



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

RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE PROTEÍNAS TOTALES Y
GRUPOS TIOLES, CON LOS NIVELES DE MERCURIO EN SANGRE, EN
NIÑOS DE 6 A 10 AÑOS PERTENECIENTES A DOS ESCUELAS DE LA
PARROQUIA AYACUCHO, CUMANÁ, VENEZUELA
(Modalidad: Investigación)

MILDRED ALEJANDRA BARRETO

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

CUMANÁ, 2008

RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE PROTEÍNAS TOTALES Y
GRUPOS TIOLES, CON LOS NIVELES DE MERCURIO EN SANGRE, EN
NIÑOS DE 6 A 10 AÑOS PERTENECIENTES A DOS ESCUELAS DE LA
PARROQUIA AYACUCHO, CUMANÁ, VENEZUELA.

APROBADO POR:

Prof. Luisa Rojas
Asesora académica

Prof. Edgar Zapata
Coasesor académico

Prof. Leida Marcano
Jurado

Prof. María Valentina Fuentes
Jurado

INDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	7
Selección de la muestra.....	7
Toma de muestra sanguínea.....	7
Determinación de proteínas totales	9
Determinación de grupos tioles.....	10
Análisis estadístico.....	11
RESULTADOS Y DISCUSION	12
Distribución por edad y sexo entre escuelas	12
Niveles de mercurio	12
Concentraciones de proteínas totales	15
Grupos tioles totales.....	18
Relación de los parámetros determinados y el consumo de pescado.....	23
Posible sintomatología	25
CONCLUSIONES	27
RECOMENDACIONES	27
RECOMENDACIONES	28
BIBLIOGRAFÍA	29
ANEXO	38

DEDICATORIA

A

Dios todopoderoso y la santísima Virgen del Valle, por ser mi refugio espiritual, por sembrar en mí la fe y servir de guía en el logro de mis metas. Gracias por estar conmigo siempre.

Mis padres, José (†) y Virgilia, por el sacrificio y la confianza que siempre me brindaron en especial a tí madre, este triunfo te pertenece, espero que sea la satisfacción de todo tu esfuerzo.

Mis hermanos, Hernán, Héctor y Nelson, por su apoyo consecuente e incondicional.

Mis adorados sobrinos, Ana, Marianela, Mariangela, Laura, Marialys, José Antonio, Leonela Alejandra y Camila Mia; como ejemplo para ustedes.

Armando Barreto, apreciado tío, por siempre tener una frase sabia y brindarme estímulo para seguir adelante.

Andrés, mi amor por apoyarme y acompañar mi vida en todo momento. Te amo.

Ana Dolores, Leonor, Dennys, Rosana, Blanca y Lilian, amigas y hermanas genuinas.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi más profundo sentimiento de gratitud a mis asesores: Prof. Luisa Rojas de Astudillo y Prof. Edgar Zapata, cuyos oportunos aportes y orientaciones hicieron posible la ejecución de este trabajo.

A las licenciadas, Nilis Rojas, Zuleika Medina y Dumilia Otero, por la ayuda profesional brindada y por su generosa colaboración en el desarrollo de este proyecto.

Agradezco de manera especial a todos los niños, piezas claves de este juego, quienes colaboraron en forma desinteresada para la culminación de esta investigación, así como también a todo el personal en las instituciones escolares.

A todos gracias...

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución por edad y sexo de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.	12
Tabla 2. Intervalo de frecuencia de las concentraciones de mercurio en sangre de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná.	13

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relación entre los niveles de mercurio y concentraciones de proteínas totales en muestras sanguíneas de niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.	16
Figura 2. Relación entre los niveles de mercurio y concentraciones de grupos tioletales en muestras sanguíneas de niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.	20
Figura 3. Distribución de la edad según la concentración de mercurio en los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.	22
Figura 4. Frecuencia del consumo de organismos marinos en niños con concentraciones de mercurio ($>5 \mu\text{g/l}$) pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.	24
Figura 5. Síntomas más frecuentes en niños con concentraciones de mercurio ($>5 \mu\text{g/l}$) pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.	26

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo determinar la concentración de mercurio (Hg), valores de proteínas totales (PT) y grupos tioles (-SH) sanguíneos en 60 niños con edades comprendidas entre 6 a 10 años, de ambos sexos, pertenecientes a dos escuelas seleccionadas al azar de Cumaná, Venezuela. Adicionalmente, a cada niño con su representante, se le aplicó una encuesta para recopilar información demográfica, datos clínicos y tipo de alimentación. Los niveles de mercurio en sangre fueron determinados por espectrofotometría de absorción atómica al vapor frío; las proteínas séricas totales se determinaron por el método de Biuret y las concentraciones de tioles totales del suero se cuantificaron por el método de Ellman. De acuerdo a los resultados, 16 niños presentaron concentraciones de Hg mayores del límite de bajo riesgo aceptado por la Organización Mundial de la Salud ($5 \mu\text{g/l}$). Un análisis de correlación múltiple mostró una relación positiva significativa ($r=0,32$) entre los niveles de proteínas totales y Hg en sangre, en cambio la valoración de los grupos tioles totales fue relacionado negativamente con las concentraciones de Hg ($r=-0,25$). No se obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de mercurio, la edad y el sexo, el tipo de alimentación (pescado) y los síntomas estudiados. El incremento en los niveles de proteínas en estos niños parece formar parte de un mecanismo de captación y/o protección en presencia del metal. La disminución en los niveles de -SH, puede estar asociada a interacciones entre el metal y estos grupos, condición que podría conllevar a posibles perturbaciones en la capacidad antioxidante. Las PT y -SH determinados podrían ser considerados como posibles marcadores bioquímicos, económicos y sensibles, los cuales pudieran servir como señal alternativa asociada a contaminación por mercurio. Los elevados niveles de Hg encontrados en sangre manifiestan la necesidad de un seguimiento evaluativo posterior, que conlleve a revelar las posibles causas de contaminación mercurial en estos niños.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados constituyen una de las principales amenazas a la salud humana, resultado de su creciente y continua emisión al ambiente. Han sido utilizados en las industrias por años, y su toxicidad es ampliamente conocida y estudiada (Jarup, 2003).

Los metales pesados, a concentraciones elevadas, pueden actuar como potentes tóxicos, no obstante, juegan un papel fundamental en los procesos fisiológicos de los seres vivos, de manera que se pueden calificar de acuerdo a su importancia, como esenciales y no esenciales (Goyer, 1996). Los metales esenciales son imprescindibles para el mantenimiento de los sistemas bioquímicos de los seres vivos, también denominados oligoelementos. En este grupo, se incluyen metales como el manganeso (Mn), cromo (Cr), zinc (Zn) y cobre (Cu). Los metales no esenciales se encuentran ampliamente distribuidos por la corteza terrestre tales como plomo (Pb), níquel (Ni), vanadio (V), cadmio (Cd) y el mercurio (Hg), los cuales no poseen ninguna función biológica conocida; siendo el mercurio el elemento más tóxico y expandido en el ambiente (Revelant, 1990; Hylander y Meili, 2003).

Se ha señalado que el mercurio, en forma orgánica e inorgánica, puede causar efectos nefro y neurotóxicos en los humanos (Weiss *et al.*, 1999). Por ello, desde hace décadas, la Organización Mundial de la Salud se ha preocupado de los riesgos y su influencia en la salud. El mercurio puede transferirse fácilmente a través de los distintos niveles tróficos de la red alimenticia, y a su vez biomagnificarse, hasta llegar como receptáculo final al hombre (Wan *et al.*, 2004).

La presencia del mercurio en el ambiente se ve incrementada cada día por las actividades antropogénicas, en particular, una fuente importante de contaminación es

de carácter laboral. La gran difusión de este elemento hace que la población en general esté expuesta a través de diferentes fuentes, como el aire, el agua, el suelo y/o los diferentes grupos de alimentos; la ingesta alimentaria es la vía principal de contaminación para los humanos (Nriagu, 1996; Agusa *et al.*, 2005; Passos *et al.*, 2007).

El conocimiento general sobre los efectos del mercurio y sus derivados, proviene de los episodios de envenenamientos ocurridos en diferentes países: en los años cincuenta una planta química cercana a la Bahía de Minamata (Japón) descargó alta cantidad de residuos mercuriales al mar, contaminando el plancton y con ello los peces, los cuales fueron consumidos posteriormente por los habitantes locales, originando una intoxicación masiva de características catastróficas, con un saldo de 121 afectados, 46 muertos y muchos niños con daños severos en el sistema nervioso central (SNC) (Kurland *et al.*, 1960; Weiss, 2007). Otro caso palpable fue el acaecido en Irak, en 1972, cuando ocurrió una segunda gran intoxicación por metilmercurio (MeHg) contenido en funguicidas. Después de este incidente, las nuevas generaciones presentaron anomalías que incluyeron retraso mental, parálisis cerebral, ceguera, sordera, entre otros (Nierenberg *et al.*, 1998). Recientemente, un estudio más amplio realizado en las Islas Faroe relacionó el déficit de atención, memoria y lenguaje que ocurren por exposición prenatal al MeHg a bajas dosis (Carta *et al.*, 2003).

En nuestro país, hace diez años se realizó un estudio en el distrito de explotación minera de El Callao (estado Bolívar), donde fueron evaluados 51 individuos, de los cuales, 9 sufrieron daños en la córnea con una pérdida completa de la visión, 15 presentaron hipertensión y 27 mostraron problemas severos con pérdida de la memoria y desórdenes del sistema nervioso. Todos estos síntomas se asociaron con niveles de mercurio que excedían los límites aceptables (5 µg/l) propuestos por la

Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) y la Academia Nacional de Ciencias (Taylor, 1999).

La mayor proporción del mercurio (80-99%) ingresa en el organismo en forma de MeHg (Gray *et al.*, 2000; Dabeka *et al.*, 2003). En general, la exposición aguda y crónica al mercurio puede afectar la salud de la población, resultando principalmente perjudicial para las mujeres embarazadas y los infantes (Johnson, 2004). Los niños son particularmente vulnerables debido a que el Hg atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica y placentaria, concentrándose en el feto en desarrollo, lo cual puede provocar déficit neurológicos (Counter y Buchaman, 2004). La exposición de infantes a concentraciones de mercurio suficientemente altas puede provocar efectos nocivos en el SNC, los cuales suelen ser irreversibles en los casos crónicos; también produce tos, náuseas, vómitos, diarreas, problemas en la visión, pérdida de la masa muscular, alteraciones sensoriales en los brazos y piernas, alteraciones cognitivas y erupciones en la piel, mientras que la exposición a bajas dosis puede provocar problemas de atención, memoria y lenguaje, necesitando así más tiempo para desarrollar sus habilidades verbales, motrices y de aprendizaje (Davidson *et al.*, 2004; Ip *et al.*, 2004).

Diversas investigaciones han sugerido distintas fuentes de exposición al mercurio en los niños, sin embargo, la más conocida es el consumo de comidas contaminadas, principalmente pescado y productos marinos (Hightower y Moore, 2003). De allí que las personas con mayor riesgo de exposición al mercurio sean aquellas que se alimentan regularmente con pescados; alimento que constituye un componente muy valioso de la dieta humana en muchas partes del mundo, ya que proporciona nutrientes que, por lo general, no se encuentran en otros alimentos; sin embargo, estos organismos son capaces de bioconcentrar metales pesados, considerándoseles una potencial fuente de contaminación.

El mercurio puede ingresar al organismo humano por distintas vías: respiratoria, digestiva y cutánea. Por la vía respiratoria, penetra fácilmente en las membranas del pulmón con una eficiencia del 80%. El mercurio retenido se pierde con el aire expirado, con una vida media de 18 horas. Luego, el mercurio absorbido abandona rápidamente los pulmones a través del sistema circulatorio, lo cual va a favorecer su absorción y solubilidad en lípidos permitiendo el paso a través de las membranas biológicas (Suzuki, 1998). La vía digestiva es la que tiene mayor importancia, ya que el aporte del mercurio a la población no expuesta ocupacionalmente, procede fundamentalmente de los alimentos, y más concretamente del pescado (Morrissette *et al.*, 2007; Agusa *et al.*, 2005; Passos *et al.*, 2007). La absorción del mercurio por esta vía se encuentra en el orden del 95% de la dosis administrada (Sweet y Zelikoff, 2000). Por la vía cutánea, es también muy probable que el mercurio sea absorbido; se han descrito casos de intoxicación debida a la aplicación local de pomadas que contienen el metal (Ryaboshapko *et al.*, 2002).

El mercurio, es transportado vía sanguínea, y puede unirse a macromoléculas plasmáticas (p.e. proteínas, lipoproteínas) o a compuestos ricos en grupos sulfhidrilos tales como glutatión, metalotioneína, homocisteína, etc. (Fang y Fallin, 1976; Lee y Lee, 2005). Posteriormente, este metal puede ser llevado y acumulado en distintos órganos dianas tales como el hígado, los riñones y el cerebro (Goyer, 1997).

La acción tóxica del mercurio a nivel molecular está fundamentada en la inhibición de numerosas enzimas por la oxidación de sus grupos sulfhidrilos (-SH), dando lugar a la formación de complejos metal-proteína, con la ulterior reducción o inactivación de su función catalítica (Louie y Meade, 1999). El mercurio, como otros metales pesados, se enlaza en los sitios activos de determinadas enzimas, afectando importantes rutas metabólicas celulares. A su vez, este metal puede reaccionar con grupos amidas, carboxilos y fosforilos, produciendo graves alteraciones en las proteínas transportadoras y estructurales (Hultberg *et al.*, 2001). El

mercurio puede unirse covalentemente a compuestos ricos en azufre mediante enlaces mercáptidos, siendo la afinidad del mercurio por los grupos tioles en proteínas y otras moléculas biológicas, superior a su afinidad por otros ligandos de origen biológico (Biswas *et al.*, 2006).

La mayor parte del mercurio, hasta un 90%, se excreta en las heces desde el hígado, vía biliar, y menos del 10% aparece en la orina. Durante su eliminación, este metal sufre la recirculación enterohepática, pasando al tracto gastrointestinal de donde es eliminado por las heces y otra parte reabsorbido hacia el plasma. Este proceso es el que determina su lenta eliminación dando lugar a un riesgo elevado de acumulación (Goyer, 1997).

El diagnóstico analítico de la intoxicación por compuestos orgánicos mercuriales resulta muchas veces difícil, de tal manera que, tanto las manifestaciones clínicas como las determinaciones del metal en los líquidos biológicos son determinantes a la hora de realizar un diagnóstico definitivo. La determinación del metal en orina, al parecer no es un buen indicador de contaminación mercurial, aunque se ha utilizado frecuentemente para evaluar exposición de tipo laboral. Sin embargo, el fluido sanguíneo es un potencial tejido para valorar el contenido corporal de mercurio en una exposición crónica a niveles bajos. Se conoce que la mayor proporción de mercurio orgánico absorbido se fija de manera muy estable en los hematíes, de esta manera el análisis de sangre es útil para exposiciones continuas y recientes (Apostoli *et al.*, 2003).

El análisis de metales tóxicos, como el mercurio, en muestras biológicas es de gran importancia debido a la marcada influencia que tienen estos elementos en el desarrollo y bienestar de los seres humanos, en especial de los niños (Castillo y Fernández, 1990). En tal contexto, en esta investigación se plantea como objetivo relacionar los niveles séricos de mercurio, proteínas y grupos tioles totales en niños

de dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná. Parámetros estos últimos (PT y -SH), que pudieran ser utilizados en laboratorios clínicos como pruebas complementarias en la estimación de contaminación por mercurio en humanos.

METODOLOGÍA

Selección de la muestra

Las muestras fueron seleccionadas al azar en dos escuelas, Federal Sucre y La Trinidad, pertenecientes a la parroquia Ayacucho de la ciudad de Cumaná. De la población total se calculó el tamaño de la muestra basándose en la fórmula propuesta por Cochran (1985). La misma fue fijada en 60 niños de edad escolar comprendida entre 6 a 10 años, de ambos sexos, tomando en cuenta la data de la matrícula de inscripción de cada escuela. Luego, junto con su representante, a cada niño se le aplicó una encuesta para recopilar información demográfica, datos clínicos y tipo de alimentación (Anexo 1). Las informaciones y todo lo relacionado con la toma de muestra fueron adquiridas siguiendo el criterio de ética publicado por la Organización Panamericana de la Salud (1993) en su artículo 46, numeral 6 (Anexo 2). La Fórmula propuesta por Cochran (1985):

$$n = \frac{K^2 \cdot N \cdot P \cdot Q}{(e^2 \cdot N) + (K^2 \cdot P \cdot Q)}$$

Donde: K: (1,64) Nivel de confianza; N: Tamaño de la población; P: (0,50) Probabilidad de aceptación; Q: (0,50) Probabilidad de rechazo; e: (0,1) Error de estudio.

Toma de muestra sanguínea

A cada niño se le extrajeron 6 ml de sangre por punción venosa de la fosa antecubital (previa asepsia de la zona). De ésta se tomó una alícuota de 3 ml, y se colocó en tubos de vidrio estériles con tapones de goma, con sal disódica de EDTA al 10% como anticoagulante, en proporción 1:1 para las determinaciones de mercurio.

La otra fracción se colocó en tubos de vidrio, sin anticoagulante para proceder a determinar las proteínas y los grupos tioles totales. Las muestras recolectadas se transportaron al laboratorio en cavas con hielo para su conservación hasta el momento de su análisis.

Determinación de mercurio

En un tubo de digestión con tapa se pesaron aproximadamente 2 ml de sangre (por duplicado) y se le agregó 3,5 ml de una mezcla de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (2:1) por las paredes del tubo, el cual se encontraba en un baño de hielo con el fin de evitar el aumento de la temperatura. Los tubos se sellaron con parafina y tapados con tapa de baquelita. Se dejaron por 24 horas a temperatura ambiente, luego se le agregó 1 ml de HCl concentrado. Estos tubos se colocaron en un baño de maría a 65°C durante 2 horas. Luego, de transcurrido el tiempo a cada uno de los tubos que contenían las muestras fue titulado con KMnO_4 al 5%, hasta observarse un cambio de color en la solución de incoloro a rosado pálido. Posteriormente, se agregaron 2 gotas de peróxido de hidrógeno al 30% para eliminar el exceso de permanganato de potasio.

La solución resultante se llevó a una masa final de 10 g. Por último, se centrifugó la muestra a 3 000 r.p.m durante 15 minutos, luego se tomó el sobrenadante y se guardó en envases de polietileno, previamente tratados con ácido nítrico al 4%, en refrigeración hasta su análisis.

El equipo utilizado para realizar las medidas de las concentraciones de Hg fue un espectrómetro Perkin Elmer de Absorción Atómica (modelo Fias 100) acoplado con un sistema generador de hidruros para Hg, empleando la técnica de máxima altura de pico. La calibración se realizó preparando patrones con 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0 y 20,00 μl a partir de un patrón de 1 mg/l de Hg, llevando la solución a un

volumen de 100 ml con HNO_3 al 2% y adicionando gotas de KMnO_4 y peróxido de hidrógeno al 30% como sugiere el manual de procedimientos del sistema generador de hidruros (Perkin Elmer, 1996). Para la determinación de Hg los patrones fueron tratados de manera similar a las muestras de sangre. La técnica que se utilizó fue la de vapor frío.

La presencia de un medio ácido hace propicia la oxidación de la materia orgánica y posterior reducción del Hg, con la adición de permanganato de potasio. La reducción del metal se facilita utilizando borohidruro de sodio en medio básico como agente reductor. El Hg es transportado por una corriente de nitrógeno como vapor a la celda de cuarzo, donde la absorción del metal es medida y relacionada con la cantidad de Hg en la muestra. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g/l}$.

Todos los reactivos que se utilizaron fueron de grado analítico. Todo el material de vidrio que se usó para las determinaciones de Hg fue previamente tratado con una solución de ácido nítrico al 4% por 24 horas.

Determinación de proteínas totales

Para la determinación de las proteínas séricas totales se aplicó el método de Biuret, cuyo principio consiste en la reacción que experimentan las proteínas con los iones Cu^{2+} presentes en el reactivo de Biuret en medio alcalino; cada ión cobre se liga a la cadena polipeptídica por cuatro enlaces de coordinación aportados por pares electrónicos libres de los átomos de nitrógeno para dar lugar a la formación de un complejo violeta con un máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra. Cada muestra (50 μl de suero) fue mezclada en un tubo de ensayo contentivo de 3 ml reactivo de Biuret, y se dejó reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se

realizó la lectura espectrofotométrica a 540 nm. La concentración de proteínas totales se calculó mediante una curva de calibración preparada con una solución de albúmina de suero bovino (BSA), los resultados fueron expresados en g/dl. Valores referenciales de proteínas para niños: 6,2 - 8,0 g/dl (Balcells, 1997).

Determinación de grupos tioles

Para la determinación de los grupos tioles en suero, se aplicó el método de Ellman, el cuál se fundamenta en la cuantificación de 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 buffer compuesta por Tris HCl-EDTA, de concentración 30 y 3 mmol/l, se ajustó el pH a 8,2. El reactivo de trabajo 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoato (DTNB) se preparó disolviendo 29,7 mg de DTNB en 25 ml de metanol (Ellman, 1959; Sedlak, 1968).

A cada tubo de ensayo se le adicionó 50 µl de suero sanguíneo, 150 µl de la solución buffer, 800 µl de metanol y 50 µl de DTNB, se mezcló y se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se centrifugaron las muestras a 300 r.p.m durante 5 minutos. Finalmente, se tomó el sobrenadante para la posterior determinación de los grupos tioles, leyendo la absorbancia a 412 nm.

La concentración de los grupos tioles (-SH) 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 0,3 mg/l en agua destilada, a partir de la cual luego se prepararon patrones de 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 µmol/l. El análisis de cada muestra se realizó por duplicado y los resultados se expresaron en µmol/l.

Análisis estadístico

Se efectuó un análisis de correlación múltiple para evaluar las posibles asociaciones entre el mercurio en sangre, las proteínas totales y los grupos tioles (-SH) de los pacientes en estudio, analizando el tipo y el significado estadístico de tales correlaciones. Posteriormente, se aplicó un análisis de Chi-cuadrado para evaluar las posibles asociaciones entre diversos factores como: niveles de Hg, la edad, el sexo, tipos de alimento, síntomas, versus los niveles de tioles en sangre. Además, se realizó un Test de Student para comparar las medias de los niños considerados como contaminados y no contaminados. Todos los análisis estadísticos fueron efectuados en un 95% de confiabilidad (Sokal y Rohlf, 1981).

RESULTADOS Y DISCUSION

Distribución por edad y sexo entre escuelas

En la tabla 1 se resume la distribución por edad y sexo de la población estudiada. Tanto en la escuela La Trinidad como en la escuela Federal Sucre, la distribución de frecuencias por sexo de los niños seleccionados fue homogénea. Sin embargo, la distribución en relación a la edad mostró una ligera diferencia. La mayor frecuencia fue evidenciada hacia las edades extremas, registrándose un promedio de 8,3 años y siendo la edad más frecuente 10 años.

Tabla 1. Distribución por edad y sexo de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

Escuela La Trinidad		Frecuencia	Escuela Federal Sucre		Frecuencia
Edad	Sexo	(%)	Edad	Sexo	(%)
6-7	Masculino	27	6-7	Masculino	13
6-7	Femenino	37	6-7	Femenino	7
8-10	Masculino	23	8-10	Masculino	37
8-10	Femenino	13	8-10	Femenino	43
Totales		100			100

Niveles de mercurio

La tabla 2 muestra los intervalos de frecuencias de las concentraciones de Hg en sangre de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho. Los niños evaluados presentaron concentraciones medias de mercurio (Hg) de $4,08 \pm 1,84$ $\mu\text{g/l}$, siendo 0,79 y 11,44 $\mu\text{g/l}$ los valores mínimos y máximos encontrados, respectivamente. Adicionalmente, se evidenció que 16 niños (27%) presentaron valores de Hg en sangre por encima de lo establecido por la Organización Mundial de la Salud (5 $\mu\text{g/l}$), mostrando una media de $6,41 \pm 1,62$ $\mu\text{g/l}$, en contraste con los niños considerados no contaminados ($3,23 \pm 0,97$ $\mu\text{g/l}$) ($t_s = 85,68$; $p < 0,0001$).

En general, los niveles de Hg cuantificados en estos niños son considerados elevados si se contrasta con los datos reportados por Schober *et al.*, (2003) en niños estadounidenses, en los cuales la concentración promedio encontrada fue de 0,34 $\mu\text{g/l}$. Estas concentraciones son alarmantes, y sólo se han registrado en habitantes de zonas altamente contaminadas y trabajadores de minas e industrias que manipulan compuestos contentivos de dicho metal. Silva *et al* (2004) reportó un promedio de 31 μg de Hg/l en trabajadores buscadores de oro del río Amazonas Brasileño, mostrando un intervalo desde 4 a 130 μg Hg/l. Recientes estudios realizados por Chen *et al* (2005) reportaron un alto contenido de Hg en suero y orina en personas laboralmente expuestas y habitantes de una zona de alta polución en la república de China. Estos investigadores reportan valores 60 veces más altos en el grupo expuesto en comparación al grupo control ($60,8 \pm 70,2$ vs. $0,91 \pm 0,28$ μg Hg/l).

Tabla 2. Intervalo de frecuencia de las concentraciones de mercurio en sangre de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná.

Concentración Hg ($\mu\text{g/l}$)	Frecuencias (%)
0,50 -1,00	2
1,01 - 2,00	7
2,01- 3,00	22
3,01 – 4,00	27
4,01 – 5,00	17
5,01 – 6,00	13
6,01 – 7,00	7
7,01 – 8,00	5
8,01 -12,00	2

Al parecer el grado de contaminación por mercurio en pobladores de la ciudad de Cumaná es considerable. Un estudio realizado por Shrestha y Fornerino (1987) reveló concentraciones promedios de mercurio de $2,0 \pm 0,5$ $\mu\text{g/g}$, con un intervalo de 0,4 a 6,1 $\mu\text{g/g}$ en el cabello de 135 individuos (65 varones y 70 hembras) con edades entre 6 y 61 años; estos autores no hacen referencias a las posibles fuentes de contaminación. En contraste, Mahaffey *et al* (2004) y Carta *et al* (2003) han

reportado concentraciones de Hg en sangre relativamente elevadas ($5,8 \mu\text{g/l}$) en residentes de los Estados Unidos de Norteamérica, nativos y con distintas procedencias étnicas, teniendo como principal fuente las bajas concentraciones de Hg contentivas en pescado y otros tipos de alimentos (ostras). Similarmente, recientes determinaciones de niveles de Hg en sangre en pobladores del río Tapajos en la Amazonia brasileña, revelaron un promedio de Hg total de $38,6 \pm 21,7 \mu\text{g/l}$, metilmercurio $33,6 \pm 19,4 \mu\text{g/l}$ y Hg inorgánico $5,0 \pm 2,6 \mu\text{g/l}$, relacionados con el consumo frecuente de pescado (Passos *et al.*, 2007). En distintas investigaciones, se ha comprobado una relación positiva entre consumo de productos del mar, en especial pescado, y el contenido de Hg tanto en sangre, uñas, pelo y orina (Dabeka *et al.*, 2004; Morrissette *et al.*, 2007; Passos *et al.*, 2007).

Los niveles de Hg obtenidos en la población de este estudio deben ser tomados en consideración de manera de controlar y regular las fuentes potenciales de contaminación mercurial. La toxicidad del Hg en humanos es conocida, al parecer, este metal ya sea en forma orgánica, acomplexado aniónico o ión divalente, puede penetrar a la membrana de los glóbulos rojos afectando la permeabilidad de algunos iones y glucosa (Silbergeld, 2000). Al mismo tiempo, puede dañar de forma permanente los sistemas nervioso-central, renal-dopaminérgico y cardiovascular. Además, las funciones cerebrales pueden ser afectadas, limitando la habilidad de aprendizaje en niños (Kent, 1998; Siblingrud, 1990; Burbure *et al.*, 2006).

Los elevados niveles de Hg en sangre pueden dar referencia del posible transporte del metal a otros órganos diana. Se ha considerando que su distribución en el organismo puede estar determinada por los siguientes factores: dosis, duración de la exposición, grado de oxidación del Hg, concentración de los compuestos mercuriales en los distintos compartimentos sanguíneos, afinidad de los componentes celulares con el metal, concentración en relación con los grupos sulfhidrilos libres y la velocidad de asociación/disociación del complejo Hg-proteínas (Spalding *et al.*,

2000). Este último aspecto es muy relevante, ya que a nivel sanguíneo el transporte del Hg se encuentra mediado por proteínas séricas y moléculas ricas en grupos tioles, con marcada afinidad hacia el metal (Weed *et al.*, 1962; Zalups *et al.*, 2007). Estos elevados niveles de Hg deben ser tomados en consideración de manera de controlar y regular las fuentes potenciales de contaminación mercurial.

Concentraciones de proteínas totales

Los datos de proteínas obtenidos en este estudio mostraron linealidad débil en relación con los niveles de mercurio presentes en sangre ($r = 0,32$). El ajuste al modelo lineal entre la valoración de estas variables presentó la siguiente ecuación: $[\text{Proteínas}] = 0,11 [\text{Hg}] + 6,39$ (Figura 1). Las concentraciones de proteínas totales en los niños evaluados se encontraron entre los intervalos normales establecidos ($6,85 \pm 0,64$ g/dl) (Balcells, 1997). Sin embargo, en los 16 niños con niveles de Hg elevados ($> 5 \mu\text{g/l}$) se observó un ligero incremento en los valores de proteínas ($7,16 \pm 0,45$ g/dl) en comparación con los niños con concentraciones menores a $5 \mu\text{g}$ de Hg/l ($6,74 \pm 0,66$ g/dl) ($t_s = 5,39$; $p < 0,02$).

El aumento de los niveles de proteínas totales en el suero de los niños con niveles de Hg mayores a $5 \mu\text{g/l}$ presumiblemente pueda estar relacionado con la biosíntesis de proteínas implicadas en la quelación y transporte de metales pesados, tales como albúmina, ferritina, transferrina, γ -globulinas y metalotioneínas (Fang y Fallin, 1976; Lash y Jones, 1985). En el caso de la albúmina, ha sido considerada como la molécula primaria encargada de la captura y transporte de Hg en sangre (Brown y Shockley, 1982), interactuando desde 1 hasta 4 sitios de unión (p.e átomos de sulfuros del aminoácido metionina), a través de uniones tio-eter (C-S-C) (Fang y Fallin, 1976). Se ha establecido que más del 98% de los iones de Hg en suero pueden unirse a la albúmina, y sólo una pequeña fracción puede enlazarse a tioles endógenos de baja masa molecular (Lau y Sarker, 1979; Zalups, 2000).

La albúmina del suero humano y la hemoglobina pueden unir 2 moles de Hg cuando están en presencia de una concentración de $3,5 \cdot 10^{-5}$ mol/l de Hg libre; mientras que la γ -globulina puede unir solo 1 mol (Perkins, 1961; Barltrop y Smith, 1973). Los sitios de unión para estas proteínas han sido estimados en 4 para la albúmina y 3 para la hemoglobina, principalmente grupos sulfhidrilos (Fang y Fallin, 1976). Adicionalmente, se ha demostrado que la interacción de complejos metálicos con la albúmina está inicialmente asociada con un residuo de histidina (Farid *et al.*, 1998). Los complejos albúmina-Hg parecen ser lábiles, debido al rápido decrecimiento de las concentraciones de distintas formas de Hg en plasma (Zalups y Barfuss, 1998). A su vez, se ha sugerido, que a nivel sanguíneo podrían ocurrir intercambios de ligandos entre complejos mercurio-albúmina y tioles de baja masa molecular (Zalups y Barfuss, 2002; Dalle-Donne *et al.*, 2005).

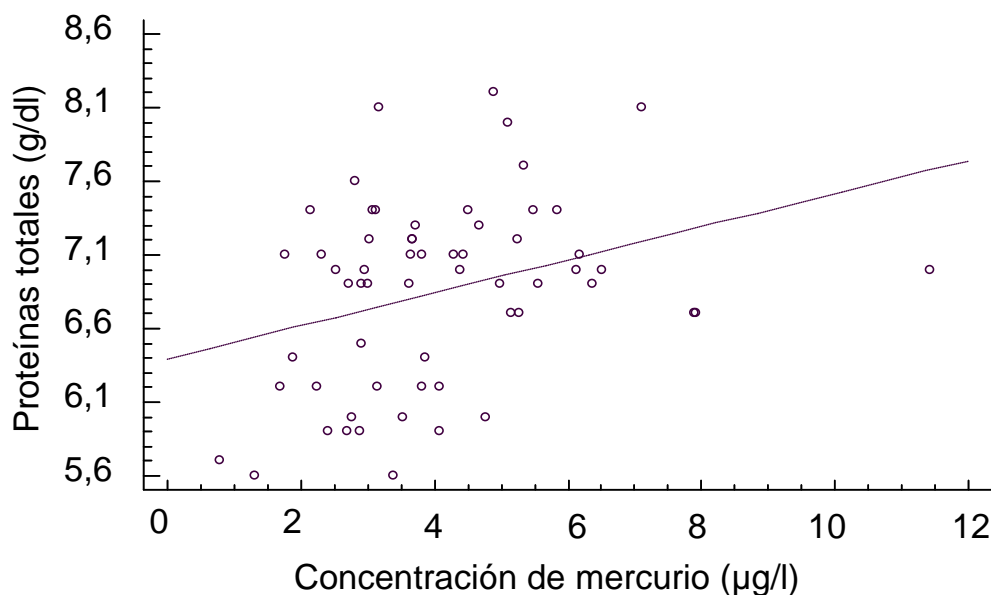


Figura 1. Relación entre los niveles de mercurio y concentraciones de proteínas totales en muestras sanguíneas de niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

La interacción del Hg con proteínas es un aspecto relevante de la bioquímica esencial de sus efectos toxicológicos. Se ha documentado que el Hg orgánico se une a

los eritrocitos, mientras que el Hg inorgánico se transporta en la albúmina del plasma. La albúmina es una de las proteínas más abundantes en la sangre y posee alrededor de 109 ligandos catiónicos y 120 aniónicos disponibles. Sin embargo, otras proteínas como la globulina (alfa y beta) transportan además de algunos iones metálicos, partículas coloidales (Silbergeld, 2000).

Estudios realizados con animales experimentales han revelado que las metalotioneínas y otras proteínas, son moléculas importantes en el metabolismo del Hg, presentando una alta efectividad de captar y mediar su excreción. Estas proteínas, caracterizadas por su elevado contenido de cisteína y ausencia de aminoácidos aromáticos, pueden unir hasta seis iones de Hg por molécula (Kagi y Schäffer, 1988; Rõesijadi, 1992). Además, se ha comprobado que la biosíntesis de las metalotioneínas actúa como un mecanismo protector contra la toxicidad de iones metálicos (Palmitier *et al.*, 1998; Davis y Cousins, 2002; Brandao *et al.*, 2006).

El incremento de las proteínas séricas en los niños con niveles elevados de Hg puede estar relacionado con el desempeño molecular de las metalotioneínas y otras proteínas, en el metabolismo de los metales y en el control de su toxicidad (Hamer, 1986). Las metalotioneínas (MT) caracterizadas y secuenciadas en sangre humana, están conformadas por 61-68 aminoácidos y por un alto contenido de grupos sulfhidrilos (Nordberg y Nordberg, 2000; Rahman *et al.*, 2000), dichos grupos se involucran con la formación de conglomerados tiolados de metales diamagnéticos y con la remoción de especies reactivas del oxígeno (Davis y Cousins, 2002; Kondoh *et al.*, 2003). Este elevado número de grupos -SH le permite a las MT participar activamente en el mantenimiento del balance redox, funcionando como moléculas protectoras en organismos sometidos a un continuo ataque de oxiradicales.

Grupos tioles totales

Los niveles de Hg y grupos tioles totales en sangre mostraron escasa asociación ($r = -0,25$), presentando un modelo de ajuste lineal descrito por la ecuación: $[-SH] = -13,80 [Hg] + 446$ (Figura 2). A pesar de evidenciarse una relación débil entre estas variables, los valores promedios de grupos sulfhidrilos para los niños con niveles de Hg $> 5 \mu\text{g/l}$ resultaron disminuidos con respecto a los niños con menor concentración de mercurio en sangre ($346,26 \pm 95,70 \mu\text{moles/l}$ versus $405,52 \pm 99,43 \mu\text{moles/l}$, respectivamente) ($t_s = 4,25$; $p < 0,04$). Se observó que el 65 % de la población de niños con niveles de Hg en sangre menores a $5 \mu\text{g/l}$ presentaron concentraciones de tioles más altas (310 - 670 $\mu\text{moles/l}$). Por el contrario, el 20 % de la población que resultó con niveles de Hg elevados presentó un intervalo de 200 - 400 $\mu\text{moles/l}$ de grupos tioles en sangre (Anexo 3). Sólo el 23,4 % de las muestras totales evaluadas presentaron valores dentro del rango (450 - 650 $\mu\text{moles/l}$) considerados para personas saludables (Solis-Carini, 2007).

El descenso en los niveles de grupos tioles (-SH) en los niños con concentraciones de Hg elevadas sugiere la participación de estos grupos funcionales en la captación del Hg. A la vez, esta ligera reducción de grupos -SH es indicativo del estado de protección antioxidante total, lo que podría propiciar la posibilidad de riesgo o alteraciones oxidativas, consecuencia de una ineficiente barrera antioxidante del plasma/suero; capacidad que pudiera ser limitada en presencia de Hg. El Hg, al igual que otros metales pesados, puede inducir la generación de especies reactivas del oxígeno (oxiradicales) u otros radicales libres, los cuales a concentraciones elevadas pueden alterar el sistema de defensa antioxidante celular. Sin embargo, este mecanismo de producción de oxiradicales mediada por Hg no ha sido completamente esclarecido (Schurz *et al.*, 2000; Zambrano, 2004; Chen *et al.*, 2005).

El sistema de defensa antioxidante a nivel sanguíneo está conformado por una maquinaria bioquímica encargada de mantener en condiciones fisiológicamente aceptables, los niveles de oxiradicales (Nuseti y Zapata, 2005); donde los grupos sulfhidrilos cumplen un papel relevante, debido que los compuestos y enzimas redox antioxidantes son thiol-dependiente. A su vez, este sistema está vinculado al proceso de captación, acumulación y desintoxicación del Hg, involucrando la participación de moléculas ricas en grupos sulfhidrilos, tales como glutatona reducida, metalotioneínas, proteínas de alta masa molecular y enzimas antioxidantes.

Los grupos -SH son químicamente activos y presentan una altísima afinidad por el Hg (Golman *et al.*, 2001). Igualmente, actúan como agentes reductores, nucleofílicos, antioxidantes y participan en la desintoxicación de metales pesados. Además, se encuentran asociados a distintos procesos biológicos *in vivo*, tales como la síntesis de prostaglandinas y regulación del ciclo celular (Chaseaud, 1973). De igual manera, los tioles de baja masa molecular actúan como antioxidantes endógenos y amortiguadores redox, siendo importante en la homeostasis celular (Rubino *et al.*, 2004). Estas funciones celulares son mediadas por modificaciones post-traduccionales (procesos de tiolación de proteínas), la cual involucra la formación de mezclas de disulfuros entre GSH y residuos de cisteína de cadenas polipeptídicas (Rubino *et al.*, 2004; Dalle-Donnea *et al.*, 2005).

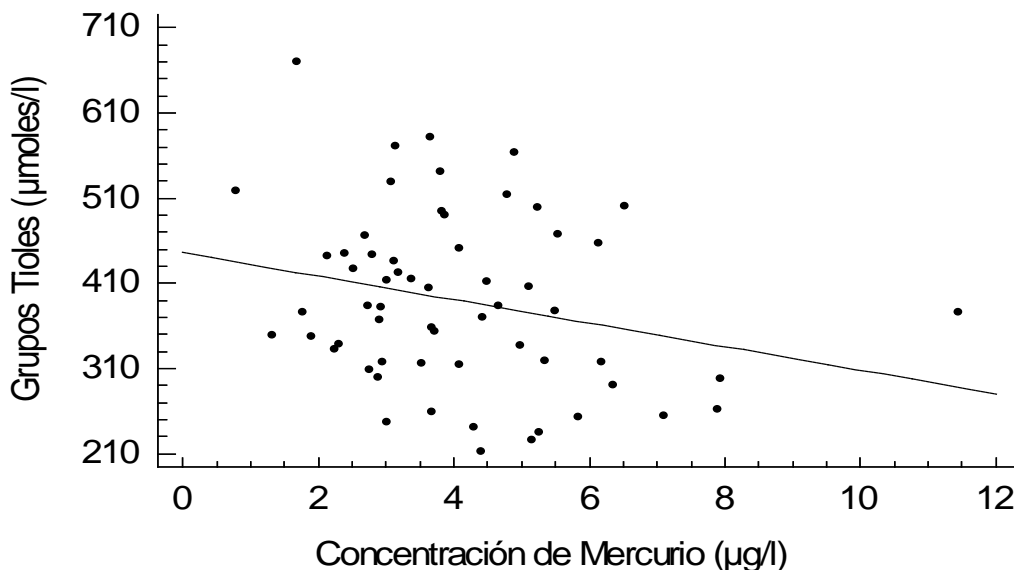


Figura 2. Relación entre los niveles de mercurio y concentraciones de grupos tioles totales en muestras sanguíneas de niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

La determinación de grupos tioles totales ha sido utilizada como un marcador de contaminación por metales pesados en distintos sistemas biológicos (Pandey *et al.*, 1999; García y Salazar, 2002; Hernández, 2006). Con la valoración de los grupos tioles, en esta investigación, se pretendió obtener en forma generalizada, la sumatoria de las concentraciones de GSH, homocisteína, cisteína y otros compuestos contentivos de -SH.

Algunas patologías oxidativas, como Alzheimer, coinciden con la disminución de la concentración de grupos sulfhidrilos relacionada con estrés oxidativo (Olivieri *et al.*, 2002). Además, se ha evidenciado que concentraciones elevadas de Hg puede inducir una reducción de casi el 30% de los niveles del glutatión a nivel celular (Pendergrass *et al.*, 1999). Contrariamente, Chen *et al* (2005) reportaron incrementos sustanciales de los niveles de grupos sulfhidrilos libres y unidos a proteínas, en trabajadores contaminados por Hg en la localidad de Wanshan (China).

En contraste, los niveles de grupos sulfhidrilos encontrados en niños con elevadas concentraciones del metal, podría ser explicada por posibles alteraciones del sistema redox celular, especialmente un desbalance en la síntesis y/o recambio de moléculas ricas en -SH. Se sugiere que los elevados niveles de Hg podrían limitar de forma indirecta el rol del sistema de defensa antioxidante mediado por estos grupos, dicha alteración y/o deficiencia de tioles podría conllevar a problemas metabólicos y celulares, tales como acidosis, disfunción orgánica, hemólisis, desordenes cardiovasculares e incremento en la incidencia de cáncer (Arias, 1976; Siblingrud, 1990; Hultberg *et al.*, 1998).

En otro orden de ideas, no se obtuvo correlación significativa ($r=-0,06$; $p>0,05$) entre las concentraciones de proteínas totales y los niveles de tioles en sangre. Sin embargo, se infiere que el incremento de los niveles de proteínas séricas en niños con niveles de Hg mayores a 5 $\mu\text{g/l}$, forma parte de un mecanismo de defensa bioquímica, el cual podría aminorar la toxicidad del Hg, asociado a una efectiva dinámica de unión que poseen estas proteínas. Además, se presume que el Hg puede acomplejarse a tales proteínas, mediadas o no por grupos tioles, y que posteriormente pueden trasportarlo e intercambiarlo en distintos órganos dianas o posiblemente excretarlo.

Relación de los niveles de Hg, proteínas, grupos tioles, distribución de edades y sexo entre las escuelas

La distribución de los datos entre las edades de los niños y los niveles de Hg en sangre se presenta en la figura 3. En la misma se puede detallar que de los 16 niños con niveles de Hg $> 5 \mu\text{g/l}$, 9 niños poseen edades comprendidas entre 8 y 10 años (15%) y el resto (12%) son niños entre 6 a 7 años. En este trabajo no se encontró diferencias significativas entre las concentraciones de Hg con respecto a las edades evaluadas ($p>0,05$); se presume que el intervalo de edades de los escolares es muy sesgado para el objetivo que se perseguía. Contrariamente, en estudios realizados por

la Organización Mundial de la Salud donde se evaluó un mayor universo de muestras, con un amplio rango de edades, señala que los niveles de Hg pueden aumentar con la edad (WHO, 1999; Agusa *et al.*, 2005).

Los resultados arrojados por el análisis de Chi-cuadrado evidencian que los niveles de -SH, el sexo y la edad de los pacientes estudiados son variables netamente independientes. Un grupo de 13 niños (21,67%) de sexo masculino presentó niveles de tioles en el rango de 310 - 400 $\mu\text{mol/l}$; igualmente, una cantidad similar de niños (21,67%), aunque del sexo femenino mostró los niveles más altos de tioles en sangre 410 - 670 $\mu\text{mol/l}$ (Anexo 4 y 5). La distribución de las concentraciones de grupos tioles en pacientes con relación a su sexo fue homogénea. Aunque la asociación no es significativa, se puede observar que los niños con mayores niveles de grupos tioles se encuentran en el grupo de edades 8-10 años.

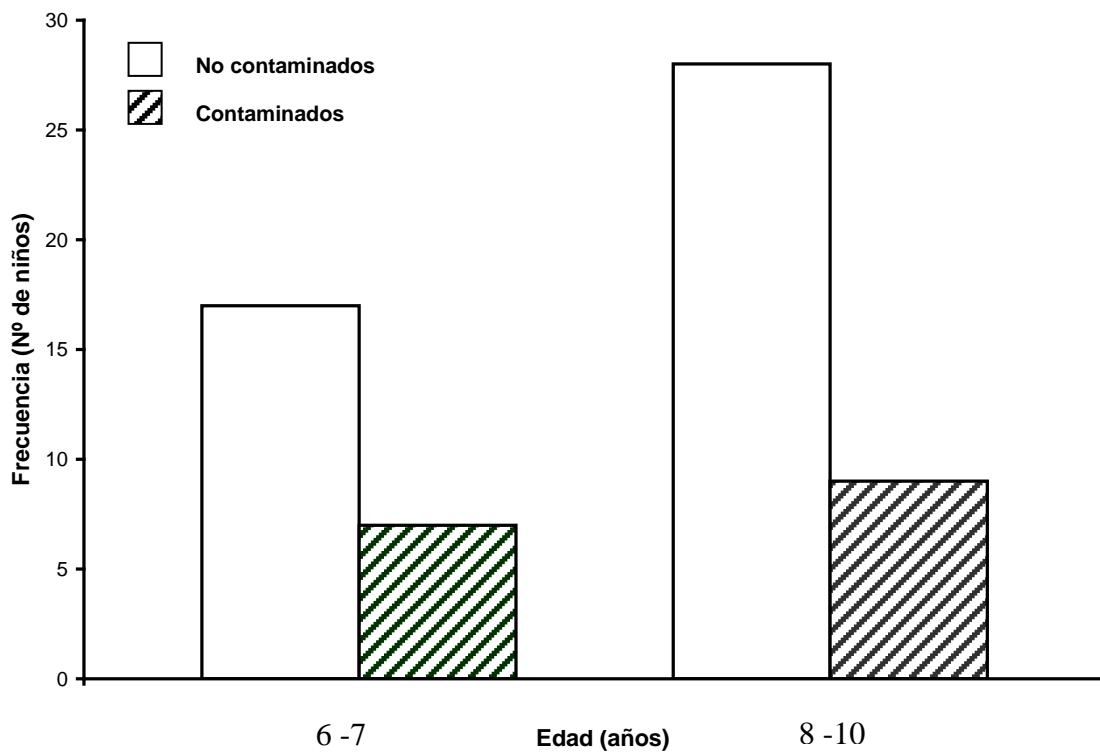


Figura 3. Distribución de la edad según la concentración de mercurio en los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

Cuando se comparan los resultados de los niños de las dos escuelas donde se realizó el estudio, los datos obtenidos muestran uniformidad con respecto a los niveles de Hg, -SH y proteínas. A pesar de no mostrar diferencias significativas en los análisis estadísticos, se pudo evidenciar que en la escuela La Trinidad se presentó un mayor número de casos de niños con niveles de tioles entre 410 - 670 $\mu\text{mol/l}$, mientras que los niños de la escuela Federal Sucre presentaron niveles entre 310 - 400 $\mu\text{mol/l}$ (Anexo 6).

Relación de los parámetros determinados y el consumo de pescado

De forma general, los resultados del análisis de Chi-cuadrado con respecto a los niveles de tioles y la ingesta de pescado no muestran asociación significativa, aunque existe un franco predominio de niños consumidores de pescado (88,33%), con valores de tioles en sangre entre 310 a 670 $\mu\text{mol/l}$ (Anexo 7). Esta población presentó una alta incidencia (al menos una vez por semana) en el consumo de productos del mar tales como: atún (20%), sardina (20%), catalana (15%), cororoco (15%), pepitonas (10%), camarón (13%) y mariscos (5%) (Figura 4). Adicionalmente, estos niños presentaron intervalos de valores de proteínas de 7,0 - 8,0 g/dl y grupos sulfhidrilos de 310 - 400 $\mu\text{mol/l}$. De igual manera, se observa que la mayor cantidad de los no consumidores presentaron niveles de tioles más altos (410 - 670 $\mu\text{mol/l}$).

Los resultados del análisis de Chi-cuadrado para cada uno de estos alimentos muestran ausencia de significancia estadística entre las variables estudiadas (Anexos 8, 9, 10 y 11). Adicionalmente, y en forma general, se evidencia que los niños encuestados expresaron no ser consumidores masivos de productos marinos como la pepitona, camarón y mariscos (Anexos 12, 13 y 14); alimentos caracterizados por ser bio-concentradores de metales pesados (Rojas *et al.*, 2004).

La cercanía de nuestra ciudad al mar propicia que los hábitos alimenticios de sus pobladores tengan como fuente principal de proteínas a los peces. En este contexto, se ha demostrado en distintas publicaciones que una de las principales fuentes de contaminación por mercurio es el consumo de pescado. Shrestha *et al* (1988) determinaron los niveles de mercurio en 63 especies de peces capturados en la línea costera cercana a la ciudad de Cumaná, reportando valores promedio de 0,09 $\mu\text{g/g}$ en tejido, encontrándose 7 especies con concentraciones de mercurio elevadas ($> 0,10 \mu\text{g/g}$) y el resto con promedios menores a 0,08 $\mu\text{g/g}$. Las mayores concentraciones de mercurio fueron estimadas en la lisa (*Mugil curema*) de 0,04 $\mu\text{g/g}$ y Tajalí (*Trichiurus lepturus*) 0,19 $\mu\text{g/g}$. Silva (1999) reportó valores para el atún listado (*Katsuwonus pelamos*) y aleta amarilla (*Thunnus albacares*) entre 0,09 - 1,20 y 0,06 - 1,00 $\mu\text{g/g}$ de masa seca, respectivamente. Adicionalmente, en un estudio realizado en la ciudad de Mérida demostró que peces expendidos en su mercado y provenientes del oriente del país promediaban valores elevados de dicho metal (Marcano y Rosa-Trocons, 2001).

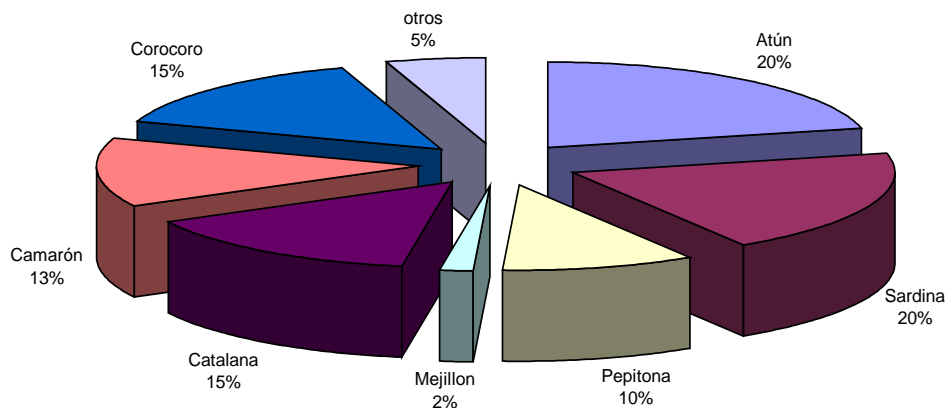


Figura 4. Frecuencia del consumo de organismos marinos en niños con concentraciones de mercurio ($>5 \mu\text{g/l}$) pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

Posible sintomatología

En general, según los síntomas reportados en la encuesta, se puede observar claramente que el grupo de los niños con niveles de Hg mayores a 3,0 $\mu\text{g/l}$ y tioles en sangre de 410 - 670 $\mu\text{mol/l}$ fueron los que presentaron mayormente tos. Además, los niños evaluados expresaron no presentar problemas diarreicos (80,00%), aunque si se evidencia predominio de pacientes con ausencia de pérdida de peso (80,00%). Los escolares encuestados que presentaron bajos niveles de Hg expresaron no sufrir de dolor de cabeza (63,33%), ni tener problemas en la visión (76,67%). Aunque, una cantidad mínima de niños (20%) presentó afecciones visibles en la piel (Anexos 15, 16, 17, 18, 19 y 20).

Son pocos los trabajos que documentan la relación existente entre los niveles de tioles y la posible aparición de alguna manifestación clínica en el individuo expuesto a metales pesados. En este contexto, se ha sugerido que la frecuencia de los síntomas depende directamente del nivel de intoxicación de la persona, así como de la magnitud y el tiempo de exposición (Schettler, 2001; Counter, 2003; Vicente *et al.*, 2004).

Los estudios realizados por la Academia Nacional de Ciencias (2000) refieren que la etapa infantil es especialmente vulnerable a la exposición a altos niveles de Hg, y sus efectos nocivos en particular conllevan a toxicidad neurológica y renal. Klaassen (1996) encontró que la intoxicación por Hg produce trastornos neurológicos que pueden dañar de forma permanente el sistema nervioso central (parálisis cerebral) y retraso en el crecimiento de los niños. Es posible, que los niveles de Hg encontrados en este estudio no fueron suficientemente tóxicos para llegar a desarrollar en los niños los síntomas característicos de la intoxicación por este metal.

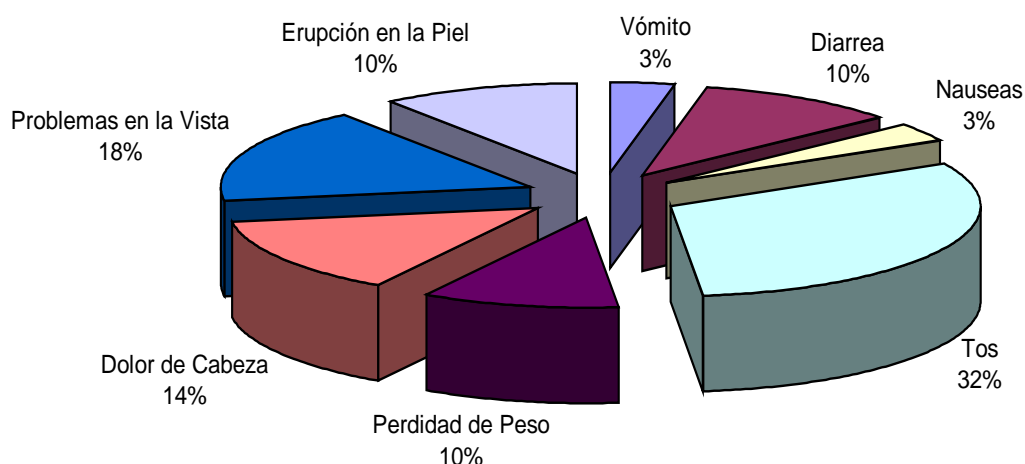


Figura 5. Síntomas más frecuentes en niños con concentraciones de mercurio (>5 µg/l) pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

No obstante, las variaciones en los niveles de grupos sulfhidrilos y proteínas séricas en niños con elevados niveles de Hg, probablemente se relacione con una condición de estrés químico provocado por las concentraciones altas del metal. La sensibilidad de los marcadores bioquímicos evaluados los convierte en señales de alarma importantes, que podrían ser implementadas como pruebas adicionales para diagnosticar efectos tóxicos por exposición a metales pesados en humanos. Es posible que el incremento de proteínas totales forme parte de una respuesta compensatoria autoprotectiva ante la presencia del metal incorporado en sangre, y que la reducción de grupos tioles sea una indicación de una alteración molecular que podría conducir a aminorar la capacidad antioxidante total en niños con elevados niveles de Hg.

Es importante indagar sobre otras posibles fuentes de contaminación por Hg en nuestra ciudad para poder plantear los planes correctivos. Adicionalmente, es necesario realizar estudios para evaluar posibles alteraciones neurológicas, pruebas psicomotoras y de aprendizaje para relacionarlas con las concentraciones de Hg en sangre en los niños. Es importante tomar medidas preventivas contra posibles focos de contaminación con otros metales tóxicos.

CONCLUSIONES

El 27% de los casos estudiados presentaron valores de Hg en sangre por encima de lo establecido por la Organización Mundial de la Salud (5 µg/l).

El incremento de proteínas totales en el suero de los niños con niveles de Hg mayores a 5 µg/l parece formar parte de un mecanismo de captación y/o protección en presencia del metal.

La disminución de las concentraciones de los grupos tioles en los niños con niveles de Hg mayores a 5 µg/l puede estar asociada a interacciones entre el metal y los -SH, condición que podría conllevar a posibles perturbaciones en la capacidad antioxidante.

No se encontró relación entre la concentración de Hg en sangre y los productos del mar (peces y mariscos) que consumían los niños.

RECOMENDACIONES

Es conveniente realizar un estudio con un mayor universo de niños y evaluar posibles alteraciones neurológicas, parámetros como talla y peso, pruebas de aprendizaje y relacionarlas con las concentraciones de Hg en sangre.

Es necesario hacer una evaluación para determinar la fuente de Hg en los niños de la parroquia Ayacucho, incluyendo la determinación de metal en las madres.

Es importante seguir realizando estudios para evaluar posibles alteraciones neurológicas, pruebas psicomotoras y de aprendizaje para relacionarlas con las concentraciones de Hg en sangre en los niños contaminados.

BIBLIOGRAFÍA

Agusa, T.; Kinoto, T.; Iwata, H.; Monirith, T.; Tana T.; Subramanian A. y Tanabe, S. 2005. Mercury contamination in human hair and fish from Cambodia: levels, specific accumulation and risk assessment. *Environ. Pollut.*, 134(1): 79-86.

Arias, I. 1976. Glutathione: Metabolism and functions. New York: Krok Foundation Series, 6: 1.

Apostoli, P.; Mangili, A. y Alessio, L. 2003. Significance of biological indicators of mercury exposure. *Med. Lav.*, 94(2): 231-241.

Balcells, A. 1997. La clínica y el laboratorio. Catorceava edición. Editorial Marín. Madrid.

Barltrop, D. y Smith, A. 1973. Mercury binding to human haemoglobin. *Experiencia*, 29(9): 1178.

Biswas, S.; Chida, S. y Rahman, I. 2006. Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochem. Pharmacol.*, 71(5): 551-564.

Brandao, R.; Santos, F.; Farina, M.; Zeni, G.; Bohrer, D.; Rocha, J. y Nogueira, C. 2006. Antioxidants and metallothionein levels in mercury-treated mice. *Cell. Biol. Toxicol.*, 22(6): 429-438.

Brown, J. y Shockley, P. 1982. Serum albumin: structure and characterization of its ligand binding sites, en: *Lipid-Protein Interactions*. Jots, P. y Griffith, O. (eds.). New York.

Burbure, C.; Buchet, J.; Leroyer, A.; Nisse, C.; Haguenoer, J. y Mutti, A. 2006. Renal and neurologic effects of cadmium, lead, mercury, and arsenic in children: evidence of early effects and multiple interactions at environmental exposure levels, *Environ. Health. Perspect.*, 114: 584-590.

Carta, P.; Flore, C.; Alinovi, R.; Ibba, A.; Tocco, M.; Aru, G.; Carta, R. y Girei, E. 2003. Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *Neurotoxicology*, 4(5): 617-623.

Castillo, J. y Fernández, A. 1990. Análisis de elementos traza metálicos. *Soc. Venez. Quím.*, 13(4): 21-23.

Chasseaud, L. 1973. The nature and distribution of enzymes catalyzing the conjugation of GSH with foreign compounds. *Drug. Method. Rev.*, 2: 185-189.

Chen, C.; Qu, L.; Li, B.; Xing, L.; Jia, G.; Wang, T.; Gao, Y.; Zhang, P.; Li, M.; Chen, W. y Chai, Z. 2005. Increased oxidative DNA damage, as assessed by urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine concentrations, and serum redox status in persons exposed to mercury. *Clin. Chem.*, 51(4): 759-767.

Cochran, W. 1985. *Técnicas de muestreo*. Editorial Continental, segunda Edición. México.

Counter, S. 2003. Neurophysiological anomalies in brainstem responses of mercury exposed children of Andean gold miners. *J. Occup. Environ. Med.*, 45(1): 87-95.

Counter, S. y Buchaman, L. 2004. Mercury exposure in children: a review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 198(2): 209-230.

Dabeka, R.; McKenzie, A. y Bradley, P. 2003. Survey of total mercury in total diet food composites and estimation of dietary intake of mercury by canadian adults and children. *Food Addit. Contam.*, 20(7): 629-638.

Dabeka, R.; McKenzie, A.; Forsyth, D. y Conacher, H. 2004. Survey of total mercury in some edible fish and shellfish species collected in Canada in 2002. *Food Addit. Contam.*, 21: 434-440.

Dalle-Donnea, I.; Giustarini, D.; Colombo, R.; Milzania, A. y Rossi, R. 2005. S-glutathionylation in human platelets by a thiol-disulfide exchange-independent mechanism. *Free Rad. Biol. Med.*, 38: 1501-1510.

Davidson, P.; Myers, G. y Weiss, B. 2004. Mercury exposure and child development outcomes. *Pediatrics*, 113(4): 1023-1029.

Davis S. y Cousins, R. 2002. Metallothionein expression in animals: a physiological perspective on function. *J. Nutr.*, 130: 1085-1088.

Dorea, J.; Barbosa, A.; Ferrari, I y De Souza, J. 2003. Fish consumption, hair mercury and nutritional status of Amazonian Amer-India children. *Rev. Environ. Toxicol.*, 6: 63-70.

Ellman, G. 1959. Quantitative determination of peptides by sulfhydryl (-SH) groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82: 70-77.

Fang, S. y Fallin, E. 1976. The binding of various mercurial compounds to serum proteins. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 15(1): 110-117.

Farid, K.; Norhayate, I.; Pauzi, Y. y Majidkhan, G. 1998. Effect of tetrakis- μ -3,5-di-isopropylsalicylatodiaquodicopper (II) and sodium gold (I) thiomalate (Myocrisin) on the metabolism of plasma thiol in the rheumatoid arthritis patients and volunteer human blood. *J. Inorg. Chem. China.*, 14: 29-39.

Friedman, M. 1973. The chemistry and biochemistry of the sulphhydryl group in amino acids, peptides and proteins, Isted., Pergamon press, New York.

García, E. y Salazar, R. 2003. A peptide is a major binding of cadmium in *Acetabularia calyculus*. *Environ. Cont. Bull.*, 7: 98-105.

Gray, J.; Theodoratos, P.; Bailey, E. y Turner, R. 2000. Distribution, speciation, and transport of mercury in stream-sediment, stream-water, and fish collected near abandoned mercury mines in southwestern Alaska, USA. *Sci. Total. Environ.*, 1(3): 21-33.

Golman, L.; Shannon, M. y Weiss, B. 2001. The committee on environmental health. Mercury in the environment: Implications for pediatricians. Technical report. *Pediatrics*, 108: 197-205.

Goyer, R. 1996. Toxic effects of metals. *Basic Sci. Poisons*, 14: 691-736.

Goyer, R. 1997. Toxic and essential metal interactions. *Ann. Rev. Nut.*, 17: 37-50.

Hamer, D. 1986. Metallothioneins. *Ann. Rev. Biochem.*, 55: 913-951.

Hernández, A. 2006. Metalotioneínas y lipoperoxidación en la lombriz de tierra *Eisenia foetida* expuesta a cadmio. Tesis de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná. Venezuela.

Hightower, J. y Moore, D. 2003. Mercury levels in high-end consumers of fish. *Environ. Health Perspec.*, 111(4): 604-608.

Hultberg, B.; Andersson, A. y Isaksson, A. 1998. Alterations of thiol metabolism in human cell lines induced by low amounts of copper, mercury or cadmium ions. *Toxicology*, 126(3): 203-212.

Hultberg, B.; Andersson, A. y Isaksson, A. 2001. Interaction of metals and thiols in cell damage and glutathione distribution: potentiation of mercury toxicity by dithiothreitol. *Toxicology*, 156(2-3): 93-100.

Hurd, T.; Costa, N.; Dahm, C.; Beer, S.; Brown, S.; Filipovska, A. y Murphy, M. 2005. Glutathionylation of mitochondrial proteins. *Antioxid. redox signal.* 7(7-8): 99-1010.

Hylander, L. y Meili, M. 2003. 500 years of mercury production: global annual inventory by region until 2000 and associated emissions. *Sci. Total Environ.*, 304(1-3): 13-27.

Ip, P.; Wong, V.; Ho, M.; Lee, L. y Wong, W. 2004. Mercury exposure in children with autistic spectrum disorder: case-control study. *J. Child. Neurol.*, 19(6): 431-434.

Jarup, L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *Br. Med. Bull.*, 68: 167-182.

Johnson, C. 2004. In the environment: sources, toxicities, and prevention of exposure. *Pediatr. Ann.*, 33(7): 437-442.

Kagi, J. y Schäffer, A. 1988. Biochemistry of metallothioneins. *Perspect. Biochem.*, 27(23): 8509-8515.

Kent, C. 1998. Basics of toxicology preserving the legacy. John Wiley and Sons, Inc. New York.

Klaassen, C. 1996. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons, 5th edition. New York: MacMillan Publishing Company.

Kondoh M.; Kamada K.; Kuronaga, M.; Higashimoto M.; Takiguchi M.; Watanabe, Y. y Sato, M. 2003. Antioxidant property of metallothionein in fasted mice. *Toxicol. Letters*, 143(3): 301-306.

Kurland, L.; Faro, S. y Siedler, H. 1960. Minamata disease. The outbreak of a neurologic disorder in Minamata, Japón, and its relationship to the ingestión of seafood contaminated by mercury compounds. *World Neurol.*, 1: 370-395.

Lau, S. y Sarkar, B. 1979. Inorganic mercury (II)-binding components in normal human blood serum. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 5: 907-916.

Lash, L. y Jones, D. 1985. Distribution of oxidized and reduced forms of glutathione and cysteine in rat plasma. *Arch. Biochem. Biophys.*, 240: 583-592.

Lee, W. y Lee, M. 2005. Mercury concentrations in scalp hair as an environmental contamination index from foods in Korea. *Environ. Pollut.* 134(1): 79-86.

Louie, A. y Meade, T. 1999. Metal complexes as enzyme inhibitors. *Chem. Rev.*, 99: 2711-2734.

Mahaffey, K.; Clickner, R. y Bodurow, C. 2004. Blood organic mercury and dietary mercury intake: National health and nutrition examination survey, 1999 and 2000. *Environ. Health. Perspect.*, 112(5): 562-570.

Morrisette J.; Takser, L.; St-Amour, G.; Smargaiassi, A.; Lafond, J. y Mergler, D. 2007. Temporal variation of blood and hair levels in pregnancy in relation to fish consumption history in a population living along the St. Lawrence River. *Environ. Res.*, 95(3): 363-374.

Nacional Academy of Science. 2000. Toxicologic effects of methylmercury. *Nacional research council*. Washington, DC.

Nierenberg, D.; Nordgren, K.; Chang, M.; Siegler, R.; Blayney, M. y Hochberg, F. 1998. Delayed cerebellar disease and death after accidental exposure to methylmercury. *N. Engl. J. Med.*, 338(23): 1672-1676.

Nordberg, M. y Nordberg, G.F. 2000. Toxicological aspects of metallothionein. *Cell.Mol. Biol.*, 46(2): 451-463.

Nriagu, J. 1996. A history of global metal pollution. *Science*, 272: 223-224.

Nusetti, O. y Zapata, E. 2005. Producción de oxiradicales en animales: modulación por temperatura, oxigenación y contaminantes.- defensas antioxidantes. En: Fundamentos y Técnicas de ecofisiología oxidativa en organismos acuáticos. Maeda-Martínez, A (Ed). CIBNOR y CYTED, Editorial LIMUSA, la Paz México.

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

Olivieri, G.; Savaskan, E.; Meier, F.; Brydon, I.; Jockerss, R. y Ravid, R. 2002. Increased melatonin 1a-receptor immunoreactivity in the hippocampus of Alzheimer`s disease patients. *J. Pineal Res.*, 32: 59-62.

Palmitier R. 1998. The elusive function of metallothionein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 95: 8428-8430.

Pandey, S.; Asthana, R.; Kavastha, A; Singh, N. y Singh, S. 1999. Metal uptake and thiol production in *spirodela poliriza* (L). SPZO. *J. Plant. Physiol.*, 154: 634-640.

Passos, C.; Mengler, D.; Lemire, M.; Fillion, M. y Guimaraes, J. 2007. Fish consumption and bioindicators of inorganic mercury exposure. *Sci. Total Environ.* 373(1): 68-76.

Pendergrass, D.; Srinivasan, J.; Clark, E. y Kumar, K. 1999. Glutathione redox status in the human cell line, A549, following intracellular glutathione depletion and extracellular glutathione addition. *Toxicol substance mechanisms*, 18(1): 11-20.

Perkin Elmer. 1996. Operators manual mercury hydride system. Bodenseewerk Perkin Elmer y Co GMBH/Uberlinger.

Perkins, D. 1961. Studies on the interaction of zinc, cadmium and mercuric ions with native and chemically modified human serum albumin. *Biochem. J.* 80: 668-672.

Rahman, M.; Vandingenen, A. y De Ley, M. 2000. Metallothionein biosynthesis in human RBC precursors. *Cell. Physiol. Biochem.*, 10(4): 237-242.

Revelant, V. 1990. Oligoelementos en la alimentación parenteral total. *Acta Cient. Venez.*, 41: 171-176.

Röesijadi, G. 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.*, 22: 81-113.

Rojas, L.; Chang, I.; Agard, J.; Bekele, I. y Hubbard, R. 2004. Heavy metals in green mussel (*Perna viridis*) and oysters (*Crassostrea* Sp.) from Trinidad and Venezuela. *Arch. Environ. Contain, Toxicol.*, 42(4): 410-415.

Rubino, F.; Verduci, C.; Giampiccolo, R.; Pulvirenti, S.; Brambilla, G. y Colombi, A. 2004. Characterization of the disulfides of bio-thiols by electrospray ionization and triple-quadrupole tandem mass spectrometry. *J. Mass. Spectrom.*, 39(12): 1408-1416.

Ryaboshapko, A.; Bullock, R.; Ebinghaus, R.; Ilyin, I.; Lohman, K.; Munthe, J.; Petersen, G.; Seigneur, C. y Wängberg, I. 2002. Comparison of mercury chemistry models. *Atmosph. Environ.*, 36: 3881-3898.

Schober, S.; Links, T.; Jones, R.; Bolger, P.; McDowell, M. y Osterloh, J. 2003. Blood mercury levels in US children and women of childbearing age, 1999-2000. *JAMA*, 289(13): 1667-1674.

Schurz, F.; Sabater-Vilar, M. y Fink-Gremmels, J. 2000. Mutagenesis of mercury chloride and mechanisms of cellular defence: the role of metal-binding proteins. *Mutagenesis*, 15(6): 525-530.

Sedlak, L. 1968. Determination of total sulfhydryl groups in biological samples using DTNB. *Anal. Biochem.*, 25: 192-205.

Shrestha, K. y Fornerino, I. 1987. Hair mercury content among residents of Cumaná, Venezuela. *Sci. Total Environ.*, 13 (63): 77-81.

Shrestha, K.; Noguera, R.; Chopite, J. y Sosa, P. 1988. Mercury content of some marine fish from the southern Caribbean sea. *Sci. Total Environ.*, 73(3): 181-187.

Schettler, L. 2001. Toxic threats to neurologic development of children. *Environ Health Perspect.*, 109(6): 813-816.

Siblerud, 1990. The relationship between mercury from dental amalgam and the cardiovascular system. *Sci. Total Environ.*, 1(99): 23-25.

Silbergeld, E. K. 2000. Toxicología: herramientas y enfoques. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo.

Silva, O. 1999. Determinación de mercurio, cadmio, cobre y zinc en el músculo del atún listado *Katsuwonus pelamis* (Linnaeus, 1758) y aleta amarillo *Thunnus albacares* (Bonaterre, 1758) capturados en los océanos Atlántico y Pacífico. Tesis de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná. Venezuela.

Silva, I.; Nyland, J.; Goman, A.; Perisse, A.; Ventura, A.; Santos, C.; de Souza, J.; Bureo, C.; Rose, N. y Silbergeld, E. 2004 Mercury exposure, malaria, and serum antinuclear/antinucleolar antibodies in amazon populations in Brazil: a cross-sectional study. *Environ. Health*, 3(11): 1-12.

Sokal, R. y Rohlf. 1981. Biometría: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Blume, Madrid, España.

Solis-Carini, R. 2007. "Estrés oxidativo: un nuevo factor de riesgo de salud". <http://www.revistanatural.com> (12/02/2008).

Spalding, M.; Frederick, P.; McGill, H.; Bouton, S.; Richey, L.; Schumacher, I.; Blackmore, C. y Harrison, J. 2000. Histologic, neurologic, and immunologic effects of methylmercury in captive great egrets. *J. Wild. Dis.*, 36: 423-435.

Suzuki, T. 1998. Advances in mercury toxicology. *Plenum Press*, 45: 483.

Sweet, L. y Zelikoff, J. 2000. Toxicology and immunotoxicology of mercury: A comparative review in fish and humans. *J. Toxicol. Environ. Health*, 4: 161-205.

Taylor, E. 1999. Mercury, mining y mayhem: slow death in the Amazon. *Drillbits y Tailings*, 4:10-11.

Vicente, E.; Boer, M.; Leite, M., Silva, M.; Tramontina, F.; Porciuncula, L.; Dalmaz, C. y Goncalves, C. 2004. Organic mercury problem affecting intrauterine life. *Neurotoxicology*, 25(5): 771-777.

Wan, Q.; Kim, D.; Dionysiou, D.; Sorial, G. y Timberlake, D. 2004. The sources and remediation for the contamination of the mercury in aquatic system. *Environ. Pollut.*, 131(2): 323-336.

Weed, R.; Eber, J. y Rothstein, A. 1962. Interaction of mercury with human erythrocytes. *J. Gen. Physiol.*, 45: 395-410.

Weiss, J; Trip, L. y Mahaffey, K. 1999. Human exposures to inorganic mercury. *Public. Health. Rep.*, 114(5): 400-401.

Weiss, B. 2007. Why methylmercury remains a conundrum 50 years after Minata. *Toxicol. Sci.*, 97(2): 223-225.

WHO. 1999. Methylmercury, environmental health criteria 101: Geneva.

Zalups, R. y Barfuss, D. 1990. Accumulation of inorganic mercury along the renal proximal tubule of the rabbit. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 106: 245-253.

Zalups, R. y Barfuss, D. 1998. Participation of mercuric conjugates of cysteine, homocysteine and N-acetylcysteine in mechanisms involved in the renal tubular uptake of inorganic mercury. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 9: 551-561.

Zalups, R. 2000. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacol. Rev.*, 25(1): 113-143.

Zalups, R. y Barfuss, D. 2002. Renal organic anion transport system: a mechanism for the basolateral transport of mercury-thiol conjugates along the pars recta of the proximal tubule. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 182: 234-243.

Zalups, R. ; Koropatnick, J. y Joshee, L. 2007. Mouse monocytes (Raw cells) and the handling of cysteine and homocysteine S-conjugates of inorganic and methylmercury. *Toxicol. Environ. Health*, 70(10): 799-809.

Zambrano, B. 2004. Consideraciones generales sobre el mercurio, el timerosal, y su uso en vacunas pediátricas. *Rev. Med. Uruguay*, 20: 4-11.

ANEXO

Anexo1

ENCUESTA

Fecha: _____

N° _____

Apellidos y nombres del niño _____

Edad: _____ Sexo: M _____ F _____ Grado: _____

Escuela _____

Dirección _____

El niño come:

Pescado: SI () NO ()

Carne: SI () NO ()

Pollo: SI () NO ()

Cuántos días a la semana come pescado: _____

Cuántas veces al día come pescado: _____

Que tipo de pescado y productos del mar come con más frecuencia:

Atún () Sardina () Pepitona () Mejillones () Catalana ()

Camarón () Corocoro ()

Otros _____

Su hijo sufre de: Vómitos: SI () NO ()

Diarrea: SI () NO ()

Náuseas: SI () NO ()

Tos: SI () NO ()

Dolor de cabeza: SI () NO: ()

Pérdida de peso: SI () NO ()

Problemas en la vista: SI () NO: ()

Erupciones en la piel: SI () NO: ()

ANEXO 2

Consentimiento valido

Bajo la coordinación de los profesores Luisa Rojas y Edgar Zapata, se esta realizando el proyecto de investigación titulado: “RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE PROTEÍNAS TOTALES Y GRUPOS TIOLES, CON LOS NIVELES DE MERCURIO EN SANGRE, EN NIÑOS DE 6 A 10 AÑOS PERTENECIENTES A DOS ESCUELAS DE LA PARROQUIA AYACUCHO, CUMANÁ, VENEZUELA”.

Yo: _____

C.I: _____ Nacionalidad _____

Estado civil: _____ Domiciliado en: _____

Siendo mayor de 18 años, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconveniente y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante el 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 intitulado: “RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE PROTEÍNAS TOTALES Y GRUPOS TIOLES, CON LOS NIVELES DE MERCURIO EN SANGRE, EN NIÑOS DE 6 A 10 AÑOS PERTENECIENTES A DOS ESCUELAS DE LA PARROQUIA AYACUCHO, CUMANÁ, VENEZUELA”.
2. Tener conocimiento claro que el objetivo del trabajo es: Relacionar las concentraciones de proteínas totales y grupos tioles, con los niveles de mercurio en sangre, en niños de 6 a 10 años pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho Cumaná, Venezuela”.
3. Conocer bien el Protocolo Experimental expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra de sangre de mí representado, tomada por el investigador del proyecto.
4. Que la muestra de sangre que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para determinar las concentraciones de proteínas totales y grupos tioles, y su relación con los niveles de mercurio en sangre, en niños de 6 a 10 años pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.
5. Que el equipo de personas que realizan esta investigación coordinada por los profesores Luisa Rojas y Edgar Zapata, me han garantizado confidencialidad relacionada

tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de 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 cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo antes mencionado, con quienes me puedo comunicar por el teléfono: 02934315134, Mildred Barreto.

9. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de 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 es totalmente 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 la muestra de sangre venosa 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 algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del voluntario _____

Nombre y Apellido _____

C.I: _____

Lugar _____

Fecha _____

Firma del testigo _____ Firma del testigo _____

Nombre y Apellido _____ Nombre y Apellido _____

Lugar _____ Lugar _____

Fecha _____ Fecha _____

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante el 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 o Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el proyecto Relación entre las concentraciones de proteínas totales y grupos tiales, con los niveles de mercurio en sangre, en niños de 6 a 10 años pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela”.

Nombre: _____

Lugar y fecha: _____

Anexo 3. Asociación entre los niveles de tioles totales y las concentraciones de mercurio en los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela. Los datos representan el número de personas y entre paréntesis el porcentaje.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	< 5 μg de Hg/l	> 5 μg de Hg/l	Total por filas
200 - 300	5 (8,33%)	7 (11,67%)	12 (20,00%)
310 - 400	18 (30,00%)	5 (8,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	21 (35,00%)	4 (6,67%)	25 (41,67%)
Total por columnas	44 (73,33%)	16 (26,67%)	60 (100,00%)

$\chi^2 = 7,89$ *; $\chi^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 4. Asociación entre los niveles de tioles y el sexo de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	Femenino	Masculino	Total por filas
200 - 300	6 (10,00%)	6 (10,00%)	12 (20,00%)
310 - 400	10 (16,67%)	13 (21,67%)	23 (38,33%)
410 - 670	13 (21,67%)	12 (20,00%)	25 (41,67%)
Total por columnas	29 (48,33%)	31 (51,67%)	60 (100,00%)

$\chi^2 = 0,37$ NS; $\chi^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 5. Asociación entre los niveles de tioles y la edad de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	6 – 7 años	8 – 10 años	Total por filas
200 - 300	6 (10,00%)	6 (10,00%)	12 (20,00%)
310 - 400	9 (15,00%)	14 (23,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	9 (15,00%)	16 (26,67%)	25 (41,67%)
Total por columnas	24 (40,00%)	36 (60,00%)	60 (100,00%)

$\chi^2 = 0,67$ NS; $\chi^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 6. Asociación entre los niveles de tioles y las escuelas muestreadas.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	Federal Sucre	Trinidad	Total por filas
200 - 300	7 (11,67%)	5 (8,33%)	12 (20,00%)

310 - 400	14 (23,33%)	9 (15,00%)	23 (38,33%)
410 - 670	9 (15,00%)	16 (26,67%)	25 (41,67%)
Total por columnas	30 (50,00%)	30 (50,00%)	60 (100,00%)

$X^2 = 3,38$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 7. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de pescado de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	2 (3,33%)	10 (16,67%)	12 (20,00%)
310 - 400	2 (3,33%)	21 (35,00%)	23 (38,33%)
410 - 670	3 (5,00%)	22 (36,67%)	25 (41,67%)
Total por columnas	7 (11,67%)	53 (88,33%)	60 (100,00%)

$X^2 = 0,49$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 8. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de atún de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	3 (5,00%)	9 (15,00%)	12 (20,00%)
310 - 400	4 (6,67%)	19 (31,67%)	23 (38,33%)
410 - 670	7 (11,67%)	18 (30,00%)	25 (41,67%)
Total por columnas	14 (23,33%)	46 (76,67%)	60 (100,00%)

$X^2 = 0,78$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 9. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de sardina de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	3 (5,00%)	9 (15,00%)	12 (20,00%)
310 - 400	8 (13,33%)	15 (25,00%)	23 (38,33%)
410 - 670	12	13	25

	(20,00%)	(21,67%)	(41,67%)
Total por columnas	23	37	60
	(38,33%)	(61,67%)	(100,00%)

$X^2 = 2,01$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 10. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de catalana de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	4 (6,67%)	8 (13,33%)	12 (20,00%)
310 - 400	9 (15,00%)	14 (23,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	12 (20,00%)	13 (21,67%)	25 (41,67%)
Total por columnas	25 (41,67%)	35 (58,33%)	60 (100,00%)

$X^2 = 0,82$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 11. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de corocoro de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	5 (8,33%)	7 (11,67%)	12 (20,00%)
310 - 400	6 (10,00%)	17 (28,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	10 (16,67%)	15 (25,00%)	25 (41,67%)
Total por columnas	21 (35,00%)	39 (65,00%)	60 (100,00%)

$X^2 = 1,31$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 12. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de pepitona de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	8 (13,33%)	4 (6,67%)	12 (20,00%)
310 - 400	11 (18,33%)	12 (20,00%)	23 (38,33%)
410 - 670	19 (31,67%)	6 (10,00%)	25 (41,67%)
Total por columnas	38 (63,33%)	22 (36,67%)	60 (100,00%)

$X^2 = 4,17$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 13. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de camarón de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	5 (8,33%)	7 (11,67%)	12 (20,00%)
310 - 400	15 (25,00%)	8 (13,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	20 (33,33%)	5 (8,33%)	25 (41,67%)
Total por columnas	40 (66,67%)	20 (33,33%)	60 (100,00%)

$X^2 = 5,40$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 14. Asociación entre los niveles de tioles y la ingesta de mariscos de los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	5 (8,33%)	7 (11,67%)	12 (20,00%)
310 - 400	8 (13,33%)	15 (25,00%)	23 (38,33%)
410 - 670	16 (26,67%)	9 (15,00%)	25 (41,67%)
Total por columnas	29 (48,33%)	21 (51,67%)	60 (100,00%)

$X^2 = 4,36$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 15. Asociación entre los niveles de tioles y la presencia de tos en los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	4 (6,67%)	8 (13,33%)	12 (20,00%)
310 - 400	12 (20,00%)	11 (18,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	9 (15,00%)	16 (26,67%)	25 (41,67%)
Total por columnas	25 (41,67%)	35 (58,33%)	60 (100,00%)

$X^2 = 1,72$ NS; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 16. Asociación entre los niveles de tioles y la presencia de diarreas en los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	10 (16,67%)	2 (3,33%)	12 (20,00%)
310 - 400	18 (30,00%)	5 (8,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	20 (33,33%)	5 (8,33%)	25 (41,67%)
Total por columnas	48 (80,00%)	12 (20,00%)	60 (100,00%)

$X^2 = 0,13 \text{ NS}; X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 17. Asociación entre los niveles de tioles y la presencia de pérdida de peso en los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No l	Si	Total por filas
200 - 300	10 (16,67%)	2 (3,33%)	12 (20,00%)
310 - 400	18 (30,00%)	5 (8,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	20 (33,33%)	5 (8,33%)	25 (41,67%)
Total por columnas	48 (80,00%)	12 (20,00%)	60 (100,00%)

$X^2 = 0,13 \text{ NS}; X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 18. Asociación entre los niveles de tioles y la presencia de dolor de cabeza en los pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	6 (10,00%)	6 (10,10%)	12 (20,00%)
310 - 400	15 (25,00%)	8 (13,33%)	23 (38,33%)
410 - 670	17 (28,33%)	8 (13,33%)	25 (41,67%)
Total por columnas	38 (63,33%)	22 (36,67%)	60 (100,00%)

$X^2 = 1,19 \text{ NS}; X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 19. Asociación entre los niveles de tioles y la presencia de problemas en la vista en los pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	9 (15,00%)	3 (5,00%)	12 (20,00%)
310 - 400	17 (28,33%)	6 (10,00%)	23 (38,33%)
410 - 670	20	5	25

	(33,33%)	(8,33%)	(41,67%)
Total por columnas	46	14	60
	(76,67%)	(23,33%)	(100,00%)

$\chi^2 = 0,27$ NS ; $\chi^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 20. Asociación entre los niveles de tioles y la presencia de erupciones en la piel en los niños pertenecientes a dos escuelas de la parroquia Ayacucho, Cumaná, Venezuela.

-SH ($\mu\text{mol/l}$)	No	Si	Total por filas
200 - 300	9	3	12
	(15,00%)	(5,00%)	(20,00%)
310 - 400	18	5	23
	(30,00%)	(8,33%)	(38,33%)
410 - 670	21	4	25
	(35,00%)	(6,67%)	(41,67%)
Total por columnas	48	12	60
	(80,00%)	(20,00%)	(100,00%)

$\chi^2 = 0,48$ NS ; $\chi^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Este trabajo tuvo como objetivo determinar la concentración de mercurio (Hg), valores de proteínas totales (PT) y grupos tioles (-SH) sanguíneos en 60 niños con edades comprendidas entre 6 a 10 años, de ambos sexos, pertenecientes a dos escuelas seleccionadas al azar de Cumaná, Venezuela. Adicionalmente, a cada niño con su representante, se le aplicó una encuesta para recopilar información demográfica, datos clínicos y tipo de alimentación. Los niveles de mercurio en sangre fueron determinados por espectrofotometría de absorción atómica al vapor frío; las proteínas séricas totales se determinaron por el método de Biuret y las concentraciones de tioles totales del suero se cuantificaron por el método de Ellman. De acuerdo a los resultados, 16 niños presentaron concentraciones de Hg mayores del límite de bajo riesgo aceptado por la Organización Mundial de la Salud (5 µg/l). Un análisis de correlación múltiple mostró una relación positiva significativa ($r= 0,32$) entre los niveles de proteínas totales y Hg en sangre, en cambio la valoración de los grupos tioles totales fue relacionado negativamente con las concentraciones de Hg ($r= -0,25$). No se obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de mercurio, la edad y el sexo, el tipo de alimentación (pescado) y los síntomas estudiados. El incremento en los niveles de proteínas en estos niños parece formar parte de un mecanismo de captación y/o protección en presencia del metal. La disminución en los niveles de -SH, puede estar asociada a interacciones entre el metal y estos grupos, condición que podría conllevar a posibles perturbaciones en la capacidad antioxidante. Las PT y -SH determinados podrían ser considerados como posibles marcadores bioquímicos, económicos y sensibles, los cuales pudieran servir como señal alternativa asociada a contaminación por mercurio. Los elevados niveles de Hg encontrados en sangre manifiestan la necesidad de un seguimiento evaluativo posterior, que conlleve a revelar las posibles causas de contaminación mercurial en estos niños.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Prof. Luisa Rojas de Astudillo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	LRojas40@yahoo.com
	e-mail	
Prof. Edgar Zapata Vivenes	ROL	CA <input checked="" type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	Edzapata2002@yahoo.com
	e-mail	
Prof. Leida Marcano	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	leimar@sucre.udo.edu.ve
	e-mail	
Prof. María Valentina Fuentes	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	mvfuentes@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

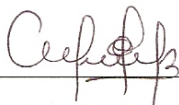
Año	Mes	Día
2008	02	26

Lenguaje: SPA

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

Derechos:

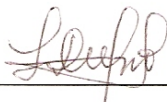
Yo, Mildred Alejandra Barreto, C.I 13.052.308, autora de la tesis titulada “RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE PROTEÍNAS TOTALES Y GRUPOS TIOLES, CON LOS NIVELES DE MERCURIO EN SANGRE, EN NIÑOS DE 6 A 10 AÑOS PERTENECIENTES A DOS ESCUELAS DE LA PARROQUIA AYACUCHO, CUMANÁ, VENEZUELA”; autorizo para que se publique el título y resumen del trabajo de investigación



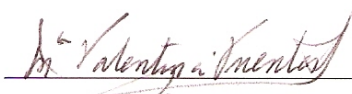
Mildred Alejandra Barreto



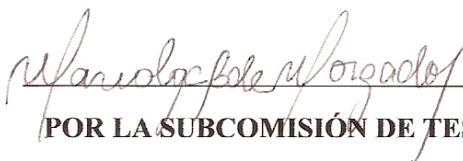
Prof. Luisa Rojas de Astudillo
Asesor



Prof. Leida Marciano
Jurado



Prof. Maria Valentina Fuentes
Jurado



POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

