

# MANIFESTACIONES CUTÁNEAS COMO PARÁMETRO DE TERATOGENICIDAD EN LA INTOXICACIÓN CON METALES PESADOS

## CUTANEOUS SIGNS AS PARAMETER IN TERATOGENICITY BY HEAVY METAL INTOXICATION

N L PAUZA \*, M J PÉREZ COTTI \*\*, M L GODAR \*\*, Y SOPENA \*\*\*,  
A M FERRAMOLA DE SANCOVICH \*\*\*\* y H A SANCOVICH \*\*\*\*

**SUMMARY:** Teratogenic effects of heavy metals (Cd<sup>2+</sup>- and Pb<sup>2+</sup>-acetates and Cu<sup>2+</sup>-sulphate) were studied on chick embryos, after the administration as a single dose. Test materials were injected into the yolk on day 12 of incubation. Tested concentrations were (nmole/g egg): Cd<sup>2+</sup> Dose 1(D1): 0.16 and Dose 2 (D2): 0.32; Pb<sup>2+</sup>: D1: 8.0 and D2: 16.0 and Cu<sup>2+</sup>: D1: 1.7 and D2: 3.3. Evaluations were performed after *in ovo* incubation for 12 and 60 hours. Embryonic mortality did not increase at the two dose levels of Cu<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>, while Cd<sup>2+</sup> caused 30 and 86% of mortality, showing dose and time responses. Eggs treated with D2 of Cd<sup>2+</sup> for 60 hs, significantly decreased the average of body mass embryo, when compared to the control group. Cd<sup>2+</sup> administration was responsible for the most severe teratogenic signs compared to Cu<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> treatments. It can be concluded that heavy metals are embryotoxic and teratogenics. We suggest that cutaneous and liver hemorrhages are the best signs to evaluate teratogenicity induced by Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>.

**KEY WORDS:** Heavy metals, teratogenic effects, toxic effects, chick embryos, yolk sac membrane.

Rev Argent Dermatol 2007; 88: 28-37.

### INTRODUCCIÓN

Los metales pesados son los tóxicos más antiguos conocidos por el hombre. En un mundo industrializado, las fuentes de exposición a metales son ubicuas tanto en el campo laboral como a partir del agua, los alimentos o el ambiente contaminado.

Los tóxicos químicos, a cualquier nivel de exposición crónica, afectan la bioquímica humana. El organismo humano tiene mecanismos para transformar, eliminar o compartimentalizar los tóxicos. No obstante, estos mecanismos pueden ser inadecuados o insuficientes, afectando sobre todo a las personas más susceptibles como los ancianos, niños e individuos con hábitos nutritivos pobres o fisiológicamente estresados. Los metales pesados, como cualquier otro grupo de agentes químicos, pueden producir en los organismos vivos una patología aguda, desarrollada rápidamente después del contacto con una dosis elevada, o crónica por exposición a una dosis baja repetidas veces durante cortos plazos. La exposición crónica a estos metales lleva a menudo a una acumulación órgano-específica, que compromete la fisiología de ese órgano. Dado que aproximadamente un tercio de las proteínas requieren iones metálicos para el mantenimiento de su estructura o para desempeñar su función, las

\* Becaria Doctorado Universidad de Buenos Aires.

\*\* Alumnas de la Carrera de Ciencias Biológicas.

\*\*\* Jefe de Trabajos Prácticos. Cátedra de Química Biológica.

\*\*\*\* Investigadores de CONICET.

Laboratorio de Porphirinas. Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria, Pabellón II, 4° Piso, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

e-mail: lpauza@qb.fcen.uba

biomoléculas más afectadas son las proteínas con actividad enzimática, causando patologías multisistema.

Las enfermedades ocupacionales de la piel provocadas por metales pesados despiertan un especial interés <sup>1</sup>. Minerales traza, como el  $\text{Cu}^{2+}$  son esenciales para el desarrollo y crecimiento de los embriones de aves <sup>2,3</sup>, sin embargo, tanto cantidades insuficientes como excesivas pueden ser igualmente perjudiciales, sobre todo para un organismo en desarrollo. Entre los metales de interés industrial, toxicológico y teratogénico  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  son contaminantes del medio ambiente y tóxicos para todos los sistemas estudiados <sup>4,5</sup>.

Los embriones de pollo son un sistema apropiado para el estudio de los efectos toxicológicos y teratogénicos de diferentes drogas. La utilidad de los embriones de pollo para estudios teratológicos radica en tres importantes hechos: (1) cada embrión se desarrolla en un ambiente autocontenido, libre de variables dependientes de la madre como la nutrición y la disfunción placentaria; (2) un período de 21 días de gestación provee rápidos resultados y (3) la habilidad de poder manipular un número preciso de huevos viables, así como la exactitud de la dosis administrada a cada huevo, provee mayor control de los procedimientos experimentales <sup>6</sup>.

El objetivo principal de este trabajo fue estudiar la acción teratogénica de metales pesados en aves y poder elaborar así, un modelo útil para la interpretación de sus efectos en humanos y las consecuencias de su distribución en el medioambiente.

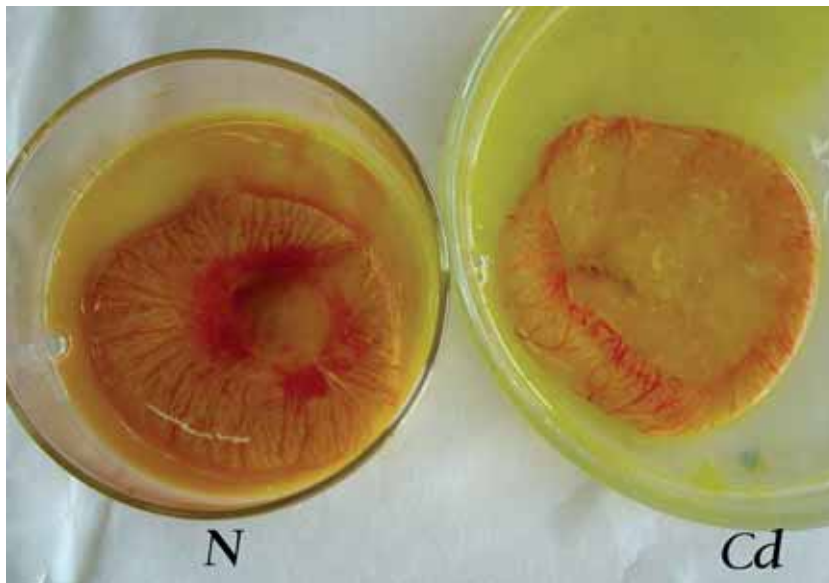
## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Los huevos fértiles de gallinas White Leghorn de  $60 \pm 2$  g se incubaron dos o tres días después de la oviposición, en incubadora manual a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  de temperatura, en condiciones de humedad apropiadas y rotados dos veces por día. Para los estudios se utilizaron lotes de embriones de 12 días de incubación.

### Ensayos "in vivo"

Se seleccionaron los huevos viables examinados en un ovoscopio. Se practicó un orificio en la cámara de aire y se transparentizó con solución fisiológica a  $37^\circ\text{C}$ . Se identificó visualmente la yema donde se inyectaron dos dosis diferentes de Cd ( $\text{CH}_3\text{COO}$ )<sub>2</sub> Dosis 1 (D1): 0,16 nmoles/g huevo; Dosis 2 (D2): 0,32 nmoles/g huevo) o Pb ( $\text{CH}_3\text{COO}$ )<sub>2</sub> (D1: 8,0 nmoles/g huevo; D2: 16,0 nmoles/g huevo) o Cu ( $\text{SO}_4$ ) (D1: 1,7 nmoles/g huevo; D2: 3,3



**Fig 1:** Sacos vitelinos de embriones normales e intoxicados con  $\text{Cd}^{2+}$  a D2 y durante 60 hs, según se indicó en Materiales y Métodos.

nmoles/g huevo). Los lotes de control (C), fueron inyectados con los volúmenes correspondientes de solución fisiológica, dado que las soluciones de los metales se prepararon con ella. Se cerraron los orificios con cinta de tela, identificándose así a los ejemplares y se continuó con la incubación "in ovo" durante 12 y 60 hs más. Se procedió a la apertura de los huevos, se realizó la observación macroscópica y se tomaron las fotografías de los ejemplares en estudio, así como de los sacos vitelinos (SV) e hígados extraídos de los animales.

## RESULTADOS

En una publicación anterior<sup>7</sup> hemos descrito que la intoxicación "in ovo" con Cd<sup>2+</sup> produjo el mayor porcentaje de mortalidad de embriones de pollo (30% con D1 y D2 a 12 hs y 36% con D1 y 86% con D2 a 60 hs), comparado con los otros metales pesados Cu<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup>.

En este trabajo se estudió el efecto "in ovo" de dos dosis de Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup> sobre el desarrollo de embriones de pollo, incubados con los metales a diferentes tiempos. Los ejemplares viables fueron sometidos a un examen macroscópico, a fin de registrar los defectos provocados por los distintos metales. El número total de embriones con signos de teratogenia para cada metal se indica en la Tabla I. Se debe tener en cuenta que al causar el Cd<sup>2+</sup> el mayor porcentaje de mortalidad, el número de embriones viables analizados resultó menor.

Entre los ejemplares N, C1 y C2 se observó correlación entre los pesos de los embriones, de lo que se deduce que la inyección del vehículo (solución fisiológica), no afectó el desarrollo del embrión.

Puede verse en la Tabla I que el Cd<sup>2+</sup> fue el único metal que provocó una disminución significativa en el peso de los embriones para la dosis mayor y para el tiempo de intoxicación más prolongado (60 hs). Cu<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup> no mostraron influir sobre el peso de los ejemplares a ninguna dosis, ni estadio examinado.

Las anomalías macroscópicas observadas para el caso de la intoxicación con Cd<sup>2+</sup> fueron:

- En SV se apreció variación en la consistencia de la yema y disminuciones en el tamaño, resistencia mecánica y vascularización (Fig 1).
- En el cuerpo de los embriones se observó disminución en el tamaño (Fig 2), aumento de la fragilidad ósea, derrames cutáneos (Fig 2) y hepáticos (Fig 3 y 4) e inflamación de la vesícula biliar y del hígado (Fig 4).

Para los tiempos de intoxicación más cortos, el Cd<sup>2+</sup> produjo un mayor efecto con la dosis más elevada (D2), observándose hasta en un 40% de los ejemplares derrames cutáneos y hepáticos, fragilidad del SV e inflamación hepática, respecto de los ejemplares C. Estos defectos se elevaron hasta en un 60% de los embriones para los tiempos de intoxicación más largos.

Las anomalías fenotípicas observadas para los casos de intoxicación con Cu<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup> fueron mucho menores que para los casos de intoxicación con Cd<sup>2+</sup>. Se observó menor cantidad de derrames cutáneos en los embriones intoxicados con Pb<sup>2+</sup> respecto de los tratados con Cu<sup>2+</sup> (Fig 5).

La administración de Cu<sup>2+</sup> produjo en el 10% de los ejemplares estudiados, derrames hepáticos y cutáneos con ambas dosis a las 12 y 60 hs de tratamiento. La inflamación hepática se vio acompañada de inflamación de la vesícula biliar y sólo ocurrió en un bajo porcentaje (8%) para la dosis más alta y el mayor tiempo de intoxicación (Fig 5). La fragilidad del SV no se vio afectada en ninguno de los grupos evaluados en los estudios realizados con este catión.

El Pb<sup>2+</sup> no produjo anomalías fenotípicas a tiempos cortos (12 hs). Se registró variación dosis-dependiente en la aparición de los derrames cutáneos (8% para la D1 y 15% para la D2) a tiempos largos (60 hs). Esta dependencia con la dosis, sin embargo, no existió para los derrames hepáticos y para la fragilidad del SV. Este metal no produjo inflamación hepática con ninguna de las dosis y tiempos evaluados.

El Cd<sup>2+</sup> se destacó como el agente teratogénico más potente entre los tres cationes estudiados, sobre los embriones de pollo en el período evaluado.

TABLA I

**“TERATOGENIA Y VARIACIONES DEL PESO DE EMBRIONES DE POLLOS POR ACCIÓN “IN OVO” DE DISTINTAS DOSIS DE METALES A 12 Y 60 HS”.**

Metal	Dosis	Tiempo incubación (hs)	Peso embrión ± SE (DI)	A/B
N	0	12	13,87 ± 1,2 (12)	0/18
		60	15,50 ± 1,3 (14)	0/18
C1	Solución fisiológica	12	13,89 ± 1,2 (12)	0/18
		60	15,45 ± 1,3 (14)	0/18
C2	Solución fisiológica	12	13,89 ± 1,1 (12)	0/18
		60	15,34 ± 1,3 (14)	0/18
Cd <sup>2+</sup>	1	12	13,56 ± 1,2 (12)	2/14
		60	14,07 ± 1,2 (14)	4/13
	2	12	13,86 ± 1,2 (12)	2/14
		60	12,30 ± 0,9 (14)*	5/5
Cu <sup>2+</sup>	1	12	13,65 ± 1,2 (12)	1/18
		60	14,89 ± 1,3 (14)	0/18
	2	12	13,89 ± 1,2 (12)	1/18
		60	14,10 ± 1,3 (14)	1/18
Pb <sup>2+</sup>	1	12	13,79 ± 1,0 (12)	0/18
		60	14,25 ± 1,2 (14)	2/17
	2	12	14,01 ± 1,2 (12)	0/18
		60	13,21 ± 1,0 (14)	2/17

Dosis según Materiales y Métodos. El número entre paréntesis en el peso indica días de incubación (DI). A: número de embriones con signos de teratogenia. B: número total de embriones analizados. Los resultados fueron sometidos al test “t” de Student.  $P < 0.05$  se tomó como significativo\*.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El crecimiento de la actividad industrial y agropecuaria implica la utilización de un número cada vez mayor de sustancias químicas que penetran en los ecosistemas, y afectan a todos los organismos incluyendo al hombre<sup>8</sup>. En nuestro país se han encontrado niveles de contaminación importantes con

metales pesados en la provincia de Buenos Aires y en el Alto Valle del Río Negro y Neuquén<sup>9,10</sup>.

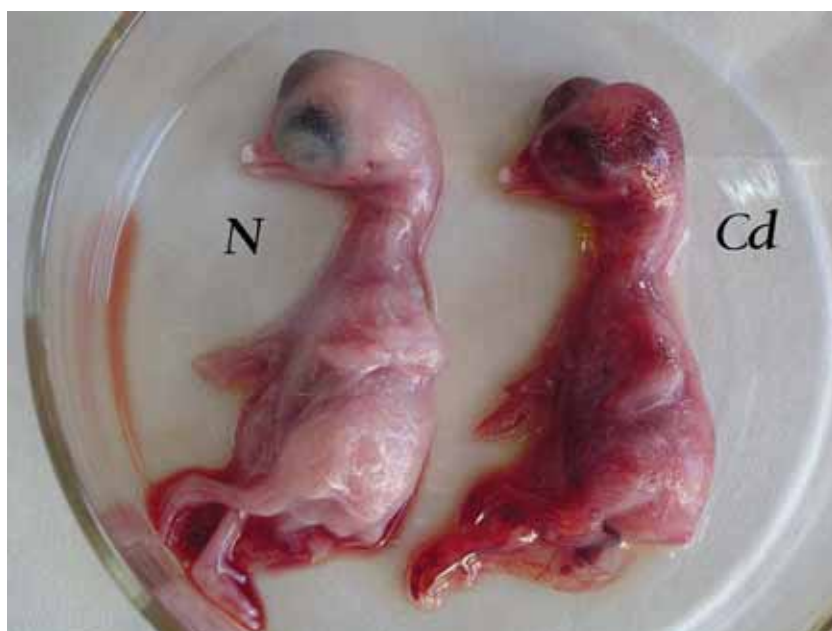
El Cd, un metal de transición con una vida media extremadamente larga (20 años), se ha convertido en las últimas décadas, en un contaminante ambiental ubicuo que tiende a utilizarse en forma más extensiva en la industria y la agricultura<sup>11</sup>. El Cd<sup>2+</sup> es dermatológico

gicamente relevante ya que está presente en la formulación de suspensiones dermatológicas para tratamientos antiseborreicos<sup>12</sup> y es empleado como pigmento amarillo en los tatuajes, y puede producir reacciones fototóxicas por exposición al sol de la piel tatuada<sup>1</sup>.

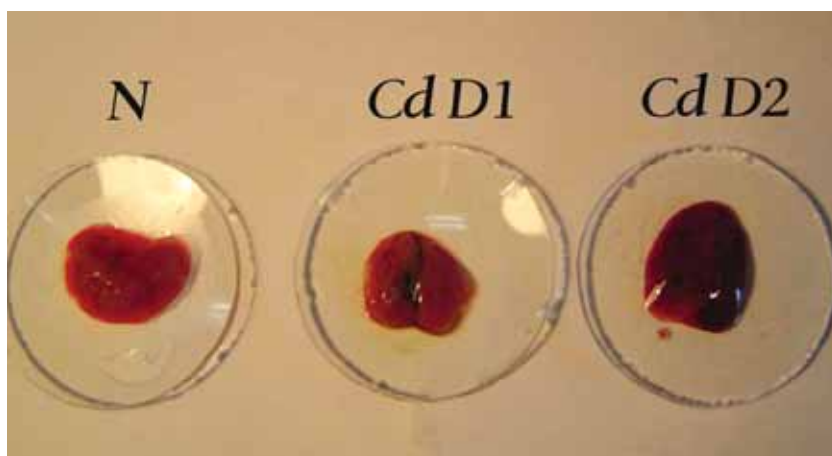
Los estudios presentados en este trabajo indican que los efectos teratogénicos producidos por el  $\text{Cd}^{2+}$  sobre los embriones, así como las alteraciones sobre el SV, fueron mucho mayores que los producidos por los

otros metales estudiados. Los mayores daños se observaron con la mayor dosis y los tiempos más largos de exposición a los tres metales.

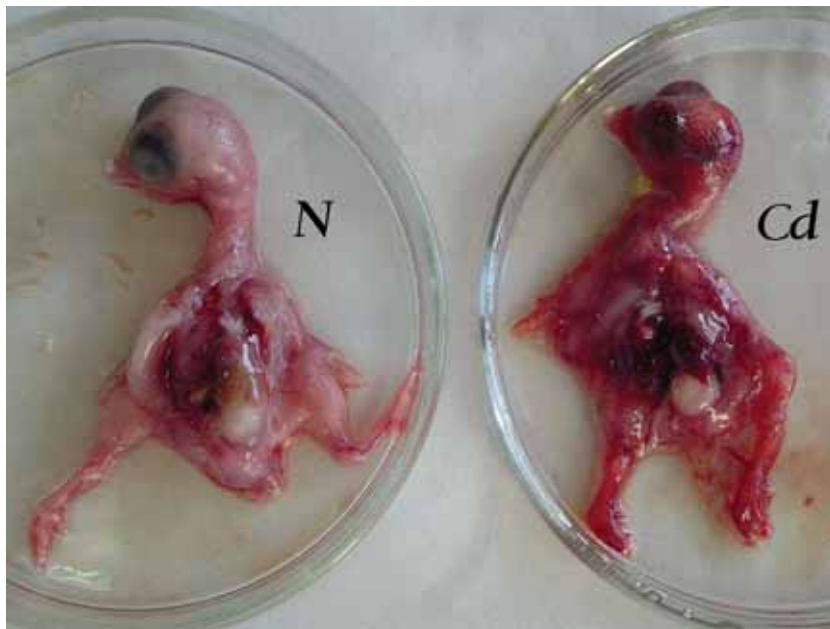
El acceso del agente teratogénico a los tejidos en crecimiento es crucial para la acción del compuesto. El  $\text{Cd}^{2+}$  no atraviesa eficientemente la barrera vitelina<sup>13</sup>, por lo que las causas de los efectos letales y teratogénicos serían complejas y podrían implicar diversas moléculas y mecanismos, conocidos o no. Se demuestra en este trabajo, sin duda alguna,



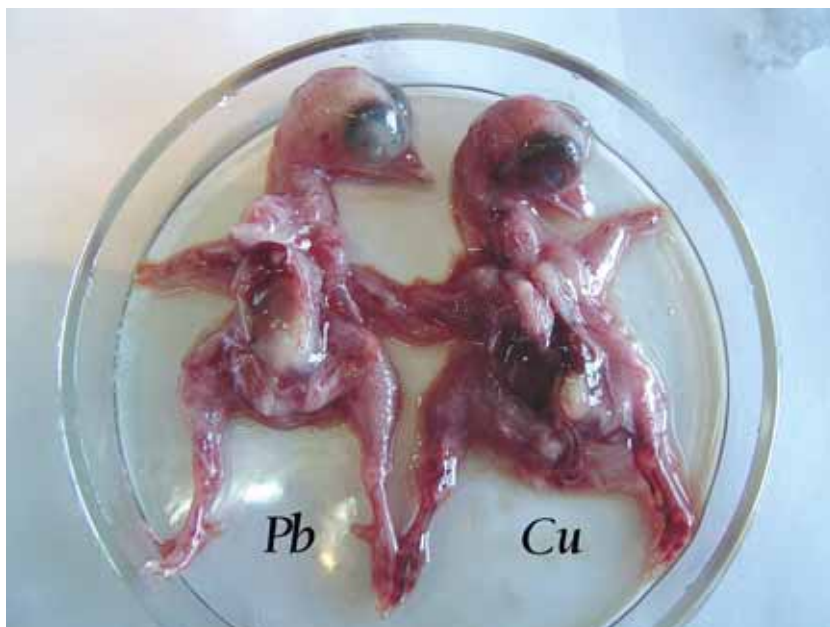
**Fig 2:** Embriones normales e intoxicados con  $\text{Cd}^{2+}$  a D2, durante 60 hs, según se indicó en Materiales y Métodos.



**Fig 3:** Hígados de embriones normales e intoxicados con  $\text{Cd}^{2+}$  a D1 y D2 durante 60 hs, según se indicó en Materiales y Métodos.



**Fig 4:** Embriones normales e intoxicados con  $Cd^{2+}$  a D2 durante 60 hs, según se indicó en Materiales y Métodos.



**Fig 5:** Embriones intoxicados con  $Cu^{2+}$  a D2 y  $Pb^{2+}$  a D2, durante 60 hs, según se indicó en Materiales y Métodos.

una acción específica provocada por el metal. Una de las causas de su efectos sistémicos, podría ser la alteración de la homeostasis mineral esencial provocada en el SV, único tejido en el que estaría presente, y ello induciría un desbalance mineral en el cuerpo del em-

brión. Esta homeostasis mineral es mantenida a través de un intrincado y altamente regulado proceso de captación, almacenamiento y excreción, donde un equipo específico de transportadores provee este delicado balance. Alteraciones en las concentraciones

intracelulares de los metales pueden conducir a severas enfermedades y hasta la muerte celular.

Uno de los mecanismos que poseen las células para protegerse de los metales pesados y/o regular la concentración de metales traza esenciales, es la unión a las metalotio-neínas (MT). Estas proteínas son de bajo peso molecular (alrededor de los 10.000), tienen unido  $\text{Cd}^{2+}$ , están presentes principalmente en la fracción citosol y son inducibles por una variedad de agentes citotóxicos como metales, así como por procesos inflamatorios y condiciones de estrés, confiriendo además resistencia frente a estos procesos <sup>14</sup>. Las MT de pollos guardan estrecha homología con sus análogos en mamíferos <sup>15</sup>. Las funciones biológicas de estas proteínas están involucradas con el metabolismo de los metales, cumpliendo un rol fundamental en el almacenamiento y detoxificación de los metales pesados y de regulación de elementos esenciales <sup>16</sup>. Una de las funciones tal vez más importantes de las MT, es la de regulación del metabolismo del  $\text{Zn}^{2+}$ . Las MT del SV, que forman parte del transporte de minerales esenciales hacia el embrión, se sobresaturarían uniéndose sólo  $\text{Cd}^{2+}$  al estar presente este metal en exceso, disminuyendo y hasta inhibiendo el transporte de los minerales nutrientes hacia el embrión. Estos efectos podrían ser los responsables, en parte, de la teratogenicidad y la disminución en el tamaño y peso de los animales expuestos a la intoxicación con  $\text{Cd}^{2+}$ .

El Pb es probablemente el metal que mayor distribución presenta en el ambiente. Las principales fuentes son las minas de galena, soldaduras, cañerías, manufactura de baterías y la nafta. El Pb posee un largo tiempo de permanencia en comparación con otros contaminantes y dada su baja solubilidad y su relativa libertad a la degradación microbiana, permanecerá accesible para la cadena alimentaria y en un futuro para el metabolismo humano <sup>17</sup>. El metal es absorbido por piel y causa neurotoxicidad.

El  $\text{Pb}^{2+}$ , al igual que el  $\text{Cu}^{2+}$ , puede pasar a la circulación embrionaria <sup>18</sup> y así ejercer una interacción directa sobre el embrión a través de múltiples compuestos diana. Como puede verse, las concentraciones de  $\text{Pb}^{2+}$  utilizadas en la intoxicación de los embriones fue-

ron 50 veces mayores a las utilizadas con  $\text{Cd}^{2+}$ . Sin embargo, los efectos teratogénicos fueron más leves respecto de los observados luego de la intoxicación con  $\text{Cd}^{2+}$ . La administración de  $\text{Pb}^{2+}$  afecta la homeostasis mineral general, interfiriendo esencialmente con el metabolismo del  $\text{Zn}^{2+}$  y del  $\text{Ca}^{2+}$  <sup>13</sup>. Además de desequilibrar el delicado balance mineral necesario para el normal desarrollo del embrión, el  $\text{Pb}^{2+}$  forma complejos con los grupos fosfato de los nucleótidos y ácidos nucleicos y cataliza la hidrólisis no enzimática de nucleósidos trifosfato, principalmente el ATP. El  $\text{Pb}^{2+}$  muestra gran afinidad por los grupos sulfhidrilos, y se une a ellos inhibiendo así las enzimas que presentan aminoácidos con estos grupos como esenciales para su actividad biológica. En nuestros estudios, este metal pesado sólo produjo anomalías fenotípicas leves. La baja teratogenicidad podría explicarse debido a un efecto protector especial ejercido por ciertas proteínas denominadas proteínas de unión a  $\text{Pb}^{2+}$  [*Pb<sup>2+</sup> Binding Proteins* ( $\text{Pb}^{2+}\text{BP}$ )] <sup>19</sup>. Estas ejercerían un rol protector en la mediación de la toxicidad del metal, ya que gran parte del  $\text{Pb}^{2+}$  en circulación se encontraría secuestrado, y por lo tanto, disminuida su acción.

El Cu es el tercer elemento traza más abundante en el cuerpo humano, después del Fe y Zn y es esencial para el desarrollo y crecimiento de los embriones de aves y mamíferos <sup>18</sup>. Este metal es liberado al medio ambiente por fuentes naturales (humos de incendios forestales y polvos de las minas), y antropogénicas (producción de aceros y fundiciones). Es poco frecuente como alergénico y es considerado carcinogénico <sup>1</sup>. Sales de Cu como sulfatos y óxidos pueden causar irritación de la piel. Los trabajadores que lo manipulan pueden presentar un color verde oscuro en pelo, piel y dientes <sup>1</sup>. El Cu puede existir en dos estados de oxidación: una forma oxidada ( $\text{Cu}^{2+}$ ) y una forma reducida ( $\text{Cu}^{+}$ ), cumpliendo así un rol pivote en la fisiología celular <sup>20</sup>. Su potencial tóxico puede ser atribuido a su capacidad inherente de formar los deletéreos radicales libres hidroxilo <sup>20, 21</sup>.

La escasa teratogenicidad observada con la administración de  $\text{Cu}^{2+}$  podría deberse a que, por ser componente nutricional esencial, tiene una homeostasis más finamente contro-

lada. Esta involucra sistemas altamente específicos como ATPasas tipo P transportadoras de Cu, proteínas Menkes y Wilson, transportadores en citoplasma llamados "Chaperonas de Cu" y otros que funcionan con un amplio rango de iones metálicos como las MT, todos actuando coordinadamente para alcanzar el balance en la concentración adecuada en cada célula <sup>22</sup>. En apariencia las MT del hígado funcionarían manteniendo la homeostasis del Cu<sup>2+</sup> (entre otros), aunque sólo como depósito a corto plazo. Así, los excedentes que no son unidos a estas proteínas específicas, son transportados y acumulados en otros tejidos del embrión. Durante la última fase de desarrollo de embriones de aves, también se han detectado MT citoplasmáticas que unen este metal en el SV <sup>23</sup>. Estos hechos avalarían, que pese a que el Cu<sup>2+</sup> es capaz de atravesar la barrera vitelina para ser utilizado por el embrión, debido a su mayor capacidad de almacenamiento y a su utilización específica en el metabolismo normal, se necesitarían concentraciones mayores a las utilizadas en nuestros experimentos para observar efectos teratogénicos marcados, si los produjera.

Los mecanismos de acción de los metales pesados afectan gravemente funciones celulares fundamentales para la supervivencia a través de la interacción con metales esenciales por similitud electrónica y allí radica la importancia del mantenimiento de la homeostasis mineral general. Cationes divalentes con roles fisiológicos como el Ca<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> son desplazados por metales pesados, con la consecuente alteración del metabolismo en forma integral por formación de complejos metal-proteína con inactivación de su función e inhibición de las enzimas con grupos sulfhidrilos, afectando organelas celulares como mitocondrias, lisosomas y microtúbulos <sup>24</sup>.

Dilucidar la etiología de los teratógenos es difícil, dado que los eventos que desencadenan la teratogenicidad probablemente comprometan diversos mecanismos moleculares al mismo tiempo. Nuestros resultados demuestran que la alteración del delicado balance mineral general por parte de los metales pesados, es uno de los mecanismos que induce teratogenicidad en los embriones en

desarrollo. También se aporta evidencia sobre la utilidad de los embriones de pollo como modelo experimental tanto para la evaluación de la toxicidad y teratogenicidad de distintos contaminantes, como para su utilización como biomarcador de contaminación por metales.

Los resultados presentados muestran al Cd<sup>2+</sup> como un potente y letal teratógeno. Se sugiere que los mejores parámetros para evaluar la teratogenicidad producida por la intoxicación con metales son los derrames cutáneos y hepáticos. Estos estudios podrían extrapolarse a humanos, dada la elevada similitud de los mecanismos de mantenimiento de homeostasis mineral y transportadores de iones metálicos entre las especies.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Granja Tres Arroyos por la generosa provisión de huevos fértiles. Este trabajo fue realizado con subsidio de UBA. NLP es Becaria del Doctorado de UBA. AMF de S y HAS son miembros de la Carrera del Investigador Científico del CONICET.

## RESUMEN

Se estudiaron los efectos teratogénicos de metales pesados (acetatos de Cd<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup> y sulfato de Cu<sup>2+</sup>), en embriones de pollo en desarrollo, después de la administración de una monodosis del metal. Los huevos embrionados fueron inyectados en la yema en el día 12 de incubación. Las concentraciones de los iones fueron (nmoles/g huevo): Cd<sup>2+</sup>: Dosis 1 (D1):0,16 y Dosis 2 (D2): 0,32; Pb<sup>2+</sup>: D1: 8,0 y D2: 16,0 y Cu<sup>2+</sup>: D1: 1,7 y D2: 3,3. Los resultados se evaluaron después de continuar la incubación *in ovo* durante 12 y 60 hs Cu<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup> no aumentaron la mortalidad de los embriones, en cambio, la presencia de Cd<sup>2+</sup> produjo entre 30 y 86 % de mortalidad de los embriones, con efectos dosis y tiempo dependientes. Los embriones intoxicados con la D2 de Cd<sup>2+</sup> durante 60 hs fueron los únicos ejemplares que presentaron disminución en su peso promedio, respecto de los ejemplares control. La administración de Cd<sup>2+</sup>



causó efectos teratogénicos más severos que los tratamientos con  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Pb}^{2+}$ . Se puede concluir que los metales pesados son embriotóxicos e inducen teratogenia en embriones de pollo en desarrollo. Se sugiere que los mejores parámetros para evaluar la teratogenicidad producida por la intoxicación  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Pb}^{2+}$  son los derrames cutáneos y hepáticos.

## PALABRAS CLAVE

Metales pesados, efectos teratogénicos, efectos tóxicos, embriones de pollo, saco vitelino.

## REFERENCIAS

- 1) Adams RM. Occupational skin disease. Tercera Edición. W B Saunders Co Philadelphia, London, Montevideo, Sidney, Tokyo. 1999; 792.
- 2) Savaje JE. Trace minerals and avian reproduction. Fed Proc 1968; 27: 927-931.
- 3) Bowen HJM. Environmental Chemistry of the Elements. Academic Press, New York. EEUU. 1976; 80-83.
- 4) Vogiatz AK y Loumbourdis NS. Exposure of *Rana ribunda* to lead I. Study of lead accumulation in various tissues and hepatic  $\alpha$ -aminolevulinic acid dehydratase activity. J Appl Toxicol 1999; 19 (1): 25-29.
- 5) Jaffe EK, Martins J, Li J, Kervinen J y Dunbrack RL Jr. The molecular mechanism of lead inhibition of human porphobilinogen synthase. J Biol Chem 2001; 276 (2): 1531-1537.
- 6) Pauza NL, Sopena de Kracoff Y, Ferramola de Sancovich AM y Sancovich HA. Ontogeny of 5-aminolevulinic dehydratase and porphobilinogen deaminase activities in the yolk sac membrane and liver of chick embryos. Br Poult Sci 2002; 43 (2): 196-203.
- 7) Pauza NL, Sopena de Kracoff YE, Ferramola de Sancovich AM y Sancovich HA. Estudios in vivo de la toxicidad del  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  y sus consecuencias en la biosíntesis del hemo. Rev Argent Dermatol 2004; 85: 154-163.
- 8) Waalkes MP, Coogan TP y Barter RA. Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. Crit Rev Toxicol 1992; 22 (3-4): 175-201.
- 9) Topalián ML, Castañé PM, Rovedani MG y Salivián A. Principal component analysis of dissolved heavy metals in water of the Reconquista river (Buenos Aires, Argentina). Bull Environ Contam Toxicol 1999; 63: 484-490.
- 10) Loewy M, Kirs V, Carvajal G, Venturino y Pechen de D'Angelo AM. Groundwater contamination by azinphos methyl in the Northern Patagonic Region (Argentina). Sci Total Environ 1999; 225: 211-218.
- 11) Goering PL. Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. Neuro Toxicology 1993; 14: 45-60.
- 12) Da Fonseca A y Nogueira Prista L. Manual de Terapéutica Dermatológica y Cosmetológica. Editorial Jims. Barcelona. España 1987; 44-89.
- 13) Mas A y Arola L Cadmium and lead toxicity effects on zinc, copper, nickel and iron distribution in the developing chick embryo. Comp Biochem Physiol C 1985; 80 (1): 185-188.
- 14) Beattie JH, Owen HL, Wallace SM, Arthur JR, Kwun IS, Hawksworth GM y Wallace HM. Metallothionein overexpression and resistance to toxic stress. Toxicol Lett 2005; 157 (1): 69-78.
- 15) Cao J, Henry PR, Guo RH, Toth JP, Littell RC, Miles RD y Ammerman CB. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. J Anim Sci 2000; 78 (8): 2039-2054.
- 16) Long A y Wang WX. Assimilation and bioconcentration of Ag and Cd by the marine black bream after waterborne and dietary metal exposure. Environ Toxicol Chem 2005; 24 (3): 709-716.
- 17) Davis BE. Lead. In Heavy Metals in Soils. Editorial Alloway BJ Blackie Academic. Glasgow. Wiley. New York. 1990; 177-196.
- 18) Richards MP. Trace mineral metabolism in the avian embryo. Poultry Science 1997; 76: 152-164.

- 19) Goering PL. Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. *Neuro Toxicol* 1988; 14: 45-60.
- 20) Squitti R, Pasqualetti P, Cassetta E, Dal Forno G, Cesaretti S, Pedace F, Finazzi-Agro A y Rossini PM. Elevation of serum copper levels discriminates Alzheimer's disease from vascular dementia. *Neurology* 2003; 60 (12): 2013-2014.
- 21) Schumann K, Classen HG, Dieter HH, Koning J, Multhaup G, Rukgauer M, Summer KH, Bernhardt J y Biesalski HK. Hohenheim consensus workshop: copper. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 (6): 469-483.
- 22) Tapiero H y Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother* 2003; 57(9): 399-411.
- 23) Richards MP, Stock MK y Metcalfe J. Effects of brief hypoxia on tissue trace element levels in the developing chick embryo. *Magnesium Trace Elem* 1991; 10: 305-320.
- 24) Vallee BL y Ulmer DD. Biochemical effects of mercury, cadmium, and lead. *Ann Rev Biochem* 1972; 41: 91-128.