

## **Contenidos hepáticos y renales de hierro y cobre en ratas tratadas con cadmio y zinc**

CLAVERIE, C<sup>1</sup>; CORBELLA, R<sup>1</sup>; MARTÍN D<sup>2</sup> & DÍAZ, C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de La Laguna, 38074 La Laguna, Tenerife, España.*

<sup>2</sup>*Departamento de Medicina Física y Farmacología. Universidad de La Laguna, 38074 La Laguna, Tenerife, España.*

### RESUMEN

Se realizó un estudio de la influencia de la administración de Cd vía intraperitoneal (ip), y de Cd (ip) y Zn vía subcutánea (sc) sobre los niveles de Fe y Cu en hígado y riñones. Después de cinco semanas ambos grupos de tratamiento (Cd y Cd+Zn) mostraron pesos de hígados anormalmente bajos con respecto al peso corporal total.

Los grupos de ratas tratados sólo con Cd presentaron niveles de Fe en ambos órganos (hígados y riñones) menores que los observado en el grupo control. Los niveles de Cu en hígados permanecen prácticamente constantes en función del tiempo de tratamiento mientras que el contenido renal de Cu se incrementó significativamente después de cinco semanas de tratamiento.

Con respecto a los grupos de animales tratados con Cd+Zn, el contenido hepático de Fe disminuye durante la primera semana pero tiende a normalizarse después de cinco semanas, lo cual sugiere el papel protector del Zn frente a la depleción hepática de Fe inducida por Cd. El Fe renal así como el Cu renal y hepático presentaron un comportamiento similar. Se observan disminuciones e incrementos significativos después de una y cinco semanas respectivamente, lo cual se relaciona con una mayor síntesis de metalotioneínas y redistribución anómala de los metales esenciales.

**Palabras clave:** Interrelación metálica.- Acumulación hepática y renal.- Ratas.

## SUMMARY

**Hepatic and renal contents of iron and copper in rats treated with cadmium and zinc**

The influence of the Cd intraperitoneal (ip), and Cd (ip) + Zn subcutaneous (sc) administration on the Cu and Fe concentrations in liver and kidneys was studied. After five weeks, both Cd and Cd+Zn groups showed an abnormally low liver mass with respect to total body mass.

The groups of rats treated with Cd alone presented Fe levels in both liver and kidneys lower than those levels observed in the control group. The levels of Cu in liver maintain approximately constant during the time of treatment while the Cu content in kidneys significantly increased after five weeks of treatment.

With respect to the animals treated with Cd and Zn, the hepatic content of Fe decreased in the first week but tend to be normal after five weeks which suggest the protector role of Zn against to the hepatic depletion of Fe induced by Cd. Renal Fe as well as renal and hepatic Cu presented a similar behaviour. Significant decreases and significant increases were observed after one and five weeks respectively, which could be related with a higher synthesis of metallothioneins and abnormal redistribution of essential metals.

**Key words:** Metallic interrelation.- Hepatic and renal accumulations.- Rats.

## INTRODUCCIÓN

El interés por el estudio de los elementos traza y su relación con la salud y la enfermedad se ha incrementado enormemente en las últimas décadas. Una adecuada nutrición mineral, y en particular de elementos traza, es uno de los pilares básicos sobre los que se apoya un buen estado de salud. Existen algunos metales considerados como tóxicos, tales como el Cd o el Pb, que no desarrollan ninguna función esencial conocida en el organismo humano, y además ingestas relativamente bajas producen diferentes formas de toxicidad. La interrelación en el interior del organismo humano entre el metabolismo de los metales pesados esenciales y tóxicos se ha estudiado extensamente. En este sentido, el metabolismo del Fe, Zn y Cu se encuentran íntimamente relacionados entre sí y con el del Cd. Así, los efectos del Cd pueden afectar o pueden ser afectados por las ingestas de estos metales así como sus

concentraciones de en distintos órganos y tejidos del organismo (Abdulla y Chmielnika, 1990; Groeten *et al.*, 1991; Nordberg, 1978).

En un trabajo anterior (Claverie *et al.*, 2000) se estudiaron los efectos protectores del cloruro de zinc frente a la toxicidad aguda y sub-aguda del sulfato de cadmio. Asimismo, se observó que los animales tratados conjuntamente con Cd y Zn presentaban una mayor acumulación hepática y renal de Cd que los que se trataron sólo con Cd. Esto se debe a la estimulación de la síntesis de metalotioneínas consecuencia de la administración de altas dosis de Zn.

En el presente trabajo se pretende determinar la influencia que, sobre los contenidos de Fe y Cu en hígado y riñones de ratas, produce la administración vía intraperitoneal (ip) de Cd ( $\text{CdSO}_4$ ), y de Cd ( $\text{CdSO}_4$ ; ip) con Zn ( $\text{ZnCl}_2$ ) vía subcutánea (sc).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Animales*

Se emplearon ratas albinas machos de la raza Sprague-Dawley, con un peso de  $250 \pm 35$  g, procedentes del estabulario de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Laguna y alimentados con una dieta estandar (Interfauna Iberica). En todo el proceso los animales fueron mantenidos en condiciones ambientales controladas de temperatura ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y humedad ( $55 \pm 5\%$ ) y con libre acceso a agua y alimento.

### *Diseño experimental*

En todos los experimentos llevados a cabo, los animales fueron agrupados en distintos lotes: grupo control (tratado sólo con suero salino al 0.9%), grupo tratado con  $\text{CdSO}_4$  y grupo tratado con  $\text{CdSO}_4$  más  $\text{ZnCl}_2$ . Las soluciones de  $\text{CdSO}_4$  y  $\text{ZnCl}_2$  fueron administradas por vía ip y sc, respectivamente. En los grupos tratados con  $\text{CdSO}_4$  más  $\text{ZnCl}_2$ , la solución de  $\text{ZnCl}_2$  fue inyectada 30 min antes de la solución de  $\text{CdSO}_4$ . Una vez que los animales fueron sacrificados se midieron las concentraciones de Cu y Fe, en hígado y riñón, a las una y cinco semanas. Para ello se establecieron cinco grupos de animales:

Grupo 1: Control, ratas administradas con ClNa 0.9%.

Grupo 2: Ratas administradas con Cd (0.5 mg/kg/48hrs) durante cinco semanas.

Grupo 3: Ratas administradas con Cd (0.5 mg/kg/48hrs) y Zn (10mg/kg/48hrs) durante cinco semanas.

Grupo 4: Ratas administradas con Cd (0.5 mg/kg/48hrs) durante una semana.

Grupo 5: Ratas administradas con Cd (0.5 mg/kg/48hrs) y Zn (10mg/kg/48hrs) durante una semana.

#### *Determinación de metales*

Al final de cada una de las experiencias, se procedió a sacrificar los animales y extraer el hígado y riñones para la determinación de los metales. Seguidamente, estos órganos fueron pesados y congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del análisis. Una vez descongelados fueron homogeneizados, tomándose dos gramos del homogeneizado para su posterior digestión. Esta fue realizada con ácido nítrico hasta mineralización total. El exceso se eliminó con  $\text{H}_2\text{O}_2$  (3%) y finalmente se enrasó a 25 ml con HCl (0.01N). Los metales (Cu y Fe) se midieron por espectrofotometría de absorción atómica usando las condiciones adecuadas para cada elemento (Claverie *et al.*, 1996).

#### *Estudio estadístico*

Los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar (DE) usándose para la comparación entre medias el t-test (Student), asumiendo que existen diferencias significativas cuando el valor de  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones medias y cantidades totales de Fe y Cu en hígado y riñones de los cinco grupos de ratas estudiados se presentan en la Tabla 1. Las concentraciones hepáticas y renales de Fe y Cu en el grupo control no cambiaron significativamente durante el tiempo, por lo que los valores medios se incluyeron conjuntamente.

TABLA 1.

*Concentraciones ( $X \pm DE$ ) y cantidades de Cu y Fe en hígado y riñones para los cinco grupos de ratas estudiadas.*

	Grupo control		Grupo CdSO <sub>4</sub>		Grupo CdSO <sub>4</sub> + ZnCl <sub>2</sub>		Ratio (Cd + Zn/Cd)	
	1 semana	5 semanas	1 semana	5 semanas	1 semana	5 semanas	1 semana	5 semanas
<b>HÍGADO</b>								
% peso de hígado respecto al peso total de rata	3,38	4,11	3,56	3,26	3,44	3,26	0,97	1,00
Concentración de Fe (µg/g)	8,21± 1,270*		5,03 ± 0,97	4,51 ± 2,58	5,73 ± 1,04	8,07 ± 1,95	1,14	1,79
Fe total (µg)	68,6	83,5	48,1	47,1	44,8	90,7	0,93	1,92
Concentración de Cu (µg/g)	0,34 ± 0,03*		0,31 ± 0,06	0,29 ± 0,15	0,24 ± 0,03	0,50 ± 0,08	0,78	1,75
Cu total (µg)	2,83	3,44	2,93	3,01	2,30	5,67	0,78	1,88

C. CLAVERIE Y COLS.

ANAL. REAL ACAD. FARM.

**RIÑONES**

% peso de riñones respecto al peso total de rata	0,59	0,75	0,64	0,73	0,67	0,74	1,05	1,00
Concentración de Fe (µg/g)	4,51 ± 1,08*		2,58 ± 0,60	3,36 ± 0,65	3,43 ± 0,54	4,98 ± 0,82	1,33	1,48
Fe total (µg)	8,83	10,2	4,54	7,89	5,18	12,59	1,14	1,60
Concentración de Cu (µg/g)	0,27 ± 0,02*		0,24 ± 0,06	0,48 ± 0,08	0,20 ± 0,07	1,07 ± 0,21	0,82	2,20
Cu total (µg)	0,53	0,65	0,43	1,14	0,30	2,70	0,70	2,37

\* Las concentraciones de Fe y Cu en el grupo control corresponden a la media de los valores obtenidos a 1 y 5 semanas.

Después de cinco semanas de tratamiento con Cd sólo y con Cd+Zn los porcentajes de los pesos de los hígados en relación al peso total de las ratas disminuyeron significativamente lo cual ha sido ya previamente observado (Mayer *et al.*, 1982), sin embargo, los pesos correspondientes a los riñones no presentaron diferencias importantes.

Se observa que, en general, en ambos grupos de tratamiento Cd y Cd + Zn, las concentraciones hepáticas y renales de Fe y Cu se encuentran afectadas. En el grupo de tratamiento con Cd sólo, los niveles (concentraciones y cantidades) de Fe en ambos órganos están significativamente ( $p < 0,05$ ) disminuidos después del tratamiento. No se encontraron diferencias significativas entre los valores medios de Fe hepático obtenidos después de 1 y 5 semanas de tratamiento. En este sentido, algunos autores (Dalgarno, 1980) han apuntado que la administración de pequeñas dosis de Cd pueden causar una disminución de la concentración de Fe en el hígado de ratas. En el caso de los riñones se puede ver que después de 5 semanas existe una tendencia a recuperar los niveles de Fe observados en el grupo control. Con respecto al Cu, aunque las cantidades de Cu retenidas en el hígado permanecen relativamente constantes o se incrementan ligeramente con el tiempo de tratamiento, las concentraciones hepáticas fueron ligeramente inferiores a la concentración media observada en el grupo control, encontrándose además una tendencia a disminuir la concentración en función del tiempo de tratamiento. Esto coincide con lo publicado por algunos autores (Dalgarno, 1980) que señalan que la ingesta de Cd es un factor importante en la reducción de la retención de Cu por el tejido hepático. En contraste con el tejido hepático, las concentraciones renales de Cu fueron similares a las detectadas en el grupo control después de 1 semana y, se incrementaron significativamente ( $p < 0,05$ ) después de 5 semanas de tratamiento.

En lo que se refiere al grupo de tratamiento Cd+Zn, se observó que después de una semana de tratamiento la concentración de Fe es significativamente inferior, a la que se detecta en el grupo control, normalizándose el valor después de las cinco semanas de tratamiento. Por lo tanto, nuestros resultados parecen indicar que la administración de Zn

protege frente a la depleción hepática de Fe consecuencia de la administración de Cd anteriormente comentada. Los niveles medios de Fe en riñones después de 1 semana de tratamiento disminuyeron con respecto a los observados en el grupo control, y a las cinco semanas se encuentra un valor medio superior al detectado en el grupo control. Se puede inferir que la administración repetida en el tiempo de Zn puede proteger de la alteraciones en el metabolismo renal de Fe. El Cu presentó un comportamiento parecido al del Fe. Las concentraciones medias de Cu en hígado y riñones decrecieron significativamente ( $p < 0,05$ ) después de 1 semana. Sin embargo, se detectó un importante incremento ( $p < 0,05$ ) en ambos órganos después de 5 semanas de tratamiento, lo cual contrasta con lo apuntado por algunos autores (Behari y Tandon, 1980; Bonner *et al.*, 1981) que indican que la administración de Zn después de exposición a Cd tuvo poco efecto sobre las concentraciones de Cd, Cu o Zn en hígado, riñones, plasma o testículos. Probablemente, el aumento de la síntesis de metalotioneínas como respuesta a la administración repetida de Zn conjuntamente a la de Cd podría producir la movilización de Cu desde tejidos periféricos al hígado (González Padrón *et al.*, 1995). Por lo tanto, el tiempo de exposición podría jugar un papel decisivo, en lo que se refiere fundamentalmente a la adaptación del organismo a estos metales. Por otra parte, hay que señalar que después de cinco semanas de ambos tratamientos (Cd solo y Cd+Zn) los valores de la concentración de Cd en hígados fueron de  $18,20 \pm 3,95$  y  $38,25 \pm 7,34$   $\mu\text{g/g}$  respectivamente. Esto está en consonancia con lo indicado por Abdulla *et al.* [1], los cuales han señalado que cuando la concentración de Cd en el tejido hepático alcanza un valor de  $20 \mu\text{g/g}$  se producen cambios del metabolismo del Cu.

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) ABDULLA, M. & CHMIELNIKA, J. (1990) *Biol. Trace Elem. Res.* 23: 25-53.
- (2) Behari, J. R. & Tandon S. K. (1980) *Toxicol. Lett.* 5:151-154.
- (3) BONNER, F. W., KING, L. J. & PARKE, D. V. (1981) *Toxicology* 19:247-253.
- (4) CLAVERIE, C., CORBELLA, R., MARTÍN, D. & DÍAZ, C. (2000) *Biol. Trace Elem. Res.* 75:1-9.
- (5) CLAVERIE, C., MARTÍN, D. & DÍAZ, C. (1996) *Rev. Toxicol.* 13: 89-92.
- (6) DALGARNO, A. C. (1980) *J. Sci. Food Agric.* 31: 1043-104

- (7) GONZÁLEZ PADRÓN, A., GONZÁLEZ IGLESIAS, J.L. & HARDISSON, A. (1995) *Rev. Toxicol.* 12: 86-91.
- (8) GROETEN, J. P., SINKELDAM, E. J., MUYS, T., LUTEN, J. B. & VAN BLADEREN, P. J. (1991) *Food Chem. Toxicol.* 29: 249-258.
- (9) MAYER, S. A., HOUSE, W. A. & WELCH, R. M. (1982) *J. Nutr.* 112: 954-961.
- (10) NORDBERG, G. F. (1978) *Environ. Health Perspect.* 25:3-41