

300627

22

24



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

"NIVELES DE COBRE EN RATAS  
INTOXICADAS POR TALIO"

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO - FARMACEUTICO - BIOLOGO

PRESENTA:

ALMA ROSA RIVERO BAEZ

MEXICO, D. F.

1988



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# C O N T E N I D O

## 1.- INTRODUCCION

### 1.1 TALIO

#### 1.1.1 Historia

#### 1.1.2 Propiedades físicas y químicas

#### 1.1.3 Relación con el potasio

#### 1.1.4 Distribución y obtención

#### 1.1.5 Usos

#### 1.1.6 Exposición ambiental y ocupacional

#### 1.1.7 Toxicocinética

##### 1.1.7.1 Absorción

##### 1.1.7.2 Distribución y Acumulación

##### 1.1.7.3 Biotransformación

##### 1.1.7.4 Excreción

#### 1.1.8 Efectos tóxicos

##### 1.1.8.1 Efectos agudos y subagudos

##### 1.1.8.2 Efectos crónicos

##### 1.1.8.3 Mecanismo de toxicidad

#### 1.1.9 Antecedentes

### 1.2 OBJETIVOS

## 2.- MATERIAL Y METODOS.

### 2.1 Reactivos y solventes

### 2.2 Tratamiento de los animales

### 2.3 Determinación de talio en orina, heces, órganos, tejidos y sangre por espectrofotometría de absorción atómica (EAA).

2.3.1 Tratamiento de las muestras de orina, heces, órganos, tejidos y sangre para la determinación de talio por EAA.

2.3.2 Curva estándar de talio.

### 2.4 Determinación de cobre en orina, heces, órganos, tejidos y sangre por EAA.

2.4.1 Tratamiento de las muestras de heces, órganos, tejidos, sangre y alimento para la determinación de cobre por EAA.

2.4.2 Tratamiento de orina y agua para la determinación de cobre por EAA.

2.4.3 Curva estándar de cobre

### 2.5 Determinación de osmolaridad en orina

### 2.6 Determinación de sodio y potasio en orina

### 2.7 Determinación de parámetros hematológicos

2.7.1 Determinación de glóbulos blancos

2.7.2 Determinación de glóbulos rojos

2.7.3 Determinación de hemoglobina en sangre

### 2.8 Tratamiento estadístico.

2.9 Determinación de la DL<sub>50</sub> aproximada de Tl(I).

### 3.- RESULTADOS

3.1 Determinación de la DL<sub>50</sub> aproximada de Tl(I).

3.2 Determinación de talio en orina y heces

3.3 Consumo de alimento, agua y variación de peso corporal.

3.4 Volumen, osmolaridad, excreción de iones Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y relación K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> en la orina.

3.5 Excreción de materia fecal.

3.6 Concentración de talio en órganos.

3.7 Peso de órganos.

3.8 Signos externos de toxicidad observados en los animales tratados con Tl(I).

3.9 Eliminación de cobre en orina y heces.

3.10 Concentración de cobre en órganos.

3.11 Parámetros hematológicos.

### 4.- DISCUSION

### 5.- CONCLUSIONES

### 6.- BIBLIOGRAFIA

## 1.- INTRODUCCION

### 1.1 TALIO

#### 1.1.1 HISTORIA

El talio fue descubierto en 1861 por Sir William Crookes. Antiguamente fue considerado como un agente terapéutico en el tratamiento de la tuberculosis, gonorrea y sífilis. En 1920 el acetato de talio se empleó en el tratamiento de la tiña causando varias muertes, principalmente en niños<sup>(1)</sup>. En 1930 el sulfato de talio se utilizó en la elaboración de rodenticidas, difundiendo-se ampliamente, lo cual incrementó el número de accidentes, suicidios y homicidios, originando la restricción en su uso en la mayor parte del mundo. Sin embargo, en algunas regiones de Italia, Francia, Alemania, América del Sur y México aún puede ser adquirido<sup>(2)</sup>.

#### 1.1.2 PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

El talio se encuentra localizado en el grupo IIIA de la tabla periódica, es un metal tóxico y acumulativo, cuyo peso atómico es 204.4 g/mol; tiene dos estados de valencia, +1 y +3; es soluble en ácidos y forma sales talosas ( $Tl^+$ ) y talicas ( $Tl^{+3}$ ), ambas son solubles en agua y no son hidrolizadas a óxidos en el pH fisiológico; sin embargo las primeras son más básicas y estables<sup>(3)</sup>. El talio posee afinidad por los grupos tioles y los ligan-

dos que contienen azufre, pero no bloquea los grupos  $\text{SH}^-$  de algunas enzimas y proteínas. Posee muy poca afinidad por los grupos  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NH}$  y  $\text{PO}_4^{-3}$  (4).

### 1.1.3 RELACION CON EL POTASIO.

Los iones  $\text{Tl}^+$  se comportan en forma similar a los iones  $\text{K}^+$ , debido probablemente a su similitud en el radio iónico y en la carga ( $\text{K}^+$ , 0.133 nm;  $\text{Tl}^+$ , 0.144 nm), provocando que los iones  $\text{Tl}^+$  sustituyan a los iones  $\text{K}^+$  principalmente en la ATPasa ( $\text{Na}^+-\text{K}^+$ ), siendo más efectivos que los iones  $\text{K}^+$  por la presencia de dos electrones  $6s^2$  en los orbitales más externos, los cuales forman enlaces complejos adicionales (5); esta sustitución de  $\text{K}^+$  por  $\text{Tl}^+$  en concentraciones de 0.1 - 1.0 mM en la ATPasa ( $\text{Na}^+-\text{K}^+$ ) también se ha observado en las células del riñón, en los microsomas del cerebro de bovino (6) y en las membranas fragmentadas de los glóbulos rojos humanos (7,8).

Por otra parte también se ha observado que los nitratos de talio y de potasio tienen el mismo efecto sobre las contracciones del músculo recto abdominal (9).

### 1.1.4 DISTRIBUCION Y OBTENCION

En el medio ambiente el talio se encuentra distribuido en la corteza terrestre, principalmente en Estados

Unidos y Brasil, formando parte de los minerales crokecita ( $TlCuAg_2Se$ ), lorandita ( $TlAsS_2$ ) y orbeitita ( $TlAs_2SbS_5$ ), así como en otras formaciones rocosas que contienen feldespatos y micas de potasio en concentraciones de 1 mg Tl/kg. En el agua de mar se encuentra en concentraciones de 0.01  $\mu g/l$ ; en ambos casos el talio se encuentra formando complejos de  $Tl^{+3}$  con el oxígeno atmosférico (4).

Comercialmente se obtiene como subproducto de las cenizas generadas durante el proceso de calcinado de la pirita utilizada en la fundición y refinamiento del plomo y del cinc; también puede obtenerse como subproducto en la producción de cadmio y como residuo en la producción de ácido sulfúrico por el proceso de las cámaras de plomo (4).

#### 1.1.5 USOS

El talio se usa en forma de  $Tl_2SO_4$  como rodenticida y en forma de  $Tl_2CO_3$  como fungicida e insecticida; algunas sales de talio se usan como catalizadores en reacciones orgánicas de oxidación de hidrocarburos a olefinas, así como en reacciones de polimerización y epoxidación. El bromoyoduro de talio se usa en la fabricación de lentes y prismas para instrumentos ópticos de infrarrojo; unido al mercurio se utiliza en la fabrica-



ción de termómetros de bajas temperaturas; también se utiliza en la fabricación de celdas fotoeléctricas, en detectores para contadores de centelleo, colorantes, pigmentos, imitación de piedras preciosas y en análisis mineralógico<sup>(10)</sup>.

#### 1.1.6 EXPOSICION AMBIENTAL Y OCUPACIONAL

La contaminación del agua de bebida puede ocurrir cerca de industrias que realizan las operaciones de refinado y fundición de Cu, Zn y Cd. Se han encontrado concentraciones de 0.7-88  $\mu\text{g}/\text{l}$  en un río donde se descargaba el agua utilizada en una planta minera; mientras que la concentración de talio presente en la flora de ese río era de 9.5-162  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>(11)</sup>.

Las fuentes de exposición más importantes las constituyen las emisiones al aire de plantas que utilizan carbón como combustible y de las fundidoras de Cu, Pb y Zn. Se han comunicado algunos casos de intoxicación crónica con talio en una población cercana a una planta cementera en Alemania<sup>(12)</sup>. Pueden encontrarse pequeñas cantidades de talio en alimentos debido al uso de fertilizantes derivados de potasa<sup>(4)</sup>.

La exposición ocupacional está relacionada con la producción de diamantes artificiales, compuestos clorinados, elaboración de lentes, vidrios ópticos, instru-

mentos de infrarrojo, celdas fotoeléctricas y roenticidas (10).

Además de la exposición ambiental y ocupacional es importante mencionar algunos intentos suicidas y homicidas provocados por la ingestión de talio (13, 14).

### 1.1.7 TOXICOCINETICA.

#### 1.1.7.1 ABSORCION

La exposición a los compuestos de talio puede ser por vía oral, dérmica o por inhalación. La absorción de las sales de talio administradas por vía peritoneal, subcutánea e intramuscular es rápida y completa; las sales de talio inhaladas son rápidamente absorbidas a través de las membranas mucosas del tracto respiratorio, de la boca y de los pulmones. Una vez absorbido, el talio es transportado en la sangre hacia los tejidos en forma iónica, uniéndose parcialmente a los eritrocitos durante su transporte (3).

Brockhaus, et. al., (12) estudiaron una población cercana a una planta cementera expuesta a talio por inhalación y por el consumo de alimentos contaminados, encontrando una absorción excesiva de talio, debido a la ingestión de alimentos, lo cual pudo ser comprobado por una mayor concentración de talio en la orina.

Algunos autores han indicado que la absorción por

el tracto gastrointestinal se realiza rápidamente y en forma total, debido a su presencia en la orina y en las heces una hora después de su administración (15,1).

#### 1.1.7.2 DISTRIBUCION Y ACUMULACION

Una vez absorbido el talio se deposita principalmente en riñón (2.15% dosis Tl/g), mientras que la concentración de talio en los tejidos grasos es baja, como en el caso del cerebro (0.13% dosis Tl/g). El talio también se deposita en testículos (0.39% dosis Tl/g), huesos (0.42% dosis Tl/g), músculo esquelético (0.49% dosis Tl/g), hígado (0.33% dosis Tl/g); en el corazón se encuentra 0.20% dosis Tl/g debido al mecanismo de intercambio  $K^+/Tl^+$  (15,16).

Rauws (17) encontró que la concentración de talio en la sangre decrece rápidamente durante los primeros minutos después de su ingestión; después de 24 horas el talio en la sangre se localiza principalmente en los glóbulos rojos.

Debido a su acumulación en testículos, tiroides, páncreas y glándulas suprarrenales se sugirió que algunos de los síntomas toxicológicos se debían a cambios degenerativos causados en estas glándulas (18).

### 1.1.7.3 BIOTRANSFORMACION.

Hasta ahora no se ha demostrado que los compuestos de talio sean biotransformados.

### 1.1.7.4 EXCRECION

La excreción de los compuestos de talio es lenta y se realiza principalmente a través del tracto gastrointestinal y del riñón. En conejos se encontró que aproximadamente la mitad de la cantidad filtrada a través del glómerulo era reabsorbida en el túbulo<sup>(15)</sup>.

En estudios "in vitro" realizados por Schafer y Forth<sup>(19)</sup> se demostró que el talio podría ser excretado a través de la mucosa del epitelio del tracto gastrointestinal en contra de un gradiente de concentración. Se ha evidenciado una actividad mayor excretora en el yeyuno seguido por el colón ascendente, el ileon y el colón descendente<sup>(20)</sup>.

En estudios realizados con el intestino canulado de ratas privadas de alimento durante 20 horas previas a su intoxicación, se encontró que la cantidad excretada de talio a través del tracto gastrointestinal era aproximadamente el doble de la excretada a través de la orina<sup>(20)</sup>.

El talio también puede eliminarse en menor proporción a través del pelo, la leche y la barrera placentaria.

Thyresson demostró que después de la ingestión de 20 mg  $\text{TlNO}_3$ /kg de peso, 4.4% de la dosis administrada fue excretada a través de la orina y de las heces en el primer día, 36.7% en la primera semana y 61.0% después de cuatro semanas (21).

La excreción de talio a través de la orina puede incrementarse con una dieta rica en potasio, aproximadamente desde 21% hasta 57% (22).

#### 1.1.8 EFECTOS TOXICOS

##### 1.1.8.1 EFECTOS AGUDOS Y SUBAGUDOS

Los efectos de toxicidad aguda en las ratas han indicado que la  $\text{DL}_{50}$  oral es aproximadamente de 30 mg/kg, mientras que la  $\text{DL}_{50}$  estimada en los seres humanos es de 8-12 mg/kg (23). Se ha encontrado que en las ratas, el aumento en la ingestión de potasio aumenta la  $\text{DL}_{50}$  del talio (10).

En general, la intoxicación aguda se caracteriza por náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal. Puede presentarse enteritis, pérdida de peso y colitis severa.

Se producen cambios degenerativos en riñón, hígado e intestino, así como visceromegalia generalizada (24). A nivel del riñón se ha encontrado albuminuria; en la orina se han encontrado sedimentos patológicos y ocasionalmente eritrocitos y leucocitos con hipertensión, lo

que puede sugerir una nefritis<sup>(2)</sup>.

En casos severos y fatales, en el sistema nervioso central se ha observado parálisis pseudobulbar, neuritis del nervio óptico, demencia progresiva, disturbios en la coordinación motora y raros focos de necrosis en el cerebro.

En el sistema hematopoyético durante las etapas iniciales de la intoxicación, se ha encontrado una ligera disminución en linfocitos y en casos muy severos puede producirse anemia por inanición. También pueden producirse disturbios en el almacenamiento del hierro y en el metabolismo de las porfirinas<sup>(2)</sup>.

Se ha observado que el talio inhibe la formación de queratina; la piel se vuelve seca, desaparece la sudoración y presenta zonas de eritema. Uno de los síntomas más característicos de la intoxicación por talio es la alopecia y el depósito de pigmento en las raíces del cabello<sup>(25)</sup>.

#### 1.1.8.2 EFECTOS CRONICOS.

En la intoxicación crónica se ha observado en las ratas, pérdida de pelo en todo el cuerpo y en el área periorbital; irritabilidad durante el manejo, diarrea y poca ganancia de peso. A nivel de microscopía electrónica se encontraron alteraciones morfológicas en el ri-

rión y en el hígado; en el riñón se encontró hinchamiento y pérdida de las microvellosidades en los túbulos proximales, mientras que en los hepatocitos se produjo un aumento en la concentración de lípidos (26).

En los seres humanos se observó una ligera pérdida de cabello, polineuritis y dificultad para caminar, así como severas lesiones cerebrales (2).

Durante la pregnancia, el talio puede pasar al feto, el cual al nacer puede presentar alopecia, disturbios en el crecimiento de las uñas y lesiones permanentes en el sistema nervioso central (2).

#### 1.1.8.3 MECANISMO DE TOXICIDAD

Gross, et. al., (27) propusieron que el talio se combina con los grupos SH<sup>-</sup> libres de la l-homocisteína y de la l-cisteína, ambos precursores de la l-cistina, originando una deficiencia de este aminoácido. Esta deficiencia de cistina puede causar a su vez una deficiencia de glutatión y de otras proteínas, lo cual podría verse reflejado por la pérdida de cabello y la pérdida de peso.

Herman y Bensch (26) sugieren que un mecanismo de la acción selectiva del talio en la mitocondria es su capacidad para reaccionar con los grupos SH<sup>-</sup> de las membranas mitocondriales interfiriendo con la fosforilación

oxidativa, causando hinchazón y degeneración de las mitocondrias. En la mitocondria del hígado de la rata, el talio desacopla la fosforilación oxidativa, pero no altera de manera irreversible la integridad de la membrana, ni inhibe el transporte de electrones (28).

El talio activa la piruvato kinasa del músculo del conejo en concentraciones de 2 mM  $Tl^+$ ; sin embargo, en concentraciones de 10 mM  $Tl^+$  inhibe a esta enzima debido a la formación del complejo ADP- $Tl^+$  (29). El talio activa también varias fosfatasa dependientes de potasio, tales como la AMP-deaminasa, la acetilfosfatasa y la p-nitrofenilfosfatasa en los microsomas del cerebro de bovino, teniendo una afinidad de 9-10 veces mayor que la del potasio (6).

En estudios sobre el riñón, el cerebro y la piel, se ha encontrado inhibición en la captación y utilización de oxígeno. Se ha demostrado también inhibición en la formación de queratina, así como acumulación de talio en las células del folículo piloso (25).

El talio altera el metabolismo de las porfirinas provocando la presencia de coproporfirina III en la orina, lo cual puede manifestarse en forma de constipación, cólicos abdominales, taquicardia y polineuritis (25).

Durante la intoxicación se ha observado un incremento significativo en la peroxidación de lípidos en el



cerebelo, provocando daños en las biomembranas y en los organelos subcelulares, también se ha encontrado que se incrementa la deposición de un pigmento similar a la lipofuscina en las neuronas del cerebelo<sup>(30)</sup>.

#### 1.1.9 ANTECEDENTES

En estudios recientes realizados en el laboratorio se observó que al administrar sulfato de talio a ratas en forma aguda, se produce un incremento en la excreción de cobre en la orina con respecto a un grupo control, lo cual puede originar graves desequilibrios en la concentración de cobre en el organismo.

En un estudio realizado en Japón con personas expuestas a cadmio en el medio ambiente, se evaluó el efecto sobre el metabolismo de cobre, encontrándose un incremento en la excreción de cobre en la orina, el cual puede ser atribuido a un daño tubular renal<sup>(31)</sup>.

El cobre es un elemento esencial en el metabolismo humano; en general posee gran afinidad por los ligandos que contienen azufre y nitrógeno<sup>(3)</sup>.

El cobre participa en la formación de la sangre y en la utilización de hierro en la síntesis de hemoglobina; en la síntesis y entrecruzamiento de elastina y colágena en la aorta y en los grandes vasos sanguíneos; en los procesos de oxidación como constituyente de va-

rias enzimas oxidativas como superóxido dismutasa, mono amino oxidasa, citocromo c oxidasa y tirosinasa, la cual es necesaria en la formación de pigmentos de melanina y como constituyente de algunas proteínas, tales como la ceruloplasmina (32).

Los requerimientos necesarios de cobre son: 0.03 mg/día/kg de peso en adultos y de 0.08 mg/día/kg de peso en infantes y niños.

Aproximadamente entre el 40-70% del cobre ingerido diariamente a través de la dieta se absorbe en el estómago y en el yeyuno. En el intestino el cobre se absorbe por medio de una proteína citosólica, llamada metalotioneína, la cual tiene la capacidad de enlazar al cobre. Se ha sugerido que el porcentaje de cobre absorbido decrece al incrementar su ingestión (32).

El transporte de cobre a través de las células intestinales hacia la circulación portal se encuentra controlado por un mecanismo hereditario ligado al cromosoma X. Una porción del cobre absorbido se transporta en el plasma unido a la albúmina y a ciertos aminoácidos, principalmente hacia el hígado y la médula ósea. El cobre depositado en el hígado se enlaza a una proteína rica en grupos tioles y en menor proporción a proteínas de elevado peso molecular como la hepatocupreína o superóxido dismutasa (32). Los principales depósitos de cobre son el

hígado, cerebro, uñas, pelo y músculo (33).

El cobre se excreta principalmente a través de la bilis, la excreción a través de la orina es lenta; sin embargo, en la enfermedad de Wilson (enfermedad hereditaria caracterizada por rigidez de las extremidades, dificultad de la palabra y de la deglución. Suele asociarse con la cirrosis hepática), la excreción urinaria de cobre aumenta considerablemente. Se ha demostrado que en los seres humanos la excreción de cobre está influenciada por la ingestión de molibdeno (34). Se ha encontrado que pacientes con síndrome nefrótico excretan una elevada cantidad de cobre en la orina debido probablemente a la pérdida de ceruloplasmina (35).

La deficiencia de cobre puede deberse a una mala nutrición, a una absorción deficiente o por desordenes genéticos como en el caso de la enfermedad de Menkes (síndrome probablemente hereditario de transmisión recesiva ligada al sexo, observado en niños de 3 a 6 meses. Anomalia del cabello y signos de lesión cerebral), en el cual ocurre una absorción anormalmente baja, aproximadamente 1%, provocando una disminución de los niveles de cobre en los tejidos (36,37).

En los adultos la deficiencia de cobre se puede producir cuando su ingestión o su absorción se reduce drásticamente o en el caso de una administración prolongada

de D-penicilamina o trietileno-tetramina, las cuales provocan una disminución de cobre en los tejidos debido al efecto de quelación que tienen sobre este elemento, incrementando su excreción<sup>(38)</sup>.

Además una elevada exposición a Cd, Co, Zn ó Mo puede causar una deficiencia de cobre<sup>(34,39)</sup>.

Se ha indicado que la deficiencia de cobre está acompañada por una disminución de hierro en el tracto gastrointestinal<sup>(40)</sup>.

En una población de alces de Alaska, la deficiencia de cobre originó pezuñas defectuosas, defectos en la queratinización y disminución en la tasa de reproducción; el defecto en la queratinización se ligó a una disminución en el contenido de cobre y por medio de un análisis químico de espectroscopía electrónica se encontró un entrecruzamiento incompleto en el azufre de la queratina de la pezuña<sup>(41)</sup>. La deficiencia de cobre produce también en animales anemia notoria, relacionada en forma directa con la concentración de cobre y de ceruloplasmina en la sangre<sup>(42)</sup>, neutropenia, leucopenia, así como una disminución en el tiempo de sobrevivencia de los glóbulos rojos de la sangre; las ratas desarrollan lesiones cerebrales, el peso del cerebro se reduce 11%, se produce necrosis en las neuronas, lesiones y desmielinación en la médula ósea<sup>(43)</sup>, queratinización anormal y pérdida de proteínas

ricas en azufre. Se ha observado que el pelo de las ratas y la lana de las ovejas pierden brillo y pigmentación y tiende a caerse; a nivel del riñón se ha observado atrofia glomerular y tubular (39,44).

En la enfermedad de Menkes se ha informado de algunos casos de hepatomegalia (45); los niveles de cobre en el pelo pueden estar reducidos y a nivel del riñón se ha reportado hidronefrosis e hidroureter.

La deficiencia de cobre origina en las ratas alargamiento y alteración en la forma de las mitocondrias hepatocelulares, así como una disminución de citocromo c-oxidasa (32).

## 1.2 OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo son:

- 1.- Determinar la  $DL_{50}$  oral aproximada en ratas intoxicadas con Tl(I) y evaluar el curso temporal de los efectos producidos sobre los parámetros de control.
- 2.- Estudiar la absorción y la acumulación de Tl(I) en ratas administradas con ayuno y sin ayuno.
- 3.- Determinar los niveles de cobre en muestras de orina, heces, órganos, tejidos y sangre de ratas intoxicadas con Tl(I).

## 2. MATERIAL Y METODOS

### 2.1 REACTIVOS Y SOLVENTES

Se utilizó  $Tl_2SO_4$  (Merck),  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (Merck),  $HNO_3$  grado analítico (J.T.Baker),  $H_2SO_4$  grado analítico (J.T. Baker),  $HClO_4$  grado analítico (J.T.Baker), éter sulfúrico grado analítico (J.T.Baker), agua destilada y solución de EDTA al 10%.

### 2.2 TRATAMIENTO DE LOS ANIMALES.

Se utilizaron ratas Wistar macho (200-250 g de peso), las cuales se colocaron en jaulas metabólicas durante un periodo de adaptación de 7 días; los animales se alimentaron con Nutricubos Purina y agua "ad libitum". Durante este periodo se controló diariamente el volumen de orina, la excreción fecal, al agua ingerida, el consumo de alimento, el peso corporal; la osmolaridad y la concentración de iones  $Na^+$  y  $K^+$  en la orina con el objeto de tener los datos control.

Se utilizaron 6 grupos de cinco ratas cada uno, los cuales recibieron las siguientes dosis:

- Grupo 1.- 17.0 mg Tl/kg de peso como  $Tl_2SO_4$  sin ayuno
- Grupo 2.- " " " con ayuno
- Grupo 3.- 18.5 mg Tl/kg de peso como  $Tl_2SO_4$  sin ayuno
- Grupo 4.- " " " con ayuno
- Grupo 5.- 20.0 mg Tl/kg de peso como  $Tl_2SO_4$  sin ayuno

Grupo 6.- 20.0 mg Tl/kg de peso como  $Tl_2SO_4$  con ayuno

El sulfato de talio se administró en forma de solución disuelto en agua, por sonda gástrica en un volumen aproximado de 0,5 ml.

Los animales se mantuvieron en jaulas metabólicas durante 14 días después de la administración con ciclos de luz y sombra controlados de 10 y 14 horas respectivamente.

Se recogieron las muestras de orina y heces de todos los animales cada 24 horas, midiéndose además lo siguiente: agua ingerida, consumo de alimento y peso corporal; en la orina además se determinó la osmolaridad y la concentración de iones  $Na^+$  y  $K^+$ .

Después del día 14, los animales se sacrificaron anestesiándolos en una cámara de éter y por punción cardíaca se extrajo la sangre, la cual se colocó en tubos viales que contenían 100  $\mu$ l de EDTA al 10%.

Se extrajeron los siguientes órganos: bazo, cerebro, corazón, hígado, pulmón, riñón y testículos, los cuales se pesaron inmediatamente después de ser extraídos, también se tomó una muestra de intestino, músculo, fémur, pelo y piel. Posteriormente los órganos y tejidos se almacenaron en congelación hasta su análisis.

En todos los grupos se determinó la concentración



de cobre y de talio en orina, heces, órganos, tejidos y sangre por espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.cada 24 horas.

También se tomó una muestra de agua y de alimento en cada lote para la determinación de cobre.

Inmediatamente después de ser extraída la sangre, se realizó la biometría hemática por medio de un contador de células (Coulter Electronics).

### 2.3 DETERMINACION DE TALIO EN URINA, HECES, ORGANOS, TEJIDOS Y SANGRE POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA (EAA).

Se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica (Varian), modelo AA-175, equipado con horno de grafito (Varian), modelo CRA-90. Se utilizó una lámpara de cátodo hueco para talio a una longitud de onda de 276.8 nm; amplitud de banda espectral de 0.5 nm., flujo de nitrógeno de 3 l/min, flujo de hidrógeno de 1 l/min y un flujo de agua controlado como enfriador del cilindro de grafito.

El horno de grafito se ajustó bajo las siguientes condiciones:

- Secado: 100°C durante 50 segundos
- Cenizas: 800°C durante 30 segundos
- Atomizado: 2100°C durante 1.5 segundos con un

gradiente de temperatura de 500°C/seg.

### 2.3.1 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE ORINA, HECES, ORGANOS, TEJIDOS Y SANGRE PARA LA DETERMINACION DE TALIO POR EAA.

Se pesaron aproximadamente 100 mg de las muestras de heces, órganos, tejidos y sangre y se tomó 1 ml de la muestra de orina, en todos los casos las muestras se sometieron a un proceso de digestión en caliente con  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HClO}_4$  en relación (4:2:1) respectivamente, hasta sequedad.

Posteriormente a todas las muestras se les adicionó 1 ml de  $\text{HNO}_3$  al 50% y se hizo una dilución con agua 1:10 para heces y orina y una dilución 1:5 para órganos, tejidos y sangre. A partir de esta solución, se tomaron 5 µl con una micropipeta (Excalibur) y se inyectaron dentro del cilindro de grafito para su determinación.

### 2.3.2 CURVA ESTANDAR DE TALIO

Se prepararon soluciones con las siguientes concentraciones: 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 ppm de talio a partir de una solución de sulfato de talio.

Antes de realizar la determinación de cada una de las muestras se preparó una solución estándar de talio de concentración conocida para verificar la sensibili-

dad del aparato.

#### 2.4 DETERMINACION DE COBRE EN ORINA, HECES, ORGANOS, TEJIDOS Y SANGRE POR EAA.

Se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica (Varian), modelo AA-175, equipado con horno de grafito (Varian), modelo CRA-90. Se utilizó una lámpara de cátodo hueco para cobre, a una longitud de onda de 324.8 nm, amplitud de banda espectral de 0.5 nm, flujo de nitrógeno de 3 l/min y flujo de agua controlado.

Las condiciones del horno de grafito fueron las siguientes:

- Secado : 100°C durante 50 segundos
- Cenizas: 800°C durante 30 segundos
- Atomizado: 2200°C durante 1.5 segundos, con un gradiente de temperatura de 500°C/seg.

##### 2.4.1 TRATAMIENTO DE TEJIDOS, HECES, ORGANOS, SANGRE Y ALIMENTO PARA LA DETERMINACION DE COBRE POR EAA.

Se pesaron aproximadamente 100 mg de muestra, la cual se sometió a un proceso de digestión con  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HClO}_4$  en relación (4:2:1) respectivamente hasta sequedad.

Posteriormente a todas las muestras se les adicionó 1 ml de  $\text{HNO}_3$  al 50% y se diluyeron con agua destilada en relación 1:5 para órganos, tejidos, sangre y ali-

mento y en relación 1:100 para heces. A partir de estas soluciones, se tomaron 5  $\mu$ l con una micropipeta (Excalibur) y se inyectaron dentro del cilindro de grafito para su determinación.

#### 2.4.2 TRATAMIENTO DE ORINA Y AGUA PARA LA DETERMINACION DE COBRE POR EAA.

Las muestras de orina y de agua se diluyeron directamente 1:1 con una solución de  $\text{HNO}_3$  al 0.05% y posteriormente se analizaron tomando 5  $\mu$ l de muestra con una micropipeta (Excalibur).

#### 2.4.3 CURVA ESTANDAR DE COBRE.

Se prepararon soluciones con las siguientes concentraciones: 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ppm de cobre a partir de una solución de sulfato de cobre.

Antes de realizar la determinación de cada una de las muestras se preparó una solución estándar de cobre de concentración conocida para verificar la sensibilidad del aparato.

#### 2.5 DETERMINACION DE OSMOLALIDAD EN ORINA.

Se utilizó un osmómetro de precisión (Osmette), modelo 2007, basado en el descenso del punto de congelación. Se utilizaron 200  $\mu$ l de orina, la cual se intro

dujo dentro de un tubo de prueba para su medición.

## 2.6 DETERMINACION DE SODIO Y POTASIO EN ORINA

Se utilizó un flamómetro (Perkin-Elmer), modelo Coleman 51. Las muestras de orina se diluyeron 1:10 con agua destilada y se procedió a su medición. Para la calibración del instrumento se utilizaron dos soluciones estándar para sodio de 10 y 35 meq/l y dos soluciones estándar para potasio de 10 y 90 meq/l.

## 2.7 DETERMINACION DE PARAMETROS HEMATOLOGICOS.

### 2.7.1 DETERMINACION DE GLOBULOS BLANCOS.

Se hizo una dilución 1:500 a partir de la muestra de sangre con Isotón II (Coulter Electronics), utilizando un dilutor (Coulter Electronics), modelo Dual Diluter III. La composición del Isotón II es la siguiente:

Cloruro de sodio	7.93 g/l
Etilendiamintetracetato disódico	0.38 g/l
Cloruro de potasio	0.40 g/l
Fosfato monosódico	0.19 g/l
Fosfato disódico	1.95 g/l
Fluoruro de sodio	0.30 g/l

A la solución 1:500 se le agregaron 3 gotas de Zap-Oglobin II (Coulter Electronics) con el propósito de hemo

lizar los glóbulos rojos. Se determinó el número de glóbulos blancos y el volumen celular medio con un Coulter Counter modelo ZBI, equipado con un Coulter MCV/Hct (Coulter Electronics) utilizando las siguientes condiciones:

- límite inferior 10
- límite superior 110
- carga de la partícula ;
- orificio del tubo 100 micras
- volumen de muestra 500  $\mu$ l

Posteriormente se determinó la distribución del tamaño celular, por medio del Coulter Channelyzer, modelo C-1000 (Coulter Electronics) en un intervalo de 21.4 - 65.9  $\mu$ m<sup>3</sup>, con un canal de base de 12, ancho de ventana de 25 y con un límite máximo de 400.

El volumen de la partícula en cada canal se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula: (46)

$$[\text{No. de canal} \times \frac{WW}{100} + BC] \times F = \mu\text{m}^3$$

donde:

No. de canal: canal donde se requiere conocer el volumen de la partícula.

WW: ancho de ventana

BC: canal de base

F: factor de calibración = 1.78

### 2.7.2 DETERMINACION DE GLOBULOS ROJOS.

Se hizo una dilución 1:50,000 a partir de la muestra de sangre con Isotón (Coulter Electronics), utilizando un dilutor modelo Dual Diluter III (Coulter Electronics). Se determinó el número de glóbulos rojos, el hematocrito y el volumen celular medio con un Coulter Counter, modelo ZBI equipado con un Coulter MCV/Hct (Coulter Electronics). Posteriormente se determinó la distribución del tamaño celular con las siguientes condiciones:

Intervalo	18.3 - 71.2 $\mu\text{m}^3$
canal de base	10
ancho de ventana	30
límite máximo	4K

### 2.7.3 DETERMINACION DE HEMOGLOBINA EN SANGRE.

Se hizo una dilución 1:500 a partir de la muestra de sangre con Isotón (Coulter Electronics), utilizando un dilutor modelo Dual Diluter III (Coulter Electronics), posteriormente se agregaron 3 gotas de Zap-Oglobin II (Coulter Electronics) con el propósito de convertir la hemoglobina en cianometahemoglobina y se determinó la concentración de hemoglobina por medio del Coulter Haemoglobinometer (Coulter Electronics).

## 2.8 ANALISIS ESTADISTICO.

Se promediaron los valores individuales de cada grupo y se obtuvo la media y la desviación estándar, también se comparó el valor control promedio con los valores obtenidos de cada grupo.

Se utilizó la prueba de "t" de Student para demostrar la significación entre los valores control promedio y los valores obtenidos de las ratas intoxicadas. Se consideró como significativos, a aquellos valores cu ya  $p < 0.05$

## 2.9 DETERMINACION DE LA DL<sub>50</sub> APROXIMADA DE T1(1).

Se utilizaron los animales de cada uno de los grupos descritos anteriormente. Se señaló un periodo de observación de 14 días con base a ensayos preliminares, donde el mayor número de muertes se encontraba entre el tercero y noveno día. Todos los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento durante el estudio y en lo posible se trató de efectuar la necropsia de los animales muertos en el estudio inmediatamente después del deceso.

El valor de la DL<sub>50</sub> se obtuvo por el método de Logit, verificando que los puntos se ajustaran a una recta por medio del análisis de regresión lineal.



### 3.- RESULTADOS.

#### 3.1 DETERMINACION DE LA DL<sub>50</sub> APROXIMADA.

En el cuadro 3.1 se muestra el número de muertes que se presentaron en cada uno de los grupos ensayados a diferentes dosis para la determinación aproximada de la DL<sub>50</sub> de Tl(I) administrado por vfa oral, a ratas intoxi cadas sin ayuno y con ayuno previo de 24 horas. En la fig. 3.1 se muestran los datos graficados por el método logit. El valor de la DL<sub>50</sub> para las ratas con ayuno y sin ayuno previo fue de 19.5 y de 19.7 mgTl/kg respectivamente.

#### 3.2 DETERMINACION DE TALIO EN ORINA Y HECES.

En las ratas a las cuales se les administró 17.0, 18.5 y 20.0 mgTl/kg sin ayuno previo se observó una mayor eliminación de talio en la orina, expresado como % de la dosis, en comparación con los respectivos grupos que fueron sometidos a ayuno antes de la administración de talio, tal y como se muestra en las figs. 3.2-3.4. Se puede observar que después del sexto día, la eliminación de talio a través de la orina es muy baja.

Por otra parte, la eliminación de talio a través de la materia fecal es mayor en los grupos con ayuno previo; esta eliminación es importante durante los seis primeros días (figs. 3.5-3.7), posteriormente no se observó una

TABLA 3.1

CURVA DE MORTALIDAD PARA RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON T1(I) CON AYUNO Y SIN AYUNO PREVIO (METODO LOGIT).

DOSIS mg/kg	$\ln$ DOSIS	PROPORCION MUERTA	% MORTALIDAD	LOGIT $\ln(\%M/100-\%M)$
CON AYUNO P.				
17.0	2.83	0/5	0	-
18.5	2.92	0/5	0	-
20.0	3.00	4/5	80	1.39
SIN AYUNO P.				
17.0	2.83	0/5	0	-
18.5	2.92	1/5	20	-1.39
20.0	3.00	3/5	60	0.41

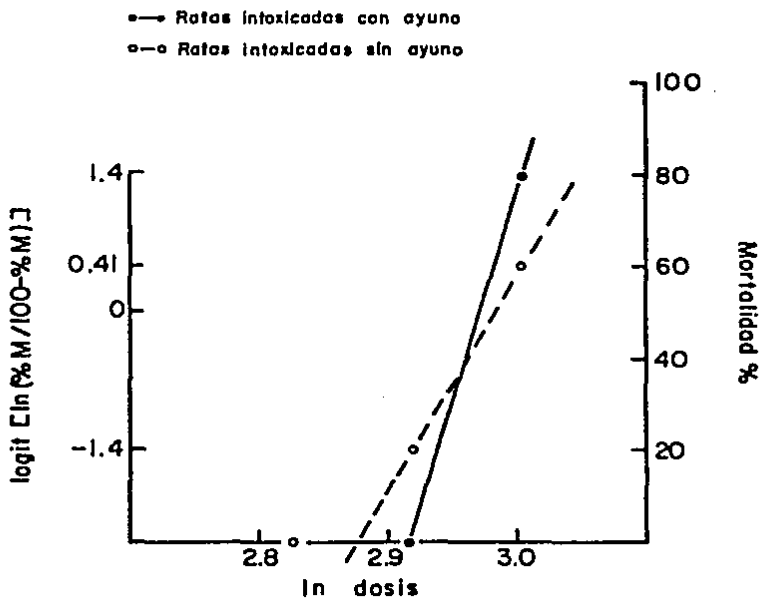


FIG. 3.1: Determinación de la  $DL_{50}$  de Tl(I) administrado por vía oral a ratas con ayuno y sin ayuno previo. Cada punto representa una dosis.

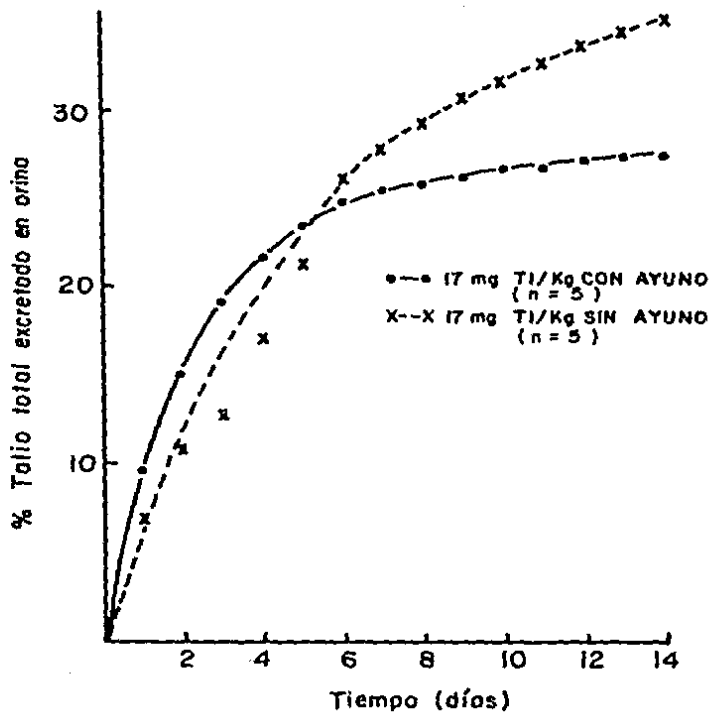


FIG. 3.2: Excreción acumulada de talio en la orina de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I), expresada como % de la dosis administrada.

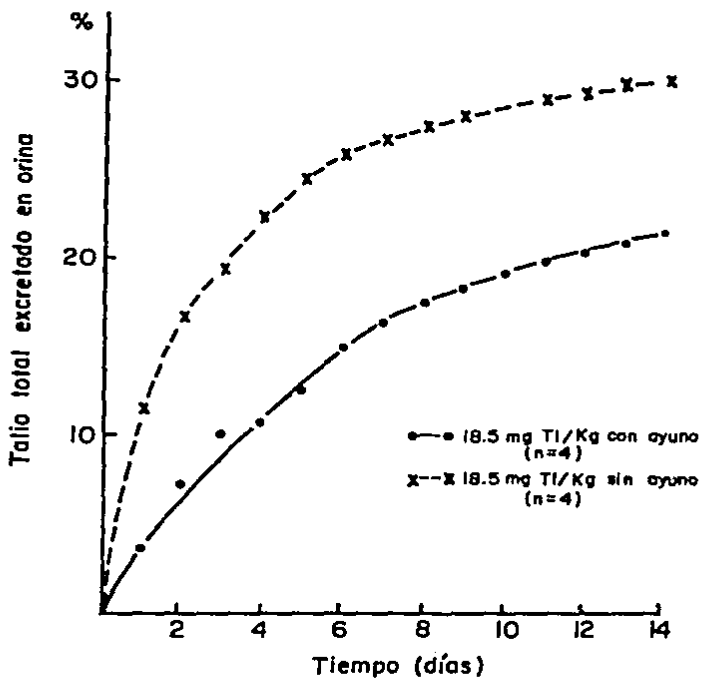


FIG. 3.3: Excreción acumulada de talio en orina de ratas intoxicadas por vfa oral con Tl(I), expresada como % de la dosis administrada.

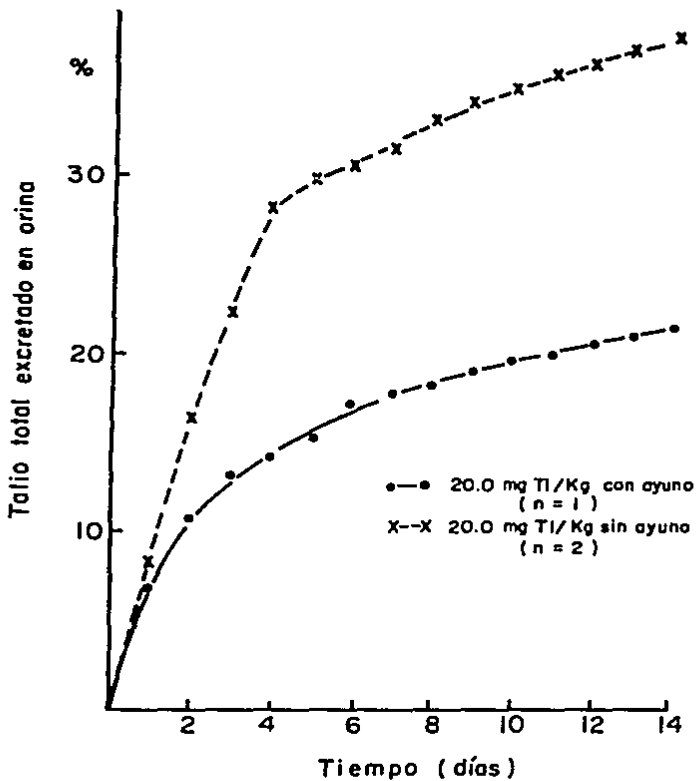


FIG. 3.4: Excreción acumulada de talio en la orina de ratas intoxicadas con TI(I) por vía oral, expresada como % de la dosis administrada.

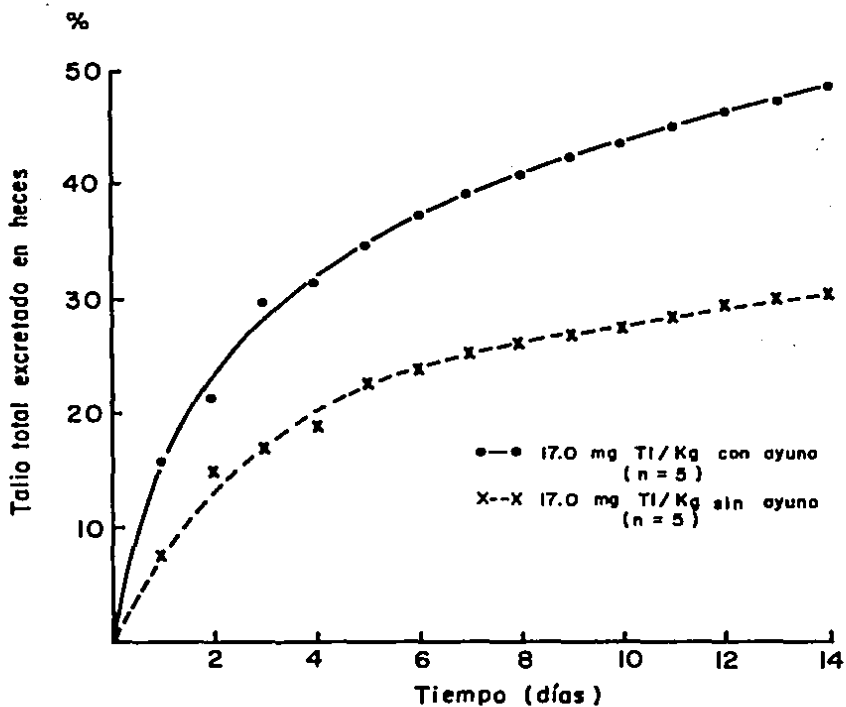


FIG. 3.5: Excreción acumulada de talio en heces de ratas intoxicadas por vfa oral con Tl(I), expresada como % de la dosis administrada de Tl(I).

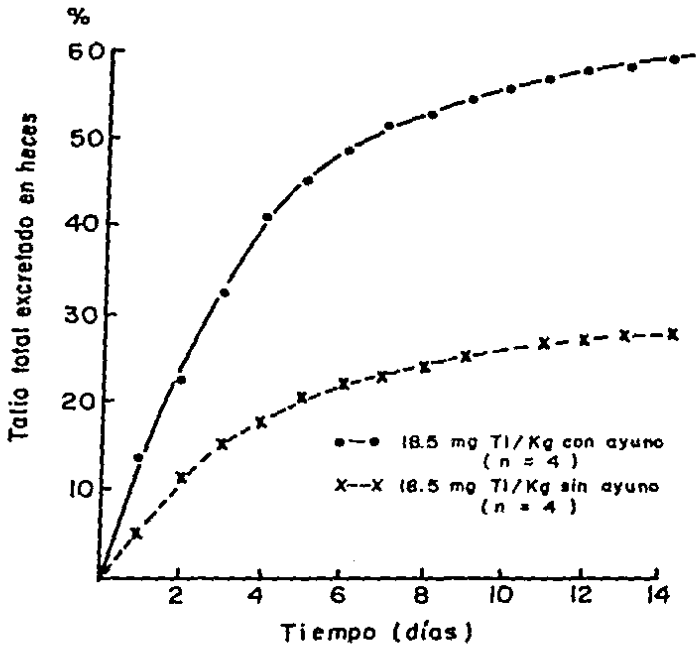


FIG. 3.6: Excreción acumulada de talio en heces de ratas intoxicadas con Tl(I) por vía oral, expresada como % de la dosis administrada.



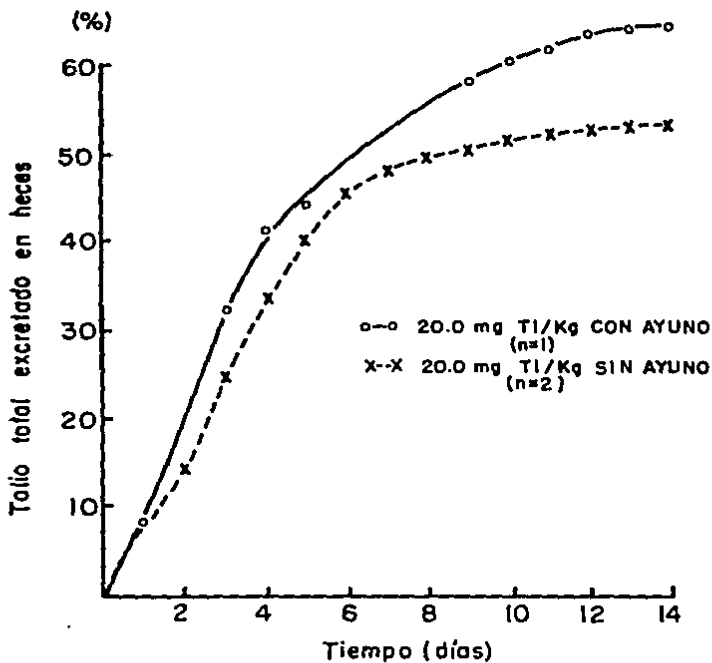


FIG. 3.7: Excreción acumulada de talio en heces de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I), expresada como % de la dosis administrada.

gran eliminación de tallo a través de las heces.

La acumulación de tallo en el organismo de las ratas expuestas a dosis de 17.0 y 18.5 mgTl/kg por vía oral sin ayuno previo es mayor a la encontrada en los grupos sometidos a ayuno (figs. 3.8-3.10).

### 3.3 CONSUMO DE ALIMENTO, AGUA Y VARIACION DE PESO CORPORAL.

Durante los días posteriores a la administración de Tl(I) aumentó la cantidad de agua ingerida y disminuyó el consumo de alimento por las ratas intoxicadas sin ayuno previo con 17.0 y 18.5 mgTl/kg, con respecto a los valores obtenidos durante el período control. El consumo de agua aumentó desde un 40% en el grupo de 17.0 mgTl/kg, hasta 130% en el grupo de 18.5 mgTl/kg, mientras que el consumo de alimento disminuyó aproximadamente 30% en ambos grupos durante el período de observación posterior a la intoxicación (figs. 3.11, 3.12). Se pudo observar que durante los primeros días posteriores a la intoxicación, las ratas disminuyeron de peso con ambas dosis administradas, siendo aún esta disminución más significativa ( $p < 0.001$ ) en el grupo de 18.5 mgTl/kg; sin embargo, después del 6° día, la ganancia de peso tiende a recuperar su valor control en ambas dosis. (figs. 3.13, 3.14).

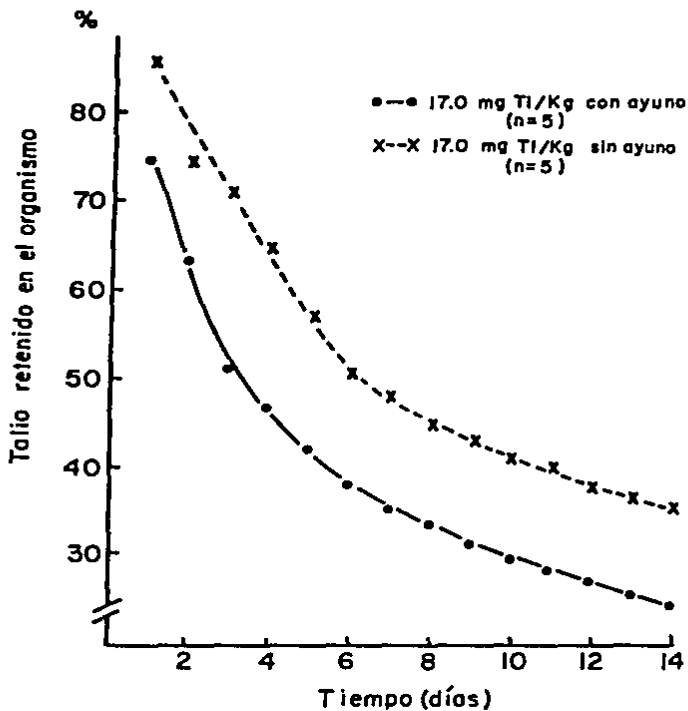


FIG. 3.8: Porcentaje de talio retenido en el organismo de ratas intoxicadas por vfa oral con Tl(I).

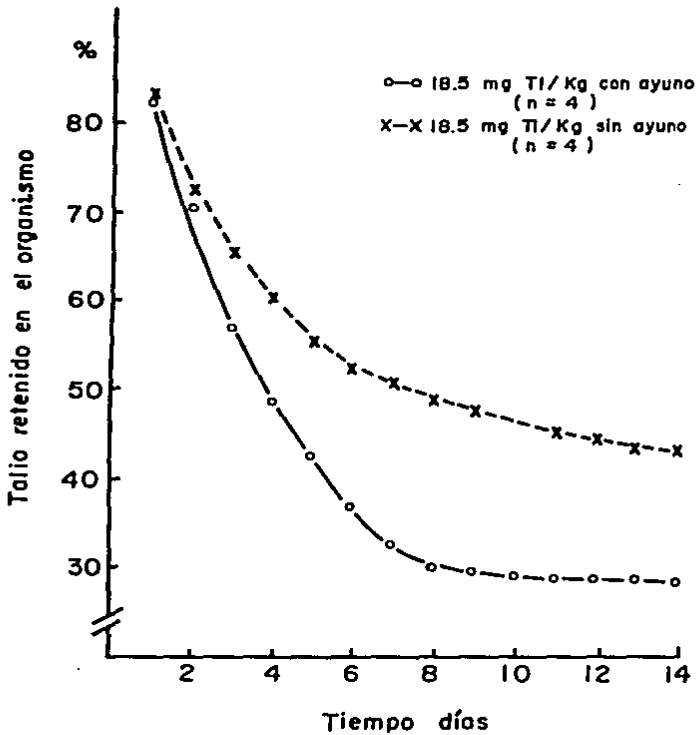


FIG. 3.9: Porcentaje de talio retenido en el organismo de ratas intoxicadas por vfa oral con Tl(I).

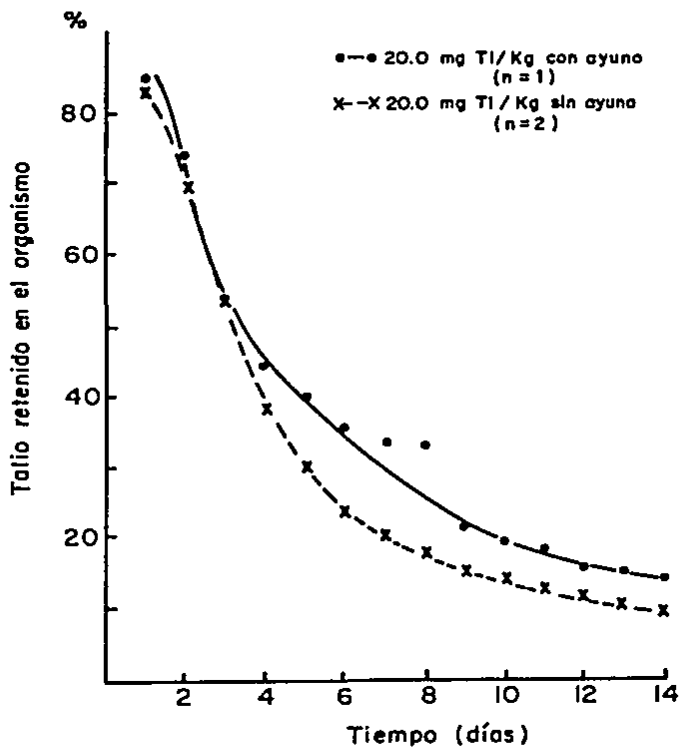


FIG. 3.10: Porcentaje de talio retenido en el organismo de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I).

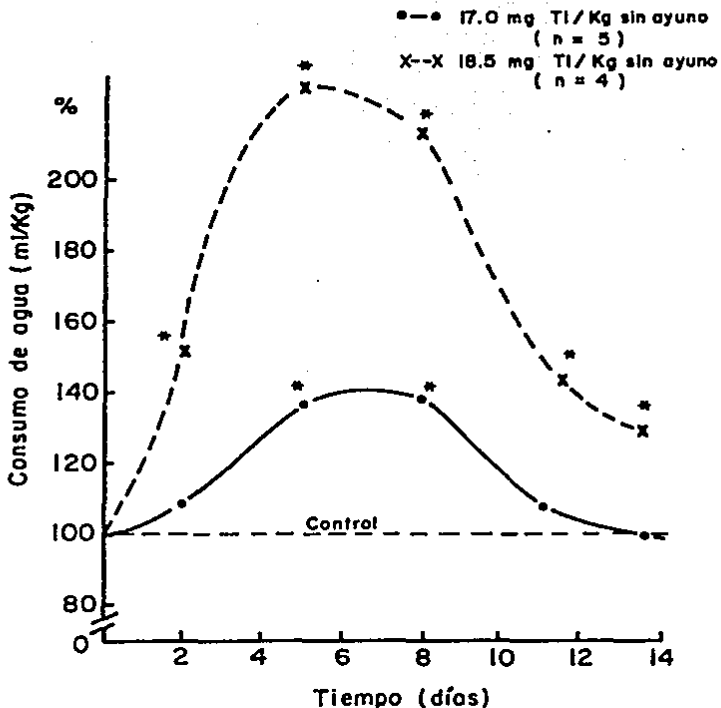


FIG. 3.11: Consumo de agua en ratas intoxicadas con Tl(I) por vía oral. El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación.  
(\* )  $p(0.001$ , respecto al control.

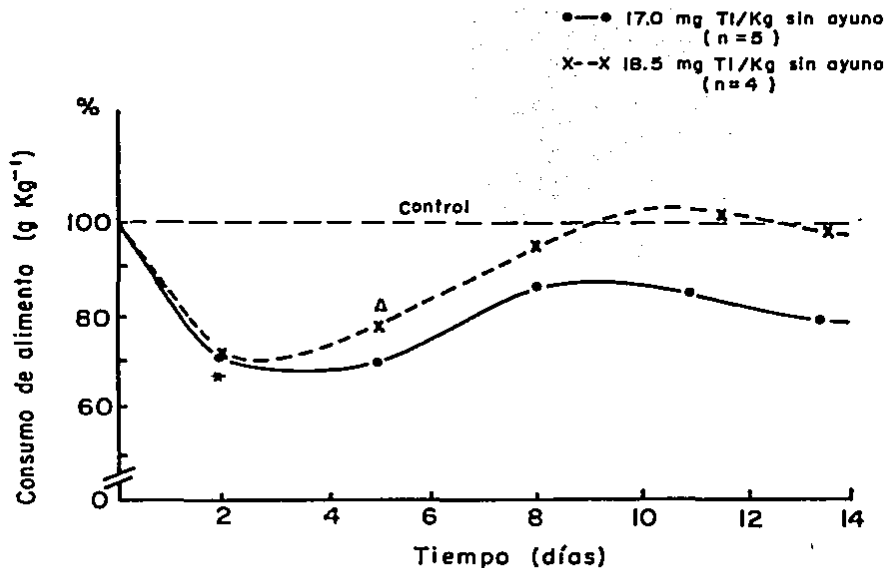


FIG. 3.12: Consumo de alimento en ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación.  
(\* )  $p < 0.001$ ; ( $\Delta$ )  $p < 0.025$ , respecto al control

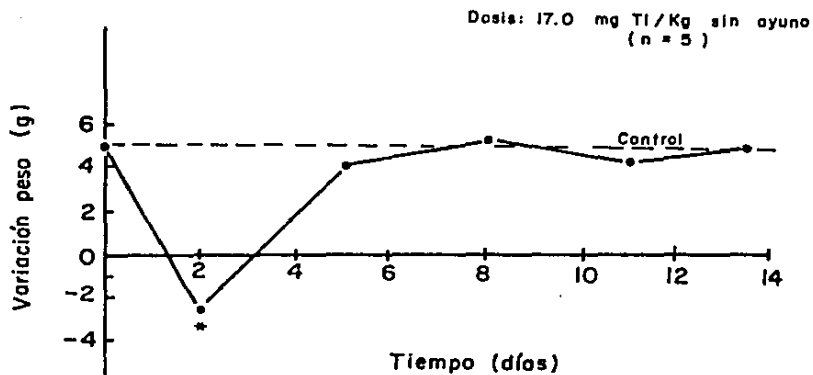


FIG. 3.13: Variación de peso (g) en ratas intoxicadas por vfa oral con TI(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación.  
(\* )  $p < 0.05$  respecto al control



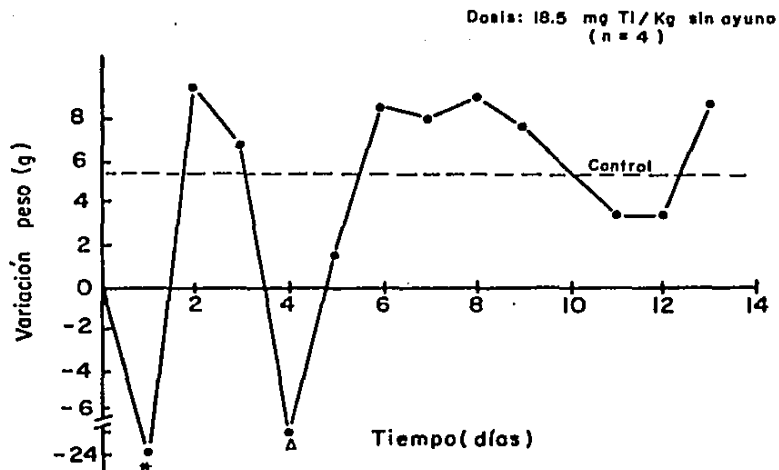


FIG. 3.14: Variación de peso en ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación.  
(\*)  $p < 0.001$ ; (Δ)  $p < 0.005$  respecto al control.

En las tablas 3.2 y 3.3 se muestran los valores obtenidos para el consumo de agua y de alimento, así como la variación de peso corporal en las ratas intoxicadas.

#### 3.4 VOLUMEN, OSMOLALIDAD, EXCRECIÓN DE IONES $\text{Na}^+$ y $\text{K}^+$ Y RELACION $\text{K}^+/\text{Na}^+$ EN LA ORINA.

Se observaron cambios en el volumen de orina, en su osmolalidad y en la excreción de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , los cuales se manifestaron principalmente entre el 6° y el 8° día posteriores a la intoxicación con Tl(I).

Con la dosis de 17.0 mgTl/kg el aumento en el volumen de orina fue de aproximadamente 200% con respecto a los valores obtenidos durante el período control y tiende a normalizarse al final del período de observación (14 días). Si bien la osmolalidad disminuyó en forma significativa ( $p < 0.001$ ) entre el 3° y el 8° día, regresando hacia valores normales al final del período de observación, la excreción de solutos totales expresada como  $\text{mosm/kg}_{\text{agua}}/\text{min}/\text{kg}$  no aumentó de manera significativa. La excreción de iones  $\text{Na}^+$  se incrementó durante los seis primeros días posteriores a la intoxicación, mientras que la concentración de iones  $\text{K}^+$  disminuyó aproximadamente 20%, lo cual originó una disminución de 40% en la relación  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  con respecto al valor control (tabla 3.4).

Con la administración de 18.5 mgTl/kg se observaron

TABLA 3.2

CONSUMO DE AGUA, ALIMENTO Y VARIACION DE PESO EN RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON T1(I).

DIAS	AGUA (ml/kg)	ALIMENTO (g/kg)	PESO (g/dfa)
CONTROL	167.3 ± 23.0	98.9 ± 13.0	+ 5.1
2	184.3 ± 38.9	73.9 ± 18.1	- 2.3
5	231.8 ± 70.6	72.5 ± 16.6	+ 4.0
8	231.6 ± 26.9	89.3 ± 6.6	+ 5.3
14	168.8 ± 16.7	80.9 ± 8.3	+ 3.0

DOSIS: 17.0 mg T1/kg SIN AYUNO PREVIO (n=5).

TABLA 3.3

CONSUMO DE AGUA, ALIMENTO Y VARIACION DE PESO EN RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON T1(I).

DIAS	AGUA (ml/kg)	ALIMENTO (g/kg)	PESO (g/dfa)
CONTROL	125.9 ± 13.3	89.0 ± 4.3	+ 5.2
2	194.8 ± 39.1	63.0 ± 11.8	- 2.4
5	284.6 ± 52.9	68.6 ± 17.2	0.0
8	265.2 ± 43.4	84.2 ± 9.3	+ 7.0
14	159.2 ± 13.3	86.0 ± 4.3	+ 7.5

DOSIS: 18.5 mg T1/kg SIN AYUNO PREVIO (n=4).

TABLA 3.4

VOLUMEN, OSMOLALIDAD Y ELECTROLITOS MEDIDOS EN ORINA DE RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON T1(I).

DIAS	VOLUMEN (ml/min/kg)	OSMOLALIDAD (mosm/kgH <sub>2</sub> O)	OSMOLALIDAD (mosm/kgH <sub>2</sub> O/ min/kg)	Na <sup>+</sup> (μeq/min/kg)	K <sup>+</sup> (μeq/min/kg)	K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>
CONTROL	32.4 ± 6.5	2291.0±303.3	74.1 ± 10.9	7.5 ± 1.5	16.5 ± 3.4	2.3 ± 0.5
2	62.5 ±19.3	1262.0±335.5	73.0 ± 8.1	7.3 ± 1.6	14.8 ± 2.9	2.1 ± 0.5
5	87.6 ±47.6	995.0±459.5	75.1 ± 12.4	12.5 ± 6.6	11.9 ± 6.3	1.4 ± 1.1
8	84.9 ±16.0	1059.0±109.3	88.7 ± 8.1	11.5 ± 2.7	17.4 ± 1.3	1.6 ± 0.3
14	46.6 ± 6.8	1679.0±204.2	74.1 ± 0.5	8.1 ± 1.3	21.2 ± 1.9	2.7 ± 0.3

DOSIS: 17.0 mg T1/kg SIN AYUNO PREVIO

efectos similares a los obtenidos con la dosis de 17.0 mgTl/kg, con excepción de la excreción de iones  $\text{Na}^+$ , la cual no mostró diferencias significativas respecto al control; sin embargo, el aumento en el volumen de orina alcanzó un máximo de 400%, mientras que la excreción de  $\text{K}^+$  disminuyó 60% con respecto al valor control (tabla 3.5). En las figs. 3.15-3.21 se pueden apreciar estos efectos.

### 3.5 EXCRECION DE MATERIA FECAL.

En la figura 3.22 se puede observar la disminución en la excreción de materia fecal experimentada por las ratas intoxicadas con talio. Esta disminución ocurrió principalmente durante los seis primeros días posteriores a la intoxicación, alcanzando valores del 70% y 60% en relación a los valores control con 17.0 y 18.5 mgTl/kg respectivamente. Con ambas dosis los valores obtenidos tienden a normalizarse después del 8° día. En la tabla 3.6 se pueden observar estos datos expresados como g/kg corporal.

### 3.6 CONCENTRACION DE TALIO EN ORGANOS.

Para determinar la concentración de talio en órganos, las ratas fueron sacrificadas al final del periodo de observación, 14 días después de la administración de Tl(I). También se extrajeron los órganos de las ratas que murie-

TABLA 3.5

VOLUMEN, OSMOLALIDAD Y ELECTROLITOS MEDIDOS EN ORINA DE RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON T1(1).

DIAS	VOLUMEN (ml/min/kg)	OSMOLALIDAD (mosm/kgH <sub>2</sub> O)	OSMOLALIDAD (mosm/kgH <sub>2</sub> O/ min/kg)	Na <sup>+</sup> ( $\mu$ eq/min/kg)	K <sup>+</sup> ( $\mu$ eq/min/kg)	K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>
CONTROL	28.7 $\pm$ 4.5	2572.0 $\pm$ 213.8	75.8 $\pm$ 9.6	6.7 $\pm$ 0.7	13.9 $\pm$ 2.5	2.1 $\pm$ 0.3
2	85.3 $\pm$ 21.0	761.0 $\pm$ 104.2	62.6 $\pm$ 16.1	6.3 $\pm$ 1.6	10.8 $\pm$ 3.5	1.7 $\pm$ 0.4
5	126.1 $\pm$ 20.8	568.0 $\pm$ 67.7	72.3 $\pm$ 18.2	6.6 $\pm$ 1.8	7.1 $\pm$ 4.9	1.0 $\pm$ 0.5
8	104.8 $\pm$ 24.8	837.0 $\pm$ 354.5	77.4 $\pm$ 14.3	6.4 $\pm$ 1.1	7.3 $\pm$ 4.1	1.0 $\pm$ 0.4
14	53.0 $\pm$ 10.2	1470.0 $\pm$ 143.2	76.9 $\pm$ 6.8	7.6 $\pm$ 0.8	15.1 $\pm$ 2.5	2.1 $\pm$ 0.4

DOSES: 18.5 mg T1/kg SIN AYUNO PREVIO.

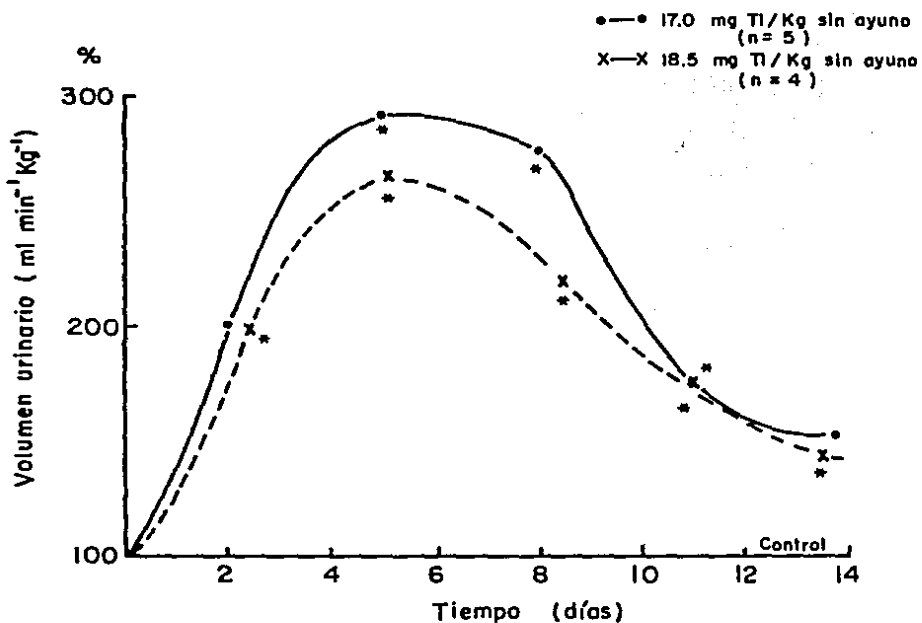


FIG. 3.15: Volumen urinario en ratas intoxicadas por vfa oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación. (\*)  $p < 0.001$ , respecto al control.



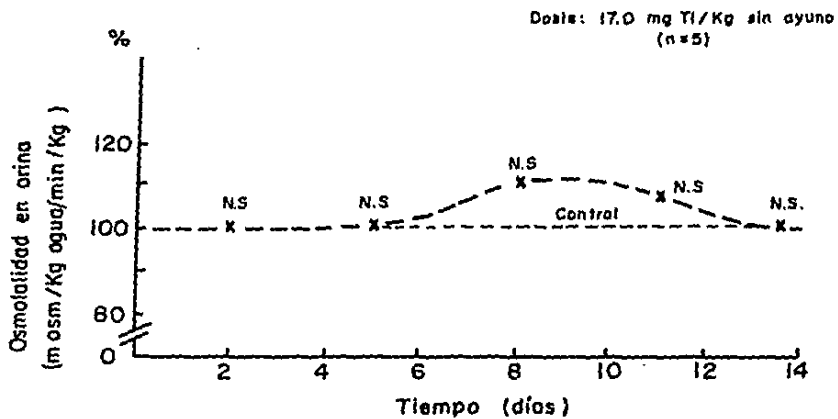


FIG. 3.16: Osmolalidad medida en la orina de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación. (N.S) no significativo con respecto al control.

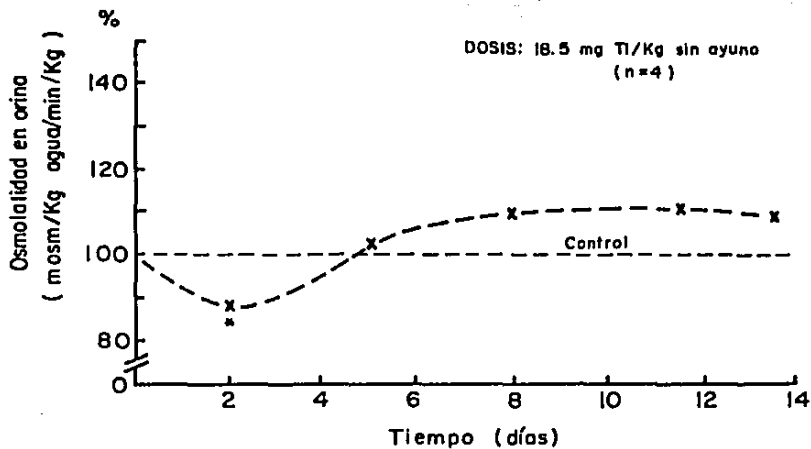


FIG. 3.17: Osmolalidad medida en la orina de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación.  
(\*)  $p(0.025$  con respecto al control.

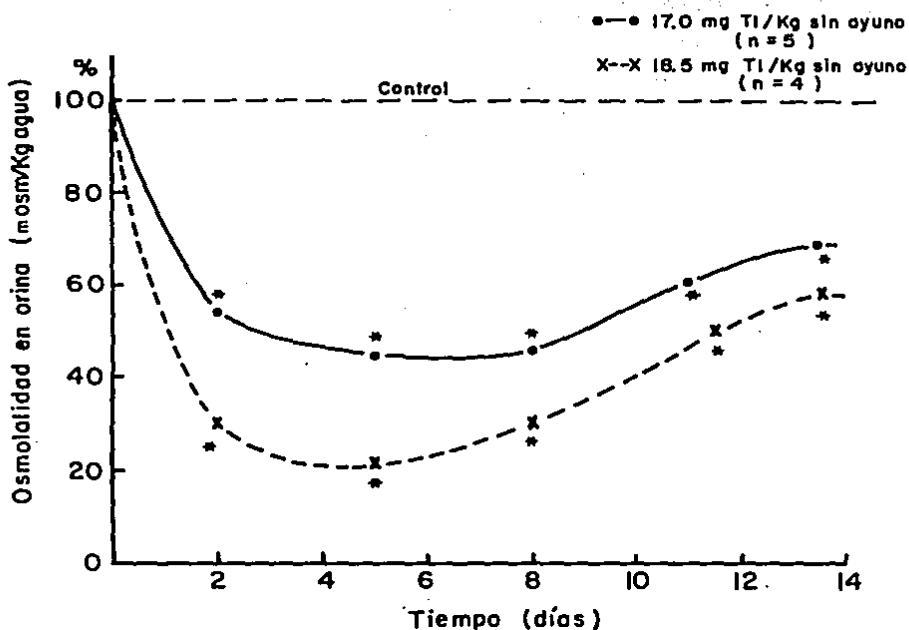


FIG. 3.18: Osmolalidad en la orina de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación.  
(\*)  $p < 0.001$ , con respecto al control

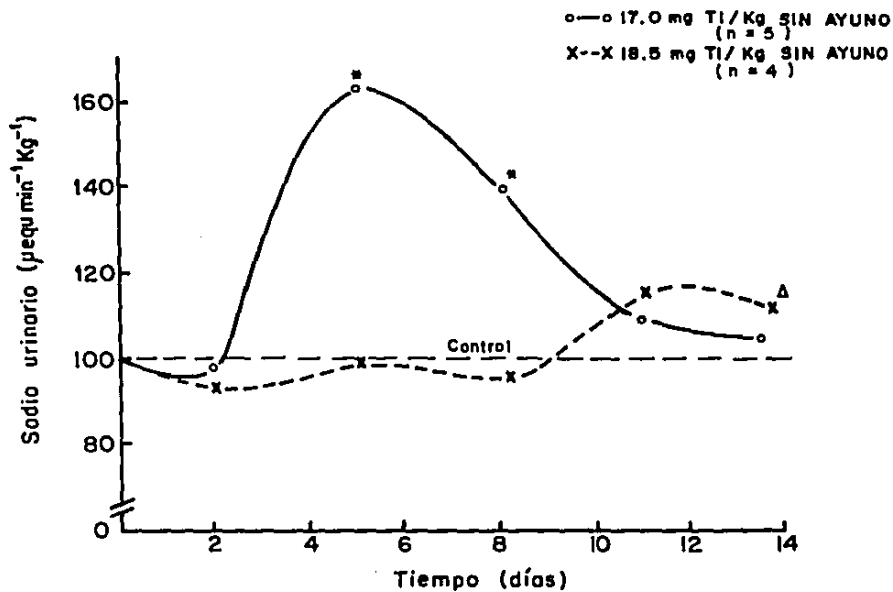


FIG. 3.19: Excreción de sodio en la orina de ratas intoxicadas con Tl(I) por vía oral. (\*) p(0.001); (Δ) p(0.05, con respecto al control.

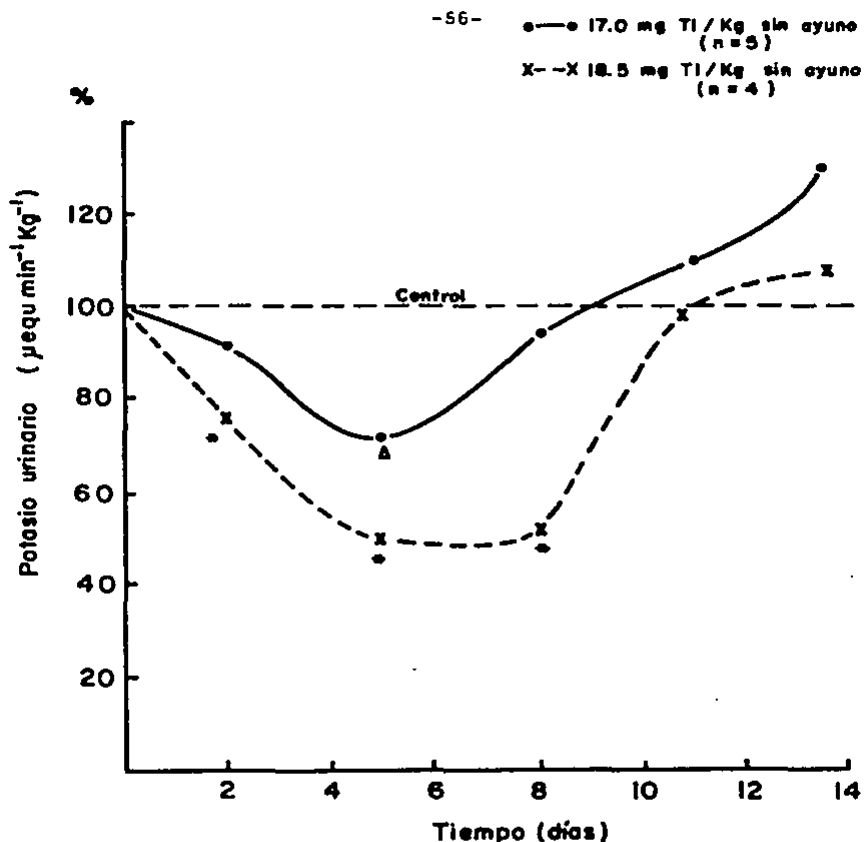


FIG. 3.20: Excreción de potasio en la orina de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación. (\*)  $p(0.001)$ ; (A)  $p(0.025)$ , con respecto al control.

●-● 17.0 mg Tl/Kg sin ayuno  
(n = 5)  
X-X 18.5 mg Tl/Kg sin ayuno  
(n = 4)

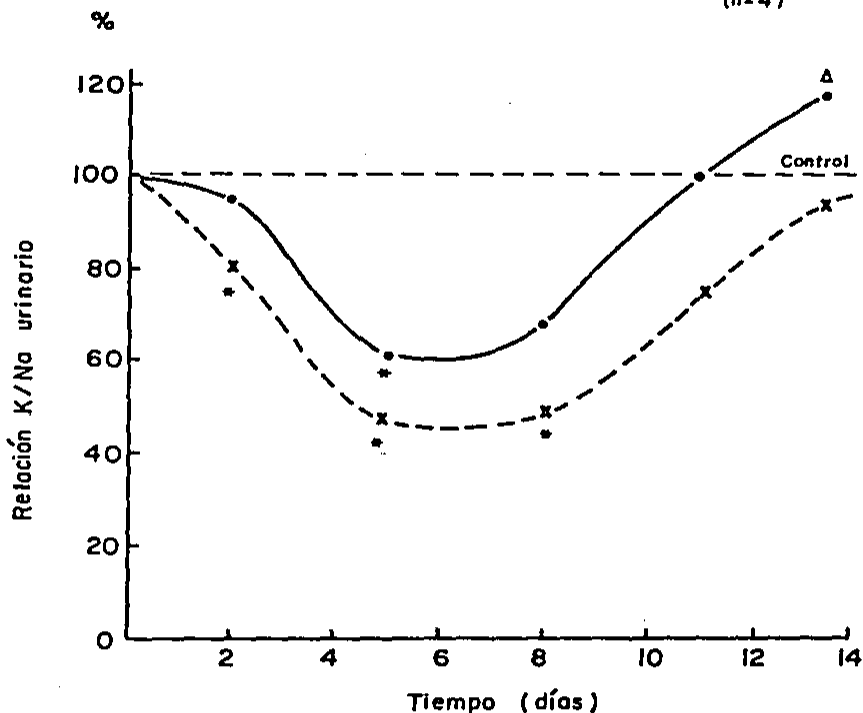


FIG. 3.21: Relación  $K^+/Na^+$  en la orina de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación. (\*)  $p(0.001)$ ; ( $\Delta$ )  $p(0.025)$ , respecto al control.

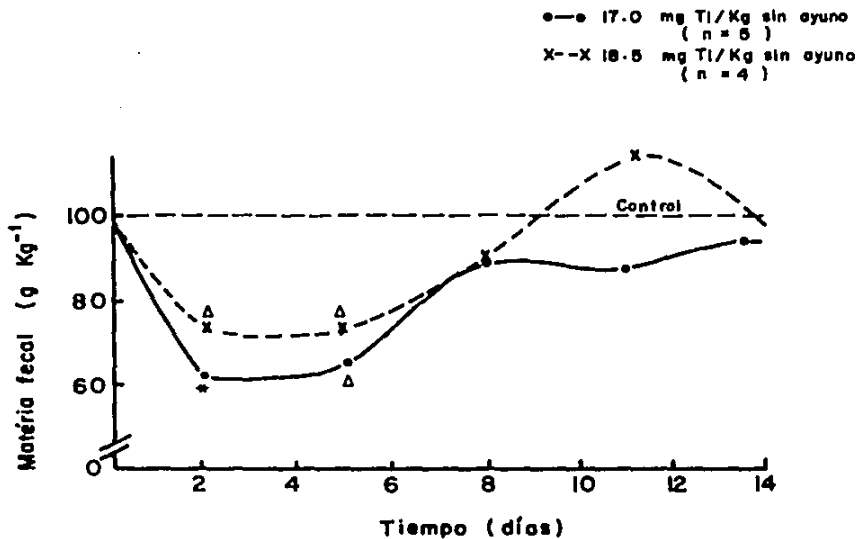


FIG. 3.22: Excreción fecal en ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I)  
 (\*) p(0.001; (Δ) p(0.05, respecto al control

TABLA 3.6

EXCRECION DE MATERIA FECAL EN RATAS INTOXICADAS  
POR VIA ORAL CON Tl(1).

DIAS	17.0 mgTl/kg sin ayu no previo (g/kg)	18.5 mgTl/kg sin ayu no previo (g/kg)
CONTROL	33.1 ± 3.6	30.9 ± 13.0
2	21.3 ± 3.2	22.7 ± 7.6
5	22.8 ± 4.9	23.2 ± 8.9
8	17.9 ± 1.9	27.8 ± 4.1
14	31.8 ± 1.9	30.0 ± 3.7



ron como consecuencia de la intoxicación.

Las ratas que fueron sacrificadas al 14° día y que recibieron 17.0 y 18.5 mgTl/kg mostraron una mayor concentración de talio principalmente en riñón, hígado, bazo, fémur, testículos y cerebro, mientras que aquellas que recibieron 20.0 mgTl/kg mostraron valores comparativamente más bajos a los obtenidos con las dosis anteriores con excepción del riñón, músculo y fémur.

En las ratas que murieron al 9° día con 20.0 mgTl/kg se encontraron concentraciones mayores de talio en todos los órganos predominando en riñón y testículos principalmente. (Tabla 3.7)

### 3.7 PESO DE ORGANOS.

En las ratas intoxicadas con 17.0 y 18.5 mgTl/kg se observó al final del período de observación un incremento de peso en los siguientes órganos: bazo, corazón, hígado y pulmón, así como una disminución de peso en testículos; mientras que las ratas que recibieron 20.0 mgTl/kg presentaron una disminución de peso en cerebro, pulmón, riñón y testículos con respecto a los datos control.

En las ratas que murieron al 9° día como consecuencia de la intoxicación con 20.0 mgTl/kg se observó aumento de peso en cerebro, corazón, pulmón y riñón, así como disminución de peso en testículos. Los resultados se

TABLA 3.7

CONCENTRACION DE TALIO EN ORGANOS DE RATAS  
INTOXICADAS POR VIA ORAL CON Tl(I).

ORGANOS	17.0 mgTl/kg	18.5 mgTl/kg	20.0 mgTl/kg	
	14 dias (n=5)	14 dias (n=4)	9 dias (n=2)	14 dias (n=2)
	ugTl/g	ugTl/g	ugTl/g	ugTl/g
BAZO	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.3	7.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1
CEREBRO	0.7 ± 0.6	0.6 ± 0.2	3.1 ± 0.2	0.5 ± 0.0
CORAZON	0.6 ± 0.6	0.4 ± 0.2	5.3 ± 0.6	0.2 ± 0.0
HIGADO	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.3	7.4 ± 1.2	0.6 ± 0.0
PULMON	0.6 ± 0.3	0.7 ± 0.3	5.5 ± 0.8	0.4 ± 0.0
RIADN	1.3 ± 1.0	1.3 ± 0.4	23.3 ± 2.2	1.4 ± 0.5
TESTICULOS	1.0 ± 0.5	0.9 ± 0.1	13.4 ± 5.2	0.6 ± 0.2
INTESTINO	0.4 ± 0.4	0.6 ± 0.3	3.4 ± 1.8	0.4 ± 0.0
MUSCULO	0.2 ± 0.3	0.2 ± 0.2	4.6 ± 0.9	0.5 ± 0.2
FEMUR	2.2 ± 1.2	1.9 ± 0.5	5.8 ± 0.4	2.3 ± 0.2
PELO	1.1 ± 0.5	0.7 ± 0.3	3.8 ± 1.3	0.5 ± 0.1
PIEL	0.7 ± 0.5	0.4 ± 0.2	3.5 ± 1.1	0.6 ± 0.2
SANGRE	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.1	-	0.2 ± 0.0

muestran en la tabla 3.8.

### 3.8 SIGNOS EXTERNOS DE TOXICIDAD OBSERVADOS EN LOS ANIMALES TRATADOS CON Tl(I).

Uno de los efectos principales observados durante el periodo posterior a la intoxicación fue la alopecia, la cual tuvo su origen en el tercer día, alcanzando su máximo en el sexto día y localizándose principalmente alrededor de la boca y de los ojos.

Las ratas que murieron al 9° día presentaron sangrado a través de la nariz desde 48 horas antes de su muerte, pelo erizado y materia fecal acompañada de una aparente mucosa intestinal, después de su muerte sobrevino una rápida descomposición (tabla 3.9).

### 3.9 ELIMINACION DE COBRE EN ORINA Y HECES.

Las ratas intoxicadas mostraron un incremento en la excreción de cobre a través de la orina; en el grupo tratado con 17.0 mgTl/kg el valor máximo de este incremento, se encontró entre el 6° y el 8° día, siendo de aproximadamente 20% con respecto al valor control; mientras que en el grupo tratado con 18.5 mgTl/kg el incremento máximo encontrado fue de 90%. En la fig 3.23 se pueden observar estos efectos, así como las variaciones de la concentración de cobre en la orina durante el periodo posterior

TABLA 3.8

PESO DE ORGANOS DE RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON Tl(I).

ORGANO	CONTROL (n=5)	17.0 mgTl/kg 14 dias (n=5)	18.5 mgTl/kg 14 dias (n=4)	20.0 mgTl/kg	
				9 dias (n=2)	14 dias (n=2)
BAZO	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.23 ± 0.17	0.11 ± 0.04	0.21 ± 0.02
CEREBRO	0.42 ± 0.07	0.50 ± 0.64	0.39 ± 0.04	0.74 ± 0.09	0.41 ± 0.01
CORAZON	0.35 ± 0.04	0.35 ± 0.11	0.38 ± 0.05	0.46 ± 0.04	0.38 ± 0.02
HIGADO	3.61 ± 0.12	3.47 ± 0.22	4.34 ± 0.10	3.49 ± 0.52	3.89 ± 0.07
PULMON	0.64 ± 0.03	0.65 ± 0.64	0.67 ± 0.09	0.85 ± 0.08	0.59 ± 0.01
RIADN	0.92 ± 0.06	0.83 ± 0.04	0.81 ± 0.08	1.45 ± 0.08	0.91 ± 0.11
TESTICULOS	1.36 ± 0.07	1.16 ± 0.07	1.12 ± 0.14	1.29 ± 0.16	1.05 ± 0.00

TABLA 3.9

SIGNOS DE TOXICIDAD OBSERVADOS EN LOS ANIMALES INTOXICADOS POR VIA ORAL CON T1(I) SIN AYUNO PREVIO

- ALOPECIA GENERALIZADA AL SEXTO DIA POSTERIOR A LA INTOXICACION.
- SANGRADO A TRAVES DE LA NARIZ.
- MATERIA FECAL CON DESPRENDIMIENTO APARENTE DE MUCOSA INTESTINAL.
- RAPIDA DESCOMPOSICION EN RATAS CU YA MUERTE SE DEBIO A LA INTOXICACION.

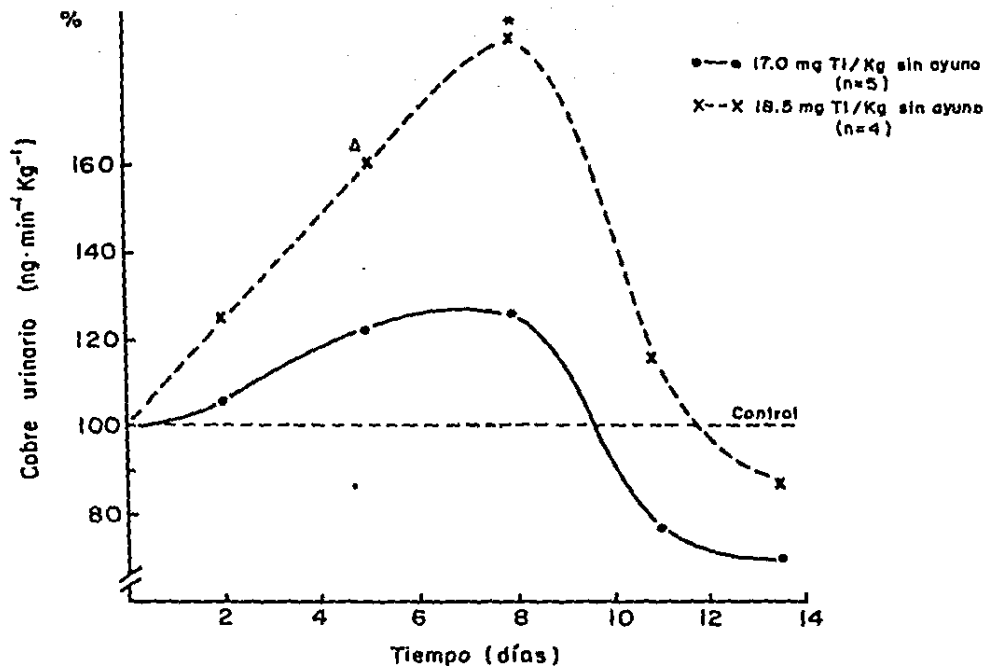


FIG. 3.23: Eliminación de cobre en la orina de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). (\*)  $p < 0.001$ ; (Δ)  $p < 0.01$ , respecto al control

a la intoxicación; en la tabla 3.10 se muestran estos valores expresados como ng/min/kg.

Mientras la concentración de cobre aumentó en la orina, ésta disminuyó en las heces; en la fig. 3.24 se observa que la concentración de cobre en las heces de las ratas intoxicadas con 17.0 mgTl/kg disminuyó significativamente con respecto al valor control ( $p < 0.005$ ) durante el período posterior a la intoxicación; sin embargo, en el grupo de ratas intoxicadas con 18.5 mgTl/kg la disminución en la concentración de cobre en heces ocurrió durante los 8 primeros días posteriores a la intoxicación, aunque no de manera significativa. La tabla 3.11 muestra los valores obtenidos para la concentración de cobre en heces expresados como ng/min/kg.

### 3.10 CONCENTRACION DE COBRE EN ORGANOS.

La concentración de cobre en los órganos de las ratas a las cuales se les administró 17.0, 18.5 y 20.0 mgTl/kg aumentó con respecto a los datos obtenidos en el grupo control en los siguientes órganos: bazo, corazón, pulmón e intestino, mientras que la concentración de cobre en el hígado disminuyó aproximadamente 60% en las ratas que sobrevivieron durante los 14 días posteriores a la administración de 20.0 mgTl/kg.

En las ratas que murieron al 9° día como consecuen-

TABLA 3.10

EXCRECION DE COBRE A TRAVES DE LA ORINA Y DE LAS  
HECES EN RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON Tl(I).

DIAS	Cu- ORINA (ng/min/kg)	Cu- HECES (ug/g)
CONTROL	59.7 ± 27.8	2650.2 ± 1063.6
2	64.5 ± 23.1	1350.1 ± 436.0
5	74.4 ± 28.0	1042.2 ± 417.5
8	74.1 ± 18.1	1331.2 ± 234.8
14	38.6 ± 9.3	1341.1 ± 314.5

DOISIS: 17.0 mgTl/kg SIN AYUNO PREVIO.



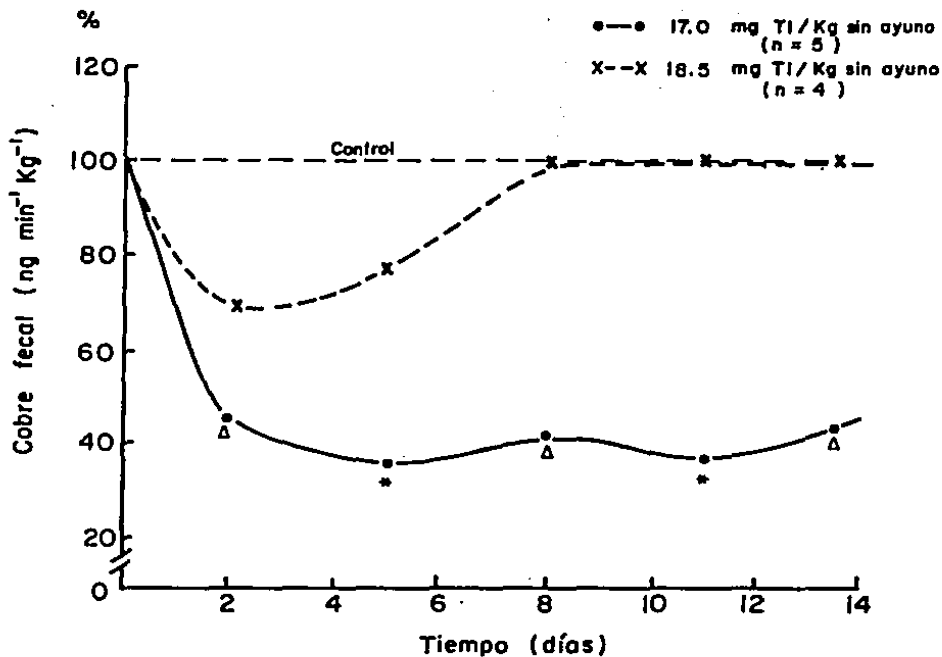


FIG. 3.24: Eliminación de cobre en la materia fecal de ratas intoxicadas por vía oral con Tl(I). El valor control representa el promedio de los días previos a la intoxicación.

(\*)  $p < 0.005$ ; ( $\Delta$ )  $p < 0.01$ , con respecto al control

TABLA 3.11

EXCRECION DE COBRE A TRAVES DE LA ORINA Y DE LAS  
HECES EN RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON Tl(I).

DIAS	Cu-ORINA (ng/mín/kg)	Cu-HECES (µg/g)
CONTROL	42.8 ± 13.3	1398.2 ± 278.7
2	56.0 ± 19.7	9894.3 ± 381.7
5	75.2 ± 31.2	1151.5 ± 540.6
8	90.7 ± 71.0	1476.0 ± 407.2
14	44.5 ± 22.1	1633.1 ± 465.1

DOSIS: 18.5 mg Tl/kg SIN AYUNO PREVIO.

cia de la administración de 20.0 mgTl/kg la concentración de cobre disminuyó con respecto a los valores control en todos los órganos (bazo, cerebro, corazón, hígado, pulmón, músculo, fémur, pelo, piel e intestino) con excepción del riñón y de los testículos. No se observaron diferencias en la concentración de cobre en la sangre antes y después de la intoxicación. Los resultados se muestran en la tabla 3.12.

### 3.11 PARAMETROS HEMATOLOGICOS.

En las ratas a las cuales se les administró 17.0 y 18.5 mgTl/kg se observó una disminución en el número de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito con respecto al grupo control, en este caso se utilizó un grupo control al cual se le indujo un estado de diuresis con una solución de glucosa al 5% y alcohol al 10%.

En el grupo tratado con 18.5 mgTl/kg se produjo un incremento en el número de glóbulos blancos, así como una disminución en la osmolalidad del plasma; sin embargo, la concentración media de hemoglobina no registró cambios, (tabla 3.13).

En las gráficas de distribución de glóbulos rojos (fig. 3.25) se observa que la frecuencia del máximo valor en las ratas tratadas con 17.0 y 18.5 mgTl/kg se encuentra desplazado hacia un volumen más pequeño de la partí-

TABLA 3.12

CONCENTRACION DE COBRE EN ORGANOS DE RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON Tl(I).

ORGANOS	CONTROL	17,0 mgTl/kg	18,5 moTl/kg	20,0 moTl/kg	
	n=5 ugCu/g	14 dias (n=5) ugCu/g	14 dias (n=4) ugCu/g	9 dias (n=2) ugCu/g	14 dias (n=2) ugCu/g
BAZO	8.3 ± 2.5	10.4 ± 8.2	10.8 ± 3.1	15.4 ± 1.8	10.1 ± 5.8
CEREBRO	8.3 ± 3.0	9.7 ± 1.9	11.0 ± 4.0	8.3 ± 3.5	15.5 ± 5.5
CORAZON	9.1 ± 4.1	17.0 ± 6.0	13.9 ± 3.6	10.2 ± 1.6	12.4 ± 5.7
HIGADO	9.8 ± 8.2	9.7 ± 4.7	12.2 ± 3.2	14.5 ± 0.5	5.3 ± 0.1
PULMON	7.2 ± 4.5	7.5 ± 2.0	8.9 ± 2.1	10.7 ± 6.2	8.6 ± 2.9
RIJON	15.1 ± 3.8	10.4 ± 2.9	18.4 ± 7.4	5.8 ± 5.4	14.3 ± 1.3
TESTICULOS	8.9 ± 4.3	4.5 ± 1.7	7.8 ± 1.3	8.5 ± 1.7	13.0 ± 6.4
INTESTINO	6.2 ± 2.8	11.3 ± 3.8	10.7 ± 6.3	4.1 ± 0.8	10.4 ± 1.2
MUSCULO	6.1 ± 3.0	8.4 ± 3.5	6.9 ± 2.1	4.7 ± 0.0	4.6 ± 0.2
FENUR	8.2 ± 4.5	26.2 ± 5.6	6.9 ± 1.6	6.5 ± 1.6	6.4 ± 0.1
PELO	14.8 ± 6.7	18.5 ± 5.1	14.2 ± 8.1	13.4 ± 0.9	17.2 ± 3.5
PIEL	7.8 ± 2.4	12.2 ± 10.1	13.5 ± 3.0	6.1 ± 0.4	4.2 ± 1.0
SANGRE	6.4 ± 1.9	15.4 ± 2.9	5.4 ± 1.4	-	7.9 ± 0.9

TABLA 3.13

PARAMETROS HEMATOLOGICOS DE RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON T1(I).

DOSIS	ERITROCITOS $\times 10^6/\mu l$	VOLUMEN CELULAR MEDIO (fl)	HEMATOCRITO %	LEUCOCITOS $/\mu l$	VOLUMEN CELULAR MEDIO (fl)
CONTROL (n=10)	$8.0 \pm 0.4$	$57.0 \pm 2.1$	$45.5 \pm 3.5$	$8493.0 \pm 1714.0$	$75.0 \pm 4.8$
17.0 mgT1/kg sin ayuno (n=5)	$6.9 \pm 0.7$	$55.0 \pm 1.9$	$38.0 \pm 3.2$	$8220.0 \pm 1912.0$	$65.0 \pm 1.5$
18.5 mgT1/kg sin ayuno (n=4)	$7.1 \pm 0.4$	$57.0 \pm 1.0$	$40.3 \pm 2.0$	$11390.0 \pm 2700.0$	$71.0 \pm 6.4$

DOSIS	HEMOGLOBINA g/100ml	EVR	EVW	OSMOLALIDAD PLASMA (mosm/kg <sub>H<sub>2</sub>O</sub> )	CONCENTRACION MEDIA HEMOGLO BINA (g)	CONCENTRACION MEDIA HEMOGLO BINA COMPUSEJ LAR (g)
CONTROL (n=10)	$17.1 \pm 0.8$	5.0	6.3	$366.0 \pm 14.5$	$21.5 \pm 1.4$	$37.6 \pm 1.6$
17.0 mgT1/kg sin ayuno (n=5)	$15.0 \pm 1.2$	4.6	5.9	-	$21.6 \pm 1.2$	$39.5 \pm 1.4$
18.5 mgT1/kg sin ayuno (n=4)	$15.0 \pm 0.5$	4.3	5.8	$320.0 \pm 16.8$	$21.1 \pm 1.5$	$37.2 \pm 1.7$

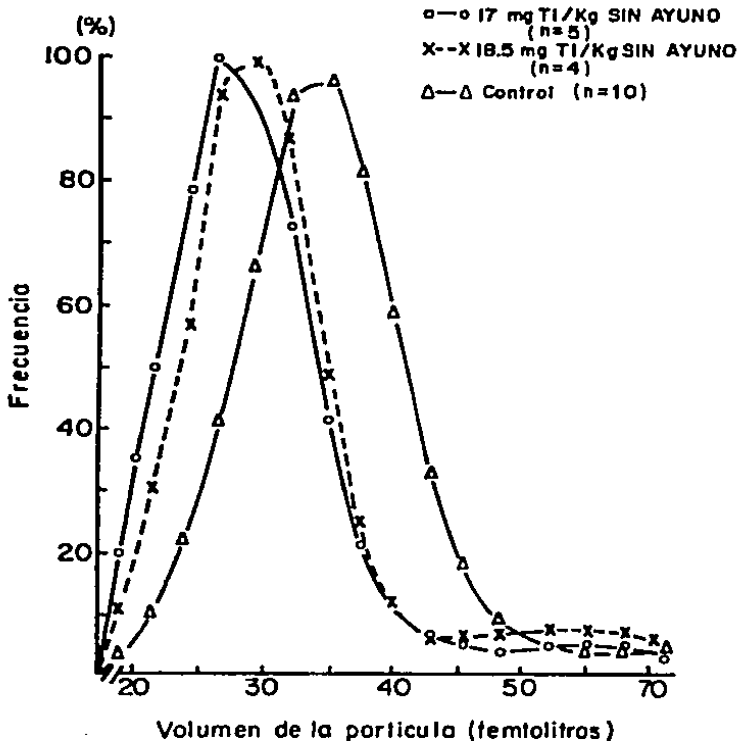


FIG. 3.25: Curva de distribución del tamaño de glóbulos rojos en sangre de ratas control e intoxicadas por vía oral con Tl(I).

cula, mientras que el valor de EVR (rango-volumen-eritrocito) disminuye.

En la figura 3.26 se observa que la frecuencia del máximo valor en la gráfica de distribución de glóbulos blancos de las ratas intoxicadas con 17.0 y 18.5 mgTl/kg está desplazado hacia un volumen de la partícula más grande. El valor de EVW (rango-volumen-leucocito) también disminuye con respecto a los datos control.

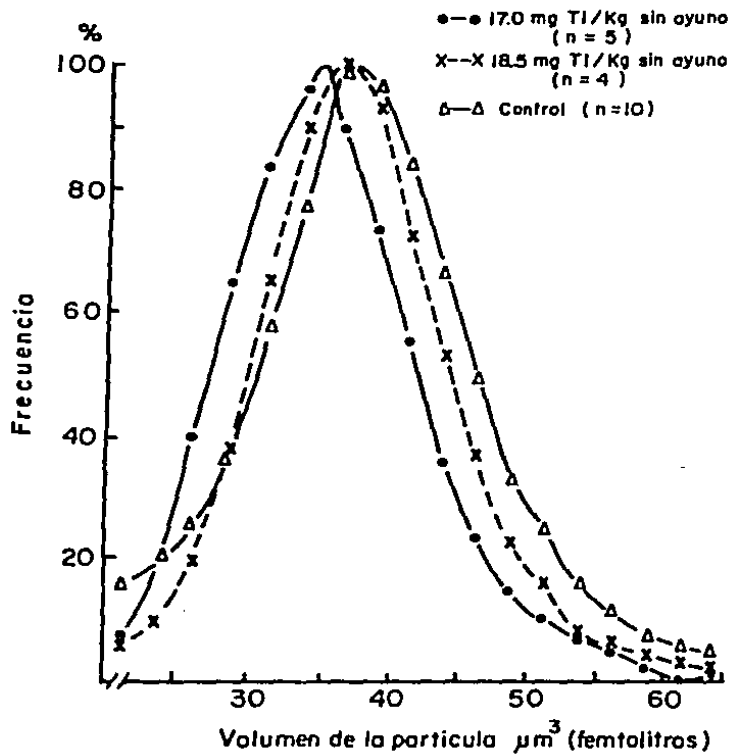


FIG. 3.26: Curva de distribución del tamaño de glóbulos blancos en sangre de ratas control e intoxicadas por vía oral con Tl(1).



#### 4.- DISCUSION.

El propósito de este trabajo fue estudiar el efecto causado por la intoxicación aguda con Tl(I) sobre los niveles de cobre en el organismo de la rata, ya que estudios recientes realizados en el laboratorio habfan mostrado un incremento en la concentración de este elemento excretado en la orina. El cobre es un elemento esencial en el metabolismo, cuya deficiencia puede originar graves problemas a nivel del tejido conectivo, sanguíneo y del sistema nervioso central entre otros<sup>(33)</sup>. Por otra parte una concentración elevada de cobre en el organismo puede causar disturbios gastrointestinales, defectos en el funcionamiento hepático y renal, así como severas crisis hemolíticas<sup>(4)</sup>.

Para comprender la forma en que el talio modifica los niveles de cobre en el organismo y su excreción, es importante estudiar los parámetros toxicocinéticos de la intoxicación aguda causada por el Tl(I), así como las modificaciones que pueden sufrir cuando la administración se realiza con ayuno de 24 horas y sin ayuno previo. Se han encontrado antecedentes donde se menciona que la absorción de talio se lleva a cabo principalmente en el intestino grueso<sup>(46)</sup>, en forma rápida<sup>(15)</sup> y completa<sup>(47)</sup>.

La determinación de la  $DL_{50}$  se ha utilizado para los ensayos de evaluación toxicológica de todo tipo de sustancias, pero no debe ser considerada como un valor

absoluto que identifique su toxicidad. Los estudios de toxicidad aguda realizados en ratas han indicado que el talio es extremadamente tóxico<sup>(48)</sup>. En las condiciones experimentales utilizadas, la determinación de la DL<sub>50</sub> oral aproximada de Tl(I) en ratas con ayuno y sin ayuno previo, ha indicado que el intervalo de mortalidad es reducido. Sin embargo, se utilizó un número pequeño de animales de acuerdo con los criterios de Zbinden y Flury-Roversi<sup>(49)</sup>, quienes sólo sugieren el uso de un gran número, en aquellos casos cuya elevada precisión se justifique clara y científicamente.

La determinación de talio en muestras biológicas es de gran utilidad para evaluar la exposición que pueda haber sufrido un organismo a este elemento. La determinación analítica incluye métodos colorimétricos<sup>(50)</sup> y de espectrofotometría de absorción atómica con llama<sup>(51)</sup>. Recientemente se ha encontrado que el uso de la espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, sin llama, permite incrementar la sensibilidad y la reproducibilidad en las determinaciones de talio; así como emplear una cantidad menor de muestra.

Al evaluar los efectos adversos de la exposición a un metal, se deben conocer los mecanismos por los cuales éste pasa al sitio de acción en el organismo. La absorción es uno de los procesos principales que afectan la

toxicidad de un metal y depende de varios factores: dosis utilizada, composición de la dieta, propiedades fisicoquímicas del metal y presencia de alimentos en el tracto gastrointestinal entre otros, ya que la exposición oral a un tóxico antes o después de un alimento afecta el tiempo en que este es liberado del intestino. La excreción es la etapa final en la cual se elimina un agente químico del organismo, así como sus productos de degradación metabólica, siendo la orina y las heces las principales vías de excreción. En la orina se encuentran los compuestos solubles absorbidos, mientras que las heces contienen aquellos compuestos que no son absorbidos en el tracto gastrointestinal o que son eliminados por la bilis, por la secreción gástrica o por la secreción intestinal.

Existen diversas opiniones acerca de la manera en que se realiza la absorción de los compuestos de talio. Lund<sup>(15)</sup> indica que el talio administrado por vía oral es rápidamente absorbido, ya que aparece en orina y heces una hora después de su administración. Lie<sup>(47)</sup>, por su parte, indica que la absorción, además de ser rápida es completa. Forth y Henning<sup>(20)</sup> demuestran que el tracto gastrointestinal es el área principal para la reabsorción y el reciclaje de los iones  $Tl(I)$ , y además afirma que la absorción es rápida y casi completa.

ESTA TESIS NO DEBE  
-SALIR DE LA BIBLIOTECA

En este estudio se encontró que al administrar 17.0, 18.5 y 20.0 mg Tl/kg a ratas, la absorción fue mayor en aquellas intoxicadas sin ayuno previo de 24 horas; se observó una mayor concentración de talio excretado en la orina, así como una menor concentración en heces. Por otra parte, las ratas intoxicadas después de un ayuno de 24 horas mostraron una mayor concentración de talio en heces, lo cual indica que probablemente el talio fue absorbido en menor proporción.

Estas observaciones sugieren que el estado en que se encontraba el intestino de las ratas modificó considerablemente la absorción. Los resultados indican que aparentemente el alimento presente en el intestino incrementa el tiempo del tránsito intestinal del talio, lo cual provoca una mayor absorción. Sin embargo, en un intestino vacío el tránsito del talio es rápido, disminuyendo la absorción. Estas observaciones se oponen a las opiniones de Lund, Lie y Henning y Forth, en las cuales deberíamos esperar una mayor absorción en las ratas intoxicadas luego de un ayuno de 24 horas. De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede suponer que la absorción del talio no se realiza en forma rápida y completa.

Por otra parte, se encontró que con 18.5 mg Tl/kg, el porcentaje excretado de talio a través de la orina

con respecto a la dosis administrada, era menor en relación con lo observado al administrar 17.0 mg Tl/kg. Estos datos sugieren la posible existencia de un efecto capaz de alterar el mecanismo de absorción de Tl(I) en el intestino y que probablemente esté relacionado con el sistema de transporte dependiente de la ATPasa ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ). Se ha observado que el talio en concentraciones de 0.1-1.0 mM activa a esta enzima, debido probablemente a su capacidad para sustituir al potasio; sin embargo, en concentraciones superiores a 1.0 mM provoca su inhibición<sup>(5)</sup>.

Se ha reportado que el talio produce principalmente sus efectos a nivel de los sistemas nervioso y digestivo, aunque en este estudio, también se ha encontrado un notable efecto a nivel renal, manifestado por un considerable aumento del volumen urinario excretado. Anteriormente Jauge y col.,<sup>(52)</sup> habfan observado este efecto, encontrando aproximadamente un incremento de 65% para las ratas intoxicadas con 10.0 mg Tl/kg y de 100% para aquellas intoxicadas con 13.5 mg Tl/kg. Uniendo estas observaciones a los datos obtenidos en este trabajo (200% en ratas intoxicadas con 17.0 mg Tl/kg y 400% en ratas intoxicadas con 18.5 mg Tl/kg) se puede pensar que el efecto renal causado por la intoxicación con Tl(I) es dependiente de la dosis. Además el incremento de volumen de orina está relacionado con el aumento en el consumo de

agua, observado durante los seis primeros días posteriores a la intoxicación (figs. 3.27, 3.28).

El incremento de volumen urinario puede ser provocado por varios factores. Se puede pensar que el talio actúa directamente sobre el riñón, provocando la pérdida en su capacidad para concentrar la orina, debido probablemente a un daño a nivel tubular. Las observaciones de microscopía electrónica realizadas por Herman y Bensch<sup>(26)</sup> han indicado un hinchamiento de las células tubulares, así como ruptura de las células en los túbulos proximales de ratas intoxicadas con talio. Al parecer este daño renal es reversible, ya que al final del período de observación, el volumen de orina tiende a ser similar a su valor control. Además del efecto a nivel tubular pueden estar involucrados otros factores tales como el sistema renina-angiotensina II. La renina se vierte en la sangre debido a ciertos estímulos, tales como la llegada de sodio a la nefrona distal o la disminución de la presión arterial. La renina actúa sobre una globulina específica, separando un polipéptido ó angiotensina I, la cual se transforma en angiotensina II por acción enzimática en las células de los capilares pulmonares. La angiotensina II aumenta la fuerza de contracción cardíaca y produce vasoconstricción, disminuyendo el flujo renal sanguíneo. Experimentalmente, se ha demostrado que

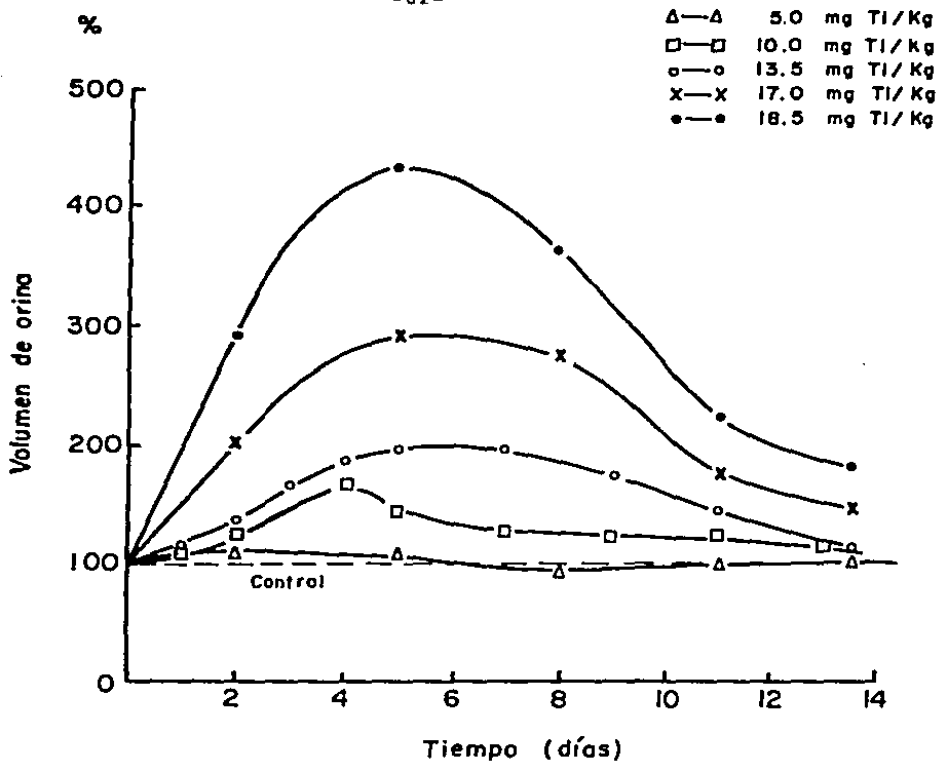


FIG. 3.27: Aumento de volumen urinario en ratas intoxicadas por vía oral con diferentes dosis de TI(1). El valor control representa el promedio de los días previos a la administración.

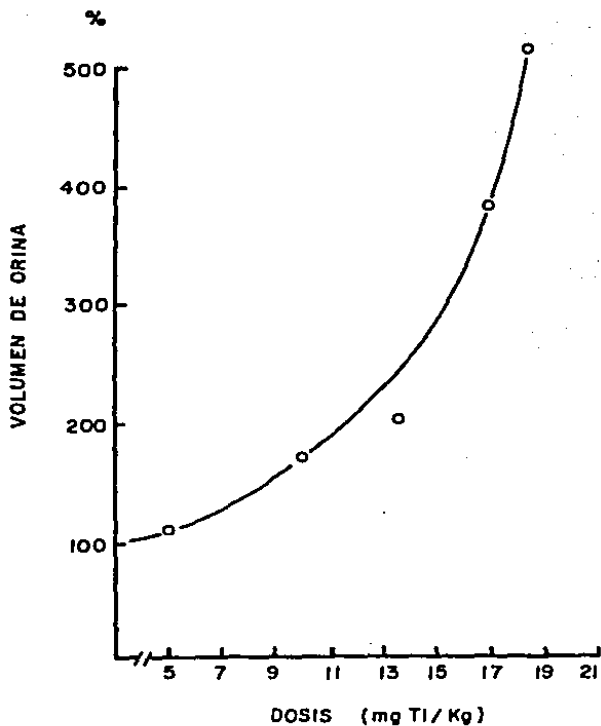


FIG. 3.28: Aumento de volumen urinario en ratas intoxicadas por vía oral con diferentes dosis de TI(I).



la infusión de angiotensina incrementa la secreción de aldosterona, la cual regula los electrolitos, produce retención de sodio y agua e incrementa el volumen efectivo, suprimiendo la producción de renina (53).

Otra sustancia que afecta la regulación de agua es el factor atrial natriurético, el cual inhibe la reabsorción de sodio y cloruros en el túbulo renal, sin modificar la velocidad de filtración glomerular. Esta sustancia se localiza en gránulos atriales que responden a cambios en el balance de electrolitos y agua.

La vasopresina u hormona antidiurética (HAD) es responsable directa en la regulación del transporte de agua a través de la membrana del túbulo renal. Esta hormona es liberada del hipotálamo debido a un aumento en la osmolaridad plasmática y actúa en los túbulos distales incrementando la actividad de la ATPasa, enzima responsable del aporte energético para que se realice la reabsorción activa de sodio y de agua en los túbulos (54). También se ha propuesto que la HAD tiene la capacidad de unirse a los grupos SH de la membrana provocando un incremento en su permeabilidad. Se ha demostrado que la angiotensina II es capaz de estimular la producción de la HAD.

El talio probablemente puede disminuir la producción de la hormona antidiurética, su secreción a nivel

del hipotálamo o alterar los sitios receptores de la hormona en el riñón.

En este estudio se encontró que la concentración de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  excretada a través de la orina también está afectada aparentemente de manera reversible, por la intoxicación con  $\text{Tl(I)}$ . La concentración de iones  $\text{Na}^+$  se incrementó de manera directa con el aumento de la dosis, mientras que la concentración de iones  $\text{K}^+$  excretada en la orina, disminuyó. Estos efectos pueden deberse probablemente a que el epitelio tubular renal es incapaz de reabsorber los iones  $\text{Na}^+$  originando un balance negativo de este ión, el cual por sí mismo, puede cambiar el balance de iones  $\text{K}^+$ , debido a su estrecha relación en la  $\text{ATPasa Na}^+ - \text{K}^+$ .

Durante los primeros días posteriores a la intoxicación, se encontró un aumento en la cantidad de agua ingerida y una disminución en el consumo de alimento, manifestados principalmente en la gran pérdida de peso sufrida por las ratas. Anteriormente Gross y col. (21) habían propuesto que la pérdida de peso podía deberse a una posible combinación del talio con los grupos  $-\text{SH}$  libres de l-cisteína y l-homocisteína, provocando una deficiencia de cistina capaz de originar una deficiencia de glutatión y de algunas enzimas dependientes de los grupos  $-\text{SH}$  y  $\text{S-S}$  de cistina y cisteína.

El uso del peso relativo de un órgano se ha considerado como uno de los parámetros más sensibles acerca del posible daño causado por el agente químico en ese órgano.

En este estudio se encontró que la mayoría de éstos se encontraban afectados. Algunos órganos, como el hígado, aumentaron de peso, mientras que otros como los testículos, disminuyeron de peso. Este efecto en los testículos sugiere la posible existencia de un daño a nivel del sistema reproductor.

Al evaluar los niveles de cobre en las ratas intoxicadas con 17.0 y 18.5 mg Tl/kg sin ayuno, se encontró incrementada su concentración en la orina con ambas dosis, siendo significativa ( $p < 0.05$ ) a la dosis mayor. En ambos casos el valor máximo en la excreción de cobre urinario se encontró entre el sexto y el octavo día posterior a la administración, coincidiendo además con el incremento en el volumen de orina. Sin embargo, se produjo una disminución en la concentración de cobre excretada en heces, observándose principalmente al sexto día.

Ashbi y col.<sup>(55)</sup> encontraron un efecto similar al observado en este estudio después de la administración de cadmio a ratas; es decir, un incremento en la excreción urinaria de cobre y una disminución en su excreción en la materia fecal. De acuerdo a estas observaciones,

sugieren que el incremento en la excreción urinaria se debe parcialmente a una mayor excreción de metalotioneína y al daño renal causado por el cadmio; mientras que la disminución en la excreción biliar de cobre la atribuye a una disminución de cisteína, causada por la excesiva excreción de metalotioneína. La metalotioneína es una metaloproteína formada por cobre, cinc, cadmio, además de varias unidades de cisteína (20-30%); dentro de sus funciones podemos citar el transporte intracelular, la detoxificación de metales pesados y el almacenamiento temporal de metales traza como cinc y cobre. Actualmente se ha demostrado que el cadmio actúa como inductor en la síntesis de metalotioneína (56).

Gross y col. (21) asumieron que la alopecia causada por la intoxicación por talio se debía a una deficiencia de cistina asociada probablemente a una elevada excreción de metalotioneína. Chmielnicka y col. (57), encontraron un marcado incremento de cobre y cinc en el riñón después de la intoxicación con mercurio, atribuyéndolo a una asociación de estos metales con la metalotioneína renal, además del daño renal causado por el metal.

Se observó un aumento en la concentración de cobre en riñón con ambas dosis, así como en hígado al administrar 18.5 mg Tl/kg. De acuerdo a estas observaciones, se puede suponer que el talio además de a-

fectar a las células tubulares del riñón, podría estar actuando como un inductor en la síntesis de metalotioneína, favoreciendo una mayor excreción de cobre a través de la orina. Además, este incremento en la síntesis de metalotioneína provocaría una deficiencia de cisteína capaz de originar una deficiencia de cistina provocando probablemente la alopecia observada en las ratas.

Se puede pensar que el incremento en la excreción de cobre en orina se debe a un efecto directo causado por el talio a nivel de las células tubulares del riñón, además de un posible incremento en la excreción de metalotioneína.

En las ratas que murieron como consecuencia de la administración de 20.0 mg Tl/kg se encontró una disminución de cobre en los órganos. Anteriormente Owen<sup>(40)</sup> había reportado en los casos de deficiencia de cobre en ratas, una disminución en la concentración de cobre del hígado, riñón, testículos, cerebro, músculo, piel, corazón y hueso. Sin embargo, la concentración de cobre tiende a ser similar o ligeramente superior a los valores control en las ratas sacrificadas luego de un período de 14 días, lo cual puede indicar la presencia de un mecanismo capaz de regular el equilibrio de cobre en el organismo.

Al comparar la concentración de cobre en los órganos de las ratas intoxicadas con 17.0 y 18.5 mg Tl/kg se

encontró una mayor concentración en la dosis más alta; sin embargo, la concentración de cobre en sangre fue 3 veces menor a la obtenida con 17.0 mg Tl/kg. Por otra parte, la eliminación de cobre fecal no fue estadísticamente significativa con 18.5 mg Tl/kg. Estas observaciones indican que el talio puede actuar modificando el balance de cobre en el organismo, ya sea a través de su absorción ó de su eliminación. Debido a que con 17.0 mg Tl/kg, se encontró una mayor concentración de cobre en sangre, se debería esperar una mayor acumulación de este elemento en órganos y una menor cantidad de cobre excretada.

En general se puede decir que el talio produjo en las ratas pérdida de peso, así como un balance negativo en las relaciones agua ingerida/volumen de orina e ingesta de alimento/excreción fecal (tabla 3.14), siendo estos parámetros más significativos con el aumento de la dosis. Como consecuencia del balance negativo de la relación agua ingerida/volumen de orina se puede producir un estado de deshidratación que puede provocar la hemoconcentración de la sangre. Este estado de hemoconcentración de la sangre provocaría un incremento en los valores de hemoglobina, hematocrito, número de eritrocitos y de leucocitos. Sin embargo, se encontró sólo un aumento en el número de leucocitos, mientras que los

TABLA 3.14

ESTUDIOS DE BALANCE

DOSIS	INGESTA DE AGUA (%ml/kg)	VOL. URINARIO (%µl/min/kg)	INGESTA DE ALI- MENTO (%mg/kg)	EXCRECION FECAL (%mg/kg)	GANANCIA DE PESO (%g/día)
17.0 mgTl/kg sin ayuno (n=5)	17.2	107.7	21.3	20.2	44.0
18.5 mgTl/kg sin ayuno (n=4)	72.1	204.3	15.8	12.9	53.8
20.0 mgTl/kg sin ayuno (n=2)	31.6	210.3	14.7	24.8	62.7

BALANCE DE AGUA, ALIMENTO Y GANANCIA DE PESO EN RATAS INTOXICADAS POR VIA ORAL CON DIFERENTES DOSIS DE Tl(I).

valores de hemoglobina, hematocrito y número de eritrocitos disminuyeron. Se puede suponer que además del efecto causado por la hemoconcentración de la sangre, puede existir además un efecto directo del talio sobre el tejido sanguíneo.

Al analizar la gráfica de distribución de glóbulos rojos, se puede observar un desplazamiento hacia un volumen de partícula más pequeño con respecto al valor control, que puede indicar un incremento en el porcentaje de microcitos. Este incremento probablemente puede deberse a la deficiencia de hierro que podría estar asociada a la deficiencia de cobre, ya que como se recordará este participa en la absorción de hierro en el tracto gastrointestinal. El EVR (rango-volumen-eritrocito) indica que las dimensiones disminuyen.

El incremento en el porcentaje de microcitos se puede deber a que el talio actúa sobre la sangre provocando la destrucción de los glóbulos rojos inmaduros ó una disminución en la producción de nuevos eritrocitos.

El número de glóbulos blancos aumentó con 18.5 mg Tl/kg; sin embargo, el volumen celular medio disminuyó. La leucocitosis pudo ser originada por una liberación de leucocitos de sus lugares de almacenamiento como el bazo y la médula ósea. En la gráfica de distribución de glóbulos blancos se puede apreciar un desplazamiento ha



cia un volumen de partícula más pequeño, así como una disminución en el EVW (rango-volumen-leucocito) en ambos grupos intoxicados sin ayuno. Algunos autores sugieren que los cambios producidos en las gráficas de distribución con respecto al valor control pueden deberse a un daño en la médula ósea (58).

## 5.- CONCLUSIONES.

- 1.- La absorción de los compuestos de talio (I) en el tracto gastrointestinal se favorece en un intestino con alimento, al disminuir la velocidad de tránsito intestinal, lo cual indica que la absorción de este elemento no se realiza en forma rápida.
- 2.- Existe una relación dosis-dependencia en el incremento de volumen de orina de acuerdo con la dosis administrada, que puede ser causada por un daño a nivel renal o por un efecto sobre alguna de las hormonas reguladoras del funcionamiento renal.
- 3.- La excreción urinaria de cobre se incrementó en las ratas intoxicadas con talio debido probablemente al efecto renal manifestado durante la intoxicación, a una posible pérdida de metalotioneína ó a una combinación de ambos efectos.
- 4.- La disminución encontrada en el número de eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, así como el aumento en el número de leucocitos indican que además de la hemoconcentración, como consecuencia del efecto renal observado, existe posible-

mente un efecto directo sobre el tejido sanguíneo causado por el talio o por una asociación de este metal con el cobre.

6.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Thompson, D.F.: Management of thallium poisoning. Clin. Toxicol. 18: 979-990 (1981).
- 2.- Moeschlin, S.: Thallium poisoning. Clin. Toxicol. 17: 133-146 (1980).
- 3.- Luckey, T.D. and Venugopal, V.: Metal toxicity in mammals, Vol. 1. Ed. Plenum Press, New York (1977).
- 4.- Kazantzis, G.: Thallium. In: Handbook on the toxicology of metals. Friberg, L., Nordberg, G.F. and Vouk, V.B. (Editors). Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam (1980).
- 5.- Maslova, M.N.; Natochin, Y.V. and Skulskii, I.A.: Inhibition of active sodium transport and activation of  $(Na^+ - K^+)ATPase$  by thallium ions in frog skin. Biochemistry URSS, 36: 732-733 (1971).
- 6.- Inturrisi, C.H.: Thallium activation of  $K^+$ -activated phosphatases from beef brain. Biochem. et Biophys. Acta. 173: 567-569 (1969).
- 7.- Skulskii, I.A.; Manninen, V. and Järnefelt, J.: Interaction of the  $Tl^+$  ions with the cation transport mechanism in erythrocytes. Biochem. et Biophys. Acta. 298: 702-709 (1973).
- 8.- Skulskii, I.A.; Manninen, V. and Järnefelt, J.: The inhibition of ouabain-sensitive sodium transport and of the  $(Na^+ - K^+)ATPase$  in human erythrocytes. Biochem. et Biophys. Acta. 394: 569-576 (1975).

- 9.- Mullins, L. J. and Moore, R.D.: The movement of thallium ions in muscle. *J. Gen. Physiol.* 43: 759-773 (1960).
- 10.- Sitting, M.: Hazardous and toxic effects of industrial chemicals. Noyes Data Corporation, New Jersey, USA, pp. 408-409 (1979).
- 11.- Zitko, V.; Carson, W. and Carson, W.G.: Thallium: Occurrence in the environment and toxicity to fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 13: 23-30 (1975).
- 12.- Brockhaus, A.; Dolgner, R.; Ewers, U.; Krämer, U.; Sodderman, H. and Wiegand, H.: Intake and health effects of thallium among a population living in the vicinity of a cement plant emitting thallium containing dust. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 48: 375-389 (1981).
- 13.- Koshy, K.M. and Lovejoy, F.H.: Thallium ingestion with survival: Ineffectiveness of peritoneal dialysis and potassium chloride diuresis. *Clin. Toxicol.* 18(5), pp. 521-525 (1981).
- 14.- Stevens, W.; van Peteghem, C.; Heyndrickx, A. and Barbier, F.: Eleven cases of thallium intoxication treated with Prussian Blue. *Int. J. Clin. Pharmacol.* 10: 1-22 (1974).
- 15.- Lund, A.: Distribution of thallium in the organism and its elimination. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 12: 251-259 (1956).

- 16.- Achenbach, C.; Hauswirth, O.; Heindrichs, C.; Ziskoven, R.; Köhler, F.; Bahr, U.; Heindrichs, A. and Schulten, H.-R.: Quantitative measurement of time-dependent thallium distribution in organs of mice by field desorption mass spectrometry. *J. Toxicol. and Environ. Health* 6: 519-528 (1980).
- 17.- Raws, A.G.: Thallium pharmacokinetics and its modification by Prussian Blue. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 284: 295-306 (1974).
- 18.- Barclay, R.K.; Peacock, C.W. and Karnofsky, D.A.: Distribution and excretion of radioactive thallium in the chick embryo, rat and man. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 107: 178-187 (1953).
- 19.- Schäfer, S.G. and Forth, W.: Excretion of metals in the intestine; a comparative study in rats. In: *Mechanisms of toxicity and hazard evaluation*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam (1980).
- 20.- Henning, C.H. and Forth, W.: The excretion of Tl(I) ions into the gastrointestinal tract in situ of rats. *Arch. Toxicol.* 49: 149-158 (1982).
- 21.- Thyresson, N.: Experimental investigation on Tl poisoning in the rat. *Acta Dermato-Venerol. (Stockh)* 31: 3-10 (1951).
- 22.- Lameijer, W. and van Zwieten, P.A.: The efficacy of a potassium-rich diet compared to diuretic treatment on the renal elimination of thallium in the rat. *Arch. Toxicol.* 42: 33-41 (1979).

- 23.- Oehme, F.W.: Toxicity of heavy metals in the environment. Part 2. Marcel Dekker Inc., New York, (1979). pp. 596-597.
- 24.- Hologgitas, J.; Ulluci, P.; Driscoll, J.; Grauerholz, J. and Martin, H.: Thallium elimination kinetics in acute thallosis. J. Anal. Toxicol. 4: 68-73 (1980).
- 25.- Puentes, F.: Intoxicación por talio, III Curso Latinoamericano de Toxicología. Secretaría de Salubridad y Asistencia, México (1975).
- 26.- Herman, M.M. and Bensch, K.G.: Light and electron microscopic studies of acute and chronic thallium intoxication in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 10: 199-222 (1967).
- 27.- Gross, P.; Runne, E. and Wilson, J.: Studies on the effect of thallium poisoning of the rat. J. Invest. Dermatol. 10: 119-134 (1948).
- 28.- Melnick, R.; Monti, L. and Motckin, S.: Uncoupling of mitochondrial oxidative phosphorylation by thallium. Biochem. and Biophys. Res. Commun. 69: 68-73 (1976).
- 29.- Kayne, F.J.: Thallium (I) activation of pyruvate kinase. Arch. Biochem. and Biophys. 143: 232-239 (1971).
- 30.- Hasan, M. and Ali, S.I.: Effects of Tl, Ni and Co administration on the lipid peroxidation in different regions of the rat brain. Toxicol. Appl. Pharmacol. 57(1): 8-13 (1981).

- 31.- Nogawa, K.; Yamada, Y.; Honda, R.; Tsuritani, I.; Kobayashi, E. and Ishizaki, M.: Copper and zinc levels in serum and urine of cadmium-exposed people with special reference to renal tubular damage. *Environ. Res.* 33: 29-38 (1984).
- 32.- Sternlieb, I.: Pathobiology of metals. In: The liver biology and pathobiology. Arias, I., Popper, H.; Schachter, D. and Shafritz, D.A. (Editors). Raven Press, New York (1982).
- 33.- Demayo, A.; Taylor, M.C. and Taylor, K.W.: Effects of copper on humans, laboratory and farm animals, terrestrial plants, and aquatic life. *CRC, Critical Rev. in Environ. Control*, pp. 183-265 (1982).
- 34.- Nederbragt, H.: The influence of molybdenum on the copper metabolism of the rat at different copper levels of the diet. *Br. J. Nutr.* 43: 329 (1980).
- 35.- Cartwright, G.E., Gubler, C.J. and Wintrob, M.M.: Studies on copper metabolism. XI Copper and iron metabolism in the nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.* 33: 685-698 (1954).
- 36.- Chan, W.Y.; Garnica, A.D. and Renert, O.M.: Inducibility of metallothionein biosynthesis in cultured normal and Menkes Kinky Hair Disease fibroblasts: Effects of copper and cadmium. *Pediat. Res.* 13: 197-203 (1979).
- 37.- Chan, W.Y.; Garnica, A.D. and Renert, O.M.: Cell culture studies of Menkes Kinky Hair Disease. *Clin. Chim. Acta.* 88: 495-507 (1978).



- 38.- Keen, C.L.; Mark-Savage, P.; Lönnerdal, B. and Hurley, L.: Teratogenic effects of D-penicillamine in rats: Relation to copper deficiency. Drug-Nutrient Interactions 2: 17-34 (1983).
- 39.- Marston, H.R.: Copper deficiency. Work of the Division of Biochemistry and General Nutrition of C.S. I.R., Proc. Roy. Soc. Lond. A 199: 273-294 (1949).
- 40.- Owen, C.H.: Copper deficiency and toxicity. Noyes Publication, New Jersey, USA (1981).
- 41.- Flynn, A.; Franzman, A.W.; Arneson, P.D. and Oldemyer, J.L.: Indications of Cu-deficiency in a subpopulation of Alaskan moose. J. Nutr. 107: 1182-1189 (1977).
- 42.- Anonymous.: Plasma levels of apoceruloplasmin and holoceruloplasmin in Cu-deficient and normocupremic rats. Nutr. Rev. 28: 291-293 (1970).
- 43.- Everson, G. J.; Shrader, R.E. and Wang, T.I.: Chemical and morphological changes in the brain of copper deficient guinea pigs. J. Nutr. 96: 115-125 (1968).
- 44.- Gillespie, J.M.: The isolation and properties of some soluble proteins of Cu-deficient wool. Aust. J. Biol. Sci. 17: 282-300 (1964).
- 45.- Hambidge, K.M.: The role of zinc and other trace metals in pediatric nutrition and health. Ped. Clin. N. Amer. 24: 95-106 (1977).

- 46.- Sabbioni, E.; Di Nucci, A. and Edel, J.: Intestinal absorption and excretion of thallium ( $^{201}\text{Tl}$ ) in the rat. Arch. Toxicol, 55/suppl. 7: 446-450 (1984).
- 47.- Lie, R.; Thomas, J.K. and Scott, J.K.: The distribution and excretion of thallium-204 in the rat with suggested MPC's and bio-assay procedure. Hlth. Phys. 2: 334 (1960).
- 48.- Cassarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons. Doull, J.; Klaassen, C.D. and Amdur, M.O. (Editors). Macmillan Publishing Co., Inc. Second Edition (1980).
- 49.- Zbinden, G. and Flury-Roversi, M.: Significance of the LD<sub>50</sub>-test for the toxicological evaluation of chemical substances. Arch. Toxicol. 47: 77-99 (1981).
- 50.- Bank, W.J.; Pleasure, D.E.; Suzuki, K.; Nigro, M. and Katz, R.: Thallium poisoning. Arch. Neurol. 26: 456-464 (1972).
- 51.- Amore, F.: Determination of cadmium, lead, thallium, and nickel in blood by atomic absorption spectrometry. Anal. Chem. 46: 1597-1599 (1974).
- 52.- Jauge, P., Reyes, R. y Lehmann, P.A.: Alteraciones del funcionamiento renal en ratas intoxicadas en forma aguda con talio(I). Memorias X Congreso Nacional de Farmacología, pp. 122 (1986).

- 53.- Harper, H.A.; Rodwell, V.W. y Mayes, P.A. (Editores): Manual de Química Fisiológica. Séptima Edición. Editorial el Manual Moderno, S.A. (1980).
- 54.- Orloff, J. and Handler, J.S.: The role of adenosine 3',5' phosphate in the action of antidiuretic hormone. Am. J. Med. 42: 757 (1967).
- 55.- Ashbi, S.L.; King, L.J. and Parke, D.V.: The effect of cadmium administration on the biliary excretion of copper and zinc and tissue deposition of these metals. Environ. Res. 26: 95-104 (1981).
- 56.- Nordberg, M.: Studies on metallothionein and cadmium. Environ. Res. 15: 381-404 (1978).
- 57.- Chmielnicka, J.; Brzeźnicka, E. and Sniady, A.: Kidney concentrations and urinary excretion of mercury, zinc and copper following the administration of mercuric chloride and sodium selenite to rats. Arch. Toxicol. 59: 16-20 (1986).
- 58.- England, J.M. and Down, M.C.: Red-cell-volume distribution curves and the measurement of anisocytosis. The Lancet: 701-703 (1974).