



DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v7i3.1935>

Ciencias técnicas y aplicadas
Artículos de investigación

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

Pathological effect of hydrargyria on murine systemic physiology. Ayacucho 2020

Efeito patológico da hidrargiria na fisiologia sistêmica murina. Ayacucho 2020

Jesús Javier Ñaccha-Urbano ^I

jesus.naccha@unsch.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0002-5035-4849>

Jorge Arenas-Terrel ^{II}

jorge.arenas@unsch.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0002-6632-9744>

Orlando Pretell-Naccha ^{III}

orlando.pretell@unsch.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0001-5026-781X>

Correspondencia: jesus.naccha@unsch.edu.pe

***Recibido:** 16 de marzo de 2021 ***Aceptado:** 22 de abril de 2021 * **Publicado:** 10 de mayo de 2021

- I. Doctor Biólogo y Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- II. Magister en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- III. Doctor en Medicina Humana, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.

Resumen

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el efecto fisiopatológico de la hidrargiria en estructuras sistémicas de murinos, lo cual se realizó en el laboratorio de Fisiología y Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias Biológicas. Se utilizaron 12 ratones albinos *Mus musculus*, de la variedad Balb/c, donde se realizaron tratamientos en tres grupos experimentales y uno control. Cabe mencionar que se utilizaron 12 ratones machos y hembras, y la edad promedio fue de 50 días. Cada grupo experimental estuvo constituido por 3 ratones, a los cuales se les aplicó 1 ml de bicloruro de mercurio 1mg para el I Grupo, 2 mg para el II grupo y 3 mg para el III grupo por vía oral. Las lecturas de los grupos experimentales, se hicieron a los 3, 6 y 12 días, donde la concentración de creatinina para el grupo I fue de 0.3 mg/dl, el grupo II 0.7 mg/dl y el grupo III 0.6 mg/dl. La segunda lectura se realizó a los 6 días con el siguiente resultado: grupo I 0.4 mg/dl, el grupo II 0.8 mg/dl y el III con 0.9 mg/dl. La tercera lectura se realizó el día 9: grupo I incremento a 0.6 mg/dl, el grupo II a 0.9 mg/dl y el III grupo 1.0 mg/dl. Es decir que a medida que pasa el tiempo se aumenta los niveles de creatinina, lo que significa que el mercurio se acumula en los órganos dañándolos hasta generar complicaciones. Luego de 10 días de evaluaciones de las sintomatologías, se realizó las necropsias correspondientes con el 66.67% daño renal, 22.22% afecciones pulmonares y 11.11% de hemorragia interna. Estadísticamente no hubo diferencia significativa.

Palabras Clave: Hidrargiria; murinos; creatinina; mercurio.

Abstract

The present research work aims to evaluate the pathophysiological effect of hydrargyria in murine systemic structures, which was carried out in the Laboratory of Physiology and Natural Sciences of the Faculty of Biological Sciences. Twelve *Mus musculus* albino mice of the Balb / c variety were used, where treatments were carried out in three experimental groups and one control group. It is worth mentioning that 12 male and female mice were used, and the average age was 50 days. Each experimental group consisted of 3 mice, to which 1 ml of mercury bichloride 1mg was applied for Group I, 2 mg for Group II and 3 mg for Group III by oral route. The readings of the experimental groups were made at 3, 6 and 12 days, where the creatinine concentration for group I was 0.3 mg / dl, group II 0.7 mg / dl and group III 0.6 mg / dl. The second reading was carried out at 6 days with the following result: group I 0.4 mg / dl, group II 0.8 mg / dl and group III with 0.9 mg / dl. The third reading was made on day 9: group I increased to 0.6 mg / dl, group II to 0.9 mg / dl and group III to

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

1.0 mg / dl. In other words, as time passes, creatinine levels increase, which means that mercury accumulates in the organs, damaging them until complications are generated. After 10 days of evaluating the symptoms, the corresponding autopsies were performed with 66.67% kidney damage, 22.22% pulmonary affections and 11.11% internal bleeding. Statistically there was no significant difference.

Keywords: Hydrargyria; murine; creatinine; mercury.

Resumo

O presente trabalho de pesquisa tem como objetivo avaliar o efeito fisiopatológico da hidrargiria em estruturas sistêmicas murinas, o qual foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Ciências Naturais da Faculdade de Ciências Biológicas. Foram utilizados 12 camundongos *Mus musculus* albino, da variedade Balb / c, onde os tratamentos foram realizados em três grupos experimentais e um controle. Vale ressaltar que foram utilizados 12 camundongos machos e fêmeas, com idade média de 50 dias. Cada grupo experimental foi composto por 3 camundongos, aos quais foi aplicado 1 ml de bicloreto de mercúrio 1mg para o Grupo I, 2 mg para o Grupo II e 3 mg para o Grupo III por via oral. As leituras dos grupos experimentais foram feitas aos 3, 6 e 12 dias, sendo a concentração de creatinina para o grupo I 0,3 mg / dl, grupo II 0,7 mg / dl e grupo III 0,6 mg / dl. A segunda leitura foi realizada aos 6 dias com o seguinte resultado: grupo I 0,4 mg / dl, grupo II 0,8 mg / dl e grupo III com 0,9 mg / dl. A terceira leitura foi feita no dia 9: grupo I aumentou para 0,6 mg / dl, grupo II para 0,9 mg / dl e grupo III para 1,0 mg / dl. Ou seja, com o passar do tempo, os níveis de creatinina aumentam, o que faz com que o mercúrio se acumule nos órgãos, danificando-os até que surjam complicações. Após 10 dias de avaliação dos sintomas, as autópsias correspondentes foram realizadas com 66,67% de lesão renal, 22,22% de afecções pulmonares e 11,11% de sangramento interno. Estatisticamente, não houve diferença significativa.

Palavras-chave: Hydrargyria; murinos; creatinina; mercúrio.

Introduction

La hidrargiria, es una enfermedad provocada por el efecto del mercurio en el organismo viviente: planta, animal y especialmente en el humano, de actividad neurotóxica, con efectos adversos sobre la membrana celular y órganos internos. Dentro de los metales pesados, se tiene: plomo, cadmio, cromo

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

y mercurio, siendo una preocupación importante su toxicidad aguda y crónica, y su amplia variedad de fuentes de exposición.

Esta enfermedad se produce principalmente por ingestión o inhalación de cualquiera de las 3 formas de mercurio: elemental, orgánico e inorgánico (1). La exposición al mercurio elemental afecta a los pulmones (la inhalación de vapores de mercurio provoca tos, escalofríos, fiebre, dificultad respiratoria) y a la piel (leve inflamación, vesiculación, descamación, irritación, urticaria, eritema y dermatitis alérgica de contacto acompañada de dolor), así como al sistema nervioso periférico y central (depresión, paranoia, irritabilidad extrema, alucinaciones, incapacidad para concentrarse, pérdida de memoria, temblor de manos, cabeza, labios, lengua, mandíbula y párpados, pérdida de peso, baja temperatura corporal, somnolencia, cefaleas, insomnio, fatiga). La exposición al mercurio inorgánico provoca, por lo general, el desarrollo de un sabor metálico, dolor orofaríngeo localizado, náuseas, vómitos, diarrea sanguinolenta, dolor cólico abdominal, disfunción renal y anomalías neurológicas; mientras que el mercurio orgánico puede derivar en neurotoxicidad retardada.

Del mismo modo, la absorción por parte del organismo humano de compuestos de mercurio orgánico provenientes de los alimentos es de aproximadamente el 7% de la dosis ingerida, mientras que la absorción gastrointestinal de metil mercurio es prácticamente completa, la distribución del mercurio entre hematíes y plasma son los más afectados (2).

Por lo cual, se requiere disponer de una metodología analítica adecuada que combine un tratamiento demuestra que preserve las especies, una separación eficaz de las mismas y un sistema que permita su detección a los bajos niveles de concentración en que se encuentran habitualmente” (3). De la misma manera, la toxicología reguladora ha puesto cada vez mayor énfasis en la evaluación de los riesgos que presentan las sustancias químicas sobre la salud pública y ambiental, para lo cual realiza ensayos con animales (4). Debido a la presión de métodos alternativos a los tradicionales.

La presencia de mercurio está relacionada con el campo de la Salud Pública, donde la población de la región está en peligro de contactar directamente; las minas legales e ilegales, lavaderos de oros e indirectamente con diversos productos que contienen mercurio; en semillas con plaguicidas o biocidas y el agua contaminada de relaves mineros, desechos de estupefacientes, productos de belleza, materiales con mercurio deteriorados, entre otros.

Asimismo, el mercurio es un mineral que se encuentra en tres estados: metálico (Hg^0), mercurioso (Hg^{2++}) y mercúrico (Hg^{++}) (5). También forman otros compuestos organometálicos, algunos de los cuales tienen usos industriales y agrícolas. El mercurio elemental tiene una presión de vapor

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

sumamente elevada. La atmósfera saturada a 20 °C tiene una concentración más de 200 veces superior a la de la concentración comúnmente aceptada para la exposición profesional. El mercurio elemental y los haluros de compuestos alquimercuriales son solubles en disolventes no polares. El vapor de mercurio es más soluble en plasma, sangre entera y hemoglobina que en agua destilada, donde sólo se disuelve ligeramente. Los compuestos organometálicos son estables, aunque algunos son fácilmente descompuestos por los organismos vivos

El mercurio tiene múltiples usos como: cátodo en la electrólisis del cloruro sódico. Los compuestos químicos resultantes quedan contaminados con mercurio, su utilización en otras actividades industriales origina la contaminación de otros productos. El mercurio se emplea en la industria eléctrica, en instrumentos de control en el hogar y la industria, y en instrumental médico, amalgama odontológica y las prácticas de laboratorio. Igualmente, algunos agentes terapéuticos contienen mercurio inorgánico y también es utilizado en la extracción de oro, donde se utilizan grandes cantidades de mercurio.

El vapor de mercurio emitido se convierte en forma soluble que son depositadas por la lluvia en el suelo y el agua. El tiempo de persistencia atmosférica para el vapor de mercurio es de hasta tres años, mientras que el de las formas solubles es de sólo algunas semanas. El cambio de especiación del mercurio desde las formas inorgánicas hasta las metiladas es la primera etapa del proceso de bioacumulación acuática. El metilmercurio ingresa en la cadena alimentaria de las especies productoras como consumidoras, generando su acumulación y las alteraciones correspondientes.

Por ello los metales pesados son considerados como cancerígenos por la Agencia de Investigación sobre el Cáncer de la OMS, a tomar conciencia sobre los posibles efectos perjudiciales del mercurio en la salud y el medio ambiente.

La World Health Organization (6), propone que los niveles de mercurio en la orina y la sangre pueden usarse como indicadores de la exposición, siempre que ésta sea relativamente constante a largo plazo y se evalúe en un grupo. Los datos de exposición recientes son más fiables que los que se citan en Criterios de Salud Ambiental.

Se observan niveles en la orina de unos 50 µg/g de creatinina tras la exposición profesional a unos 40 µg de mercurio por m³ de aire (6). Una forma de salvar esos problemas es analizar el mercurio en el plasma o analizar tanto el mercurio inorgánico como el metil mercurio. El problema de la interferencia debida al metil mercurio es mucho menor cuando se analiza la orina, puesto que el metil mercurio se

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

excreta con la orina en grado sumamente reducido, (6), en la Tabla 1 se muestran valores de referencia de algunos metales pesados.

Tabla 1: Valores de referencia de algunos metales pesados (cadmio, mercurio, zinc, cobre, plomo).

METALES	UÑAS	CABELLO	SALIVA	ORINA	SANGRE
<i>Cadmio</i>	0,018 ug/g	0,41 ug/g	0,43 ug/g	0,32 g/L	0,55 ug/g
<i>Mercurio</i>	0,033 ug/g	0,037 ug/g	0,015mg/g	0,89 g/L	0,95 g/L
<i>Plomo</i>	0,062 ug/g	4,06 ug/g	25,5 ug/g	1,63 g/L	56,8 mg/L
<i>Zinc</i>	129 ug/g	102 ug/g	23 mg/g	0,5 mg/g	0,70 mg/L
<i>Cobre</i>	65,8 ug/g	5,5 ug/g	16,9 ug/g	11,38 ug/L	0,75 mg/L

Fuente: (6)

De la misma manera, los límites máximos permisibles de concentración de metales están muy bien establecidos en agua (ver Tabla 2) (7). Sin embargo, aún falta por definir los límites de concentración y riesgo de Hg, As y Cd en hortalizas, legumbres y cereales, para permitir estandarizar y consensuar los estudios de contaminación que se están realizando, así como los efectos tóxicos y en ambiente.

Tabla 2: Límites máximos permisibles de concentración de metales pesados (Hg, As, Cd, y Pb) en agua y suelo y alimentos humanos.

AGUA MG/L	HG	AS	CD	PB
<i>Consumo humano</i>	0,001	0,05	0,01	0,05
<i>Marina y estuarios</i>	0,0001	0,05	0,05	0,01
<i>Uso agrícola</i>	0,001	0,1	0,01	0,05
<i>Uso pecuario</i>	0,01	0,2	0,05	0,05

Fuente: (7)

La elevada toxicidad, el impacto causado en salud por exposición prolongada o por bioacumulación de metales pesados resulta alarmante (8) y (9). Dependiendo del tipo de metal o metaloide, se producen afecciones que van desde daños en órganos vitales hasta desarrollos cancerígenos. En este sentido, a nivel global, se han reportado casos que dan cuenta de las afecciones en la salud por causa del consumo de alimentos contaminados por metales pesados afirman que un caso relevante ocurrió en Japón en la década de los cincuenta, en donde la población ubicada en las riberas del río Jintsu, aguas abajo de una zona minera de zinc (Zn), plomo (Pb) y cobre (Cu), se vio afectada por el consumo de arroz proveniente de cultivos contaminados con cadmio (Cd) procedente de los vertimientos de las minas (10). Esta ingesta produjo una enfermedad conocida como Itai Itai o osteoartritis la cual afecta principalmente el tejido óseo.

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

Se ha utilizado un proceso de búsqueda sistemática a fin de consolidar evidencia científica que permita aproximar un diagnóstico multidimensional de salud ambiental en la provincia de Espinar asociado a sus actividades antropogénicas, con un nivel de certeza que alcance la aplicación de los principios protectivo y preventivo en ambiente y salud (11).

Existe una investigación que relaciona combinaciones como: “human health and mining” con 6047 resultados, “communities health and mining” con 466 resultados, “mining and cáncer” con 3583 resultados, “non-occupational exposure and mining” con 21 resultados, “heavy metals and mining and human health” con 1235 resultados y así sucesivamente (1). Se ha tomado en cuenta una recopilación informativa y su sistematización, en el ámbito de la Micro-Red de Salud de Espinar que es parte de la Red Canas Canchis Espinar, tomando como información base, los estudios de monitoreo de exposición a metales pesados realizados en la zona tanto el 2010 como el 2013 por el Centro de Salud Ocupacional y Protección del Ambiente para la Salud (CENSOPAS), centro adscrito al Instituto Nacional de Salud (INS), organismo público descentralizado del Ministerio de Salud del Perú (MINSA). También, se han revisado distintos monitoreos ambientales realizados en el ámbito de nuestra revisión sistemática.

En referencia a los estudios sobre animales, el método analítico desarrollado basado en el secado previo de la muestra en estufa y el empleo posterior de HCl como medio extractante permite la extracción de las especies de mercurio presentes en muestras biológicas de forma cuantitativa, manteniendo su integridad durante todo el proceso de extracción (3). Además, ha demostrado que los extractos ácidos son estables durante una semana, no produciéndose variaciones en la concentración de mercurio total. El almacenamiento de los extractos durante el periodo mencionado, evitándose la necesidad del análisis inmediato.

El método ha sido aplicado satisfactoriamente para la determinación de las especies de mercurio en pescados, y validado mediante su aplicación a un material de referencia. La metodología desarrollada permite la determinación de las especies de mercurio sin necesidad de emplear procedimientos más laboriosos como derivación por etilación. El método desarrollado basado en la combinación de la energía procedente de una sonda de ultrasonidos y un tratamiento enzimático permite la extracción del contenido total de selenio y sus especies en muestras biológicas en un tiempo muy inferior al requerido por otros procedimientos, sin que se originen pérdidas ni transformaciones de las especies químicas estudiadas. Este método de extracción ha sido aplicado satisfactoriamente a muestras de

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

origen vegetal y animal y se caracteriza por el bajo consumo de reactivos, la simplicidad y seguridad del procedimiento.

La determinación de Hg total y sus especies en pescados de elevado consumo en España y Portugal pone de manifiesto que los pescados seleccionados tienen la habilidad de acumular elevadas concentraciones de Hg, fundamentalmente MeHg. En la Tabla 3 se muestran los valores de la Ingesta diaria y evaluación de ingesta de mercurio por la población en general

Tabla 3: Ingesta media diaria y evaluación de ingesta de mercurio por la población en general.

<i>FUENTE EXPOSICIÓN</i>	<i>HG VAPOR</i>	<i>HG INORGÁNICO</i>	<i>METILMERCURIO</i>
<i>Aire</i>	0.030	0.002	0.008
<i>Pescado</i>	0.024	0.600	2.4
<i>Otros</i>	0	3.6	0
<i>Agua potable</i>	0	0.050	0
<i>Amalgama dental</i>	3.8	0	0
<i>Total</i>	4.34	4.252	2.408

Fuente: (3)

Estudios de bioaccesibilidad de Hg y Se llevados a cabo mediante la simulación de una digestión gastrointestinal in vitro demostraron que ésta depende del tipo de muestra analizada, excepto en el caso de la Se/Met, lo que implica que esta especie se encuentra presente en los pescados en proteínas de la misma naturaleza. Las especies de Hg y Se permanecen inalteradas durante todo el proceso de digestión, resultando más disponible las especies de Se. El pescado más recomendable para el consumo humano puede calcular la relación molar Selenio/Mercurio. De todos los pescados estudiados la sardina ha resultado ser la especie más idónea.

Cabañero (2005) (3), indica que la cuantificación, especiación y distribución de los compuestos de Hg y Se, pone de manifiesto la biotransformación de ambos elementos, así como el antagonismo ejercido por el Se como resultado de su interacción con el Hg cuando se administran simultáneamente en aves.

Otra investigación determina los niveles de mercurio bioacumulados en los depredadores analizados permitieron diferenciar entre los grupos de depredadores, posicionando al grupo tiburones, con excepción de *S. zygaena*, como los depredadores con las mayores bioacumulaciones de mercurio con respecto a las especies afines a la pesca deportiva (12). A pesar de registrar valores altos de mercurio en algunos tiburones (ver Tabla 4, la escasa correlación entre las longitudes y las bioacumulaciones de mercurio, así como los niveles de selenio encontrados, pueden ser evidencia de los mecanismos

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

de desintoxicación que poseen los animales marinos. El patrón de bioacumulación de mercurio observado en los depredadores en la costa occidental de Baja California Sur, no fue similar al presentado en el Golfo de California por otros autores para las mismas especies. Por lo que, en la zona del Golfo de California, existen más fuentes potenciales de contaminación provenientes de las actividades de las poblaciones aledañas (agricultura, industria eléctrica, etc.) (1)

Tabla 4: Proporción molar de las concentraciones de mercurio y selenio (Hg/Se) en músculo de las diferentes especies de peces pelágicos que se capturan en Baja California.

Especie	umol Hg/g	umol Se/g	Hg/Se
<i>Coryphaenahyppurus</i>	1.15	2.53	
<i>Spirnazigaena</i>	0.80	4.31	
<i>Piranaceae glauca</i>	6.93	1.27	
<i>Isurusoxyrinchus</i>	5.53	1.77	
<i>Alopiaspelágicus</i>	7.03		
<i>Carcharinuslimbatus</i>	18.84		
<i>Thunnusalbacares</i>	0.70		
<i>Makairanigricans</i>	21.84		
<i>Kajiuraaudax</i>	1.60		

Fuente: (1)

Debido a que los mayores niveles de mercurio se presentaron en el músculo y no en las aletas de los tiburones, se deduce que las bioacumulaciones pueden estar influidas por la cantidad de lípidos del músculo, debido a las características lipofílicas del mercurio. Algunas especies de cefalópodos analizados no bioacumulan niveles altos de mercurio, por lo que no aportan cantidades considerables a los depredadores; sin embargo, al presentar niveles menores de mercurio que sus depredadores, es un reflejo de que los niveles tróficos altos poseen una mayor cantidad de mercurio. Esta contaminación, proviene, entre otros causales, del uso para riego de aguas afectadas. De igual manera, se han encontrado metales en diferentes concentraciones en peces, carnes y leche resultado de la bioacumulación y movilidad desde el ambiente a las fuentes hídricas (12).

Del mismo modo, los ensayos de irritación ocular consisten en la administración de los productos directamente en el ojo de un conejo, que es el animal de elección (4). Se puede aplicar el método tradicional de estudio de la irritación y la corrosión ocular in vivo se ha venido realizando mediante el denominado “ensayo de Draize” (1994), con muchos detractores debido a su agresividad, a su subjetividad y a la falta de correlación con los efectos reales en humanos (13).

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

Una variante del ensayo es la determinación de irritación dérmica en la piel del conejo luego de ser rasurada, que también resulta muy subjetiva, ya que la valoración de las lesiones ocasionadas es realizada por un experimentador enrojecimiento provocado en la piel después de la aplicación del producto en estudio. Los ensayos de sensibilización mediante el método de maximización realizado en cobayos son los más utilizados.

Por otro lado, el mercurio es un metal pesado que contiene efectos tóxicos, una de las vías de ingreso en los humanos es por el consumo de pescado, debido al riesgo representado para la salud, existe un gran interés en el desarrollo de técnicas analíticas sensibles y fiables para su determinación (14). Para la determinación del mercurio total existe una gran variedad de metodologías que proporcionan información parcial acerca de su impacto en la salud humana y el medio ambiente, como consecuencia se han desarrollado técnicas capaces de separar e identificar las diversas especies de mercurio para poder evaluar los distintos grados de impacto. Se realiza una propuesta del principio básico, ventajas e inconvenientes de las principales técnicas en la determinación de mercurio total y metilmercurio en matrices alimentarias (músculo de pescado) empleadas por métodos analíticos directos e indirectos, tales como: la espectrometría de absorción atómica de vapor frío (CV AAS), vapor frío espectrometría de fluorescencia atómica (CV AFS), plasma acoplado inductivamente-espectrometría de masas (ICP-MS) y analizador de mercurio. También se presenta un breve texto con el uso de técnicas cromatográficas para el análisis de especiación del mercurio orgánico. Se han desarrollado muchas técnicas analíticas para determinar el mercurio, las cuales han logrado tener un mayor grado de especificidad y selectividad con equipos muy sensibles, para determinar concentraciones en el nivel ultratrazas y lograr la identificación y separación de los diferentes compuestos del mercurio, para garantizar el riesgo asociado al consumo de pescado.

Por otra parte, el ratón viene a ser utilizado en los experimentos e investigaciones biomédicas. Pertenece al orden Rodentia, género *Mus* y especie, *Mus musculus*, el ratón blanco Suiss o SPF, es una variedad albina, es inofensivo, pero a veces muerde con fiereza sino guarda las precauciones necesarias (15). Es de gran prolificidad y gran adaptación, con amplia variedad genética y sensibilidad para determinados agentes infecciosos, es modelo representativo de reactivos biológicos y tóxicos. Actualmente cuenta con estirpes y líneas nuevas. La aplicación actual de animales de experimentación con mercurio en los roedores, presentarán patologías infecciosas en el tracto respiratorio, intestinal e hígado, la cual puede conllevar a la mortalidad y morbilidad.

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

El riñón es el depósito principal de mercurio tras la administración de vapor de mercurio elemental o de compuestos de mercurio inorgánico (50-90% de la carga corporal de los animales). De modo significativo, más mercurio es transportado al cerebro del ratón y el mono tras la inhalación de mercurio elemental que tras la inyección intra-venosa de dosis equivalentes de la forma mercúrica. El cociente hematíes/plasma en el hombre es mayor (> 1) tras la administración de mercurio elemental que tras la de mercurio mercúrico, y la proporción de mercurio que atraviesa la barrera placentaria es mayor. Sólo una pequeña fracción del mercurio bivalente administrado ingresa en el feto de los roedores.

La reducción del mercurio bivalente a Hg^0 se ha demostrado tanto en animales (ratones y ratas) como en el hombre. La descomposición de los compuestos órgano mercuriales, incluido el metilmercurio, es también una fuente de mercurio mercúrico.

Método

Ubicación Política

Esta investigación fue desarrollada en el distrito de Ayacucho, en las instalaciones del laboratorio de Fisiología y Ciencias Naturales perteneciente a la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.

Ubicación geográfica

El distrito de Ayacucho se encuentra ubicado en la región centro sur de los andes peruanos, cuyas coordenadas son: latitud sur $13^{\circ}09'26''$ y longitud oeste $74^{\circ}13'22''$ del meridiano de Greenwich; a una altitud de 2,747 msnm.

Población y muestra

La población en estudio comprende todos los ratones albinos que se encuentran en la ciudad de Ayacucho, y la muestra está constituida por 12 ratones albinos *Mus musculus* de la variedad Balb, establecidos en jaulas metabólicas especiales. Alimentación ad libitum, la longitud de la nariz a la cola fue de 15 cm.

Método de la Creatinina de Wiener. (Wiener, 2000)

La creatinina reacciona con el picrato alcalino denominado reacción de Jaffe, produciendo un cromógeno rojo, la velocidad de reacción, bajo condiciones controladas, es una medida de

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

concentración de creatinina de la muestra, puesto que se comporta como una reacción cinética de primer orden para la creatinina, por otra parte, se ha demostrado que, entre los 30 segundos y los 5 minutos posteriores al inicio de la reacción, el incremento de color se debe exclusivamente a la creatinina, que nos indicara el daño renal producido.

Recolección y estabilidad de la muestra

La muestra es recolectada en tubos heparinizados (monojet tapón verde) o tubos metal free con EDTA (tapón azul marino). El volumen mínimo de muestra es un mililitro de sangre entera que contenga 1.5 ul de heparina de 5000 UI o 1.5 mg de EDTA como anticoagulante. La sangre entera se puede conservar a 4°C aproximadamente por una semana.

Materiales requeridos

- Espectrofotómetro capaz de leer a 500 ± 10 nm.
- Micropipetas y pipetas para medir volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas.
- Baño de agua a 25°C.
- Cronometro
- Bicloruro de Mercurio (HgCl₂)

Preparación de muestras biológicas

Los 3 ratones se agruparon en 3 grupos experimentales y 1 grupo control. Sumando un total de 12 ratones albinos.

A: aplicar 1.0 ml de la solución de mercurio (1mg Hg/kg/día), vía oral por 6 días a 3 ratones.

B: aplicar 1.0 ml de la solución de mercurio (2mg Hg/kg/día), vía oral por 6 días a 3 ratones.

C: aplicar 1.0 ml de la solución de mercurio (3mg Hg/kg/día), vía oral por 6 días a 3 ratones.

D: grupo control aplicar 1 ml del placebo (solución salina fisiológica) como testigo a 3 ratones.

Análisis de las muestras según el Método de Wiener (2)

Procedimiento para la técnica de suero o plasma. Se realizaron tres lecturas al 3, 6 y el 9 día.

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

- Llevar el aparato a cero con agua destilada. En dos cubetas espectrofotométricas marcadas S (Standar) y D (Desconocido).
- A la cubeta S colocar 1,2 ml del reactivo de trabajo y 0,2 ml del estándar.
- A la cubeta D agregar 1, 2 ml del reactivo de trabajo y 0,2 ml de la muestra
- Mezclar inmediatamente, marcar el cronómetro y proseguir la incubación. A los 30 segundos medir la absorbancia de S1 y D1 y continuar la incubación. Medir nuevamente la absorbancia S2 y D2 a los 5 minutos, después de la primera lectura.

Cálculos de los resultados

Creatinina en suero (mg/dl) = (D2-D1) x F

$$F = \frac{20 \text{ mg/l}}{S}$$

Diagnóstico de la sintomatología y la necropsia. Lo cual se realizó el decimo día a todos los ratones en experimentación.

Análisis de datos

Los datos obtenidos en el estudio se trabajaron en primer lugar en el programa Excel con el fin de visualizarlos para su análisis estadístico. Se utilizará tablas de contingencia acompañados de gráficos para una mejor comprensión de los resultados y se usarán las pruebas de Intervalo de confianza para hallar la relación existente entre dos variables mediante la significación estadística, con un nivel de confianza del 95%. y el análisis postural se realizará por medio del software SSPS v20.

Resultados y discusión

En la Tabla 5 se muestran los promedios de los niveles de creatinina mg/dl producto del efecto patológico de la hidrargiria en los murinos.

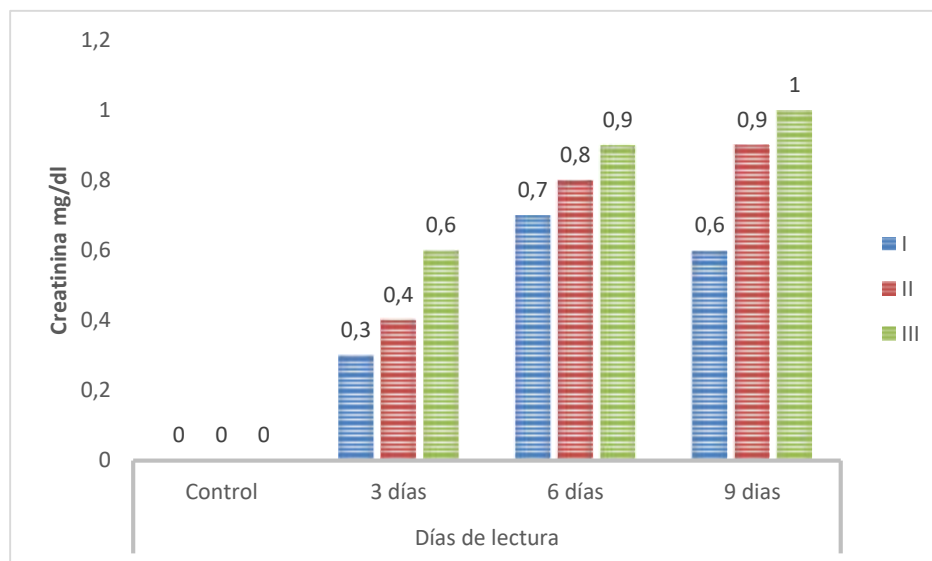
Tabla 5: Promedios de los niveles de creatinina mg/dl debido al efecto patológico de la hidrargiria en murinos.

TRATAMIENTOS	3 DÍAS	6 DÍAS	9 DÍAS
<i>Control</i>	0	0	0
<i>I</i>	0,3	0,7	0,6
<i>II</i>	0,4	0,8	0,9
<i>III</i>	0,6	0,9	1

Fuente: Elaboración propia

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

Figura 1: Niveles de creatinina mg/dl resultado del efecto patológico de la hidrargiria en murinos.



Fuente: Elaboración Propia

De la misma manera en la Tabla 6 se indican las sintomatologías presentadas en el grupo experimental de murinos con hidrargiria

Tabla 6: Sintomatología patológica observada en el grupo experimental de murinos con hidrargiria.

SÍNTOMAS	N	%
<i>Edema</i>	4	44,45
<i>Alterac. Neurolog.</i>	3	33,33
<i>Decolor. Piel</i>	1	22,22
Total	9	100

Fuente: Elaboración propia

Igualmente en la Tabla 7 se presentan los resultados de la fisiología sistémica del grupo experimental de murinos afectados por la hidrargiria.

Tabla 7: Necropsia realizada en la fisiología sistémica del grupo experimental de murinos afectados por la hidrargiria.

NECROPSIA	N	%
<i>Daño renal</i>	6	66,67
<i>Afección pulmonar</i>	2	22,22
<i>Hemorragias</i>	1	11,11
Total	9	100

Fuente: Elaboración propia

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

Posterior a las lecturas realizadas de los niveles de creatinina mg/dl debido al efecto patológico de la hidrargiria en murinos que se muestran en la tabla 6, donde se realizaron tratamientos en tres grupos experimental y uno control. Cabe mencionar que cada grupo estuvo constituido por 3 ratones, a los cuales se les aplicó 1 ml de bicloruro de mercurio 1mg para el I Grupo, 2 mg para el II grupo y 3 mg para el III grupo por vía oral, según la metodología correspondiente, luego de los 3 días se hizo la primera lectura de los grupos experimentales, el grupo I tuvo una concentración de creatinina 0.3 mg/dl, el grupo II 0.7 mg/dl y el grupo III 0.6 mg/dl. La segunda lectura se realizó a los 6 días con el siguiente resultado: grupo I 0.4 mg/dl, el grupo II 0.8 mg/dl y el III con 0.9 mg/dl. La tercera lectura se realizó el día 9: grupo I incremento a 0.6 mg/dl, el grupo II a 0.9 mg/dl y el III grupo 1.0 mg/dl. Es decir que a medida que pasa el tiempo se aumenta los niveles de creatinina, lo que significa que el mercurio se acumula en los órganos dañándolos hasta generar complicaciones, se debe tomar en cuenta el tamaño de los ratones de 15 cm y el peso va entre 12 a 22 gramos, la edad promedio fue de 50 días.

Esta prueba nos da la información importante sobre el funcionamiento de los riñones, como sabemos la creatinina es un producto químico de desecho producido por metabolismo celular, un riñón saludable filtra la creatinina y otros productos de desecho de la sangre y luego salen por la orina. Que sucede cuando los riñones no funcionan bien, entonces se acumula mayor cantidad de creatinina en la sangre, por acción de algunas sustancias dañinas como los metales pesados entre ellos el mercurio (3) Es decir que las sustancias tóxicas dañan el funcionamiento renal y generan consecuencias como fallas, necrosis y alteraciones de la creatinina.

Así mismo, se evaluó el efecto de la toxicidad crónica del metil mercurio sobre los niveles de creatinina y alteración histológica del riñón de *Rattus norvegicus* variedad Spargue Dawley (18). Administrando mayor cantidad de mercurio 40 mg/kg/día en el tiempo de 30 días.

Algunos autores realizaron trabajos con otras muestras de animales como peces, moluscos y mariscos. Se utilizaron nuevas técnicas como el empleo del microondas o liofilización como procedimientos alternativos de secado de muestra, y el extractante TMAH puede conducir a errores en la determinación de las especies de Hg por pérdidas de las especies volátiles o formación artificial de dimetil mercurio, respectivamente (11).

Algunas especies tales como ostras, mariscos y moluscos acumulan el cadmio proveniente del agua en forma de péptidos ligadores hasta alcanzar valores de concentración entre 100 y 1000 µg/kg. En la

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

carne, el pescado y frutas se han reportado valores de concentración entre 1 y 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y en algunos granos entre 10 y 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (19) y (20).

En referencia a la Figura 1 sobre los niveles de creatinina mg/dl resultado del efecto patológico de la hidrargiria en murinos se observa como los grupos I y II solo incrementan ligeramente, mientras que el grupo III acumula más mercurio para generar valores altos de creatinina.

Generalmente los resultados de los análisis de creatinina en sangre en humanos se miden en miligramos por decilitro o en micromoles por litro. El intervalo normal para la creatinina en sangre puede ser de 0,84 a 1,21 miligramos por decilitro (74,3 a 107 micromoles por litro), si bien esto puede variar de un laboratorio a otro, entre hombres y mujeres, y según la edad. Considerando que la cantidad de creatinina en sangre aumenta con la masa muscular, los hombres usualmente tienen niveles de creatinina superiores a las mujeres (17)

Si el nivel de creatinina sérica es superior al normal, es posible que el médico recomiende confirmar los resultados con otra prueba de orina o análisis de sangre. Si el daño renal es una inquietud, es importante controlar cualquier trastorno que pueda contribuir al daño. Es especialmente importante controlar la presión arterial, lo que a menudo requiere tomar medicamentos. No puedes revertir el daño renal permanente, pero con un tratamiento adecuado puedes prevenir daños mayores (17)

La OECD realizó estudios de absorción cutánea y se han venido realizado in vivo, tanto en animales como los cobayos se rasura la piel y se inyecta intradérmicamente el producto junto con adyuvante de Freund para potenciar el efecto sensibilizante (21). Una semana después se aplica el producto tópicamente y se mantiene durante 48 horas mediante un vendaje oclusivo. A los 21 días se vuelve a aplicar y se mantiene durante 24 horas; después de retirar el apósito y el producto, se valora la aparición de edema o eritema luego de 48 y 72 horas de su aplicación. El ensayo es largo, ya que se tarda más de 21 días y requiere el uso de numerosos animales, entre controles y tratados, según el procedimiento 427 de la OECD.

Vega (2002) en su trabajo de grado sobre la caracterización de los bioterios utilizados en la investigación científica. Los compuestos de mercurio inorgánico probablemente son absorbidos desde el tracto gastrointestinal humano hasta un nivel inferior al 10%, en promedio, pero la variación individual es considerable (15).

Referente a la sintomatología observada en murinos luego de la administración de las dosis correspondientes se nota en la tabla 7. Donde el 44.45% corresponde a la presencia de edemas por la aplicación subcutánea de los ratones y su lenta absorción, en los primeros días presentaron anuria en

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

algunos murinos, el 33.33% se notaron alteraciones nerviosas, como ataxias, temblores y deficiencias respiratorias. El 22.22% se observaron daños en la piel, una decoloración interna bajo el efecto del mercurio. Lo que se puede señalar que un alto nivel de que los riñones no funcionan bien. El nivel de creatinina aumenta de manera temporal si estas deshidratado, porque se tiene bajo volumen de sangre. El sistema nervioso central es el órgano crítico para la exposición al vapor de mercurio. La exposición subaguda ha dado origen a reacciones psicóticas caracterizadas por delirio, alucinaciones y tendencias suicidas. La exposición a bajos niveles durante periodos largos se ha asociado a síntomas de eretismo menos pronunciados. Los efectos del mercurio se habían comunicado sólo las dosis más elevadas que las asociadas a la aparición de signos y síntomas del sistema nervioso central.

La neurotoxicidad genera temblores y pérdida de sensibilidad en dedos de ambas extremidades, ataxia, pérdida de visión, audición, espasmos y finalmente coma y muerte, estas sustancias mercuriales en animales provocan coagulación de la mucosa gastro entérica, como también lesión en el riñón (20).

Se han determinaron la concentración de mercurio total por espectrometría de absorción atómica por vapor de frio, las concentraciones altas de mercurio se observaron en *Sus scrofa* 8156,9 ng/g pesos seco, seguido de *Gallusdomesticus* 3391,9 ng/g y *Cairina moschata* 1426, 5 ng/g. el consumo de estos animales en las minas de Santa Cruz representa un riesgo preocupante (22).

La necropsia realizada en la fisiología sistémica del grupo experimental de murinos afectados por la hidrargiria en la tabla 7, han notificado efectos en el riñón con niveles de exposición del 66.67%. Los estudios experimentales con animales han demostrado que el mercurio puede inducir patologías autoinmunes en todas las especies ensayadas, pero no en todas las estirpes, lo que indica una predisposición genética. Una de las consecuencias de la etiología inmunológica es que, en ausencia de estudios de la dosis/respuesta en grupos de individuos inmunológicamente sensibles.

Internamente se ha observado una afección pulmonar en un 22,22% lo que ha generado la dificultad respiratoria en los murinos y los movimientos involuntarios, entre otros. El 11.11% de murinos presentaron hemorragias internas a nivel gastrointestinal y cardiovascular, debido a los efectos del mercurio que por vía sanguínea llegaron al enfrentarse al tubo gastrointestinal y se asociaron a los ácidos y sustancias alcalinas.

Las autopsias realizadas en humanos no expuestos profesionalmente, pero con un número variable de obturaciones con amalgama, se desprende que alrededor de 25 superficies de amalgama en promedio, pueden aumentar la concentración de mercurio en el cerebro en unos 10 µg/kg (11). El aumento en

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

el riñón, basado en un número muy limitado de análisis, es probablemente de 300-400 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Sin embargo, la variación individual es considerable.

Además, el mercurio induce a una nefropatía membranosa a largo plazo debido a pequeñas concentraciones, generando un daño renal (23). Se ha esclarecido que el síndrome nefrótico posterior a la exposición con mercurio genera una reacción inmune por metales pesados, generando la producción de citocinas.

Conclusiones

Dentro de los metales pesados el mercurio es uno de ellos elementos químicos mas tóxicos directa e indirectamente, los niveles de creatinina fueron incrementándose de 0.30 a 0.6 mg/dl en el primer grupo experimental, de 0.7 a 0.9 mg/dl y en el tercer grupo de 0.6 a 1.0 mg/dl, generando un conjunto de anomalías en los murinos, por tu tamaño los murinos colapsan rápidamente.

Observamos que la intoxicación por mercurio presenta alteración y déficit alterando el funcionamiento del organismo del murino al generar edema 44.45%, alteraciones nerviosas 33.33% y decoloración de la piel 22.22%

En la necropsia realizada se observó que los murinos presentaron daño renal 66.67%, afección pulmonar 22,22% y hemorragias internas 11,11%

Referencias

1. Escobar S O. Bioacumulación y Biomagnificación de Mercurio y Selenio en peces pelágicos mayores de la costa occidental de Baja California Sur, México. La Paz, B.C.S, México;; 2010.
2. Wiener. Protocolo de Creatinina. Rosario Argentina.;; 2000.
3. Litin S. Libro de la salud familiar de la Clínica Mayo. MAYO Clinic. 5ta edición.:: Estados unidos; 2018.
4. Bakir F, Daluj S, Murtadha M, Clarson T, Smith J, Doherty R. Methylmercury poisoning in Iraq. Science. 1973;; p. 181,230.
5. Cabañero A. Acumulación e interacción de especies de mercurio y selenio en tejidos animales: desarrollo de nuevas metodologías de análisis.. Madrid, España.;; 2005.

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

6. Vinardell M. Alternativas a la experimentación animal en toxicología: situación actual. España.; 2007.
7. Arriola P. Monitoreo químico toxicológico reporte estadístico del laboratorio químico toxicológico.. Ins. Nac. Salud, 19. 2013;; p. 11-13.
8. Gaona X. Mercurio como contaminante global: desarrollo de metodologías para su determinación en suelos contaminados y estrategias para la reducción y su liberación al medio ambiente. España.; 2004.
9. World Health Organization. Declaración de Alma Sata. Suiza. [Online].; 1978 [cited 2021 mayo 10. Available from: <http://.who.int/publications/>.
10. Reyes Y, Vergara I, Torres O, Díaz M, González E. Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. Ingeniería Investigación Y Desarrollo, 16(2). 2016;; p. 66-77.
11. Combariza B. Contaminación por metales pesados en el embalse de muña y su relación con niveles en sangre de plomo, mercurio y cadmio en el municipio de Cundinamarca.. Colombia.; 2009.
12. Nava C, Mendez M. Efectos neurotóxicos de metales pesados (Cd, Pb, Ar, Ta).. Archivo Neurociencias, 16(3). 1998;; p. 140-147.
13. Sánchez C, Ramírez J, Cartagena É, Díaz J. Perfil sociodemográfico y epidemiológico de la población expuesta a la contaminación por mercurio, plomo y cadmio, ubicada en la vereda Manuel Sur de del municipio de Ricaurte y los barrios Brisas del Bogotá y La Victoria del municipio de Girardot. Investigación En Enfermería: Imagen Y Desarrollo, 12(2). 2011;; p. 93-116.
14. Osoreo F(. Diagnóstico de salud ambiental humana en la provincia Espinar. Cusco;; 2016.
15. Arriola P. Monitoreo químico toxicológico reporte estadístico del laboratorio químico toxicológico año 2013. Bol - Inst Nac Salud 19. 2013;; p. 11-12.
16. York M, Steiling W. A critical review of the assement of eye irritation potential using the rabbit eye. Jornal of applied Toxicology, 18(4). 1998;; p. 233-240.
17. Ruiz I. Metodologías analíticas utilizadas actualmente para la determinación de mercurio en músculo de pescado. Pensamiento Actual 16(26). 2016.

Efecto patológico por hidrargiria en la fisiología sistémica de murinos. Ayacucho 2020

18. Vega M. Caracterización de los bioterios utilizados en la investigación científica.. ; 2002.
19. Escala J. Efecto de la toxicidad crónica del metil mercurio sobre los niveles de creatinina y alteración histológica del riñón de *Rattusnorvegicus* variedad SpragueDawley. Arequipa, Perú;; 2017.
20. Singh A, Sharma R, Agrawal M, Marshall F. Risk assessment of heavy metal toxicity through contaminated vegetables from waste wáter irrigated área of Varanasi. *Tropical ecology*, 51(2). 2010;; p. 375-387.
21. Li A, Chan M, Leung T, Cheung R, Lam T. Mercury intoxication presenting with tics. *Archives Health Children*, 83(1). 2010. ;; p. 174-175.
22. OECD. Guidelines for the testing of chemicals. N° 437: skin absorption in vivo method. Paris;; 2004.
23. Argumedo G, Vidal J, Marrugo J. Mercurio en animales domésticos en mina Santa Cruz, Sur de Bolívar – Colombia.. *Revista Colombiana De Ciencia Animal - RECIA*, 5(2). 2013;; p. 366-379.
24. Aymaz S, Gross O, Krakamp B, Ortmann M, Dienes H, Weber M. Membranous nephropathy from exposure to mercury in the fluorescent-tube-recycling industry.. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 16(11). 2001;; p. 2253–2255.

©2020 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).|