



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO Y ZINC Y SU RELACIÓN CON
LOS VALORES DE CREATININA Y TIOLES TOTALES EN FUMADORES
CRÓNICOS, CUMANÁ, ESTADO SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

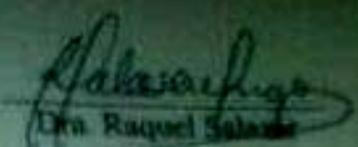
USLANY MAIRINY LOZADA BÁRCENAS

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

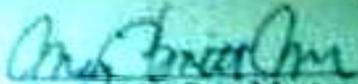
CUMANÁ, 2012

CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO Y ZINC Y SU RELACIÓN CON
LOS VALORES DE CREATININA Y TIOLES TOTALES EN FUMADORES
CRÓNICOS, CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:



Dra. Raquel Salazar
Asesora



Profa. Maj Britt Mostue
Jurado principal



Profa. Sonia Nisetti
Jurado principal

DEDICATORIA

A

Dios, por ser quien guía mis pasos y siempre me ha acompañado en todo lo que hago. Mis palabras se quedan cortas para describir lo importante que eres en mi vida y lo mucho que te agradezco por siempre estar en mí.

Mis padres, por creer en mí y ayudarme de todas las formas posibles con sus consejos, esfuerzo y amor, por darme la oportunidad de triunfar y cumplir esta meta, por haber hecho de mí una persona llena de principios y valores. Son sencillamente excelentes padres, pilotos a seguir como ejemplo de lucha y constancia. Este triunfo es de ustedes como mío, los amo y llenaré sus vidas de alegría como ustedes lo han hecho con la mía.

Mis padrinos, ustedes, mis segundos padres, aunque no estén presentes físicamente siempre noté su presencia al lado mío, sé que donde quiera que estén, cuidarán de mí y nunca me dejarán sola. Gracias por quererme tanto.

Mis hermanos, son parte de mi vida y siempre les estaré agradecida por demostrarme su cariño y amor.

Mis sobrinos, para que le sirva de ejemplo y no deje de realizar sus sueños por más obstáculos que se le presenten.

Mis amigos Lérica Montaña, Marbella Cárdenas, Asdays Henríquez, Greisy Márquez, Alba Vargas, Cecilia Brito, Armileidis Licett, Henry Díaz, Javier Oliveros y muy especialmente Zamara Yépez y Johan Calvo, por compartir conmigo parte de este gran logro y por siempre darme su palabra de aliento y estímulo. Más que amigos, son una familia, me apoyaron siempre que los necesité. “Amigos por Docena” siempre los tendré presente como uno de mis más lindos recuerdos, los adoro.

AGRADECIMIENTOS

A

La doctora (Dra.) Raquel Salazar, un agradecimiento muy especial por haberme brindado su apoyo, orientación, receptividad, estímulo, solidaridad y valiosa asesoría sin la cual no hubiese podido desarrollar de forma satisfactoria este trabajo de investigación.

La licenciada (Lcda.) Maribel Rosales por su valiosa ayuda y disponibilidad en todo momento. Sin su colaboración no hubiese sido posible culminar esta meta, siempre le estaré agradecida.

Técnico superior Henry Astudillo y la profesora Luisa Rojas, por su asesoría en el procesamiento de las muestras, gracias por estar al pendiente en todo momento.

El profesor Luis Troccoli, por compartir conmigo sus conocimientos y ayudarme a llevar a cabo la realización de este trabajo de grado.

La profesora Luzmila Albarado, mil gracias por su valiosa colaboración, su preocupación me alentaba a seguir adelante. Fue un estímulo que me impulsó a terminar esta meta, mi admiración por usted es grande, es una excelente persona, ejemplo a seguir para muchos.

Los profesores Rosa Martínez, Elvia Michelli, Diannys Martínez, Del Valle Guilarte, Evis Parra, José G. Betancourt, Antonio Maldonado, Olga Bianchi, Merlyn Vívenes, Miguel Campos, Yelixe Navarro y muy especialmente a la profesora Alina Bravo, por su excelente participación en mi formación académica. Siempre los tendré presente como uno de mis más preciados recuerdos.

Greisy Márquez, fuiste un gran apoyo, gracias por sacrificar tu tiempo y dedicármelo a mí, eres una persona muy especial, que Dios te bendiga siempre “Hermana”.

ÍNDICE

| | |
|---|--------------------------------------|
| LISTA DE TABLAS | ¡Error! Marcador no definido. |
| LISTA DE FIGURAS | V |
| RESUMEN | VII |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| METODOLOGÍA | 8 |
| Muestra poblacional | 8 |
| Obtención y procesamiento de las muestras | 8 |
| Determinación de cadmio, hierro y zinc | 9 |
| Determinación de creatinina | 11 |
| Determinación de grupos tioles..... | 12 |
| Análisis estadístico..... | 12 |
| RESULTADOS | 14 |
| DISCUSIÓN | 25 |
| CONCLUSIONES | 31 |
| RECOMENDACIONES..... | 32 |
| BIBLIOGRAFÍA | 33 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Valores máximos y mínimos de las concentraciones en sangre de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales determinadas en el grupo fumadores crónicos y no fumadores..... | 14 |
| Tabla 2. Valores máximos y mínimos de las concentraciones en orina de cadmio, hierro, zinc y creatinina determinadas en fumadores crónicos y no fumadores..... | 20 |
| Tabla 3. Perfil de metales en sangre y orina de los individuos del grupo fumadores crónicos que presentaron arsénico en orina. | 23 |
| Tabla 4. Variables de los individuos del grupo fumadores crónicos que presentaron arsénico en orina. | 24 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Comparación de las concentraciones de cadmio en sangre entre fumadores crónicos y no fumadores..... | 15 |
| Figura 2. Niveles de las concentraciones de cadmio en sangre según el género en el grupo fumadores crónicos..... | 15 |
| Figura 3. Comparación de los niveles de hierro total en sangre según el género en el grupo de fumadores crónicos..... | 16 |
| Figura 4. Comparación de las concentraciones de zinc en sangre entre fumadores crónicos y no fumadores..... | 16 |
| Figura 5. Comparación de los niveles de zinc en sangre según el género en el grupo fumadores crónicos..... | 17 |
| Figura 6. Comparación de las concentraciones de creatinina en sangre en el grupo fumadores crónicos según el género..... | 18 |
| Figura 7. Comparación de los niveles de creatinina en sangre en el grupo de los no fumadores según el género. | 18 |
| Figura 8 Comparación de las concentraciones de creatinina en sangre entre el género masculino del grupo fumadores crónicos y no fumadores. | 19 |
| Figura 9. Correlación entre las concentraciones de tioles totales y el número de cigarrillos fumados al día..... | 19 |
| Figura 10. Comparación entre los niveles de creatinina en orina en el grupo fumadores crónicos según el género..... | 21 |
| Figura 11 Comparación de las concentraciones de creatinina en orina entre el género masculino del grupo fumadores crónicos y no fumadores. | 21 |
| Figura 12. Correlación entre las concentraciones de cadmio y de hierro total en sangre en el grupo fumadores crónicos..... | 22 |
| Figura 13. Concentraciones de cadmio y de hierro total en sangre del grupo fumadores crónicos y su correlación con el consumo de cigarrillos al día. | 22 |
| Figura 14. Correlación entre las concentraciones de zinc y de hierro en orina del grupo fumadores crónicos..... | 23 |

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar las concentraciones de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales en individuos fumadores crónicos de Cumaná, estado Sucre, de ambos géneros con edades comprendidas entre 30 y 84 años. El grupo de fumadores crónicos fue dividido en 25 personas que fumaran entre 1 a 5 cigarrillos al día y 25 personas que fumaran de 6 cigarrillos en adelante al día; aparte, se escogieron 50 personas no fumadoras, de ambos géneros, como grupo control. Se colectó información de datos clínicos y epidemiológicos con previo consentimiento. Los niveles de cadmio, hierro y zinc en las muestras de sangre y orina fueron determinados por espectrofotometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado (ICP); los niveles de creatinina y tioles totales fueron valorados por el método de Jaffé y Ellman, respectivamente. Los individuos fumadores crónicos presentaron mayor rango en las concentraciones de cadmio (5,0-10,0 $\mu\text{g/l}$) que los individuos no fumadores (0-5,0 $\mu\text{g/l}$), 9 personas fumadoras (18,0%) presentaron concentraciones de cadmio que exceden el límite de riesgo aceptado por la Organización Mundial de la Salud (0,5-2,0 $\mu\text{g/l}$), mientras que sólo una persona del grupo de los no fumadores (2,0%) excedió ese límite. El análisis estadístico entre las concentraciones de cadmio entre fumadores crónicos y no fumadores mostró diferencias significativas ($p < 0,01$), también se encontraron diferencias estadísticas significativas al comparar las concentraciones de cadmio entre el género de los fumadores crónicos, en donde el género masculino fue más vulnerable a concentrar cadmio, hecho que puede entenderse ya que se determinó que los hombres están más predispuestos a acumular cadmio que las mujeres, debido a que estos individuos tenían más tiempo fumando y además, consumen más cigarrillos al día. En los individuos fumadores crónicos, el rango de las concentraciones de hierro total en sangre fue mayor (122,2-258,4 mg/l) que en los no fumadores (105,9-240,8 mg/l), dejando en evidencia que a mayor concentración de cadmio, mayor concentración de hierro, y esto se corroboró al correlacionar estos dos parámetros y obtener una correlación positiva ($r=0,7$), esta correlación también fue observada al relacionar las concentraciones de hierro en orina con las concentraciones de zinc en orina ($r=0,6$). La detección de arsénico en 4 individuos fumadores crónicos fue un hallazgo muy novedoso. Estos resultados dan a conocer a los individuos que al consumir cigarrillos tienen una doble exposición a ciertos elementos tóxicos (los contenidos en el humo de cigarrillos y los presentes en el medio ambiente), por lo que se van generando ciertos mecanismos que comprometen la funcionalidad del organismo.

INTRODUCCIÓN

Para el año 1940, el fumar cigarrillos se consideraba algo inofensivo para la salud, pero las investigaciones clínicas y de laboratorio han demostrado, desde entonces, que el tabaquismo aumenta el índice de mortalidad en un fumador a causa de diversas enfermedades, principalmente, el cáncer de pulmón, dado a que el humo de cigarrillo produce un profundo efecto en el funcionamiento mucociliar de las vías respiratorias, al introducir cambios estructurales y funcionales en la mucosa. La probabilidad de morir, es mucho más alta en las personas que fuman más cigarrillos al día y en los que han fumado por más tiempo (Fradagas y cols., 2005).

Parte de la fisiopatología de enfermedades cardiovasculares, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades renales y muchas otras enfermedades crónicas, está dada por el mayor estrés oxidativo al que están expuestos los fumadores, debido en primer lugar, al gran número de radicales libres y otras especies reactivas del oxígeno que se desprenden o son originadas por el humo del cigarrillo y en segundo lugar, debido a que el potencial antioxidante resulta insuficiente (Vargas y cols., 2007).

Estudios realizados muestran que el humo del cigarrillo es una mezcla compleja de más de 4 700 compuestos químicos, de los cuales los radicales libres y otros oxidantes están presentes en concentraciones elevadas. Así, se estima que por cada cigarrillo consumido, ingresan al organismo aproximadamente 10^{15} radicales libres, principalmente, de tipo peroxilo y alquilo, y en menor proporción óxido nítrico. Esta excesiva exposición puede producir daño a proteínas esenciales, ruptura de cadenas en el ácido desoxirribonucleico (ADN) y modificación en sus bases, además de apoptosis, necrosis, disfunción endotelial y peroxidación lipídica. Esta última representa una reacción en cadena, ya que produce un suministro continuo de radicales libres que inician posteriores peroxidaciones con efectos potencialmente devastadores que conlleva a una afectación profunda de la estructura y función celular en los fumadores (Vargas y cols., 2007).

Por otra parte, un potencial antioxidante insuficiente puede ser el resultado de la depleción de algunos minerales como el zinc, los cuales, además de sus funciones en los procesos de respiración celular, replicación de ADN y ácido ribonucleico (ARN), participan en el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares, gracias a que actúan como cofactores de importantes enzimas antioxidantes, las cuales forman parte del complejo sistema de defensa antioxidante endógeno, que permite controlar y reducir los efectos oxidativos, constituido por antioxidantes de tipo preventivos, que reducen la velocidad de iniciación de la cadena de peroxidación, como las enzimas catalasa, reaccionando con hidroperóxidos lipídicos, y antioxidantes interruptores de la cadena de peroxidación, que interfieren con su propagación (Vargas y cols., 2007).

Si este complejo sistema de defensa antioxidante endógeno falla, aunado a un consumo deficiente de antioxidantes provenientes de fuentes naturales y a una mayor producción de radicales libres, lo cual es característico en los fumadores, se produce un incremento del daño oxidativo a importantes macromoléculas, contribuyendo a la aparición de enfermedades cardiovasculares y degenerativas (Vargas y cols., 2007).

Se ha determinado que cada cigarrillo contiene entre 1 y 2 μg de cadmio y, que de esa cantidad, se inhala el 10% (Souza y cols., 1996). Este metal es un elemento tóxico que, no tiene función esencial en el organismo, el mismo, representa una grave amenaza para la salud de las personas y los animales, debido a su larga vida biológica, la cual es de 10 a 40 años (Lampe y cols., 2008; Barregard y cols., 2010; Kátedra y cols., 2010). Las dos fuentes no ocupacionales de exposición al cadmio más importantes son la dieta y el consumo de cigarrillos (Salazar y Reyes, 2000; Satarug y Moore, 2004; Ikeda y cols., 2005; Wills y cols., 2009). Una persona que tenga más de 10 años fumando, es considerada un fumador crónico, por lo que este tipo de fumadores tienen una exposición al cadmio de, aproximadamente, el doble en comparación con los no fumadores (Souza y cols., 1996; Vargas y cols., 2007).

Aproximadamente, entre 10 y 40% de las partículas de cadmio inhaladas son absorbidas por el organismo y se depositan en la nasofaringe, tráquea, bronquios, bronquiolos y alvéolos, cierta cantidad de estas partículas ascienden por acción mucociliar, pasan al esófago y se absorben, parcialmente, en el tracto gastrointestinal. Las partículas que llegan hasta los alvéolos pasan a la sangre, ya sea directamente, o por vía del macrófago alveolar. Una vez que el cadmio pasa a la sangre, éste es transportado a diversos órganos y tejidos, principalmente, a riñones e hígado, donde se retiene cerca del 50% del metal, otros tejidos como glándulas salivales, páncreas, músculo y sistema nervioso central lo absorben en muy bajas concentraciones (Souza y cols., 1996).

La toxicidad del cadmio se ve potenciada por la capacidad que tiene de competir con elementos esenciales tales como el hierro y el zinc, por los sitios de unión en las macromoléculas (Ramírez, 2002; Godt y cols., 2006), lo que conlleva a producir la inactivación de proteínas claves en el metabolismo. A nivel molecular, su efecto está relacionado con la inhibición parcial de la cadena transportadora de electrones, específicamente, a nivel del complejo III en el sitio de unión de la semiubiquinona; esta molécula transfiere un electrón al oxígeno molecular para formar el anión superóxido, esto explica el efecto oxidativo inducido por este metal en las células (Álvarez y cols., 2008).

El hierro es un nutriente esencial con un papel fisiológico muy importante en la vida aeróbica, dado a que es componente de proteínas tales como la hemoglobina, la cual, es la principal transportadora de oxígeno en los organismos aeróbicos; también, es componente esencial de otras proteínas como las que realizan el transporte de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial y en la síntesis de ADN. La deficiencia de este elemento compromete la funcionalidad del organismo (Boccio y cols., 2004; Maury y cols., 2010). Estudios realizados muestran que, la concentración de cadmio en la sangre tiene una correlación inversa con el almacenamiento de hierro en el organismo, puesto que la absorción de cadmio tiende a aumentar de acuerdo a bajos niveles de almacenamiento de hierro en el organismo, debido a que compite con el hierro para su

absorción en el intestino, afectando el uso eficiente del hierro para la síntesis de hemoglobina en el cuerpo (Murashima y cols., 2004).

Un adulto sano contiene hierro entre 35 y 45 mg/kg del peso corporal. Alrededor del 60-70% forma parte del grupo hemo de los eritrocitos circulantes, otro 10% está en forma de mioglobina, citocromos y otras enzimas que contienen hierro. El restante 20-30% se encuentra almacenado como ferritina y hemosiderina en hepatocitos y en el sistema reticuloendotelial. Las personas que tienen bajas reservas de hierro son especialmente vulnerables a los efectos adversos del cadmio, la deficiencia crónica de nutrientes puede dar como resultado la regulación de los sistemas para optimizar la captación de los nutrientes faltantes, y ello puede ocasionar la captación de cadmio a través de algunos de estos sistemas (Murashima y cols., 2004; Horiguchi, 2007).

Por otro lado, el zinc es otro de los principales elementos metálicos en los organismos, actúa como cofactor de numerosas enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa (SOD), la cual es una enzima que forma parte del complejo sistema de defensa antioxidante endógeno, que permite controlar y reducir los efectos oxidativos (Gómez y cols., 2007). Este metal está asociado a una gran cantidad de procesos metabólicos importantes; además, es clave en las proteínas que intervienen en la síntesis del ADN, (proteínas denominadas dedos de zinc), las cuales son un patrón recurrente de aminoácidos con residuos conservados de cisteína e histidina, a los cuales se une el zinc en un arreglo tetrahédrico. Cerca del 3% de los genes humanos contienen tales dominios, mostrando que el zinc tiene un papel muy notable en la expresión génica (Hambidge y Krebs, 2007).

La deficiencia de zinc en el hombre puede provocar alteraciones mentales, depresión inmunitaria, baja tolerancia a la glucosa y afectar el crecimiento celular, de manera general, su deficiencia compromete su papel preventivo de enfermedades degenerativas (Maury y cols., 2010).

En los humanos, el principal blanco de la exposición a cadmio es el riñón; se ha demostrado que las personas expuestas crónicamente (a largo plazo) al cadmio padecen de daño renal (nefropatías). En etapas tempranas de exposición al cadmio, se observa una elevada excreción de proteínas de bajo peso molecular como la alfa-2-microglobulina y la proteína fijadora de retinol, se cree esta excreción de proteínas de bajo peso molecular se debe a la disfunción tubular. Sin embargo, en algunos casos se ha observado un aumento en la excreción de proteínas de elevado peso molecular, como por ejemplo la albúmina, debido a un aumento en la permeabilidad tubular (Villatoro y cols., 2009).

La toxicidad del cadmio también puede dar lugar a una brusca disminución de la tasa de filtración glomerular, lo cual se relaciona con la edad de los individuos vulnerables, lo que quiere decir que, a mayor edad, mayor probabilidad de desarrollar disfunción renal (Roels y cols., 1991).

Se ha observado que en aquellas personas expuestas por mucho tiempo al cadmio, la excreción urinaria de éste, se relaciona con el grado de daño inducido por el mismo en el riñón. Este daño es evaluado relacionando la excreción urinaria de cadmio con el valor determinado de creatinina, un indicador de daño renal. Cabe resaltar, que la creatinina es un producto final de la conversión espontánea de la creatina, metabolito importante en mantener los niveles de adenosintrifosfato (ATP) en el músculo. La creatinina es filtrada por los riñones y excretada totalmente por la orina, por lo que su determinación representa un parámetro de daño renal (Noonan y cols., 2002; Robin e Itzhak, 2009).

Una excreción urinaria media de cadmio de 2,5 $\mu\text{g/g}$ de creatinina, está relacionada con una prevalencia de exceso de daño renal tubular de 4%, lo que corresponde con una concentración media de cadmio en la corteza renal de 50 $\mu\text{g/g}$, este valor se considera el resultado de una ingesta a largo plazo de 50 μg de cadmio por día (Godt y cols., 2006).

Dado al efecto deletéreo del cadmio en el organismo, los humanos, al igual que otros organismos vivos, presentan mecanismos de detoxificación a la intoxicación crónica por este metal. El mecanismo mejor estudiado es la inducción de proteínas ricas en grupos tioles, entre las que destaca la metalotionina; ésta es una proteína termoestable, caracterizada por poseer baja masa molecular y alto contenido metálico, con una distribución característica de residuos de cisteína (Stone y Overnell, 1985; Kagi y Schaffer, 1988; García, 1993; García y Reyes, 1996; Anderson y Daae, 1998; Delfino y cols., 2003).

Las metalotioninas están presentes en la mayoría de los tejidos, incluyendo placenta, riñones e hígado donde es más abundante, su síntesis es inducida por metales, especialmente el cadmio, debido a que las metalotioninas poseen varios grupos sulfhidrilos, por lo que pueden formar complejos con el cadmio y servir de transporte del mismo en el plasma sanguíneo, conduciéndolo a los riñones donde es eliminado (Ramírez, 2002), limitándose así la entrada del metal a las mitocondrias y disminuyendo su acumulación en los tejidos (Roesijadi, 1994; Quig, 1998).

Además del papel que las metalotioninas tienen en la detoxificación de elementos metálicos tóxicos como el cadmio, también desempeñan un papel primordial en el metabolismo de los metales bioesenciales como el hierro y el zinc, ya sea reteniendo o donando iones metálicos en diversas reacciones bioquímicas; la concentración de los iones metálicos en estas proteínas cambia en respuesta al crecimiento, diferenciación celular y reproducción. Se ha demostrado que a niveles basales, estas proteínas están involucradas en la homeostasis de metales bioesenciales como los ya mencionados (Engel y Roesijadi, 1987; Brouwer y Brouwer-Hoexum, 1992; Roesijadi, 1992; Lemus, 2004; Martins, 2004; Nomiya y cols., 2004; Zapata, 2005; Evaristo, 2007).

Se ha demostrado, que aún cuando el consumo de minerales en los fumadores es adecuado, la dieta habitual no logra mantener la concentración sérica de metales esenciales como hierro y zinc en los intervalos de referencia, haciéndolos más

susceptibles al estrés oxidativo (Vargas y cols., 2007). Esto se relaciona con la acumulación sérica de metales pesados como el cadmio, el cual está contenido en el humo de los cigarrillos, dado a que el cadmio es un metal antagónico que interfiere con la absorción de los metales nutricionalmente esenciales como los ya mencionados (Lin y cols., 2010), de esta manera queda en evidencia que, el tabaquismo es un importante contribuyente a concentración de cadmio en la sangre, lo que a largo plazo contribuye al desarrollo de importantes patologías humanas como las nefropatías (Zeneli y cols., 2009).

Considerando lo antes expuesto, en este trabajo se realizó la evaluación de las concentraciones de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales en fumadores crónicos de Cumaná, estado Sucre, como una medida del posible daño renal que el cadmio estaría produciendo en estos individuos.

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

La muestra poblacional estuvo representada por 50 individuos que conformaron el grupo denominado fumadores crónicos, con edades comprendidas entre 30 y 84 años, de ambos géneros, de Cumaná, estado Sucre. Este grupo se distribuyó en dos subgrupos, uno de 25 personas fumadoras de 1 a 5 cigarrillos al día y, el otro por 25 fumadoras de 6 cigarrillos en adelante al día. Además, se incluyó un grupo identificado como no fumadores, integrado por 50 individuos de Cumaná, estado Sucre, quienes señalaron que no viven ni permanecen por mucho tiempo en contacto directo con fumadores, el cual representó el grupo control.

La presente investigación se llevó a cabo siguiendo el criterio de ética establecido por la Organización Panamericana de la Salud (1993), la cual, en su artículo 46º, numeral 6, señala: “Ninguna persona será sometida sin su libre consentimiento a experimentos científicos, a exámenes médicos o de laboratorio, excepto cuando se encontrase en peligro su vida o por otras circunstancias que determine la ley”.

Por tal razón, se le solicitó a la persona una autorización para la toma de sus muestras. Para ello, se le realizó una entrevista con el propósito de entregarle por escrito la solicitud para la toma de las muestras, informándole sobre los alcances y objetivos de la presente investigación, así como ventajas y desventajas de su participación, obteniéndose de éstos su consentimiento por escrito (anexo 1), y una encuesta de datos epidemiológicos y clínicos (anexo 2).

Obtención y procesamiento de las muestras

Se utilizaron muestras de sangre y orina de los individuos a evaluar. Para la extracción de la muestra sanguínea, se utilizó la técnica de punción venosa, por medio de jeringas descartables de 10 ml. Se tomaron 10 ml de sangre, que fueron separados en dos partes,

5 ml se depositaron en un tubo de ensayo estéril con sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA-Na₂) como anticoagulante, con tapón de goma, para la determinación de los metales, y 5 ml en un tubo de ensayo completamente seco y estéril sin anticoagulante, con tapón de goma, para la determinación de creatinina y tioles totales (Kaplan y Pesce, 1986).

La muestra para la determinación de metales se mezcló inmediatamente con el anticoagulante EDTA-Na₂, mientras que la muestra de sangre destinada para la determinación de creatinina y tioles totales, se dejó en reposo a temperatura ambiente por 10 minutos para favorecer la retracción del coágulo, luego, se centrifugó a 3 000 g durante 10 minutos en una centrífuga de marca Dynac, Clay Adams Brand modelo 420101. Posteriormente, se procedió a extraer el suero, obtenido tras la centrifugación, con la ayuda de una pipeta Pasteur para colocarlo en un tubo de ensayo limpio. Estas muestras fueron conservadas a -20°C hasta el momento de su análisis (Kaplan y Pesce, 1986).

La muestra de orina fue obtenida empleando la técnica del chorro del medio, utilizando un recolector de orina estéril; indicándole a la persona como debía proceder a tomar la muestra siguiendo las condiciones de asepsia (Kaplan y Pesce, 1986). Una vez obtenida la muestra (orina parcial), se procedió a conservarla a -20°C hasta el momento de su análisis. En estas muestras se realizó las determinaciones de cadmio, hierro, zinc y creatinina.

Determinación de cadmio, hierro y zinc

La determinación de las concentraciones de cadmio, hierro y zinc se realizó por el método de espectrofotometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado (ICP), técnica en la cual, una diminuta parte de la muestra se evapora y se excita, térmicamente, hasta alcanzar la emisión atómica. La energía que se requiere para estos procesos la suministra un plasma de gas inerte. Por definición, un plasma es una mezcla

gaseosa conductora de la electricidad que contiene partículas cargadas y neutras y, un gas ionizado: argón. En el caso de los ICP, el gas es ionizado por efecto de la inducción de un campo magnético generado por una corriente de alta frecuencia (Fernández y Chirinos, 1995).

El quemador consta de tres tubos concéntricos de cuarzo: externo, medio e interno. Las muestras líquidas se llevan a la forma de aerosol, a través de un dispositivo denominado nebulizador, las cuales se introducen al plasma caliente, arrastradas por un flujo adicional de argón hasta el quemador, donde se produce la desolvatación, vaporización, atomización, excitación y/o ionización de los elementos que constituyen a las muestras (Skoog y Leary, 1994).

Para el análisis de las muestras, se agregó 1 ml de orina en un erlenmeyer y 1 ml de ácido nítrico, se colocó un bulbo de vidrio para tapar el elermenyer y se dejó reposar por 24 horas a temperatura ambiente, pasado ese tiempo, se calentaron las muestras en una plancha a 60, 70, 80, 90 y 100°C por 15 minutos, luego se agregó el contenido a un balón aforado de 10 ml y se enrazó con agua desionizada para luego trasvasar el contenido a un tubo de vidrio con tapa hasta el momento de su análisis. En el caso de las muestras de sangre, se tomó 1 ml de sangre y se agregó en un tubo de vidrio con tapa, seguidamente se le agregó 1 ml de ácido nítrico, se taparon los tubos y se dejó reposar 24 horas a temperatura ambiente, transcurrido ese tiempo, se le agregó 3 ml de solución diluyente (preparada con 1,0% V/V de ácido nítrico; 1,0% V/V de etanol, 0,5% V/V de Triton X-100 en un volumen final de 100 ml con agua desionizada), se mezcló y se centrifugaron por 15 minutos a 3 000 g, luego se separó el sobrenadante y se colocó en un tubo de ensayo limpio hasta el momento de su análisis. Este tratamiento se hizo para disminuir el efecto matriz, lograr el perfeccionamiento de la ionización de los elementos y reducir el fondo isobárico (Nixon y cols., 1999). Los resultados reportados por el equipo, fueron expresados en mg/l, los cuales se convirtieron a las unidades correspondientes a los valores de referencia para cada metal. Se utilizaron valores de

referencia para cadmio según Souza (2007), para hierro según Robyt y White (1990) y para zinc según Proser y Browm (1968).

Sangre: cadmio: 0,5-2,0 $\mu\text{g/l}$. El hierro y zinc analizado en esta investigación, es un hierro y zinc total en sangre, es decir, el hierro y zinc contenido en plasma y células, por lo que no se encontraron valores de referencias bien establecidos.

Orina: cadmio: 5,0 $\mu\text{g/g}$ de creatinina; hierro: 2,0 mg/l ; zinc: 0,8-1,0 mg/l .

Determinación de creatinina

La determinación de creatinina se fundamenta en que la creatinina existente en las muestras reacciona con el picrato alcalino (formado por la reacción entre el ácido pícrico y el hidróxido de sodio, en cantidades iguales), formándose un compuesto de color rojo (picrato de creatinina), siendo proporcional la intensidad del color a la concentración de creatinina presente en las muestras, contra un blanco reactivo para las muestras (Briceño, 1995).

Para determinar la concentración de creatinina en las muestras de suero y orina, el procedimiento se basó en que la muestra de orina se le realizó una dilución 1:10 (1 ml de orina y 9 ml de agua destilada), posteriormente, se rotuló 4 tubos de ensayo como blanco, estándar, muestra de suero y muestra de orina diluida (1:10), a cada uno de los cuales se le agregó 2 ml de picrato alcalino, posteriormente, al blanco se le adicionó 100 μl de agua destilada, al estándar 100 μl del reactivo estándar, al tubo rotulado como muestra de orina 100 μl de orina (1:10) y al rotulado como muestra de suero, 100 μl de suero. Se mezcló e incubó a 37°C por 15 minutos en baño de María para, finalmente, determinar su absorbancia en un espectrofotómetro a 520 nm, contra un blanco reactivo. La concentración de creatinina se expresó en mg/dl . Valores de referencia: sangre: 0,5-1,5 mg/dl ; orina: 30,0-125,0 mg/dl (Briceño, 1995).

Determinación de grupos tioles

La determinación de los grupos tioles se realizó empleando la metodología propuesta por Ellman (1959), la cual consiste en la cuantificación de los tioles libres o asociados a proteínas mediante la reacción del ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), hasta formar el anión 2-nitro-5-benzoato. Para ello, se preparó una solución amortiguadora compuesta por Tris, ácido clorhídrico (HCl) y EDTA, de concentración 30 y 3 mmol/l, respectivamente, y se ajustó el pH a 8,2. El reactivo de trabajo DTNB, se preparó disolviendo 29,7 mg de DTNB en 25 ml de metanol (Sedlak, 1968).

A cada tubo de ensayo se le adicionó 50 μ l de suero sanguíneo, 150 μ l de la solución amortiguadora, 800 μ l de metanol y 50 μ l de DTNB, se mezcló y se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente. Trascurrido ese tiempo, se centrifugaron las muestras a 3 000 g durante 5 minutos. Seguidamente, se tomó el sobrenadante con ayuda de una pipeta Pasteur para la posterior determinación de los grupos tioles, leyendo la absorbancia a 412 nm (Sedlak, 1968). La concentración de los grupos tioles se calculó por medio de una curva de calibración preparada con glutatona reducida (GSH) como estándar. Para ello, se preparó una solución patrón de GSH 100 μ mol/l en agua destilada, a partir de la cual se prepararon patrones de 10, 20 y 40 μ mol/l. El análisis de cada muestra se realizó por duplicado y los resultados fueron expresados en μ mol/l. No hay valores de referencias bien determinados, por lo tanto los valores de referencia se establecieron con el grupo control. Valores de referencia: 14,0-32,0 μ mol/l.

Análisis estadístico

Para determinar si existían diferencias significativas en las concentraciones de los metales analizados y los valores de creatinina y tioles totales, se aplicó una prueba no paramétrica (Kruskall Wallis) con un nivel de confiabilidad del 95% con el fin de evaluar las medianas, debido a la presencia de datos atípicos. Además, las concentraciones de cadmio fueron relacionadas con los valores de hierro, zinc, creatinina y tioles totales, aplicando las correlaciones de Spearman. Todos los análisis fueron

realizados con el paquete estadístico Statgraphic Plus versión 4.1 ambiente Windows, (Boyer y cols., 1997).

RESULTADOS

En la tabla 1, se presentan los resultados de valores máximos y mínimos de las concentraciones de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales en sangre entre individuos pertenecientes al grupo fumadores crónicos y no fumadores.

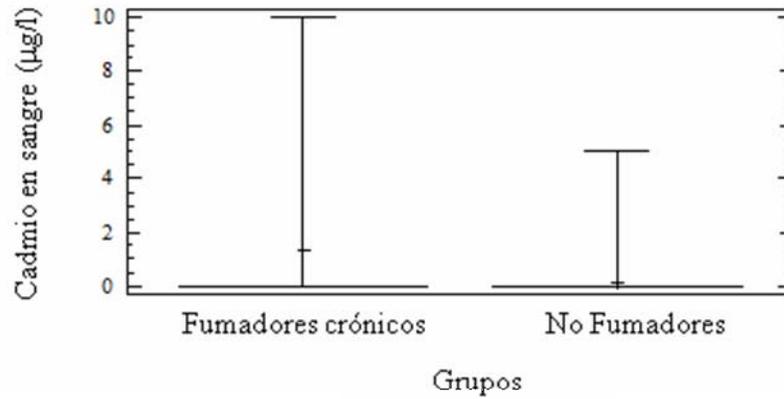
Tabla 1. Valores máximos y mínimos de las concentraciones en sangre de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales determinadas en el grupo fumadores crónicos y no fumadores.

| Parámetros | Fumadores crónicos | No fumadores |
|--------------------------------------|--------------------|--------------|
| Cadmio ($\mu\text{g/l}$) | 0-10 | 0-5 |
| Hierro (mg/l) | 122,2-258,4 | 105,9-240,8 |
| Zinc (mg/l) | 0,4-1,3 | 0,2-1,4 |
| Creatinina (mg/dl) | 0,4-1,4 | 0,4-1,2 |
| Tioles totales ($\mu\text{mol/l}$) | 13,8-54,6 | 13,9-33,0 |

Al realizar el análisis estadístico para la comparación de los individuos fumadores crónicos y no fumadores, se encontraron diferencias estadísticas significativas en las concentraciones de cadmio en sangre ($p < 0,007$; Figura 1). En donde se puede observar que los fumadores crónicos fueron el grupo con mayor concentración de este metal (5,0-10,0 $\mu\text{g/l}$) en 9/50 personas (18,0%); mientras que, sólo 1/50 personas del grupo de los no fumadores (2,0%) exhibió concentraciones de cadmio de 5,0 $\mu\text{g/l}$.

Así mismo, se evidenciaron diferencias estadísticas significativas en las concentraciones de cadmio en sangre entre ambos géneros del grupo de los fumadores crónicos ($p < 0,03$), en donde el género masculino fue más vulnerable a concentrar cadmio (Figura 2). De las 9 personas que concentraron cadmio en el grupo de los fumadores crónicos, 7 pertenecían al género masculino y 2 al género femenino. Estas diferencias estadísticas

significativas, no fueron observadas por género en el grupo de los no fumadores



($p > 0,05$).

Figura 1. Comparación de las concentraciones de cadmio en sangre entre fumadores crónicos y no fumadores.

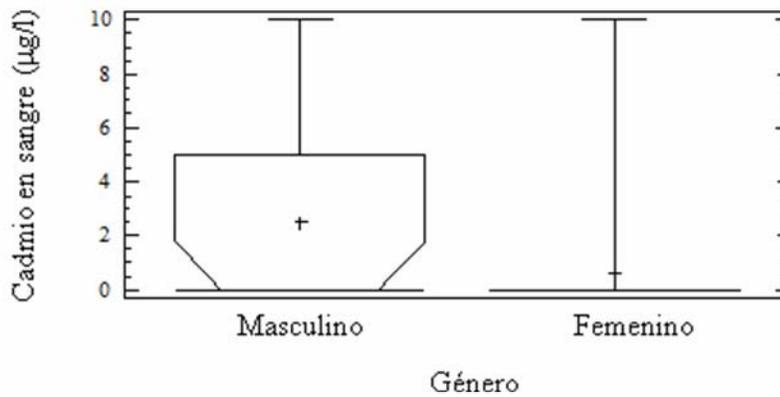


Figura 2. Niveles de las concentraciones de cadmio en sangre según el género en el grupo fumadores crónicos.

Al evaluar las concentraciones de hierro total en sangre en ambos grupos, no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$). Una evaluación entre el hierro total en sangre por género en el grupo de fumadores crónicos, si presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,007$; Figura 3). Estas diferencias no fueron

observadas al evaluar al grupo de los no fumadores por género ($p > 0,05$). En el caso de los fumadores crónicos, los individuos del género masculino presentaron mayores concentraciones de hierro total en sangre (masculino: 180,2-258,4 mg/l; femenino: 122,2-245,6 mg/l).

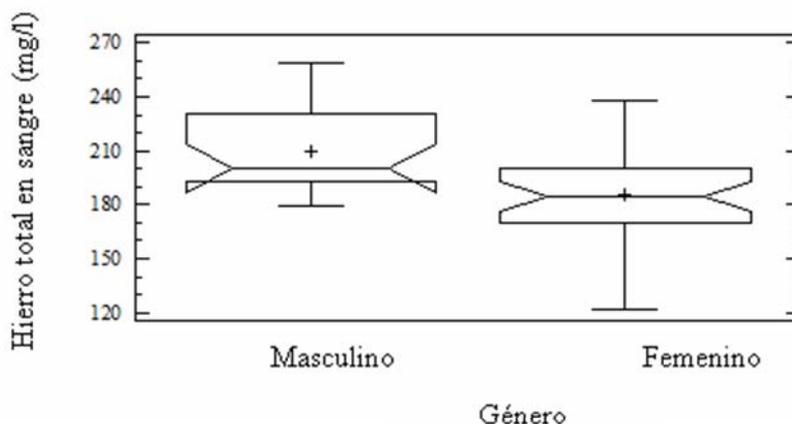


Figura 3. Comparación de los niveles de hierro total en sangre según el género en el grupo de fumadores crónicos.

Las concentraciones de zinc en sangre mostraron diferencias estadísticas significativas entre los dos grupos estudiados ($p < 0,01$; Figura 4). El grupo fumadores crónicos fue el que presentó menores concentraciones de este metal, mientras que el grupo de los no fumadores mostró mayores concentraciones de zinc (Tabla 1).

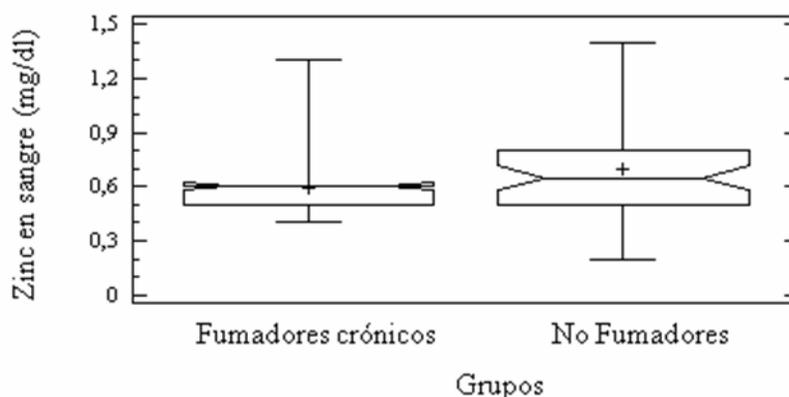


Figura 4. Comparación de las concentraciones de zinc en sangre entre fumadores crónicos y no fumadores.

Al igual que con el hierro total en sangre, el análisis estadístico evidenció que hubo diferencias significativas en las concentraciones de zinc en sangre entre ambos géneros del grupo de los fumadores crónicos ($p < 0,01$; Figura 5), en donde el género masculino presentó mayores concentraciones de zinc en sangre. Estas diferencias estadísticas significativas no fueron observadas por género en el grupo de los no fumadores ($p > 0,05$).

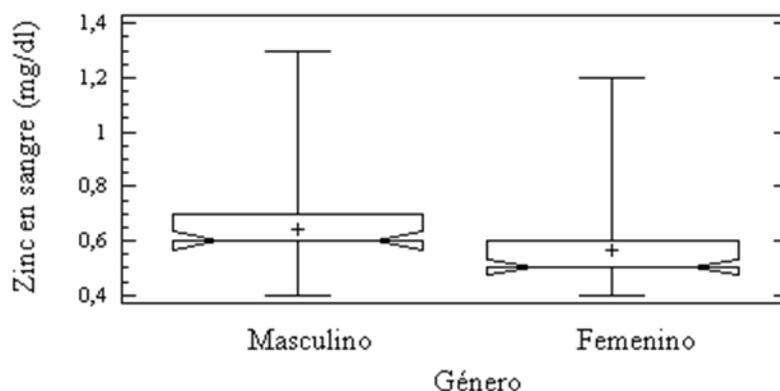


Figura 5. Comparación de los niveles de zinc en sangre según el género en el grupo fumadores crónicos.

Por otro lado, el análisis estadístico reveló que no existen diferencias estadísticas significativas en las concentraciones de creatinina en sangre entre fumadores crónicos y no fumadores ($p > 0,05$), sin embargo, cuando ese análisis se aplicó por género, se encontró que independientemente del grupo, el género masculino presentó mayores concentraciones de creatinina en sangre ($p < 0,002$; Figura 6 y 7). Además, se encontró que existía diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de creatinina en sangre entre el género masculino del grupo fumadores crónicos y no fumadores ($p < 0,001$; Figura 8). Los niveles de creatinina en sangre, fueron relacionados con las concentraciones de cadmio, hierro y zinc en sangre, y no se encontró relación significativa entre estos parámetros.

A pesar de que el rango de las concentraciones de tioles totales en el grupo de los fumadores crónicos muestra un valor máximo superior al de los no fumadores, al evaluar estadísticamente los dos grupos, no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$; Tabla 1). Del mismo modo, los valores de tioles totales, fueron relacionados con los valores de cadmio, hierro y zinc y no se encontró relación significativa.

Sin embargo, se encontró una correlación positiva ($r=0,7$) entre el número de cigarrillos/día y la concentración de tioles totales, lo que indica que a mayor cantidad de cigarrillos fumados al día, mayor concentración de tioles totales (Figura 9). Cabe resaltar, que estos coeficientes de correlación muestran el rango -1 y +1 y miden la fuerza de la asociación entre las variables, también muestra el valor de P que pone a prueba la significación estadística de la estimación de correlaciones.

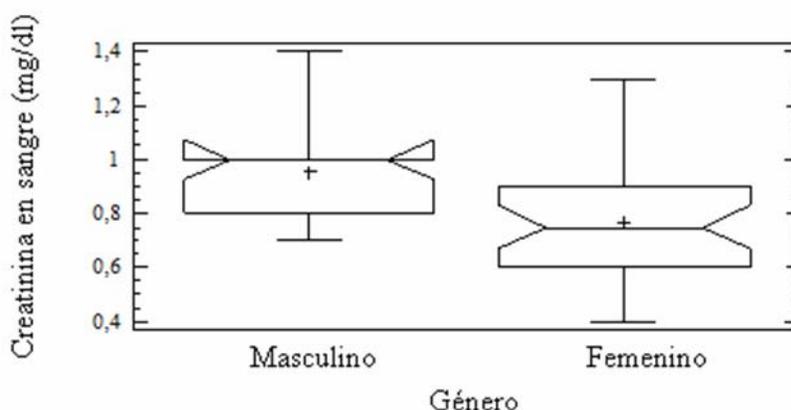


Figura 6. Comparación de las concentraciones de creatinina en sangre en el grupo fumadores crónicos según el género.

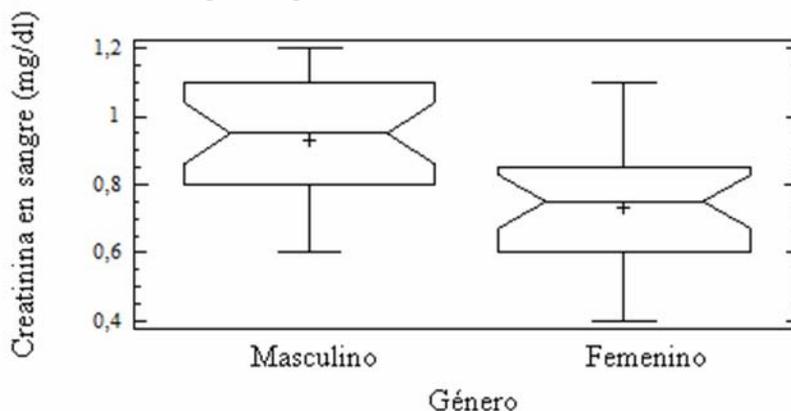


Figura 7. Comparación de los niveles de creatinina en sangre en el grupo de los no fumadores según el género.

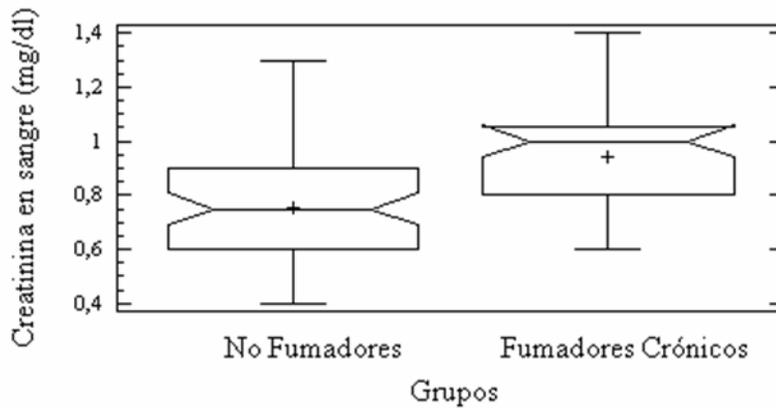


Figura 8 Comparación de las concentraciones de creatinina en sangre entre el género masculino del grupo fumadores crónicos y no fumadores.

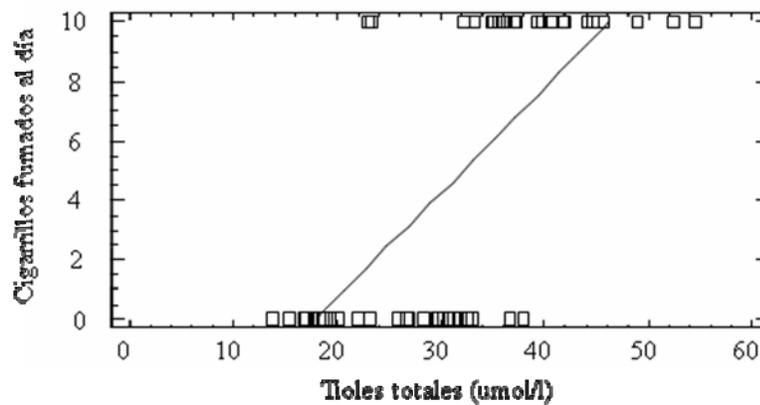


Figura 9. Correlación entre las concentraciones de tioles totales y el número de cigarrillos fumados al día.

En la tabla 2, se presentan los resultados de valores máximos y mínimos de las concentraciones de cadmio, hierro, zinc y creatinina en orina pertenecientes a los individuos fumadores crónicos y no fumadores.

No se obtuvieron concentraciones detectables de cadmio en la orina de ninguno de los individuos que conformaron los grupos estudiados (fumadores crónicos y no fumadores), esto pudo deberse a que la orina empleada para el análisis de los metales fue una orina parcial, sabiendo que lo recomendado es una orina de 24 horas, la razón por la

cual no se utilizó una orina de 24 horas fue porque a la población en estudio se le hacía dificultoso la recolección de la muestra dado a que su ritmo de vida no se lo permitía (Tabla 2).

Tabla 2. Valores máximos y mínimos de las concentraciones en orina de cadmio, hierro, zinc y creatinina determinadas en fumadores crónicos y no fumadores.

| Parámetros | Fumadores crónicos | No fumadores |
|---|--------------------|--------------|
| Cadmio ($\mu\text{g/g}$ de creatinina) | ND | ND |
| Hierro (mg/l) | 0,1-8,6 | 0,3-7,1 |
| Zinc (mg/l) | 0,1-7,7 | 0-1,3 |
| Creatinina (mg/dl) | 20,4-323,4 | 28,0-293,0 |

ND: no detectado

Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de hierro y de zinc en las muestras de orina determinadas por grupo y género ($p > 0,05$; Tabla 2). En relación a los valores de creatinina en orina, no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los grupos evaluados ($p > 0,05$), sin embargo, en el grupo de los fumadores crónicos la evaluación estadística por género, mostró diferencias significativas entre las concentraciones de creatinina en orina ($p < 0,002$; Figura 10). Además, se encontró que existía diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de creatinina en orina entre el género masculino del grupo fumadores crónicos y no fumadores ($p < 0,002$; Figura 11). Las concentraciones de creatinina urinaria, también fueron relacionadas con los valores de cadmio, hierro y zinc en sangre y orina y no se encontró relación significativa.

Al correlacionar las concentraciones de cadmio y las concentraciones de hierro total en sangre en individuos del grupo fumadores crónicos, se observó un coeficiente de correlación ($r = 0,6$) que pone de manifiesto que a medida que aumenta la concentración de cadmio en sangre, se elevan los valores de hierro total, es decir, se produce un aumento proporcional entre el cadmio y el hierro. (Figura 12).

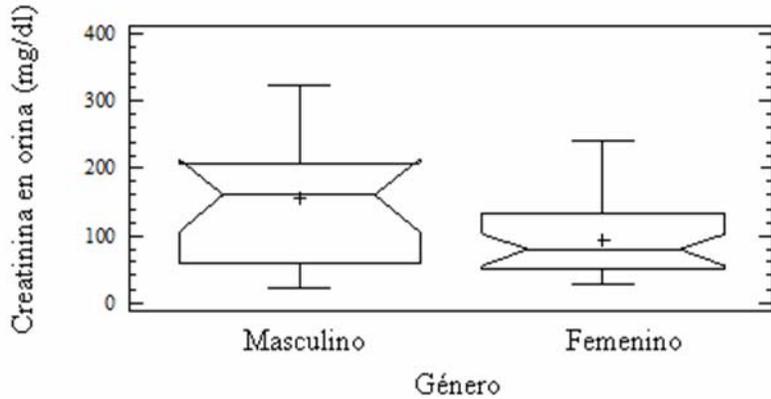


Figura 10. Comparación entre los niveles de creatinina en orina en el grupo fumadores crónicos según el género.

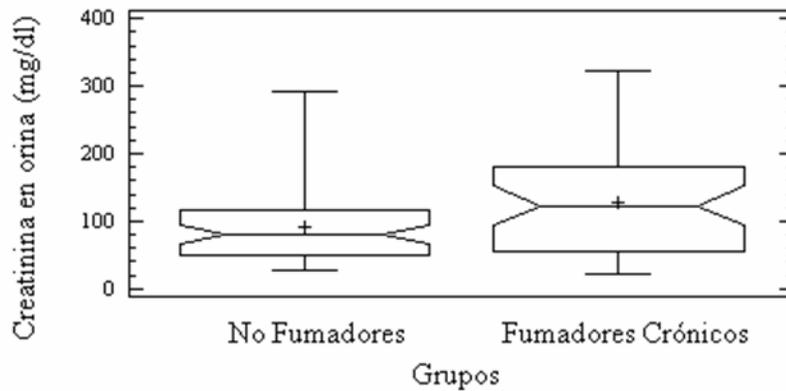


Figura 11 Comparación de las concentraciones de creatinina en orina entre el género masculino del grupo fumadores crónicos y no fumadores.

Así mismo, el coeficiente de correlación obtenido ($r=0,70$) entre las concentraciones de cadmio y de hierro total en sangre, revela que las personas que consumen más de 6 cigarrillos al día, tienden a acumular mayor concentración de estos metales (Figura 13).

Los niveles de zinc en orina en el grupo fumadores crónicos, mostraron resultados que indican una correlación positiva ($r=0,60$) en relación a la concentración de hierro en orina (Figura 14), indicando que los niveles de zinc son proporcionales a los niveles de hierro en orina, lo que pone de manifiesto que a mayor concentración de zinc mayor concentración de hierro en orina en las personas fumadoras.

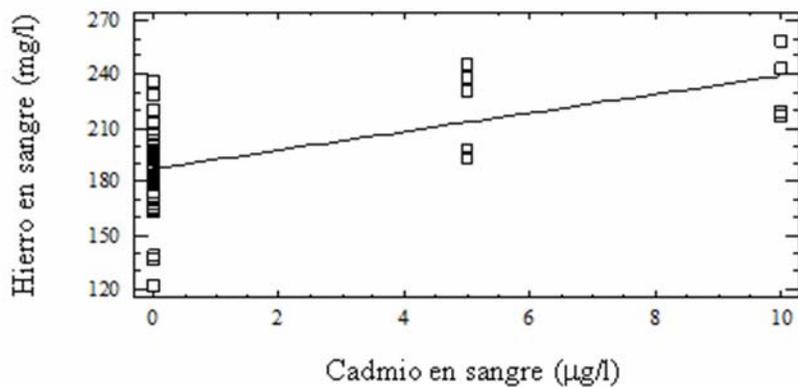


Figura 12. Correlación entre las concentraciones de cadmio y de hierro total en sangre en el grupo fumadores crónicos.

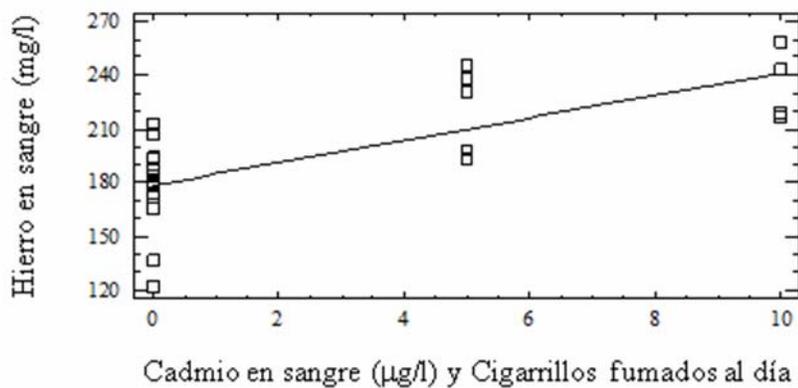


Figura 13. Concentraciones de cadmio y de hierro total en sangre del grupo fumadores crónicos y su correlación con el consumo de cigarrillos al día.

Como un hallazgo importante de este estudio, se encontró que entre el grupo de los fumadores crónicos, 4/50 (8,0%) individuos presentaron altas concentraciones de arsénico en orina, lo que indica una exposición crónica a este metaloide (Tabla 3). Dos de los individuos que presentaron arsénico, presentaron además cadmio en sangre y valores de hierro total en sangre más altos que los presentados en individuos con arsénico sin cadmio, así como también, valores de zinc, níquel y fosforo más altos en orina

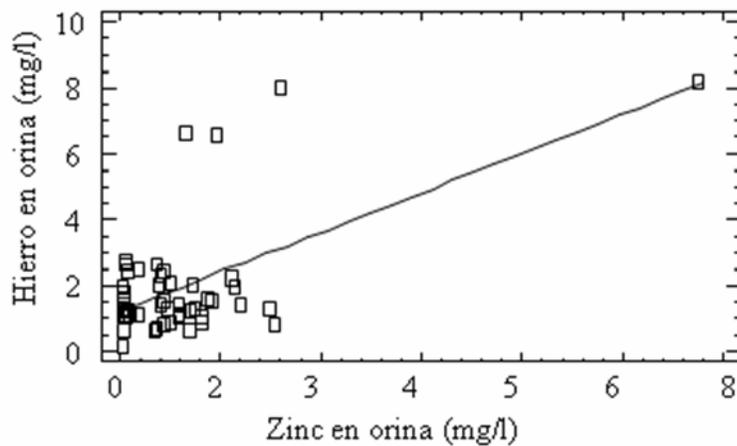


Figura 14. Correlación entre las concentraciones de zinc y de hierro en orina del grupo fumadores crónicos.

Tabla 3. Perfil de metales en sangre y orina de los individuos del grupo fumadores crónicos que presentaron arsénico en orina.

| Parámetros | Arsénico con cadmio | Arsénico sin cadmio |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|
| | $\bar{X} \pm DE$ | $\bar{X} \pm DE$ |
| Arsénico en orina ($\mu\text{g/l}$) | $5,0 \pm 0,1$ | $7,5 \pm 0,3$ |
| Hierro en sangre (mg/l) | $223,45 \pm 6,6$ | $165,0 \pm 27,4$ |
| Hierro en orina (mg/l) | $1,2 \pm 0,3$ | $1,2 \pm 0,4$ |
| Zinc en orina (mg/l) | $4,3 \pm 0,2$ | $1,4 \pm 1,1$ |
| Magnesio en orina (mg/l) | $7,9 \pm 0,2$ | $27,6 \pm 1,0$ |
| Níquel en orina ($\mu\text{g/l}$) | $0,1 \pm 0$ | 0 ± 0 |
| Fósforo en orina (mg/dl) | $11,0 \pm 0$ | $7,0 \pm 0,5$ |

\bar{X} : media; DE: desviación estándar

En la tabla 4, se presentan las concentraciones de tioles totales, el tiempo de consumo de cigarrillos, la cantidad de cigarrillos fumados al día y la variable hipertensión de los individuos que presentaron arsénico con cadmio y arsénico sin cadmio.

Tabla 4. Variables de los individuos del grupo fumadores crónicos que presentaron arsénico en orina.

| Parámetros | Arsénico con cadmio | Arsénico sin cadmio |
|--------------------------------------|---------------------|---------------------|
| | $\bar{X} \pm DE$ | $\bar{X} \pm DE$ |
| Tioles totales ($\mu\text{mol/l}$) | 28,2 \pm 4,9 | 30,5 \pm 0,8 |
| Tiempo fumando (años) | 11-25 | 31-50 |
| Cigarros al día | >6 | 1-5 |
| Hipertensos | No | No |

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación, corroboran que los individuos fumadores son más sensibles a acumular cadmio en sangre que los individuos no fumadores, coincidiendo con los resultados obtenidos por Anetor y cols. (2008), quienes encontraron concentraciones de cadmio en sangre por encima de los valores de referencia para este metal en personas fumadoras, sugiriendo que esta acumulación se debe al excesivo consumo de cigarrillos.

Los hombres fueron más sensibles que las mujeres a acumular cadmio en sangre, esto pudo deberse a que las personas del género masculino tenían más tiempo fumando, además admitieron fumar más cigarrillos al día que las mujeres, lo que propensa la acumulación de este metal, coincidiendo con el trabajo de Hoffmann y cols. (2000) quienes concluyeron que las concentraciones de cadmio en el organismo estaban relacionadas directamente con el tiempo de consumo de cigarrillos y la cantidad de cigarrillos fumados al día, y se contradicen con el trabajo de Nishijo y cols. (1999), quienes determinaron el contenido de cadmio en personas fumadoras de ambos géneros, sin ningún criterio de exclusión, encontrando que las mujeres presentaban mayores concentraciones de cadmio con respecto a los hombres; sin embargo, estos autores no evaluaron el tiempo fumando y la cantidad de cigarrillos consumidos al día.

Al comparar los niveles de hierro total en sangre, según el género de los individuos pertenecientes al grupo de los fumadores crónicos, se encontró que las personas del género masculino mostraron mayores concentraciones de este metal, esto pudiese ser atribuido a que los individuos del género masculino concentraron mayor cantidad de cadmio. Esta hipótesis está sustentada por Yanan y cols. (2012), quienes en su trabajo de investigación concluyeron que después de la exposición a cadmio, se presenta un incremento en las concentraciones de hierro en el organismo.

Los individuos fumadores que consumían >6 cigarrillos/día tuvieron mayor concentración de cadmio y de hierro en sangre, lo que deja en evidencia que los niveles de cadmio son proporcionales a los niveles de hierro. Esto podría entenderse perfectamente dado a que el cadmio tiene afinidad por los grupos sulfidrilos presentes en muchas moléculas como por ejemplo en la cisteína, por lo que puede unirse a la hormona hepcidina (hormona peptídica, rica en cisteína y por ende en grupos sulfidrilos) impidiéndole cumplir su función (enviar señales sobre la gran mayoría de las proteínas que transportan hierro), de este modo el hierro orgánico, no es transportado en forma correcta, y permanece en sangre periférica (Rueda y Álvarez, 2003; Clark y cols., 2011). La literatura reporta que el cadmio compite con el hierro por el sitio de unión a la ferritina disminuyendo las reservas de hierro, quedando este metal en sangre periférica (Yanan y cols., 2012); este proceso puede explicar el aumento de los niveles de hierro en sangre en las personas con mayores niveles de cadmio. Es bastante probable que el contenido de hierro que se determinó en este trabajo corresponda al hierro intracelular, dado a que de acuerdo a la literatura, los individuos con concentraciones de cadmio moderadas o altas, presentan menores valores de hierro sérico (Horiguchi, 2007; Vargas y cols., 2007).

Aunado a esto, se observaron bajas concentraciones de zinc en sangre y altas concentraciones de zinc en orina de los individuos fumadores crónicos, esto puede ser el resultado del incremento de las concentraciones de cadmio, lo cual está muy bien documentado, pues el cadmio compite con el zinc por los sitios de unión en las macromoléculas (Ramírez, 2002; Godt y cols., 2006), de esta forma el organismo desecha al zinc dado a que tienen un mecanismo molecular para el transporte y manejo de este metal, más no sucede lo mismo con el cadmio que tiende a acumularse (Kátedra y cols., 2010).

Las bajas concentraciones de zinc en sangre han sido reportadas previamente por otros autores, explicando que los niveles de cofactores como el zinc en el organismo, dependen de su aporte en la dieta, pero también, de las condiciones metabólicas que

pueda presentar el individuo (Vargas y cols., 2007); es importante resaltar que el hecho de que el grupo de los fumadores crónicos presentaran bajas concentraciones de zinc en sangre, pudiese ser el resultado de una movilización de este mineral hacia los tejidos u órganos que lo necesitan para inducir los procesos de antioxidación, para que de este modo las enzimas de las cuales el zinc es cofactor, puedan controlar y reducir los procesos oxidativos.

Otros investigadores han relacionado esta disminución de zinc con la acumulación sérica de metales pesados como cadmio (contenido en el humo del cigarrillo), el cual es un metal antagonico e interfiere con la absorción de los metales nutricionalmente esenciales como el zinc, aunque los mecanismos no son completamente conocidos, se ha demostrado que, particularmente, el cadmio es capaz de disminuir el contenido de zinc y cambiar la conformación de la enzima SOD, disminuyendo así su actividad (Kocygit y cols., 2001).

En este trabajo se determinó zinc total en sangre (zinc presente en plasma y células), lo que sugiere que se está dando un desplazamiento del zinc en los diferentes compartimientos. El zinc es cofactor en numerosas enzimas antioxidantes, pero también es cofactor de enzimas que participan en la transcripción de genes, además de ser un cofactor de proteínas como las metalotioninas. Las metalotioninas son pequeñas moléculas ricas en cisteína, estas proteínas se unen con avidéz a metales pesados, tales como zinc y cadmio, para reducir su concentración a un nivel fisiológico o tóxico. La expresión de las metalotioninas es inducida por diversos estímulos, entre ellos: la carga de metales pesados en particular y el estrés oxidativo (Zhang y cols., 2003).

La inducción transcripcional de los genes de metalotionina está mediada por el factor de transcripción sensible a metal 1 (MTF-1), éste como otros factores de transcripción, tienen una estructura terciaria llamada dedos de zinc, la cual tiene como función unirse a sitios específicos en el ADN y ayudar a mediar la expresión genética. Se requiere de elevadas concentraciones de zinc para la unión eficiente de estas proteínas dedos de zinc

al ADN, pero paradójicamente, se inactiva por otros inductores *in vivo*, tales como cadmio (Zhang y cols., 2003). Los resultados de esta investigación demuestran como el delicado equilibrio de metales esenciales como el hierro y el zinc puede ser alterado por el abuso en el consumo de cigarrillos.

Las diferencias encontradas en los valores de creatinina en sangre por género, tanto en el grupo de los fumadores crónicos, como en el grupo de los no fumadores, sugieren que ésto puede deberse al hecho de que los hombres tienen mayor masa muscular que las mujeres, dado a que la creatinina es el producto final del catabolismo de la creatina (proteína presente en los músculos) (Noonan y cols., 2002; Robin e Itzhak, 2009). La liberación de creatinina, depende de la masa muscular total, por este motivo, en situaciones de desgaste muscular u otras enfermedades relacionadas se producen menos creatinina, y a la inversa, el ejercicio prolongado intenso puede incrementar los niveles de creatinina. No obstante, hay que tener en cuenta que al estudiar la excreción de creatinina, tiene valor el hecho de que los niveles séricos de creatinina casi no son afectados por la edad, el género, o la dieta. Por tanto, los niveles elevados solamente se presentan cuando se altera la función renal (Castañeda, 2010).

Sin embargo, los individuos del género masculino del grupo de los fumadores crónicos, fueron los que presentaron mayores concentraciones de creatinina en orina, por encima de los valores de referencias, esto pudiese entenderse perfectamente debido a que el grupo de los fumadores fue en el que se encontró mayor cantidad de cadmio, estos resultados concuerdan de los obtenidos por Roggi y cols. (1996) y Wood (1996) quienes en sus trabajos de investigación encontraron que a mayor concentración de cadmio, mayor concentración de creatinina urinaria, dejando en evidencia que la concentración de creatinina urinaria está relacionada con la concentración de cadmio puesto que este metal tiende a acumularse en los riñones, órganos a través de los cuales es excretada la creatinina.

Aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas en las concentraciones de tioles totales al realizar la comparación entre fumadores crónicos y no fumadores, se observó que las concentraciones más altas las presentaron los fumadores, coincidiendo con los resultados obtenidos por Roesijadi (1994) quien demostró que las personas más sensibles a acumular cadmio, tienen una producción aumentada de grupos tioles debido al estrés oxidativo generado por el consumo de cigarrillos, que no sólo aporta cadmio al organismo, sino otros metales y metabolitos que resultan de la combustión de la nicotina. Dentro de las moléculas ricas en grupos tioles, las más importantes son el glutatión y la metalotionina; teniendo en cuenta que la primera es el principal antioxidante intracelular y de conjugación con agentes tóxicos y, la segunda maneja la homeostasis de metales esenciales como el zinc y también de metales tóxicos como el cadmio (Quig, 1998).

Además, se encontró una correlación positiva entre las concentraciones de zinc y las concentraciones de hierro en orina, esto pudiese explicarse por el aumento en las concentraciones de cadmio, lo que va desplazando a estos dos metales de sus sitios de unión en las biomoléculas y por lo tanto, se aumenta la excreción urinaria de los mismos.

Un hallazgo muy relevante en esta investigación fue la presencia de arsénico en la orina de 4 individuos fumadores, lo que indica una exposición crónica a este metaloide. El arsénico es un elemento natural de la corteza terrestre, que puede entrar en los suministros de agua potable de los depósitos naturales (Lindberg y cols., 2010). Concentraciones elevadas de este metal en las aguas subterráneas representan una amenaza para la salud pública a millones de personas en todo el mundo; anteriormente, se pensaba que el arsénico tenía sólo efectos cancerígenos, pero recientemente se ha demostrado que tiene efectos cardiovasculares y produce además lesiones en la piel (Kwong y cols., 2010). Estudios previos han informado que los riesgos asociados con la exposición al arsénico, son más altos en los fumadores; no obstante, no existe suficiente respaldo bibliográfico que avale esta relación (Chen y cols., 2011; Eom y cols., 2011).

Dado a que el arsénico es un componente del cigarrillo, y que solamente fueron 4 personas que presentaron valores de arsénico en orina, es probable que estas personas no tengan un eficiente metabolismo del arsénico. El metabolismo del arsénico se caracteriza por dos tipos de reacciones, la reducción de arsénico III a arsénico V que es menos tóxico, y reacciones oxidativas de metilación en donde lo transforman en especies menos tóxicas y más fáciles de excretar por los organismos. El arsénico está metilado a través del metabolismo de un carbono mediante arsénico III por acción de la enzima metiltransferasa, en donde los principales metabolitos son excretados en la orina. Recientemente, se ha informado que el proceso de metilación del arsénico es menos eficiente en las personas que tienen el hábito de fumar cigarrillos (Lindberg y cols., 2010).

Se ha demostrado que la exposición simultánea al arsénico y el tabaquismo incrementa de forma sinérgica el riesgo de cáncer de pulmón, los estudios experimentales han demostrado que el arsénico en el humo del cigarrillo y el nivel de prevalencia ambiental actúan sinérgicamente para causar daño en el ADN (Lindberg y cols., 2010).

Existe un conjunto de elementos no genéticos, cambiantes, que rodean al individuo y que junto con el genoma y el proteoma conforman el desarrollo y construcción del ser humano (el ambioma,). Es cierto que el ser humano puede nacer con genes mutados o alelos de genes que le pueden predisponer a diferentes enfermedades, pero esto no es suficiente para que éstas se expresen, para ello es necesario que los genes mutados, en su acción e interacción entre ellos y con otros genes, interaccionen a su vez con el medio ambiente que rodea al individuo (Lind y cols., 2004). Hoy en día, el aire que se respira está contaminado por muchos elementos que resultan tóxicos para los organismos vivos, los individuos al consumir cigarrillos tienen una doble exposición a ciertos elementos tóxicos (los contenidos en el humo de cigarrillos y los presentes en el medio ambiente), por lo que se van generando ciertos mecanismos que comprometen la funcionalidad del organismo.

CONCLUSIONES

Los individuos fumadores crónicos presentaron mayores concentraciones de cadmio y de hierro total en sangre que los individuos no fumadores.

Las concentraciones de zinc en sangre fueron más bajas en los fumadores crónicos, por el contrario, las concentraciones de zinc en orina fueron más altas en estos individuos.

Las concentraciones de creatinina en sangre y en orina, fueron más altas en el género masculino del grupo de los fumadores crónicos.

Los individuos fumadores crónicos presentaron mayores concentraciones de tioles totales.

No se encontró relación significativa entre las concentraciones de creatinina y tioles totales con los valores de cadmio, hierro y zinc.

RECOMENDACIONES

Ampliar el número de individuos para el estudio, ya que esto proporcionaría más datos al momento de realizar el análisis estadístico.

Utilizar muestras de orina de 24 horas, que es la muestra ideal para determinar la cantidad exacta de metales que son excretados por la orina.

BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, T.; Mendoza, D.; Moreno, R. y Gold, G. 2008. Thiol peptides induction in the seagrass *Thalassia testudinum* (Banks ex König) in response to cadmium exposure. *Aquatic Toxicology*, 86(1):12-9.

Anderson, R. y Daae, H. 1998. Preparation of metallothioneins from rat liver and studies of its properties with respects to standard in gel permeation cromatography polycrylamide gel sistems autoradiography and western blotting. *Biochemistry*, 90: 59-67.

Anetor, J.; Anetor, G.; Iyanda, A.; Babalola, O. y Adeniyi, F. 2008. High cadmium/zinc ratio in cigarette smokers: potential implications as a biomarker of risk of prostate cancer. *Journal Physiology Science*, 23(2): 41-49.

Barregard, L.; Lagging, L.; Lundh, T.; Olne, J.; Wallin, M.; Olausson, M.; Modigh, M. y Sallsten, G. 2010. Cadmium, mercury and lead in kidney cortex of living kidney donors: impact of different exposure sources. *Environmental Research*, 110: 47–54.

Boccio, J.; Páez, M.; Zubillaga, M.; Salgueiro, J.; Goldman, C.; Barrado, D.; Martínez, M. y Weill, R. 2004. Causas y consecuencias de la deficiencia de hierro sobre la salud humana. *Investigación Clínica*, 54(2): 131-134.

Boyer, J.; Fourqurean, J. y Jones, R. 1997. Spatial characterization of water quality in florida bay and whitewater bay by multivariate analyses: zones of similar influence. *Estuaries*, 20(4): 743-758.

Briceño, A. 1995. Manual práctico de laboratorio clínica de rutina. Editorial Coacusa. Caracas-Venezuela.

Brouwer, M. y Brouwer-Hoexum, T. 1992. Glutathione-mediated transfer of copper (I) into American lobster apohaemocyanin. *Biochemistry*, 31: 4096-4102.

Castañeda, A. 2010. Importancia de los metabolitos como: glucosa, proteínas totales, triglicéridos, urea y creatinina en dos tratamientos t1: ovejas gestantes y t2: paridas. *Investigación Clínica*, 82(3): 136-138.

Chen, Y.; Graziano, J.; Parvez, F.; Liu, M.; Slavkovich, V.; Kalra, T.; Argos, M.; Islam, T.; Ahmed, A.; Rakibuz, M.; Hasan, R.; Sarwar, G.; Levy, D.; Van Geen, A. y Ahsan, H. 2011. Arsenic exposure from drinking water and mortality from cardiovascular disease in Bangladesh: prospective cohort study. *British Medical Journal*, 5: 342-351.

Clark, R.; Tan, C.; Preza, G.; Nemeth, E.; Ganz, T. y Craik, D. 2011 Understanding the structure/activity relationships of the iron regulatory peptide hepcidin. *Chemistry and Biology*, 18(3):336-343.

Delfino, M.; Sarno, M.; Martínez, C. y Rinaldi, D. 2003. Cadmio en hojas de tabaco. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, 46: 427-429.

Ellman, G. 1959. Quantitative determination of peptides by sulfhydryl (-SH) groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82: 70-77.

Engel, D. y Roesijadi, G. 1987. Metallothioneins: a monitoring tool. En: *Phycology and pollution of Marine Organisms*. Vernberg, W.; Calabrese, A.; Thurberg, F. y Vernberg, F. (eds). University of South Carolina Press, Columbia.

Eom, S.; Lee, Y.; Yim, D.; Lee, C.; Kim, Y.; Choi, B.; Park, C.; Yu, S.; Kim, D.; Park, J. y Kim, H. 2011. Effects of low-level arsenic exposure on urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity. *Human Experimental Toxicology*, 30(12):1885-91.

Evaristo, E. 2007. Concentraciones de metalotioninas en el mejillón *Perna viridis* (Mollusca: Mytilidae) expuesto a cobre-cadmio y a cadmio. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Fadragas, A.; Cabrera Y. y Sanz L. 2005. Hábito de fumar. Repercusión sobre el aparato cardiovascular. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 21(3): 8-17.

Fernández, A. y Chirinos, J. 1995. Introducción a la espectroscopía de emisión atómica con plasmas inductivamente acoplados. *Sociedad Venezolana de Química*, 18(3): 3-5.

García, E. 1993. The ability of the unicellular giant alga *Acetabularia* sp. to bioconcentrate aquatic mercury in whole cells and anucleated cells. *Toxicology Chemistry*, 39: 29-35.

García, E. y Reyes, R. 1996. Bioconcentration of mercury in *Acetabularia calyculus*: Evidence of a polypeptide in whole cells and anucleated cells. *Toxicology Chemistry*, 55: 11-18.

Godt, J.; Scheidig, F.; Grosse-Siestrup, C.; Esche, V.; Brandenburg, P.; Reich, A. y Groneberg, D. 2006. La toxicidad del cadmio y los riesgos resultantes para la salud humana. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 1: 22-23.

Gómez, Y.; Arocha, F.; Espinoza, F.; Fernández, D.; Vásquez, A. y Granadillo, V. 2007. Niveles de zinc en líquido prostático de pacientes con patologías de próstata. *Investigación Clínica*, 48(3): 16-21.

Hambidge, M. y Krebs, N. 2007. Zinc deficiency: a special challenge. *Journal Nutritional*, 137: 1101-1105.

Hoffmann, K., Becker, K., Friedrich, C., Helm, D., Krause, C. y Seifert, B. 2000. The German Environmental Survey 1990/1992 (GerES II): cadmium in blood, urine and hair of adults and children. *Journal Environmental Epidemiology*, 10(2): 126-35.

Horiguchi, H. 2007. Induced anaemia by cadmium poisoning. *Nippon Zasshi Eiseigaku*, 62(3): 888-904.

Ikeda, M.; Moriguchi, J. y Ezaki, T. 2005. Smoking induced increase in urinary cadmium levels among Japanese women. *Environmental Health Perspectives*, 78(7): 533-540.

Kagi, J. y Schaffer, A. 1988. Biochemistry of metallothionein. *Biochemistry*, 27: 8509-8515.

Kaplan, L. y Pesce, A. 1986. *Química clínica. Primera Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.*

Kátedra, Z.; Wydział L.; Lekarski, W.; Uniwersytet, M.; Warszawski, U. y S. Banacha 1, 02-097 Warszawa. Banacha, S. 2010. Cadmium element completely unnecessary for the organism. *Postepy Higieny Medycznej*, 64(8): 38-49.

Kocyt, A.; Erel, O. y Gur, S. 2001. Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper, iron concentrations and related antioxidative enzyme activity. *Clinical Biochemistry*, 34(8): 629-633.

Kwong, R.; Karagas, M.; Kelsey, K.; Mason, R.; Tanyos, S.; Schned, A.; Marsit, C. y Andrew, A. 2010. Arsenic exposure predicts bladder cancer survival in a US population. *World Journal of Urology*, 28(4): 487-492.

Lampe, B.; Park, S.; Robins, T.; Mukherjee, B.; Litonjua, A.; Amarasinghwardena, A.; Weisskopf, M.; Sparrow, D. y Hu, H. 2008. Association between 24-hour urinary cadmium and pulmonary function among community-exposed men: The VA Normative Aging Study. *Environmental Health Perspectives*, 116(9): 1226-1230.

Lemus, M. 2004. *Introducción de proteínas en tejido somático y reproductivo en Emerita portoricensis por contaminación mercurial. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.*

Lin, Y.; Caffrey, J.; Chang, M.; Dowling, N. y Lin, J. 2010. Cigarette smoking, cadmium exposure, and zinc intake on obstructive lung disorder. *Respiratory Research*, 11(53): 2-8.

Lind, P.; Milnes, M.; Lundberg, R.; Bermúdez, D.; Orberg, J. y Guillette, L. 2004. Abnormal bone composition in female juvenile american alligators from a pesticide-

polluted lake (Lake Apopka, Florida). *Environmental Health Perspectives*, 112: 359-362

Lindberg, A.; Sohel, N.; Rahman M. y Vahter, M. 2010. Impact of smoking and chewing tobacco on arsenic-induced skin lesions. *Environmental Health Perspectives*, 118(4): 533-538.

Martins, C. 2004. Acumulación y depuración del cadmio en relación con el perfil de enlazamiento a metaloproteínas en el hepatopáncreas del bivalvo *Lima scabra*. Trabajo de postgrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Maury, E.; Mattei, A.; Perozo, K.; Bravo, A.; Martínez, E. y Vizcarra M. 2010. Niveles plasmáticos de hierro, cobre y zinc en escolares barí. *Investigación Clínica*, 37(2): 9-19.

Murashima, M.; Kikuchi, Y.; Kumagai, T.; Omae, K. y Watanabe, S. 2004. Intake and excretion of cadmium and iron balance and the influence of eating habits among young women. *Nippon Eiseigaku Zasshi*, 59(1): 31-7.

Nishijo, M.; Nakagawa, H.; Morikawa, M.; Tabata, M.; Miura, T.; Yoshita, K.; Higashiguchi, K.; Seto, T.; Kido, T.; Nogawa, K.; Mizukoshi, K. y Nishi, M. 1999. Relationship between urinary cadmium and mortality among inhabitants living in a cadmium polluted area in Japan. *Toxicology Letters*, 108: 321-327.

Nixon, D.; Moyer, T. y Burrit, M. 1999. The determination of selenium in serum and urine by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochimica Acta*, 54: 931-942.

Nomiyama, K.; Nomiyama, H. y Kammeda, N. 2004. Cadmium-metallothionein, a biological exposure index for cadmium-induced renal dysfunction, based on the mechanism of its action. *Toxicology*, 129: 157-168.

Noonan, C.; Sarasua, S.; Campagna, D.; Kathman, S.; Lybarger, J. y Mueller, P. 2002. Effects of exposure to low levels of environmental cadmium on renal biomarkers. *Environmental Health Perspectives*, 110(2): 151-155.

Organización Panamericana de la Salud. 1993. Normas éticas internacionales para la investigación biomédica con sujetos humanos. Washington. Publicación científica.

Proser, L. y Brouwn, F. 1968. Fisiología comparada. Segunda edición. Editorial Interamericana, S.A.

Quig, D. 1998. Cysteine metabolism and metal toxicity. *Alternative Medicine Review*, 3(4):262-270.

Ramírez, A. 2002. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar la exposición ambiental u ocupacional con adores biológicos. *Redalyc*, 63(1): 51-64.

Robin, P. e Itzhak, N. 2009. Creatine synthesis: hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat in vitro and in vivo. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolim*, 296(2): 256-261.

Robyt, J. y White, B. 1990. *Biochemical techniques theory and practice*. Waveland Perss. USA.

Roels, H.; Lauwerys, R.; Bernard, A.; Buchet, P.; Vos, A. y Oversteyns, M. 1991. Assessment of the filtration reserve capacity of the kidney in workers exposed to cadmium. *British Journal of Industrial Medicine*, 48: 365-374.

Roesijadi, G. 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Toxicology*, 22: 81-114.

Roesijadi, G. 1994. Metallothionein induction as a measure of response to metal exposure in aquatic animals. *Environmetal Health Perspectives*, 12: 91-95.

Roggi, C.; Merlo, E.; Maccarini, L.; Minoia, C.; Ronchi, A. y Gatti, A. 1996. Influenza

del consumo di alcool, del fumo e delle abitudini dietetiche sulle concentrazioni ematiche di piombo e cadmio. *Annali Higiene Journal*, 8: 657-665.

Rueda, A. y Álvarez, J. 2003. Hpcidina, una nueva proteína en la homeostasis del hierro. *Anales de Medicina Interna*, 20: 605-606.

Salazar, R. y Reyes, R. 2000. Efectos tóxicos y mecanismos de tolerancia al cadmio en los seres vivos. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 4(13): 17-22.

Satarug, S. y Moore, M. 2004. Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environmental Health Perspectives*, 112(10): 1099-1103.

Sedlak, L. 1968. Determination of total sulfhydryl groups in biological samples using DNTB. *Analytical Biochemistry*, 25: 192-205.

Skoog, D. y Leary, J. 1994. *Análisis instrumental*. Cuarta edición. McGraw-Hill Interamericana, México.

Souza, M. 2007. Control biológico de la exposición laboral a cadmio. Análisis de cadmio en sangre y cadmio en orina por espectrofotometría de absorción atómica. *Centro Nacional de Nuevas Tecnologías*, 37: 127-132.

Souza, V.; Bucio, O.; Sánchez, Y.; López, Y.; Antuna, B.; Rondán, Z.; Gutiérrez, M. y Fortoul, T. 1996. El cadmio: Mecanismos básicos de toxicidad. *Ciencia y Desarrollo*, 126(1): 39-45.

Stone, H. y Overnell, J. 1985. Non-metallothionein cadmium binding proteins. *Biochemistry Physiology*, 80: 9-15.

Vargas, M.; Martínez, N.; Bravo, A.; Bohórquez, L.; Araujo, S.; Souki, A.; Paz, P.; Fernández, A. y Ferrer, D. 2007. Influencia del hábito de fumar sobre las

concentraciones séricas de zinc, cobre y selenio en adultos jóvenes. *Redalyc*, 26(01): 27-34.

Villatoro, M.; Font, R.; De Haro, I.; Romero, M.; Anter, J.; De Haro, A.; Alonzo, A. y Del Río, M. 2009. Modulation of genotoxicity and cytotoxicity by radish grown in metal-contaminated soils. *Mutagenesis*, 24(1): 51-57.

Wills, N.; Kalariya, N.; Sadagopa V.; Lewis, A.; Haji, S.; Husain, A. y Kuijk, F. 2009. Human retinal cadmium accumulation as a factor in the etiology of age-related macular degeneration. *Experimental Eye Research*, 89: 79-87.

Wood, A. 1996. Assessing the risk from environmental cadmium exposure. *Medicine Journal of Public Health*, 18: 432-436.

Yanan, W.; Xudong, L.; Liman, M.; Yan, Y.; Haiyang, Y.; Shafi, M.; Guannan, C.; Linlin, M. y Quanqi, Z. 2012. Identification and characterization of a hepcidin from half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *The journal of nutritional biochemistry*, 98(2): 44-49

Zapata, E. 2005. Metalotioninas y enzimas glucolíticas regulatorias en el mejillón verde *Perna viridis* sujeto a estrés oxidativo. Trabajo de postgrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Zeneli, L.; Pacarizi, H.; Daci, N. y Prenaj, A. 2009. The effects of air pollution and smoking on cadmium concentration in human blood and correlation with biochemical parameters. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 5(2): 30-33.

Zhang, B., Georgiev, O., Hagmann, M., Gunes, C., Cramer, M., Faller, P., Vasak, M. y Schaffner, W. 2003. Activity of metal-responsive transcription factor 1 by toxic heavy metals and H₂O₂ in vitro is modulated by metallothionein. *Molecular and cellular biology*, 23(23): 8471-8485.

ANEXOS

ANEXO 1

Consentimiento válido

Bajo la coordinación de la Prof. Raquel Salazar asesora académica del departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, se realizará el proyecto de investigación titulado: “CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO Y ZINC Y SU RELACIÓN CON LOS VALORES DE CREATININA Y TIOLES TOTALES EN FUMADORES CRÓNICOS, CUMANÁ, ESTADO SUCRE”.

Yo: _____

C.I.: _____

Nacionalidad: _____

Estado Civil: _____

Domiciliado en: _____

En uso de mis plenas facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado (a) de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación titulado: “CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO Y ZINC Y SU RELACIÓN CON LOS VALORES DE CREATININA Y TIOLES TOTALES EN FUMADORES CRÓNICOS, CUMANÁ, EST. SUCRE”.
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es: evaluar las concentraciones de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales en individuos fumadores crónicos y en un grupo control.

3. Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en este trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra de sangre la cual se obtendrá mediante punción venosa con previa asepsia de la región anterior del antebrazo y, una muestra de orina mediante la técnica del chorro del medio.
4. Que la muestra de sangre que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para determinar las concentraciones de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales, mientras que la muestra de orina, para determinar las concentraciones de cadmio y creatinina.
5. Que el equipo de personas que realizan esta investigación, me ha garantizado confiabilidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tengan acceso por concepto a mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
7. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo e inconveniente alguno para mi salud.
8. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

Declaración del voluntario

Luego de haber leído, comprendido y aclaradas mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a mi participación en este estudio es completamente voluntaria, acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores a realizar el referido estudio en las muestras que acepto donar para los fines indicados anteriormente.

2. Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve a algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del voluntario: _____

Nombre y Apellido: _____

C.I.: _____

Fecha: _____

Declaración del investigador

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo antes mencionado, certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médica de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión y compromiso con este estudio.

1. Por el proyecto de “CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO Y ZINC Y SU RELACIÓN CON LOS VALORES DE CREATININA Y TIOLES TOTALES EN FUMADORES CRÓNICOS, CUMANÁ, ESTADO SUCRE”.

Nombre y Apellido: _____

Fecha: _____

ANEXO 2

Encuesta de datos epidemiológicos y clínicos

Datos epidemiológicos

Nombres: _____

Apellidos: _____

Nº de teléfono: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Procedencia: _____

¿Qué nivel de educación posee?

Primaria _____ Secundaria _____ Superior _____

En caso de ser superior, especifique:

Título obtenido _____

Ocupación: _____

Datos clínicos

¿Fuma cigarrillos?

No _____ Si _____

En caso de ser afirmativo, especifique:

¿Cuántos cigarrillos al día consume? _____

¿Marca comercial de los cigarrillos? _____

¿Cuántos años tiene consumiendo cigarrillos? _____

¿Cuándo fue la última regla? _____

¿Consume alcohol?

No _____ Si _____

Es caso de ser afirmativo, especifique si el consumo es:

Diario _____ Semanal _____ Mensual _____ Ocasional _____

¿Hace ejercicios?

No _____ SI _____

Es caso de ser afirmativo, especifique:

¿Cuál? _____

¿Cuántas veces por semana? _____

Presión sanguínea _____

¿Toma drogas hipertensivas?

No _____ Si _____

Es caso de ser afirmativo, especifique:

¿Cuál? _____

¿Tiene problemas renales?

No _____ Si _____

Es caso de ser afirmativo, especifique:

¿Cuál? _____

¿Tiene diabetes?

No _____ Si _____

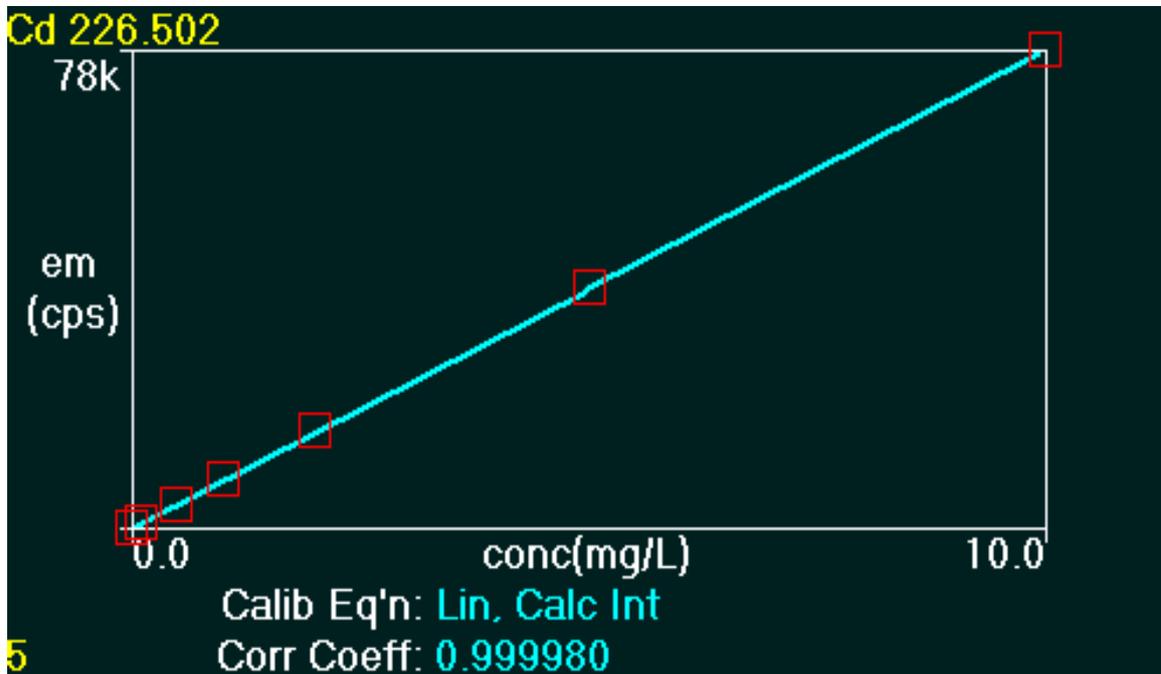
¿Tiene problemas cardíacos?

No _____ Si _____

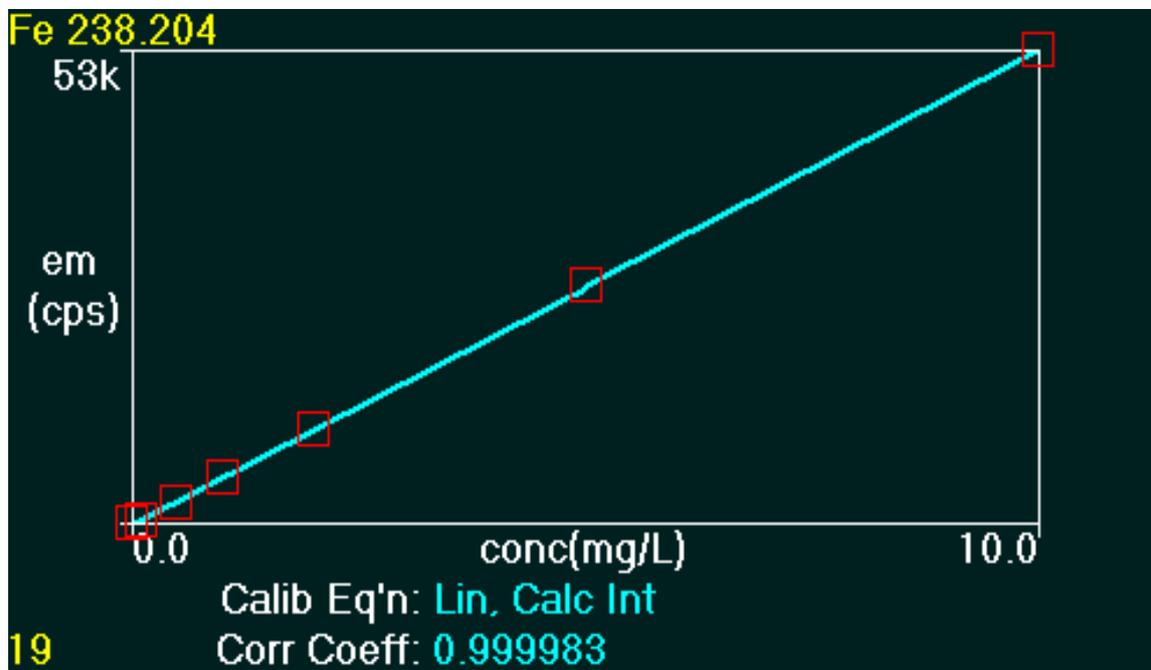
Es caso de ser afirmativo, especifique:

¿Cuál? _____

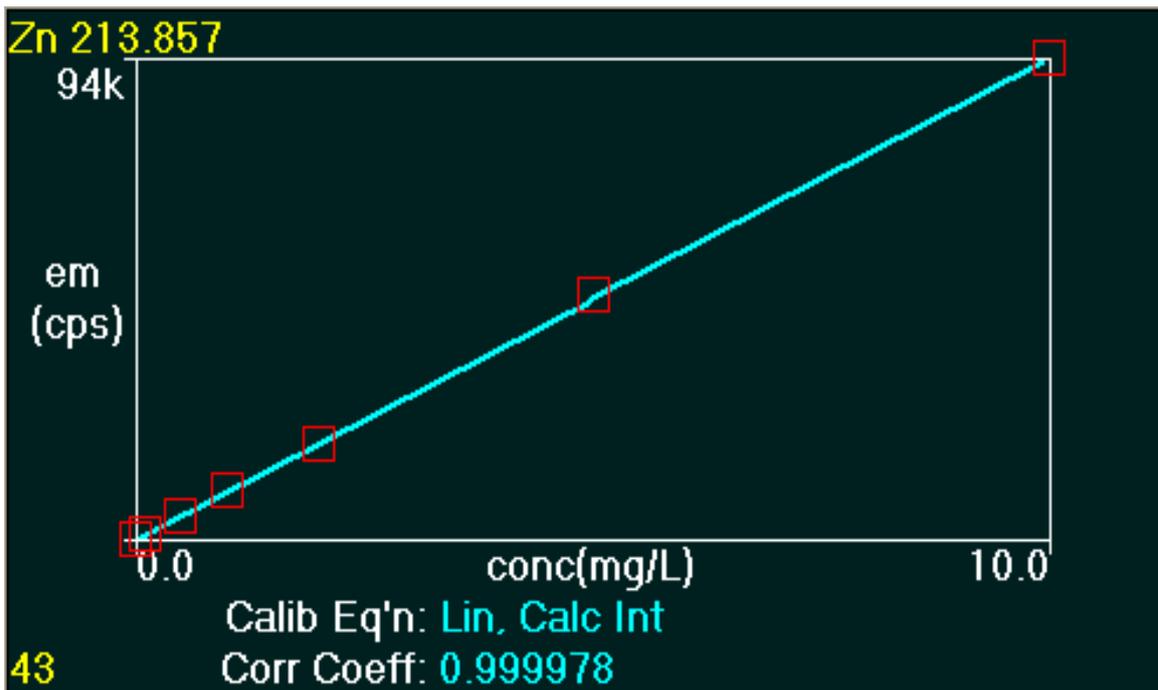
APÉNDICES



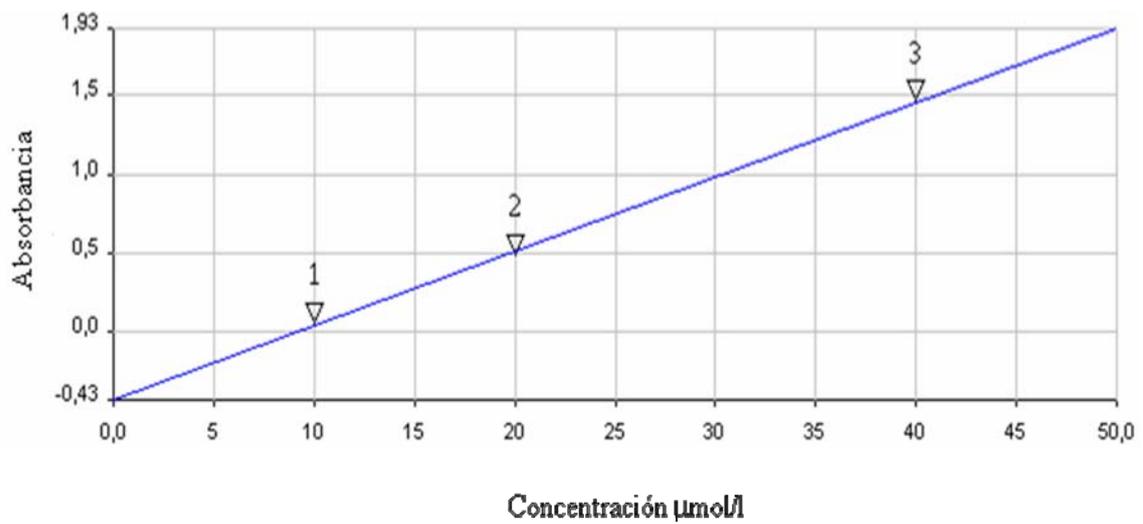
APÉNCICE 1. Curva de calibración de cadmio.



APÉNCICE 2. Curva de calibración de hierro

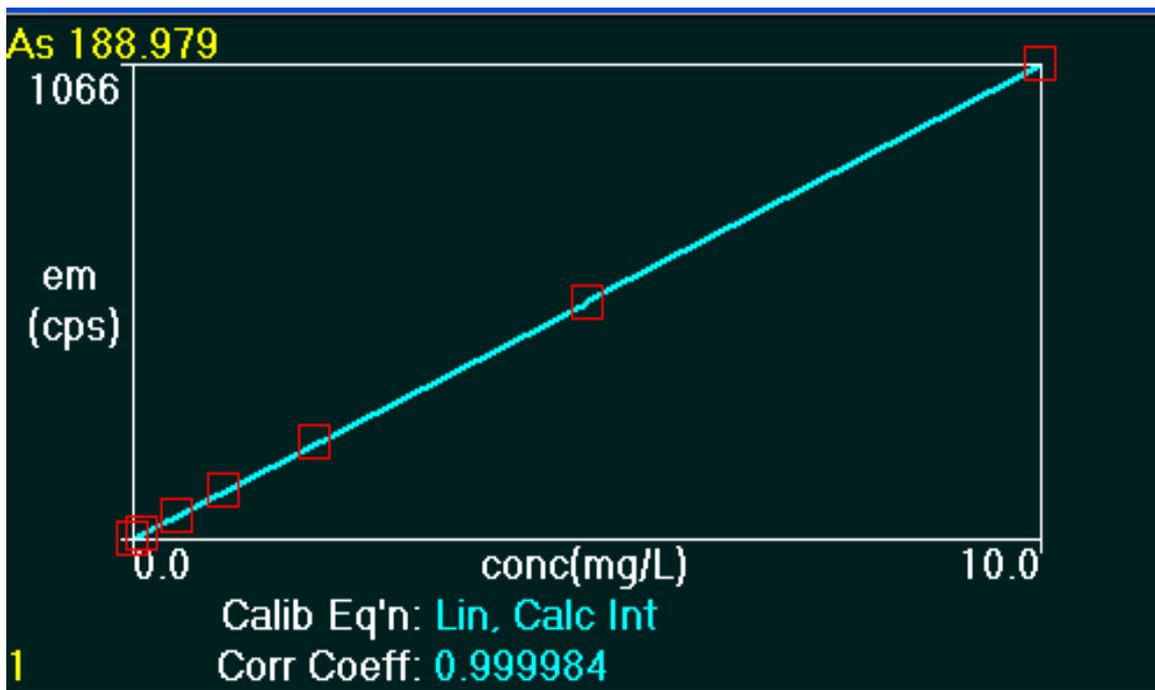


APÉNCICE 3. Curva de calibración de zinc

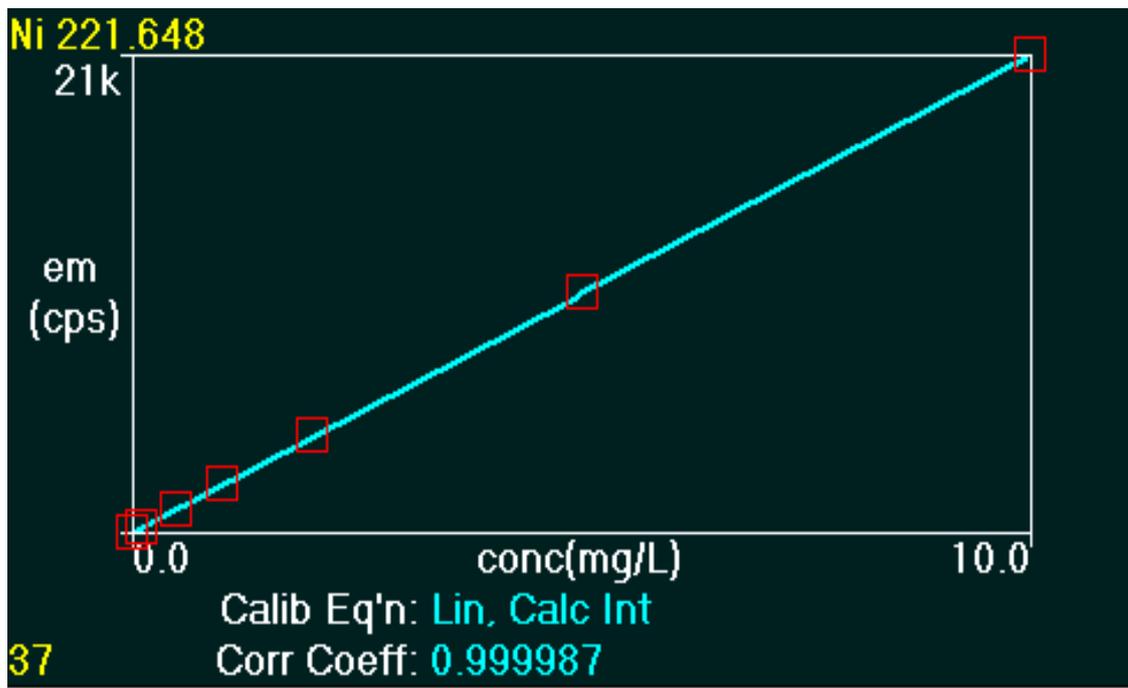


r: 0,99

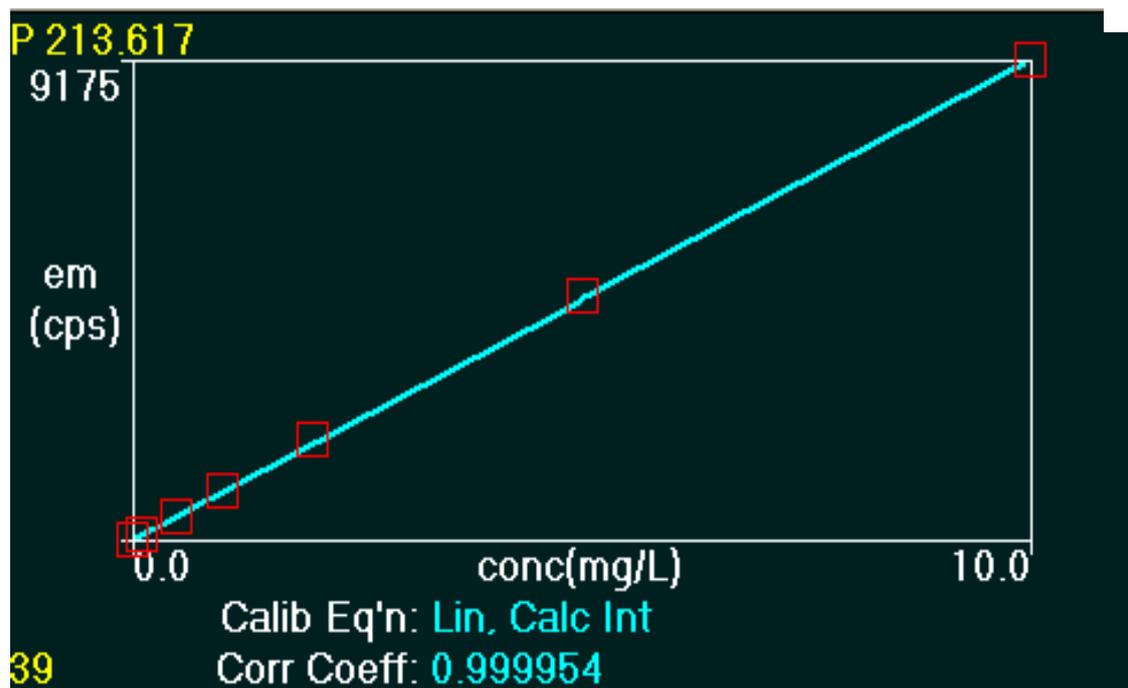
APÉNCICE 4. Curva de calibración de tioles totales



APÉNCICE 5. Curva de calibración de arsénico



APÉNCICE 6. Curva de calibración de níquel



APÉNCICE 7. Curva de calibración de fósforo



APÉNCICE 8. Equipo para la determinación de metales (ICP)



APÉNCICE 9. Equipo para la determinación de tioles totales

HOJA DE METADATOS

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 1/6

| | |
|------------------|---|
| Título | Concentraciones De Cadmio, Hierro Y Zinc Y Su Relación Entre Los Valores De Creatinina Y Tioles Totales En Fumadores Crónicos, Cumaná, Estado Sucre |
| Subtítulo | |

Autor(es)

| Apellidos y Nombres | Código CVLAC / e-mail | |
|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| LOZADA BÁRCENAS, USLANY MAIRINY | CVLAC | 17 957 697 |
| | e-mail | uslozadaforever@hotmail.com |
| | e-mail | |

Palabras o frases claves:

Cadmio, hierro, zinc, fumadores crónicos, tioles totales, creatinina

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

| Área | Subárea |
|----------|-------------|
| Ciencias | Bioanálisis |

Resumen (abstract):

El objetivo de este estudio fue evaluar las concentraciones de cadmio, hierro, zinc, creatinina y tioles totales en individuos fumadores crónicos de Cumaná, estado Sucre, de ambos géneros con edades comprendidas entre 30 y 84 años. El grupo de fumadores crónicos fue dividido en 25 personas que fumaran entre 1 a 5 cigarrillos al día y 25 personas que fumaran de 6 cigarrillos en adelante al día; aparte, se escogieron 50 personas no fumadoras, de ambos géneros, como grupo control. Se colectó información de datos clínicos y epidemiológicos con previo consentimiento. Los niveles de cadmio, hierro y zinc en las muestras de sangre y orina fueron determinados por espectrofotometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado (ICP); los niveles de creatinina y tioles totales fueron valorados por el método de Jaffé y Ellman, respectivamente. Los individuos fumadores crónicos presentaron mayor rango en las concentraciones de cadmio (5,0-10,0 $\mu\text{g/l}$) que los individuos no fumadores (0-5,0 $\mu\text{g/l}$), 9 personas fumadoras (18,0%) presentaron concentraciones de cadmio que exceden el límite de riesgo aceptado por la Organización Mundial de la Salud (0,5-2,0 $\mu\text{g/l}$), mientras que sólo una persona del grupo de los no fumadores (2,0%) excedió ese límite. El análisis estadístico entre las concentraciones de cadmio entre fumadores crónicos y no fumadores mostró diferencias significativas ($p < 0,01$), también se encontraron diferencias estadísticas significativas al comparar las concentraciones de cadmio entre el género de los fumadores crónicos, en donde el género masculino fue más vulnerable a concentrar cadmio, hecho que puede entenderse ya que se determinó que los hombres están más predispuestos a acumular cadmio que las mujeres, debido a que estos individuos tenían más tiempo fumando y además, consumen más cigarrillos al día. En los individuos fumadores crónicos, el rango de las concentraciones de hierro total en sangre fue mayor (122,2-258,4 mg/l) que en los no fumadores (105,9-240,8 mg/l), dejando en evidencia que a mayor concentración de cadmio, mayor concentración de hierro, y esto se corroboró al correlacionar estos dos parámetros y obtener una correlación positiva ($r=0,7$), esta correlación también fue observada al relacionar las concentraciones de hierro en orina con las concentraciones de zinc en orina ($r=0,6$). La detección de arsénico en 4 individuos fumadores crónicos fue un hallazgo muy novedoso. Estos resultados dan a conocer a los individuos que al consumir cigarrillos tienen una doble exposición a ciertos elementos tóxicos (los contenidos en el humo de cigarrillos y los presentes en el medio ambiente), por lo que se van generando ciertos mecanismos que comprometen la funcionalidad del organismo.

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 3/6

Contribuidores:

| Apellidos y Nombres | ROL / Código CVLAC / e-mail | |
|----------------------|-----------------------------|---|
| SALAZAR LUGO, RAQUEL | ROL | C <input type="text"/> A <input type="text"/> T <input type="text"/> J <input type="text"/> A <input type="text"/> S <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="text"/> U <input type="text"/> |
| | CVLAC | 5 855 836 |
| | e-mail | rsalazarlugo50@gmail.com |
| | e-mail | |
| MOSTUE, MAG BRITT | ROL | C <input type="text"/> A <input type="text"/> T <input type="text"/> J <input type="text"/> A <input type="text"/> S <input type="text"/> U <input type="text"/> U <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | 11 681 275 |
| | e-mail | mbmostue@yahoo.no |
| | e-mail | |
| NUSETTI, SONIA | ROL | C <input type="text"/> A <input type="text"/> T <input type="text"/> J <input type="text"/> A <input type="text"/> S <input type="text"/> U <input type="text"/> U <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | 11 380 086 |
| | e-mail | snusetti@yahoo.com |
| | e-mail | |

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

| | | |
|----|----|----|
| 12 | 11 | 13 |
|----|----|----|

Lenguaje: SPA

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 4/6

Archivo(s):

| Nombre de archivo | Tipo MIME |
|--------------------------|------------------|
| Tesis-LozadaUslany.doc | Application/word |

Alcance:

Espacial: Internacional

Temporal: Temporal

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio:

Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU N° 0975

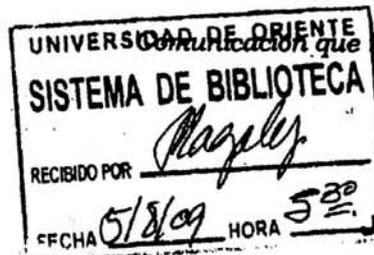
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLAÑOS CUMBELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rafael Salas', written over a horizontal line. The signature is somewhat stylized and difficult to read.



A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rafael Salas', written over a horizontal line. Below the signature, the name 'Dra. Rafael Salas' and the word 'Ascenso' are printed in a small, dark font.