
 - clock, 361
 - de muerte, 164
 - de susceptibilidad al cáncer, 331
 - FHIT, 335
 - humanos, introducción de, 443
 - NOEY2, 335
 - p53, 334
 - p-73, 335
 - proapoptóticos, 167
 - supresores de tumores, 331
- Genotoxicidad,
 - evaluación de la, 429
 - tests, 427
- Genotoxicología, 329

- Genotóxicos, 42, 332
- GHB, 239
- Ginebra, parálisis de la, XVI
- Ginecomastia, 301, 306
- Glándulas,
 - pineal, 358
 - sebáceas, 286
 - sudoríparas, 286
 - suprarrenales, 310
- Glicina, 239
- Glicoproteína P, 62
- Glomérulo, 74
- Glomerulonefritis, 482
- Glomerulonefritis tóxicas, 278
- Glosario, 23
 - IUPAC, 23
- Glucocorticoides, 192
- Glucosa, 21
- Glucosa-6-fosfatasa, 363
- Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 181, 318, 229
- Glucósidos, 229
 - cianogénicos, 49
- Glucurónidos, 135
- Glucuronil-transferas, 137
- Glutamato, 239,
 - receptores del, 210
- Glutación, 124, 133, 135, 163, 176, 188, 192, 261, 349, 485
- Glutathionperoxidasa, 181
- Glutathionreductasa, 181
- Golpe de calor, 293
- Gosipol, 221, 298
- Granada acústico-luminosas, 51
- Granuloma, 288
- Grayanotoxina, 313
- Griseofulvina, 349
- Grisú, 225
- Grupos,
 - control o blanco, 412
 - sulfhidrilos, 208
 - tíoles, 168, 225
- Guerra del golfo, síndrome de la, 45

- Habas, 487
- Haber-Weiss y Fenton, reacciones de, 180
- Halotano, 188, 270, 199, 268, 316
- Hapteno, 199
- HAZMAT, 13
- Hearst, papiro de, 2
- Heces, 74
- Hemodiálisis, 554
- Hemofilia, 229
- Hemofiltración, 555
- Hemoglobina, 226
- Hemolisis, 228
- Hemoperfusión, 555
- Hemostasia, 320, 376

- Heparinoides, 312
- Hepatitis,
 - crónica, 490
 - tipo viral, 270
- Hepatocito, 264
- Hepatomas, 272
- Hepatopatías, 269
- Herbicidas en sangre, 411
- Hércules, 2
- Heroína, 300
- Hershberger, ensayo de, 431
- Heteroátomos, 124
- Hexaclorobenceno, XIX
- Hexandiona, 235
- Hexanediol, 286
- Hexano, 252
- Hidramizina, 188
- Hidrocarburos, XIX, 220
 - acíclicos, 214
 - alifáticos, 252
 - halogenados, 190, 248
 - aromáticos policíclicos, 123
 - halogenados, 316
 - policíclicos, 122, 150, 156, 300, 326
- Hidrocarburos cíclicos, 214
- Hidrólisis,
 - de los conjugados, 529
 - y digestiones, 529
- Hidroperóxidos, 184
- Hidroxinonal, 187
- Hígado, 263, 482
 - graso, 267, 271
- Hioscina, 220
- Hipersensibilidad, 197
 - reacciones de, 201
 - retardada, 202
- Hipertermia, 558
 - maligna, 349
- Hipoglucemiantes orales, 372
- Hipostasis, 77
- Hipotálamo, 233, 357
- Hipotensión arterial, 228
- Hipotensores, 381
- Hipotermia, 558
- Hipotiroidismo, 308, 311
- Histamina, 200, 362, 350, 373, 377
- Hitos en el análisis químico-toxicológico, 495
- Homeostasis, 162
 - del calcio, 191
- Homicidio, 52
- Hongo arsenófilo, 490
- Hormetinas, 39
- Hormonas, 157
 - esteroides, receptores de, 206
 - sexuales, 345
 - tiroideas, 308
- Horno de microondas, 530

- Hueso, 73
- Humor vítreo, 139
 - ocular, 506
- Humos, 51

- IDA, 15
- Identificación, 535
- Idiosincrasia, 348
- Imidazoles, 298
- Imposex, 302
 - enzimáticos, 158
- Impurezas de algunos disolventes, 530
- Inactivación de proteínas, 144
- Incertidumbres, 458
- Incidencias fisiológicas, 360
- Incompatibilidades de medicamentos, 368
- Indicadores,
 - de calidad, 471
 - humanitarios, 419
- Inductores, 374
 - de la oxidasas, 374
 - enzimáticos, 147, 148, 156, 158
- Infertilidad, 298, 303
- Información clínica, 505
- Información toxicológica, 13, 471
- Informe pericial, 518
- Informe toxicológico, 518
- Ingesta Diaria Admisible, 457
- Ingresos por causa tóxica, 474
- Inhalación, estudios de, 409
- Inhibición,
 - alostérica, 145
 - enzimático, 144
 - metabólica, 373
- Inhibidores, 374
 - de ECA, 263
 - enzimáticos, 158
- Inmunocomplejos, 202
- Inmunodepresión, 197
- Inmunoensayo, 539
 - enzimáticos, 541
 - heterogéneos, 539
 - homogéneos, 539
- Inmunostimulación, 197
- Inmunoglobulinas, 200, 478
- Inmunosupresión, 197
- Inmunoterapia, 400
- Inmunotóxicos, 42, 194, 458
- Insecticidas piretroides, 250
- Insectos, picaduras de, 289
- Instituto Nacional de Toxicología, 11
- Insuficiencia,
 - cardíaca, 313
 - hepática, 267
 - renal, 559
 - aguda, 278
- Insulina, 376, 375
- Interacción,
 - de medicamentos, 376, 385
 - con alimentos, 378
 - del alcohol con medicamentos, 381
 - en la absorción, 370
 - por desplazamiento, 372
- Intercambio iónico, 370
- Interferencia en el transporte activo, 375
- Interferón, 197
- Interpretación,
 - de los resultados analíticos, 512
 - líneas celulares establecidas, 440
 - toxicológica, 519
- Intestino, 483
- Intoxicaciones,
 - accidentales, 47
 - agudas, 22, 474, 479, 487, 545
 - alimentarias, 48
 - cianhídrica, 396
 - clasificación, 22, 47
 - de niños, 475
 - epidemiología, 473
 - etiología de las, 47
 - infantiles, 346, 476
 - ingresos por, 475
 - por gases, primeros auxilios, 546
 - por vía oral, primeros auxilios, 549
 - profesionales, 48
 - recidivantes, 23
 - retardada, 22
 - subcrónica, 23
 - voluntarias, 49, 474
- Intoxicados,
 - comatoso, asistencia al, 551
 - tratamiento de los, 471
 - servicio de, 471
- Invertebrados, 438
- Investigación,
 - aplicada, 407
 - básica, 407
 - toxicológica
 - experimentales, 407
 - regulada, 407
- Iodoformo, 188
- Iones,
 - frentes de, 342, 357
 - metálicos, 169
- Iperita, 50
- Ipomeanol, 188, 261
- Irradiación aguda, síndrome de, 562
- Irrigación,
 - intestinal, 553
 - sanguínea, 70
- Irritación,
 - dérmica, ensayo de, 424
 - ocular, 219,
 - evaluación de la, 425
 - primaria, 282

- Irritantes, 256
- Isocianatos, 221, 259, 363
- Isoflavonas, 309
- Isómeros, 212
- Isuflurano, 316
- Itai-itai, enfermedad del, XVII
- Jet lag, 360
- Juguetes infantiles, 55
- Juicio experto, 457, 460
- Juramento, 3
- Justificación de los ensayos *in vitro*, 441
- Kanamicina, 323
- Kepon, 304
- Kupffer, células de, 264
- Laboratorios,
 - acreditación de, 509
 - de nivel primaria, 494
 - de nivel superior, 496
 - de referencia, 510
 - de segunda fila, 495
 - de toxicología, 494
 - dotación básica de un, 503
- Lacrimógenos, 50
- Lactantes, 346
- Ladislao, 5
- Lagartijas, 490
- Lágrimas, 74
- Laguna Estigia, 2
- Lápices de autodefensa, 324
- Láser, 45, 283
 - verde, 51
- Látex, 199
- Lavado gástrico, 553
- Laxantes, 555
- Leche, 74
 - problema de la, 550
- Legislación,
 - de bienestar animal, 453
 - específicas, 444
 - toxicología, 15
- Lentes de contacto, 325
- Lesiones neuronales, 246
- Leucemia, 321
- Leucocitos, 319
- Leucopenia, 317
- Ley,
 - Cornelia, 3
 - de Haber, 455, 456
- Libido, 308
- Libros Veda, 2
- Lidocaína, 314
- Límites máximos de residuos, 460
- Linfocitos,
- Linfomas, 321
- Linfoquinas, 197
- Lípidos peroxidados, 183
- Lipoatrofia semicircular, 44
- Lipofuscina, 183, 184
- Lipoperoxidación, 179
- Lisofosfolípidos, 145, 191
- Litio, 311, 320, 321, 362, 400
 - B, 195, 200
 - T, 195, 194, 199
- Lluvia ácida, 47
- Localización, 72
- Locusta, 2, 3
- Lombriz, 432
- Longevidad, 426
- Louvre, papiro del, 2
- LSD, 240, 300
- Luminiscencia, ensayo de inhibición de la, 432, 460
- Luna nueva, 363
- Lupus eritematoso, 294
- Luz,
 - pulsatil, 283
 - solar, 324
 - ultravioleta, 284
- Macrocosmos, ensayos de, 432
- Macrófagos, 264, 256
- Malformaciones fetales, 336
- Malonildialdehído, 185
- Manchas solares, 342, 364
- Mandrágora, 326
- Manganeso, 253
- Mantequilla, enfermedad de la, XVII
- Mareas rojas, 315
- Margen,
 - de exposición, 456
 - de seguridad, 457
- Marihuana, XVIII, 300
- Marsh, 9
- Mastocitos, 196
- Mecanismos,
 - de toxicidad, 162, 170
 - destoxicantes, 150
 - inmunitarios, 203
- Medea, 2
- Mediadores intracelulares, 147
- Medicamentos, 48, 444
 - antiácidos, 369, 382
 - anticolinérgicos, 560
 - antimuscarínicos, 560
 - asociación de, 367
 - citotóxicos, 323
 - deteriorados, 54
 - efectos nocivos de los, 35

- evaluación de, 445
- inductores de hipotermia, 558
- neumotóxicos, 263
- neuróticos, 255
- que inducen hipertermia, 558
- tóxicos para el ojo, 325
- y lupus eritematoso, 295
- Medio ambiente, 54, 55
- Medio ambiente, tóxicos sobre el, 432
- Médula ósea, 317
- Mejillones, 302
 - toxina del, 250
- Melanina, 287, 299, 326, 323,
- Melanocitos, 167
- Melanoma, 291
 - benigno, 290
 - maligno, 290
- Melatonina, 358, 360
- Melitina, 315
- Membranas,
 - celular, 63
 - paso a través de, 61
 - proteínas de, 64
 - receptores de, 205
- Menadiona, 188
- Menkes, enfermedad de, 70
- Meperidina, 253
- Mercuriales, 313
- Mercurio XVII, 73, 181, 212, 287, 322,
- Meseta, principio de la, 98
- Metabolismo(s), 115
 - activos, 163
 - presistémico, 281
- Metabolitos reactivos, 174
- Metabolómica, 351
- Metacualona, 300
- Metadona, 260, 263, 286, 300
- Metahemoglobilizantes, 220
- Metahemoglobina, 219, 318
- Metales, 169, 187, 198, 199, 202, 225, 226, 246, 263,
 - 275, 299, 314, 526
 - de transición, 177
 - sensores, 223
- Metaloenzimas, 181
- Metaloporfirina, 226
- Metalotioneinas, 70, 181, 484
- Metanfetamina, 190
- Metano, 225
- Metanol, 120, 220, 221, 327
- Metil-n-butilcetona, 253
- Metildopa, 277
- Metilisocianato, XX, 219
- Metilmercurio, XVII, 14, 167, 252
- Metilxantinas, 314
- Metionina, 400
- Método(s), 508
 - alternativos, 437
 - analítico, 508
 - de aislamiento, 522
 - de dosis fija, 423
 - de ensayo de la Unión Europea, 445
 - de la dosis fija, 420
 - de tamizado, 538
 - experimentales alternativos, 438
 - químicos simplificados, 541
 - regulados, 428, 433, 434, 437
 - de evaluación, 422
 - simplificados, 538
- Metodología DNEL, 462
- Metoxiclor, 306
- Metoxiflurano, 316
- Metrotexate, 362
- Mexicas, 1
- Michaelis-Menten, cinética, 100, 80
- Micoestrógenos, 303
- Micotoxinas, 411
- Microcistinas, 49
- Microcosmos, ensayos de, 432
- Microextracción en fase sólida (SPME), 523, 533
- Microfilamentos, 235
- Micronúcleo, ensayo del, 429
- Microtúbulos, 235
- Midriasis, 326
- Mielina, 235
- Mielomas, 321
- Mielosupresión, 317
- Minamata, enfermedad de, XVII, 14
- Mineralización de la muestra, 525
- Miocardio, 312
- Miocarditis tóxica, 313
- Mioglobina, 226, 227
- Miosis, 326
- Mitoltoxina, 250
- Mitogénicos, 42
- Mitosis, 223
- Mitridates VI, 3
- Mitridáticos, 3
- Moco escalador, 256
- Modelos,
 - bicompartmental, 80
 - compartmental, 79
 - cinética en, 86
 - de piel humana reconstituida, 425
 - experimentales, 408
 - in vitro*, 406
 - matemáticos, 438
 - monocompartmental, 79
 - multicompartmental, cinética, 87
 - multietapa linealizado, 459
 - predictivo, 418
 - teóricos de predicción, 403
 - transgénicos, 427
- Moluscos, 315
- Monensín, 313

- Monitorización química, 484
- Monóxido de carbono, 155, 208, 226, 244, 286, 510
- Mordeduras venenosas, 547
- Morfina, 260, 263, 326
- Motilidad intestinal, 371
- MTP, proteína, 167
- Mucosa gastrointestinal, 66
- Muerte,
 - celular, 163
 - fulminante, 231
- Muestras,
 - certificadas, 497
 - de cabellos, 500
 - de interés judicial, 499
 - de toxicología clínica, 501
 - envenenadas, 497
 - homogénea, 502
 - problema, 497
 - sanguíneas, 500
- Muestreo,
 - de aguas, 582
 - de contaminantes ambientales, 582
- Multidrug resistance*, 65
- Muscarina, 220
- Mutagénesis, 329
- Mutagenicidad, 427

- n-hexano, 235
- Naftaleno, 133, 326
- Nalorfina, 391
- Naloxone, 392
- Naltrexona, 392
- Napalm, XVIII
- Naranja, 381
- Narcotráfico, 53
- Necrosis tóxica epidérmica, 294
- Necrosis, 163, 164, 192
 - coagulativa, 296
 - colicuativa, 173
 - diferencia entre apoptosis, 165
 - esofágica, 296
 - hepáticas, 269
 - tumoral, factor de, 193, 197
- Nefritis intersticiales, 278
- Nefrona, 273
- Nefropatías,
 - alérgicas, 276
 - tóxicas directas, 274
- Nefrotoxicidad del cadmio, 278
- Nervio vago, 256
- Neumoconiosis, 220, 262
- Neumonitis lipídicas, 256
- Neuritis, 247
- Neurofilamentos, 235
- Neuromoconiosis, 262

- Neurona, 234
- Neuronopatía, 245,
- Neuropatías,
 - desmielinizantes, 248
 - periférica, 349
 - retardadas, 276
- Neurotoxicidad,
 - estudios de, 435
 - sobre el desarrollo, ensayo de,
- Neurotóxicos, 50
- Neurotransmisión,
 - potenciaciones y antagonismos de la, 377
 - retrograda, 240
- Neurotransmisores, 235, 238
- Nicotina, 220, 260
 - acetilcolina, 241
- Nilo, aguas del, 3
- Niños, 345
 - intoxicaciones de, 475
- Niquel, 220, 287
- Niquelplasma, 70
- Nitratos, 214
- Nitrilos, 219
- Nitrito de amilo, 300
- Nitrobenceno, 219, 220
- Nitrofurantoina, 188, 278, 320, 349
- Nitrógeno,
 - especies reactivas de, 181
 - óxidos de, 177
- Nitroglicerina, 220
- Nitroprusiato, 229
- Nitrorreductasas, 155
- Nitrosaminas, 123, 151, 155, 272
- Nitrosocompuestos, 311
- Nitrosoureas, 326
- Nitroxilo, radicales, 178
- Nivel,
 - determinado sin efecto, 462
 - hemático, curva de, 88
 - sin efecto,
 - adverso observado, 407
 - observable, 33
- NMDA, receptor, 210
- No metales, 526
- NOAEL, 454, 462
- Nódulo linfático, ensayo del 425
- Nomograma,
 - de Done, 506
 - de Rumack-Matthew, 507
- Nonilfenol, 307
- Normas,
 - de Garantía de Calidad, 509
 - UNE EN ISO 17025, 518
- NTE, 252
- Nucleófilos, 175

- OCDE (Organización para la Cooperación y Desarrollo), 445
directrices de ensayo, 445
Oído, 321
Ojo, 323
medicamentos tóxicos, 325
Olores pestilentes, 221
Oncosis, 163
Ondas electromagnéticas, 46
Opiáceos, receptores de los, 208, 210
Oráculo de Delfos, 2
Orfila, 7, 9, 10, 12
Organización para la Cooperación y Desarrollo (OCDE), 445
Organoclorados, 73, 270, 298, 313, 321
Organoestánicos, 244
Organofosforados, XXI, 221, 244, 251, 484
Organoplúmbicos, 244
Órganos,
cultivo de, 439
diana, 204, 222
linfáticos, 194
Orina, 74, 75, 485
Ostras, 302
Ototoxicidad, 323
Ouabaína, 313
Ovario, 299
Oxálico, 221
Oxidación-reducción, reacciones de, 119
Oxidaciones,
microsómicas, 120
no microsómicas, 125
Oxidantes, 318, 322
débiles, 219
Oxidasas, 119
de función mixta, 120
Óxido,
de etileno, 321
de nitrógeno, XIX, 177, 231, 259
nitrato nítrico, 226, 227, 231
nitroso, 231
Oxigenasas, 120
Oxígeno, 21, 225
activado, 182
especies reactivas de, 181, 186
singulete de, 178
Oxigenoterapia hiperbárica, 552
Oxihemoglobina, 227
Ozono, XIX, 176, 221, 259, 290
- p-acetamol, 183
p-aminofenol, 176, 400
p-glucoproteínas, 371
p-nonilfenol, 301
Países mediterráneos, 349
Paloma, 435, 490
Páncreas, 310
Papa Borgia, 4
- Papiro,
de Ebers, 2
de Hearst, 2
de Louvre, 2
de Saggarah, 2
Paracelso, 6, 21
Paracetamol, 136, 198, 507
Paracetilaminofenol, 136
Paradoja estructural, 211
Parálisis,
de la ginebra, XVI
del aceite, XVII
Parámetros bioquímicos, 488
Paraquat, 32, 175, 183, 188, 192, 261, 262, 317, 508, 510
Paratión, 122
Parestesias, 247
Paro respiratorio, 256
Partículas, aspiración de, 262
Patologías,
hepáticas, 490
tóxicas aparato digestivo, 220
Patrones, 504, 536
primarios, 536
Pauta de autoadministración, 436
PCB, 308
PCR (reacción en cadena de la polimerasa), 166
Peces, 1, 48, 490
globo, 250
PedTox, registro de, 476
Pegamentos, 323
Peligro potencial, 451
identificación, 452
Pelos, 73, 74, 287
análisis toxicológico del pelo, 542
matriz analítica, 543
Penicilamina, 394
Penicilina, 199
Péptidos, 315
cardiotoxicidad de, 315
Percloratos, 311
Periodos,
de gestación, 409
noche-día, 359
Peritonitis química, 297
Peroxidación lipídica, 183
Peroxisomas, 264
Personal competente, 449
Peruzzia, acquetta de, 5
Petequias, 286
Pez, toxicidad en, 432
Picaduras venenosas, 547
Picrotoxina, 239
Piel, 279
coloración de la, 480
estructura de la, 280
humana reconstituida, modelos de, 425
Pieles rojas, 1

- Pigmentación, 283
- Pilas eléctricas, 297
- Píldora del día siguiente, 300
- Pilocarpina, 220
- Pirazolonas, 294
- Piretroides, 61, 247
- Piridina, 214
- Pirrolizidina, 268
- pKa, valores aproximados de, 68
- Placebo, 353
- Placenta, 71
- Plaguicidas, 48, 303, 432
- Planes de emergencia, 563
- Plasma, 510
- Plasmaféresis, 555
- Plasmalógenos, 252
- Plastificantes, 49, 206, 303, 308
- Plásticos, 303
- Plomo, 73, 167, 253, 264, 272, 318, 319, 327
- Polarografía, 527
- Policlorobifenilos, 198
- Polidimetilsiloxano, 533
- Polietilenglicol, 389
- Polimedicación, 511
- Polimerasa, reacción en cadena de la, 166
- Polimixina B, 323
- Polimorfismos,
 - enzimático, 116, 121
 - genéticos, 116, 351, 373
- Polineuritis, 247
- Polvero de talco, XIX
- Pomelo, 373, 381
- Ponzoñas, 49
- Porfirias, 226, 272, 284, 349
- Porfirinas, 226, 284
- Poros, 62
- Post mórtem,
 - circulación sanguínea, 78
 - difusión, 77
 - redistribución, 77
- Postura del cadáver, 480
- Potenciación, 384
 - y antagonismos de la neurotransmisión, 377
- Potencial de toxicidad, 39
- Potenciometría, 527
- Pozos negros, 231
- Practolol, 199
- Precaución, principio de, 309
- Preconcentración, 526
- Precusores, 53
- Pregnano, receptores de, 206
- Presión,
 - atmosférica, 225, 343
 - hidrostática, 224
 - oncótica, 224
 - parcial, 343
- Prevención, principios de, 346
- Primaquina, 349
- Primeros auxilios, 545
- Principios,
 - de precaución, 309
 - de prevención, 346
- Problema de la leche, 549
- Procaína, 314
- Procainimida, 313
- Procarcinógenos, 332
- Procedimientos,
 - alternativos, 438
 - arcaicos de análisis, 503
 - arriba y abajo, 421
 - normalizados de trabajo (PNT), 503, 509, 518
 - secuenciales, 420
- Procesos nefrotóxicos, 274
- Producción mundial de sustancias, 467
- Progestágenos, 326
- Progesterona, 298
- Proliferadores de peroxisomas, 185, 309
- Propano, 219, 225
- Propiedades fisicoquímicas, métodos regulados, 437
- Propiltiouracilo, 311
- Propranolol, 300
- Prostaglandina, 126
- Próstata, 308
- Protección,
 - de flora y fauna, 54
 - de los animales, 449
 - de los trabajadores, 458
- Protectores solares, 292
- Proteína(s),
 - asociadas a resistencias multidrogas, 371
 - de membrana, 64
 - de muerte, 193
 - de shock, 206
 - térmico, 194
 - estructura de las, 173
 - G, 147
 - inactivación de, 144
 - MTP, 167
 - p53, 164
 - plasmáticas, 511
 - transportadoras, 69
 - translocadora, 209
- Proteintioles, 163
- Proteómica, 168, 351
- Protocolos,
 - de ensayo, 419
 - de ensayo estandarizados, 444
 - ambiental, 445
 - oficiales, 418
- Protoenzima, 145
- Protohaptenos, 199
- Protooncogenes, 331
- Proyectiles de uranio empobrecido, 44
- Prueba, 497

- Pseudoalergia, 201
 Psoralenos, 291
 Psoriasis, 291
 pT, concepto de, 39
 Ptomaínas, 4, 10, 139, 140
 Pubertad, ensayo de, 431
 PUFA, 157, 174, 177
 Pulmonar, 371
 Pulmones, 255, 482
 de acero, 228
 Punto de corte, 508
 Purificación de extracto,
 afectados por cáusticos y corrosivos, 547
 del extracto, 533
 intoxicado,
 por gases, 546
 por vía oral, 549
 PUVA, 291
- Quelantes, 394
 Quemadura solar, 290
 Queratinocitos, cultivos de, 425
 Quinasas dependientes de ciclina, 223
 Quinidina, 314, 321
 Quinina, 221, 312, 322, 326, 369
 Quinonas, 188, 192
 Quitasmaltes, 229
- Rabdomiolisis, 373, 559
 Radiaciones, 176, 220, 300, 317, 318, 321, 326
 ionizantes, 44, 221, 560
 no-ionizantes, 44
 solares, 291
 ultravioletas, 291
 Radical(es),
 libres, 163, 176
 en el medio biológico, 180
 nitroxilo, 178
 óxido nítrico, 189
 peroxinitrito, 189
 superóxido, 180
 triclorometilo, 187
 Radio, 219
 Radiofrecuencia, 45
 Radiolisis, 176
 Ramazzini, 7
 Rana, 431
 dorada, 1
 Rangos de toxicidad, 34, 35
 Ratón, 490
 Rayos PUVA, 220
 Raza, 344
 negra, 345, 349
 Reacción(es)
- adversa, 472
 alérgicas, 200, 202, 350
 inmediata, 200
 antígeno-anticuerpos, 199, 350
 coloreadas, 495, 502, 536
 con el ADN, 187
 cruzadas, 198
 de Haber-Weiss y Fenton, 180
 de oxidación-reducción, 119
 de reducción, 126
 de tipo inmediato, 197
 en cadena de la polimerasa (PCR), 166, 443
 estructura-actividad, 211
 hepatotóxicas, 267
 por óxido nítrico, 189
 radicalarias, 176, 177
 redox, 182
 suicida, 124
 REACH, sistema, 15, 444, 461
 Reactivos, 53
 electrófilos, 174
 nucleófilos, 174
 Receptor(es), 169, 204, 223
 acoplado a la proteína G, 205
 activados por los proliferadores de peroxisomas, 205
 adrenérgicos, 210
 Ahr, 205
 alfa, 241
 beta, 241
 constituyente activo, 306
 de andrógenos, 206, 306
 de arilhidrocarburos, 206, 208
 de cannabinoides, 208
 de dopamina, 210
 de esteroides, 304
 de estrógenos, 206, 305, 308
 de hidrocarburos aromáticos, 150
 de hormonas esteroides, 206
 de los opiáceos, 208, 210
 de membrana, 205
 de pregnano, 150, 206
 de serotonina, 210
 del glutamato, 210
 estudio de, 443
 huérfanos, 205
 inesperados, 205
 intracelulares, 205
 NMDA, 210
 nucleares, 205
 huérfanos, 306
 sensibilidad de los, 511
 solubles o nucleares, 205
 unidos a quinasas, 205
 Recesividad letal, ensayo de, 429
 Recompensa, 233
 Redes de laboratorios, 470
 Redistribución post mórtem, 77

- Reducción, reacciones de, 126
- Reflejo emético, 409
- Regaliz, 382
- Registro,
 - de nuevas sustancias, 407
 - de PedTox, 476
 - Nacional de Toxicólogos, 19
- Reglas de oro del tratamiento, 545
- Relaciones,
 - biológicas, 215, 216
 - cuantitativas estructura-actividad, 215, 443
- Reloj biológico, 361
- Reperusión, 184, 227
- Reproducción,
 - efectos sobre la, 430
 - toxicología de la, 429
- Reservorio, 73
 - de fármacos, 77
- Residuos tóxicos y peligrosos, 54, 55
- Resinas, 199, 200, 221, 303
 - de urea-formaldehído, 259
 - epoxi, 200
- Resistencia, 350
 - adquirida, 65
- Respiración celular, 180
- Respuesta, 37
 - toxicas, idiosincrásicas y alérgicas, 348
- Resultados,
 - analíticos,
 - interpretación de los, 512
 - variables, 505
 - negativo, 510, 519
- Retención,
 - corporal de los disolventes, 109
 - gases y vapores, 109
 - selectiva, 101
- Retículo endoplásmico, 149, 120, 264
- Retinol, 308
- Retinopatías, 324
- Retraso de su absorción, 370
- Retrovirales, 541
- Riesgo(s),
 - característica del, 463
 - caracterización del, 456
 - comunicación del, 460
 - ecológico, evaluación del, 459, 460
 - estimación del, 456
 - evaluación del, 451
 - laborales, 55
 - tóxico, 403
- Rifampicina, 373
- Rigor mortis*, 78
- Riñón, 272
- Ritmos,
 - biológicos, 355
 - circadianos, 343-344, 354, 357
 - fisiológicos, 355
 - psicológicos, 357
 - trastornos del, 312
- Rodanasa, 230
- Rotíferos, 432
- Ruido, 45, 323, 343
- Rumack-Matthew, nomograma de, 507
- Saggarah, papiro de, 2
- Salicilato, 506
- Salicílico, 220
- Saliva, 74, 76
- Salud/enfermedad, 352
- Sangre, 317
 - de cadáveres, 500
 - herbicidas en, 411
 - total, 498, 510
- Saxitoxina, 61, 221, 247, 551
- Scheele, 9
- Secuelas retardadas, 228
- Seguridad química, evaluación de la, 462
 - capacidad, 425
 - evaluación de la, 425
- Selenio, 181
- Semen, 302
- Sensación de dolor, 240
- Sensibilidad,
 - de los métodos y técnicas, 512
 - de los receptores, 511
 - por contacto, 287
- Sensibilización dérmica, 425
 - capacidad, 425
 - evaluación de la, 425
- Sensor de metales, 223
- Señales, 223
 - intracelulares, 169
- Separación,
 - de hidrocarburos, 523
 - de isómeros, 533
 - de tóxicos, 522
 - por inmunoadfinidad, 532
 - selectiva molecular, 532
- Serotonina, 200
 - recaptación de, 374
- Serotoninérgicas, 239
- Serpientes, 316
 - venenos de, 319
- Servicios,
 - análisis toxicológico, 470
 - de información, 471
 - toxicológico, 468, 476
 - de tratamiento de intoxicados, 471
 - de urgencias, 467
- Setas, 221, 480, 487
- Sexo genético, 297
- Shock anafiláctico, 201
- Siderosis, 262

- Signos, 405
 - clínicos, 479
 - de toxicidad, 416
- Sildenafil, 299
- Silicagel, 532
- Silicosis, 262
- Sililación, 536
- Similitud con el hombre, 410
- Sinapsis, 235
- Síndromes,
 - alcohólico fetal, 240
 - alimentario nocturno, 15
 - cardiovascular, 481
 - cutáneo, 481
 - de desincronización, 361
 - de eosinofilia-mialgia, XXI
 - de Guillain-Barré, 248
 - de intolerancia idiopática ambiental, 327
 - de irradiación aguda, 562
 - de la guerra del Golfo, 45
 - de sensibilidad química múltiple, 327
 - del aceite tóxico, XX, 203
 - del edificio enfermo o patógeno, 328
 - maligno por neuroléptico, 560
 - nefróticos, 275
 - neurales, 481
 - neuropsíquicos, 481
 - ocular, 481
 - oculomucocutáneo, 199
 - serotoninico, 560
 - veno-oclusivo, XIX, 261, 272
- Sinergia, 383
- Singulete de oxígeno, 178
- Síntesis proteica, 157
- Síntomas, 405, 479
 - clínicos, 481
- Sistema,
 - complemento, 200
 - inmunitario, 194
 - límbico, 233
 - nervioso,
 - autónomo, 233
 - central, 233, 552
 - periférico, 233
 - REACH, 444, 461
 - vegetativo, 233
- Sistemáticas,
 - analítica inorgánica, 525
 - analíticas químico-toxicológicas, 521
 - general para extracción de tóxicos orgánicos, 535
 - para gases y vapores, 523
 - para tóxicos orgánicos, 528
 - tóxicos inorgánicos, 525
- Situación psicosocial, 352
- Skinner, 436
- Smog, XVII
 - fotoquímico, XIX
- Sodio, canales de, 61, 312
- Soldadura eléctrica, 324
- Sonicación, 530
- Sordera precoz, 276
- Stas, 10, 53, 534
- Stas-Otto, fraccionamiento según, 534
- Sudor, 74
- Suero, 510
- Sufrimiento de los animales, 414
- Suicidio, 49
- Sulfadiazina, 369
- Sulfamidas, 277, 278, 294, 311, 320
- Sulfasalazina, 299
- Sulfohemoglobina, 231
- Sulfotransferasa, 137, 230
- Sulfuro de carbono, 247, 254, 261
- Sulpiride, 298, 299
- Sustancias,
 - apolares, 64
 - biológicas certificadas o de referencia, 536
 - certificadas, 509
 - conservadoras, 497
 - en los ensayos, normas para manejo, 451
 - ionizadas, 64
 - naturales, toxicidad de, 43
 - no ionizadas, 64
 - P, 240
 - peligrosas,
 - declaración de, 55
 - polares, 64
 - problema, 497
 - producción mundial de, 467
 - prohibidas a deportistas, 56
 - psicotrópicas, 53
 - químicas, toxicidad de, 41
 - tóxicas y peligrosas, 55
- Sustrato biológico, 408

- Tablas de correlación tioles, 175
- Taladrinas, 286
- Talidomida, XVII, 212, 299, 336
- Talio, 313
- Tamizado, 536, 538
 - métodos de, 538
- Taquicardias, 312
- Taquifilaxia, 207, 352
- Tardieu, 8
- TCDD, 152
- Técnicas, 508
 - analíticas instrumentales, 537
 - confirmativas, 536
 - cromatográficas, 534
 - electroanalíticas, 527
 - modernas, 511
 - orientativas, 536
- Teflón, 263

- Tejido,
 - adiposo, 73
 - graso, 73
 - nervioso, 73
- Tejo, 1
- Temblores, 220
- Temperatura ambiental, 342
- Teofilina, 374
- Teoría alostérica, 207
- Teratogénesis, 168, 330
- Teratógenos, 336, 337
- Terpenos, 151
- Terremotos, 342, 364
- Testosterona, 298, 299
- Tests,
 - de Ames, 427, 429
 - de carcinogénesis, 427
 - de genotoxicidad, 427
 - de la dominancia letal, 429
- Tétanos, 480
- Tetraciclinas, 220, 317
 - envejecidas, 275
- Tetracloroetileno, 136
- Tetracloruro de carbono, 151, 187, 192, 194271, 310, 320
- Tetradotoxina, 61
- Tetrahidropiridina, 253
- Tetramina, XXI
- Tetratilamonio, 314
- Tetrodotoxina, 247, 250, 314
- Tiempo,
 - de eritema, 293
 - de evolución, 32
 - de exposición, 33
 - de latencia, 32
 - de permanencia, 33
 - letal, 33
 - psíquico, 357
- Timo, 425
- Tinner, 253
- Tiocarbamatos, 124, 311
- Tiocinatos, 311
- Tioles reactivos, 190
- Tioridazina, 326
- Tiouracilo, 311
- Tiramina, 121, 377
- Tiroides, 311
- Tolerancia, 148, 207, 352
 - cruzada, 352
 - oral, 198
- Tolueno, 155, 323
- Toluidina, 214
- Topoisomerasa, 165
- Tormenta, 364
- Toronja, 381
- Toxicidad, 33
 - aguda, 406, 414, 419
 - métodos de evaluación, 422
 - basal, 406
 - circadiana, 362
 - crónica, 414
 - estudios de, 426
 - de gases de guerra, 455
 - de sustancias,
 - naturales, 43
 - químicas, 41
 - en pez, 432
 - intrínseca, 404
 - mecanismos de, 162, 170
 - métodos regulados, 428
 - por dosis repetidas, 414, 425
 - selectiva, 204, 241
 - sistémica, 60
 - subaguda, 425
 - subcrónica, 414, 425
- Toxicocinética, 60, 79
 - aplicaciones de la, 82
 - ejercicios prácticos de, 112
 - estudios de, 433
 - factores que afectan a la, 110, 111
 - métodos regulados, 428
 - y farmacocinética, diferencias entre, 82
- Toxicodinámica, 60
- Toxicogenética, 16, 351, 329
- Toxicogenómica, 16, 351
- Toxicología,
 - actual, 17
 - ambiental, 14, 432
 - analítica, 8, 493
 - basada en la evidencia, 404
 - clínica, 12, 467, 468
 - de la reproducción, 301, 429
 - de sistemas, 17
 - del desarrollo, 301, 430
 - docencia en, 18
 - experimental, 404
 - farmacéutica, 15
 - formación en, 18
 - forense, 11, 19
 - general, 19
 - independiente, 18
 - industrial, 13
 - judicial, 11
 - mecanicista, 16
 - molecular, estudios de, 443
 - reguladora, 15, 407
 - venenos, 21
- Toxicólogos, 18
 - acreditación de, 19
 - registro nacional de, 19
- Toxicometría, 60
- Tóxicos, 21, 22
 - de acción,
 - local, 59
 - sistémicos, 59
 - gaseosos o volátiles, 500

- inorgánicos, sistemáticas para, 525
- orgánicos, 226
 - sistemática general para extracción de, 535
 - sistemáticas para, 528
- pulmonares, 263
- sistémicos, 42
- sobre el medio ambiente, 432
- Toxicovigilancia, 473
- Toxiinfecciones, 49
- Toxinas, 48, 51, 319
 - amnésica, 49, 250
 - bacterianas, 219, 220
 - botulínica, 221, 249, 256
 - del mejillón, 250
 - diarreicas, 49
 - DSP, 250
 - paralizantes, 49
 - PSP, 250
 - tetánica, 221, 239,
- Trabajadores, protección de los, 458
- Trabajos nocturnos, 359
- Transaminasas, 266
- Transducción, 150
- Transferrina, 70
- Transportadores, 61
 - de aniones orgánicos, 65
 - de cationes orgánicos, 65
 - transporte activo, 61
- Trastornos,
 - del ritmo, 312
 - psiquiátricos, 559
- Tratamiento sintomático, 557
- Traumatismo torácico, 506
- Trazabilidad, 518
- Trébol, 301
 - enfermedad del, XVI
- Tres erres, 443, 437, 510
- Triaje, 562, 563
- Triarilfosfatos, 310
- Tributilestaño, 192, 194, 254, 302, 484
- Trietilestaño, 254
- Trimetoprim, 317
- Triortocresilfosfato, XVI, XVII , 247,251, 252
- Trióxido de arsénico, 167
- Triptófano, XX
- Trombocitopenia, 317
- Tropismo, 222
- Tubo digestivo, 295
- Tumores, 331, 342
 - cutáneos, 284
- Ultrasonidos, 293
 - baño de, 530
- Umbral,
 - de efecto, 457
 - de la positividad, 509
 - de toxicidad, 457
- Unidades,
 - de bebida, 382
 - de medida, 518
 - hospitalarias, 476
- Unión Europea, métodos de ensayo, 445
- Unión fármaco-receptor, 206
- Uñas, 73
- Uranio empobrecido, 329
- Uretano, 270
- Urticarias
 - alérgica sistémica por contacto, 289
 - de contacto, 289
 - físicas, 288
 - por picaduras de insectos, 289
- Útero, ensayo *in*, 431
- Vaciamiento gástrico, 369
- Vaina de mielina, 247
- Valores,
 - aproximados de pKa, 68
 - guía en el agua, 460
 - límites,
 - ambientales, 460
 - indicativos, 460
- Vapores metálicos, 220
- Variabilidad interindividual, 110
- Vasculitis, 224
- Vasculopatías, 224, 251
- Vasoconstrictores, 312
- Vasodilatadores, 229, 312
- Vasopermeabilizantes, 312
- Velocidad,
 - de absorción, 353
 - metabólica, 409
- Venenos, 22, 52
 - de peces, 1
 - de reptiles, 1
 - de serpientes, 1, 319
 - de víboras, 1
 - del Estado, 3
 - vegetales, 2
- Ventilación,
 - alveolar, 105
 - artificial, 556
- Verapamilo, 314
- Veratridina, 313
- Vertidos, 432
 - industriales, 48
- Vesicantes, 50
- Vesícula biliar, 409
- Vías,
 - de absorción, 60
 - de entrada de senobióticos, 60
 - de experimentación, 413
 - dérmica, 414, 423
 - intramuscular, 413
 - intra-peritoneal, 413

Vida media, 85
 de eliminación, 97
Viomicina, 323
Vísceras, 499
Vitamina,
 A, 309, 327, 336
 E, 326
Vitrocerámica, 45
Voltimetría, 527
 de gota desnuda, 527
Volumen de distribución, 94
Vómito, 553
 centro del, 296
Wagner, diagrama de, 97
Warfarina, 371
Wilson, enfermedad de, 70

Xenobióticos, 21, 33
Ximénez de Lorite, 7

Yerba de las ballestas, 1
Yohimbina, 220, 300
Yperita, XVI

Zanahoria, 301
Zanger, 12
Zearalenona, 301

