



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

“ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA DETECCIÓN DE  
CADMIO, MERCURIO Y PLOMO COMO RESIDUOS  
CONTAMINANTES EN PERROS”

**PAMELA DEL CARMEN MUÑOZ ÁVILA**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas

**PROFESOR GUÍA: DRA. ALICIA VALDÉS OLGUÍN**

**SANTIAGO, CHILE  
2007**



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**“ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA DETECCIÓN DE  
CADMIO, MERCURIO Y PLOMO COMO RESIDUOS  
CONTAMINANTES EN PERROS”**

**PAMELA DEL CARMEN MUÑOZ ÁVILA**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL: .....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : DRA. ALICIA VALDÉS OLGUIN	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO: DRA. BETTY SAN MARTIN	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO: MARCO GALLEGUILLOS	.....	.....

**SANTIAGO, CHILE**  
**2007**

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>Página</b>
<b>Índice de Contenidos</b>	<b>I</b>
<b>Resumen</b>	<b>II</b>
<b>Summary</b>	<b>III</b>
<b>Índice de Ayudas Ilustrativas</b>	<b>IV</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Revisión Bibliográfica</b>	<b>3</b>
2.1 Cadmio	5
2.2 Mercurio	15
2.3 Plomo	24
2.4 Niveles de cadmio, mercurio y plomo en tejidos	35
<b>3. Objetivos</b>	<b>40</b>
3.1 Objetivo General	40
3.2 Objetivos Específicos	40
<b>4. Material y Método</b>	<b>41</b>
4.1 Material	41
4.2 Método	42
<b>5. Resultados y Discusión</b>	<b>47</b>
<b>6. Conclusión</b>	<b>60</b>
<b>7. Recomendaciones</b>	<b>61</b>
<b>8. Bibliografía</b>	<b>62</b>

## RESUMEN

En el presente estudio se investigó la presencia y concentración de cadmio, mercurio y plomo en perros, como potenciales individuos centinelas de la exposición de sus propietarios a estos metales pesados. Se recolectaron muestras de pulmón, hígado, riñón y hueso de 10 cadáveres enviados al servicio de cremación del Laboratorio de Patología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. No se discriminó por origen, raza, sexo, edad ni causa de muerte. Las muestras fueron procesadas y analizadas a través del método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por horno de grafito, para la detección de cadmio y plomo, y de Espectrofotometría de Absorción Atómica por vapor de frío, para la detección de mercurio.

El 50% de las muestras de pulmón resultaron positivas a cadmio, 10% resultó positiva a mercurio y ninguna lo fue a plomo. El 100% de las muestras de hígado fueron positivas a cadmio, 10% fue positiva a mercurio y el 40% lo fue a plomo. El 100% de las muestras de riñón fueron positivas a cadmio, 20% a mercurio y ninguna a plomo.

En términos generales, el 100% de los perros fue positivo a cadmio, 40% a plomo y 30% a mercurio.

Los resultados obtenidos, indican que estos tres metales se estarían incorporando en los organismos, siendo las muestras de hígado las que mejor representarían este grado de contaminación por metales.

## SUMMARY

In the present study, it was detected the presence and concentration of cadmium, mercury and lead in dogs, as potential model of the presence of those heavy metals in their human owners. Lung, liver, kidney and bone samples were collected from 10 dogs died by different reasons and received by the Pathology Laboratory at the School of Veterinary Medicine, University of Chile. The dogs were not selected by origin, breed, sex or age. All the tissue samples were analyzed for cadmium and lead by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry, and for mercury by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometry.

In the lung samples, 50% was positive to cadmium, 10% was positive to mercury and none to lead. In the liver samples, 100% was positive to cadmium, 10% was positive to mercury and 40% was positive to lead. In the kidney samples, 100% was positive to cadmium, 20% was positive to mercury and none to lead.

In general terms, 100% of the dogs were positives to cadmium, 40% to lead and 30% to mercury.

Since these results, the above 3 heavy metals are accumulating in canine body tissues, and the liver samples might represent in a better way the heavy metal contamination levels.

# ÍNDICE DE AYUDAS ILUSTRATIVAS

		<b>Página</b>
<b>TABLAS</b>		
Tabla N°1	Concentraciones utilizadas en la curva de calibración.	46
Tabla N°2	Concentración en ppb de Cadmio, Mercurio y Plomo en muestras de pulmón de los individuos estudiados.	49
Tabla N°3	Concentración en ppb de Cadmio, Mercurio y Plomo en muestras de hígado de los individuos estudiados.	52
Tabla N°4	Concentración en ppb de Cadmio, Mercurio y Plomo en muestras de riñón de los individuos estudiados.	54
Tabla N°5	Detección de Cadmio, Mercurio y Plomo en los individuos estudiados.	58
Tabla N°6	Distribución de frecuencia de muestras de pulmón, hígado y riñón de la población en estudio que fueron positivas a Cadmio, Mercurio y Plomo.	59
<b>GRÁFICOS</b>		
Gráfico N°1	Porcentaje de individuos positivos a Cadmio, Mercurio y Plomo	58
Gráfico N°2	Número de individuos positivos a Cadmio, Mercurio y Plomo según tejido.	59

# 1. INTRODUCCIÓN

Debido al crecimiento demográfico e industrial, el aire de Santiago es uno de los más contaminados del mundo, exponiendo día a día a las personas y sus mascotas a la acción de diversos agentes nocivos. Adicionalmente, en ambientes urbanos, la población general está sometida a una contaminación generada dentro de los hogares. Ésta se origina por variados procesos de combustión (calefacción, cocinas, humo del tabaco), y por una continua exposición a partículas nocivas, presentes en objetos y estructuras domiciliarias.

Como parte de estos contaminantes encontramos a los metales pesados, los cuales si bien incluyen varios elementos que son esenciales para el crecimiento, reproducción y/o supervivencia de los seres vivos; muchos pueden ser perjudiciales.

Actualmente, existen medidas que buscan controlar el nivel de exposición a partículas de metales pesados. Una de ellas es la norma sobre el nivel de calidad primaria anual para plomo en el aire, aprobada por el Consejo Ejecutivo de la Comisión Nacional de Medio Ambiente (CONAMA). La razón de esto es que este metal ha sido definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un contaminante del aire clásico. Otra medida es la ejecución del Programa de Residuos de Productos Pecuarios de Exportación, diseñado por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), el cual controla residuos de mercurio, plomo, cadmio y arsénico en carne de aves, bovinos, cerdos y ovinos. A pesar de las medidas mencionadas y otras, la liberación de estos elementos continúa al ser ellos parte integrante de baterías, termómetros, medicamentos, computadoras, teléfonos celulares, etc.

No obstante el conocimiento que se tiene acerca de la continua exposición a metales pesados y de sus efectos nocivos para la salud es bajo, existiendo poca información sobre qué está ocurriendo con la población general.

Este estudio busca ser el primer paso para determinar la presencia de metales pesados en perros, como una forma de monitorear la situación actual. Es importante señalar que la presencia de estos elementos en nuestras mascotas indica la probabilidad de que ellos también se estén acumulando en la población humana.

Debido a las similitudes en sus interacciones bioquímicas, y a que se encuentran entre los metales más prevalentes en el medio ambiente, se estudiará la presencia de Cadmio, Mercurio, y Plomo, en muestras de tejidos de perros obtenidas a través de necropsia.



## 2. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

Desde la corteza terrestre se liberan numerosos elementos inorgánicos conocidos como minerales. Algunos de ellos, tienen roles nutricionales y bioquímicos esenciales para la salud y productividad animal; mientras que otros, al no tener función biológica conocida son considerados contaminantes. Sin embargo, todos pueden generar efectos adversos en los animales, cuando la cantidad en la dieta o agua es excesiva (NRC, 2005).

Dentro de los minerales, se consideran metales pesados a aquellos cuyo número atómico es superior a 20. Estos se dividen en dos grupos:

- Oligoelementos: necesarios en pequeñas cantidades para el ciclo de vida de plantas y animales (arsénico, boro, cobalto, cromo, cobre, molibdeno, manganeso, níquel, selenio y zinc).
- Elementos altamente tóxicos: sin función biológica conocida (principalmente: cadmio, mercurio, plomo, antimonio, bismuto) (García y Dorronsoro, 2006).

Los metales, como elementos naturales, han desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de las civilizaciones. El problema radica en la creciente proliferación de su uso industrial y doméstico, responsable en algunas circunstancias de la degradación y muerte de vegetación, ríos, animales e incluso, de daños directos en el hombre (Anon, 2001).

La exposición puede darse frente a una gran variedad de fuentes, entre las que se encuentran:

- Actividades humanas: fábricas de hierro y acero, minería y fundición, combustión de carbón y petróleo, productos agrícolas y lodos residuales, residuos domésticos, baterías, etc.

- Aguas superficiales, profundas y potables: contaminadas por desechos industriales y pesticidas, entre otros.
- Alimentos: productos de origen animal y vegetal, suplementos minerales, errores en la formulación o manufactura de dietas; o contaminación durante almacenamiento y transporte.
- Suelos y plantas: contaminadas por eliminación de desechos municipales y otros biosólidos a tierras (NRC, 2005; García y Dorronsoro, 2006).

La peligrosidad de los metales pesados se debe a que ellos no son química ni biológicamente degradables y, una vez emitidos pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años. En los seres vivos, su concentración aumenta a medida que éstos son ingeridos por otros, es decir, la ingesta de plantas o animales contaminados puede provocar síntomas de intoxicación (Anon, 2001).

Los efectos tóxicos se generan a través de diversos medios. Algunos metales, causan daño oxidativo de macromoléculas, a través de reacciones redox o desactivando moléculas antioxidantes o enzimas. Otros metales producen disturbios ácido-base, electrolíticos o antagonizan minerales nutricionalmente esenciales (NRC, 2005).

Las consecuencias orgánicas dependen del grado de exposición y van, desde cambios sutiles en procesos homeostáticos; alteraciones en el crecimiento y reproducción; hasta patologías específicas a cada metal y la muerte. La toxicidad generada es dependiente de la forma química de cada metal, de su absorción entérica, metabolismo, niveles de otros minerales en la dieta o agua, cantidad consumida, especie y estado fisiológico del animal (NRC, 2005).

Los Individuos son más sensibles al daño durante el desarrollo embrionario, crecimiento y en períodos de estrés. Se hacen más tolerantes a medida que incrementan su edad, debido a un mayor desarrollo de sus mecanismos homeostáticos. Sin embargo, algunos minerales no son fácilmente excretados, acumulándose y resultando en efectos tóxicos en individuos seniles (NRC, 2005).

Dentro de los metales pesados altamente tóxicos, definidos así por no cumplir funciones nutricionales en los organismos vivos, encontramos entre los más prevalentes a cadmio, mercurio y plomo (NRC, 2005).

## **2.1 Cadmio**

El cadmio es un elemento natural metálico, componente de la corteza terrestre, que se encuentra escasamente distribuido en el medio ambiente. Su presencia natural resulta principalmente de la erosión de rocas, abrasión y de fenómenos particulares como las erupciones volcánicas (SESMA, 2002). Sus rangos normales de concentración van de 0,1 a 1 mg/Kg (ppm) en la corteza terrestre y de 1 µg/L en aguas superficiales o profundas (NRC, 2005). Las propiedades físicas y químicas del cadmio son muy similares a las del Zinc, y con frecuencia coexiste con este metal en la naturaleza (Nordberg, 2001).

### **Fuentes de contaminación**

Las fuentes de contaminación, especialmente en ciudades, son habitualmente las actividades industriales y mineras (Galvao y Corey, 1987). Su aplicación industrial fue desarrollada durante la primera mitad del siglo XX (SESMA, 2002). Tornillos, tuercas, pestillos y diversas partes de aviones y vehículos son tratados con cadmio, con el fin de protegerlos de la corrosión. Las

baterías portátiles recargables de cadmio se utilizan en teléfonos móviles y ciertos compuestos de este metal se usan como pigmentos o estabilizadores de plásticos (Nordberg, 2001).

Existen diversas sales de cadmio, siendo la más importante el estearato de cadmio que se utiliza como estabilizador térmico en los plásticos de PVC. Otras sales de cadmio son: sulfuro de cadmio en fotografías, sulfoselenurio de cadmio, en pigmentos; cloruro de cadmio en fungicidas, componente de baños galvanoplásticos, colorantes de pirotecnias y como aditivo en soluciones de estaño; y el óxido de cadmio utilizado en endurecimiento de cristales y vitrificado de cerámicas (Nordberg, 2001).

Otras fuentes de importancia son la incineración de residuos, la combustión de carburantes fósiles y el uso de fertilizantes fosfatados. La aplicación de abonos, lodo, aguas residuales y fertilizantes pueden enriquecer suelos, acumulando el metal en las plantas, especialmente las que crecen en suelos ácidos de alta biodisponibilidad (NRC, 2005).

La población general se encuentra expuesta a través de los alimentos y el cigarrillo (Baker *et al.*, 2002). Aproximadamente un 70% de todo el cadmio en el organismo proviene de lo que consumimos, porcentaje que se modifica en personas fumadoras, en las que el cadmio que entra por vía respiratoria (procedente del tabaco) es también importante (Vallespin *et al.*, 1999).

El cadmio está presente en mayor o menor grado en todos los alimentos. En general, la concentración es baja, siendo los productos de origen vegetal los que presentan los niveles más altos (no suelen superar los 200 ppm de peso fresco). En carnes y pescados, principalmente salmón, los niveles son del orden

de 50 ppm y, en huevos y productos lácteos estos son mucho menores (Vallespin *et al.*, 1999; NRC, 2005).

Sin embargo, algunos alimentos pueden contener concentraciones excepcionalmente altas, como los órganos internos de animales de abasto (principalmente hígado y riñones). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció 1 µg de Cadmio/Kg como límite superior, en la dieta completa de animales. Esto, como una medida para prevenir altos niveles del metal en productos alimenticios, ya que la fuente más importante en estos animales, son los suplementos minerales (Vallespin *et al.*, 1999; NRC, 2005).

Los champiñones y algunas setas también pueden contener niveles altos de cadmio y, en crustáceos y moluscos se pueden encontrar concentraciones superiores a 1 ppm (Vallespin *et al.*, 1999).

Se debe prestar especial atención en bebés y niños que basan su dieta en leche y productos lácteos. Aunque estos productos también tienen una concentración relativamente baja, son la principal fuente para este grupo poblacional, pudiendo incluso sobrepasar la dosis semanal de cadmio propuesta por la OMS. Además, se ha observado que la absorción de metales pesados es mayor en lactantes, posiblemente debido a una mayor permeabilidad de la barrera intestinal en esta etapa (Vallespin *et al.*, 1999).

En Chile, pescados y mariscos contienen los niveles más altos de concentración de cadmio (277 ppb o ng/g peso húmedo), seguido de condimentos (79 ppb peso húmedo) y cereales (17 ppb peso húmedo). Estos aportan a la dieta un consumo de 9,2 µg/día, 3 µg/día y 1,4 µg/día de cadmio respectivamente. La Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación, y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) recomiendan

un consumo semanal tolerable de cadmio de 7  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de peso húmedo, equivalente a 68  $\mu\text{g}/\text{día}$  para un adulto de 68 Kg. En Santiago, el consumo de cadmio es un 29% del valor recomendado y consecuentemente no representa un riesgo para la salud pública (Muñoz *et al.*, 2005).

## **Metabolismo**

El cadmio ingresa al organismo principalmente por inhalación o ingesta. La absorción dérmica es relativamente insignificante, a menos que se deba a una exposición prolongada (NRC, 2005).

Parte de las partículas inhaladas ascienden por acción de los cilios hacia el esófago y se absorben parcialmente en el tracto digestivo. Las restantes, llegan hasta los alvéolos, se absorben y pasan a la sangre (Galvao y Corey, 1987). Se estima que entre un 20 a un 50% del polvo de cadmio respirable inhalado es absorbido (Nordberg, 2001). El resto de las partículas se depositan en el árbol respiratorio (Galvao y Corey, 1987).

La absorción gastrointestinal del cadmio ingerido es de aproximadamente un 2 a 6% en condiciones normales. En personas con bajas reservas de hierro, esta absorción aumenta hasta un 20% de la dosis administrada (Nordberg, 2001). La absorción ocurre primordialmente en duodeno y yeyuno proximal. Altas dosis alteran las uniones celulares estrechas o “tight junctions” entre los enterocitos, perjudicando la función de la barrera epitelial. La absorción disminuye frente a una exposición crónica, debido aparentemente a la inducción de mecanismos protectivos (NRC, 2005).

En la sangre, el cadmio es transportado primariamente por la albúmina, bajas cantidades se encuentran en globulinas, cisteína, glutatión o

directamente en células. Se distribuye en todo el cuerpo, alcanzando altas concentraciones en hígado y riñones (NRC, 2005).

Inicialmente, el cadmio es transportado hacia el hígado, en donde se inicia la producción de una proteína de bajo peso molecular que se une al cadmio, la metalotioneína. Se considera que un 80 a 90% de la dosis total de cadmio que ingresa al organismo, se encuentra unido a esta proteína, evitando que ejerza su efecto tóxico. El complejo metalotioneína-cadmio se filtra a través de los glomérulos, y luego es reabsorbido por las células de los túbulos proximales. En estas células, enzimas específicas degradan la proteína y liberan el cadmio. Los iones libres estimulan una nueva síntesis de metalotioneína, protegiendo a las células de los efectos tóxicos del cadmio. Se piensa que cuando se supera la capacidad de producción de la metalotioneína en las células de los túbulos, se produce la insuficiencia renal (Nordberg, 2001).

Los riñones y el hígado contienen cerca del 50% de la carga total del cuerpo (NRC, 2005). La concentración de cadmio en la corteza renal, antes de que se produzcan lesiones renales, es 15 veces superior a la hepática (Nordberg, 2001). Los riñones son el sitio de mayor producción de metalotioneína, y consecuentemente de acumulación de cadmio (NRC, 2005).

Otros órganos que acumulan cadmio son los músculos, páncreas, glándulas salivales y sistema nervioso central; este último con muy bajas concentraciones. El cadmio atraviesa la barrera placentaria en menor grado que otros metales, se acumula en ella, y al llegar a su punto de saturación existirá paso transplacentario al feto (Galvao y Corey, 1987).

La excreción de cadmio es a través de orina y fecas. Su eliminación es muy lenta, lo que lleva a una acumulación en el organismo, aumentando su

concentración con la edad y tiempo de exposición (NRC, 2005). Considerando la concentración en un mismo órgano a distintas edades, se estimó que la vida media del cadmio en el hombre oscila entre 7 y 30 años (Nordberg, 2001). En perros de raza Beagle, expuestos a dietas conteniendo cadmio en proporciones de 1, 3, 10 ó 50 mg/Kg, la vida media fue de 1 a 2 años (NRC, 2005).

## **Toxicidad**

Los efectos tóxicos son causados por los iones libres de cadmio. El mecanismo específico, varía dependiendo de la concentración del metal y tipo de célula; pero generalmente se basa en alteraciones a nivel redox y a su similitud estructural con el zinc, calcio y otros cationes bivalentes. La actividad redox del cadmio reduce antioxidantes, causa estrés oxidativo, aumenta la peroxidación de lípidos y altera la composición de membrana. También, afecta la función glomerular por depleción polianiónica e interfiere con la carga de membrana. Las mitocondrias son especialmente susceptibles al cadmio, el cual se une a los grupos tiol de las proteínas de membrana del organelo, alterando su función, lo que resulta en una depleción de adenosin trifosfato (ATP) y necrosis celular (NRC, 2005).

El cadmio desplaza al zinc y otros metales de sus sitios activos en las metaloproteínas, alterando su arquitectura y función. Al interferir con el zinc, transcribe factores inductores de apoptosis. También tiene efectos estrogénicos, causando alteraciones reproductivas y acelerando la pubertad en mamíferos. El cadmio puede permanecer y bloquear canales de calcio, aumentando el calcio libre en la célula, y causando daño en funciones celulares específicas (NRC, 2005).



Las manifestaciones clínicas de las intoxicaciones con este metal pueden ser agudas o crónicas. En la población general, salvo en situaciones de accidentes o contaminaciones masivas, las intoxicaciones suelen ser de carácter crónico (Galvao y Corey, 1987).

#### Manifestaciones agudas

La inhalación e ingesta de altas cantidades de cadmio determina la aparición de una sintomatología no muy bien definida. La inhalación de aire que contenga compuestos con cadmio a una concentración mayor a  $1 \text{ mg/m}^3$  durante 8 horas, ó en concentraciones superiores por periodos más cortos, puede producir fiebre, alteraciones digestivas, dolor torácico, disnea y, en los casos graves edema pulmonar agudo. La muerte puede sobrevenir después de 4 a 7 días (Galvao y Corey, 1987; Nordberg, 2001).

La ingesta de bebidas o alimentos contaminados con cadmio en concentraciones superiores a  $15 \text{ mg/Kg}$  producen náuseas, vómitos, dolores abdominales, cefalea y en muchos casos una diarrea intensa (Galvao y Corey, 1987; Nordberg, 2001).

#### Manifestaciones crónicas

La exposición repetida a niveles excesivos de cadmio contenido en polvo, humo, o en fábricas, puede provocar efectos irreversibles en riñones e hígado, enfisema pulmonar y reducción de la capacidad pulmonar (Nordberg, 2001; NRC, 2005).

El cadmio, como constituyente del cigarrillo, es parte importante del desarrollo de cuadros cardiovasculares y de enfisema pulmonar. Este metal

afecta en forma directa a fibroblastos, disminuyendo su proliferación y comprometiendo procesos de reparación del tejido conectivo. El estrés oxidativo, la estimulación de células inflamatorias, el daño endotelial (por una baja en la regulación de óxido nítrico) y la disfunción renal inducida por cadmio, son mecanismos que lo implican en el desarrollo de aterosclerosis, principalmente a nivel arterial periférico (Liu *et al.*, 2000; Navas-Acien *et al.*, 2004).

De todos los órganos afectados por una exposición crónica, los riñones y el hígado son los más comprometidos, en la mayoría de las especies. Usualmente, la nefrotoxicosis es la primera patología en manifestar signos clínicos. Los iones de cadmio causan daño en las células de los túbulos proximales y fibrosis intersticial de la corteza renal (lugar donde se acumulan), resultando en proteinuria, aminoaciduria, glucosuria y poliuria. El aumento en la eliminación de calcio y fósforo altera el metabolismo óseo, y es común encontrar cálculos renales. En perros, las células mesangiales de los glomérulos también pueden llegar a necrosarse, disminuyendo la tasa de filtración glomerular (Nordberg, 2001; NRC, 2005).

Se ha informado de osteomalacias ligeras ante exposiciones crónicas a cadmio. Lo que puede deberse a efectos directos en la matriz ósea, por estimulación de una remodelación anormal del hueso o, secundariamente a una disminución en la absorción de calcio y fósforo. En Japón, se han producido casos de la enfermedad de “itai-itai”, un tipo de osteomalacia dolorosa, con múltiples fracturas e insuficiencia renal, donde el cadmio se considera un factor etiológico específico (Galvao y Corey, 1987; Nordberg, 2001; NRC, 2005).

Los cambios histopatológicos hepáticos, inducidos por una exposición crónica a cadmio, incluyen fibrosis intralobular, cirrosis con infiltración mononuclear focal y proliferación de retículo endoplásmico liso (NRC, 2005).

La anemia es uno de los primeros cambios detectables en la intoxicación, la que se debe a una disminución de la hematopoyesis, o secundariamente a una disminución en la absorción de hierro. También es posible encontrar casos de infertilidad, necrosis pancreática e inmunodeficiencia (Galvao y Corey, 1987; Nordberg, 2001; NRC, 2005).

Los niveles máximos tolerables se definen como niveles dietarios, que al ser consumidos por un periodo de tiempo definido, no afectan la salud ni el rendimiento del individuo. Por ejemplo, perros alimentados con dietas conteniendo 1, 3, 10 y 30 mg de clorhidrato de cadmio/Kg por tres meses, fueron clínicamente normales y no presentaron evidencias histopatológicas de daño hepático ni renal. Sin embargo, perros alimentados con 50 mg/Kg durante 8 años, presentaron atrofia renal. Los perros serían capaces de tolerar hasta 10 mg/Kg de cadmio en la dieta, por 8 años (NRC, 2005).

## Cáncer

En humanos expuestos al cadmio en forma ocupacional, se ha identificado un aumento en los casos de cáncer pulmonar. Sin embargo, los casos de cáncer en humanos expuestos a altos niveles de cadmio en su dieta, no han sido epidemiológicamente documentados. Por otra parte, se sospecha que el cadmio está relacionado con algún tipo de cáncer del aparato reproductor masculino, aunque la continua observación de trabajadores expuestos no ha permitido demostrar un aumento del cáncer de próstata. En 1993, luego de una evaluación del riesgo de cáncer derivado de este metal, la

Agencia Internacional para Investigación sobre el Cáncer (IARC), clasificó al cadmio como cancerígeno en humanos. Esto se debe a sus efectos en la diferenciación, proliferación y muerte celular, a la activación de protooncogenes y a la inhibición de la reparación y metilación de DNA (Nordberg, 2001; NRC, 2005).

## Tratamiento

Frente a la ingesta de sales de cadmio, se debe inducir vómito o realizar un lavado gástrico. Si la exposición fue por inhalación, es necesario retirar al individuo del área contaminada y otorgar oxígeno en casos graves. No hay un tratamiento específico, debiendo aplicarse medidas sintomáticas. La aplicación de antidotos como el dimercaprol (BAL) o la sal sódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), aumentan de manera importante la cantidad de cadmio en los riñones, por lo cual están altamente contraindicados (Nordberg, 2001; NRC, 2005).

El uso de vitamina D, calcio y fósforo, en dosis utilizadas para tratar insuficiencias vitamínicas, ha tenido efectos favorables en el tratamiento de casos crónicos de intoxicación por cadmio (Galvao y Corey, 1987).

## **Métodos de detección**

Los niveles de cadmio en alimentos y tejidos son comúnmente medidos por Espectrofotometría de Absorción Atómica o por Espectroscopía de Emisión Atómica. Ambos métodos son suficientemente sensibles para monitorear niveles asociados a toxicosis. La Espectrofotometría de Absorción Atómica puede detectar niveles de cadmio de aproximadamente 10 µg/Kg (NRC, 2005).

## **2.2 Mercurio**

El mercurio es un elemento que se encuentra en la corteza terrestre en un promedio de 80 µg/Kg. Su liberación natural a la atmósfera proviene principalmente de volcanes, volatilización de superficies terrestres y oceánicas, degradación de minerales e incendios forestales. Como estas emisiones se encuentran fuera del control humano, son consideradas como parte del ambiente (PNUMA, 2005).

Existe una gran variedad de formas de mercurio. En su forma pura, se lo conoce como mercurio “elemental” o “metálico” (Hg). Como mercurio monovalente ( $\text{Hg}^+$ ) o bivalente ( $\text{Hg}^{2+}$ ) tiene la capacidad de enlazarse, y es a partir del  $\text{Hg}^{2+}$  que se pueden formar numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos (NRC, 2005; PNUMA, 2005).

Algunos de los compuestos inorgánicos o sales de mercurio son: sulfuro de mercurio II ( $\text{HgS}$ ), óxido de mercurio II ( $\text{HgO}$ ) y cloruro de mercurio II ( $\text{HgCl}$ ). Cuando este metal se combina con carbono, se forman los compuestos “orgánicos” de mercurio u organomercuriales (dimetilmercurio, fenilmercurio, etilmercurio y metilmercurio); siendo el más conocido de todos el metilmercurio. Varias de estas formas se dan de manera natural en el medio ambiente, y ciertos microorganismos y procesos naturales pueden hacer que pasen de una forma a otra (NRC, 2005; PNUMA, 2005).

El metilmercurio puede formarse a través de procesos bióticos y abióticos. Sin embargo, su formación en la naturaleza se debería especialmente a procesos mediados por microorganismos. En la actualidad, no se conocen fuentes antropogénicas directas de metilmercurio, aunque antiguamente las hubo. Es el caso del envenenamiento por metilmercurio en la bahía de

Minamata en el año 1950, cuando se vertieron en ella subproductos orgánicos de mercurio, resultantes de la producción industrial de acetaldehído. También se conocen casos de envenenamiento en Irak, debido a que semillas de trigo utilizadas para preparar pan, habían sido tratadas con recubrimiento fitosanitario a base de compuestos inorgánicos de mercurio (PNUMA, 2005).

### **Fuentes de contaminación**

Ciertas actividades humanas contribuyen con la liberación de mercurio al medio ambiente. Entre éstas, se encuentran la quema de carburantes fósiles, la producción de acero, cemento y fosfato; plantas de cloro-álcali; minas de oro y mercurio; utilización de pesticidas, alguicidas, fungicidas y herbicidas; entre otras (Nordberg, 2001; PNUMA, 2005).

En el medio ambiente, el mercurio es capaz de acumularse en los organismos. La metilación del mercurio inorgánico (metilmercurio) por parte de bacterias presentes en el sedimento acuático, es el punto límite en el paso del mercurio a la cadena alimentaria (NRC, 2005; PNUMA, 2005). Todas las formas del metal pueden llegar a acumularse, pero por lo general en menor cantidad y con menor eficiencia que el metilmercurio; y a modo de ejemplo en los peces el 100% del mercurio que se bioacumula es metilmercurio (PNUMA, 2005).

La biomagnificación del metal es lo que más incide en los efectos tóxicos para animales y seres humanos. En peces, forma enlaces covalentes con grupos sulfidrilo proteínico de los tejidos, siendo la eliminación del metilmercurio muy lenta, con una vida media aproximada de dos años. En peces expuestos a concentraciones ambientales constantes, los niveles de mercurio tienden a aumentar con la edad, como consecuencia de su lenta eliminación y a una

mayor ingesta debido a los desplazamientos en los niveles tróficos, que ocurren a medida que el pez crece (PNUMA, 2005).

La población humana y animal está expuesta al consumo de altos niveles de mercurio contenido principalmente en los alimentos, y a la utilización de formas del metal en actividades médicas. El consumo de peces y la utilización de amalgamas dentales son las principales fuentes responsables de la concentración de mercurio en personas (Barregard *et al.*, 1999; PNUMA, 2005). Asimismo, el uso de cremas y jabones para aclarar la piel, timerosal (etilmercurio) como preservante en algunas vacunas y productos farmacéuticos (diuréticos, anticonceptivos, etc), la presencia del metal en los hogares (interruptores, baterías, pinturas, etc.) y lugares de trabajo (fábricas de termómetros, clínicas dentales, etc.), pueden aumentar sustancialmente la exposición humana (Nordberg, 2001; PNUMA, 2005).

Una variedad de medicamentos basados en mercurio son utilizados por médicos veterinarios, principalmente como antisépticos. La aplicación dérmica excesiva o el consumo accidental de estos productos puede resultar en toxicosis en animales (NRC, 2005). En perros, una fuente común de exposición son los termómetros, ya que al romperse éstos, el mercurio inorgánico que contienen puede volatilizarse e inhalarse (Ensley, 2004).

En Chile, las concentraciones más altas de mercurio se encuentran en pescados y mariscos (48 ppb peso húmedo), seguido por niveles seis veces menores en cereales y condimentos (8 ppb peso húmedo). La concentración de mercurio presente en pescados y mariscos no excede los límites máximos (0,5 - 1,5 ppm peso húmedo) establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA) (Muñoz *et al.*, 2005).

La FAO/OMS recomienda un consumo semanal tolerable de 1,6 µg/Kg de metilmercurio, equivalente a 15,5 µg/día para un adulto de 68 Kg. En nuestro país, el consumo de mercurio a través de los alimentos no representa un riesgo para la salud pública, ya que el aporte que hacen todos los grupos alimentarios incluidos en la dieta no exceden los límites permitidos (Muñoz *et al.*, 2005).

## **Metabolismo**

La absorción de mercurio es altamente dependiente de la forma química. La inhalación es la principal vía de absorción de la forma elemental, mientras que la ingesta lo es de las formas orgánica e inorgánica (Wahl y Finke, 2000). Alrededor de un 80% del mercurio elemental inhalado se absorbe a nivel alveolar, mientras que a nivel gastrointestinal la absorción es menor a 0.01% de la dosis (Nordberg, 2001). En el caso del mercurio orgánico, los rangos de absorción gastrointestinal van de 1 a 40%, dependiendo de la especie, edad, pH intestinal y solubilidad de la fuente (NRC, 2005).

Una vez absorbido, el mercurio es transportado a los tejidos por eritrocitos y plasma (Ensley, 2004). La forma inorgánica se divide en partes iguales, y cerca del 90% del metilmercurio se encuentra en glóbulos rojos. Su distribución tisular es diferente, las sales alcanzan altos niveles en hígado y riñones, mientras que el metilmercurio se distribuye fácilmente a todos los tejidos (hígado, riñón, bazo, cerebro, músculo). Sin embargo, debido a la continua demetilación del mercurio en los tejidos, la concentración final es independiente de la forma consumida, alcanzando el hígado y los riñones los niveles más altos (NRC, 2005).

El metilmercurio se concentra primariamente en el sistema nervioso central, especialmente en la sustancia gris. Aproximadamente, el 10% de la



carga total de mercurio en el organismo se encuentra en el cerebro, con una concentración mayor en la corteza occipital y el cerebelo. Cruza efectivamente la barrera hematoencefálica y placentaria, encontrándose en el feto concentraciones hasta 30 veces superiores a las de la madre, acumulándose principalmente en el cerebro fetal (Nordberg, 2001; Sepúlveda *et al.*, 2006). Después de una exposición oral, ya sea en su forma orgánica o inorgánica, el mercurio se acumula irreversiblemente en el pelo (Ensley, 2004; NRC, 2005).

El metilmercurio es convertido lentamente a su forma inorgánica, por la flora intestinal. Es por esto, que la mayoría de este metal es excretado en forma inorgánica por vía urinaria y fecal. Parte del mercurio no demetilado es reabsorbido vía circulación enterohepática, y retenido en el organismo. La eliminación de la forma elemental también cursa por orina y fecas, pero una cantidad significativa se pierde en el aire expirado (Ensley, 2004; NRC, 2005).

En humanos, la vida media de las formas orgánicas e inorgánicas es de 70 y 40 días, respectivamente. La capacidad de excreción en animales neonatos es aún más lenta (NRC, 2005).

## **Toxicidad**

El mecanismo tóxico de las tres formas de mercurio es similar. La alta afinidad del metal por grupos sulfhidrilos de proteínas, son la principal vía de toxicosis. Los grupos sulfhidrilos juegan un rol integral en la estructura y función proteica, así su unión a mercurio disminuye la actividad enzimática, altera la funcionalidad estructural y los procesos de transporte. El complejo mercurio-tiol posee actividad redox, promoviendo la oxidación de algunas moléculas, donde se incluyen los nucleótidos (NRC, 2005).

El mercurio promueve el estrés oxidativo, la peroxidación de lípidos, disfunción mitocondrial y cambios en el metabolismo del grupo Hem. También altera la homeostasis de calcio intracelular, dañando la función celular (NRC, 2005).

Los efectos tóxicos exhiben un umbral, es decir, la necrosis celular no se observa hasta sobrepasar cierta dosis. Esto se debe al efecto “buffer” de ligandos endógenos, los que una vez saturados permiten que el mercurio libre se una a la célula, y cause el daño funcional (NRC, 2005).

Los efectos nocivos dependen del estado de desarrollo, tiempo de exposición y cantidad de mercurio retenido en el organismo. Debido a diferencias en la distribución tisular, los efectos tóxicos del mercurio orgánico e inorgánico son distintos (NRC, 2005).

#### Manifestaciones agudas

La exposición aguda a altos niveles de vapores de mercurio puede causar: fiebre, disnea, vómitos, diarrea, gingivitis, estomatitis, faringitis, sabor metálico en la boca, temblor, pérdida de memoria y depresión (Wahl y Finke, 2000; Ensley, 2004).

La ingesta de mercurio inorgánico es altamente irritante para la mucosa bucal y gastrointestinal, generando úlceras bucales y vómitos poco después del consumo. A nivel gastrointestinal se presentan úlceras necróticas y severas hemorragias. La principal toxicidad es neurológica (temblor, ansiedad, insomnio, cambios en la personalidad) y renal (necrosis tubular aguda). La muerte por ingestión de la forma inorgánica, es usualmente precedida por “shock”, colapso

cardiovascular, falla renal aguda, y severo daño gastrointestinal (Wahl y Finke, 2000; Ensley, 2004; NRC, 2005).

La principal toxicidad del mercurio orgánico es neurológica: defectos en la visión, temblor, degeneración mental, entre otras (Wahl y Finke, 2000).

#### Manifestaciones crónicas

La exposición crónica a mercurio inorgánico resulta en anemia progresiva, nefrotoxicosis, desórdenes gástricos, salivación, temblor, inactividad y caminar anormal. A nivel histopatológico, induce nefropatía que incluye dilatación tubular; degeneración y atrofia del epitelio tubular; y en algunos casos acumulación de células inflamatorias. Los signos clínicos de daño renal incluyen: proteinuria, oliguria, disminución de la concentración urinaria, e incremento de la creatinina plasmática. Aunque el mercurio inorgánico no atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica, los signos de neurotoxicosis ocurren después de una intoxicación crónica (NRC, 2005).

El punto más sensible a la exposición oral de mercurio orgánico es el sistema nervioso. Tanto el sistema nervioso central como periférico puede dañarse. El mercurio induce lesiones usualmente irreversibles, en áreas del cerebro asociadas con funciones sensoriales y de coordinación. Ataxia, espasmos musculares, parálisis, pérdida de la visión y disminución de la coordinación, son signos comunes de intoxicación con metilmercurio en animales. También se evidencian cambios en el comportamiento, deficiencias de aprendizaje y pérdida de memoria (NRC, 2005).

Cuando la exposición es alta, el metilmercurio también afecta los riñones y causa nefritis, en una manera muy similar al mercurio inorgánico (NRC, 2005).

El daño inmunológico, mediado principalmente por mercurio metálico, es de importancia clínica. Este metal, puede aumentar la inmunidad humoral, principalmente los anticuerpos autoinmunes, y suprimir la inmunidad celular (macrófagos y linfocitos T “helper”). Los cambios en el balance de células T “helper” son indicadores inmunológicos de efectos biológicos, causados por exposición a mercurio (Moszczyński *et al.*, 1998).

## Reproducción

En machos, el metilmercurio daña principalmente la espermatogénesis, disminuye la motilidad espermática y degenera túbulos seminíferos. En hembras, induce aborto, incrementa la reabsorción fetal, favorece las malformaciones y el daño en el desarrollo neuronal. El cerebro fetal es el más sensible al efecto tóxico del metilmercurio (NRC, 2005; PNUMA, 2005).

## Tratamiento

El mercurio produce lesiones irreversibles a nivel del sistema nervioso central, por lo tanto, el tratamiento instaurado tendrá pocas posibilidades de éxito, siendo lo ideal establecer un manejo de carácter preventivo (Español, 2001).

El uso de antidotos que reduzcan la cantidad de mercurio en los tejidos, debe ser complementado con una terapia general de apoyo, que permita disminuir los efectos tóxicos del sistema nervioso central (Español, 2001).

Las tres formas del metal son tratadas con la administración oral de ácido dimercapto-succínico (DMSA) a dosis de 10 mg/kg, cada 8 horas por los primeros cinco días; y continuando la misma dosis cada 12 horas por 14 días

más. El DMSA ocasionalmente puede causar efectos secundarios: náuseas, vómitos, diarrea, meteorismo, eritema, prurito, rinorrea, mareos, parestesias, eosinofilia, trombocitosis y elevación transitoria de las transaminasas (Wahl y Finke, 2000; Español, 2001; NRC, 2005).

El dimercaprol (BAL), es un compuesto que contiene azufre, una molécula de ditiol, que posee una afinidad muy elevada por el mercurio iónico divalente. Este compuesto puede salvar la vida del individuo, en los casos de intoxicación aguda con cloruro de mercurio II (Wahl y Finke, 2000; Español, 2001; NRC, 2005).

Las penicilaminas (D-penicilamina y N-Acetil DL-penicilamina) aumentan la excreción de mercurio, luego de la exposición a vapores de mercurio y alivian los síntomas de la intoxicación crónica por vapor de mercurio (Español, 2001; NRC, 2005).

### **Método de detección**

Los antecedentes anamnésticos de exposición, son muy útiles para el diagnóstico de intoxicación; cuando faltan estos antecedentes, se pueden confirmar las sospechas clínicas mediante análisis de laboratorio (Sepúlveda *et al.*, 2006). Las mejores muestras son los tejidos, sin embargo la sangre y orina pueden ser analizadas frente a una exposición aguda (Ensley, 2004). En general, se considera que el límite máximo de concentración normal de mercurio en la sangre es de 3 a 4 µg/dL. En la población normal, el límite máximo de excreción por orina es de 25 µg/dL, existiendo una relación lineal entre la concentración plasmática y la excreción urinaria, luego de la exposición a vapores (Sepúlveda *et al.*, 2006).

De todos los métodos disponibles (Espectrofotometría, Espectrometría de fluorescencia, Espectrometría de masa, entre otros), la Espectrofotometría de Absorción Atómica por vapor de frío, es la más utilizada para determinar la carga total de mercurio en plantas y tejido animal. Este método alcanza niveles confiables de 1 ppb de mercurio total (NRC, 2005).

### **2.3 Plomo**

El plomo es un metal gris azulado natural, que se encuentra en la corteza terrestre en un promedio de 13 mg/Kg. Los minerales de plomo se encuentran en muchos lugares del mundo, siendo el más importante la galena (sulfuro de plomo) que constituye la fuente principal de producción comercial de este metal. Se concentra en suelo y agua, debido a la acumulación de partículas atmosféricas desde fuentes antropogénicas, siendo más biodisponible en suelos ácidos con bajo contenido de materia orgánica. La mayoría de las plantas no absorben grandes cantidades del metal desde el suelo, y los alimentos que las contienen como ingrediente, son bajos en plomo, a menos que haya contaminantes en el aire o postcosecha (Nordberg, 2001; SESMA, 2002; NRC, 2005).

#### **Fuentes de contaminación**

La principal vía de exposición al plomo es la inhalación de polvo y vapores portadores del metal; siendo las principales fuentes de contaminación las fábricas de baterías, fundiciones de plomo, desagüe de buques, fábricas de pinturas, actividad de soldadores, carbón, aceites y las estaciones gasolineras que expenden gasolina plomada. Es importante destacar que a fines de marzo

de 2001, la Empresa Nacional del Petróleo (ENAP) eliminó el plomo de la gasolina (SESMA, 2002).

Debido a los antecedentes de contaminación en el aire ambiental por este metal, es que el 6 de enero del 2001 fue aprobada por el Consejo Ejecutivo de la Comisión Nacional de Medio Ambiente (CONAMA), la norma que define el nivel de calidad primaria anual para plomo en el aire. En ella se permite medio microgramo por metro cúbico normal ( $0.5 \text{ mg/m}^3 \text{ N}$ ), como concentración anual (SESMA, 2002).

Por otra parte, los suelos naturalmente contienen menos de 50 ppm de plomo, y pueden contaminarse por actividades de fundición y mineras, pinturas deterioradas y emisión de gases, pero rara vez desde fuentes minerales naturales. Áreas urbanas e industriales contienen más de 200 ppm de plomo en el suelo (Gracia y Snodgrass, 2007).

Las aguas naturales superficiales y profundas, contienen muy bajos niveles de plomo. Por lo tanto, la contaminación comúnmente resulta de cañerías, soldaduras y grifos (Gracia y Snodgrass, 2007).

Los animales de compañía acumulan plomo desde el suelo y polvo, en mayor cantidad que los humanos con quienes conviven (NRC, 2005). Ellos, al igual que los niños, incrementan sus factores de riesgo a intoxicación por plomo debido a conductas de: pica, exploración del medio a través de la boca y mayor relación consumo:peso corporal, en comparación con los adultos (Gracia y Snodgrass, 2007).

La tendencia de perros jóvenes a lamer o masticar objetos, resulta en niveles inusualmente altos de plomo, siendo la fuente más común, la ingesta de

pinturas plomadas (Casteel, 2001; Gwaltney-Brant, 2004; NRC, 2005). Si bien, las pinturas plomadas fueron restringidas en los hogares, éstas aún pueden ser utilizadas en industrias y estructuras no residenciales (Gracia y Snodgrass, 2007).

En personas y mascotas, las fuentes potenciales de contaminación en los hogares son variadas, e incluyen: materiales para techos, cañerías, soldaduras, municiones, linóleo, masilla, juguetes, alimentos enlatados, etc (Casteel, 2001; Gwaltney-Brant, 2004; NRC, 2005).

En Chile, los niveles de concentración más altos de plomo en los alimentos se encuentran en azúcares (251 ppb peso húmedo), seguido de frutas (225 ppb peso húmedo) y condimentos (213 ppb peso húmedo). El pan, productos lácteos y carnes contribuyen con niveles sobre los 100 ppb. Los niveles encontrados no superan los límites establecidos por el RSA, sin embargo éstos son considerados como excesivamente tolerantes por otros países. El consumo dietario de plomo en Santiago representa un 85% de los valores recomendados, por lo tanto se considera un punto crítico de control en salud pública (Muñoz *et al.*, 2005).

## **Metabolismo**

El plomo puede ingresar al organismo a través de tres vías: aérea, oral y dérmica. La vía de ingreso, tamaño de partícula, compuesto de plomo, niveles de constituyentes dietarios, edad y estado fisiológico del individuo, determinan la concentración y posibilidad de difusión orgánica del plomo (Corey y Galvao, 1989; Casteel, 2001).

La absorción por inhalación de partículas y polvo es eficiente; y cerca del 35% del total del plomo inhalado se deposita en las vías aéreas. Por acción de



cilios, parte de las partículas no depositadas pasan al esófago, y se absorben parcialmente en el tracto gastrointestinal. Aquellas que alcanzan los alvéolos, son absorbidas y llegan a la sangre. El daño en la mucosa y en los alvéolos, producidos por el cigarrillo, facilitan el paso del plomo hacia la sangre (Corey y Galvao, 1989).

En adultos, menos del 10% del metal ingerido es absorbido vía gastrointestinal, y en los niños es del orden del 50%; considerándose mínima la absorción dérmica. El calcio y el fósforo son particularmente eficientes en reducir la absorción del plomo. Algunos estados fisiológicos y patológicos como: preñez, lactancia, animales jóvenes, deficiencia de hierro y calcio, incrementan la absorción de plomo (Corey y Galvao, 1989; Nordberg, 2001; Nicholson, 2003; NRC, 2005).

Más del 90% del plomo absorbido es transportado por glóbulos rojos, y en menor porcentaje se encuentra unido a albúmina o en forma libre en plasma (Gwaltney-Brant, 2004). La sangre actúa como un compartimento central, que distribuye el plomo a los tejidos, incluyendo hígado, riñones, médula ósea y sistema nervioso (Casteel, 2001). Especialmente en individuos jóvenes, cruza la barrera hematoencefálica donde se concentra en la materia gris del SNC (Nordberg, 2001; Gwaltney-Brant, 2004).

Finalmente, es redistribuido desde los tejidos blandos a los huesos representando aproximadamente el 90% del contenido total. En los huesos, compete con el calcio sustituyéndolo en el proceso normal de mineralización, y también es liberado desde allí, durante la resorción ósea (Corey y Galvao, 1989; SESMA, 2002; NRC, 2005).

Durante la gestación, altos niveles de plomo materno pueden transferirse al feto, a través de la placenta. En humanos y ratas no hay una barrera funcional, siendo los niveles sanguíneos madre-feto casi idénticos. El plomo también puede ser transferido a la leche, donde el 90% está asociado a caseína, y se incorpora al pelo como un útil indicador de niveles tóxicos (Corey y Galvao, 1989; NRC, 2005).

La vida media en sangre y otros tejidos blandos es cercana a un mes, sin embargo esta se prolonga a 20-27 años en compartimentos óseos (Corey y Galvao, 1989; Nordberg, 2001; NRC, 2005).

La eliminación del plomo ingerido se hace principalmente por las heces, como reflejo de la pobre absorción intestinal (Corey y Galvao, 1989). En perros, la excreción del metal absorbido, es principalmente por orina y bilis (NRC, 2005).

## **Toxicidad**

El mecanismo tóxico del plomo incluye: habilidad de interactuar con proteínas (unido a grupos sulfidrilos) cambiando su función; inhibición o mimetización del calcio; reemplazo del zinc como cofactor enzimático, alteración del metabolismo de la vitamina D y estrés oxidativo. La importancia relativa de estas acciones depende, del tipo de célula y sistema orgánico (Gwaltney-Brant, 2004; NRC, 2005).

Ante bajos niveles de exposición, los signos clínicos más frecuentes son: cardiovasculares, hematológicos y de desarrollo neuronal. En exposición a altas

concentraciones o por largos periodos de tiempo, se presentarán signos renales, hepáticos, gastrointestinales e inmunológicos (Casteel, 2001; NRC, 2005).

El plomo induce un incremento en la concentración de calcio intracelular en capilares y arterias. Junto con la oxidación de oxido nítrico, se gatilla la contracción de la musculatura lisa y un aumento en el tono vascular (NRC, 2005). Adultos y niños expuestos a plomo, tienen alto riesgo de desarrollar hipertensión. Cada vez que se doblan los niveles de plomo en la sangre, se estima que la presión sistólica puede aumentar 1-2 mmHg variación que puede tener impactos significativos en la salud de la población (Gracia y Snodgrass, 2007).

La unión del plomo a grupos sulfidrilos resulta en una inactivación de enzimas asociadas a la síntesis del grupo Hem (ácido δ-aminolevulinico, coproporfirinógeno y ferroquelatasa) (Gwaltney-Brant, 2004). Así, es capaz entonces de inducir dos tipos de anemia. La intoxicación aguda con niveles elevados de plomo se ha asociado con la anemia hemolítica. En el cuadro crónico, el plomo induce anemia al interferir con la eritropoyesis y reducir la supervivencia de los eritrocitos (anemia normocítica o microcítica, hipocrómica con reticulocitosis). Cabe señalar, sin embargo, que la anemia no es una manifestación inicial de la intoxicación por plomo, sino que sólo se manifiesta cuando los niveles en sangre permanecen significativamente altos durante períodos prolongados (Nordberg, 2001; NRC, 2005; Gracia y Snodgrass, 2007).

El destino más sensible del plomo es el sistema nervioso. Este metal, bloquea los canales de calcio, inhibiendo el influjo de calcio que gatilla la liberación de neurotransmisores responsables de la propagación del impulso nervioso. Por otra parte, el plomo al ingresar a la célula por los mismos canales

que el calcio, actúa como un agonista del mismo, incrementando la liberación espontánea de neurotransmisores (NRC, 2005). Atraviesa la barrera hematoencefálica y se acumula en el sistema nervioso central (SNC), donde astrocitos inmaduros no son capaces de removerlo. El plomo también interfiere con la enzima protein quinasa C y con algunos neurotransmisores, incluyendo el complejo receptor N-metil-D-aspartato, acetilcolina, norepinefrina, dopamina y ácido γ-aminobutírico (Gracia y Snodgrass, 2007).

La toxicidad del plomo en la infancia puede tener efectos permanentes. Afecta la diferenciación de células endoteliales del cerebro, reduce o demora el desarrollo del hipocampo y corteza cerebral, y reduce el número de axones en el nervio óptico. La desmielinización de nervios periféricos conlleva a una disminución en la velocidad de conducción del impulso nervioso. Un estudio mostró que el daño al sistema nervioso central (SNC), como consecuencia de la exposición a los 2 años de edad, produciría una deficiencia continua en el desarrollo neurológico, que se manifiesta como una puntuación de coeficiente intelectual (CI) más baja y una deficiencia cognitiva a la edad de 5 años (Nordberg, 2001; NRC, 2005).

El plomo produce disfunción de los túbulos proximales renales, que se manifiesta con aminoaciduria, glucosuria e hiperfosfaturia, siendo aparentemente irreversibles. Esto puede progresar a fibrosis intersticial, dilatación de túbulos y atrofia o hiperplasia de células epiteliales, con reducción en la filtración glomerular y azotemia (NRC, 2005; Gracia y Snodgrass, 2007).

El plomo causa un pronunciado cambio en el balance de células T “helper”, alterando la respuesta frente a vacunas, alérgenos e infecciones (NRC, 2005).

## Manifestaciones agudas

Perros con intoxicación aguda desarrollan anorexia, salivación, vómito, diarrea y cólico espasmódico. Perros jóvenes pueden presentar histeria caracterizada por un aumento de la irritabilidad, ladridos, carreras continuas e intentos de morder todo (Nicholson, 2003; NRC, 2005). La muerte ocurre frente a dosis de 191; 1,3; 1,366 mg/Kg de acetato de plomo, óxido de plomo y sulfato de plomo, respectivamente (Gwaltney-Brant, 2004).

En humanos, y especialmente en niños, se evidencia dolor abdominal y sintomatología nerviosa temprana (irritabilidad, fatiga, palidez, pica, disminución de la libido, vértigo y confusión). Estos signos pueden avanzar a cuadros de delirio, convulsión, ataxia, parálisis, coma y muerte (Brewster y Perazella, 2004; Gwaltney-Brant, 2004; NRC, 2005).

## Manifestaciones crónicas

Las manifestaciones crónicas varían dependiendo de la cantidad total de plomo acumulada en el organismo. Los pacientes humanos pueden presentar sintomatología inespecífica, como irritabilidad, anorexia, insomnio y mialgia. Los calambres abdominales son comunes y pueden estar acompañados de constipación. Cuando el sistema nervioso se ve afectado, se manifiesta por dolor de cabeza, pérdida de la memoria a corto plazo, déficit de concentración, o neuropatía periférica. Hipertensión y nefropatía intersticial son los efectos más comúnmente observados a nivel renal (Brewster y Perazella, 2004).

Las alteraciones hematológicas se presentan comúnmente en toxicosis crónica. La emaciación y el megaesófago son comunes. El plomo induce

retardo en el crecimiento y remodelación normal de los huesos, al disminuir la densidad y contenido de calcio óseo (NRC, 2005).

## Reproducción

Disminuye la fertilidad y aumenta la proporción de abortos en hembras. La evidencia indica, que no sólo afecta la viabilidad del feto, sino que también su desarrollo. Las consecuencias de la exposición prenatal a bajos niveles de plomo incluyen: menor peso de nacimiento y nacimiento prematuro. Además, se le considera un teratógeno animal, aún cuando no se ha relacionado a malformaciones congénitas en humanos (SESMA, 2002; NRC, 2005).

En humanos, la exposición crónica produce efectos testiculares como teratospermia y, reducción en la motilidad y conteo de espermios (SESMA, 2002; NRC, 2005).

## Cáncer

En ratas, los análisis de laboratorio indican que el acetato y fosfato de plomo son cancerígenos, siendo el cáncer renal el más común de los tumores. En humanos, la relevancia de estas observaciones es controversial, pero la U.S. Environmental Protection Agency lo ha designado como cancerígeno probable en humanos (NRC, 2005).

## Tratamiento

El tratamiento quelante siempre debe ser realizado bajo estricta observación médica. La terapia causa una rápida caída de los niveles sanguíneos de plomo, dentro de los primeros días de iniciado el tratamiento. Sin

embargo, se recomienda chequear los niveles de plomo una a tres semanas después de la terapia, debido a la liberación del metal desde sitios de depósito (Gracia y Snodgrass, 2007).

Dimercaprol, etilendiaminotetraacético (EDTA), y succimer son los tres agentes más usados en la terapia de quelación. La D-penicilamina es menos utilizada, particularmente debido a que incrementa el riesgo de nefritis intersticial en adultos, aunque tiene la ventaja de administrarse vía oral (Gracia y Snodgrass, 2007).

El Dimercaprol es el quelante de elección para tratar encefalopatías o síntomas severos de intoxicación con plomo. La dosis usual es de  $75 \text{ mg/m}^2$  i.m. cada 4 horas por cinco días. Los efectos adversos de la droga son transitorios y están relacionados con la dosis (náuseas, vómitos, hipertensión, taquicardia y moderada leucopenia). El EDTA cálcico es usado comúnmente en encefalopatía severa, después de cuatro horas de iniciada la terapia con el dimercaprol ( $1000 - 1500 \text{ mg EDTA/m}^2/\text{día}$  i.v.). El más serio de sus efectos adversos está asociado con la toxicidad renal, por lo cual su administración debe ir acompañada de una adecuada hidratación del paciente (Gracia y Snodgrass, 2007).

Succimer es de elección en casos asintomáticos y se encuentra disponible sólo en cápsulas orales. Su uso se recomienda en niños con niveles sanguíneos de plomo sobre los  $25 \text{ } \mu\text{g/dL}$ . La dosis recomendada es de:  $350 \text{ mg/m}^2$  tres veces al día por 5 días. Los efectos adversos comunes incluyen disturbios gastrointestinales y aumento de transaminasas séricas (Gracia y Snodgrass, 2007).

## **Método de detección**

Se considera diagnóstico la presencia de signos clínicos compatibles y concentraciones sanguíneas mayores a 0,35 ppm. Sin embargo, debido a la distribución del plomo en el organismo, los niveles en sangre no son necesariamente reflejo de la carga total del cuerpo, ni están necesariamente correlacionados con los signos clínicos. Los signos parecerían estar más directamente relacionados con la carga del metal en los tejidos (Casteel, 2001; Gwaltney-Brant, 2004).

El método más usado para la determinación en muestras biológicas, es la Espectrometría de Absorción Atómica. De las técnicas disponibles para plomo, la Espectrometría de Absorción Atómica en llama permite cuantificar niveles del orden de partes por millón (ppm), mientras que la de horno de grafito, detecta partes por billón (ppb). Concentraciones renales y hepáticas de plomo iguales o superiores a 4 ppm indican una acumulación anormal de este metal. Valores que excedan los 10 ppm peso húmedo, avalarían un diagnóstico de intoxicación por plomo (Casteel, 2001; Nicholson, 2003; NRC, 2005).



## **2.4 Niveles de cadmio, mercurio y plomo en tejidos**

### **Antecedentes en humanos**

En un estudio sueco realizado por Barregard *et al.*, (1999) se determinó mediante Espectrometría de Masa la concentración de cadmio, mercurio y plomo en corteza renal de 36 individuos (18 hombres y 18 mujeres), entre 30 y 71 años de edad. Para ello, se obtuvo información acerca de ocupación, consumo de peces, fumadores y presencia de amalgamas dentales en 27 individuos.

Según Barregard *et al.*, (1999) la concentración renal promedio de cadmio fue de 17 ppm en los 36 individuos, siendo los niveles similares en hombres y mujeres. Fumadores activos (10 individuos) presentaron un promedio de 24 ppm, comparado con 17 ppm de 12 individuos no fumadores. La concentración renal promedio de mercurio fue de 0,29 ppm; presentando las mujeres niveles más altos comparado con los hombres (0,54 ppm versus 0,16 ppm). Ocho sujetos con antecedentes de consumir menos de una ración de pescado a la semana, tuvieron una concentración promedio de 0,24 ppm de cadmio renal, comparado con 0,27 y 1,2 ppm, de 16 individuos que consumían una ración, y de 2 individuos que consumían más de una ración de pescado a la semana, respectivamente.

Por último, en este estudio la concentración renal promedio de plomo fue de 0,14 ppm. Este valor se estimó con 19 muestras, ya que las 17 restantes estuvieron bajo el límite de detección. Los niveles en hombres y mujeres fueron similares, evidenciándose un incremento de éstos con la edad.

En un estudio más reciente, mediante Espectrometría de Masa, fueron analizados por Baker *et al.*, (2002) los niveles de cadmio en 61 cadáveres de la población australiana no expuesta ocupacionalmente. Fueron obtenidas muestras de pulmón, hígado y riñón de 43 hombres y 18 mujeres, con edad promedio de 38,5 años. La concentración promedio de cadmio fue de 0,13 ppm en pulmón, 15,45 ppm en riñón y de 0,95 ppm en hígado.

Los niveles más altos de cadmio en riñón (aproximadamente 60 ppm) se encontraron en 2 mujeres, y los niveles en hígado fueron 70% más altos en mujeres comparadas con hombres. En general, las mujeres tuvieron niveles de hierro más bajos que los hombres, y por lo tanto se incrementaría la carga de cadmio corporal como resultado de una mayor absorción (Baker *et al.*, 2002).

En un tercer estudio se determinó, a través de Espectrofotometría de Absorción Atómica por vapor de frío, la carga total de mercurio en pulmón, hígado y riñón en 75 cadáveres de la población polaca. En este caso los resultados fueron los siguientes: concentración promedio en pulmón 3,3 ppb (22 muestras), en hígado 15,5 ppb (69 muestras) y riñón 35,9 ppb (63 muestras) (Lech y Sadlik, 2004).

#### Diferencias según género

##### - Cadmio:

Los efectos en la salud relacionados con el cadmio son más comunes en mujeres que en hombres. Esto se debería a diferencias en la sensibilidad o simplemente a una mayor carga de cadmio en el organismo femenino. En general, las mujeres presentan concentraciones más altas en sangre, orina y riñones. La principal razón sería un aumento en la absorción de cadmio como

consecuencia de bajos niveles de hierro, comunes en mujeres en edad fértil y especialmente durante el embarazo. La diferencia entre hombres y mujeres llega a ser menos obvia y casi inexistente después de la menopausia, cuando los niveles de hierro aumentan considerablemente (Vahter *et al.*, 2007).

- Mercurio:

No hay estudios concluyentes sobre susceptibilidad genérica a la neurotoxicosis mediada por metilmercurio. Análisis de biopsias de corteza renal de humanos, mostraron altos niveles de mercurio tanto en mujeres como en hombres (Vahter *et al.*, 2007).

- Plomo:

En general, debido a una mayor exposición, los hombres presentan niveles de plomo sanguíneos más altos. Esto podría deberse a que ellos presentan un hematocrito más elevado (hombres: 40,7 a 50,3% v/s mujeres: 36,1 a 44,3%) y a que los eritrocitos son el principal medio de transporte de plomo. Los niveles de plomo, disminuyen a medida que se avanza en edad, ya que mientras más jóvenes sean los individuos, están más expuestos a través del suelo y polvo debido a la exploración del medio a través de la boca (Vahter *et al.*, 2007).

Existen diferencias claras en las mujeres debido a los cambios fisiológicos como el embarazo, lactancia y menopausia. Más del 90% de la carga total de plomo se deposita en los huesos, con un promedio de vida media de 10 años. Éste, se moviliza durante periodos en el cual se incrementa el movimiento óseo, como son el embarazo y la lactancia. La pérdida ósea acelerada que cursa durante y años después de la menopausia, está mediada

por una disminución de estrógenos, y también puede contribuir a la liberación de plomo desde los huesos (Vahter *et al.*, 2007).

### **Antecedentes en perros**

Muchas especies han sido utilizadas como monitores biológicos del medio ambiente, sin embargo, la información disponible acerca de niveles de metales pesados en perros es escasa. En el noreste de España, López-Alonso *et al.*, (2007) buscaron determinar el nivel de exposición a metales pesados en perros, comparando hábitats rurales y urbanos, considerando dieta, edad y sexo. Mediante Espectrometría de Masa fueron analizadas muestras de hígado y riñón de 57 perros, entre 6 meses y 18 años de edad. En este estudio la concentración promedio de cadmio en riñón fue de 175,5 ppb, siendo más alta comparada con hígado, cuyo promedio fue de 58 ppb. La concentración renal varió significativamente con la edad y el sexo. Los niveles aumentaron, especialmente en los primeros cinco años de vida, y las hembras presentaron niveles 67% más altos que los machos. La vida media biológica del cadmio fue más larga en hembras, posiblemente debido a que ellas presentarían una síntesis más eficiente de metalotioneína.

La concentración promedio de mercurio en riñón fue de 53,4 ppb, significativamente más alta que en hígado (32,7 ppb). El hábitat tuvo un efecto significativo en los niveles renales, los cuales fueron tres veces más altos en perros de áreas urbanas que rurales.

En relación al plomo, la concentración promedio en hígado fue de 57,7 ppb, significativamente más alta que en riñones (23,1 ppb). En este estudio, los niveles no fueron afectados por el hábitat, sexo ni edad, sino más bien por el tipo de alimento. Perros alimentados con dietas comerciales (enlatados)

presentaron niveles más altos que aquellos que consumían comida casera (López-Alonso *et al.*, 2007).

Los valores obtenidos por López-Alonso *et al.*, (2007) fueron considerados bajos, al ser comparados con información disponible de niveles de cadmio y plomo en perros. Según Puls, (1994) son considerados niveles altos para perros: 4 - 17 ppm de cadmio y 5 - 10 ppm de plomo en riñón y, 1-1,7 ppm de cadmio y 3,6 - 5 ppm de plomo hepático (**Puls**, 1994, citado por López-Alonso *et al.*, 2007).

Al ser el perro uno de los animales domésticos que se relaciona íntimamente con los humanos, además de compartir su medioambiente inmediato, este estudio busca determinar y cuantificar en muestras biológicas la presencia de tres metales pesados (cadmio, mercurio y plomo).

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

- Detectar la presencia de Cadmio, Mercurio y Plomo en perros.

### **3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Detectar la presencia de Cadmio, Mercurio y Plomo en tejido Pulmonar, Hepático, Renal y Óseo de perros.
- Cuantificar la concentración de Cadmio, Mercurio y Plomo en tejido Pulmonar, Hepático, Renal y Óseo de perros.
- Realizar una distribución de frecuencias de los tejidos que presentan mayor acumulación de metales pesados.

## 4. MATERIAL Y MÉTODO

### 4.1 Material

#### 4.1.1. Animales Experimentales:

Se analizaron muestras de pulmón, hígado, riñón y hueso de cadáveres de perros enviados al servicio de cremación del Laboratorio de Patología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. No se discriminó por origen, raza, sexo, edad ni causa de muerte.

#### 4.1.2. Tamaño Muestral:

Considerando un 95% de confianza, una desviación estándar de 0,1 y un 0,01 de error, se estimó un tamaño muestral de 30 cadáveres.

#### 4.1.3. Equipamiento:

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer AAnalys 200
- Generador de hidruro MHS
- Homogeneizador moulinex®
- Moledora de café DeLonghi®
- Campana de extracción de gases
- Condensador de agua Liebig modificado con anillos rasching y hélices de vidrio
- Placa calefactora
- Horno de AAS 3110 PE
- Mufla Furnace® 62700
- Equipo de obtención de agua HPLC: Millipore Simplicity
- Matraz de digestión fondo plano de 250 ml
- Perlas de ebullición
- Matraz de aforo clase A 100 ml
- Crisol de 50 ml de capacidad
- Pipetas aforadas tipo A de 10 ml  $\pm$  0.1
- Micropipetas Eppendorf

- Lana de vidrio
- Tubo 50 ml

#### 4.1.4. Reactivos y soluciones:

- Nitrógeno UHP
- Agua HPLC
- Óxido de vanadio
- Ácido Clorhídrico p.a. (Riedel de Haen o similar)
- Ácido Sulfúrico p.a. (Merck o similar)
- Ácido Nítrico p.a. (Riedel de Haen o similar)
- Solución de ácido nítrico al 50%
- Solución de ácido nítrico y ácido sulfúrico 1:1
- Solución ácido clorhídrico al 50%
- Peróxido de hidrógeno p.a.
- Nitrato de magnesio 6,67%

#### 4.1.5. Estándares:

- Mercurio 10% HNO<sub>3</sub> solución 1000µg/ml (Perkin Elmer)
- Plomo 2% HNO<sub>3</sub> solución 1000µg/ml (Perkin Elmer)
- Cadmio 2% HNO<sub>3</sub> solución 1000µg/ml (Perkin Elmer)

## 4.2 Método

### 4.2.1. Toma de Muestra:

Para la obtención de muestras, se utilizaron como medidas de protección “overall”, botas, guantes y antiparras. Se colocó al animal en decúbito dorsal para realizar una incisión a nivel de la línea media y extraer riñones e hígado. Se continuó con la apertura de tórax para obtener pulmones y, por último, se procedió a despejar y retirar los huesos radio-cúbito de miembro anterior derecho.



Cada muestra de tejido fue depositada en bolsas plásticas e identificada con etiquetas. Posteriormente las muestras fueron congeladas a una temperatura de -15 a -19°C.

#### 4.2.2. Preparación de la muestra:

Se procedió a moler los tejidos blandos, con el fin de obtener una muestra homogénea. En el caso de los tejidos duros (radio-cúbito), lo primero fue disminuir el tamaño de la muestra con la ayuda de un martillo. Para su homogeneización se colocaron los fragmentos en una máquina moledora de café y luego en bolsas plásticas. Se conservaron a una temperatura entre -15 y -19°C hasta su análisis. Previo al procesamiento de las muestras, éstas fueron descongeladas con la ayuda de un horno microondas.

#### 4.2.3. Análisis de Laboratorio:

Para la determinación de Mercurio se tomaron como referencias la Norma Chilena Oficial (NCh 2667, 2001):"Productos hidrobiológicos – Determinación de mercurio – Método espectrofotométrico de absorción atómica por generación de vapor de frío" y la Norma Técnica sección 2 del programa de laboratorios del Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA, 2000):"Métodos de Análisis Químicos para Productos Pesqueros de Exportación".

Para Plomo y Cadmio se siguió la Norma Chilena Oficial (NCh 2638, 2001):" Productos hidrobiológicos – Determinación de cadmio – Método espectrofotométrico de absorción atómica por llama"; Norma Técnica sección 2 del programa de laboratorios del Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA, 2000):"Métodos de Análisis Químicos para Productos Pesqueros de Exportación" y la normativa de Estados Unidos Departamento de Agricultura:

Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. 2002. Trace Metals 1.

#### 4.2.4. Procedimiento de extracción:

##### Mercurio:

Se pesaron 5 g de muestra en un balón esmerilado. Se agregó al balón perlas de ebullición, 15 mg de óxido de vanadio V y 20 ml de ácido sulfúrico y ácido nítrico en una relación de 1:1, se agitó y se conectó al condensador. Se aplicó una temperatura de 200 °C y posteriormente se aumentó a 250 °C, se mantuvo por 10 minutos; luego se agregaron 10 ml de agua con dos gotas de peróxido de hidrógeno al 30% e inmediatamente se desconectó el balón del condensador. Una vez frío se traspasó el material digerido a un tubo, posteriormente se filtró en una columna de lana de vidrio y se refrigeró hasta su lectura.

##### Plomo y Cadmio:

Se pesaron 15 g de tejido, se agregaron 7,5 ml de solución de nitrato de magnesio al 6,67% y se colocó en el horno a una temperatura de 110 a 115 °C durante cuatro horas. Luego, se programó la mufla para que la temperatura aumentara gradualmente hasta los 350 °C; se mantuvo por una hora y media, luego se aumentó la temperatura hasta los 530 °C y se mantuvo por dieciséis horas. Una vez fríos se sacaron los crisoles y se agregaron 2 ml de ácido nítrico al 50% y se colocaron en el horno a 120 °C por treinta minutos; se llevaron nuevamente a la mufla fría y se elevó la temperatura hasta los 530 °C. Se obtuvo una ceniza completamente blanca, que posteriormente se diluyó en 5 ml de ácido clorhídrico al 50% y se llevó al equipo de lectura.

#### 4.2.5. Lectura de las muestras:

Cada componente de una muestra tiene un patrón de absorción de luz característico. Al comparar la longitud de onda y la intensidad máxima de absorción de luz de una muestra con soluciones estándar, es posible determinar la identidad y el nivel de concentración de cada componente de ella.

##### Mercurio:

Las muestras procesadas fueron analizadas por Espectrofotometría de Absorción Atómica por vapor de frío. Los tubos se conectaron a una bomba generadora de hidruro (solución Boro Hidruro de Sodio al 0,2%), con el objetivo de reducir el ion mercurio a su forma elemental. Se leyó su absorbancia a una longitud de onda de 253,7 nm y su límite de detección fue de 50 ppb.

##### Plomo y Cadmio:

Las muestras procesadas fueron analizadas por Espectrofotometría de Absorción Atómica con horno de grafito. En este caso, el horno de grafito calienta y atomiza la muestra. Para la medición de cadmio se utilizó una longitud de onda de 228,8 nm y el límite de detección del método fue de 5 ppb. En el caso del Plomo se utilizó una longitud de onda de 283,3 nm y el límite de detección del método fue de 30 ppb.

#### 4.2.6. Cuantificación de las muestras:

Las muestras fueron cuantificadas a través de una curva de calibración para cada metal. Cada curva se realizó con 5 muestras blanco fortificadas a 5 niveles de concentración como se señala en la tabla N°1:

**TABLA N° 1: Concentraciones utilizadas en la curva de calibración**

	CONCENTRACIÓN (ppb)				
CADMIO	5	7,5	10	15	20
MERCURIO	50	100	200	300	400
PLOMO	30	45	60	90	120

Luego se realizaron los siguientes pasos:

- 1) Se describió la fórmula matemática de la curva, la cual correspondió a una regresión lineal que se expresó mediante la siguiente fórmula  $y = a + bx$ . Con ella se relacionó la absorbancia medida por el equipo y la concentración del analito a medir en la muestra.
- 2) Se aceptó la curva con un coeficiente de correlación  $\geq 0,9$ .
- 3) La muestra se cuantificó por interpolación de la curva a través de la ecuación resultante de ésta.

#### 4.2.7. Análisis de los resultados:

Se consideraron muestras positivas (P) aquellas que presentaron concentraciones sobre el límite de detección del método, es decir, sobre los 5 ppb en el caso de cadmio; 50 ppb en mercurio y 30 ppb en plomo. Valores bajo estos límites y sobre cero, se les consideró niveles traza (T); y aquellos bajo cero fueron definidos como no detectados (ND).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fueron obtenidas muestras de pulmón, hígado, riñón y hueso de 10 cadáveres desde el servicio de cremación del Laboratorio de Patología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

En un principio se estimó para este estudio un tamaño muestral de 30 cadáveres, sin embargo debido a la escasa disposición de los dueños para la donación de los cuerpos, y a que el objetivo general se cumplía con los primeros resultados obtenidos, se redujo el tamaño muestral a 10 cadáveres.

Las muestras identificadas y procesadas fueron analizadas, obteniendo en los distintos órganos lo siguiente:

### Pulmón

El análisis de cadmio a nivel pulmonar arrojó concentraciones que variaron de niveles traza a positivos ( $> 0$  y  $> 5$  ppb). El 50% de las muestras de pulmón resultaron positivas a cadmio, con una concentración promedio de 6,78 ppb (Tabla N°3). Esta concentración promedio resultó inferior a la encontrada en humanos (0,13 ppm o 130 ppb) por Baker *et al.*, (2002), quienes determinaron mediante el método de Espectrometría de Masa, niveles de cadmio en 61 muestras de pulmón de la población australiana. Las diferencias podrían deberse a que los niveles de cadmio a nivel pulmonar son atribuibles en gran medida al cigarrillo, fuente de contaminación muy utilizada por las personas, pero que afecta de manera indirecta y en menor grado a nuestras mascotas (Baker, *et al.*, 2002). Por otra parte, debido a que la eliminación orgánica del cadmio es muy lenta, y que por ende su concentración aumenta

con la edad (NRC, 2005), los individuos estudiados por Baker *et al.*, 2002 (38,5 años) al superar con creces el promedio de vida de nuestras mascotas, tendrían un mayor tiempo de exposición y en consecuencia una mayor acumulación orgánica de este metal.

Sólo una muestra de pulmón (Canino 3) resultó positiva a mercurio con una concentración de 103 ppb (Tabla N°3). Este valor fue superior al promedio de mercurio pulmonar (3,3 ppb) determinado por Lech y Sadlick, (2004) en 22 muestras de pulmón de pacientes humanos de la población polaca. Estos investigadores utilizaron en sus mediciones el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por vapor de frío, el mismo que fue utilizado para el presente estudio.

Debido a la continua demetilación del mercurio que ingresa al organismo, a su forma inorgánica, éste metal se distribuye principalmente a hígado y riñones (NRC, 2005). Esto explicaría las muestras de pulmón sin detección o negativas a cadmio en el presente estudio, y el bajo promedio de cadmio pulmonar encontrado por Lech y Sadlick, (2004). La muestra de pulmón positiva (Canino 3) podría ser explicada por la exposición a fuentes de mercurio elemental, cuya principal vía de absorción es la inhalatoria (Wahl y Finke, 2000).

Con respecto al análisis de plomo, si bien es cierto que cerca del 35% del metal inhalado se deposita en las vías aéreas (Corey y Galvao, 1989), en el presente estudio ninguna muestra de pulmón resultó positiva a plomo, y 2 muestras (Canino 7 y Canino 8) presentaron niveles traza (Tabla N°3). Esto podría deberse al poco tiempo de exposición de los individuos y a la distribución final de este metal a los huesos, lugar donde se encuentra el 90% del contenido total de plomo depositado (Corey y Galvao, 1989; SESMA, 2002; NRC, 2005).

**TABLA N°2: Concentración en ppb de Cadmio, Mercurio y Plomo en muestras de pulmón de los individuos estudiados.**

<b>INDIVIDUOS</b>	<b>Cadmio</b>	<b>Mercurio</b>	<b>Plomo</b>
Canino 1	6,66 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 2	6,05 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 3	3,01 ( T )	103 ( P )	(ND)
Canino 4	8,56 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 5	2,68 ( T )	(ND)	(ND)
Canino 6	2,90 ( T )	(ND)	(ND)
Canino 7	4,20 ( T )	(ND)	9,48 ( T )
Canino 8	6,56 ( P )	(ND)	6,39 ( T )
Canino 9	6,06 ( P )	(ND)	(ND)
Canino10	3,48 ( T )	(ND)	(ND)

P: Muestra Positivas >5 ppb Cd; >50 ppb Hg; >30 ppb Pb; T: Niveles Traza <P y >0, ND: No Detectado<0

## Hígado

El 100% de las muestras de hígado de la población en estudio fue positiva a cadmio, con una concentración promedio de 19,21 ppb (Tabla N° 4), siendo inferior a la presentada por Baker *et al.*, (2002) (950 ppb), quienes mediante Espectrometría de masa analizaron los niveles de cadmio en hígado de 61 cadáveres de la población australiana. La diferencia de promedios podría explicarse por el menor tiempo y grado de exposición que tendrían los perros a las principales fuentes de contaminación (alimentos y cigarrillo).

Los niveles de cadmio encontrados a nivel hepático fueron superiores a los encontrados a nivel pulmonar en ambos estudios. Esto concuerda con el hecho de que una vez que el cadmio es ingerido y absorbido, es transportado inicialmente al hígado, y luego a los riñones (órganos que contienen cerca del

50% de la carga total de cadmio en el cuerpo) (NRC, 2005; Vallespin *et al.*, 1999).

Sólo una muestra hepática resultó positiva a mercurio (canino 8: 140 ppb), y cuatro presentaron niveles traza (Canino 2, 6, 9, 10). El nivel de mercurio encontrado en la muestra positiva fue superior al promedio de mercurio hepático (15,5 ppb) obtenido por Lech y Sadlick, (2004), a través de Espectrometría de absorción atómica por vapor de frío, en 69 muestras de hígado de la población polaca. Las amalgamas dentales y el consumo de peces son las principales fuentes de mercurio para la población humana, pero adquieren menor importancia en el caso de perros. Resulta necesario entonces el estudio de otras posibles fuentes de contaminación (alimentos, vacunas, productos farmacéuticos, pinturas, etc.) que expliquen los niveles encontrados por el presente estudio en perros (Nordberg, 2001; PNUMA, 2005).

En el presente estudio, y en el de Lech y Sadlick, (2004) se evidencia una mayor acumulación de mercurio en hígado que en pulmón. Esto podría deberse, a un mayor ingreso de mercurio en los organismos de los individuos estudiados, a través de su ingesta, ya que este metal una vez que es consumido (independiente de su forma) se acumula principalmente en hígado y riñones (NRC, 2005).

En relación al análisis de plomo hepático, 4 muestras (40%) fueron positivas, con una concentración promedio de 38,23 ppb (Tabla N° 4). Este promedio fue superior al encontrado en pulmón, donde no se detectaron muestras positivas.

El promedio de cadmio (19,21 ppb) y de plomo (38,23 ppb) hepático determinados en el presente estudio, resultaron inferiores a los encontrados por



López-Alonso *et al.*, (2007) (58 ppb de cadmio y 57,7 ppb de plomo hepático), mediante Espectrometría de Masa, en 57 muestras hepáticas de perro en el noreste de España.

López-Alonso *et al.*, (2007) a partir de la incorporación en su estudio de diferentes factores, determinaron que la concentración orgánica de cadmio se incrementa con la edad, y que los niveles de plomo son afectados significativamente por la dieta (perros alimentados con dietas comerciales presentaban niveles de plomo más altos que aquellos que consumían comida casera). Para el presente estudio, no se consideraron estos factores (edad y alimentación), por lo tanto las diferencias de promedios encontradas entre ambos estudios podrían estar dadas por distintos tiempos y fuentes de exposición.

Sólo una muestra hepática fue positiva a mercurio (Canino 8: 140 ppb), y 4 presentaron niveles traza, con un promedio (15,2 ppb) muy inferior al de la muestra positiva. La concentración de mercurio encontrada en la muestra hepática del Canino 8, fue superior al promedio de mercurio hepático (32,7 ppb) determinado por López-Alonso *et al.*, (2007).

Los niveles de mercurio hepático fueron afectados significativamente por el hábitat en el estudio de López-Alonso *et al.*, (2007). Perros que vivían en ambientes urbanos presentaron niveles de mercurio más altos que aquellos de ambientes rurales. Debido a que dentro de los objetivos del presente estudio no estaba el factor ambiental, no se contó con estos antecedentes, sin embargo es un punto interesante de analizar en futuras investigaciones.

**TABLA N°3: Concentración en ppb de Cadmio, Mercurio y Plomo en muestras de hígado de los individuos estudiados.**

<b>INDIVIDUOS</b>	<b>Cadmio</b>	<b>Mercurio</b>	<b>Plomo</b>
Canino 1	17,40 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 2	11,46 ( P )	19,9 ( T )	39,90 ( P )
Canino 3	14,92 ( P )	(ND)	17,10 ( T )
Canino 4	17,56 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 5	13,89 ( P )	(ND)	36,50 ( P )
Canino 6	21,12 ( P )	16,5 ( T )	37,60 ( P )
Canino 7	29,16 ( P )	(ND)	38,90 ( P )
Canino 8	27,71 ( P )	140 ( P )	(ND)
Canino 9	23,21 ( P )	20,3 ( T )	23,60 ( T )
Canino10	15,71 ( P )	4,1 ( T )	14,50 ( T )

P: Muestra Positivas >5 ppb Cd; >50 ppb Hg; >30 ppb Pb; T: Niveles Traza <P y >0, ND: No Detectado<0

## Riñón

El 100% de las muestras de riñón de la población en estudio fue positiva a cadmio, con una concentración promedio de 38,76 ppb (Tabla N°5); siendo este valor inferior al encontrado por Baker *et al.*, (2002) (15,45 ppm) quienes, mediante Espectrometría de Masa, analizaron los niveles de cadmio en 61 muestras de riñón de la población australiana. Tomando en consideración que la acumulación renal de cadmio se asocia preferentemente a exposiciones crónicas, la diferencia de promedio se debería al menor tiempo de exposición que tienen los perros, en comparación con los humanos, a las fuentes contaminantes (Baker *et al.*, 2002).

En ambos estudios, el riñón resultó ser el órgano que presentó los mayores niveles de concentración de cadmio. Esto se debería a que éste órgano es el sitio de mayor producción de metalotioneína, proteína que fija el cadmio e impide que ejerza su efecto tóxico (Nordberg, 2001).

El 20% de las muestras de riñón resultó positiva a mercurio con una concentración promedio de 699 ppb. (Tabla N°5). Este valor fue superior al promedio renal (35,9 ppb) encontrado por Lech y Sadlick, (2004) en 63 muestras de riñón de pacientes humanos de la población polaca, a través del método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por vapor de frío. En ambos estudios el riñón resultó ser el órgano en donde se encontraron los niveles de concentración más altos de mercurio.

La concentración promedio de cadmio renal (38,76 ppb) del presente estudio, fue inferior a la encontrada por López-Alonso *et al.*, (2007) en 57 muestras renales de perros del noreste de España (175,5 ppb). Estos investigadores determinaron en su estudio que los niveles de cadmio en riñón aumentaron significativamente con la edad y que estos fueron más altos en hembras que en machos. La selección, de individuos de avanzada edad y de igual cantidad machos-hembras, podría minimizar las diferencias de promedio de ambos estudios y entregarnos información más certera de la carga real de cadmio renal en nuestros perros.

En relación a los niveles de mercurio, el promedio renal de este metal (699 ppb) fue superior al encontrado por López-Alonso *et al.*, (2007) (53,4 ppb). Considerando que el hábitat es un factor que afecta significativamente los niveles de mercurio, resulta importante incluirlo en futuros estudios que nos permitan determinar la fuente contaminante responsable de los niveles de mercurio encontrados en el presente estudio.

El promedio de cadmio renal (38,76 ppb) encontrado en el presente estudio fue inferior al descrito por Barregard *et al.*, (1999) (17 ppm), quienes determinaron por el método de Espectrometría de Masa la concentración de cadmio, mercurio y plomo en corteza renal de 36 individuos suecos. El promedio de mercurio renal (699 ppb) fue superior al de este mismo estudio (0,29 ppm).

En el presente estudio, ninguna muestra de riñón resultó positiva a plomo, mientras que un 60% de ellas presentaron niveles traza (Tabla N°5). En el estudio de López-Alonso *et al.*, 2007 los niveles de plomo fueron significativamente más altos en hígado (57,7 ppb) que en riñones (23,1 ppb), y de las 36 muestras renales analizadas por Barregard *et al.*, 1999, 17 estuvieron bajo el límite de detección del método para plomo. Por lo tanto, el riñón no sería un órgano adecuado para la detección de plomo, debido a la corta vida media y baja cantidad del metal depositado en corteza renal (Barregard *et al.*, 1999).

**TABLA N°4: Concentración en ppb de Cadmio, Mercurio y Plomo en muestras de riñón de los individuos estudiados.**

<b>INDIVIDUOS</b>	<b>Cadmio</b>	<b>Mercurio</b>	<b>Plomo</b>
Canino 1	35,29 ( P )	(ND)	25,80 ( T )
Canino 2	36,20 ( P )	724 ( P )	6,03 ( T )
Canino 3	29,89 ( P )	27 ( T )	(ND)
Canino 4	44,77 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 5	30,04 ( P )	(ND)	2,56 ( T )
Canino 6	36,80 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 7	48,18 ( P )	(ND)	16,80 ( T )
Canino 8	44,86 ( P )	674 ( P )	3,30 ( T )
Canino 9	40,15 ( P )	(ND)	(ND)
Canino 10	41,42 ( P )	29,6 ( T )	2,39 ( T )

P: Muestra Positivas >5 ppb Cd; >50 ppb Hg; >30 ppb Pb; T: Niveles Traza <P y >0, ND: No Detectado<0

## **Hueso**

Con respecto al análisis de hueso, los procedimientos de extracción establecidos en este estudio para cada metal no fueron validos para esta matriz, impidiendo su lectura.

Considerando que los individuos del presente estudio fueron todos animales adultos, la presencia de metales pesados estaría asociada a exposiciones crónicas. En el caso del plomo, una vez que este es absorbido los tejidos blandos actúan como medios de transporte para que este metal alcance su destino final en el sistema óseo. Los niveles de plomo encontrados en el presente estudio, avalarían la hipótesis de que este metal sí se encuentra en los órganos de los perros estudiados; sin embargo son necesarios mayores estudios a nivel óseo para determinar la carga real a la cual se encuentran expuestos (Corey y Galvao, 1989; Casteel, 2001; SESMA, 2002; NRC, 2005).

En el presente estudio, fueron detectados tanto concentraciones de cadmio, como de mercurio y plomo en los individuos estudiados. Del análisis de los resultados por metal se obtiene lo siguiente:

## **Cadmio**

El 100% de la población en estudio resultó positiva a cadmio en al menos uno de los tres tejidos estudiados. 100% lo fue en dos tejidos y un 50% en los tres. La distribución orgánica de los niveles de concentración de cadmio en el presente estudio, coincide con la encontrada por Baker *et al.*, (2002) y por López-Alonso *et al.*, (2007), donde los niveles de concentración de cadmio más altos fueron encontrados en muestras de riñón (seguido de hígado), y los niveles más bajos en pulmón. Esto se explica por la fuerte asociación existente

entre cadmio dietario y carga renal, debido a que aproximadamente un 70% del cadmio presente en el organismo proviene de lo que consumimos (Vallespin *et al.*, 1999), y que el riñón es el sitio de mayor producción de metalotioneina, y consecuentemente de acumulación de cadmio (Baker *et al.*, 2002; NRC, 2005).

Que todos los individuos en estudio sean positivos a cadmio, es decir, que presenten niveles de cadmio sobre el límite de detección del método en al menos uno de sus tejidos, no deja de sorprender. La información disponible acerca de las fuentes de contaminación, del metabolismo e intoxicaciones por mercurio y plomo, hacia suponer que los individuos en estudio presentarían mayor cantidad de muestras positivas a estos metales. Sin embargo, el 100% de la población resultó positiva a cadmio, y no así a mercurio y plomo.

El cadmio se encuentra en mayor o menor grado en todos los alimentos, principalmente en los de origen vegetal y en órganos internos de animales de abasto. La utilización de granos de cereales (maíz, arroz, avena y trigo) y fuentes proteicas de origen animal en alimentos comerciales, pueden ser parte importante de la acumulación de este metal en perros. Por otra parte, humanos presentaron niveles de concentración de cadmio más altos que en perros, estos últimos al compartir su medio ambiente con el humano pueden acumular cadmio a partir de una de las principales fuentes de este metal en las personas, el humo del cigarrillo (Vallespin *et al.*, 1999; NRC, 2005).

## **Mercurio**

Un 60% de la población en estudio presentó niveles de mercurio. El 30% de ella resultó positiva a mercurio en al menos uno de los tres tejidos estudiados, mientras que un 10% lo fue en dos tejidos. Dos muestras de riñón y sólo una muestra de pulmón e hígado resultaron positivas a mercurio de la

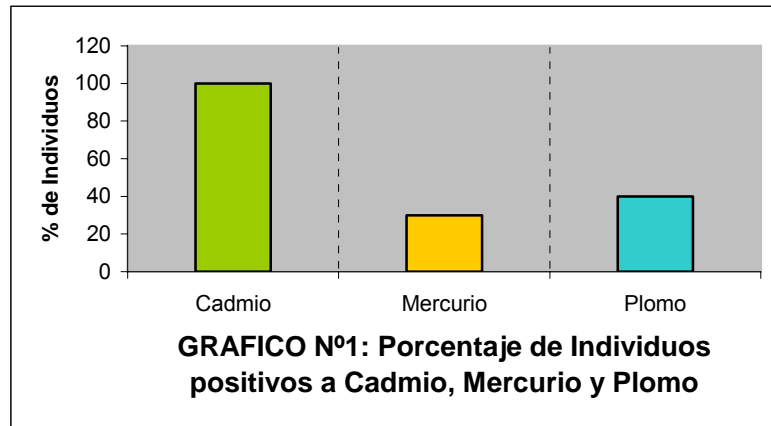
siguiente manera: Canino 2, niveles traza en hígado y 724 ppb en riñón; Canino 3, 103 ppb en pulmón y niveles traza en riñón; Canino 8, 140 ppb en hígado y 674 ppb en riñón.

Esta distribución en los niveles de mercurio tiene relación con la posible forma del metal a la que cada individuo pudo haber estado expuesto. El canino 2 y canino 8, posiblemente estuvieron expuestos a formas orgánicas, ya que el mercurio orgánico dentro de su metabolismo está sometido a una continua demetilación alcanzando altos niveles de concentración en hígado y riñones, principalmente en este último donde se acumula para su posterior eliminación (NRC, 2005). Por otra parte la distribución en el canino 3 es más bien representativa de una exposición a mercurio elemental, cuya principal vía de absorción es la inhalatoria, quedando retenido a nivel alveolar (Nordberg, 2001).

Debido a la naturaleza de las fuentes (consumo de peces y uso de amalgamas dentales), los perros estarían expuestos a bajos niveles de mercurio, sin embargo en el presente estudio un 50% de la población presentó niveles traza y un 30% fueron positivos con altos niveles (411 ppb), incluso superiores a los presentados en humanos. Resulta entonces importante en futuros estudios poder determinar si esta tendencia se mantiene y a qué fuentes pudieron estar expuestos aquellos individuos que presentaron altos niveles de mercurio en sus organismos.

## **Plomo**

Un 90% de la población en estudio presentó niveles de plomo en su organismo. En riñón y pulmón fueron detectados niveles traza, mientras que las muestras positivas, correspondientes a un 40% de la población, fueron encontradas en hígado con niveles muy cercanos al límite de detección.



El análisis de los resultados según individuos expresa lo siguiente: El 30% de la población en estudio resultó positiva simultáneamente a cadmio y mercurio. El 40% lo fue a cadmio-plomo, y un 10% a mercurio-plomo. Los tres metales estudiados se encontraron simultáneamente en un 10% de la población.

**TABLA N°5: Detección de Cadmio, Mercurio y Plomo en los individuos estudiados.**

INDIVIDUOS	Cadmio	Mercurio	Plomo
Canino 1	P	ND	T
Canino 2	P	P	P
Canino 3	P	P	T
Canino 4	P	ND	ND
Canino 5	P	ND	P
Canino 6	P	T	P
Canino 7	P	ND	P
Canino 8	P	P	T
Canino 9	P	T	T
Canino 10	P	T	T

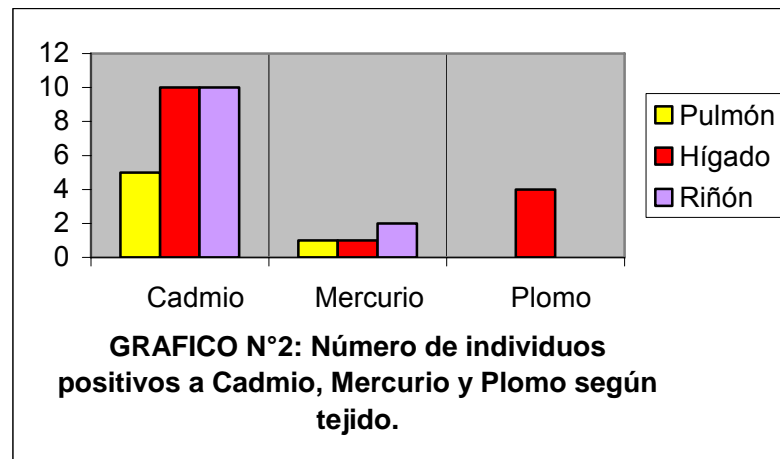
P: Individuo Positivo, T: Individuo con niveles traza, ND: No detectado



**TABLA N°6: Distribución de frecuencia de muestras de pulmón, hígado y riñón de la población en estudio que fueron positivas a Cadmio, Mercurio y Plomo.**

METAL	N° de muestras de la población		
	Pulmón	Hígado	Riñón
Cadmio	5	10	10
Mercurio	1	1	2
Plomo	0	4	0

Con respecto a los tres tejidos analizados y considerando los resultados obtenidos, el estudio de muestras de pulmón no se justifica para la detección de cadmio, mercurio y plomo a nivel orgánico.



Hígado y riñón son los órganos en los cuales se presentó una mayor cantidad de niveles traza y muestras positivas para los tres metales estudiados. Tanto en el presente estudio, como en el de Lopez-Alonso *et al.*, (2007) quienes determinaron niveles de cadmio, mercurio y plomo, en tejido hepático y renal de 57 perros, los niveles de plomo fueron mayores en Hígado en relación a los riñones. De esto se puede concluir que es en éste órgano en el cual es más posible detectar este metal después del tejido óseo.

## 6. CONCLUSIÓN

Mediante el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica, se determinó que un 100% de los individuos en estudio fueron positivos a cadmio, 30% a mercurio y 40% a plomo.

Los niveles de concentración más altos de cadmio fueron encontrados en riñón, seguido de hígado y los más bajos en pulmón. Los valores más altos de plomo se detectaron en hígado; mientras que los niveles de mercurio no presentaron una clara distribución orgánica.

El 50% de las muestras de pulmón resultaron positivas a cadmio, mientras que un 10% lo fueron a mercurio. El 100% de las muestras de hígado resultaron positivas a cadmio; 40% a plomo y 10% a mercurio. En relación a las muestras de riñón, 100% fueron positivas a cadmio y 20% a mercurio. No se encontraron muestras positivas a plomo tanto en tejido pulmonar como renal.

La presencia de cadmio, mercurio y plomo, no pudo ser estudiada en hueso, debido a la incompatibilidad de la matriz ósea con los procedimientos de extracción establecidos para el análisis de cada metal.

El hígado resultó ser el órgano centinela, con mayor cantidad de muestras positivas, seguido muy de cerca por el riñón. Por el contrario, el pulmón fue el órgano con menor cantidad de muestras positivas.

## 7. RECOMENDACIONES

Los niveles de cadmio, mercurio y plomo detectados en el presente estudio, sólo nos indican presencia y no se pueden sacar conclusiones acerca de cual es el nivel real de exposición o cual es la carga promedio de estos metales en nuestras mascotas.

Futuros estudios deberán incluir factores como: sexo, edad, alimentación, hábitat (rural o urbano) y causa de muerte, con el fin poder de determinar cual es la carga real de estos metales en los organismos caninos, cuales son los factores que influyen en su acumulación, cual es la fuente de exposición más directa y si los niveles encontrados son o no responsables de alteraciones a nivel orgánico.

La presencia de cadmio, mercurio y plomo en organismos vivos, detectada por el presente estudio, servirá entonces como base para futuras investigaciones acerca del riesgo que significa para la salud pública la presencia orgánica de estos tres residuos contaminantes.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- 1.- **ANON.** 2001. Metales pesados: Toda una amenaza. [En línea]. <<http://revista.consumer.es/web/es/20010301/medioambiente/>> [consulta: 26/02/07].
- 2.- **BAKER, J.; SATARUG,S.; REILLY, P.; MOORE, M.; WILLIAMS, D.** 2002. Cadmium levels in the lung, liver, kidney cortex, and urine samples from Australian without occupational exposure to metals. Archives of environmental health. 57[1]:69-77.
- 3.- **BARREGARD, L.; SVALANDER, C.; SCHUTZ, A.; WESTEBERG, G. ; SALLSTEN, G. ; BLOHMÉ, I.; MOLNE, J.; OTTMAN, P.O.; HOGLIND, P.** 1999. Cadmium, Mercury and Lead in kidney cortex of the general swedish population: A study of biopsies living kidney donors. Environmental Health Perspectives. 107[11]: 867-871.
- 4.- **BREWSTER, U.; PERAZELLA, M.** 2004. A review of chronic lead intoxication: An unrecognized cause of chronic kidney disease. American journal of the medical sciences. 327[6]:341-347.
- 5.- **CASTEEL, S.** 2001. Lead. **In:** Peterson, M.; Talcott, P. Small Animal Toxicology. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 537-547.
- 6.- **COREY, G.; GALVAO, L.** 1989. Plomo. Centro panamericano de ecología humana y salud. México. pp. 7-45.
- 7.- **ENSLEY, S.** 2004. Mercury **In:** Plumlee, K. Clinical Veterinary Toxicology. Mosby. St. Louis, Estados Unidos. pp. 210-211.
- 8.- **ESPAÑOL, S.** 2001. Toxicología del mercurio. Actuaciones preventivas en sanidad laboral y ambiental. **En:** Jornada Internacional sobre el impacto ambiental del mercurio utilizado por la minería aurífera artesanal en Iberoamérica: 26, 27 y 28 de septiembre. Lima, Perú. pp. s.p.
- 9.- **FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE.** 2002. Trace Metals 1. United States Department of Agriculture.
- 10.- **GALVAO, L.; COREY, G.** 1987. Cadmio. Centro panamericano de ecología humana y salud. México. pp. 9-17.

- 11.- **GARCIA, I.; DORRONSORO, C.** 2006. Departamento de Edafología y Química agrícola. [En línea]. <<http://edafologia.ugr.es/Conta/tema15/introd.htm>> [consulta: 20/01/06].
- 12.- **GRACIA, R.; SNODGRASS, W.** 2007. Lead toxicity and chelation therapy. American Journal of Health-System Pharmacists. 64[1]:45-53.
- 13.- **GWALTNEY-BRANT, S.** 2004. Lead. **In:** Plumlee, K. Clinical Veterinary Toxicology. Mosby. St. Louis, Estados Unidos. pp. 204-210.
- 14.- **LECH, T.; SADLIK, J.** 2004. Total mercury levels in human autopsy materials from a nonexposed polish population. Archives of environmental health. 59[1]:50-54.
- 15.- **LIU, X.; UMINO, T.; ZHU, Y.; WANG, H.; SPURZEM, J.; ROMBERGER, D.; RENNARD, S.** 2000. A study on the effect of cadmium on human lung fibroblasts. Chest. 117[1]:247.
- 16.- **LOPEZ-ALONSO, M.; MIRANDA, M.; GARCIA-PARTIDA, P.; CANTERO, F.; HERNANDEZ, J.; BENEDITO, J.** 2007. Use of dogs as indicators of metal exposure in rural and urban habitats in NW Spain. Science of the total environment. 371[2-3]: 668-675.
- 17.- **MOSZCZYNSKI, P.; RUTOWSKI, J.; SLOWINSKI, S.; BEM, S.** 1998. Immunological effects of occupational exposure to metallic mercury in the population of T-cells and NK-cells. Analyst. 123[1]:99-103.
- 18.- **MUÑOZ, O.; BASTIAS, J.; ARAYA, M.; MORALES, A.; ORELLANA, C.; REBOLLEDO, R.; VELEZ, D.** 2005. Estimation of the dietary intake of cadmium, lead, mercury, and arsenic by the population of Santiago (Chile) using of Total Diet Study. Food and Chemical Toxicology. 43[11]:1647-1655.
- 19.- **NAVAS-ACIEN, A.; SELVIN, E.; SHARRET, R.; CALDERON-ARANDA, E.; SILBERGELD, E.; GUALLAR, E.** 2004. Lead, cadmium, smoking, and increased risk of peripheral arterial disease. Circulation. 109[25]:3196-3201.
- 20.- **NICHOLSON, S.** 2003. Toxicología. **En:** Ettinger, S. Compendio del tratado de medicina veterinaria. 3ª ed. Elsevier, España. pp. 180-181.
- 21.- **NORDBERG, G.** 2001. Metales: Propiedades químicas y toxicidad. **En:** Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Organización Internacional del trabajo. España. pp. 63.

- 22.- **NORMA CHILENA OFICIAL 2638**. 2001. Productos hidrobiológicos- Determinación de cadmio- Método espectrofotométrico de absorción atómica por llama. Instituto nacional de normalización-Chile.
- 23.- **NORMA CHILENA OFICIAL 2667**. 2001. Productos hidrobiológicos- Determinación de mercurio- Método espectrofotométrico de absorción atómica por generación de vapor de frío. Instituto Nacional de Normalización Chile.
- 24.- **NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL)**. 2005. Mineral Tolerance of Animals. 2<sup>nd</sup> rev. ed. National Academies. Washington D.C, USA. pp. 79-261.
- 25.- **PNUMA (PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL MEDIO AMBIENTE)**. 2005. Evaluación mundial sobre el mercurio. Ginebra, Suiza. pp. 31-53.
- 26.- **PULS, R.** 1994. Mineral levels in animals health, Sherpa Internacional (citado por **LOPEZ-ALONSO, M.; MIRANDA, M.; GARCIA-PARTIDA, P.; CANTERO, F.; HERNANDEZ, J.; BENEDITO, J.** 2007. Use of dogs as indicators of metal exposure in rural and urban habitats in NW Spain. Science of the total environment. 371[2-3]: 668-675.
- 27.- **SEPULVEDA, L.; AGUDELO, L.; ARENGAS, A.** 2006. El mercurio, sus implicaciones en la salud y en el ambiente. [En línea]. <[http://lunazul.ucaldas.edu.co/ downloads/ e4822404 Revista4\\_8.pdf](http://lunazul.ucaldas.edu.co/downloads/e4822404_Revista4_8.pdf)> [consulta: 26/02/07].
- 28.- **SERVICIO NACIONAL DE PESCA**. 2000. Norma Técnica sección 2, Métodos de Análisis para productos Pesqueros de Exportación. Departamento de Sanidad Pesquera.
- 29.- **SESMA (SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO DEL AMBIENTE)**. 2002. Caracterización de elementos inorgánicos presentes en el aire de la región metropolitana 1997 - 2000. Ministerio de Salud. pp. 12-15; 30-39.
- 30.- **VAHTER, M.; AKESSON, A.; LIDEN, C.; CECCATELLI, S.; BERGLUND, M.** 2007. Gender differences in the disposition and toxicity of metals. Environmental Research. 104[1]:85-95.
- 31.- **VALLESPIN, L.; SANCHEZ, L.; CALVO, M.** 1999. Cadmio en leche y otros alimentos. [En línea]. <[http://www.medspain.com/n5\\_jun99/cadmio.htm](http://www.medspain.com/n5_jun99/cadmio.htm)> [consulta: 26/02/07].

32.- **WAHL, M.; FINKE, B.** 2000. Mercury. In: Ling, L.; Clark, R.; Erickson, T.; Trestail, J. Toxicology secrets. Hanley and Belgus, INC. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 162-164.