



Los metales como contaminantes.

1. Conceptos básicos.
2. Efectos de los metales sobre los seres vivos.
3. Técnicas citohistológicas de análisis de metales.
4. Factores que afectan a la biodisponibilidad de los metales.
5. Mecanismos de defensa frente a la contaminación por metales.

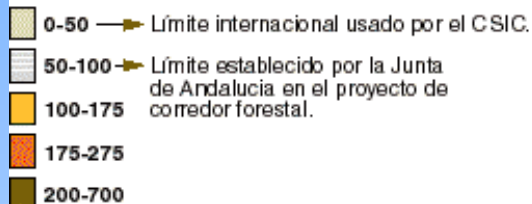
LOS METALES COMO CONTAMINANTES

Los suelos contaminados

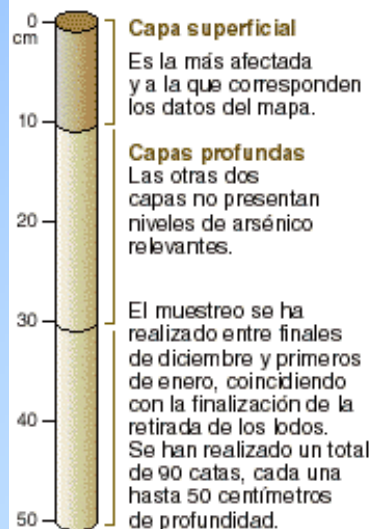
El mapa muestra la zona afectada por el vertido de Aznalcóllar y los niveles de arsénico en el suelo tras la retirada de los lodos.

Niveles de arsénico en el suelo

Partes por millón



La toma de muestras



Otras medidas de limpieza

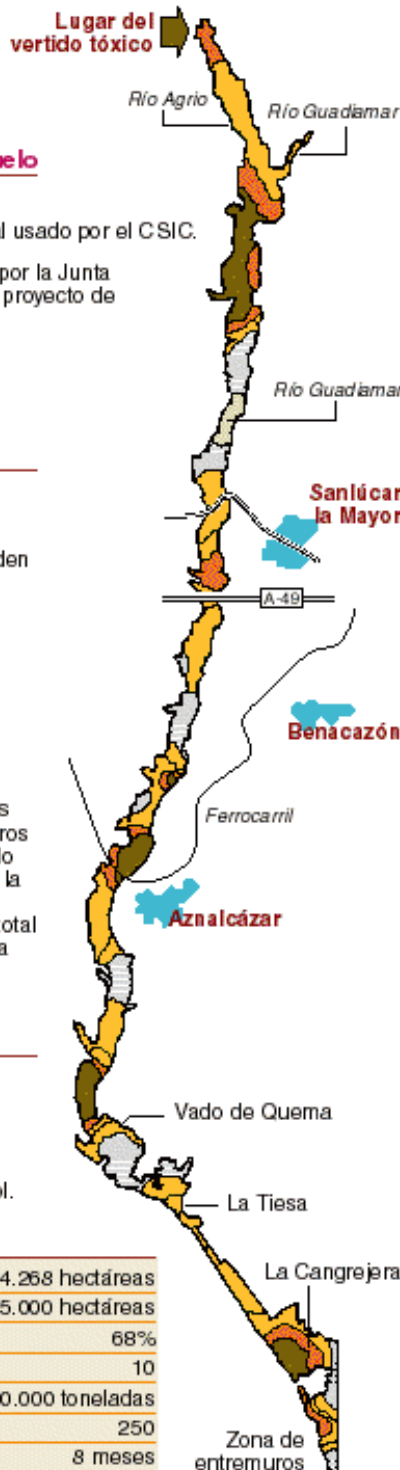
Se están depositando con camiones toneladas de cal para fijar el arsénico al suelo. En el futuro se utilizarán plantas acumuladoras de arsénico como las brasicas, semejantes a una col.

La retirada de lodos

Zona afectada	4.268 hectáreas
Zona estudiada	5.000 hectáreas
Superficie aún contaminada	68%
Municipios afectados	10
Lodos retirados	6.000.000 toneladas
Excavadoras utilizadas	250
Duración de las tareas	8 meses

Fuente: CSIC.

G. H. / EL PAÍS



EJEMPLO 1

Río Guadamar (marzo, 1999)

Niveles de arsénico

LOS METALES COMO CONTAMINANTES

Concentrations (mg x kg⁻¹ dry weight) of metals in whole soft tissues of some marine molluscs in relation to the composition (µg x kg⁻¹) of sea water (data from Bryan, 1976 and Segar *et al.*, 1971)

Metal	Bivalve (filter feeding) <i>Mytilus edulis</i>	Gastropod (herbivore) <i>Littorina littorea</i>	Sea water	Concentration factor (approx)
Ag	0.03	2.5	0.1	10 ⁴
Al	76	286	5	10 ⁴
Cd	5.1	2	0.05	10 ⁵
Co	1.6	1.6	0.02	10 ⁵
Cr	1.5	2.5	0.6	10 ⁴
Cu	9.6	70	3	10 ⁴
Fe	1700	435	3	10 ⁵
Mn	3.5	26	2	10 ⁴
Ni	3.7	3.2	2	10 ³
Pb	9.1	9	0.03	10 ⁵
Zn	91	99	5	10 ⁴
Dry wt.	11.1%	25.6%		

EJEMPLO 2

Moluscos que acumulan metales



EJEMPLO 3

Erica andevalensis

DEFINICIONES PREVIAS

METAL - Elemento químico caracterizado por una fuerte conductividad térmica y eléctrica, brillo peculiar (metálico), aptitud para la deformación y una marcada tendencia a formar cationes.

1 IA	2 IIA											13 IIIA	14 IVA	15 VA	16 VIA	17 VIIA	18 0																															
H	He											B	C	N	O	F	Ne																															
Li	Be											Al	Si	P	S	Cl	Ar																															
Na	Mg	3 IIIB	4 IVB	5 VB	6 VIB	7 VIIB	8 VIIIB	9 VIIIB	10 VIIIB	11 IB	12 IIB	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr																															
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	In	Sn	Sb	Te	I	Xe																															
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At																															
Cs	Ba	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>La</td><td>Ce</td><td>Pr</td><td>Nd</td><td>Pm</td><td>Sm</td><td>Eu</td><td>Gd</td><td>Tb</td><td>Dy</td><td>Ho</td><td>Er</td><td>Tm</td><td>Yb</td><td>Lu</td> </tr> <tr> <td>Ac</td><td>Th</td><td>Pa</td><td>U</td><td>Np</td><td>Pu</td><td>Am</td><td>Cm</td><td>Bk</td><td>Cf</td><td>Es</td><td>Fm</td><td>Md</td><td>No</td><td>Lr</td> </tr> </table>																La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	Rn
La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu																																		
Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr																																		
Fr	Ra																																															

Metales alcalinos
Metales alcalinotérreos
Metales de transición
Lantánidos
Actínidos
Otros metales
No metales
Gases nobles

METALES PESADOS - grupo de elementos de P.M. 63,5 a 200,6 con una distribución electrónica similar en su capa externa (Rainbow, 1993)

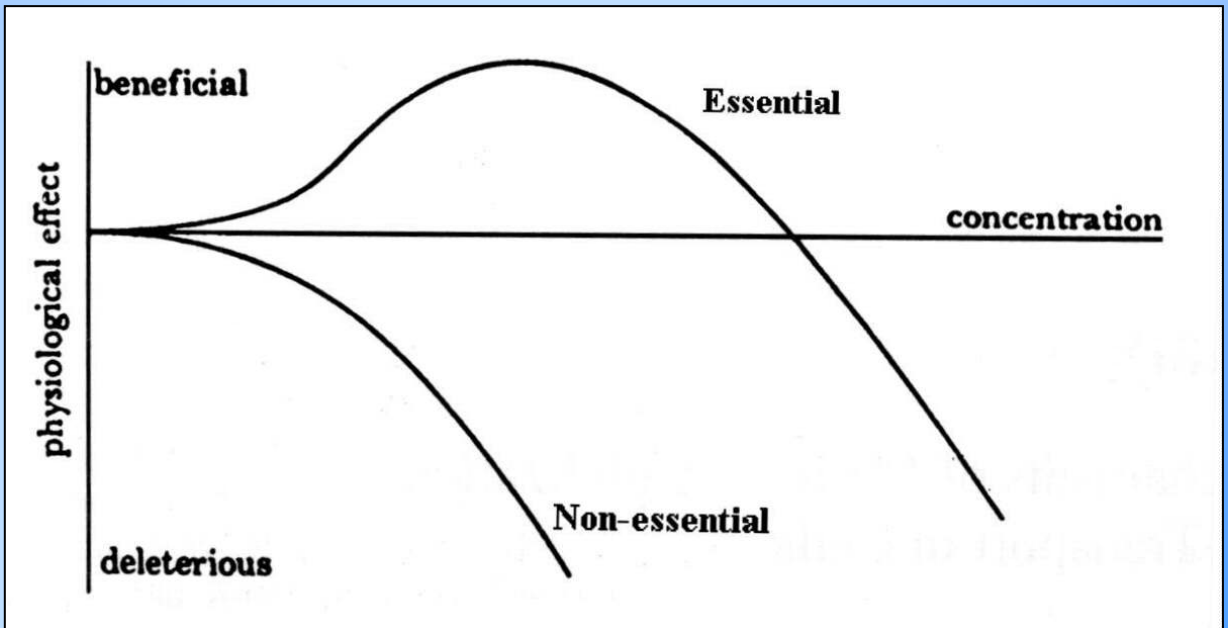
- Presentes en cantidades pequeñas o trazas en el ambiente
- Esenciales (activación de metaloenzimas, proteínas de estrés, transporte de oxígeno, actividades redox, etc.) y no esenciales
- Presentes en tejidos biológicos, típicamente como cationes divalentes, libres o ligados a residuos sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo, imidazol, etc. de proteínas, ácidos nucleicos, etc.

METALES ESENCIALES Y NO ESENCIALES

1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8	8	8	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	0	
(H)																	He	
Li	Be												B	C	N	O	F	Ne
(Na)	(Mg)												Al	Si	P	S	Cl	Ar
(K)	(Ca)	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn		Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd		In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	Ln	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg		Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Th	Pa	U													

class "b"

Círculos: Elementos biológicos más importantes. Cuadrados: Elementos traza esenciales. Cuadrados punteados: Posibles elementos traza esenciales.



Relación entre la concentración de un elemento y sus efectos fisiológicos.

EFEECTO CONTAMINANTE DE LOS METALES

1. Los metales y metaloides pueden generar estrés oxidativo

El metal interactúa con H_2O_2 produciendo $HO\cdot$ mediante la reacción de Fenton. El $HO\cdot$ provoca:

- Daños en lípidos de membrana
- Daños en proteínas
- Daños en ácidos nucleicos
- En general: daños metabólicos en el organismo, que pueden conducirle a la muerte.
- Estos efectos pueden ser premutagénicos

2. Los metales y metaloides contaminantes compiten con metales esenciales

- Compiten por los sistemas de transporte, disminuyendo la concentración efectiva del metal esencial
- Activan receptores de membrana desencadenando reacciones en cadena
- Reemplazan a metales esenciales en biomoléculas, alterando su funcionamiento
- Reaccionan con grupos funcionales de biomoléculas, alterando su funcionamiento

METALES Y EXPRESIÓN GÉNICA (1)

Los metales interaccionan con la cromatina

- Los metales deben alcanzar el núcleo
- En el núcleo, los metales se unen al ADN, a proteínas histónicas o a proteínas no histónicas.

Metal



1. Los metales provocan daños en el ADN

El metal interactúa con H_2O_2 produciendo $HO\cdot$ mediante la reacción de Fenton. El $HO\cdot$ provoca:

- ▶ Oxidación de bases o de la desoxirribosa
- ▶ Pérdida de bases
 - Formación de hélices sencillas
 - Roturas de hélices dobles
 - Formación de “puentes” ADN-proteína
 - Formación de “puentes” ADN-ADN
- ◆ Estos efectos pueden ser premutagénicos

BASES
NITROGENADAS



RADICALES
DE BASES

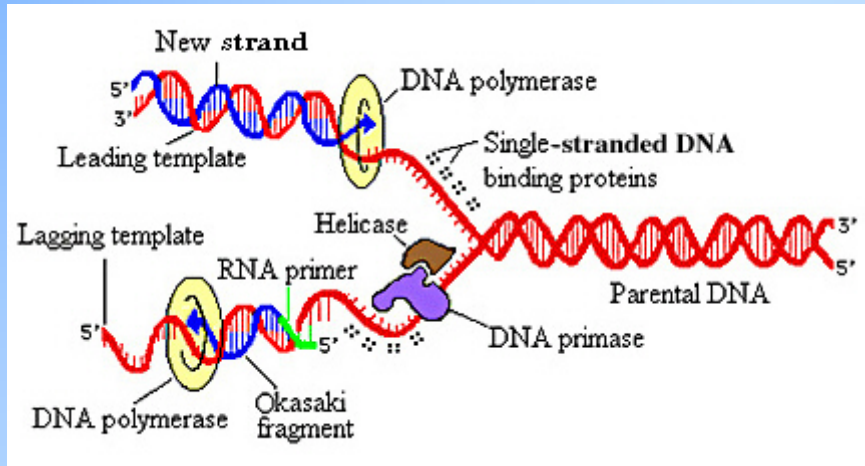


BASES
NITROGENADAS
ALTERADAS

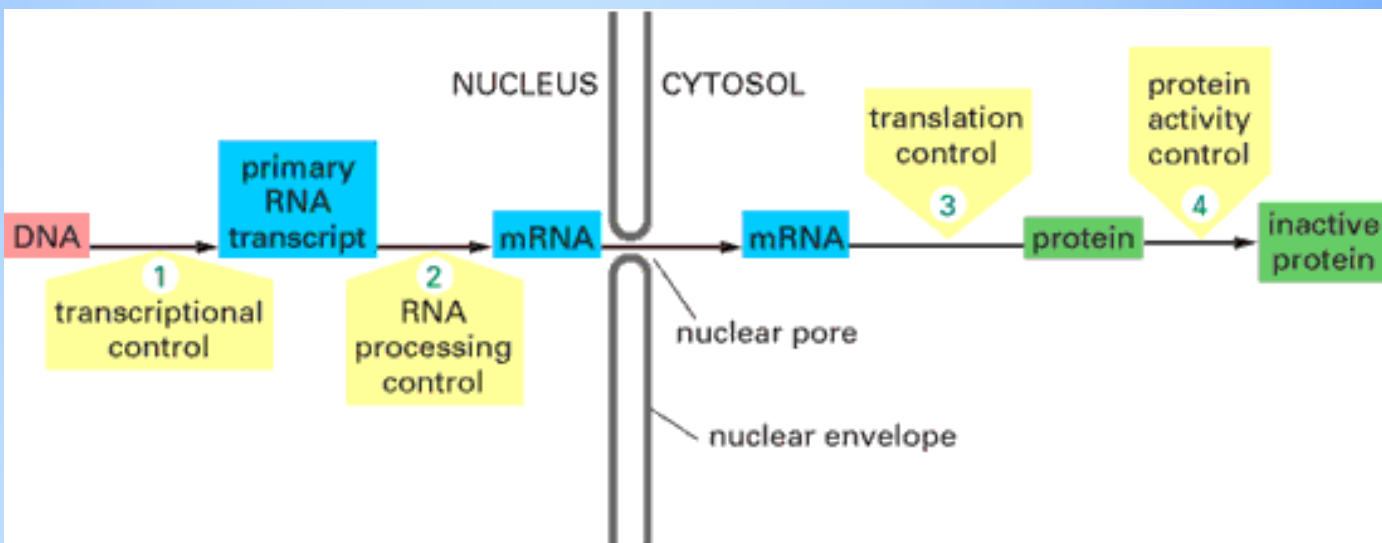
METALES Y EXPRESIÓN GÉNICA (2)

Los metales afectan a la fidelidad de la replicación

- Inhibición de enzimas requeridas para la replicación
- Inhibición de la síntesis de nucleótidos
- Alteración de los procesos de metilación del ADN
- Alteración de los componentes del complejo de replicación del ADN

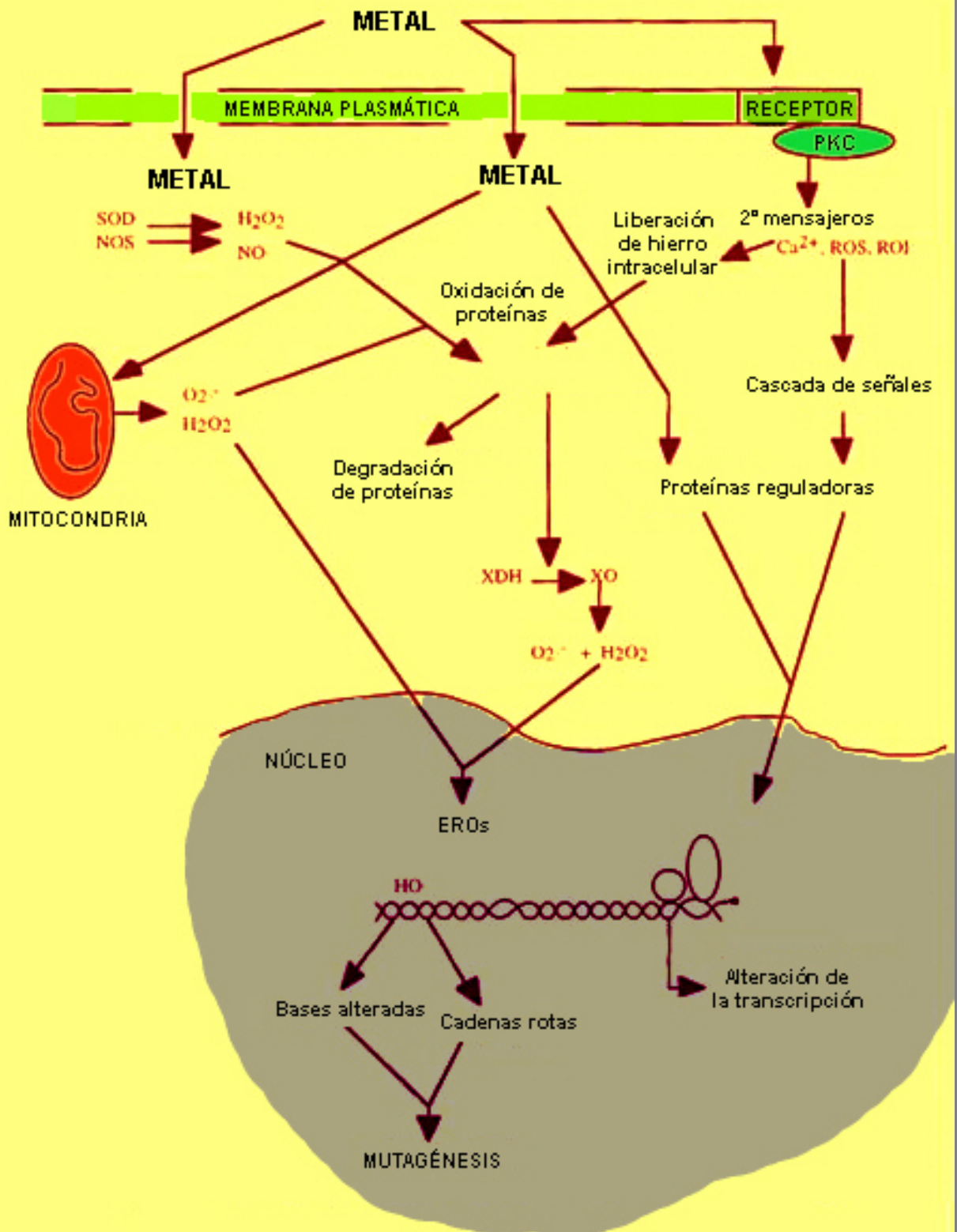


Los cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN pueden modificar la **expresión génica**

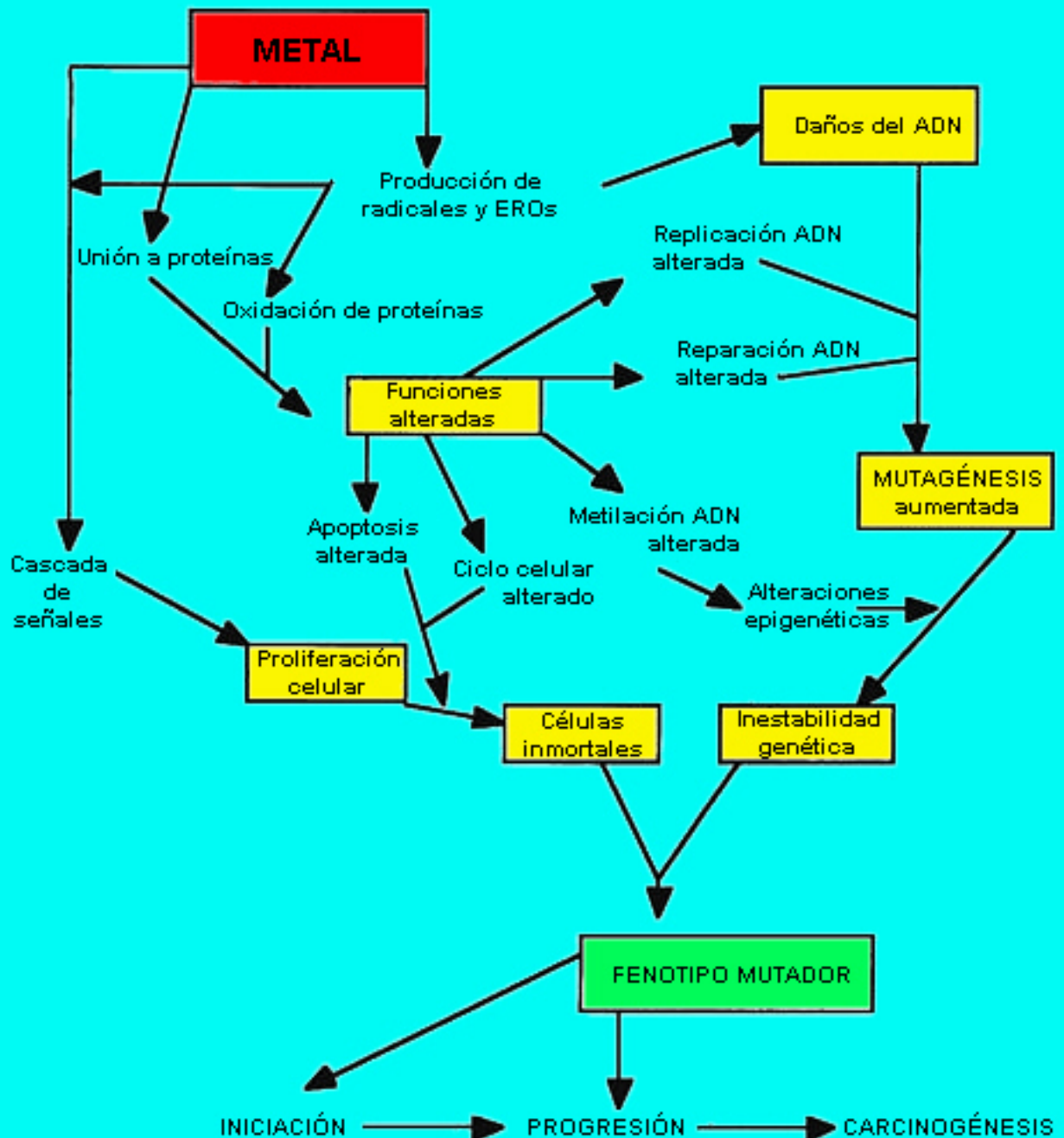


La expresión génica también puede alterarse mediante **cambios epigenéticos** (sin cambios en la secuencia del ADN):

METALES Y ESTRÉS OXIDATIVO



METALES Y CARCINOGENÉISIS



EFECTO DE METALES: EJEMPLOS (1)

TOXICIDAD COMPARADA DE LOS METALES (6)

ARSÉNICO

Interés fisiológico: No es esencial.

F. de exposición: Plaguicidas, pinturas, preservadores de la madera, medicamentos, cerámica, rodenticidas, vinos, industria electrónica.

Toxicocinética: Absorción por vía inhalatoria (25/40%). Vía oral (95%), Vía dérmica, sin cuantificar. Distribución: muy rápida. Acumulación: hígado, riñón, pulmón (inicial). Pelo, uñas, dientes, piel, tiroides, cristalino, esqueleto (final).

Citotoxicidad: afinidad por grupos -SH. Inhibe la piruvato-deshidrogenasa y por tanto, provoca deficiencia en AcCoA. Reducción del ciclo de Krebs, reducción de ATP. Disminución de la gluconeogénesis. Alteración metabólica generalizada.

Límites de exposición laboral: TLV: 0,2 mg(As)/m³.

ESTRONCIO

Interés fisiológico: No se ha demostrado que sea esencial.

F. de exposición: terapéutica de la urticaria, tetania paratiroidea, epilepsia, y sedante. Se emplea en fabricación de elementos magnéticos, pantallas de televisión, pirotecnia, plásticos. Desechado en forma de Sr⁹⁰ en centrales nucleares.

Toxicocinética: Absorción: vía oral 5-25%. Distribución: muy amplia. Eliminación: renal (90%), leche. No se biotransforma.

Citotoxicidad: Acción ionotrópica al sustituir al Calcio en membranas excitables. Interacciona con fosfato inorgánico incrementando su depósito y con fosfato orgánico de macromoléculas. Interfiere con Mg y K.

Límites de exposición laboral: No establecidos.

EFECTO DE METALES: EJEMPLOS (2)

TOXICIDAD COMPARADA DE LOS METALES (5)

COBRE

Interés fisiológico: metal esencial para utilización del hierro, formación de tejido conjuntivo, la pigmentación, producción energética. Forma parte de: ferroxidasa, citocromo-oxidasa, superóxido dismutasa, aminooxidasa, etc. Muy tóxico para organismos inferiores, poco para superiores.

F. de exposición: minería, siderurgia, equipos electrónicos, pinturas, insecticidas, fungicidas, algicidas, rodenticidas y preservadores de la madera.

Toxicocinética: Absorción por vía inhalatoria, no se conoce, por vía oral (50%). Distribución: unido a ceruloplasmina, metalotioneína, y albumina. Acumulación hígado, cerebro, corazón, riñón y músculo.

Citotoxicidad: Tiene afección por ligandos con S o N. Se une a grupos tiólicos de hemoglobina y membrana celular provocando la lisis. Inhibe la respiración celular. Reduce el glutathione. Enfermedad de Wilson y síndrome de Menke.

Límites de exposición laboral: TLV: 1 mg (Cu)/ m³.

ZINC

Interés fisiológico: Es uno de los elementos esenciales más abundantes en el cuerpo humano. Cofactor en 200 enzimas.

F. de exposición: Plaguicidas, dieta, utensilios de cocina, terapéutica, minería, metalurgia, galvanizado, pinturas, gomas, baterías, pantallas de TV, etc.

Toxicocinética: Absorción: vía oral muy variable, entre 10-90%, proceso activo regulado. Distribución: anhidrasa carbónica eritrocítica. Acumulación: en metalotioneínas de todos los tejidos. Eliminación: gastrointestinal y urinaria.

Citotoxicidad: Afinidad por grupos -SH y -OH de aminoácidos, proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, con efectos diversos. En altas concentraciones es desestabilizante de ADN, membranas, lisosomas, y ribosomas. Hace disminuir el contenido celular de Fe y Cu.

Límites de exposición laboral: TLV: 1 mg (Zn)/m³

EFECTO DE METALES: EJEMPLOS (3)

TOXICIDAD COMPARADA DE LOS METALES (7)

CADMIO

Interés fisiológico: Es un metal no esencial, muy tóxico.

F. de exposición: Galvanizados, pinturas, fertilizantes, baterías, plásticos, tabaco y dieta.

Toxicocinética: Absorción: por vía inhalatoria (25-50%), oral (6%). Dérmica, muy limitada. Distribución unido a metalotioneínas, hemoglobina y albúmina. En placenta. Acumulación en corteza renal y huesos. No se realiza biotransformación. Eliminación, gastrointestinal y renal (solo el 0,01% del contenido total).

Citotoxicidad: Tiene afección por los grupos tiólicos, inhibición de enzimas. Antagonista del Zn. Sustituye al Ca, provoca desorganización de microtúbulos. Altera la membrana, incrementa la glucólisis, inhibe la respiración celular, y la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas.

Límites de exposición laboral: TLV: 0,01 mg (Cd)/m³.

ESTAÑO

Interés fisiológico: No es esencial.

F. de exposición: En forma inorgánica en metalurgia, soldadura, pigmentos, cerámica, alimentos enlatados, (derivados orgánicos del Sn de la soldaduras y fenoles de alimentos). En forma orgánica, insecticidas, fungicidas, estabilizantes del PVC.

Toxicocinética: Absorción: vía inhalatoria (no cuantificada), vía oral 3-10%, por vía dérmica, se produce pero no está cuantificada. Distribución: amplia (incluye cerebro). Biotransformación: no hay o hay desalquilaciones. Eliminación: urinario o fecal.

Citotoxicidad: Inhibe hidrólisis del ATP, desacopla la fosforilación oxidativa. Hinchamiento mitocondrial. Destrucción de vaina de mielina.

Límites de exposición laboral: TLV: 2 mg (SnCl₂)/m³

EFECTO DE METALES: EJEMPLOS (4)

TOXICIDAD COMPARADA DE LOS METALES (8)

BARIO

Interés fisiológico: No es esencial y es muy tóxico.

F. de exposición: Manufacturas de vidrio y cerámica, material refractario, pinturas, jabón, rodenticidas, insecticidas, material refractario, etc.

Toxicocinética: Absorción por vía inhalatoria (60-80%), oral (10-30% de las sales solubles, no de sulfato de bario). Acumulación: esqueleto, glándulas salivares, zonas pigmentadas oculares. Biotransformación: no presenta. Eliminación: gastrointestinal, sudor, renal, leche.

Citotoxicidad: Antagonista del K, bloquea sus canales, aumento intracelular. Provoca contracción muscular generalizada. Desplaza el Ca en los huesos y otras células. Estimula la secreción de catecolaminas adrenales.

Límites de exposición laboral: TLV: 0,5 mg (Ba)/m³.

MERCURIO

Interés fisiológico: No es esencial.

F. de exposición: Ocupacional: minería, refinado de mercurio, baterías, lámparas, termómetros, fungicidas, explosivos, pigmentos, fotografía, dentistas. Doméstica: termómetros, espejos, juguetes, baterías. Medicamentos: laxante, diurético y espermicida. Alimentaria: pescado contaminado.

Toxicocinética: Absorción: vía inhalatoria (80%), vía oral y dérmica (importante). Distribución: unido a proteínas o aminoácidos, pasa la BHE. También alcanza al feto.

Citotoxicidad: Su toxicidad aumenta con la lipofilidad (formas alquílicas + tóxicas forma elemental y sales inorgánicas). Inhibe la bomba ATPasa Na-K, y transporte de aminoácidos. Elemento metálico con mayor afinidad por grupos tioles, masiva inhibición enzimática. Efectos prenatales: no emigración neuronal y actividad antimicótica.

Límites de exposición laboral: TLV: 0,01 mg (HgCH₃Cl)/m³

TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN DE LOS METALES

• PROCEDIMIENTOS QUÍMICOS

- Espectrofotometría
 - Espectrofotometría de absorción atómica (AAS)
 - Espectrofotometría de emisión atómica (AES)
 - Plasma por corriente directa (DCP)
 - Plasma inductivamente acoplado (ICP)
 - Plasma inducido por microondas (MIP)
 - Fluorimetría atómica (AF)
- Potenciometría

• PROCEDIMIENTOS BIOLÓGICOS

- Tejido no fijado
 - Secciones congeladas
 - *Histoquímica*
 - *Autometalografía*
 - *Microanálisis por rayos X*
 - Secciones incluidas en resinas hidrofílicas
 - *Histoquímica*
 - *Autometalografía*
- Tejido fijado
 - Secciones incluidas en parafina
 - *Histoquímica*
 - *Autometalografía*
 - Secciones incluidas en resinas
 - *Autometalografía*
 - *Microanálisis por rayos X*

AUTOMETALOGRAFÍA

TINCIÓN DE TIMM PARA METALES

(<http://www.hoplink.com/histo3.HTM>)

PRINCIPIO

Esta tinción se basa en la técnica fotográfica tradicional: durante el revelado o tinción se acumula plata metálica que sustituye al metal presente en la muestra biológica. El procedimiento que se muestra está aplicado a la detección de cobre, que es un constituyente normal de muchos tejidos, aunque en cantidades muy pequeñas no detectables mediante tinción. No obstante, en ciertas patologías se acumula cobre, que puede ser observado tras la tinción de Timm, mediante la cual las sales de cobre son convertidas a sales de plata.

REFERENCIA

Timm, Histochemie 2 : 332-341, 1961

MUESTRA

Tejido fresco o fijado en formol.

CONTROLES

Los siguientes procedimientos de control deben ser empleados sobre secciones contiguas:

1. Omir el paso 4 para teñir todos los metales pesados.
2. Omir el paso 6.
3. Tratar con KCN al 0,5 % antes del revelado donde se elimina el sulfato de cobre.
4. Teñir con el método de Perl para hierro.

REACTIVOS

(A) SOLUCIÓN A: Nitrato de plata al 5.0 % en solución acuosa.

(B) SOLUCIÓN B: Hidroquinona 2.0 g; ácido cítrico 5.0 g; agua destilada 100 ml. Esta solución debe ser almacenada a 4° C durante un mes.

(C) HCl 0.1N o ácido tricloroacético (TCA) al 15%

PROCEDIMIENTO

Iniciar con procedimientos con cortes montados en parafina.

1. Desparafinar con 2 cambios de xilol e hidratar en agua con series graduadas de alcohol.
2. Sumergir en sulfato amónico al 0,5% (solución acuosa) durante 5 minutos.
3. Lavar bien en agua destilada.
4. Tratar las secciones con HCl 0,1 N durante 2-3 minutos para eliminar los sulfuros de hierro y cinc (también se puede usar TCA al 15%).
5. Lavar en agua destilada.
6. Revelar (Teñir) las secciones en una solución filtrada y recién preparada de 1 parte de solución A por 5 partes de solución B. Esto sustituye el sulfuro de cobre por sulfuro de plata.
7. Lavar las secciones en agua destilada.
8. Deshidratar con alcoholes, aclarar con Histoclear y montar en resina sintética.

RESULTADOS

Los depósitos de cobre se tiñen de negro.

DISPONIBILIDAD DE LOS METALES (1)

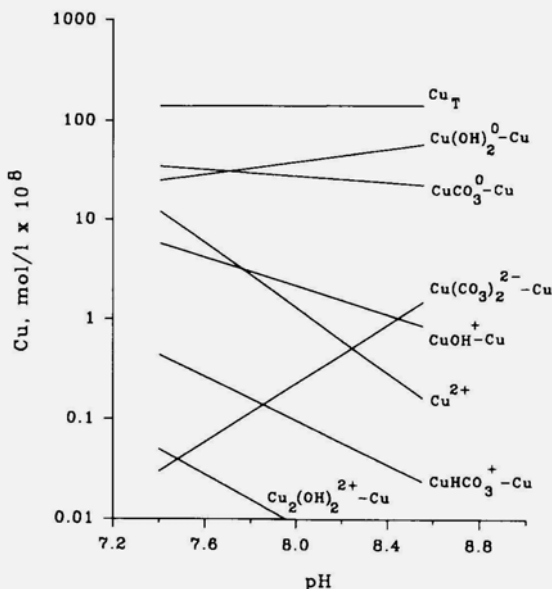
Disponibilidad de los metales en el ambiente celular

- en soluciones acuosas o en sistemas biológicos
- los metales tienden a donar electrones
- forman iones cargados o complejos con ligandos

Metales (según Nieboer y Richardson, 1980)	
Clase A <i>Alta tendencia a formar compuestos iónicos</i>	Cs, K, Na, Li Ba, Sr, Ca, Mg, Be La, Gd, Y, Lu, Sc, Al
“Borderline” <i>Propiedades intermedias</i>	Cd, Sn, Pb(II), Ti(II), Mn, Fe, V Cu(II), Co, Zn, Ni Cr, In, Fe, Ga Sb, As, Sn
Clase B <i>Forman complejos con ligandos</i>	Au, Ag, Ti(I), Cu(I) Hg, Pd, Pt Bi, Tl Pb(IV)

La actividad de un metal depende de su concentración y de su especiación

$$a_{\text{Me}^+} = C_{\text{Me}^+} \cdot \gamma_{\text{Me}^+}$$



Ejemplo: especiación del sulfato de cobre en agua dulce (Chakoumakos *et al.*, 1979)



DISPONIBILIDAD DE LOS METALES (2)

Factores que afectan a la disponibilidad de un metal

- Hidrofobicidad: *compuestos organometálicos (eg. Pb, Hg, As)*
- Potencial redox.
Ejemplo, el Cr^{3+} se oxida a Cr^{6+} (100-1000 veces más tóxico que el Cr^{3+}) en suelos con óxidos de manganeso.
- pH
Ejemplo, la solubilidad del $CuCl_2$ y $CoCl_2$ en suelos se incrementa rápidamente al disminuir el pH de 8 a 7.
- Temperatura
Aumenta la biodisponibilidad y afecta a la fluidez (y por consiguiente a la permeabilidad) de la membrana
- Interacciones iónicas
Ejemplo, el $CdCl_2$ es muy tóxico en agua salada, ya que el exceso de Cl^- desplaza el equilibrio hacia la forma no disociada
- Materia orgánica
Generalmente reduce la biodisponibilidad de los metales.
- Procesos de solubilización
Para aquellos metales con carácter lipofílico, su biodisponibilidad aumenta en presencia de detergentes (al formarse micelas).

Mecanismos de incorporación de los metales en las células

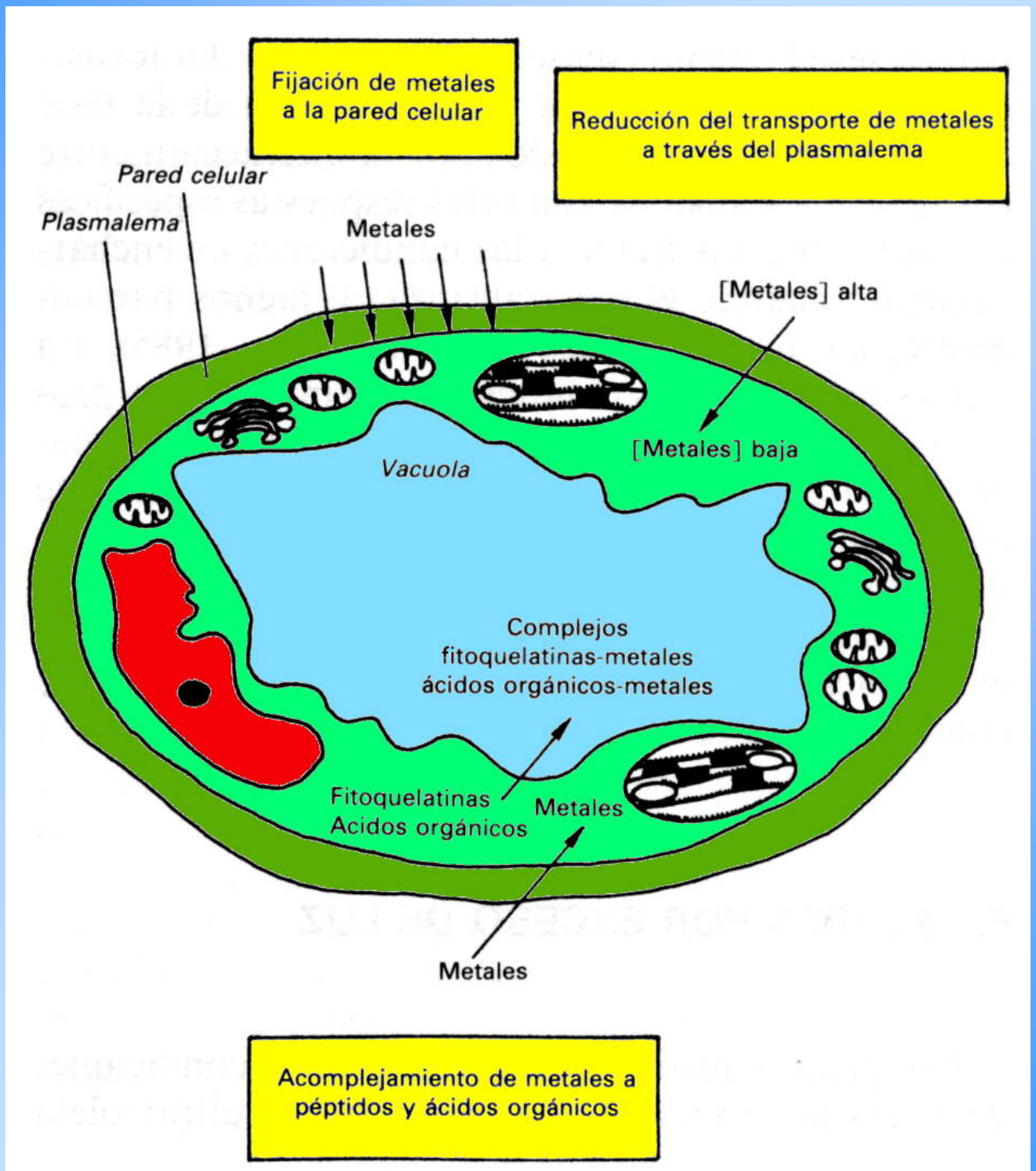
- Difusión
- Difusión facilitada
- Transporte activo
- Endocitosis y fagocitosis

Destino de los metales en las células

- Eliminación
- Inertización por unión a ligandos
- Acumulación en compartimentos intracelulares

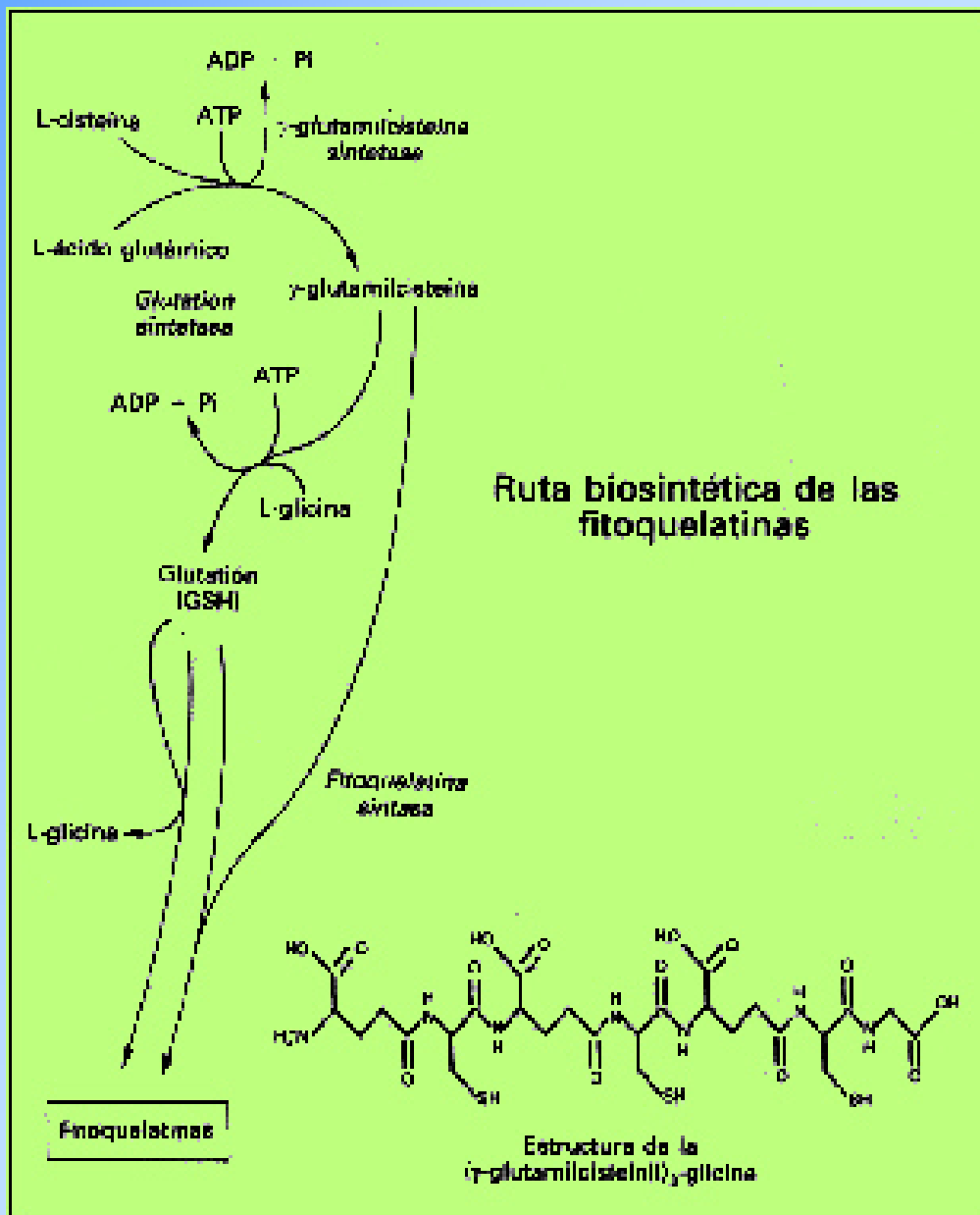
CONTAMINACIÓN POR METALES EN PLANTAS (1)

Mecanismos fisiológicos de tolerancia a los metales en plantas



CONTAMINACIÓN POR METALES EN PLANTAS (2)

Mecanismos fisiológicos de tolerancia a los metales en plantas



Fitoquelatinas (FQ):

- Las FQ son péptidos de bajo p.m. ricos en cisteína.
- Las FQ fijan los metales formando enlaces tiol con los residuos de cisteína.
- Las FQ no están codificadas por genes estructurales.
- La FQ-sintasa se activa en presencia de metales pesados y se inactiva en su ausencia.

CONTAMINACIÓN POR METALES EN ANIMALES (1)

Sistemas implicados en la detoxificación de metales

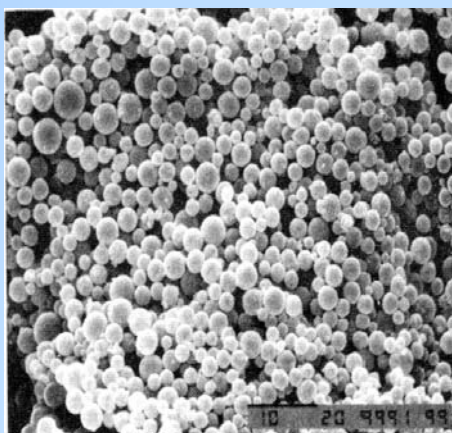
1. Sistema de gránulos
2. Metalotioneínas

Terms used to describe metal-ion containing granules

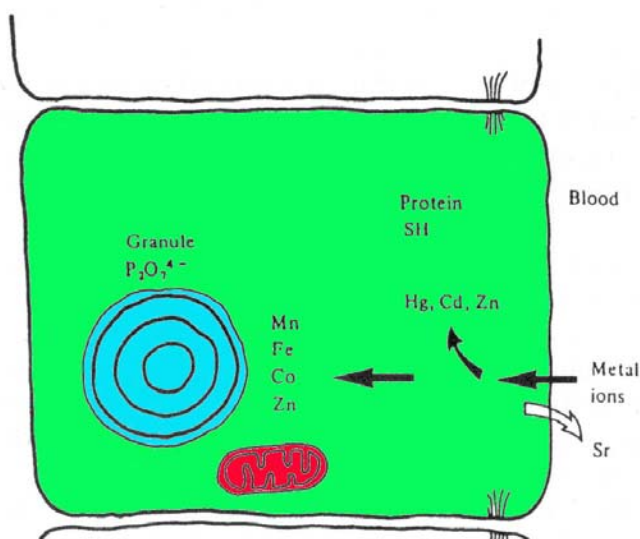
Granule	Mineral concretion	Storage vesicle
Concretion	Calcospherite	Volutin
Calcareous concretion	Spherite	Aurosome
Calcareous corpuscle	Inclusion body	Cadmosome
Calcareous spherule	Refractile body	Cuprosome

Gránulos:

- Depósitos inorgánicos con membrana.
- Prácticamente universales en el Reino Animal.
- Intra- y extracelulares.
- Clase "a": esféricos (Ø 0,2-3 μm), metales asociados con oxígeno de carbonato, oxalato, fosfato y sulfato. Incorporan metales de clase "a" y "borderline" (Mn, Fe, Co, Zn).
- Clase "b", forma irregular (0,2-2 μm), metales asociados con ligandos de azufre o nitrógeno. Incorporan metales de clase "b" (Cu, Cd, Hg) y algún "borderline" (Zn).
- Funciones: equilibrios ácido-base, almacén de iones, detoxificación intracelular.



Gránulos del hepatopáncreas del caracol *Helix aspersa*



Interpretación de experimentos de doble isótopo:

- algunos metales se acumulan en citoplasma (metalotioneínas).
- algunos metales se acumulan en gránulos.
- algunos metales se expulsan de la célula.

CONTAMINACIÓN POR METALES EN ANIMALES (2)

Metalotioneínas (MT): proteínas que ligan metales.

- Clase I: proteínas ricas en cisteína, similares a MT de riñón de caballo.
- Clase II: proteínas ricas en cisteína, poco similares a MT de riñón de caballo.
- Clase III: péptidos de bajo peso molecular, ricos en cisteína, de plantas y algas

Summary of the most important molecular features of class I metallothioneins

Occurrence:	Intracellular, cytosolic (nuclear, lysosomal) proteins Elevated concentrations in liver, kidney (vertebrates) and midgut gland (invertebrates)
Molecular properties:	Low molecular weight (6-10 kDa) No aromatic and hydrophobic amino acids High cysteine content (20-30%) Strong metal binding capacity for Hg > Cu > Cd > Zn (6 to 7 gram atoms per molecule) S-atoms of cysteins involved in metal binding Water-soluble, heat-stable Characteristic UV absorption for metal thiolate complexes (Cd: 254 nm, Cu: 270 nm, Zn: 220 nm)

Summary of the most important functional properties of class I metallothioneins

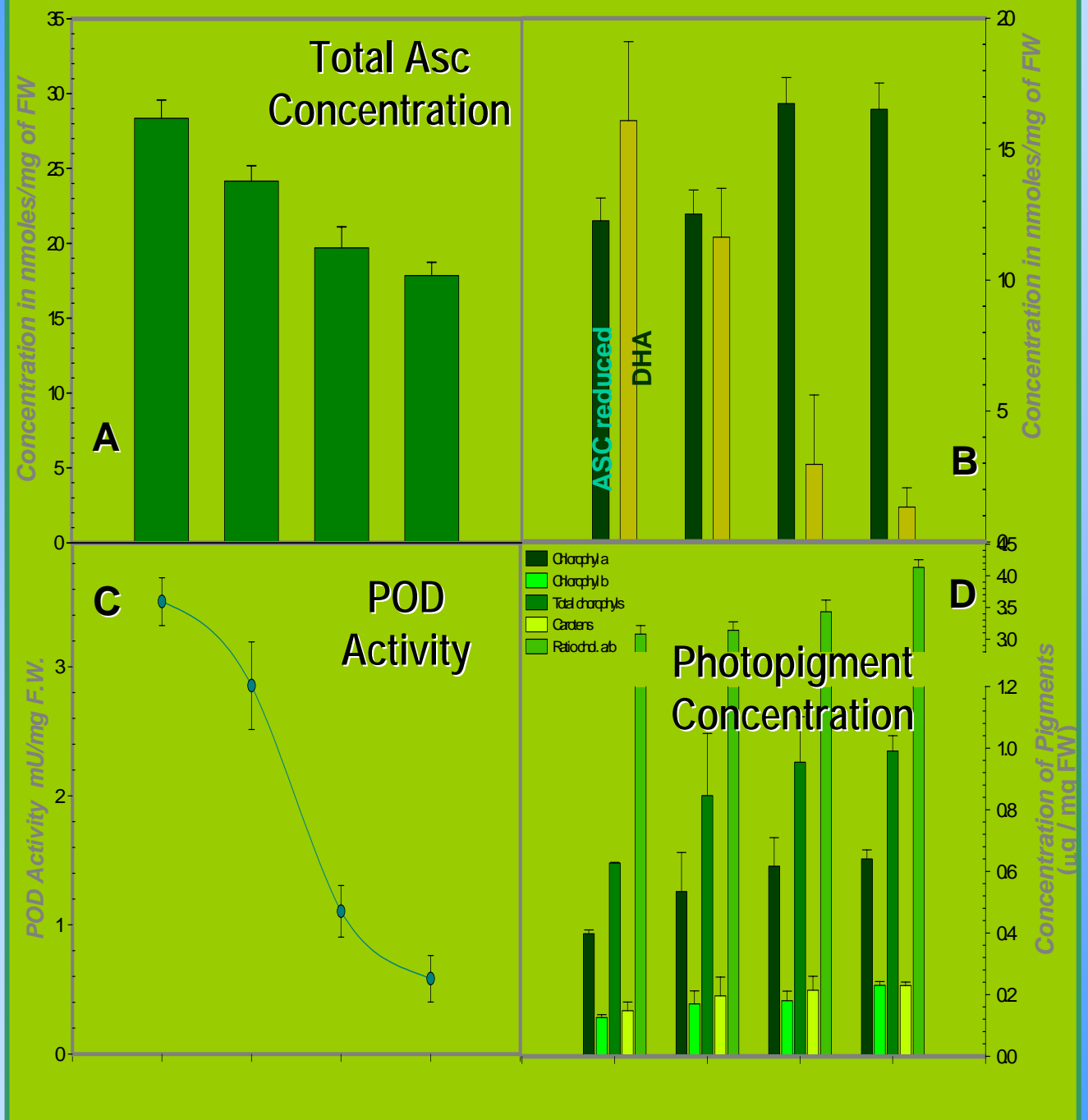
Functional features:	Inducibility by metals, organic chemicals and oxidative stress Metal detoxification (cadmium, copper) Trace element homeostasis (copper, zinc) Radical scavenging Gene regulation «Stress proteins»
----------------------	--

**INVESTIGACIÓN:
ESTRÉS OXIDATIVO CAUSADO POR
METALES EN *Spartina densiflora***



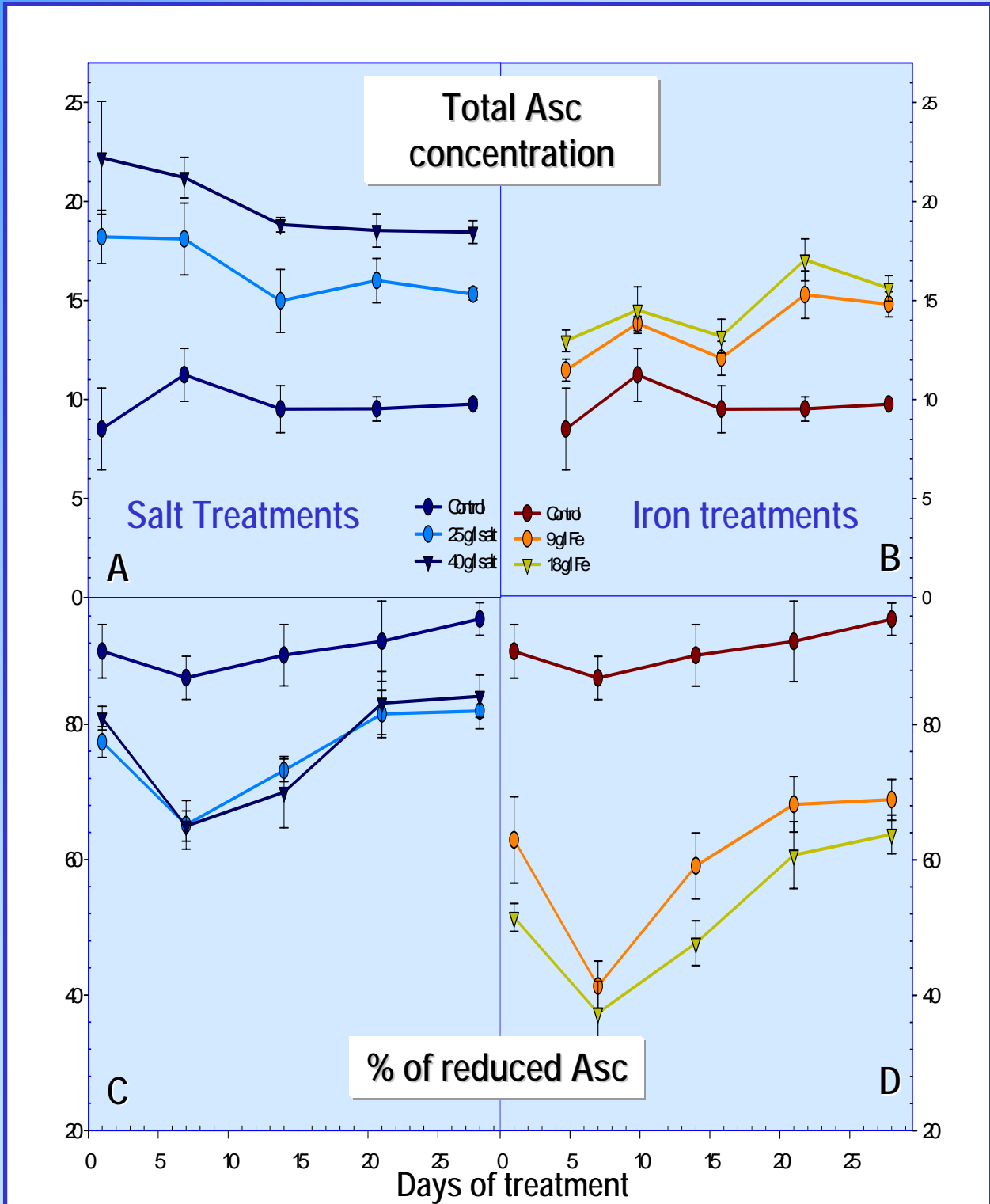
Spartina densiflora (1)

Acclimatisation Period



Aclimatación de *Spartina densiflora*

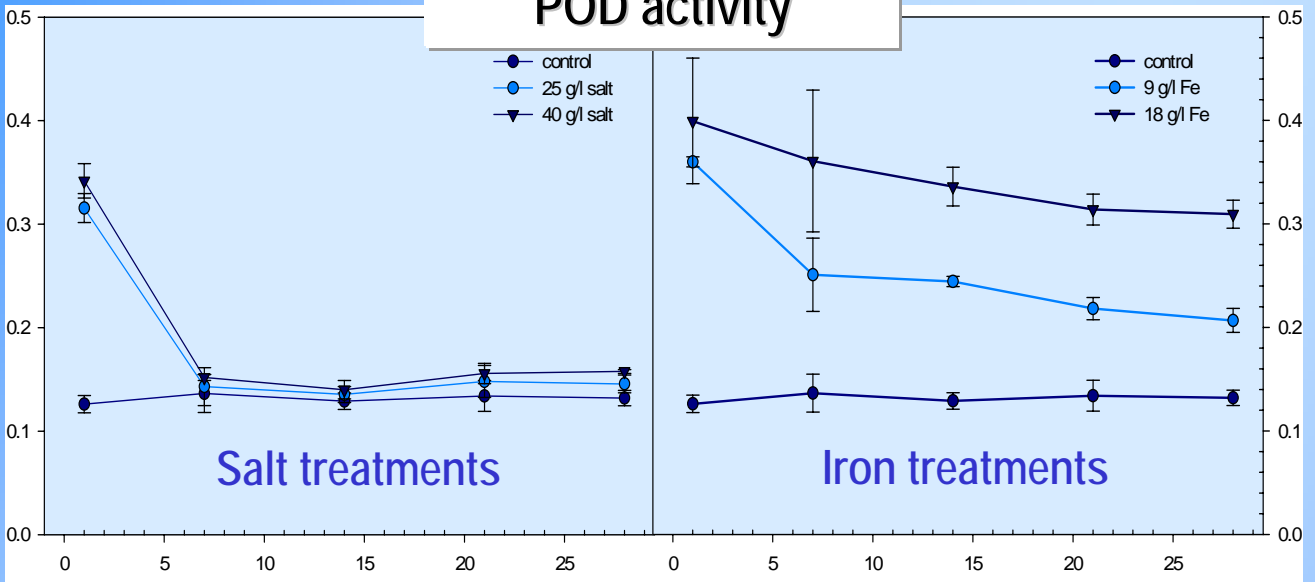
Spartina densiflora (2)



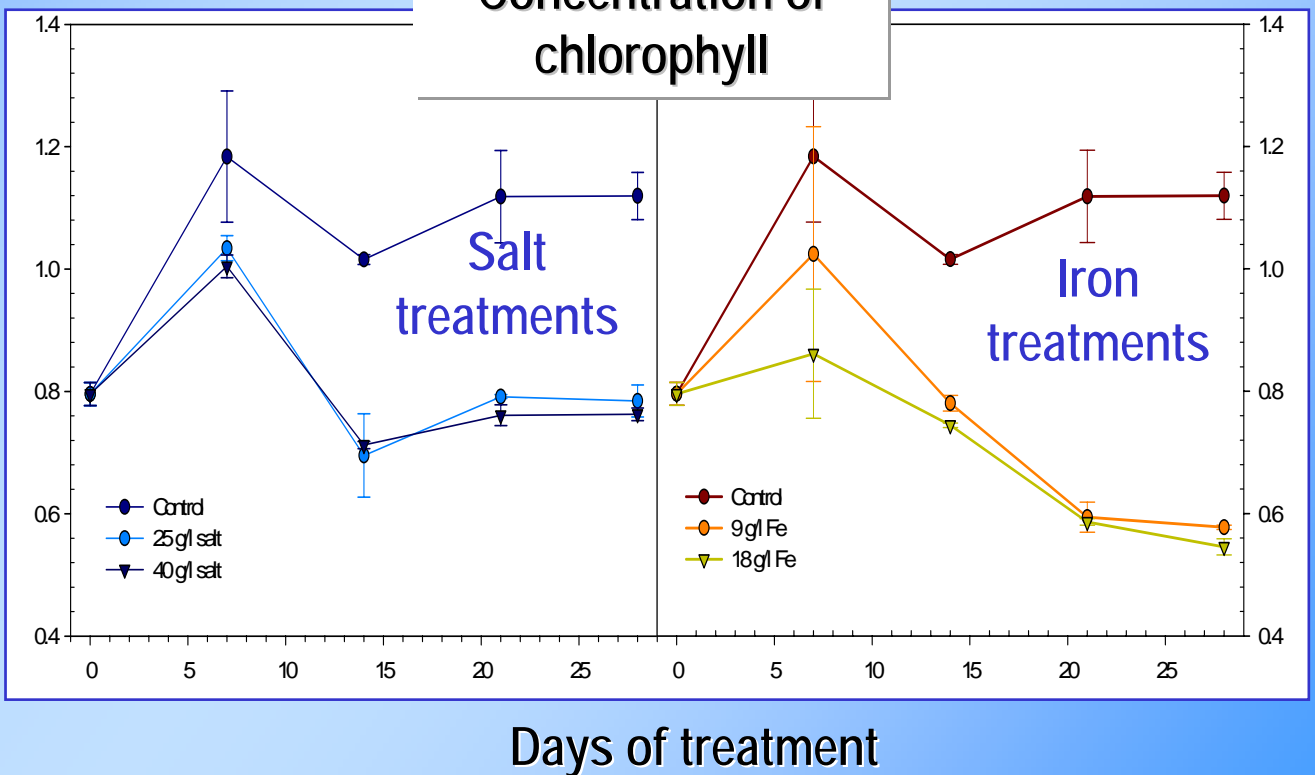
Estrés salino o férrico en *Spartina densiflora* (1)

Spartina densiflora (3)

POD activity



Concentration of chlorophyll



Estrés salino o férrico en *Spartina densiflora* (2)

**CONCLUSIONES DE LOS ESTUDIOS EN
Spartina densiflora (Martínez D., De las Heras M.A.,
Navarro F., Torronteras R. y Córdoba F. 2004)**

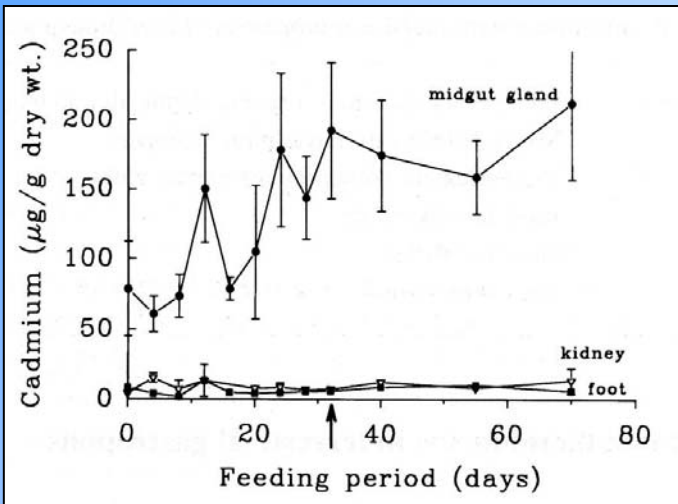
- El medio donde se desarrolla *S.densiflora* es estresante, por contener concentraciones excesivas y variables de sal, metales, etc.
- Su aclimatación a condiciones controladas de laboratorio, en ausencia de agentes contaminantes, disminuye el estrés, lo que se manifiesta por la disminución de la síntesis de ácido ascórbico, el aumento del ascorbato reducido, la disminución de actividad peroxidasa, y el incremento en la síntesis de clorofilas.
- Cuando la planta se somete en condiciones controladas de laboratorio a exceso de sal o de hierro (agentes estresantes), la planta responde rápidamente, activando su sistema defensivo antioxidante, aunque se observan daños como, por ejemplo, una disminución de la concentración de clorofilas.

**INVESTIGACIÓN:
CADMIO EN EL CARACOL
COMÚN (*Helix pomatia*) y LA TRUCHA
ALPINA (*Salvelinus alpinus*)**



Helix pomatia (1)

Estudios de acumulación de cadmio en el caracol (*Helix pomatia*)



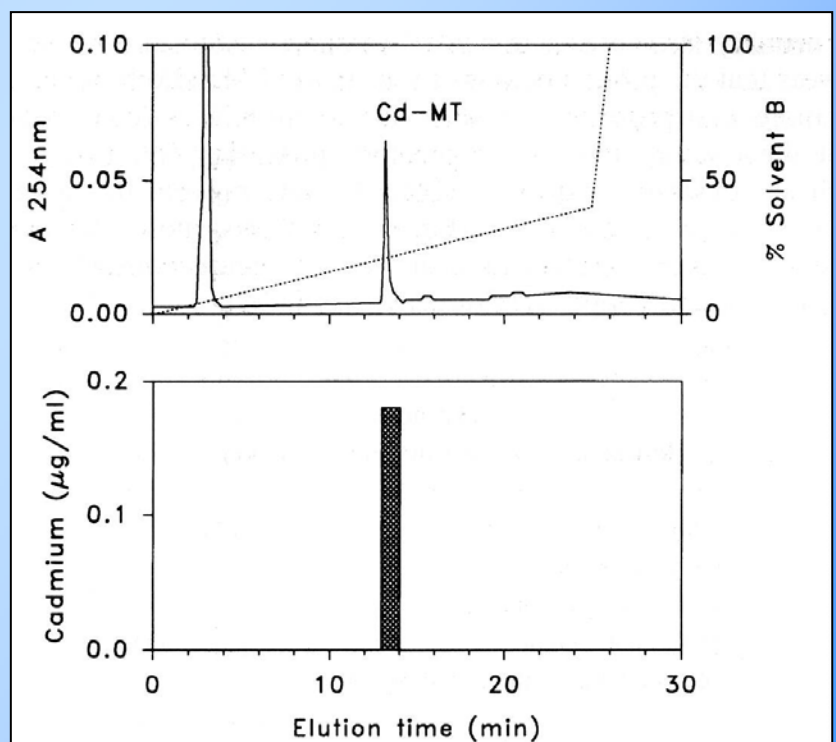
Acumulación de Cd en diferentes órganos de *H.pomatia*.

Se añadió Cd durante 32 días (hasta la flecha).

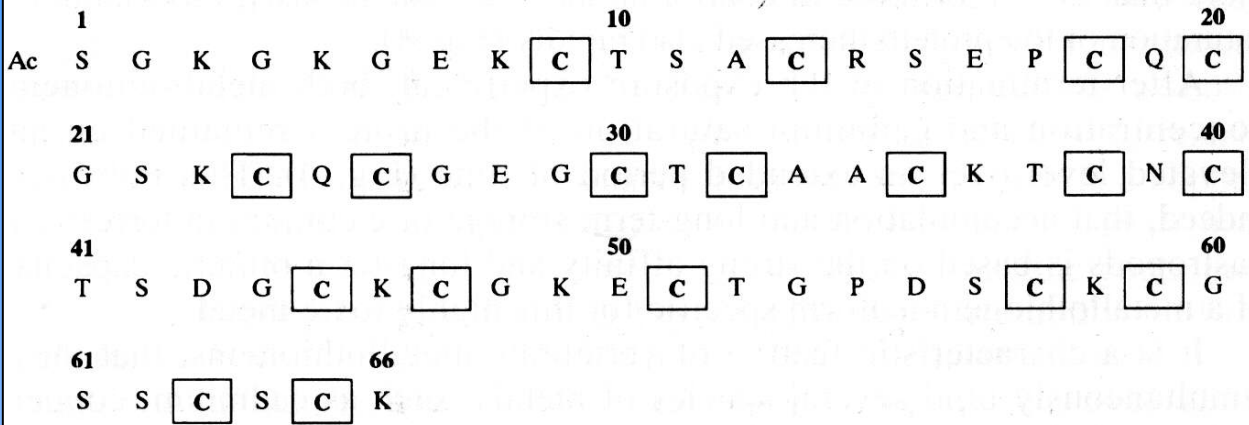
Fraccionamiento de MT que ligan Cd en la glándula digestiva.

Arriba: absorbancia 254 nm (proteínas).

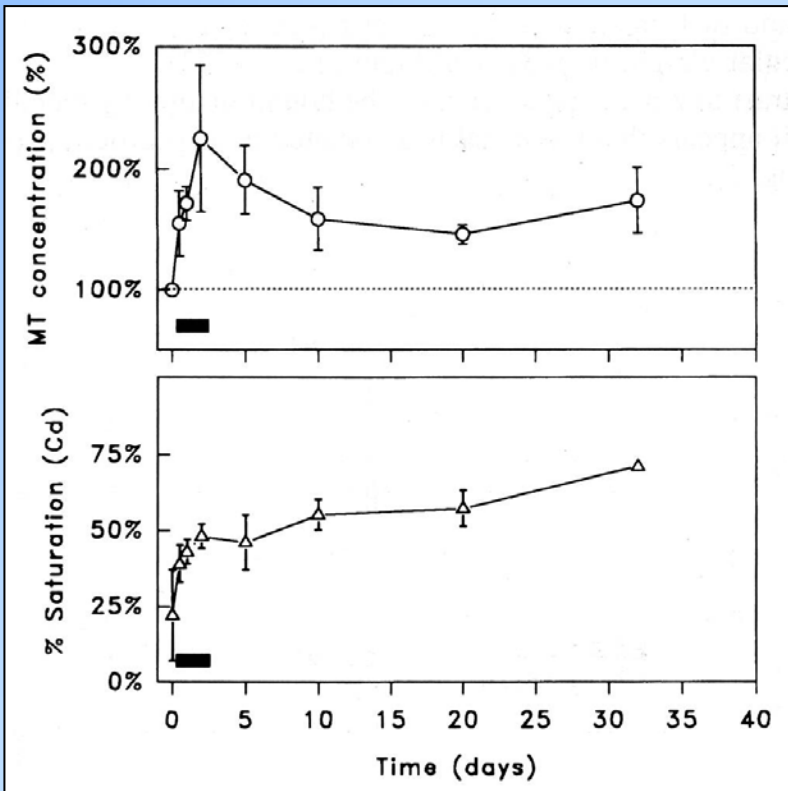
Abajo: contenido de Cd.



Helix pomatia (2)



Primary Structure of *Helix pomatia* Metallothionein



Inducibilidad de la Mt-Cd en *H.pomatia*.

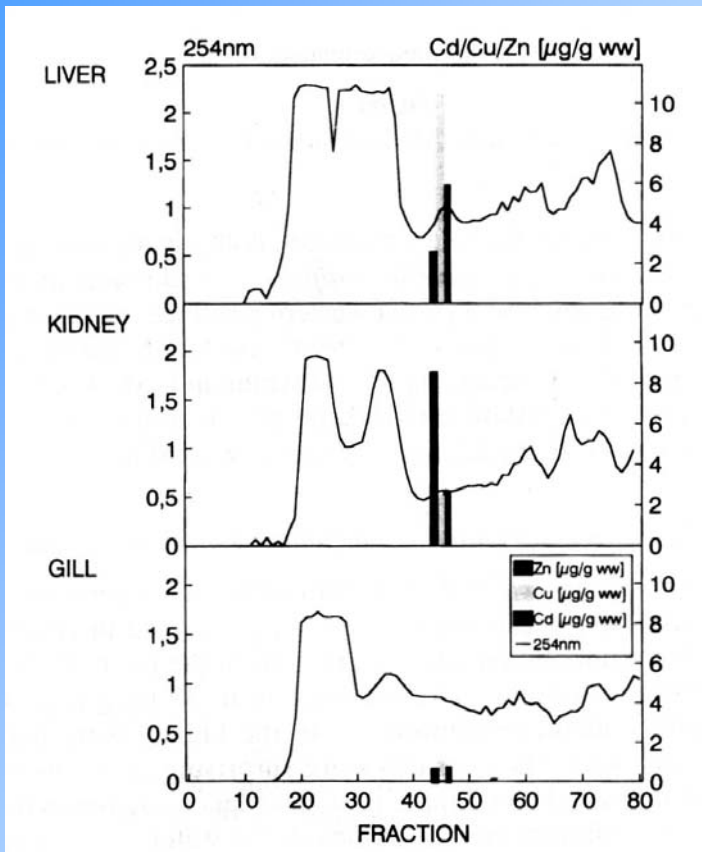
La barra negra en abcisas indica el periodo de dieta rica en Cd.

Arriba: concentración de MT.

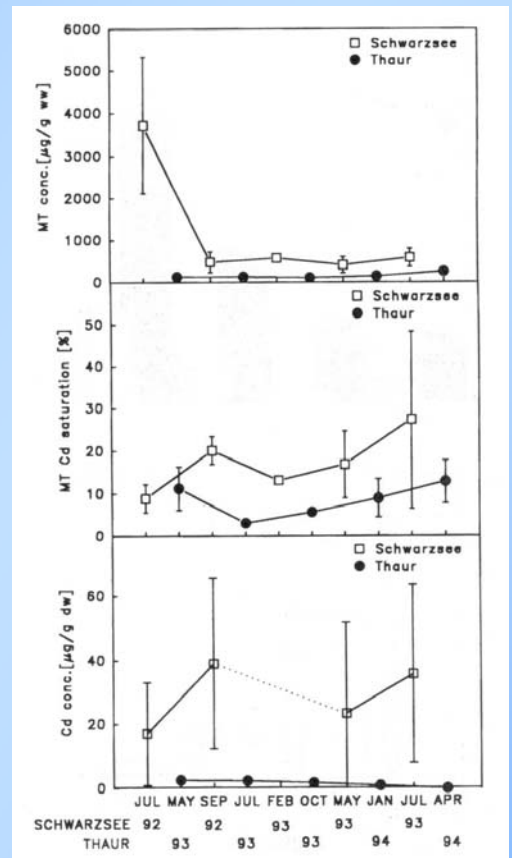
Abajo: Porcentaje de saturación de Mt por Cd.

Salvelinus alpinus (1)

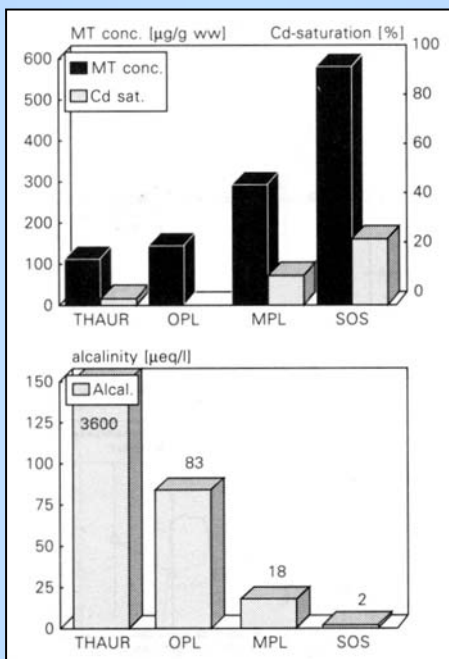
Estudios de acumulación de cadmio en la trucha alpina (*Salvelinus alpinus*)



Fraccionamiento de MT

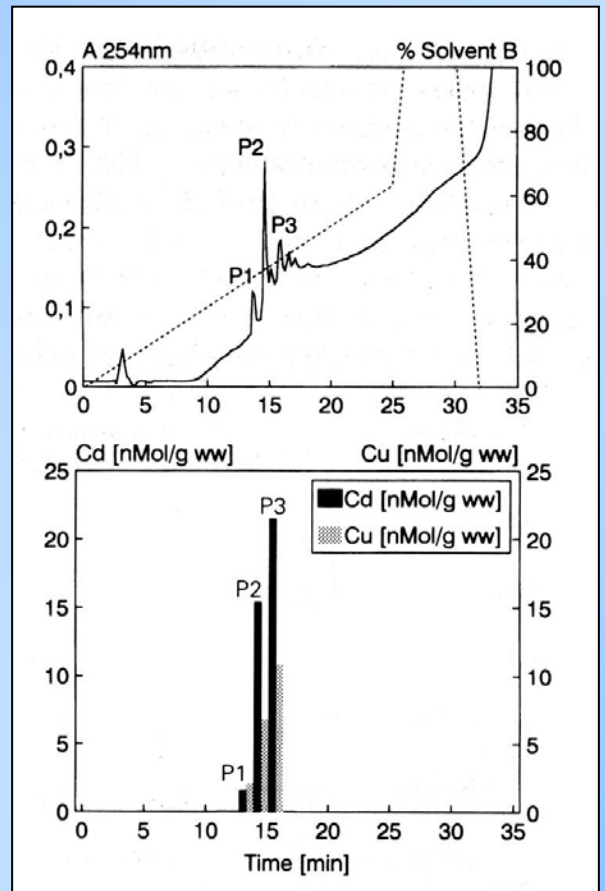
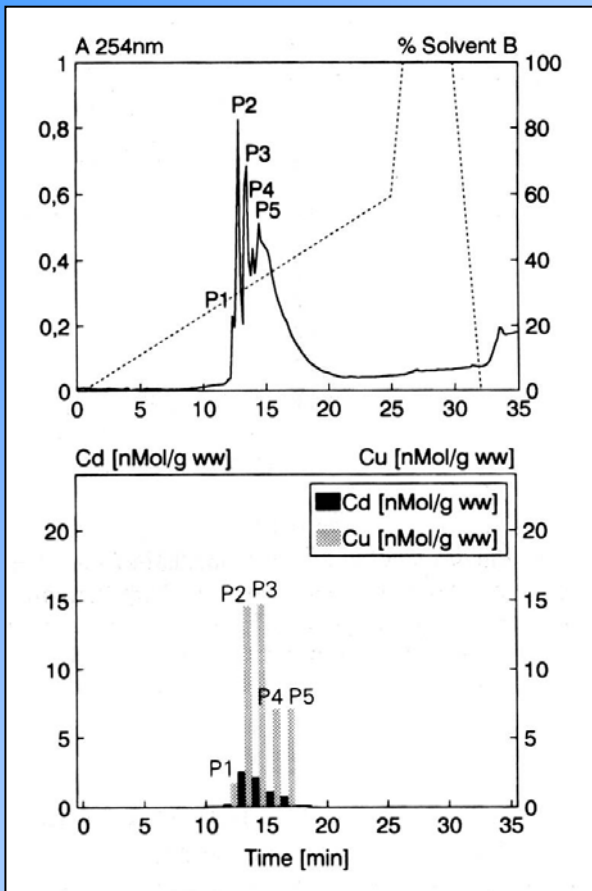


Patrón estacional de Mt-Cd en hígado. Se compara una zona contaminada (Schwarzsee) y una no contaminada (Thaur)



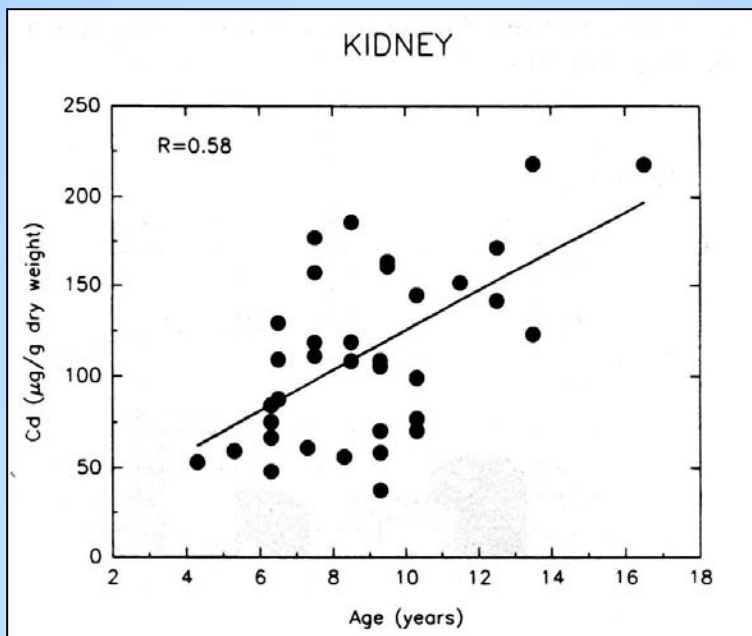
Correlación negativa entre la concentración de Mt y la alcalinidad de los lagos alpinos.
 Arriba: Mt y saturación por Cd.
 Abajo: nivel de alcalinidad.

Salvelinus alpinus (2)



Fraccionamiento de Mt en hígado (izquierda) y riñón (derecha) de trucha alpina.

Arriba: proteína. Abajo: concentración de Cd y Cu.



Correlación lineal entre la edad de la trucha y la concentración de Cd en riñón de truchas contaminadas.

METALOTIONEÍNAS. CONCLUSIONES DE LOS ESTUDIOS EN CARACOL Y TRUCHA ALPINA (Dallinger, 1995).

En el caracol...

- Existe una Mt específica responsable de la acumulación de Cd en la glándula digestiva.
- Es un mecanismo a largo plazo de detoxificación de Cd.
- Existen otras proteínas que ligan Cu o Zn. Esto permite a los animales acumular mucho Cd sin afectar a la regulación de elementos esenciales.

En la trucha alpina...

- Existen varias Mt que acumulan Cd, aunque inespecíficamente porque también acumulan Cu o Zn.
- La acumulación de Cd interfiere con la regulación de elementos esenciales.
- La solución al problema anterior se logra aumentando la concentración de Mt en hígado o incrementando la carga de Cd en isorformas de Mt en riñón.
- El riñón es el lugar de almacenamiento a largo plazo de Cd; el hígado o las branquias son almacenamientos temporales.
- La acumulación en riñón produce daños a largo plazo, por lo que la acumulación de Cd no es un mecanismo verdadero de detoxificación.