

Acta Toxicológica Argentina

Publicación de la Asociación Toxicológica Argentina
Buenos Aires - Argentina



Asociación Toxicológica Argentina

Volumen 23
N° 3
Diciembre 2015

Acta Toxicológica Argentina es el órgano oficial de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Integra el Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas y se puede acceder a sus artículos a texto completo a través de SciELO Argentina. Tiene por objetivo la publicación de trabajos relacionados con las diferentes áreas de la Toxicología, en formato de artículos originales, reportes de casos, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, artículos de divulgación, notas técnicas, resúmenes de tesis, cartas al editor y noticias.



Asociación Toxicológica Argentina

Asociación civil (Personería Jurídica N° 331/90)

Adherida a la IUTOX

*Acta
Toxicológica
Argentina*

Asociación Toxicológica Argentina

Comisión Directiva

Presidente

Susana Isabel García

Vicepresidente

Mirtha Nassetta

Tesorero

Augusto Piazza

Secretaria

Edda Cristina Villaamil Lepori

Vocales

Adriana Inés Haas

Adolfo Rafael de Roodt

Gabriela Fiorenza Bianccuci

Vocales Suplentes

Aldo Sergio Saracco

Adriana Ángela Pérez

Diana Mary González

Comité Científico

Nélida Cristina Rubio

Silvia Cristina Cortese

María Graciela Bovi Mitre

Ricardo Antonio Fernández

Adriana Silvia Ridolfi

Órgano de Fiscalización

Mirta E. Ryczal

Jorge Rubén Zavatti

Daniel Armando Mendez

Tribunal de Honor

José A. Castro

María Rosa Llorens

Jorge Scagnetti

Acta Toxicológica Argentina

Director

Adolfo R. de Roodt, *FMed, UBA; MSAL de la Nación*

Comité de Redacción

Adriana S. Ridolfi, *Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA*

Aldo S. Saracco, *Fac. Ciencias de la Salud, UM; MSAL Gob. de Mendoza*

Ricardo A. Fernández, *Hosp. Infantil Municipal, Cba; FMed, UCCor*

Susana I. García, *FMed, UBA; PRECOTOX, MSAL de la Nación*

Valentina Olmos, *Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA*

Comité de apoyo

Jorge Zavatti, *Dto. de Control Ambiental, Aluar*

Marta D. Mudry, *FCEyN, IECEBA, UBA, CONICET*

Mirtha Nassetta, *ISEA, Univ. Nac. de Córdoba*

Vanessa Oliveira, *ProNCEZ, MSAL de la Nación*

Comité Editorial

Alejandro Alagón, *Universidad Autónoma de México, México*

José A. Castro, *CITEFA, CONICET, Argentina*

Fernando Díaz Barriga, *Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México*

Heraldo N. Donnenwald, *Universidad Favaloro, Argentina*

Gina D'Suze, *IVIC, Venezuela*

Amalia Laborde, *Universidad de la República, Uruguay*

Bruno Lomonte, *Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica*

Veniero Gambaro, *Università di Milano, Italia*

Estela Giménez, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*

Nelly Mañay, *Universidad de la República, Uruguay*

José M. Monserrat, *Universidad de Río Grande, Brasil*

Irma R. Pérez, *Universidad Autónoma de México, México*

Haydée N. Pizarro, *CONICET, Argentina*

María del C. Ríos de Molina, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*

María M. Salseduc, *Laboratorios Bagó, Argentina*

Carlos Sèvcik, *IVIC, Venezuela*

INDICE (CONTENTS)

Artículos originales

Bebidas energizantes: características de consumo e ingesta de cafeína en adultos jóvenes en Argentina
Carnevali de Falke, Susana; Degrossi, Maria Claudia 105

Latrosectismo en la provincia de Jujuy. Aspectos epidemiológicos y clínicos
Ojeda, Marta A., Remondegui, Carlos, Neder de Roman, Lilia E. 118

Reportes de casos

Intoxicación por mercurio elemental por inyección intramuscular. Presentación de caso y revisión de la literatura
Ramos-Gutiérrez, Ruth Yesica; Real-Ornelas, Gabriel Alejandro; Colin-Nolasco, Paulina; Ramos-Gutiérrez, Maday; Barriga-Marin, Javier Álvaro 125

Comunicaciones breves

Notes of cases of aggression and ophiophagy by *Bothops jararacussu* (Lacerda 1884) in captivity
Adolfo Rafael de Roodt; Laura Cecilia Lanari 134

Artículos de divulgación

El organofosforado clorpirifos como disruptor estrogénico y factor de riesgo para el cáncer de mama
Cocca, Claudia; Ventura, Clara; Nunez, Mariel; Randi, Andrea; Venturino, Andres 142

Instrucciones para los autores 154

Los resúmenes de los artículos publicados en Acta Toxicológica Argentina se pueden consultar en la base de datos LILACS, en la dirección literatura científica del sitio www.bireme.br

Acta Toxicológica Argentina está indexada en el Chemical Abstracts. La abreviatura establecida por dicha publicación para esta revista es Acta Toxicol. Argent.

Calificada como Publicación Científica Nivel 1 por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT), en el marco del Proyecto Latindex

ARTÍCULOS ORIGINALES

Bebidas energizantes: características de consumo e ingesta de cafeína en adultos jóvenes en Argentina

Energy drinks: characteristics of consumption and caffeine intake of young adults from Argentina

Carnevali de Falke, Susana*; Degrossi, María Claudia

Instituto Universitario de Ciencias de la Salud. Fundación H.A. Barceló
*ascarnevali@gmail.com

Recibido: 23 de marzo de 2015

Aceptado: 14 de agosto de 2015

Resumen. El objetivo de este estudio fue estimar la ingesta diaria media de cafeína a través del consumo de bebidas energizantes (BE) como única fuente, en una población de adultos jóvenes, entre las edades de 18 a 40 años, en Argentina. En el período de marzo a octubre de 2013, los participantes completaron un cuestionario de administración indirecta a través de la web. El 73,8 % de los encuestados consumió BE al menos una vez en el último año y el 74,9 % de éstos la mezcló con alcohol. La ingesta media de cafeína fue de 0,12 mg/kg/día en el total de la muestra, alcanzando valores medios de 0,65 mg/kg/día para los consumidores crónicos y de 5,81 mg/kg/única ocasión para los consumidores agudos. La alta proporción de encuestados que manifestó consumir la mezcla de BE y alcohol y las ingestas medias y máximas de cafeína observadas en consumidores agudos y crónicos, a partir de esta única fuente, hacen prioritario tener estrategias de comunicación de riesgos, para reducir el consumo de alto riesgo y evitar situaciones que puedan poner en riesgo la salud.

Palabras claves: Bebidas energizantes; Cafeína; Ingesta diaria; Adultos jóvenes.

Abstract. The aim of this study was to estimate the average daily intake of caffeine through consumption of energy drinks (ED) as a single source, in a population of youth and young adults, ages 18 to 40, from Argentina. In the period from March to October 2013, the participants filled up a questionnaire of indirect management through the web. 73.8% of the respondents consumed ED at least once in the past year, and 74.9% of them, mixed the ED with alcohol. The caffeine mean daily intake was 0.12 mg/kg/day for the whole sample, reaching values of 0.65 mg/kg/day for chronic consumers and 5.81 mg/kg for acute consumers. The high proportion of respondents who consumed the mixture of ED and alcohol, and the mean and maximum caffeine daily intake from this single source observed in acute and chronic consumers makes it a priority to have risk communication strategies, to reduce high-risk drinking and to avoid situations that might compromise health.

Keywords: Energy drinks; Caffeine; Daily intake; Young adults.

Introducción

Las bebidas energizantes (BE) son bebidas analcohólicas, generalmente gasificadas, que contienen ingredientes tales como, taurina, glucuronolactona, cafeína e inositol, acompañados de hidratos de carbono, extractos vegetales, vitaminas y/o minerales y otros ingredientes autorizados (conservantes, acidulantes, saborizantes y colorantes) (Reissig y col. 2009).

Las BE se introdujeron en la década de 1960, en el mercado europeo y asiático, como suplementos dietarios promotores de energía, y su uso se ha expandido, convirtiéndose en uno de

los segmentos más dinámicos y de mayor crecimiento de la industria de bebidas, estimándose que para el año 2016, el mercado mundial alcanzará los 6,5 mil millones de litros (Heckman y col. 2010; Zenith 2012), siendo Latinoamérica la región con mayor aumento de consumo (Zenith 2012; Soto 2012). Las BE están fácilmente disponibles en los supermercados, bares y otros negocios, sin restricciones de ningún tipo para su venta (Jasák y Szente 2012). Varios elaboradores las promocionan mediante imágenes de diversión, de energía y asociadas a deportes extremos, que junto a actividades

de promoción y carteles publicitarios en kioscos, discotecas y bares apuntan al sector al cual están dirigidas, los adultos jóvenes (Malinauskas y col. 2007; Arria y col. 2010; Jones y col. 2012; Pennay y Lubman 2012; Nasir y col. 2013). Una de las estrategias de marketing es ofrecerlas con nombres atractivos, destacando sus beneficios y propiedades estimulantes, motivos por los cuales las eligen sus usuarios (Heckman y col. 2010; Bunting y col. 2013). Sin embargo esa elección no tiene en cuenta sus efectos adversos, relacionados probablemente con una ingesta excesiva de cafeína, que puede conducir a episodios de psicosis o manía, hiperactividad, agresión, falta de control de los impulsos, arritmias cardíacas, síndrome coronario agudo e incluso muerte súbita (Bigard 2010; Lloret 2011). Los efectos adversos pueden ocurrir también en situaciones específicas en las que se consumen las BE, como cuando se combinan con alcohol u otras sustancias abusivas (Bigard 2010). En estos casos, la combinación de cafeína y alcohol puede alterar la percepción de la intoxicación alcohólica y exponer a las personas a mayor riesgo (Gunja y Brown 2012). De esto surgieron preocupaciones que, junto a la falta de restricciones para su venta, llevaron a varios países y regiones a elaborar directrices para regular el etiquetado, la distribución y la venta de bebidas energizantes que contienen cantidades significativas de cafeína (Norwegian Scientific Committee for Food Safety 2009; Thomson y Schiess 2011; Unión Europea 2011; Health Canada 2013; Breda y col. 2014). En Argentina, el Código Alimentario Argentino, regula las BE y establece los requisitos para su etiquetado, publicidad y leyendas de advertencia (ANMAT 2015).

Los escenarios de exposición para estas bebidas han cambiado en los últimos años y, por consiguiente, es necesario recoger datos actuales sobre el consumo, sobre todo en adultos jóvenes, dada su frecuente asociación con el alcohol y otras sustancias, y el riesgo de una sobredosis de cafeína (Zucconi y col. 2013). Por ello, el objetivo de este estudio fue describir el perfil de los consumidores de BE y las características de su consumo, y estimar la ingesta diaria de cafeína a través de esta fuente, en una población de adultos jóvenes, de 18 a 40 años de edad, en Argentina. Se espera que los resultados obtenidos actualicen los datos existentes y contribuyan a proporcionar un antecedente esencial en la caracterización del riesgo en esta población.

Materiales y métodos

Selección de la muestra. Instrumento de recolección de datos

En este estudio, cuantitativo, descriptivo, observacional y transversal, se recogieron los datos entre agosto a diciembre de 2013, mediante un cuestionario previamente validado y aprobado por el Comité de Ética del Instituto Universitario de Ciencias de la Salud de la Fundación Barceló, desarrollado sobre la base de experiencias previas (Degrossi 2011) y cuestionarios similares obtenidos por revisión bibliográfica (Zucconi y col. 2013).

La selección de la muestra se realizó mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, cuyo criterio de inclusión fue: adultos jóvenes, entre 18 y 40 años, de ambos sexos, residentes en Argentina, que, independientemente de su nacionalidad o nivel educativo respondieran voluntariamente al cuestionario administrado en la web. Se obtuvieron 1047 respuestas, con una tasa de respuesta del 58,2 %, de las cuales se excluyeron aquellas que no cumplían el criterio de inclusión. La muestra quedó conformada por 973 participantes.

El cuestionario, de tipo de personal y administración a través de la aplicación de Google Drive (versión libre), garantizaba el anonimato de los participantes. El instrumento, conformado por 24 preguntas de tipo cerradas y algunas opciones abiertas, indagaba sobre: las características socio-demográficas de los participantes (edad, género, nacionalidad, nivel educativo, peso), y patrones de consumo en cuanto a cantidad y marca de BE consumidas semanalmente y en una sola ocasión, frecuencia, ocasiones y razones para el consumo, el consumo conjunto con alcohol y, en ese caso, el tipo de bebida alcohólica empleada. Finalmente consultaba sobre el estilo de vida de los participantes.

Ingesta diaria y por única ocasión de cafeína

Para el cálculo de la ingesta diaria de cafeína en mg/día, se siguió el lineamiento empleado por la EFSA (EFSA 2012; Zucconi y col. 2013), multiplicando el volumen diario (L) de BE ingerida por cada participante por la concentración de cafeína en la bebida (mg/L). Ésta fue ponderada de acuerdo al contenido declarado en el rótulo de la bebida indicada por cada participante como la más usual, de datos de los elaboradores y de referencias bibliográficas (Reissig y col. 2009; Caffeineinformer 2013; Vochyánová y col. 2013). Para estimar el volumen ingerido

se asumió que la porción consumida correspondía al envase más habitualmente utilizado por el participante. La ingesta diaria se expresó, además, en mg/día/peso corporal teniendo en cuenta el peso corporal informado por cada participante. Finalmente se calculó, a partir de los datos individuales de cada participante, la ingesta diaria media de cafeína, expresándola en mg/día y en mg/día/peso corporal.

Para el cálculo de la ingesta de cafeína/única ocasión, considerando ésta como el consumo de corta duración, generalmente de algunas horas, como por ejemplo, durante una noche de fiesta, de estudio o durante la práctica de actividad física, se consideró el volumen ingerido en esa ocasión en función del número de envases consumidos y el tamaño de los mismos, y la concentración de cafeína de la bebida declarada por el participante.

La clasificación de consumo o ingesta aguda o crónica, de acuerdo con Zucconi y col. (2013) se realizó sobre la base de la distribución de frecuencias de las variables específicamente relacionadas con el volumen ingerido en una única ocasión y la frecuencia de consumo semanal respectivamente. Para los participantes con ingestas agudas se fijó el umbral en el percentil 90 de la distribución de frecuencias para el volumen consumido en una única ocasión, que correspondió a 1 L/única ocasión. Los que se encontraron por debajo de este consumo se denominaron "no-agudos".

Para identificar a los participantes con ingestas crónicas, se tuvo en cuenta la frecuencia de consumo semanal, categorizada como: todos los días / 4-5 días en la semana / 2-3 días en la semana / 1 vez a la semana / 1-2 veces al mes / No estoy seguro(a) / Otro. De la opción "Otro", surgió la categoría "Consumo ocasional o esporádico (\leq 1-2 veces al mes)".

Se consideraron como "crónicos" a aquellos que igualaban o superaban el umbral establecido en el percentil 75 de la distribución de frecuencia de consumo, ubicada en 2-3 veces por semana. Los que mostraron una frecuencia menor se calificaron como "no-crónicos".

Como puntos de corte para representar la ingesta en una única ocasión e identificar a aquellos consumidores que puedan estar en riesgo, se utilizaron las ingestas diarias de cafeína para adultos sanos recomendadas por el organismo gubernamental para la salud de Canadá (Health Canada 2013), que es < 400 mg/día, y la indicada en otra evaluación de riesgo (Thomson y Schiess 2011), que se sitúa en 210

mg/día, por debajo de la cual no se observan efectos relacionados con la ansiedad.

Análisis estadístico

Todos los datos recogidos fueron examinados con el programa Excel para Windows® y analizados estadísticamente utilizando el programa Info-stat® para Windows (versión libre, Córdoba, Argentina).

Para la descripción de características socio-demográficas y patrones de consumo se utilizaron frecuencias y porcentajes. Para la ingesta media de cafeína (diaria y por única ocasión), se utilizaron como medidas de resumen la media, el percentil 90, el valor máximo y la mediana, utilizadas en otras evaluaciones de riesgo. Para comprobar la distribución de un conjunto de datos con el propósito de aplicar los test estadísticos adecuados, se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. La prueba de Mann-Whitney, con un nivel de confianza del 95 %, se utilizó para comparar las diferencias en las ingestas medias de cafeína entre género y grupo etario, dada la distribución asimétrica de la variable.

Resultados

Perfil y características de consumo de los usuarios de bebidas energizantes

Del total de 973 encuestados incluidos en el estudio, 718 (73,8 %) personas consumieron BE por lo menos en una ocasión en el último año. De éstos 682 aportaron datos de frecuencia de consumo, utilizados para el cálculo de las ingestas de cafeína a través de esta fuente. Su perfil y características de consumo se muestran en la Tabla 1. El 57,6 % fueron mujeres y 42,4 % hombres. El 98,7 % informó ser argentino, el 54,0 % residir en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y el conurbano bonaerense, el 45,3 % en localidades del interior de la provincia de Buenos Aires y otras veinte provincias. La edad promedio (desviación estándar), fue de 26,6 (5,8) años y la mediana fue de 25 años. El grupo etario más numeroso (62,3 %) resultó el de 21-30 años, siguiéndole el de 31-40 años (24,9 %). El 47,0 % completó estudios terciarios, universitarios o de posgrado, el 48,7 % declaró estar empleado y el 11,4 % desempeñar otra ocupación, entre otras, docentes, comerciantes, abogados, médicos, odontólogos, licenciados en nutrición y kinesiología.

Respecto a los lugares y los motivos para el consumo de BE señaladas por estos usuarios, para aquellos que las beben en el bar, en la dis-

coteca y en salidas nocturnas, las razones más importantes fueron, porque da energía, para recuperarse del cansancio, porque agrada su sabor y para mantenerse despierto.

Consultados sobre cómo ingieren estas bebidas, el 74,8 % la combina con bebidas alcohólicas. Para éstos, se conserva la proporción en las ocasiones en que las consumen, expuestas en la *Tabla 1*. La *Figura 1* describe la distribución de frecuencia de hombres y mujeres en los grupos etarios, la ocupación y la frecuencia de consumo, observándose una mayor proporción en el grupo de 21-30 años, de mujeres entre los estudiantes y de hombres entre los empleados. Respecto a la frecuencia con que mezclan BE con alcohol, el 87,6 % lo hace siempre, a menudo (1 de cada 2 veces que consumen BE) y a veces (1 de cuatro veces). Las marcas de bebidas más frecuentemente consumidas fueron Speed Unlimited® (72,1 %) seguida por Red Bull® 19,4 %, correspondiendo un 97,2 % al envase de 250 mL y un 91,6 % a una concentración estimada de cafeína de 320 mg/L.

Se identificaron 85 (11,9 %) consumidores con ingestas agudas sobre los 718 consumidores totales de BE, y 41 (6,0 %) consumidores crónicos sobre los 682 que aportaron datos de frecuencia semanal de consumo. En la *Tabla 2* se muestra el perfil y características de consumo de estos grupos de consumidores, observándose que en ambos grupos la mayoría combina las BE con alcohol.

Comparados los consumidores crónicos y no crónicos con aquellos que presentan un episodio de ingesta aguda, resultó que el 9,8 % de los usuarios que presentan una baja frecuencia de consumo, exhibe ingestas en una única ocasión que los ubica como consumidores agudos, según se muestra en la *Figura 2*.

La ingesta media de cafeína, expresada en mg/día y mg/kg/día, se muestra en la *Tabla 3*, con valores máximos de 213 mg/día (2,74 mg/kg/día) para los hombres y el grupo entre 18-20 años. En relación al género, se observó una diferencia estadísticamente significativa (Mann - Whitney; $p < 0,0001$), con una mediana de 0,09 mg/kg/día para las mujeres y de 0,07 mg/kg/día para los hombres, detectándose valores máximos de ingestas de 1,67 mg/kg/día, y de 2,74 mg/kg/día respectivamente. Respecto al grupo etario, y al comparar las ingestas medias diarias de cafeína en relación al peso corporal, se encontró que los tres difieren estadísticamente, con medianas de 0,10 mg/kg/día, 0,08 mg/kg/día y 0,07 mg/kg/día para los

usuarios de 18-20 años, 21-30 años y 31-40 años respectivamente.

En la *Tabla 4* se presentan las ingestas categorizadas según consumidores agudos y crónicos, mostrando los crónicos ingestas máximas de 213 mg/día (2,74 mg/kg/día) mientras que para los agudos este valor es de 1280 mg/día (22,9 mg/kg/día). En la *Figura 3* se observan las ingestas por única ocasión, tomando como puntos de corte las ingestas diarias recomendadas para un adulto sano, de 400 mg/día y para embarazadas de 210 mg/día.

Discusión

Si bien la cafeína es consumida en todo el mundo desde hace mucho tiempo, en forma de bebidas, alimentos, suplementos nutricionales y medicamentos, su consumo a través de las BE ha dado lugar a nuevos patrones de consumo que implican riesgos específicos, especialmente cuando éstas se ingieren en cantidades excesivas o en determinados grupos poblacionales, debido a la posibilidad de inducir efectos adversos sobre la salud humana. Es por ello que la proporción de consumidores de BE ha sido estudiada por varios autores, en estudiantes universitarios, deportistas y adultos y adultos jóvenes, con estimaciones que van del 38 % al 81 % (O'Brien y col. 2008; Marcinski 2011; Zucconi y col. 2013). La encontrada para los participantes de este estudio es coincidente con estos datos. Aquellos que aportaron datos para estimar la ingesta de cafeína, se caracterizaron por situarse en la franja etaria de 21-30 años y tener una mayor proporción de mujeres, concordando con los hallazgos de otras investigaciones realizadas en amplios segmentos de población (Park y col. 2013; Zucconi y col. 2013;) y en grupos de estudiantes (Malinauskas y col. 2007; O'Brien y col. 2008). Los resultados encontrados, tanto en el género como en el grupo etario, podrían deberse a las estrategias de comercialización y a la publicidad utilizadas por las empresas elaboradoras de estas bebidas, que si bien antes estaban dirigidas a hombres jóvenes y atletas, hoy se extiende a otros segmentos incluyendo a las mujeres, adolescentes y adultos jóvenes. Los usuarios de BE las encuentran atractivas por sus promocionados efectos y las consumen en los lugares donde concurren como bares, discotecas y locales nocturnos, que cómo ya se mencionó, son los lugares donde se promueven estas bebidas (Reissig y col. 2009; Arria y col. 2010; Heckman y col. 2010).

Tabla 1. Perfil y características de consumo de los usuarios de bebidas energizantes (n=682) ^(a)

| Características | Consumidores | |
|---|---------------------|-----------------------|
| | Número | Porcentaje (%) |
| Género | | |
| Femenino | 393 | 57,6 |
| Masculino | 289 | 42,4 |
| Edad | | |
| 18-20 años | 87 | 12,8 |
| 21-30 años | 425 | 62,3 |
| 31-40 años | 170 | 24,9 |
| Nacionalidad | | |
| Argentina | 673 | 98,7 |
| Otra | 9 | 1,3 |
| Lugar de residencia | | |
| CABA y conurbano bonaerense | 368 | 54,0 |
| Prov. Buenos Aires y 20 otras provincias ^(b) | 309 | 45,3 |
| No especifica | 5 | 0,7 |
| Nivel de estudios alcanzado | | |
| Primario | 7 | 1,0 |
| Secundario | 350 | 51,3 |
| Terciario/Universitario | 295 | 43,3 |
| Posgrado | 25 | 3,7 |
| No especifica | 5 | 0,7 |
| Ocupación | | |
| Estudiante | 265 | 38,9 |
| Empleado | 332 | 48,7 |
| Otras ocupaciones | 78 | 11,4 |
| No especifica | 7 | 1,0 |
| Consumo en combinación con bebidas alcohólicas | | |
| Sin combinar con alcohol | 160 | 23,5 |
| Las combina con bebidas alcohólicas ^(c) | 510 | 74,8 |
| No especifica | 12 | 1,7 |
| Ocasiones de consumo ^(d) | | |
| En casa, cuando hago fiestas con amigos | 344 | 50,4 |
| En el bar | 355 | 52,1 |
| En la discoteca | 497 | 72,9 |
| Cuando salgo de noche | 382 | 56,0 |
| Razones ^(d) | | |
| Porque da energía | 220 | 32,2 |
| Para recuperarme del cansancio | 252 | 37,0 |
| Porque me gusta su sabor | 455 | 66,7 |
| Para mantenerme despierto | 274 | 40,2 |

^(a) Corresponde a los que aportaron datos de frecuencia de consumo^(b) Provincias: Misiones, Río Negro, Santa Fe, Santa Cruz, Entre Ríos, Córdoba, Formosa, Tucumán, Corrientes, Neuquén, Tierra del Fuego, Jujuy, La Pampa, Salta, Mendoza, Chaco, Santiago del Estero, La Rioja, San Luis y Chubut.^(c) Bebidas alcohólicas con que se mezclan las BE: vodka, champagne, vino, licores de fruta, Jägermeister, Fernet, freeze, gancia, whisky o combinaciones de éstas.^(d) Sólo aquellas ocasiones y razones indicadas como las más frecuentes por estos consumidores. Las preguntas contemplaban múltiples respuestas.

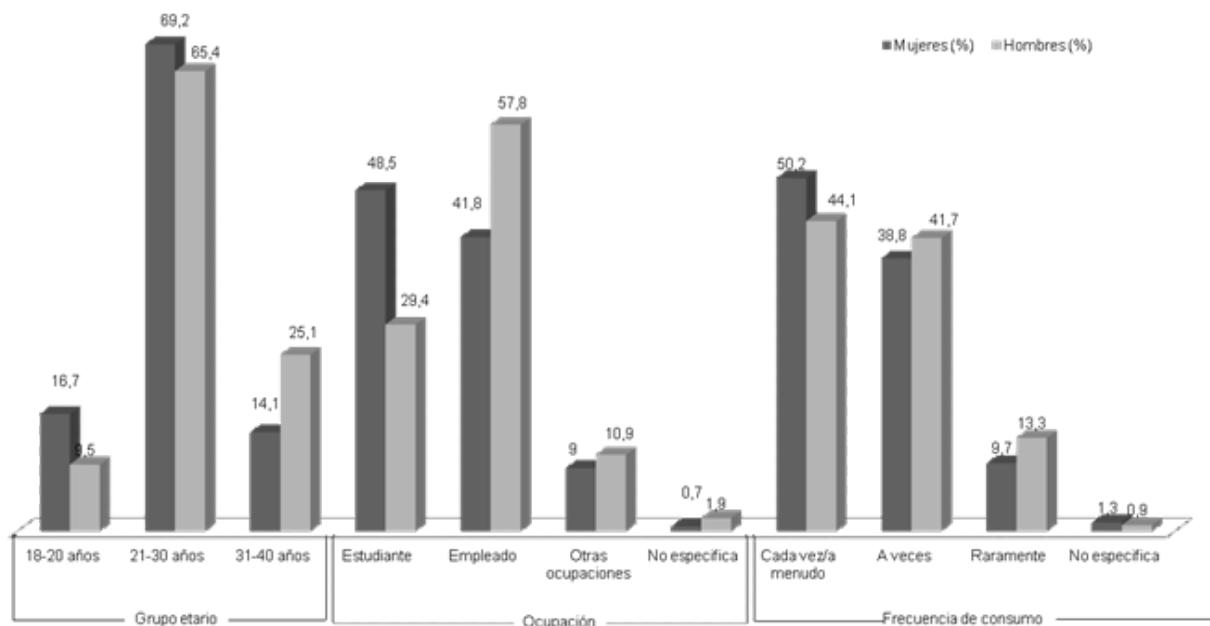


Figura 1. Distribución de frecuencia de hombres y mujeres que mezclan bebidas energizantes con alcohol entre grupo etario y ocupación (n=510).

Casi las dos terceras partes de los consumidores de este estudio mezclaron las BE con alcohol y, de éstos, más de las dos terceras partes lo hizo cada vez que consumió, a menudo o a veces. Estos resultados coinciden con los informados por el Instituto Federal de Evaluación de Riesgos - BfR (2013), donde casi el 70 % de los participantes concurrentes a discotecas, festivales musicales y fiestas LAN (Local Area Network), declararon combinar BE con alcohol. En la encuesta realizada por la Agencia Europea para la Seguridad Alimentaria (Zucconi y col. 2013), el 56 % de los usuarios de BE las mezclaba con alcohol, siendo el grupo etario de 18 a 29 años el que más frecuentemente las combinaba (71 %). Las consecuencias de esta combinación han sido estudiadas y relatadas ampliamente en la literatura. Weldy (2010), ha sugerido que la cafeína mitiga los efectos sedantes del alcohol e impide el sueño, dando mayor oportunidad para beber más alcohol antes de la pérdida de la conciencia. Éste y otros autores (O'Brien y col. 2008; Arria y col. 2010; Howland y col. 2011), refieren que el alcohol aumenta en las personas la probabilidad de tomar riesgos al reducir las habilidades motoras, el funcionamiento cognitivo, el juicio, la capacidad de toma de decisiones, perjudicando de este modo la capacidad de evaluar con preci-

sión las consecuencias de sus comportamientos, tales como, conducir en estado de ebriedad, despreciar los riesgos por accidentes, lesiones y enfermedades de transmisión sexual y exponerse al riesgo de consumir otras drogas abusivas, lo cual depende de la persona, su exposición previa y la tolerancia al alcohol y la cafeína.

Las motivaciones que conducen a los jóvenes a este hábito han sido ampliamente reportadas en la literatura, entre las que se menciona "para beber más y no sentirse borracho, para ocultar el sabor del alcohol, sus efectos y la sensación de embriaguez, para reducir la sedación y para emborracharse más rápido". Estas percepciones de los jóvenes, ha llevado a los investigadores a preguntarse si el aumento en el consumo de alcohol se debe a la ingesta de BE, o se produce en personas que tienen una tendencia a involucrarse en conductas de riesgo y consumen grandes cantidades de sustancias psicoactivas, incluyendo la cafeína y el alcohol (O'Brien y col. 2008; Marczinski 2011; Jones y col. 2012).

Las ocasiones y razones para este hábito, como así también aquellas señaladas como más frecuentes por el total de participantes, están en consonancia con las documentadas en otros estudios (Malinauskas y col. 2007; Attila y Ça-

Tabla 2. Perfil y características de consumo de consumidores agudos y crónicos.

| Características | Número | Porcentaje (%) |
|---|---------------|-----------------------|
| Consumidores agudos (n=85) | | |
| Género | | |
| Femenino | 46 | 54,1 |
| Masculino | 39 | 45,9 |
| Edad | | |
| 18-20 años | 12 | 14,1 |
| 21-30 años | 47 | 55,3 |
| 31-40 años | 26 | 30,6 |
| Consumo en combinación con bebidas alcohólicas | | |
| Sin combinar con alcohol | 9 | 10,6 |
| Las combina con bebidas alcohólicas | 76 | 89,4 |
| Consumidores crónicos (n=41) | | |
| Género | | |
| Femenino | 20 | 48,8 |
| Masculino | 21 | 51,2 |
| Edad | | |
| 18-20 años | 9 | 22,0 |
| 21-30 años | 18 | 43,9 |
| 31-40 años | 14 | 34,1 |
| Consumo en combinación con bebidas alcohólicas | | |
| Sin combinar con alcohol | 8 | 19,5 |
| Las combina con bebidas alcohólicas | 32 | 78,1 |
| No específica | 1 | 2,4 |

Tabla 3. Ingesta diaria media de cafeína según consumidores totales grupo etario y género (n=682)

| | Ingesta media de cafeína (mg/día) | | | | | | Ingesta media de cafeína (mg/kg/día) | | | | | |
|----------------------------|--|------|-----|------|--------------|-----|---|------|------|--------------|-----|--|
| | n | m | med | Máx. | percentil 90 | p | m | med | Máx. | percentil 90 | p | |
| Total | 682 | 8,2 | 5,3 | 213 | 21,3 | - | 0,12 | 0,08 | 2,74 | 0,27 | - | |
| Género | | | | | | | | | | | | |
| Mujeres | 393 | 7,5 | 5,3 | 107 | 10,7 | (a) | 0,13 | 0,09 | 1,67 | 0,22 | (b) | |
| Hombres | 289 | 9,1 | 5,3 | 213 | 21,3 | | 0,12 | 0,07 | 2,74 | 0,28 | | |
| Grupo etario (años) | | | | | | | | | | | | |
| 18-20 | 87 | 12,4 | 5,3 | 213 | 21,3 | (c) | 0,19 | 0,10 | 2,74 | 0,37 | (f) | |
| 21-30 | 425 | 7,5 | 5,3 | 107 | 13,3 | (d) | 0,11 | 0,08 | 1,67 | 0,21 | (g) | |
| 31-40 | 170 | 7,7 | 5,3 | 70,0 | 21,3 | (e) | 0,11 | 0,07 | 1,59 | 0,28 | (h) | |

m: media; med: mediana; Máx: valor máximo encontrado

^(a) diferencia no estadísticamente significativa entre hombres y mujeres (Mann Whitney; $p > 0,05$).

^(b) diferencia estadísticamente significativa entre hombres y mujeres (Mann Whitney; $p < 0,0001$)

^(c) difiere en forma estadísticamente significativa de (d) y (e) (Mann Whitney; $p < 0,001$).

^(d) no difiere en forma estadísticamente significativa de (e) (Mann Whitney; $p > 0,05$).

^(e) difiere en forma estadísticamente significativa de (g) y (h) (Mann Whitney; $p < 0,0001$).

^(f) difiere en forma estadísticamente significativa de (h) (Mann Whitney; $p < 0,05$).

Tabla 4. Ingesta media de cafeína según consumidores crónicos y agudos

| | Ingesta media de cafeína (mg/día) | | | | Ingesta media de cafeína (mg/kg/día) | | |
|----------|---|-------|------|--------------|--|------|--------------|
| | n | media | Máx. | percentil 90 | media | Máx. | percentil 90 |
| Crónicos | 41 | 43,1 | 213 | 70,0 | 0,65 | 2,74 | 1,07 |
| | Ingesta media de cafeína (mg/única ocasión) | | | | Ingesta media de cafeína (mg/kg/única ocasión) | | |
| | n | media | Máx. | percentil 90 | media | Máx. | percentil 90 |
| Agudos | 85 | 385 | 1280 | 568 | 5,81 | 22,9 | 8,89 |

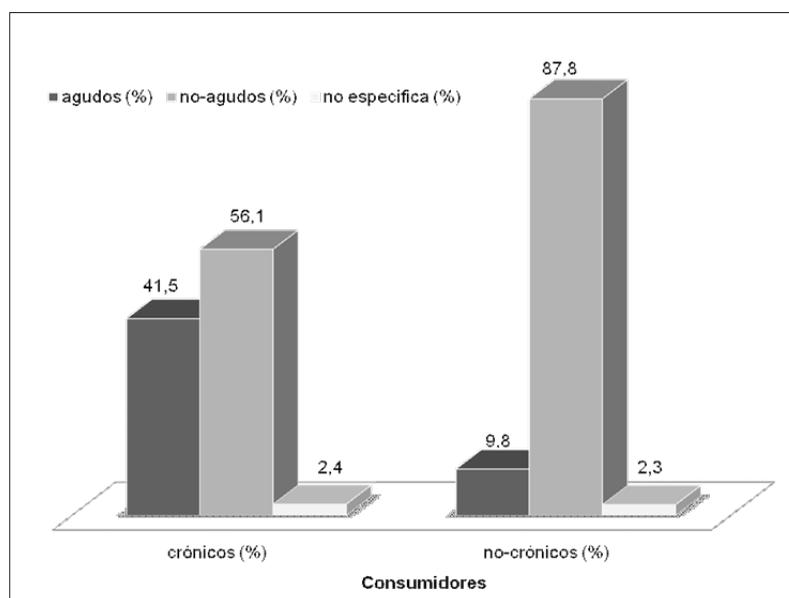


Figura 2. Distribución de frecuencia (%) de consumidores agudos y no agudos entre consumidores crónicos y no crónicos (n=682).

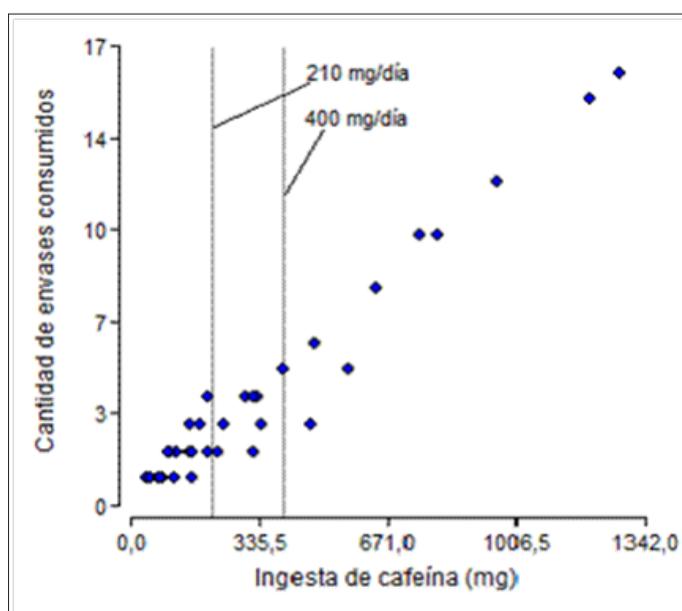


Figura 3. Ingesta de cafeína en mg en función de los envases consumidos en una única ocasión.

kir 2011; BfR 2013; Zucconi y col. 2013). Una de las razones de consumo, que los resultados de este estudio mostraron como más frecuente por los participantes, fue porque les agradaba el sabor. Resultados similares, respecto a esta característica, se encontraron en otros estudios (Attila y Çakir 2011; Degrossi y col. 2011; BfR 2013). Esta motivación, podría jugar un rol importante en la decisión de compra de estas bebidas, pero también podría relacionarse a que la dulzura de la BE enmascara el sabor del alcohol, haciéndolo más aceptable, factor especialmente importante en los bebedores más jóvenes (Attila y Çakir 2011; Jones y col. 2012). Con respecto a la marca, los resultados indican a dos de las disponibles en nuestro mercado como las más usualmente consumidas. Esto podría deberse a las estrategias de comercialización de algunas empresas que apuntan a familiarizar a los usuarios con sus marcas y las ofrecen en puntos de consumo habitualmente frecuentados por los jóvenes, pero también podría afectar la elección de los consumidores debido a reacciones emocionales basadas en experiencias previas, sin un componente cognitivo identificable, que los impulsa a comprarlas (Jones y col. 2012; Pennay y Lubman 2012; Bunting y col. 2013).

Las motivaciones para el consumo, señaladas por los participantes de este estudio, y coincidentes con trabajos previos (Malinauskas y col. 2007; Attila y Çakir 2011; BfR 2013; Zucconi y col. 2013), tales como, proporcionar energía, para mantenerse despierto, para recuperarse del cansancio, estuvieron relacionadas principalmente al efecto estimulante de estas bebidas.

Zucconi y col. (2013) encontraron en una investigación en varios países europeos, que, en adultos de 18-65 años, la contribución que realizan las BE a la exposición total de cafeína a partir de todas las fuentes dietarias, era de un 8 %, aumentando a 13 % en los usuarios crónicos. Por su parte Rudolph y col. (2014) encontraron que en una población de 14-39 años, el 11,9 % de la ingesta total de cafeína correspondía a las BE. Sin embargo, es necesario considerar que dentro de esas poblaciones puede haber grupos específicos expuestos a riesgos, debido a ingestas agudas o crónicas de estas bebidas, o a conductas riesgosas como la de mezclarlas con alcohol.

La concentración de cafeína de las BE no se cuantificó en este estudio, pero la declarada en las marcas indicadas por los participantes, se

aproxima al rango de 0,17-0,36 mg/mL encontrado por Olmos y col. (2009) que realizaron su determinación analítica. Una de ellas excedió ampliamente estos valores, presentándose en un envase de 500 mL (Vochoyánová y col. 2013). Dos de las marcas comprendidas en este estudio incluían guaraná entre sus ingredientes, el que aporta entre 2-15 % de cafeína sobre base seca. Distintos investigadores (Gunja y Brown 2012; ANSES 2013; Thomson y Jones 2013), señalaron que la ausencia de información clara en la etiqueta de las BE, arroja dudas acerca de si la concentración de cafeína declarada contempla o no el extracto de guaraná. Al respecto, Thomson y Jones (2013), en Nueva Zelanda, detectaron una relación cafeína determinada/cafeína declarada mayor al 100 % con valores entre 101 %-113 %, en 26 de las 35 bebidas energizantes analizadas. Este hallazgo reviste importancia, dado que estas concentraciones de cafeína son posteriormente incorporadas a bases de datos, sobre la base de las cuales se realiza la evaluación de la exposición alimentaria.

Respecto al consumo agudo o crónico de BE, el riesgo reside en un alta ingesta de cafeína y en ciertos hábitos de consumo, tales como combinarlas con bebidas alcohólicas. Este estudio es probablemente uno de los primeros que examina en Argentina simultáneamente el consumo agudo y crónico de las BE y la dosis diarias de cafeína relacionadas con ese consumo. A este respecto la proporción de consumidores agudos encontrada coincide con los datos aportados por Zucconi y col. (2013) en adultos consumidores de BE (11 %), sin embargo, el porcentaje de consumidores crónicos, es decir aquellos que consumen de 2-3 veces por semana o más, se encuentra alejado del valor informado por dichos autores para la misma frecuencia, que resultó ser del 33 %. En este estudio, la mayoría de los consumidores agudos y de los crónicos combina las BE con alcohol, estando expuestos a los riesgos ya mencionados.

Una particularidad de este análisis es que casi el 10 % de los consumidores no-crónicos, presenta episodios de ingesta aguda y, aproximadamente el 40 % de los consumidores crónicos son agudos también. Esto es relevante al analizar los riesgos derivados de un consumo excesivo de BE, ya que la literatura refiere numerosos casos de efectos adversos y de muertes ocasionados, entre otros, por fallas en el sistema cardiovascular, renal y crisis epilép-

ticas. Estos eventos adversos, originados en episodios de ingestas agudas, estuvieron en algunos casos, asociadas al consumo de la mezcla BE con alcohol (Iyadurai y Chung 2007; Schöffl y col. 2011; Rottlaender y col. 2012; Avcı y col. 2013).

Respecto a la ingesta media de cafeína a partir de esta única fuente, difiere de la encontrada por Olmos y col. (2009) en Argentina, en los grupos de 16-20, 21-30 y 31-40 años, con valores de 3 mg/día, 2 mg/día y 1 mg/día, respectivamente, posiblemente debido al cambio en los escenarios de exposición durante los años transcurridos entre ambos estudios. También contrasta con la informada por Zucconi y col. (2013) y ANSES (2013), para el total de los consumidores adultos de BE, que fue de 22,4 mg/día y de 14,6 mg/día respectivamente.

Se observó que la ingesta de cafeína fue significativamente más alta en el grupo etario de 18-20 años y que las mujeres consumen más que los hombres cuando se ajusta por peso corporal. Al compararla en grupos específicos, como son los consumidores crónicos, se encontraron valores que coinciden con los informados por Zucconi y col. (2013) de 48,3 mg/día (0,7 mg/kg/día). Uno de los efectos posiblemente relacionado a un consumo crónico de cafeína, es la inducción de tolerancia y desarrollo de dependencia. Asimismo, cuando se consumen con frecuencia estas bebidas conjuntamente con alcohol, especialmente en los jóvenes, se puede inducir o facilitar el desarrollo de conductas adictivas, hacia el alcohol u otras drogas de abuso (Arria y col. 2010; Howland y col. 2011). A su vez, el uso crónico de altas dosis de cafeína (mayor a 300 mg/día) puede aumentar el riesgo de alucinaciones, especialmente en condiciones de estrés, como lo sugiere un estudio llevado a cabo en estudiantes (ANSES 2013).

Respecto a los consumidores agudos, el valor observado medio y máximo de ingesta de cafeína en una única ocasión, difiere del hallado en la encuesta de ANSES (2013) que fue de 108 mg/única ocasión (percentil 90, 225 mg/única ocasión), pero coincide con lo informado por Zucconi y col. (2013) con ingestas medias de 374 mg/única ocasión (aproximadamente 5 mg/kg/única ocasión), y valores máximos de 800 mg/única ocasión (10,9 mg/kg/única ocasión), ubicándose el percentil 90 en 464,3 mg/única ocasión. Sin embargo, el valor máximo para los consumidores agudos de este estudio fue más alto que el reportado por dichos auto-

res, lo cual podría explicarse por la proporción de consumidores que refirieron ingerir 1 L/ocasión que puede diferir de dichos trabajos.

Si bien el consumo moderado de cafeína con ingestas menores a 400 mg/día, no se asocia a ningún efecto adverso para la salud en adultos sanos, las ingestas por encima de esos valores pueden conducir a diversos trastornos que dependen de la sensibilidad individual. Varios organismos de evaluación de riesgos recomiendan una dosis máxima en adultos de 210 mg/día para las personas con trastornos de ansiedad. Si bien las ingestas recomendadas mencionadas se refieren a ingestas crónicas, algunos autores consideran que ingestas por encima de 500-600 mg representan un riesgo significativo para la salud y puede ser considerado como un consumo abusivo (Norwegian Scientific Committee for Food Safety 2009; ANSES 2013).

Este estudio de corte transversal, con un muestreo no-probabilístico, si bien permitió recoger información importante y en corto tiempo, limitó su capacidad de evaluar las relaciones causales y de generalizar sus resultados a toda la población de consumidores de bebidas energizantes. En cuanto al instrumento, las encuestas a través de la web, son reconocidas como un método eficaz para la recopilación de datos y permitió, en este estudio, incluir diferentes zonas geográficas de la República Argentina y llegar a un gran número de participantes, con una alta tasa de respuesta. Sin embargo, esta modalidad tiene la desventaja de que sólo participarán aquellos que tienen acceso a Internet, ya sea a través de computadoras personales y otros dispositivos móviles, lo que limita la cantidad y calidad de los participantes. Para poder realizar la evaluación de la exposición a la cafeína, se asumió que el participante consumía una sola marca de bebida y un único tamaño de envase, indicados por él como los más usuales. Estos supuestos pudieron conducir a una variabilidad en la estimación de la exposición a la cafeína e introducir incertidumbre en los resultados obtenidos.

Sin embargo, la principal ventaja de este proceso de evaluación de la exposición y de caracterización del riesgo, es que permitió identificar grupos de consumidores que pueden presentar un riesgo significativo, tales como los que combinan las BE con el alcohol, y aquellos expuestos a las consecuencias derivadas de una ingesta crónica o aguda de cafeína. También mostró que muchos consumidores agudos

son también crónicos y, aquellos que exceden el umbral establecido, podrían estar expuestos al riesgo de sufrir efectos derivados del consumo regular de grandes cantidades de cafeína, como por ejemplo, ansiedad, irritabilidad, inquietud, insomnio, aumento de la diuresis, trastornos cardiovasculares y molestias gastrointestinales. Sin embargo, en este estudio el riesgo puede estar subestimado, dado que sólo se consideró el consumo de cafeína derivado de la ingesta de BE, sin considerar otras fuentes de exposición dietaria a la cafeína.

Los riesgos detectados deberían servir para reforzar las estrategias para su comunicación hacia la comunidad, en especial a los consumidores habituales de estas bebidas, y en los ámbitos donde éstos concurren, a fin de informarlos y aumentar la conciencia sobre los probables efectos adversos derivados de un consumo excesivo y sobre los riesgos de combinar estas bebidas con alcohol, como parte de un programa de reducción del consumo de alto riesgo y sus consecuencias derivadas, para que tomen las precauciones correspondientes y eviten situaciones que puedan comprometer su salud.

Bibliografía citada

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Código Alimentario Argentino, Capítulo XVII. [En línea]. [consulta 2 de Febrero de 2015]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XVII.pdf.

Arria A.M., Caldeira K. M., Kasperski S.J., O'Grady K.E., Vincent K.B., Griffiths R. R., Wish E.D. Increased alcohol consumption, nonmedical prescription drug use, and illicit drug use are associated with energy drink consumption among college students. *Journal of Addiction Medicine*. 2010;4(2):74.

Attila S., Çakir B. Energy-drink consumption in college students and associated factors. *Nutrition*. 2011;27(3):316-322.

Avcı S., Sarıkaya R., Büyükcım F. Death of a young man after overuse of energy drink. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2013;31(11):1624.e3-1624.e4.

Bigard A. Dangers des boissons énergisantes chez les jeunes. *Archives De Pédiatrie*. 2010;17(11):1625-1631.

Breda J.J., Whiting S.H., Encarnação R., Norberg S., Jones R., Reinap M., Jewell J. Energy drink consumption in Europe: a review of the risks, adverse health effects, and policy options to respond. *Front. Public Health*. 2014;2:134.

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR). [En línea]. Anlassbezogene Befragung von Hochverzehrern von Energy-Drinks [consulta 11 de Febrero de 2013]. Disponible en: <http://www.bfr.bund.de/cm/350/anlassbezogene-befragung-von-hochverzehrern-von-energy-drinks.pdf>

Bunting H., Baggett A., Grigor J. Adolescent and young adult perceptions of caffeinated energy drinks. A qualitative approach. *Appetite*. 2013;65(0):132-138.

Degrossi M.C, Etcheverry M., Florez S. Consumo de bebidas energizantes y alcohol: encuesta a jóvenes de entre 18 y 35 años. En XVIII Congreso Argentino de Nutrición. 10 al 13 de agosto de 2011. Buenos Aires, Argentina.

Caffeineinformer.com [en línea]. Caffeine Content of Drinks [consulta 6 de mayo de 2013]. Disponible en: <http://www.caffeineinformer.com/the-caffeine-database>.

European Food Safety Authority (EFSA). Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal*. 2012;10(3):2579.[32 pp.]

French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES). [En línea]. Opinion of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety on the assessment of risks concerning the consumption of so-called "energy drinks". ANSES Opinion Request no. 2012-SA-0212, 1-108. [consulta 2 de Febrero de 2014]. Disponible en: <http://www.anses.fr/en/documents/NUT2012sa0212EN.pdf>

Gunja N., Brown J.A. Energy drinks: Health risks and toxicity. *Med J Aust*. 2012; 196(1):46-49. Health Canada, Government of Canada. [En línea]. Health Canada Reminds Canadians to Manage Their Caffeine Consumption. Identification number: RA-34021. [consulta 2 de Febrero de 2014]. Disponible en: [- 115 -](http://healthy-canadians.gc.ca/recall-alert-rappel-avis/hc-</p></div><div data-bbox=)

sc/2013/34021a-eng.php.

Heckman M., Sherry K., Mejia D., Gonzalez E. Energy drinks: An assessment of their market size, consumer demographics, ingredient profile, functionality, and regulations in the United States. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010;9(3):303-317.

Howland J., Rohsenow D.J., Calise T.V., MacKillop, J., Metrik, J. Caffeinated Alcoholic Beverages An Emerging Public Health Problem. *American Journal of Preventive Medicine*. 2011;40(2):268-271.

Iyadurai S.J.P., Chung S.S. New-onset seizures in adults: Possible association with consumption of popular energy drinks. *Epilepsy & Behavior*. 2007;10(3):504-508.

Jasák H., Szente V. Energy drinks on scale. *The Hungarian Journal of Food Nutrition and Marketing*. 2012;8(1-2):61-66.

Jones S.C., Barrie L., Berry N. Why (not) alcohol energy drinks? A qualitative study with Australian university students. *Drug and Alcohol Review*. 2012;31(3):281-7.

Lloret J. Intoxicación aguda por bebidas energizantes (a base de taurina, inositol y cafeína). En I. Morán Chorro, J. Baldirà Martínez de Irujo, L. Marruecos – Sant, y S. Nogué Xarau, S. *Toxicología clínica*. 2011:(pp.535-541). Madrid, España: Grupo Difusión, Difusión Jurídica y Temas de Actualidad S.A.

Malinauskas B.M., Aeby V.G., Overton R.F., Carpenter-Aeby T., Barber-Heidal K. A survey of energy drink consumption patterns among college students. *Nutr J*. 2007;6(1):35-41.

Marczinski C.A. Alcohol mixed with energy drinks: Consumption patterns and motivations for use in US college students. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2011;8(8):3232-3245.

Nasir K., Surriya O., Imadi S.R., Chaudhry A.H., Mahmood I., Munir H. Effect of fizzy and energy drinks on public health: a cross-sectional study. *Journal of Public Health and Biological Sciences*. 2013;2(3):229-242.

Norwegian Scientific Committee for Food Safety. [En línea]. Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids, Materials in Contact with Food and Cosmetics of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. New information on ingredients in so-called “energy drinks”. 2009;09-404-4 final. [consulta 2 de Febrero de 2013]. Disponible en: <http://www.vkm.no/dav/a8859a2195.pdf>.

O'Brien M.C., McCoy T.P., Rhodes S.D., Wagoner A., Wolfson M. (2008). Caffeinated cocktails: Energy drink consumption, High-risk drinking, and Alcohol-related consequences among college students. *Academic Emergency Medicine*. 2008;15(5):453-460.

Olmos V., Bardoni N., Ridolfi A.S., Villaamil Lepori E.C. Caffeine levels in beverages from Argentina's market: application to caffeine dietary intake assessment. *Food Additives and Contaminants*. 2009;26(3):275-281.

Park S., Onufrak S., Blanck H.M., Sherry B. Characteristics associated with consumption of sports and energy drinks among US adults: National health interview survey, 2010. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2013; 113(1):112-119.

Pennay A., Lubman D.I. Alcohol and energy drinks: a pilot study exploring patterns of consumption, social contexts, benefits and harms. *BioMedCentral Research Notes*. 2012;5:369.

Reissig C.J., Strain E.C., Griffiths R.R. Caffeinated energy drinks—A growing problem. *Drug and Alcohol Dependence*. 2009;99(1-3):1-10.

Rottlaender D., Motloch L.J., Reda S., Larbig R., Hoppe U.C. Cardiac arrest due to long QT syndrome associated with excessive consumption of energy drinks. *International Journal of Cardiology*. 2012;158(3):e51-e52.

Rudolph E., Faerbinger A., Koenig J. Caffeine intake from all sources in adolescents and young adults in Austria. *Eur J Clin Nutr*. 2014;68(7):793-8.

Schöffl I., Kothmann J.F., Schöffl V., Rupprecht H.D., Rupprecht T. “Vodka Energy”: Too Much for the Adolescent Nephron?. *Pediatrics*. 2011;128(1):e227- e231.

Soto G. Consumo de bebidas energéticas en Chile. Boletín Observatorio Chileno de Drogas. 2012;14:1-14.

Thomson B., Schiess S. Risk Profile: Caffeine in Energy Drinks and Energy Shots. Institute of Environmental Science & Research Limited, New Zealand Food Safety Authority. 2011 Project CFS/09/04.

Thomson B., Jones S. Caffeine in Guarana-Containing Foods. Institute of Environmental Science &. New Zealand Government. Ministry for Primary Industries. 2013 MPI Technical Paper No: 2013/46.

Unión Europea. [En línea]. Reglamento (UE) N° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor. Diario Oficial de la Unión Europea, L 304/18-63. [consulta 11 de febrero de 2014]. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:ES:PDF>

Vochyánová B., Opekar F., Tůma P. Simultaneous and rapid determination of caffeine and taurine in energy drinks by MEKC in a short capillary with dual contactless conductivity/photometry detection. Electrophoresis. 2014 Jun;35(11):1660-5.

Weldy D.L. Risks of alcoholic energy drinks for youth. The Journal of the American Board of Family Medicine. 2010;23(4):555-558.

Zenith International. [En línea]. Global energy drinks market spurts ahead to \$37 billion. Press release. 2012 [consulta 14 de febrero de 2014]. Disponible en: [http://www.zenithinternational.com/articles/1012?Global+energy+drinks+market+spurts+ahead+to+\\$37+billion](http://www.zenithinternational.com/articles/1012?Global+energy+drinks+market+spurts+ahead+to+$37+billion).

Zucconi S., Volpato C., Adinolfi F., Gandini E., Gentile E., Loi A., Fioriti L. Gathering consumption data on specific consumer groups of energy drinks. European Food Safety Authority Supporting Publications [en línea]. 2013 [consulta 11 de Mayo 2013]; EN-394: [190 p.]. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/394e.htm>

Latrodectismo en la provincia de Jujuy. Aspectos epidemiológicos y clínicos

Latrodectism in the province of Jujuy. Epidemiological and clinical aspects

Ojeda, Marta A.^{1*}, Remondegui, Carlos¹, Neder de Román, Lilia E.²

¹Servicio de Infectología. Hospital San Roque. Ministerio de Salud de la Provincia de Jujuy. ²Instituto de Biología de la Altura – UNJu. CONICET Av. Bolivia 1661- CP 4600- S.S. de Jujuy.

*malejandraojeda@yahoo.com

Recibido: 7 de septiembre de 2015

Aceptado: 30 de diciembre de 2015

Resumen. En Argentina, las especies de arañas de importancia sanitaria pertenecen a los géneros *Loxosceles*, *Phoneutria* y *Latrodectus*. El objetivo del presente trabajo fue relevar los accidentes producidos por el género *Latrodectus* atendidos en el centro de referencia y derivación provincial de animales venenosos de Jujuy (Hospital San Roque) en el período: 1 de enero de 1998 al 31 de diciembre de 2014. En los diecisiete años analizados se registraron 30 historias clínicas con diagnóstico de latrodectismo, el 83 % de los casos procede de zonas semiáridas y áridas de la provincia de Jujuy. Se registró un valor medio de 1.8 casos/año; la mayoría de los accidentados (63 %) fueron de sexo masculino y la franja etaria más afectada se ubicó entre 16-25 años (50 %). La visualización del arácnido fue confirmada por 18 pacientes, de los cuales el 67 % (n=12) lo identificó como “huayruro” o “viuda negra”. Entre las manifestaciones clínicas predominaron: dolor local, dolor generalizado, dolor abdominal, diaforesis e hipertensión arterial. El periodo de internación fue corto (2,7 días) y no hubo complicaciones ni óbitos. Este es el primer estudio clínico-epidemiológico de latrodectismo en el noroeste argentino.

Palabras clave: Latrodectismo; Jujuy; Clínica; Epidemiología.

Abstract. In Argentina, the species of spiders of sanitary importance belong to the *Loxosceles*, *Latrodectus* and *Phoneutria* genera. The objective of this study was to survey accidents caused by the spiders of *Latrodectus* genus treated at the Jujuy provincial venomous animal reference and referral center (San Roque Hospital) between January 1, 1998 and December 31, 2014. In the seventeen years analyzed, 30 medical records with a diagnosis of latrodectism were analyzed, 83% of the cases came from semi-arid and arid areas of the province of Jujuy. An average of 1.8 cases/year was established. Most of the injured (63%) were male and the most affected age group was between 16-25 years (50%). The arachnid depiction was confirmed by 18 patients, of which 67% (n=12) identified it as “huayruro” or “black widow”. Predominant clinical manifestations were local pain, generalized pain, abdominal pain, diaphoresis and hypertension. The length of hospitalization was short (2,7 days) and there were no complications or deaths. This is the first clinical-epidemiological study of latrodectism in northwestern Argentina

Keywords: Latrodectism; Jujuy; Clinic; Epidemiology.

Introducción

Desde la antigüedad, las arañas fueron temidas por su posible picadura y admiradas por la belleza y consistencia de sus telarañas. Existen documentos pictóricos y culturales que representan el significado dado a las arañas por pueblos antiguos; han sido símbolo de Vida (creación, fertilidad y sexo) pero también de Muerte (guerra y destrucción) por su capacidad predadora y la toxicidad de su veneno (Melic 1996, 2002).

En el mundo han sido reconocidas 44.906 especies de arañas (Platnick 2014), pero sólo unas pocas son de interés sanitario. En Argentina, las especies de importancia sanitaria pertenecen a los géneros *Loxosceles*, *Phoneutria* y *Latrodectus* (Ministerio de Salud 2012).

Las arañas del género *Latrodectus* Walckenaer, 1805 (Araneae: Theridiidae) tienen amplia distribución mundial, encontrándose en todos los continentes e islas oceánicas a excepción de la Antártida.

Son conocidas en toda América con diferentes nombres populares: en Norteamérica se conoce con el nombre vulgar de “black widow” o “viuda negra”; en México “araña capulina”; en las Antillas, “cul rouge”; en Venezuela “araña naranja”; en Perú “lucacha”; en Chile “araña del pote colorado”, “guina”, “pallu” “araña brava”; en Uruguay y Argentina “araña del lino”, “araña del trigo”, “araña del rastrojo o rastrojera”. En Bolivia y en el norte de Argentina se la conoce como “huayruro”.

Viven preferentemente en áreas silvestres y agrícolas, aunque también se han registrado en ambientes urbanos (casas, jardines y establos) y periurbanos. Son tímidas, sedentarias, no agresivas para el hombre, pero pueden picar si accidentalmente se las comprime.

El envenenamiento, conocido como latrodectismo, se manifiesta por un síndrome neurotóxico potencialmente fatal. Es la primera causa de araneísmo en la República Argentina (Ministerio de Salud, 2012).

Las especies presentes en nuestro país son: *L. corallinus*, *L. mirabilis*, *L. diaguita*, *L. quartus*, (grupo *mactans*) y *L. antheratus*, *L. variegatus* (grupo *curacaviensis*.) y *L. geometricus*, la que, por el momento, no reviste importancia sanitaria en Argentina (Ministerio de Salud, 2012).

Desde el punto de vista sanitario no existen trabajos que aborden la problemática del latrodectismo en el noroeste argentino.

Por lo expuesto, los objetivos del presente trabajo son: relevar los accidentes producidos por arañas del género *Latrodectus* atendidos en el centro de referencia de la provincia de Jujuy (Hospital San Roque), durante el periodo enero de 1998 a diciembre de 2014.

Materiales y métodos

Área de estudio: La provincia de Jujuy se encuentra ubicada al noroeste de la República Argentina, limitando con Bolivia y Chile. Está situada entre los paralelos 22° y 24° de Latitud Sur y los meridianos 65° y 67° de Longitud Oeste. Su superficie es de 53.219 km². Presenta diferencias altitudinales, las que conjuntamente con la variada orografía determinan diferentes eco-regiones para cada lugar de la provincia (Figura 1). La región Puna, arriba de los 3000 metros sobre el nivel del mar, es fría y árida con gran amplitud térmica diaria; la región Quebrada, templada y semiárida se ubica entre los 1500 y 3000 msnm. Hacia el sur se encuentra la región templada de los Valles y al este las Yungas con clima subtropical cálido y húmedo; sus altitudes varían desde los 300 a los 2500 msnm.

Metodología: se analizaron historias clínicas de pacientes con diagnóstico de picaduras de artrópodos internados en el hospital San Roque (S. S. de Jujuy), el cual es centro de referencia y derivación provincial de los accidentes por animales venenosos. Se seleccionaron aquellas historias clínicas que cumplieran con criterios epidemiológicos (procedencia del accidentado, estacionalidad, costumbres poblacionales,



Figura 1. Procedencia de los casos de latrodectismo registrados en las eco-regiones de la provincia de Jujuy (1998-2014).

reconocimiento del arácnido) o clínicos compatibles con latrodectismo, desde el 01/Enero/1998 hasta el 31 de diciembre de 2014.

Se obtuvieron datos sobre: localidad, año, mes, hora del día, reconocimiento del arácnido, lugar donde ocurrió el accidente, ocupación del accidentado, edad, sexo, segmento corporal afectado, presentación clínica, valores de laboratorio, tratamiento, días de internación y mortalidad.

En las historias clínicas se buscaron síntomas y signos que permitieran realizar la clasificación clínica de latrodectismo en leve, moderado y grave. Lamentablemente y debido a que las historias clínicas no cumplen con un formato pre-establecido, esta clasificación no pudo realizarse optándose por expresar síntomas y signos en porcentajes.

En relación al tratamiento, se incluyeron las historias clínicas de pacientes que recibieron el antiveneno e historias clínicas de pacientes que no recibieron el suero específico. Estos últimos con presentación clínica típica de latrodectismo y observación del arácnido por parte del paciente.

La información recolectada fue transcrita a tablas para su análisis garantizando la confidencialidad de los datos. Este estudio fue avalado

por el Comité de Ética e Investigación del Ministerio de Salud de la provincia de Jujuy.

La procedencia de los accidentados fue correlacionada con los datos de distribución de *Latrodectus* spp de distintas localidades de la provincia, cuyos ejemplares están depositados en la colección del Instituto de Biología de la Altura (INBIAL) de la Universidad Nacional de Jujuy.

Resultados

En los diecisiete años analizados se obtuvieron 30 (treinta) historias clínicas con diagnóstico de latrodectismo. Se registraron 23 (veintitrés) casos procedentes de la Quebrada (Humahuaca, Pinchayoc, Uquía, Huacalera, Tilcara, Maimará y Tumbaya), 2 (dos) de la Puna (Cieneguillas, La Quiaca), 4 (cuatro) de las Yungas (San Pedro, Calilegua, y Ledesma) y 1 (uno) de los Valles (Los Lapachos) (Figura 1)

En la Figura 2 se presentan los casos registrados en los distintos años. Los mayores valores corresponden a 2007 (5), 2000 (4), 2009 (3) y 2014 (3); en los restantes años solo se asenta-

ron uno y dos casos anuales a excepción del periodo 2004-2006, durante el cual no hubo denuncias de latrodectismo.

Los accidentes ocurrieron durante los meses de primavera y verano, con un marcado predominio en el mes de enero (43 % de los casos), seguido de febrero (17 %) (Figura 3).

Los envenenamientos se produjeron en su mayoría (61 %) en horas de la tarde.

Con respecto al sexo de los accidentados, 19 (diecinueve, 63 %) fueron varones y la franja etaria más afectada se ubicó entre 16-25 años (50 %).

La ocupación de los accidentados solo fue registrada en 10 (diez) historias clínicas, de las cuales 8 (ocho) están relacionadas con actividades en el ámbito rural. En 15 historias clínicas se describió el ámbito de ocurrencia del accidente: 12 fueron extradomiciliarios y 3 intradomiciliarios.

De 30 pacientes, 18 visualizaron el arácnido; el 67 % (n=12) lo identificó como "huayruro" o "viuda negra."

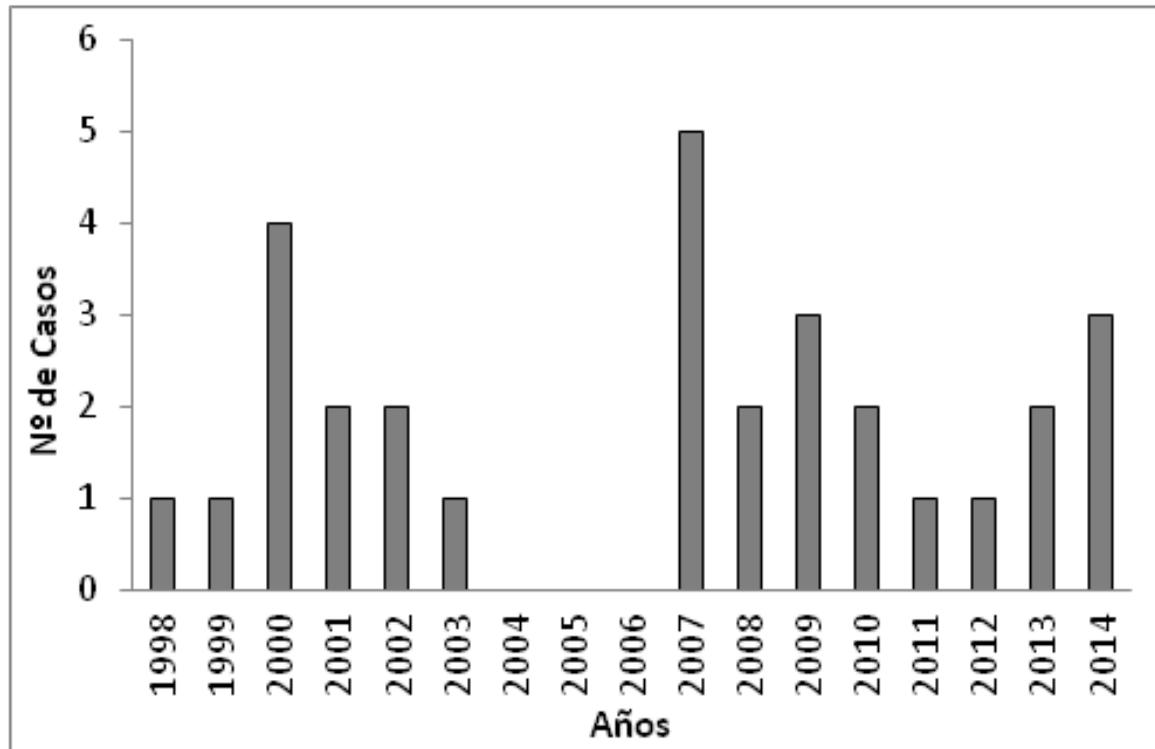


Figura 2. Casos de latrodectismo registrados en el Hospital San Roque (Jujuy) durante el periodo 1998- 2014.

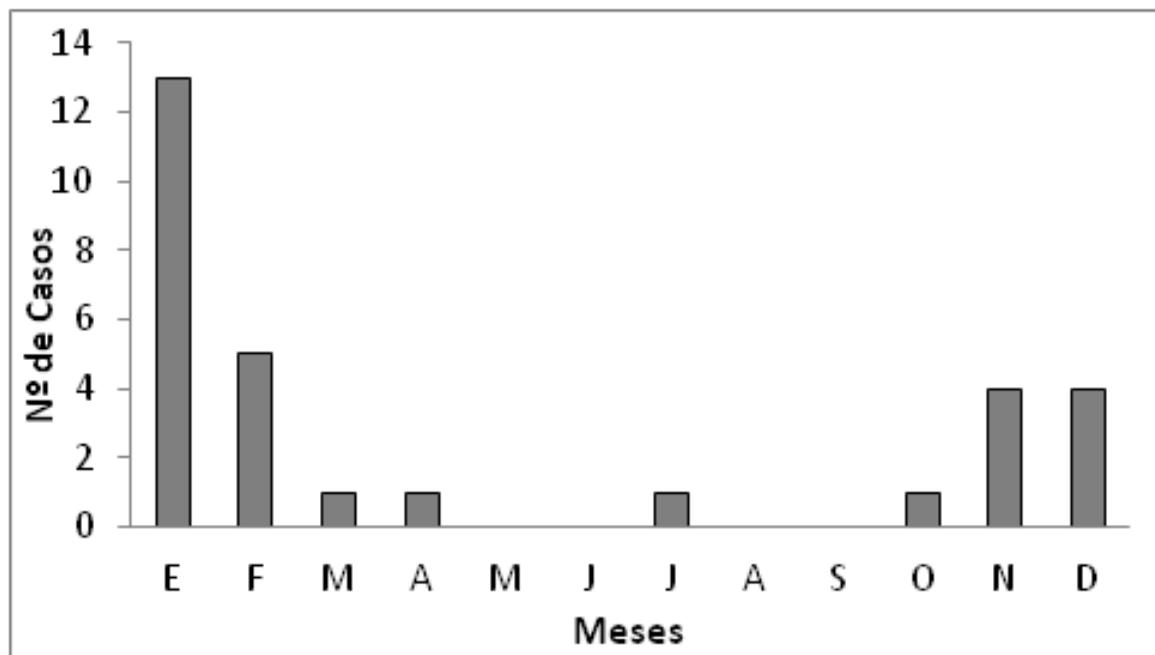


Figura 3. Registros de latrosectismo en el Hospital San Roque (Jujuy) según los meses del año (periodo 1998-2014)

En 27 historias clínicas se especificó el sitio de la picadura, correspondiendo a los siguientes segmentos corporales: 37 % en miembros inferiores (n=10), 26 % en los miembros superiores (n=7), 19 % en tórax (n= 5), 11 % en cuello (n=3) y 7 % en abdomen (n=2).

Los síntomas y signos más descriptos fueron: dolor local inicial (90%), dolor generalizado (73 %), dolor abdominal (50 %), diaforesis (47 %), hipertensión arterial (40 %), disnea (33 %) lumbalgia (37 %) y excitación psicomotriz (31 %). Las manifestaciones menos frecuentes fueron: taquicardia, dolor precordial, rubicundez facial y síntomas oculares.

Entre los hallazgos de laboratorio se destacaron: hiperglucemia (69 %), aumento de urea (32 %), leucocitosis (45 %) y linfopenia (81 %). Otros hallazgos fueron: sedimento urinario patológico (leucocituria y hematuria) en 5 de 16 exámenes solicitados. El dosaje de enzimas cardíacas (CPK, GOT, LDH) en 6/6 fue normal. En 15 (quince) casos se solicitó electrocardiograma y en dos de ellos se constató inversión de la onda T.

En relación al tratamiento, 24 pacientes recibieron suero específico, de los cuales a 20 (veinte) pacientes se le suministró 1 (una) dosis de antiveneno, a 2 (dos) se le administraron 2 (dos)

y 3 (tres) dosis respectivamente. En las 2 (dos) historias clínicas restantes no se registró el número de dosis.

En ocho casos se aplicó el antiveneno en las primeras seis horas de ocurrido el accidente, a ocho pacientes entre la sexta y doceava hora y a cinco pacientes pasadas las 12 (doce) horas de la picadura. En tres historias clínicas no se registró el intervalo entre hora del accidente y hora de aplicación del suero.

En todos los casos revirtieron los síntomas.

Como medidas generales se usaron analgésicos en 21 (veintiún) pacientes, benzodiacepinas en 11 (once) pacientes y gluconato de calcio en 2 (dos). Estas medidas generales incluyen a los 6 (seis) pacientes que no recibieron el antiveneno.

Se administró vacuna antitetánica a 7 (siete) pacientes.

El promedio de días de internación fue de 2,7 días tanto para los pacientes que recibieron el antiveneno como para aquellos que no lo hicieron. No se constataron complicaciones ni óbitos.

Discusión

La taxonomía del género *Latrodectus* es compleja, existiendo gran dificultad para el reco-

nocimiento de las especies. Los estudios realizados hasta el presente abarcaron caracteres bioecológicos y morfológicos. Entre éstos últimos: las estructuras de la genitalia (Beren-donck y Greven 2000), la forma y tamaño de las ootecas (Abalos 1962), el desarrollo post-embrionario (González 1981, 1984, 1998) y los análisis a nivel molecular (Garb y col. 2004) reflejan el amplio espectro de variación morfológica inter e intraespecífica y las relaciones filogenéticas. En Jujuy, los ejemplares adultos conservados en el INBIAL pertenecen al grupo *mactans* (Gonzalez 1994 comunicación personal) y fueron obtenidos en la Quebrada y Puna. La mayoría de los casos de latroductismo atendidos en el Hospital San Roque a lo largo de 17 años procedieron de localidades de la Quebrada, principalmente de los departamentos Tilcara y Humahuaca. En esta zona semiárida se encuentran ejemplares de *Latrodectus* debajo de piedras, en grietas, pircas, en telas construidas sobre Opuntia y otras cactáceas, o uniendo plantas de esta familia que están cercanas entre sí, coincidiendo con lo establecido por Gonzalez (1981) y McClorkle (2002). Los accidentes ocurridos en las Yungas, Puna y Valle, son indicadores de la amplia distribución de este género de arañas en Jujuy. La presencia en distintas eco-regiones y su preferencia por zonas cálidas con bajos niveles de precipitación anual fue reportada también para la vecina República de Bolivia por Fernández y Castro (2013).

Las historias clínicas que constatan ambiente, horario y ocupación del accidentado, reflejan principalmente accidentes extradomiciliarios, durante la tarde, en actividades agrícolas. Los accidentes intradomiciliarios ocurrieron en depósitos de leña y cañas, y por la introducción involuntaria de los arácnidos a través de ropas expuestas al sol sobre arbustos, costumbre habitual de los pobladores de la zona.

La franja etaria más afectada en Jujuy corresponde a los adolescentes y adultos jóvenes. Estos datos coinciden con los accidentes producidos en Córdoba (Esteso 1985) y a nivel nacional (Martino 1979; Boletín Integrado de Vigilancia 2013).

El 63 % de los accidentados en la presente investigación, correspondió a varones. En relación a otros lugares de Argentina (Martino 1979; Esteso 1985; Grisolia y col. 1992) el alto porcentaje de mujeres accidentadas (37 %) podría deberse al desempeño como pastoras en el cuidado del ganado ovino y caprino y al acompañamiento que hacen al hombre en las

actividades agrícolas en la Quebrada. En ésta área, los cultivos son estacionales (primavera-verano), coincidiendo el incremento de la temperatura con la mayor actividad de las arañas (McClorkle 2002) y el aumento en el número de accidentes.

Los estudios epidemiológicos realizados en Argentina indican un promedio anual de 28 casos en la provincia de Buenos Aires (Grisolia y col. 1992) y 8 casos en Córdoba (Esteso 1985). Las marcadas diferencias demográficas, geográficas y temporales en las que se realizaron los estudios, impiden realizar una comparación que explique el promedio (1,8 casos/año) registrado en Jujuy.

Es posible que la ausencia de internaciones por latroductismo en el Hospital San Roque durante los años 2004 a 2006 se deba a que los enfermos fueron atendidos en otros hospitales de la provincia.

Es importante destacar el alto porcentaje de reconocimiento de la araña “viuda negra” realizado por los accidentados en concordancia con lo establecido para el centro del país (Esteso 1985). El saber popular asocia a *Latrodectus* con semillas de leguminosas (géneros *Ormosia* y *Abrus*), con las que comparten el nombre “huayruro”, el color “negro aterciopelado con una o varias manchas de color rojo” y el riesgo para la salud.

La presentación clínica es una expresión de los efectos del veneno cuyo componente tóxico para mamíferos, la alfa-latrotoxina de acción neurotóxica, altera las terminaciones pre sinápticas causando la liberación desordenada de neurotransmisores (Ministerio de Salud 2012).

El cuadro clínico es dramático con angustia, excitación, temblor difuso, contracturas musculares, sudoración profusa, sensación de muerte inminente. También se describió diaforesis, hipertensión arterial y excitación psicomotriz aunque en menor porcentaje.

Como relatan Orduna y col. (2011) “el dolor sobreviene entre los pocos minutos y una hora después de producida la picadura. Al principio es quemante y circunscrito, y luego se torna violento y generalizado”. Esta caracterización se ajusta con los hallazgos clínicos de los pacientes atendidos en el Hospital San Roque. En la mayoría de las historias clínicas se relató dolor local inicial y luego intenso dolor generalizado, como síntomas más frecuentes del síndrome neurotóxico.

En la Edad Media en cercanía a la ciudad de Taranto al sur de Italia se describió esta sintomato-

logía bajo la denominación de tarantismo. Este profundo malestar, actualmente atribuido a *Latrodectus*, llevó a utilizar un baile frenético con una música especialmente concebida para el tratamiento de la enfermedad denominada “tarantela” (Cardoso y Lucas 2009; Tausiet 2009).

Abalos (1949) relató que un enfermo que transportaron en el Chaco santiagueño en una siesta de verano, pedía a gritos que lo mataran para liberarse de los dolores. Además, hace referencia a lo que sucedió en 1851 en la víspera de la batalla de Loncomilla (Chile), “los gritos y lamentaciones de los soldados picados por *Latrodectus* llegaron a hacerse comprometedoros para el ejército y hubo que cloroformarlos”. El predominio de las picaduras en las extremidades es acorde a lo descrito por otros estudios realizados en Argentina (Esteso 1985; Grisolia y col. 1992; Martino 1979) con una mayor frecuencia en miembros inferiores con respecto a los miembros superiores.

La facie latrodectismica es característica, se manifiesta con gesto de dolor, trismus de maseteros, rubicundez facial, sudoración, midriasis, edema palpebral e hiperemia conjuntival (Cardoso y col. 2009).

Los hallazgos de laboratorio, aunque inespecíficos, ayudan al diagnóstico: alteraciones hematológicas (leucocitosis, linfopenia, eosinopenia); alteraciones bioquímicas (hiperglucemia e hiperfosfatemia); alteraciones del sedimento urinario (hematuria, leucocituria, cilindruria). En esta investigación se destacan: leucocitosis, linfopenia e hiperglucemia.

Se describen diversas alteraciones en el electrocardiograma: arritmias, bloqueos, alteraciones del QRS, del segmento ST y de la onda T (Saracco y de Roodt 2007; Ministerio de Salud 2012). Esta última alteración fue observada en dos pacientes jóvenes sin antecedentes cardíacos de los 15 electrocardiogramas examinados.

El bajo promedio de días de internación se correlaciona con la ausencia de complicaciones. En el caso de los seis pacientes que no recibieron antiveneno, el promedio de días de internación fue similar. El uso de analgésicos, gluconato de calcio y benzodiazepinas favorecieron la resolución del cuadro clínico.

En las primeras tres horas la intensidad de las manifestaciones clínicas obliga al paciente a recurrir a la consulta médica lo que favorece la administración temprana del antiveneno (Grisolia y col. 1992). La rapidez en la administración se fundamenta en uno de los principios de

la sueroterapia que establece que el veneno debe ser neutralizado por el antiveneno antes que provoque lesiones en las células y tejidos (Cardoso y col. 2009). Cabe destacar que en este estudio el intervalo entre la aplicación del suero y el accidente en la mayoría de los casos fue superior a las 6 horas, debido a las distancias existentes entre el lugar donde ocurrió el accidente y el hospital San Roque.

Los resultados de este primer estudio clínico-epidemiológico de latrodectismo realizado en el noroeste argentino indican que se deben reforzar las medidas de prevención entre los pobladores y promover la administración oportuna y rápida del antiveneno en todos los hospitales del ámbito provincial.

Bibliografía citada

Abalos J.W. ¿Cuáles son los animales venenosos de la Argentina? Instituto de Medicina Regional. UNT. 1949;481:19-21.

Abalos J.W. The egg-sac in the identification of species of *Latrodectus* (black-widow spiders). *Psyche*. 1962;69:268-270.

Berendonck B., Greven H. Morphology of female and male genitalia of *Latrodectus revivensis*, 1948 (Araneae Theridiidae) with regard to sperm priority patterns. *European Arachnology*. 2000:157-167.

Boletín Integrado de Vigilancia. Ministerio de Salud. Argentina. Presidencia de la Nación. 2013;174-SE 23-Junio:105-117.

Cardoso J.L.C., Lucas S.M. Introdução ao araneísmo. En: Cardoso, J, Franca F, Wen, F, Málaque, C., Haddad, V. (Jr). *Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes*. 2º ed. Edit Sarvier. Sao Paulo. 2009:155-156.

Esteso S.C. Latrodectismo humano en la provincia de Córdoba. *Epidemiología, clínica, tratamiento y posible prevención*. Prensa Méd Argent. 1985;72:222-225.

Fernandez G.P., Castro M.R. 2013. El género *Latrodectus* Walckenaer, 1805 en Bolivia (Araneae: Theridiidae). *J Selva Andina Res Soc*. 2013;4(2):57-63.

Garb J.E., Gonzalez A., Gillespie R.G. The black widow spider genus *Latrodectus* (Araneae:

Theridiidae): phylogenia, biogeography, and invasion history. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2004;31:1127-1142.

González A. Desarrollo post embrionario de *Latrodectus mirabilis*, *Latrodectus corallinus* y *Latrodectus antheratus* (Araneae, Theridiidae). *Physis*, Secc C. 1981;39(97):83-91.

González A. Desarrollo postembrionario y evolución de los órganos mecanoreceptores de *Latrodectus diaguia* Carcavallo, y estudio de la tricobotriotaxia de *Latrodectus quartus* Abalos (Araneae, Theridiidae). *Physis*, Secc C. 1984;42(102):1-5.

González A. Desarrollo postembrionario de *Latrodectus variegatus* (Araneae, Theridiidae). *Rev Biol Trop*. 1998;46(1):93-99.

Grisolía C.S., Peluso F.O., Stanchi N.O., Francini F. 1992. Epidemiología del latrodectismo en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev Saúde públ.* 1992; 26(1):1-5.

Martino O.A., Mathet H., Masini R.D., Ibarra Grasso A, Thompson R., Gondell C., Bosch J. Emponzoñamiento humano provocado por venenos de origen animal. Estudio epidemiológico, clínico y experimental. Asociación Médica Argentina. Ministerio de Bienestar Social de la Nación. Secretaría de Salud Pública. 1979.

McCorkle M. 2002. *Latrodectus mactans* Animal Diversity Web (en línea), 2002. [Consulta 17 de julio 2013]. Disponible en http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Latrodectus_mactans/

Melic, A. Algunas curiosidades, errores y exageraciones a propósito de la araña “viuda negra” (Araneae: Theridiidae: *Latrodectus*). *Bol SEA*. 1996;15:13-18.

Melic, A. De Madre Araña a demonio Escorpión: Los arácnidos en la Mitología ARACNET 10 - Revista Ibérica de Aracnología (Boletín). 2002;5:112-124.

Ministerio de Salud de la Nación. Programa Nacional de Prevención y Control de las Intoxicaciones. Guía de Prevención, Diagnóstico, Tratamiento y Vigilancia Epidemiológica de los envenenamientos por Arañas. 1ra Edición República Argentina. 2012. 110p.

Orduna T., Espinosa M., Martino O. Ofidismo y Aracnoidismo. En: *Infectología y Enfermedades Infecciosas*. 1ra Edición Buenos Aires. Journal 2011. p.1096.

Platnick N.I. The world spider catalog. Version 15.0. American Museum of Natural History. (en línea). 2014. [Consulta 11 de agosto 2014]. Disponible en: <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>

Saracco A.S., De Roodt A.R. Incidentes por animales ponzoñosos Latrodectismo. *Boletín ATA*. 2007;21(76):35-39.

Tausiet M. La fiesta de la Tarántula: júbilo y congoja en el Alto Aragón. *Rev. De Dialectología y Tradiciones populares*. 2009;64(2):63-90.

REPORTES DE CASOS

Intoxicación por mercurio elemental por inyección intramuscular.

Presentación de caso y revisión de la literatura

Poisoning with elemental mercury by intramuscular injection.

Case report and review of literature

Ramos-Gutiérrez^{1*}, Ruth Yesica; Real-Ornelas, Gabriel Alejandro^{1,2}; Colin-Nolasco, Paulina¹;
Ramos-Gutiérrez, Maday¹; Barriga-Marín, Javier Álvaro¹

¹Centro de Información y Atención Toxicológica del Hospital Civil de Guadalajara Dr. Juan I Menchaca. Salvador Quevedo y Zubieta No. 750 C.P.44340. Guadalajara, Jalisco, México. ²Laboratorio de toxicología, higiene y ambiental Microanálisis de Occidente S.C. Alemania No. 1629 C.P. 44190. Guadalajara, Jalisco, México.

dr_yesi0612@yahoo.com.mx

Recibido: 31 de marzo de 2015

Aceptado: 26 de noviembre de 2015

Resumen. Se han reportado en la literatura pocos casos de intoxicación por mercurio por administración en tejidos blandos. No se cuenta con suficiente evidencia acerca del manejo con terapia quelante en este tipo de intoxicación. Se reporta el caso de una mujer de 34 años con antecedente psiquiátrico la cual se administró mercurio intramuscular en fosa cubital izquierda con fines autolíticos. Acudió al servicio de urgencias 24 horas posteriores a su administración, el motivo principal fue el dolor intenso en la zona y la presencia de edema, sin efectos sistémicos. La radiografía mostró depósitos metálicos en 1/3 de brazo, localizados en músculo, y que migraron a través de la fascia hacia 2/3 del antebrazo. La placa de tórax no mostró alteraciones. Fue intervenida quirúrgicamente en 3 ocasiones extrayendo mínimas cantidades de mercurio. La paciente fue manejada con antibióticos por presencia de celulitis. Un mes después presentó temblor mercurial, razón por la cual se tomaron muestras de sangre y orina para la determinación de mercurio, el cual resulto elevado en ambas muestras, por lo que se le administró terapia quelante con D-penicilamina.

Palabras clave: Mercurio; Intoxicación; Inyección intramuscular, Quelación.

Abstract. There are just a few cases of mercury toxicity after administration in soft tissue, reported in the literature. There is insufficient evidence about the management with chelation therapy in this type of poisoning. We report the case of a 34 year-old woman with a psychiatric history who administered herself a mercury injection into de muscle in the left cubital fossa, referred as a suicide attempt. She came to the emergency department 24 hours after administration; the main reason was the intense pain in the area and the presence of edema, with no systemic effects. Radiography showed metallic deposits in 1/3 arm, located in muscle, which moved through the fascia to 2/3 of the forearm. Chest radiography was normal. She underwent surgery three times extracting trace amounts of mercury. The patient was managed with antibiotics by the presence of cellulite. One month later she had tremor mercurialis, so a blood and urine samples were sent to the laboratory in order to determinate mercury levels, which resulted high in both fluids, therefore chelation therapy with D-penicillamine was administered.

Keywords: Mercury; Poisoning; Intramuscular injection, Chelation.

Introducción

El mercurio es un elemento metálico que se encuentra en tres formas principales: mercurio metálico o elemental (Hg^0), mercurio inorgánico (sales monovalentes Hg^{1+} o divalentes Hg^{2+}) y mercurio orgánico, con diferente toxicidad entre cada forma. (Nordberg y col. 2007; Shannon y col. 2007; Peña y col. 2010).

El principal mecanismo de intoxicación por la forma elemental es por inhalación de vapor, el cual es absorbido en 80 % a través de los pulmones (Ellis y col. 2009; Wale y col. 2010), dando manifestaciones como disnea, fiebre, tos, debilidad, fallo respiratorio y muerte (Rhua y col. 2001). Otra vía por la cual se ha reportado

exposición es la gastrointestinal por ingestión, donde no habrá efectos sistémicos por su deficiente absorción y excreción en heces (Rhua y col. 2001; Wale y col. 2010), existen pocos reportes sobre la vía parenteral (intravenosa, intramuscular o subcutánea), y de estos, solo en algunos se reportan datos de toxicidad sistémica.

Reporte de caso

Paciente femenina de 34 años de edad, con antecedente psiquiátrico conocido y con un intento de suicidio previo. Acudió al servicio de urgencias 24 horas después de la administración intramuscular de 3 a 4 mL de mercurio elemental con fines autolíticos, ingresó al servicio de urgencias por dolor de características ardoroso, punzante y quemante, así como edema y eritema en brazo izquierdo, con signos vitales estables, afebril, sin datos de afectación general. A la exploración física el único dato relevante fue la presencia de edema, eritema y dolor 10/10 EVA, en extremidad superior izquierda, en 2/3 de antebrazo y 1/3 de brazo.

Se tomaron exámenes generales los cuales reportaron: biometría hemática: Hb 10,4 g/dL, hematócrito 33,3 %, plaquetas 132,5 miles/ μ L, leucocitos 10,3 miles/ μ L, neutrófilos 66 %, linfocitos 25 %, procalcitonina 0,031 ng/mL, creatinina 0,60 mg/dL, urea 20,8 mg/dL, GGT 9,0 UI/L, albúmina 3,0 g/dL, ALT 6,2 U/L, AST 13,6 U/L, calcio sérico 6,3 mg/dL, cloro 116,0 mmol/L, potasio 3,4 mmol/L, sodio 141,0 mmol/dL, bilirrubinas sin alteraciones.

Se le realizó a su ingreso radiografía de miembro superior izquierdo (Figura 1) donde se observaron depósitos metálicos en tejidos blandos de brazo y antebrazo izquierdo, localizados en músculo y a través del trayecto de la fascia hacia el antebrazo. Se le realizó una radiografía de tórax (Figura 2) en la cual no se encontraron embolismos metálicos, ni otras alteraciones. El electrocardiograma no mostró datos patológicos.

La paciente durante su estancia intrahospitalaria fue manejada con antibióticos (clindamicina), analgesia (tramadol / antiinflamatorios no esteroideos) y tromboprolifaxis (heparina subcutánea). Fue intervenida quirúrgicamente en tres ocasiones, extrayendo mínimas cantidades de mercurio en cada uno de los procedimientos quirúrgicos, posterior a cada una de las intervenciones se le realizaron radiografías, encontrando una disminución leve del material metálico de los tejidos (Figura 3). Se realizó la

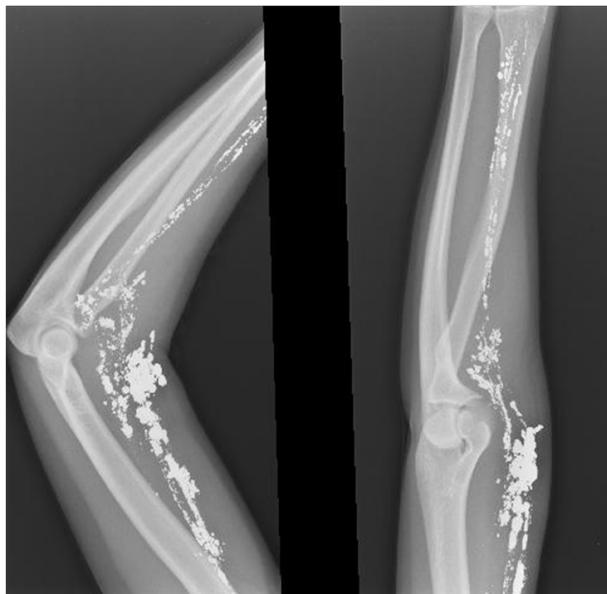


Figura 1. Radiografía de brazo y antebrazo al ingreso a urgencias, presencia de mercurio en musculo y trayecto de fascia muscular.



Figura 2. Radiografía AP de tórax al ingreso, no se observan émbolos de mercurio.

cuantificación del nivel de mercurio en sangre resultando en 150 μ g/L.

Se solicitó valoración y manejo al servicio de psiquiatría quien realizó diagnóstico de disritmia cerebral de predominio frontoparietal con trastorno mental y del comportamiento secundario a disfunción de la conductividad eléctrica del SNC, con alteraciones emociona-



Figura 3. Radiografía posterior a la primer debridación.



les y somáticas, para lo que inicia tratamiento. Como antecedente de importancia la paciente había sido manejada por distintas instituciones psiquiátricas, sin embargo no recuerda el diagnóstico ni el tratamiento, el cual ya había suspendido.

Se realizó consulta médica de seguimiento un mes después, encontrando a la exploración

nistagmus horizontal, temblor lingual fino y temblor distal en extremidades superiores que dificultaba la escritura (temblor mercurial), sin alteraciones sensitivas. Se tomaron controles de función renal y de mercurio en orina de 24 horas, reportando proteínas en 24 horas de 60 mg, urea 24,28 mg/dL, creatinina 0,6 mg/dL y mercurio 1390 $\mu\text{g/L}$. Se inició terapia quelante con D-penicilamina a dosis de 300 mg cada 8 horas por 10 días y vitamina E, después de los 10 días de tratamiento se tomaron nuevamente niveles de mercurio en sangre y orina obteniendo 517,5 $\mu\text{g/L}$ y 2974 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. Se encontró mejoría clínica con disminución del temblor distal, ya sin dificultades para escribir, sin nistagmus, persistió el temblor lingual. Se dio cita para consulta de seguimiento para monitoreo clínico de función renal y mercurio en sangre, en orina y para revalorar un nuevo esquema con quelante (no se disponía de DMSP, por lo que se consideró otro ciclo con D-penicilamina), sin embargo la paciente no asistió.

Discusión

El mercurio elemental o metálico, que es la forma química que se ha utilizado de forma parenteral con fines autolíticos, es un líquido a temperatura ambiente, color plata brillante, espeso, altamente volátil y ligeramente soluble en agua, con una valencia de 0 (World Health Organization 1991; Nordberg 2007).

El principal mecanismo de toxicidad del mercurio es la interacción con grupos sulfhidrilo de sistemas enzimáticos, proteínas estructurales, transportadoras, biomoléculas no proteicas y membranas celulares, además de unión a otros nucleófilos, llevando a la posterior disfunción en su actividad biológica. Las especies químicas que tienen la capacidad de interactuar con estas estructuras son las ionizadas, particularmente la forma divalente, la cual es capaz de donar electrones al azufre del grupo sulfhidrilo, formando enlaces covalentes (Nordberg y col. 2007). En estado elemental el Hg no posee la capacidad de unirse a los grupos sulfhidrilo, por lo que tiene que pasar por un paso previo de oxidación. Esta oxidación se lleva a cabo por la enzima catalasa (Shannon y col. 2007; Peña y col. 2010; Young-Jin. 2011).

La clínica de intoxicación por mercurio metálico dependerá de su vía de entrada, en casos de inyección se puede presentar por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Por vía intravenosa se han reportado variedad de presentaciones clínicas como embolismos pulmo-

nares, lo que se manifiesta de forma aguda con taquipnea, tos, hemoptisis, disnea de moderados esfuerzos y dolor pleurítico, los cuales son causados por la hipoxemia y la alteración en la difusión de gases y del patrón ventilatorio; estos efectos son atribuibles al efecto masa del metal que viaja por el sistema vascular y los consecuentes infartos (Gutiérrez y León 2000; Lorenzo-Dus y col. 2007), en algunos otros casos de embolismos pulmonares no se ha presentado sintomatología (Naidich y col. 1973; Chitkara y col. 1978; Shaffer y Schmidt 1989; Davey y Benson 1999; Gutiérrez y León 2000; Winker y col. 2002; Wale y col. 2010). Por otro lado, en el caso reportado por Kobidze y col., sí se reportaron manifestaciones de toxicidad sistémica luego de tres meses de una administración intravenosa, caracterizadas por temblor mercurial, eretismo y debilidad de extremidades inferiores (Kobidze y col. 2014). En otro reporte de caso, una administración intravenosa ocasiono, además de manifestaciones locales al sitio de la punción, debilidad muscular seis semanas después de la inoculación y temblor mercurial 1 año después. Los niveles de mercurio en la evaluación inicial fueron de 500 µg/L (Torres y col. 1997).

Otros sitios de acumulación de mercurio posterior a su inyección intravenosa que se han reportado son los riñones, venas renales, el hígado, el bazo, el corazón, la tiroides, nódulos linfáticos hiliares y vasculatura cerebral (Shaffer y Schmidt 1989, Kobidze y col. 2014).

Por medio de inyección y acúmulo en tejidos blandos, se ha reportado formación de granulomas asintomáticos, datos de celulitis con presencia de dolor y eritema en sitio afectado o formación de abscesos y necrosis, que frecuentemente se presentan sin sintomatología sistémica, y en los casos en que se han reportado casos de intoxicación, ha sido hasta después de años de la inyección del mercurio (Vernon 2005; Ellis y col. 2009; Friesenbichler y col. 2011; Souto y col. 2012). Hay pocos reportes de sintomatología sistémica desarrollada por la inyección en tejidos blandos, como el reportado por Clairie Berroet y colaboradores en donde el paciente presentó glomerulopatía membranosa proliferativa e hipoparatiroidismo (Berrouet y col. 2008).

En algunos otros casos se han reportado intoxicaciones por ambas vías (intramuscular e intravenosa), en los cuales el cuadro clínico se ha combinado (Kang y col. 2011; Wale 2012).

En este caso se observó la presencia de mer-

curio en tejido celular subcutáneo, y la paciente inicialmente solo presentó síntomas locales por el acúmulo en tejidos blandos. Sin embargo, un mes después iniciaron síntomas compatibles con temblor mercurial y, además, se encontraron niveles elevados de mercurio tanto en sangre como en orina. En la literatura médica se reporta que la intoxicación de mercurio ocurre cuando se encuentran niveles en sangre >10 µg/L y en orina > 20 µg/L (Ferrer 2003) o > 15 µg/L y > 35 µg/L (Peña y col. 2010), respectivamente.

Se considera que los pacientes que presentan concentraciones superiores a 100 µg/L de Hg en orina presentan un riesgo superior de alteraciones neuropsiquiátricas, como temblor en extremidades superiores y cambios electrofisiológicos, aunque estos efectos pueden observarse desde niveles entre 10-30 µg/L de Hg en orina (Nordberg y col. 2007).

La reactividad química del mercurio sugiere que el estrés oxidativo es uno de los mecanismos que contribuyen a la toxicidad, además de que se ha encontrado que el glutatión, el principal antioxidante intracelular, se encuentra depletado en esta intoxicación (Andersen 2004; Swaran y Vidhu 2010).

El manejo de la intoxicación por inyección en tejidos blandos de mercurio elemental consta de tratamiento médico y quirúrgico.

Lo estrictamente necesario es la intervención quirúrgica temprana para extraer el material. Se recomienda una técnica mínimamente invasiva para remover el mercurio y el uso de fluoroscopia durante el procedimiento (Kang y col. 2011). En algunos casos es necesaria la debridación del tejido involucrado y del tejido necrótico, con escisión marginal o amplia, en quirófano, bajo anestesia y con toma de radiografías control posterior a la cirugía (Rhua y col. 2001; Friesenbichler y col. 2011). Se recomienda no utilizar electrocauterio durante el procedimiento debido al bajo punto de ebullición del mercurio y su posible liberación en forma de vapor.

Si bien se tienen prescritos los agentes quelantes y las dosis como tratamiento en casos de exposición e intoxicación a mercurio orgánico, inorgánico y elemental en su forma volátil, es controversial el papel de la terapia quelante en el tratamiento de los depósitos secundarios a inyección de mercurio, ya que la evidencia actual no muestra que la terapia con los antidotos disponibles aumente sustancialmente la eliminación del mercurio en estos casos (Berrouet y

col. 2008). Algunos autores recomiendan el uso de terapia de quelación si existen signos de intoxicación sistémica y después de la administración intravenosa, sin embargo se ha encontrado poca información y evidencia acerca del beneficio de utilizar esta terapia.

Terapia con quelantes

La quelación es un proceso químico en el que un metal interactúa con otro compuesto formando, ya sea un enlace covalente y un en-

lace coordinado, o dos o más enlaces coordinados dando como resultado un compuesto organometálico denominado quelato (Swaran y Vidhu 2010).

Los principales quelantes utilizados para la intoxicación con mercurio son el dimercaprol o British Anti Lewisita (BAL), el ácido 2,3 dimercaptosuccínico o succimer (DMSA), el ácido 2,3 dimercapto 1-propano sulfónico (DMSP) y la D- Penicilamina. Los esquemas de tratamiento y efectos adversos se resumen en la *tabla 1*.

Tabla 1. Agentes quelantes utilizados en el tratamiento de la intoxicación con mercurio y efectos adversos (Rumack 2014, Young-Jin. 2011, Peña y col. 2010).

| Esquemas de tratamiento con agentes quelantes y efectos adversos | | | |
|---|---|--|--|
| Agente | Dosis | Efectos adversos | Comentarios |
| BAL | 5 mg/kg cada 4 horas IM por 48 horas. Después 2,5 mg/kg cada 12 horas por 7 días. | Se presentan hasta en el 55 % de los casos con fiebre, rash, vomito, hiperhidrosis, hipertensión, anomalías de la frecuencia cardíaca, cefalea y dolor osteomuscular. | El esquema es derivado del manejo de intoxicación por plomo, por lo que se debe ajustar la dosis de acuerdo a la respuesta. |
| DMSA | 10 mg/kg 3 veces al día por 5 días y posterior 2 veces al día por 14 días. | Reacciones de hipersensibilidad, el riesgo incrementa si el manejo se da por periodos prolongados de tiempo, además de quelación de elementos esenciales. | Se recomienda para la exposición crónica, de acuerdo a comité de expertos de la OMS. |
| DMSP | Casos leves: 100-200 mg vo cada 24 horas durante 12 días. Casos severos: iv: día 1: 250 mg cada 3-4 horas. Día 2: 250 mg cada 4-6 horas. Día 3: 250 mg cada 8-12 horas. Días 5 y 6: 250 mg cada 8-24 horas. Después del 5° día 100-300 mg vo cada 8 horas a por 14 días o hasta que los niveles de mercurio en orina sean no detectables. | Fiebre, náusea, reacciones cutáneas de hipersensibilidad (eritema multiforme o síndrome de Steven Johnson) elevación de transaminasas, deficiencia de Zinc. | Recomendado de primera línea por el comité de expertos de la OMS para el tratamiento agudo y crónico de metilmercurio y mercurio inorgánico, no genera redistribución en SNC. Las presentaciones por VO se administran 1 hora antes de las comidas con abundante agua. |
| D- penicilamina | 250 mg cada 6 horas por 10 días. | Reacción cruzada a la alergia a la penicilina. Fiebre, artralgia, linfadenopatía, debilidad, anorexia, vómito, lesiones en piel y mucosas, glomerulopatía, agranulocitosis, anemia hemolítica, aplasia, deficiencia de piridoxina. | Contraindicado en pacientes con insuficiencia renal. |

BAL: British anti lewisita o dimercaprol, DMSA: Ácido 2,3 dimercaptosuccínico o succimer, DMSP: Ácido 2,3 dimercapto-1-propanosulfónico o unithiol. iv: intravenoso, vo: vía oral.

En el contexto de un depósito parenteral de mercurio, el tratamiento de elección debería ser aquel que dé menores efectos adversos y que se pueda utilizar por un periodo prolongado de tiempo, ya que se ha observado que los datos de toxicidad en los casos reportados son compatibles con cronicidad. Sin embargo, todos los quelantes antes mencionados tienen efectos adversos (Peña y col. 2010; Young-Jin. 2011), que limitarían su uso a largo plazo en el contexto crónico de estos pacientes. Actualmente no hay evidencia de que la exposición a agentes quelantes por periodos prolongados de tiempo sea segura (Nordberg y col. 2007), por el contrario existe evidencia de que los quelantes solos o en combinación con mercurio pueden causar efectos adversos y movilización de metales esenciales (Nordberg y col. 2007). El único agente quelante recomendado por comité de expertos de la OMS, como manejo de primera línea para la intoxicación crónica, es el DMSP, sin embargo no se encuentra disponible en nuestro medio, su principal uso es en el continente europeo (Young-Jin S. 2011). En uno de los reportes de caso, se dio seguimiento a un paciente por una exposición intravenosa de mercurio por el lapso de cinco años, se realizaron varios ciclos de quelación con DMSP, para su monitorización determinaron mercurio en orina de 24 horas. En el primer ciclo de 6 días, de 500 ug/L incrementó a 7750 ug/L en las primeras 24 horas, y al final del ciclo quedo en 1 100 ug/L. Al año presentó temblor mercurial con una concentración de mercurio en orina de 24 horas de 2 206 ug/L, luego administraron otros 2 ciclos de tratamiento. La concentración final luego de 5 años fue de 807 ug/L. De este caso llama la atención que el temblor mercurial y la debilidad de extremidades inferiores no mejoraron con el tratamiento (Torres y col 1997).

Dado lo previamente presentado, la terapia de quelación debería reservarse solo a aquellos casos en los que se observen datos de toxicidad y debería instaurarse lo antes posible una vez iniciados los síntomas o en picos de niveles elevados de mercurio en orina.

Antioxidantes

El manejo conjunto de antioxidantes con quelantes ha demostrado efectos benéficos en la movilización y recuperación de variables bioquímicas afectadas en el caso de exposición al plomo (Flora 2002). Varios estudios en animales muestran potencial beneficio del uso de

estos compuestos en combinación con agentes quelantes (Flora y Pachauri 2010), sin embargo, no se cuenta con estudios clínicos en humanos que soporten estos hallazgos para el caso de mercurio.

Si bien se ha reportado que la N-acetil cisteína no incrementa la eliminación de mercurio (Berrouet y col. 2008; Peña y col 2010), su utilidad potencial radica en su efecto antioxidante y no quelante.

Dado lo anterior, se considera que antioxidantes como N acetil cisteína, Vitamina C y E, ácido alfa-lipóico, taurina, etc., podrían ser de utilidad como coadyuvantes en el tratamiento, más aun cuando se trata de exposición crónica (Pande y Flora 2002; Flora 2003), estos suplementos tienen una dosis efectiva muy por abajo de la dosis tóxica y ante la ausencia de mejor evidencia se puede recomendar su uso en conjunto con la terapia quelante en los pacientes con depósitos parenterales.

Extractos herbales

Existen estudios en los que se ha encontrado beneficio en el uso de extractos herbales para el tratamiento de intoxicación por metales, solos o en combinación con agentes quelantes, los más estudiados son la centella asiática, el *Allium Sativum* (ajo) y oleífera (Swaran y Vidhu 2010).

El ajo posee dos sustancias activas, la alicina y la aliina, compuestos ricos en grupos tiosulfatos y aminos, los cuales podrían actuar como quelantes de manera similar que el DMSA o el dimercaprol. Además, posee un importante efecto antioxidante (Prasad y col. 1995; Kianoush y col. 2012). En el 2012 un ensayo clínico comparó efectividad de la terapia con extractos de ajo contra el tratamiento con D-penicilamina en el manejo de la intoxicación derivada de exposición crónica a plomo, encontrando una disminución significativa de las concentraciones de plomo en sangre, sin diferencias significativas entre ambas terapéuticas, pero sí con menores efectos adversos con el ajo (Kianoush y col. 2012). Sin embargo, no se encontraron estudios o reportes que soporten esta observación con mercurio por ninguna vía de ingreso.

Conclusión

En el caso de nuestra paciente, a pesar de que se le realizó cirugía para extracción de material (la cual es el tratamiento ideal inmediato reportado en la literatura en la mayoría de los casos), en tres ocasiones, durante la misma

hospitalización, no se logró eliminar gran parte del metal depositado por la diseminación del mismo por todo el miembro superior. Por contar con niveles elevados de mercurio en sangre y orina, además del inicio de temblor mercurial, y siguiendo las probabilidades mencionadas por la OMS de desarrollo de alteraciones secundarias con niveles $>100 \mu\text{g/L}$, así como por referencia de las guías nacionales, las cuales toman como corte de inicio de terapia con agentes de quelación en niveles sanguíneos $>150 \mu\text{g/L}$, se decidió iniciar con la terapia de quelación. Posterior a ésta, nuestra paciente presentó niveles elevados de mercurio en orina, evidenciando incremento de la excreción, y se obtuvo mejoría clínica, lo que se puede atribuir a un incremento en la eliminación de la forma divalente. Sin embargo, en los estudios de laboratorio de control, los niveles de mercurio en sangre continuaron en aumento, evidenciando que continuaba la absorción del metal. Otro punto a considerar, y el cual sale del objetivo de esta revisión, es que la determinación de mercurio en sangre y orina utilizada por el laboratorio de toxicología (espectrometría de absorción atómica con vapor frío) detecta el mercurio total y no diferencia entre las formas divalentes, orgánicas y elementales, en el entendido de que las formas divalentes son las responsables de las manifestaciones clínicas, por lo que se propone que se considere la especiación analítica para el seguimiento de estos pacientes.

En este paciente lo ideal hubiera sido continuar con la terapia de quelación a largo plazo, sin embargo, la nefrotoxicidad de la D-penicilamina, único agente quelante de mercurio disponible en nuestro medio, limita su uso continuo a largo plazo. La estrategia que se planteó fue administrar terapia quelante intermitente, de acuerdo al monitoreo estrecho de la función renal, niveles de mercurio y evaluación clínica, sin embargo la paciente abandonó la atención en el hospital y no fue posible contactarla hasta este momento.

Un esquema con DMSP hubiera sido el tratamiento adecuado, dado que se ha observado mejor nivel de seguridad a largo plazo y a que no genera redistribución del metal a sistema nervioso central. No hay evidencia clínica que demuestre que los extractos herbales de *Allium sativum* sean efectivos y seguros en casos de intoxicación con mercurio como para recomendar su uso como monoterapia. Los antioxidantes podrían ayudar en el tratamiento cróni-

co dado su perfil de seguridad y potencial beneficio, pero no deben ser considerados como monoterapia.

Después del análisis del caso reportado se concluye que el manejo del paciente con depósitos de mercurio en tejidos blandos, debe basarse en primera instancia en la extracción quirúrgica de la mayor cantidad de metal posible, evitando el uso de electrocauterio. Luego en el manejo del dolor e infección secundarios. Por último, en caso de embolismos pulmonares o en otros órganos, el manejo será de soporte.

Dado que los efectos de toxicidad sistémica se han observado tiempo después de la inyección, se recomienda el monitoreo clínico de los pacientes asintomáticos y el seguimiento a través de los niveles de mercurio en orina de 24 horas.

Bibliografía citada

Andersen O. Chemical and Biological Considerations in the Treatment of Metal Intoxications by Chelating Agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2004;4:11-21.

Berrouet Mejía M.C., Escobar Toledo I.E., González Ramírez D.M. Toxicidad sistémica asociada con la inyección intramuscular de mercurio metálico: reporte de un caso. *latreia*. 2008;21(4):420-425.

Chitkara R., Seriff N.S., Kinas H.Y. Intravenous self-administration of metallic mercury in attempted suicide. *CHEST Journal*. 1978;73(2):234-236.

Davey P., Benson M. A young man with a heavy heart. *Heart*. 1999;82 (6):e11-e11.

Ellis L.S., Mullins M.E., Galvin N., Scalzo A.J. Detection of elemental mercury in abdominal wall soft tissue. *Journal of Medical Toxicology*. 2009;5(4):205-209.

Ferrer A. Intoxicación por metales. *Anales Sis San Navarra*. 2003;26(Supl. 1):141-153.

Flora S.J.S., Pande M., Mehta A. Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chem. Biol. Inter*. 2003;145:267-280.

Flora S.J.S. Nutritional components modify metal absorption, toxic response and chelation

therapy. *J. Nutri. Environ. Med.* 2002;12:51–65.

Flora S.J.S., Pachauri V. Chelation in Metal Intoxication. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7(7):2745–2788. Friesenbichler J., Maurer-Ertl W., Sadoghi P., Lobo E., Leithner A. Auto-aggressive metallic mercury injection around the knee joint: a case report. *BMC Surgery* [en línea] 2011 [Consulta 2 de septiembre de 2014]; 11(1):31. Disponible en <http://www.biomed-central.com/1471-2482/11/31>

Gutierrez F., Leon L. Elemental mercury embolism to the lung. *The New England Journal of Medicine.* 2000;342(24):1791.

Kang S.H., Park S.W., Moon K.Y. Postoperative systemic dissemination of injected elemental mercury. *J Korean Neurosurg Soc.* 2011;49(4):245-247.

Kianoush S., Balali-Mood M., Mousavi S.R., Moradi V., Sadeghi M., Dadpour B., Rajabi O., Shakeri M.T. Comparison of Therapeutic Effects of Garlic and D-Penicillamine in Patients with Chronic Occupational Lead Poisoning. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology.* 2012;110,476–481.

Kobidze T., Urushadze O., Afandiyev I., Nem-sadze G., Loladze D. Clinical manifestation and management of intravenous mercury injection: a case report. *Georgian Med News.* 2014;226:11-6.

Lorenzo-Dus M.J., Cases-Viedma E., Bravo-Gutiérrez J., Lloris-Bayo A., Sanchís-Aldás J.L. Pulmonary embolism caused by elemental mercury. *Arch Bronconeumol.* 2007;43(10):585-587. Naidich T.P., Bartelt D., Wheeler P.S., Stern W.Z. Metallic mercury emboli. *M J Roentgenol Radium The Nucl Med.* 1973;117(4):886-891.

Nordberg G.F., Fowler B.A., Nordberg M., Friberg L. *Handbook Of The Toxicology Of Metals.* Vol.1. 3rd ed. Burlington: Elsevier; 2007.

Pande M., Flora S.J.S. Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of α -lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology.* 2002;177:187–196.

Peña L.M., Arroyave C.L., Aristizábal J.J., Gómez U.E. *Toxicología Clínica.* Vol. 1. 1ra ed.

Medellín: Corporación para investigaciones biológicas CIB; 2010.

Prasad K., Laxdal V.A., Yu M., Raney B.L. Antioxidant activity of allicin, an active principle in garlic. *Mol Cell Biochem.* 1995;148:183–9.

Rhua A.M., Tanen D.A., Suchard J.R., Curry S.C. Combined ingestion and subcutaneous injection of elemental mercury. *The journal of Emergency Medicine.* 2001;20(1):39-42.

Rumack B.H. *POISINDEX(R) Information System Micromedex, Inc., Englewood, CO, 2014; CCIS Volume 162, edition expires Nov, 2014.* Hall AH & Rumack BH (Eds): *TOMES(R) Information System Micromedex, Inc., Englewood, CO, 2014; CCIS Volume 62, edition expir Nov, 2014.*

Shaffer B.A., Schmidt-Nowara W.W. Multiple small opacities of Metallic density in the lung. *CHEST Journal.* 1989;96(5):1179-1181.

Shannon M.W., Borron S.W, Burns MF. *Haddad And Winchester's Clinical Management Of Poisoning And Drug Overdose.* Vol. 1. 4th ed. Philadelphia: Saunders; 2007.

Souto A., Gomez G.L., García M.S. Termómetros de mercurio, aún tóxicos, aún presentes. *An Sist Saint Navar.* 2012;35(3):525-528.

Torres A.O., Garza O.L., Piñeyro L.A. Intravenous self-administration of metallic mercury: report of a case with 5-year follow-up. *Clinical Toxicology.* 1997;35(1),83-87.

Vernon S.E. Case report: subcutaneous elemental mercury injection- clinical observations and implications for tissue disposal from the histopathology laboratory. *Annals of Clinical & Laboratory Science.* 2005;35(1):86-90.

Wale J., Yadav P.K., Garg S. Elemental mercury poisoning caused by subcutaneous and intravenous injection: an unusual self-injury. *Indian J Radiol Imaging.* 2010;20(2):147-149.

Winker R., Schaffer A.W., Konnaris C., Barth A., Giovanoli P., Osterode W., Rüdiger H.W., Wolf C. Health consequences of an intravenous injection of metallic mercury. *Int Arch Occup Environ Health.* 2002;75:581-586.

World Health Organization, International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 118 Inorganic Mercury. pp. 13-21, 68-83 (1991).

Young-Jin S. Mercury. En: Nelson L.S., Hoffman R.S., Lewin L.A., Goldfrank L.R., Howland M.A., Flomenbaum N.E. Goldfrank's Toxicologic Emergencies. Vol. 2. 9th ed. New York: McGraw Hill; 2011.p. 1299-1306.

COMUNICACIONES BREVES

Notes of cases of aggression and ophiophagy by *Bothrops jararacussu* (Lacerda 1884) in captivity

Nota de casos de agresión y ofiofagia por *Bothrops jararacussu* (Lacerda 1884) en cautividad

de Roodt, Adolfo R.^{1,2*}; Lanari, Laura C.¹

¹INPB-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Ministerio de Salud, Buenos Aires, Argentina. ²Primera Cátedra de Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

*aderoodt@gmail.com

Recibido: 4 de septiembre de 2015

Aceptado: 14 de noviembre de 2015

Abstract. *Bothrops jararacussu* is one of the most venomous snakes of medical importance in South America, mainly due to the toxicity of their venom and the large amount of that which can be injected in a single bite. The venom of this snake is required for the production, process and control of the therapeutic antivenoms used to treat *Bothrops* envenomation, so it is one of the *Bothrops* species common in Serpentariums located in Argentina and Brazil dedicated to the production of antivenoms. We reported two cases of ophiophagy due captive adult *B. jararacussu* females on *Bothrops* and *Philodryas* snakes and the aggression of specimens of this species is also described. Despite well known resistance to homologous venom of *Bothrops* species, the bite of this specie on other snakes of the same species and also other *Bothrops* snakes, produce serious injuries. These observations are important for professionals whom must maintain in captivity these species of snakes by educational or venom production purposes.

Key words: Ophiophagy; Natural resistance; Bite; Venom.

Resumen. *Bothrops jararacussu* es una de las serpientes venenosas de mayor importancia médica en Sudamérica, tanto por la toxicidad de su veneno como por la cantidad de veneno que puede inyectar. Su veneno es necesario para el proceso de producción y control del antiveneno terapéutico que se usa para tratar el envenenamiento por su mordedura, por eso es una de las especies de *Bothrops* comunes en los serpentarios de Argentina y Brasil dedicados a la producción de antivenenos. Por otro lado, dada la peligrosidad de su mordedura, estas serpientes suelen encontrarse en diferentes serpentarios educativos en los mismos países. En este trabajo describimos la ofiofagia de ejemplares hembras adultas de esta especie sobre ejemplares de *Bothrops* y *Philodryas*. También es descripta la agresión de ejemplares de esta especie a otros ejemplares conespecíficos y de otras especies de *Bothrops*. A pesar de la conocida resistencia a los venenos homólogos que poseen los ofidios, la inoculación del veneno de esta especie a otros ejemplares de la misma especie como a otras *Bothrops* produce lesiones de consideración. Estas observaciones son de importancia para quienes deban mantener ejemplares de esta especie en cautividad por motivos educativos o de producción de veneno.

Palabras clave: Ofiofagia; Resistencia natural; Mordedura; Veneno.

Introduction

Bothrops jararacussu (Lacerda 1884) ("yara-racusú": big yararaca in tupí language) is the largest venomous snake in the South of South America. This snake can be found in Misiones province in Argentina, Paraguay and in Southern Brazil. Although there is a popular belief that the size of this snake surpasses the 2 m and it was described up to 2.2 m length (Milani *et al.* 1997), the biggest specimen in the col-

lection of Butantan Institute of Sao Paulo had 1.77 m (Melgarejo 2003). Regardless the exact maximum size of this species, it is clear that it is one of the largest South American *Bothrops*. Due to the females coloring, one of the names that *B. jararacussu* receives is "tapete dourado" (Freiberg 1968) or "urutú amarelo" (Belluomini 1971), which indicate in Portuguese its yellow or golden colors (Figure 1).



Figure 1. Adult female of *B. jararacussu*. See the black figures on golden background (sometimes the background is light grey).

B. jararacussu venom is used for the production and/or quality control of some antiotherapeutic antivenoms, so it is common to find specimens of this species in Argentina and Brazil Serpentariums for teaching and production purposes. The maintaining in captivity of these snakes for snake venom production is usually in individual cages. However, for teaching purposes the housing can be done in terrariums with individual snakes, or several snakes of the same species or occasionally of different species, (depending their behavior, the regular feeding and time of co-habitat of the co-habitant species) allocated in each box. Although they are not very common between *Bothrops* snakes, in our experience (mostly with *B. alternatus*, *B. diporus*, *B. moojeni* and *B. ammodytoides* specimens), accidents may only exceptionally occur. Nevertheless, in the case of *B. jararacussu* snakes, we observed a different behaviour regarding other *Bothrops*, like ophiophagy and aggression towards snakes, even towards conspecific specimens, causing important lesions, despite the well-known natural resistance to their own venom components that *Bothrops* species possess (Miranda *et al.* 1982; Tanizaki *et al.* 1991; de Oliveira and Tanizaki 1992; Lizano *et al.* 1997; Oliveira *et al.* 2008, 2011; Thwin *et al.* 2010).

In this note, we present two observations on ophiophagy and two behavioural cases of aggression of *B. jararacussu*, in an exhibition terrarium of the Serpentarium of the National Institute for the Production of Biological (INPB) for

the National Administration of Laboratory and Health Institutes "Dr. C.G. Malbrán", of the Ministry of Health of Argentina, during 2006-2009 periods. Animals were under environmental controlled conditions, at 27 °C of temperature and humidity not under 30% with cycles of light / darkness of 12 h and were fed with mice or rats fortnightly.

Cases presentation

Regarding the cases of ophiophagy

1- An adult female of *B. jararacussu* (120 cm length approximately) and a specimen of *Philodryas olfersii* (60 cm length approximately) were housed together in a terrarium (1.80 x 1.20 m length approximately) with substrate of tree bark, sand, rocks, and soil, and with drinkable water (Figure 2). The terrarium was sealed to prevent snakes from escaping. After about 4 weeks of cohabitation, *Philodryas olfersii* specimen "disappeared" from the terrarium. The terrarium was vacuumed and the security measures were examined as well as adjacent sectors (which also had additional security measures) were meticulously registered, with negative results, showing that all the security measures were in order and the *Philodryas* could not be found. We therefore concluded that the only possibility was the ophiophagy of the *B. jararacussu* on *Philodryas olfersii*, considering the possible ophiophagy described for this snake (Martins *et al.*, 2002; Marques *et al.* 2004; Hartman *et al.* 2009). It is important to point out that despite the well-known ophiophagy in well-feed *B. jararacussu* specimens, in our experience, ophiophagy did not occur.



Figure 2. *B. jararacussu* and *Philodryas olfersii* in the terrarium.

Unfortunately, inspection of the *B. jararacussu*'s feces, in order to find any undigested rests of the *Philodryas* specimen, could not be performed. The small body mass of this *Philodryas* snake (see Figure 2), turned impossible to infer if she was eaten by the *B. jararacussu* by observing the body (increased by the digestive content or not). However, the lack of chances to escape from the terrarium (sealed and locked) and the antecedents of ophiophagy described in *B. jararacussu*, strongly suggested that the *Philodryas* specimen was ingested by the *B. jararacussu*.

2- Another case of ophiophagy of *B. jararacussu* was observed on *Bothrops moojeni*. In a terrarium for exhibition, a little bigger than the one described above (around 2.0 x 1.5 m) which housed *B. jararacussu* and *B. moojeni* females, the ingestion of a female *B. moojeni* specimen (length around 70 cm) by a female *B. jararacussu* (length around 130 cm) was observed (Figure 3). We do not know if the *B. moojeni* was killed by the *B. jararacussu* or if she died of natural causes before ingestion. About an hour after ingestion, the *B. jararacussu* female regurgitated the *B. moojeni* snake (Figure 4). The external inspection, as well as the necropsy of death of the *B. moojeni*, showed no important lesions related to death from *Bothrops* envenoming, at least macroscopically.

Regarding the cases of aggression

1- Aggression towards *Bothrops moojeni*. In an exhibition terrarium like the one described previously, a female of *B. moojeni* was housed with a female of *B. jararacussu*, a deformation in the head of the *B. moojeni* was observed. The deformation, after inspection and palpation, proved to be an inflammation, which was associated with holes related with fangs. Given the possibility of envenoming by a *B. jararacussu* bite, a vial of Tetravalent Antiothropic antivenom (INPB-ANLIS "Dr. C. G. Malbrán", immunogens *B. alternatus*, *B. diporus*, *B. jararaca* and *B. jararacussu*, prepared to be used in the Misiones Province, Argentina) was applied to *B. moojeni* specimen by intra-coelomic route. The animal treated stayed clinically normal, restoring the lesion to the normality with no external signs of lesions, or inflammation of head or venomous glands in a week. Unfortunately it died 3 months later of undetermined causes. It was not possible to perform a necropsy.

2- Aggression towards *Bothrops jararacussu*. In a terrarium occupied by two specimens of



Figure 3. Ingestion of *B. moojeni* by the *B. jararacussu*.



Figure 4. Regurgitation of the *B. moojeni* ingested in Figure 3.

B. jararacussu only, an acute deformation in the head and in the face was observed in a 1.20 m length female *B. jararacussu*. In a few minutes, the lesion turned bigger and a hemorrhagic process could be observed in the eye of the affected region of the head, showing hipema (intraocular hemorrhage) (Figures 5a and b). The ocular structure, the periocular tissue and tissue from loreal zone were affected (Figures 6a and b). After 4 weeks, the inflammation reduced but the tissues of the region were seriously affected. Ocular structures with scars on the region of bite possibly with subcutaneous fibroses and loss of anatomical structure of the eye were observed (Figure 7). These lesions possibly affected the visual physiology of the eye and possibly the endings of *Trigeminus* nerve in the correspondent pit. None of these suppositions could be verified, although they seem to be very possible. Despite these important injuries, the snake spent several months until her death in the same terrarium. It was not possible to perform a necropsy.

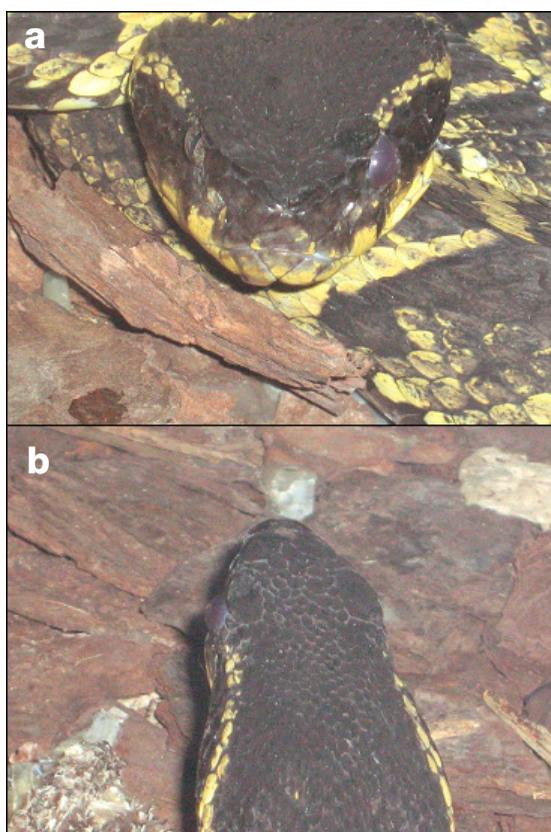


Figure 5. (a) Inflammation of the left side of the face and the hipema (intraocular hemorrhage). In addition can be observed that the face and eye in the right side are not affected; (b) the same lesions taken over the snake's head

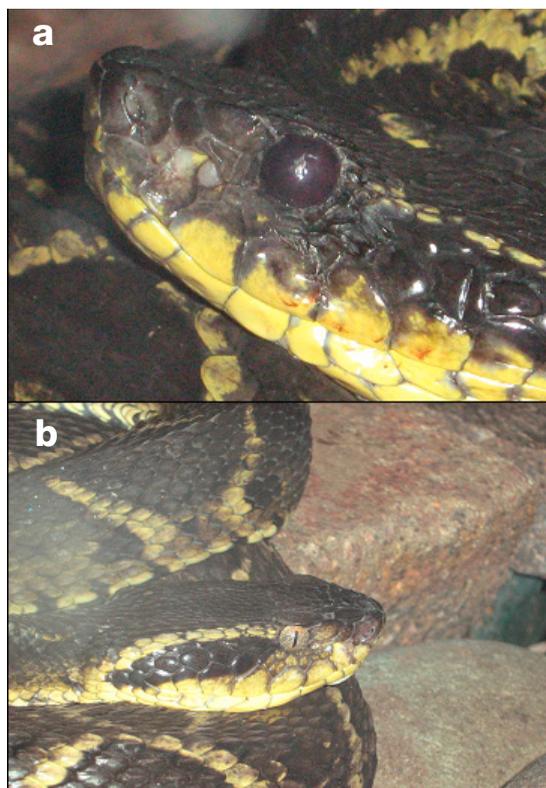


Figure 6. (a) Details of ocular lesion showing the hipema and the lesion in the middle of the cornea. A slight edema in the pit can be observed. Alterations in the post and periocular scales can be observed; (b) the right side of the face without alterations.



Figure 7. Resolution of ocular lesion showing fibroses and loose of the intraocular structures by the clot in intraocular chambers, as well as the cicatrization around the zone injured. Photo: <http://www.anlis.gov.ar/instituto-nacional-de-produccion-de-biologicos>.

Comments

Ophiophagy in venomous snakes has been documented for many years (Abalos 1968, As-tort *et al.* 1985; Manzato and Serapicos 2010; Martins *et al.* 2002; Mendoza and Fernández 2011; Sasa *et al.* 2009; Schonland 1895). This behaviour could be determined by genetics and environmental factors (Polis and Myers 1985). Regarding environmental factors, the diet of a *B. jararacussu* includes ectothermic and endothermic animals as its preys (Martins *et al.* 2002) and ophiophagy, which seems not to be common (Hartman *et al.* 2009), has been observed occasionally (Marques *et al.* 2004).

Although ophiophagy was described in several species of snakes, in our experience of more than 20 years working with *Bothrops*, the only cases of aggression towards other adult snakes between *Bothrops* or ophiophagy of adult snakes were related to *B. jararacussu*. These cases were related to adult females and were not connected with the feeding with mice or rats, which can be associated with bites or ingestion of a snake by another one bigger while eating a shared mouse or rat.

We have observed that ophiophagy in *B. jararacussu* has been restricted not only to prey colubrids, as has been reported previously (Marques *et al.* 2004; Ribeiro 2008), but also to other adult vipers. No relation with starvation was observed, since in the two cases described, snakes were regularly fed weekly or fortnightly with rodents (rats or mice) in a controlled way. No relation with environmental conditions could be determined due all the specimens of *B. jararacussu* were housed in the same conditions since its inclusion in the serpentarium several months (almost a year) before the cases described.

We could not find common factors that could have been related to these episodes, with the exception that there were female snakes.

Although it is known that *Bothrops* snakes have plasmatic inhibitors of venom components (Neves-Ferreira *et al.* 2010), and consequently resistance to bothropic venoms (Miranda *et al.* 1982), we observed important lesions in *Bothrops* bitten by *B. jararacussu*, including on other *B. jararacussu*.

Possibly the large amount of venom injected surpasses the capacity of the neutralizing components of the plasma, specially considering the huge amount of venom that this snake can produce and inject (Freiberg 1968; Rosenfeld 1971; Kaiser & Michl 1971; Belluomini 1971;

Sánchez *et al.* 1992; de Roodt *et al.* 1998; Melgarejo 2003). If the plasmatic toxin inhibitors have a determinate molar relation, it is obvious that a large dose of venom can surpass their neutralizing capacity. If the amount of toxins surpasses the number of molecules of inhibitors in the plasma, the remaining toxins will act, since all the inhibitors would be bound. If that was the case, it reinforces the basic concept of Toxicology enunciated by *Paracelso* (Philipus Aureolus Teophrastus Bombastus von Hohenheim, Toxicology's father): *Dosis sola facit venenum*, which means that the toxicity is directly related to the dose.

In this case, despite the presence of neutralizing components in the plasma, the large amount of venom concentrated in one point determined the lesions caused by the venom of a snake of the same species, which can be seen in *Figures 5, 6 and 7*.

Lesions observed in the *Bothrops* bitten were compatible with local lesions produced in mammals by bothropic venoms. These local lesions are caused by components like metalloproteinases which degrade the extracellular matrix (Bjarnasson and Fox 1994) and by cytotoxic components like some phospholipases (Mebs and Ownby 1990). The presence of natural inhibitors in plasma of South American snakes was described (Fortes-Dias *et al.* 1991; Tanizaki *et al.* 1991; de Oliveira & Tanizaki 1992; Soares *et al.* 1997; Lizano *et al.* 1997; Oliveira *et al.* 2008, 2011; Thwin *et al.* 2010). Although not all these inhibitors were described in the plasma of *B. jararacussu*, it would be possible that these snakes possess similar components in their plasma as observed in other *bothrops* species. The venom of *B. jararacussu* in yield, biochemical, immunological and toxicological characteristics shows some differences regarding other bothropic's venoms. One of the factors which could be related to these characteristics may be the diet of these snakes. In fact, in the diet of the *B. jararacussu*, species which are "resistant" to bothropic venoms were found. This is the case of *Didelphis* sp. (Melgarejo 2003; Correa-Netto 2007; Correa-Netto *et al.* 2010). These mammals have neutralizing components of *Bothrops* venoms in their plasma (Soares *et al.* 1997; Neves Ferreira *et al.* 2002, 2010; Surza *et al.* 2002) but probably the large amount of venom delivered by the *B. jararacussu* surpasses this resistance allowing them to prey on *Didelphis*.

Although the ophiophagy of *B. jararacussu* was described (Marques *et al.* 2004; Ribeiro 2008),

the purpose of transmitting the cases described is to alert on *B. jararacussu* ophiophagy even in adult specimens, including on *Bothrops* snakes and the aggressiveness of this species when sharing environments, even with conspecifics. These factors can be helpful in the planning of normatives to house different species of *Bothrops* snakes in terrariums or in other types of habitats. In addition, it shows that despite the neutralizing components of the venom found in snakes' plasma, important lesions can occur, even between snakes of the same species.

References

- Abalos J.W., Nader R.F. Los hábitos ofiófagos de *Pseudoboa cloelia* y *P. maculata*. Revista de la F.C.E. y N. 1968; 34. Universidad Nacional de Córdoba.
- Astort E.D., Boero N., Omacini M. Notas sobre canibalismo en *Bothrops alternatus* Dum. BiB. Dum., 1854 en cautiverio (Ophidia, Crotalidae). Boletín de la Asociación Herpetológica Argentina. 1985;2(4):8-9.
- Belluomini H.E.: Extraction and Quantities of Venom Obtained from Some Brazilian Snakes. In: Buchler, E. and Buckley, E., Editors. Venomous Animals and Their Venoms. New York: Academic Press; 1971. Vol. 2, p. 97-117.
- Bjarnasson J.B., Fox J.W. Hemorrhagic metalloproteinases from snakes venoms. Pharmacology & Therapeutics. 1994;62:325-372.
- Correa Netto C. Estudo imunológico do veneno de *B. jararacussu* (Lacerda, 1884) e identificação de moléculas biomarcadoras como ferramenta para o desenvolvimento de diagnóstico..Master in Science Thesis. 2007. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.
- Correa-Netto C., Teixeira-Araujo R., Aguiar A.S., Melgarejo A.R., De-Simone S.G., Soares M.R., Foguel D., Zingali R.B. Immunome and venome of *Bothrops jararacussu*: a proteomic approach to study the molecular immunology of snake toxins. Toxicon. 2010;55(7):1222-35.
- de Oliveira E.P., Tanizaki M.M. Effect of a proteinase inhibitor from the plasma of *Bothrops jararaca* on coagulant and myotoxic activities of *Bothrops* venoms. Toxicon. 1992;30(2):123-8.
- de Roodt A.R., Dolab J.A., Galarce P.P., Litwin S., Gould E., Dokmetjian J.C., Segre L., Vidal J.C. A Study on the venom yield of venomous snake species from Argentina. Toxicon. 1998;36:1949-1958.
- Fortes-Dias C.L.; Fonseca B.C.; Kochva E., Diniz C.R. Purification and properties of an antivenom factor from the plasma of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*). Toxicon. 1991;29(8):997-1008.
- Freiberg M.A. Ofidios ponzoñosos de la Argentina. Ciencia y Técnica. 1968;24:338-353.
- Hartman P.A.; Hartman M.T., Martins M. Ecology of snake assemblage in the Atlantic Forests of southeastern Brazil. Papéis Avulsos de Zoologia. Museu de Zoologia da Universidade de Sao Paulo. 2009;49(27):343-360.
- Höggren M., eGreene H.W., Editors. Biology of the Vipers. Indiana: Biological Sciences; 2002. p.307-328.
http://www.spzoo.org.br/anais2010/canibalismo_bothropoides.pdf.
- Kaiser E., Michl H. (1971): Chemistry and Pharmacology of the Venoms of *Bothrops* and *Lachesis*. In: Buchler, E. and Buckley, E., Editors. Venomous Animals and Their Venoms. New York: Academic Press; 1971. p. 307-317.
- Lizano S., Lomonte B., Fox J.W., Gutiérrez J.M. Biochemical characterization and pharmacological properties of a phospholipase A2 myotoxin inhibitor from the plasma of the snake *Bothrops asper*. Biochemical Journal. 1997; 326(3):853-859.
- Manzato C.P., Serapicos E.O. Relato de canibalismo em *Bothropoides neuwiedi* em cativeiro. 2010. [accessed November 7, 2013]. Available at:
Marques O.A.V., Falcetti C.A., Ribeiro R.A.K., Pereira D.N. *Bothrops jararacussu* (*Jararacussu*) ophiophagy. Herpetological Review. 2004;35(1):58.
- Martins M., Marques O.A.V., Sazima I. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in Neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In: Schuett G., Mebs D., Ownby C.L. Myotoxic components of snake venoms: their biochemical and biological activities. Pharma-

cology & Therapeutics. 1990;48:223-236.

Melgarejo A. Among snakes, venoms and public health. Conferences. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases. 2003;9(2):295-348.

Melgarejo A.R. Serpientes Peçonhentas de Brasil. Animais Peçonhentos de Brasil. In: Costa Cardoso, J.L., De Siquiera Franca, F. O., Hui Wen, F., Santana Málaque, C.M., Vidal H. Jr., Editors. Animais Peçonhentos no Brasil. Biología, Clínica e Terapêutica dos Accidentes. Sao Paulo, Brasil: Sarvier-FAPESP; 2003. p.33-61.

Mendoza Roldan J.S., Fernández Lucero M. A prey item not previously recorded for *Bothrops asper*: a case of ophiophagy involving two sympatric pit viper species. Heterotropicos. 2011;5(2):107-109.

Milani Jr R., Jorge M.T., de Campos F.P., Martines F.P., Bouso A., Cardoso J.L., Ribeiro L.A., Fan H.W., Franca F.O., Sano-Martins I.S., Cardoso D., Y de Fernandez C., Fernandez J.C., Aldred V.L., Sandoval M.P., Puerto G., Theakston R.D., Warrell D.A. Snake bites by the jararacuçu (*Bothrops jararacussu*): clinico-pathological studies of 29 proven cases in Sao Paulo State, Brazil. Quarterly Journal of Medicine. 1997;90:323-334.

Miranda M.E, Couturier G.A, Canziani G.A, Seki C., Vidal J.C. Resistance of *Crotalus durissus terrificus* and *Bothrops neuwiedii* to the neurotoxicity of massive quantities of Crotalid venom. Acta Physiologica Latino Americana. 1982;32(2):103-15.

Neves-Ferreira A.G.C., Perales J., Fox J.W., Shannon J.D., Makino D.L., Garratt R.C., Domont G.B. Structural and Functional Analyses of DM43, a snake Venom Metalloproteinase Inhibitor from *Didelphis marsupiales* Serum. The Journal of Biological Chemistry. 2002; 277: 13129-13137.

Neves-Ferreira A.G.C., Valente R.H., Perales J., Domoni G.B. Natural Inhibitors. Innate Immunity to Snake Venoms. In: Mackessy S.P., Editor. Handbook of Venom and Toxins of Reptiles. Boca Raton, Londres, New York: CRC Press; 2010). p. 259-284.

Oliveira C.Z., Menaldo D.L., Marcussi S., Santos-Filho N.A., Silveira L.B., Boldrini-França J., Rodrigues V.M., Soares A.M. An alpha-type phospholipase A (2) inhibitor from *Bothrops jararacussu* snake plasma: structural and functional characterization. Biochemie. 2008;90(10):1506-14.

Oliveira C.Z., Santos-Filho N.A., Menaldo D.L., Boldrini-França J., Giglio J.R., Calderon L.A., Stabeli R.G., Rodrigues F.H., Tasic L., da Silva S.L., Soares A.M. Structural and functional characterization of a α -type phospholipase A2 inhibitor from *Bothrops jararacussu* snake plasma. Current Topics in Medicinal Chemistry. 2011;11(20):2509-19.

Polis G.A., Myers C.A. A. Survey of Intraspecific Predation among Reptiles and Amphibians. Journal of Herpetology. 1985;19(1):99-107.
Ribeiro Duarte, M. *Bothrops jararacussu* (jararacussu) ophiophagy. Herpetological Review. 2008;39(4):467.

Rosenfeld G. Symptomatology, Pathology and treatment of snake bites in South America. In: Buchler, E. and Buckley, E., Editors. Venomous Animals and Their Venoms. New York: Academic Press; 1971. p.345-384.

Sanchez E.F., Freitas T.B., Ferreira-Alves D.L., Velarde D.T., Diniz M.R., Cordeiro M.N., Agostini-Cotta G., Diniz C.R. Biological activities of venoms from South American snakes. Toxicon. 1992;30(1):95-103.

Sasa M., Wasko D.K., Lamar W.W. Natural history of the terciopelo *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae) in Costa Rica. Toxicon. 2009; 54:904-922.

Schonland J. Snake cannibalism. Nature. 1895;51:511-511.

Soares A.M., Rodrigues V.M., Borges M.H., Andrião-Escarso S.H., Cunha O.A., Homs-Brandeburgo M.I., Giglio J.R. Inhibition of proteases, myotoxins and phospholipases A2 from *Bothrops* venoms by the heteromeric protein complex of *Didelphis albiventris* opossum serum. Biochemistry and Molecular Biology International. 1997;43(5):1091-9.

Surza Rocha S.L.G., Lomonte B., Neves-Ferreira A.G.C., Trugilho M.R.O., Junqueira-

de-Azevedo I.de L.M., Ho P.L., Domont G.B., Gutiérrez J.M. Functional analyses of DM64, an antimyotoxic protein with immunoglobulin-like structure from *Didelphys marsupialis* serum. *European Journal of Biochemistry*. 2002;269:6052-6062.

Tanizaki M.M., Kawasaki H., Suzuki K., Mandelbaum F.R. Purification of a proteinase inhibitor

from the plasma of *Bothrops jararacá* (jararaca). *Toxicon*. 1991;29(6):673-81.

Thwin M.M., Samy R.P., Satyanarayanajois S.D., Gopalakrishnakone P. Venom neutralization by purified bioactive molecules: Synthetic peptide derivatives of the endogenous PLA (2) inhibitory protein PIP (a mini-review). *Toxicon*. 2010;56(7):1275-83.

ARTÍCULOS DE DIVULGACIÓN

El organofosforado clorpirifos como disruptor estrogénico y factor de riesgo para el cáncer de mama

The organophosphorus chlorpyrifos as endocrine disruptor and breast cancer factor risk

Cocca, Claudia^{1*}; Ventura Clara¹; Nunez, Mariel¹; Randi, Andrea²; Venturino, Andres³

¹Laboratorio de Radioisótopos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Junín 956. CABA, Argentina. ²Laboratorio de Efectos Biológicos de Contaminantes Ambientales, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Paraguay 2155, CABA, Argentina. ³Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas y Químicas del Ambiente (LIBIQUIMA), Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC), CONICET-Universidad Nacional del Comahue, Buenos Aires 1400. Neuquén, Argentina.

*cmcocca@ffyb.uba.ar

Recibido: 21 de octubre de 2014

Aceptado: 14 de diciembre de 2015

Resumen. El clorpirifos (CPF) es un insecticida de amplio espectro que se utiliza en Argentina y en otros países de Latinoamérica. Se emplea para el control de plagas en la producción de frutas, hortalizas, cereales y plantas ornamentales. El principal mecanismo de acción descrito para este insecticida es la inhibición de la acetilcolinesterasa. Sin embargo, reportes más recientes sugieren múltiples efectos del plaguicida independientes de la inhibición de esa enzima. El objetivo de este trabajo es transmitir a la comunidad los resultados de nuestras investigaciones obtenidos utilizando diferentes dosis de CPF en distintos modelos experimentales, tanto *in vitro* como *in vivo*. En relación a esto, hemos evidenciado una acción del CPF sobre el sistema redox celular que conduce al incremento de especies reactivas del oxígeno y consecuentemente a la activación de diferentes vías de señalización. Además, hemos determinado que el insecticida CPF puede comportarse como un disruptor endócrino modulando la acción de los estrógenos y alterando la normal estructura del tejido mamario. Nuestros resultados alertan sobre el impacto que este compuesto podría tener sobre la salud, sugiriendo la necesidad de revisar su uso dado que manifiesta acciones a dosis encontradas en el ambiente.

Palabras clave: Clorpirifos; Cáncer de mama; Estradiol; ERO

Abstract. Chlorpyrifos (CPF) is a broad spectrum insecticide used in Argentina and other Latin American countries. It is commonly used for pest control in the production of fruits, vegetables, cereals and ornamental plants. The main mechanism of action described for this insecticide is the inhibition of acetylcholinesterase activity. However, more recent reports suggest multiple effects for this pesticide in an independent way from the inhibition of this enzyme. The objective of this work is to convey to the community the results of our investigations obtained using different doses of CPF in various experimental models, both *in vitro* and *in vivo*. In this connection, we have shown a CPF action on the cellular redox system which leads to increased reactive oxygen species and the consequent activation of different signaling pathways. In addition, we have determined that the insecticide CPF acts as an endocrine disruptor modulating the action of estrogen and altering the normal structure of breast tissue. Our findings warn about the impact that this compound might have on health, suggesting the need to review its use since adverse actions were found at environmentally relevant doses.

Key words: Chlorpyrifos; Breast cancer; Estradiol; ROS

Introducción

La agricultura constituye una de las principales actividades económicas de los países en vías de desarrollo como la Argentina. En estas regiones, el control fitosanitario y la rentabilidad productiva se sostienen en base al uso intensivo de plaguicidas, lo cual representa un factor de riesgo tanto para los trabajadores

como para las poblaciones cercanas y el medio ambiente.

Los compuestos organofosforados (OPs) constituyen un grupo de sustancias altamente tóxicas utilizadas en la actividad agrícola para el control de plagas. La aplicación de insecticidas, principalmente organofosforados, repre-

senta un alto impacto ambiental contaminando aguas superficiales y subterráneas, afectando poblaciones de especies acuáticas y poniendo en riesgo la salud humana (Loewy y col. 1999). El principal mecanismo de toxicidad de los compuestos OPs es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), lo que conduce a un aumento de acetilcolina en los organismos expuestos. Por lo tanto, las exposiciones agudas y crónicas a estos compuestos pueden producir una variedad de efectos sobre el sistema nervioso central y periférico, incluyendo dolores de cabeza, visión borrosa, lagrimeo, excesiva salivación, secreción nasal, mareo, confusión, debilidad o temblores musculares, náuseas, diarrea y cambios bruscos en el ritmo cardíaco (Tan y col. 2009; Rush y col. 2010).

Entre los plaguicidas OPs más utilizados en nuestro país se encuentran el metil-azinfos y el clorpirifos (CPF). Ambos compuestos son teratógenos en especies acuáticas y podrían presentar actividad como disruptores endócrinos (Grünfeld y Bonfeld-Jorgensen 2004).

El CPF se emplea para el control de plagas en la producción de frutas, hortalizas, cereales y plantas ornamentales. La aplicación se realiza mediante pulverización foliar o aplicación directa al suelo. Adicionalmente, este pesticida es utilizado para el control de termitas y hormigas en productos maderables y para el control de pulgas, garrapatas y piojos en animales domésticos y en la producción ganadera. Finalmente, el CPF se utiliza para combatir moscas y mosquitos en espacios públicos y para el control de plagas en césped de golf. El uso residencial del CPF fue prohibido en Estados Unidos en el año 2001, quedando restringida su aplicación a los sectores rurales. En la Argentina, el uso de CPF en productos domo-sanitarios fue prohibido mediante la disposición 2659 de la ANMAT en el año 2008 (ANMAT 2008).

Las principales vías de absorción del CPF son la vía oral, cutánea y respiratoria. Luego de la administración oral, el CPF y su metabolito, el clorpirifos oxón, son detectados en la sangre, el hígado y en los tejidos ricos en lípidos, incluyendo el cerebro, de los individuos expuestos. Debido a la naturaleza hidrofóbica de este tóxico, el mismo puede acumularse en la leche materna. En estudio realizado en la India se detectó la presencia de CPF en la leche materna en mujeres durante el período de lactancia (Sanghi y col. 2003).

Como se menciona anteriormente, el principal

mecanismo de acción del CPF lo constituye su unión irreversible a colinesterasas, lo cual conlleva a la pérdida de actividad de las mismas. Este efecto es importante en el sistema nervioso, debido al rol de la enzima AChE en la metabolización del neurotransmisor acetilcolina. Adicionalmente, el CPF interfiere en la síntesis de macromoléculas (Qiao y col. 2001), interacciona con receptores celulares (Howard y Pope 2002), modula diferentes vías de transducción de señales (Song y col. 1997) y modifica el balance redox celular (Gupta y col. 2010).

En los últimos años, ha cobrado importancia el estudio de los contaminantes ambientales en relación al desarrollo de cáncer, en particular para el cáncer de mama. Esta asociación se debe a que muchos de los plaguicidas de uso corriente actúan como disruptores endócrinos (DEs), afectando la fisiología de órganos dependientes de hormonas.

Los DEs son compuestos que interfieren en la regulación normal del sistema endócrino. Tradicionalmente, la acción de los DEs ha sido relacionada con sus efectos como agonistas o antagonistas de diferentes receptores, sin embargo, estos compuestos también pueden interferir en la síntesis y/o el metabolismo de las hormonas, así como en numerosos procesos que afecten el sistema endócrino y reproductivo (De Coster y Van Larebeke 2012).

Numerosas investigaciones, informan respecto al papel crítico que ejerce el estímulo estrogénico sobre la carcinogénesis mamaria y el desarrollo de otros tipos de cáncer (Clarke y col. 2008). En este sentido, la acción de diferentes plaguicidas como DEs, hace reflexionar acerca de su impacto en la etiología de enfermedades que son afectadas por la desregulación hormonal. Asimismo, recientes estudios epidemiológicos han reportado una relación entre la exposición de trabajadores a CPF y el desarrollo de glioma, cáncer de colon y de pulmón (Lee y col. 2004; Lee y col. 2005; Lee y col. 2007).

El objetivo de la presente publicación consiste en difundir los resultados que hemos obtenido durante los últimos años en nuestro laboratorio, acerca del efecto del CPF sobre la carcinogénesis mamaria utilizando diferentes modelos experimentales.

Efectos del CPF sobre la proliferación celular y el balance redox

En la primera etapa de nuestro trabajo, evaluamos el efecto del CPF sobre dos líneas celulares derivadas de carcinomas mamarios huma-

nos. Una de ellas es la línea celular MCF-7 que responde a los estímulos estrogénicos mediados por los receptores de estrógenos de tipo alfa ($RE\alpha$). La segunda línea empleada, MDA-MB-231, no expresa estos receptores hormonales y, por lo tanto, su crecimiento resulta independiente de estrógenos. En ambos tipos de células estudiamos diferentes parámetros de crecimiento como la viabilidad, la proliferación, el tiempo de duplicación y la muerte de las células expuestas al CPF, así como los mecanismos mediante los cuales el tóxico ejerce sus efectos.

Las concentraciones de CPF utilizadas en nuestros experimentos (comprendidas entre 0 y 50 μ M) fueron seleccionadas de acuerdo a las que comúnmente se hallan en agua y suelo de áreas cercanas a sitios de aplicación (Jergentz y col. 2005; Marino y Ronco 2005; Jaipeam y col. 2009; Del Prado Lu 2010; Querejeta y col. 2012).

De acuerdo con nuestros resultados, la exposición de las células a estas concentraciones de CPF no provocó una pérdida importante en la viabilidad celular durante las primeras 24 horas de tratamiento. Sin embargo, cuando las células fueron cultivadas en presencia de la concentración más elevada de CPF (50 μ M) por tiempos más prolongados, observamos una disminución en la proliferación, la cual fue acompañada por un incremento en el tiempo de duplicación y en el porcentaje de células necróticas.

Si bien durante las primeras 24 horas de exposición a CPF no observamos modificaciones en la viabilidad celular, las células empezaron acumularse en diferentes fases del ciclo, indicando que el plaguicida podría alterar el control normal del crecimiento celular. Este efecto fue acompañado por un incremento en los niveles de diferentes proteínas claves en la regulación del ciclo celular como las ciclinas D1 y E. Por lo tanto, concluimos que estas modificaciones en el ciclo celular preceden y podrían derivar en la muerte celular observada a tiempos más largos de intoxicación (Ventura y col. 2012).

Además de disminuir la proliferación y alterar el ciclo celular, la exposición de las células a CPF 50 μ M incrementó los niveles intracelulares de especies reactivas del oxígeno (ERO). Las ERO son especies químicas altamente reactivas, que se producen durante el metabolismo normal de los organismos aeróbicos y participan en el control fisiológico de diversas funciones celulares. Adicionalmente, la exposición a

contaminantes ambientales como plaguicidas y otros químicos, puede alterar la producción de ERO y afectar el estado redox normal de las células.

El incremento de ERO producido por el tóxico fue revertido por el agregado de enzima catalasa (CAT) en la línea celular MCF-7. Esto indicaría que el H_2O_2 es la especie química preponderante en el desbalance redox. En cambio, en la línea celular MDA-MB-231, el incremento de ERO fue abolido solo parcialmente por la actividad CAT, lo cual indica la existencia de otras especies químicas en el desbalance redox. En esta misma línea celular, observamos además un incremento en las especies reactivas del nitrógeno (ERN) que no fue detectado en las células MCF-7 (Ventura y col. 2015).

Con el fin de asegurar la homeostasis celular, los organismos aeróbicos poseen numerosos mecanismos de defensa ante el incremento de las ERO. Entre estas estrategias se incluyen mecanismos preventivos, de reparación, defensas físicas y defensas antioxidantes. Estas últimas son de gran importancia e incluyen tanto a las enzimas antioxidantes, entre las que se encuentran la superóxido dismutasa (SOD) y la CAT, como a otros compuestos no enzimáticos entre los que se encuentra el glutatión reducido (GSH). En condiciones normales, existe un equilibrio entre las ERO y las defensas antioxidantes.

Las líneas celulares estudiadas, MCF-7 y MDA-MB-231, difieren en sus niveles basales de componentes antioxidantes, siendo las actividades CAT y SOD significativamente mayores en las células MDA-MB-231 que en la línea MCF-7. Esta diferencia podría influir en la sensibilidad de cada línea ante la exposición al tóxico.

Como resultados de nuestros experimentos, encontramos que la exposición de ambas líneas celulares a CPF 50 μ M condujo a modificaciones en la actividad de las enzimas CAT y SOD. La actividad CAT aumentó en ambas líneas celulares pero la actividad de la enzima SOD se encontró disminuida sólo en las células MCF-7 cuando las mismas se cultivaron en presencia de CPF 50 μ M. Esta inhibición podría deberse tanto a la oxidación enzimática de residuos pertenecientes al sitio activo por parte de las ERO generadas por la exposición a CPF, como a la inhibición por producto que sufre esta enzima. Sin embargo, en la línea celular MDA-MB-231 esta inhibición no fue observada, lo cual podría estar relacionado con

los mayores niveles basales de SOD presentes en este tipo celular. Finalmente, el sistema antioxidante no enzimático, evaluado mediante el contenido celular de grupos tioles totales, no fue modificado por la exposición de las células a CPF en ninguna de las concentraciones evaluadas.

Una de las principales consecuencias del desbalance redox, es el daño oxidativo de las diferentes macromoléculas celulares. La oxidación lipídica fue observada en la línea celular MCF-7 expuesta a CPF 50 μM durante 24 horas mientras que, en las células MDA-MB-231, el CPF no generó alteraciones en este parámetro. Estas diferencias podrían también estar relacionadas con el menor poder antioxidante presente en las células MCF-7 respecto a las MDA-MB-231 (Ventura y col. 2015).

Un número importante de investigaciones coinciden en que el estrés oxidativo constituye un elemento clave en la activación de vías de transducción de señales implicadas en diferentes procesos celulares, tales como la muerte, la proliferación y la transformación celular. Entre las señales disparadas por estrés oxidativo, se encuentra la activación de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK). Estas proteínas conforman una familia de quinasas encargadas de transferir señales desde el exterior hacia el interior de las células regulando una amplia variedad de procesos a través de la activación de diferentes proteínas. En células de mamíferos, se han descrito tres proteínas: p38, JNK y ERK1/2, las cuales pueden ser moduladas por estrés oxidativo (Torres 2003).

En nuestro trabajo, pudimos observar que la exposición de las células a CPF 50 μM durante 15 minutos produjo un incremento en la fosforilación de la proteína ERK1/2 en las líneas celulares estudiadas. Trabajos recientes han relacionado este proceso con el incremento intracelular de los niveles de ERO. En concordancia con estos antecedentes, hemos observado un incremento de las ERO en ambas líneas celulares expuestas a CPF 50 μM durante 10 minutos, sugiriendo una asociación entre este evento y el incremento en la fosforilación de la proteína ERK1/2. Este resultado fue confirmado mediante el agregado exógeno de catalasa a las células cultivadas en presencia de CPF 50 μM , lo cual fue suficiente para impedir la acción del CPF sobre la fosforilación de ERK1/2 (Ventura y col. 2015).

Adicionalmente, la disminución de la capacidad clonogénica inducida por CPF 50 μM

fue revertida tanto por el agregado de catalasa como por la adición del inhibidor de MAPK PD98059 indicando, en primer lugar, que el H_2O_2 es una especie química clave en la inhibición de la proliferación ejercida por el CPF y, adicionalmente, que este efecto estaría mediado por la fosforilación de ERK1/2.

En resumen, el CPF 50 μM condujo a un incremento de las especies oxidantes intracelulares, lo cual, a su vez, conduce a un incremento en la fosforilación de la proteína kinasa ERK1/2, una disminución en la capacidad clonogénica y posterior muerte de las células (Figura 1).

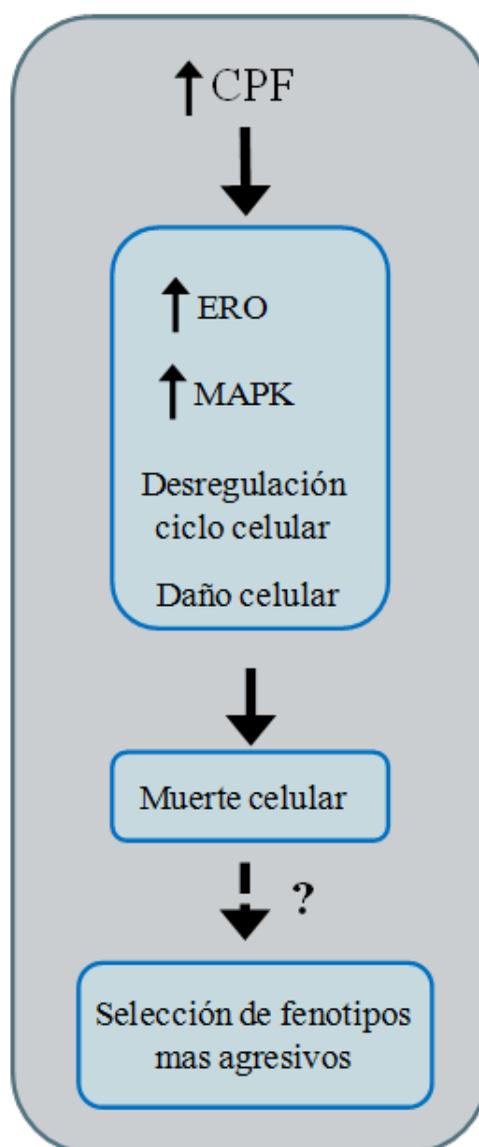


Figura 1. Efectos del CPF 50 μM sobre la muerte celular en líneas derivadas de carcinomas mamarios humanos MCF-7 y MDA-MB-231.

Efectos del CPF como disruptor endócrino

La menor concentración de CPF utilizada en nuestros experimentos fue 0,05 μM . Esta concentración se asemeja a las encontradas en bancos de agua de zonas rurales de nuestro país, las cuales han sido reportadas por diferentes investigadores (Marino y Ronco 2005; Loewy y col. 2011). A diferencia de los resultados observados con concentraciones mayores de CPF, la exposición de las células a CPF 0,05 μM resultó en un incremento de la proliferación celular. Resulta interesante destacar que este efecto solo fue observado en una de las líneas celulares estudiadas, MCF-7, la cual expresa los receptores de hormonas esteroideas y responde al estímulo estrogénico para su división. Por su parte el incremento en la proliferación celular no fue observado en la línea MDA-MB-231, que carece de respuesta ante estímulos estrogénicos.

En los últimos años se han descrito numerosos compuestos químicos capaces de actuar como agonistas estrogénicos, los cuales estimulan la proliferación celular cuando se encuentran en bajas concentraciones en el ambiente. El incremento de la proliferación celular producido por esta concentración de CPF fue revertido por la adición de un inhibidor del $\text{RE}\alpha$ previo al tratamiento con el tóxico. Adicionalmente, el tratamiento con CPF 0,05 μM incrementó la fosforilación del $\text{RE}\alpha$ en la tirosina 537, lo cual conduce a la activación de este receptor (Ventura y col. 2012). Estos resultados indican que el incremento de la proliferación celular observado cuando las células dependientes de estrógeno se cultivan en presencia de CPF 0,05 μM es mediado por la fosforilación del $\text{RE}\alpha$ (Figura 2).

Con el fin de profundizar nuestros estudios del CPF como disruptor endócrino, evaluamos su efecto sobre el desarrollo y la proliferación de la glándula mamaria. Para ello utilizamos ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley a las cuales les administramos diferentes dosis de CPF desde los 40 días de vida, en forma crónica, durante un período de 100 días. Las dosis fueron seleccionadas teniendo en cuenta que muchos de los efectos tóxicos producidos por el CPF, son independientes de su capacidad para inhibir a la enzima colinesterasa. Por este motivo decidimos utilizar concentraciones relativamente bajas del tóxico, que no generen signos de toxicidad severa en los animales, permitiéndonos un período prolongado de tratamiento. Se seleccionó una dosis de CPF semejante a

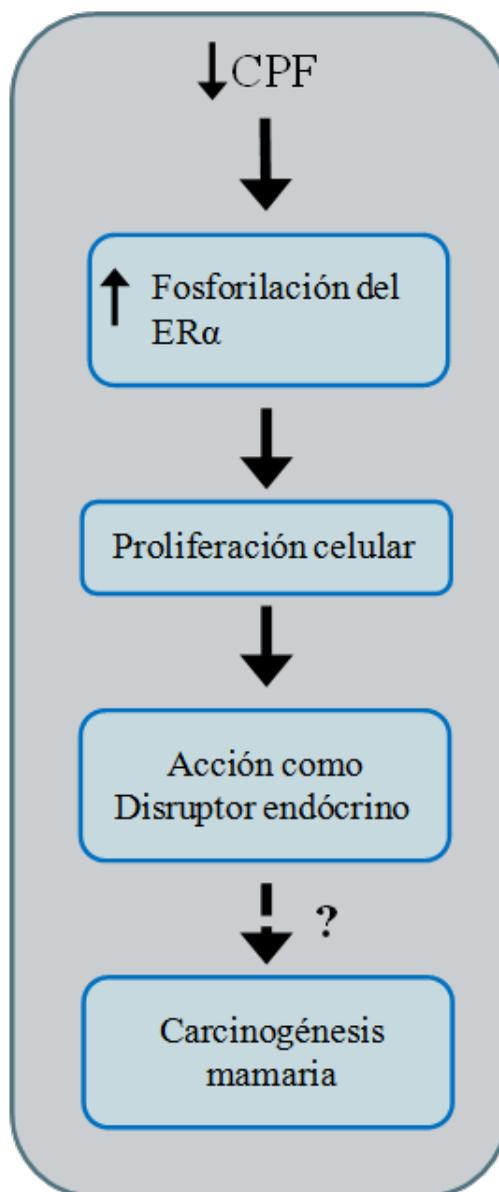


Figura 2. Efectos del CPF 0,05 μM sobre la proliferación celular.

la ingesta diaria admisible (IDA) de 0,01 mg/Kg/día y otra comparable a los niveles a los cuales no se observan efectos adversos (NOAEL) de 1,00 mg/Kg/día (Organización Mundial de la Salud 2009). Al finalizar el experimento, los animales fueron sacrificados y se extrajeron muestras de glándula mamaria, hígado y sangre para realizar los diferentes estudios. Con estos estudios pudimos observar que las dosis de CPF utilizadas no afectaron el peso corporal de los animales. El peso del hígado tampoco fue afectado por el tratamiento con el tóxico, sin embargo, la histología de este órga-

no presentó focos necróticos y hemorrágicos en los grupos expuestos a CPF, que no se detectaron en el grupo control.

En estas condiciones, evaluamos el efecto del CPF sobre la histología de la glándula mamaria y observamos una hiperplasia moderada en las mamas de los animales expuestos al tóxico. Específicamente, observamos un incremento en el número de estructuras ductales y lobulillares en los tejidos provenientes de ratas expuestas a ambas dosis de CPF. Por otra parte, la presencia de lesiones proliferativas benignas como la hiperplasia florida y la adenosis esclerosante se encontraron incrementadas en los animales expuestos al plaguicida (Ventura y col. en prensa). Estos resultados se encuentran en concordancia con los estudios llevados a cabo en las líneas celulares derivadas de carcinomas mamarios humanos, debido a que un incremento en el número de estructuras y lesiones proliferativas benignas de la glándula mamaria, podría inferir una acción estrogénica del tóxico sobre este tejido.

Como mencionamos anteriormente, los DEs pueden interferir en el sistema endócrino a cualquier nivel. En este sentido, la exposición de las ratas a CPF 1 mg/Kg/día generó modificaciones en la vía estrogénica, disminuyendo significativamente los niveles de estradiol (E_2) presente en el suero, junto con una prolongación de la duración del ciclo estral y una disminución de la fosforilación del $RE\alpha$ en el tejido mamario. Estos resultados indican que el CPF podría actuar como un DE tanto a nivel local alterando la estructura del tejido mamario y la expresión del $RE\alpha$ como a nivel sistémico, modificando los niveles circulantes de hormonas esteroideas.

Finalmente, las modificaciones en el balance redox descritas anteriormente para las líneas celulares, también fueron observadas en la glándula mamaria de las ratas expuestas a CPF 1 mg/Kg/día. El sistema redox fue evaluado mediante la actividad de la enzima catalasa, el contenido de tioles ácido-solubles como medida del GSH y el daño lipídico presente en el tejido mamario de los animales. A partir de los experimentos realizados, observamos que la exposición de las ratas a CPF 1 mg/Kg/día incrementó las defensas antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas en la glándula mamaria respecto a los valores encontrados en los animales control. Por otra parte, en las ratas expuestas a CPF 0,01 mg/Kg/día, se observó un incremento en la actividad de la enzima

catalasa, sin modificaciones en los niveles de GSH. Si bien los niveles de especies oxidantes no fueron evaluados, el incremento en los componentes antioxidantes podría interpretarse como una respuesta antioxidante frente al estrés oxidativo generado por el CPF. Finalmente, la medición del daño celular, a través de la peroxidación lipídica, no mostró cambios entre los animales expuestos a CPF y los animales controles.

Efectos de CPF sobre la carcinogénesis mamaria

Los DEs constituyen un factor crucial en el desarrollo de cáncer de mama. Para evaluar el comportamiento del CPF como un DE capaz de impactar en la carcinogénesis mamaria, estudiamos la acción del plaguicida en un modelo de carcinogénesis química inducida en ratas Sprague-Dawley, mediante la inyección de tres dosis de N-Nitroso-N-Metilurea (NMU) por vía i.p. a los 50, 80 y 110 días de vida de los animales. Los animales se dividieron en tres grupos a los cuales se les administró desde los 40 días de vida, diariamente, por v.o.: CPF (0,01 y 1 mg/Kg/día) o vehículo (aceite de maíz). En este modelo de estudio, el tratamiento de las ratas con CPF condujo a una disminución en el período de latencia tumoral, lo cual indica que el tiempo transcurrido desde la primera inyección del carcinógeno hasta la aparición del primer tumor fue menor en los grupos expuestos a CPF respecto a los animales control. Asimismo, demostramos que la exposición al tóxico produjo un incremento en el índice tumoral, calculado como el número de animales que desarrollaron al menos un tumor en función del tiempo. Finalmente, el lote de animales al cual se le administró CPF 1 mg/Kg/día presentó un mayor número de tumores por rata respecto al lote control (Ventura y col. 2014) (Figura 3).

Efectos del CPF sobre la invasión y migración celular

Uno de los factores más importantes en la evolución del cáncer de mama es la aparición de metástasis. Este proceso es un fenómeno complejo en el cual las células deben invadir tejidos adyacentes, con la consecuente ruptura de la membrana basal, ingresar y sobrevivir en los vasos sanguíneos o linfáticos y, finalmente, concretar la extravasación y la implantación en el nuevo tejido.

Para completar nuestros estudios sobre la acción del CPF, analizamos su efecto sobre los

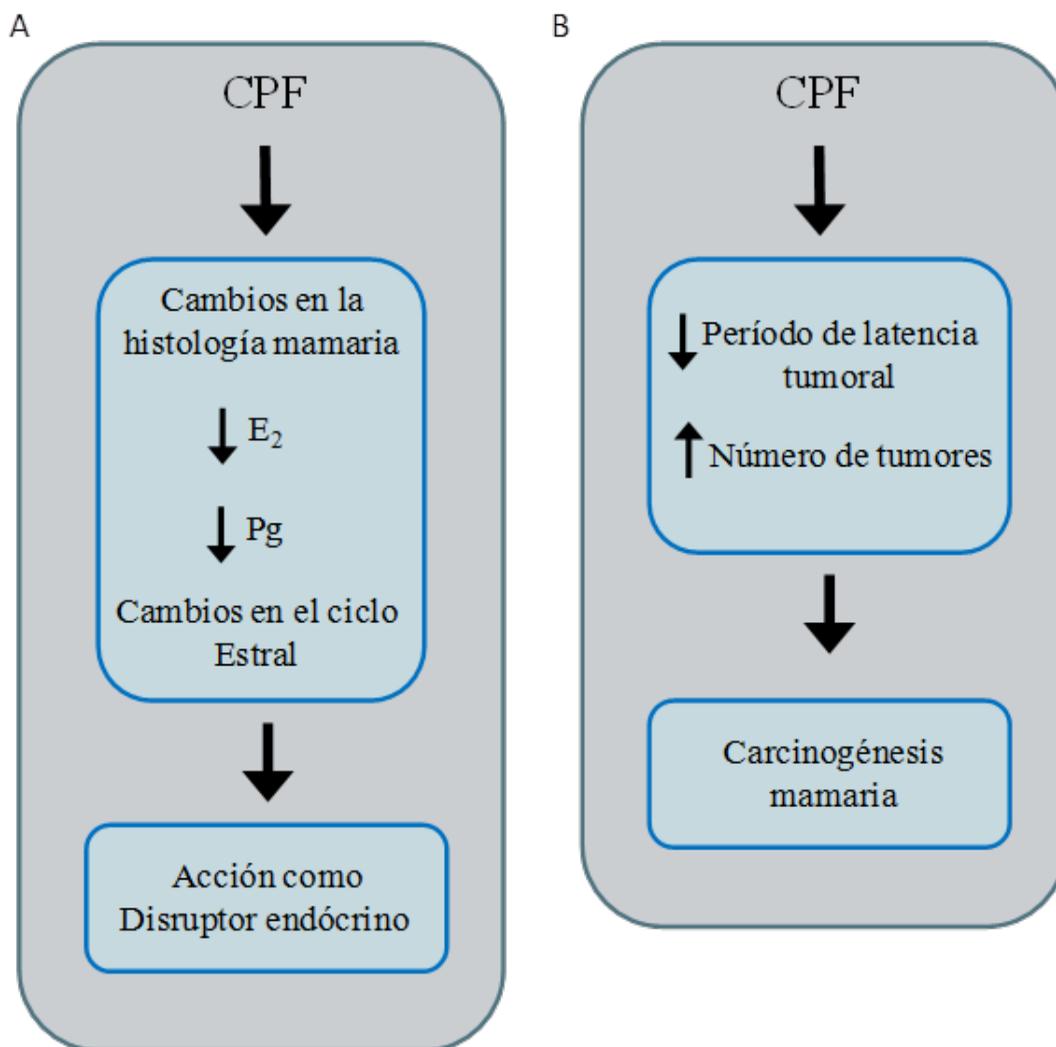


Figura 3. Acciones del CPF sobre: **(A)** la histología mamaria y los niveles hormonales en ratas intoxicadas de manera crónica; **(B)** la carcinogénesis mamaria en un modelo experimental químicamente inducido en ratas intoxicadas de manera crónica.

procesos de invasión y migración celular utilizando las líneas celulares derivadas de adenocarcinomas mamarios humanos mencionadas al inicio de este texto. En la línea celular MDA-MB-231, observamos un incremento en la migración celular junto con un aumento de la actividad metaloproteasa cuando las células fueron expuestas a bajas concentraciones de CPF. Esta línea celular se caracteriza por presentar una alta capacidad migratoria. La línea celular MCF-7, en cambio, deriva de un adenocarcinoma mamario humano con mayor grado de diferenciación y presenta menor capacidad migratoria. En esta línea celular, observamos una inducción de la invasión celular cuando el cultivo estuvo en presencia de CPF 50 μ M.

Este resultado puede parecer contradictorio debido a que previamente reportamos una disminución en la proliferación celular vinculada al desbalance redox en estas condiciones de cultivo. Sin embargo, la condición de hipoxia podría actuar como presión de selección derivando en la supervivencia de células con capacidad invasiva.

El conjunto de eventos mediante el cual las células pierden su fenotipo epitelial para adquirir uno mesenquimal con mayor capacidad migratoria se denomina transición epitelio-mesenquimática (TEM). La proteína β -catenina es un componente clave de la TEM. Las células epiteliales se mantienen unidas a través de las llamadas uniones adherentes, en las que par-

ticipan varias proteínas como la E-cadherina y la β -catenina. Durante la TEM, la proteína β -catenina migra al núcleo celular, en donde actúa como factor de transcripción regulando una gran diversidad de genes. En nuestros experimentos pudimos observar la translocación de β -catenina desde la membrana plasmática hacia el núcleo cuando las células MCF-7 fueron expuestas a CPF. En la línea celular MDA-MB-231, no se observaron modificaciones en la localización subcelular de esta proteína con ninguna de las concentraciones de CPF utilizadas. Otra proteína que forma parte de las uniones adherentes es la E-cadherina. Si bien la expresión de esta proteína se encuentra disminuida durante la TEM, no encontramos diferencias en su expresión en nuestro sistema de estudio.

Como describimos previamente, la proteína β -catenina se encuentra en diferentes compartimentos celulares, cumpliendo diferentes funciones en cada uno de ellos. Por un lado, forma parte de las uniones adherentes junto con la proteína E-cadherina y, por otro, cuando no se encuentra formando parte de estas uniones, pasa al citoplasma celular donde es degradada proteolíticamente tras ser fosforilada por la quinasa GSK-3 β . En condiciones de estrés oxidativo, esta quinasa se encuentra inactivada, lo cual conlleva a la acumulación de β -catenina en el citosol y su posterior translocación al núcleo celular en donde actúa como factor de transcripción (Wu y Pan 2011). Con el fin de estudiar el mecanismo subyacente al incremento en la migración e invasión celular inducido por el CPF, evaluamos la fosforilación de GSK-3 β en estas células. El cultivo de ambas líneas celulares en presencia de CPF incrementó la fosforilación de la proteína GSK-3 β en la serina 9. La inactivación de la proteína GSK-3 β en la línea celular MCF-7, podría estar relacionada con la translocación nuclear de β -catenina observada previamente. Dentro del núcleo, esta proteína actúa como factor de transcripción, induciendo la expresión de genes relacionados con la proliferación, como la ciclina D1, y la invasión celular. Cabe mencionar, que estos fenómenos fueron observados al cultivar las células en presencia de CPF (Figura 4).

Conclusiones y perspectivas

El cáncer de mama es la patología maligna más común entre las mujeres de todo el mundo y los factores ambientales parecen guardar una estrecha relación con la etiología de esta enfer-

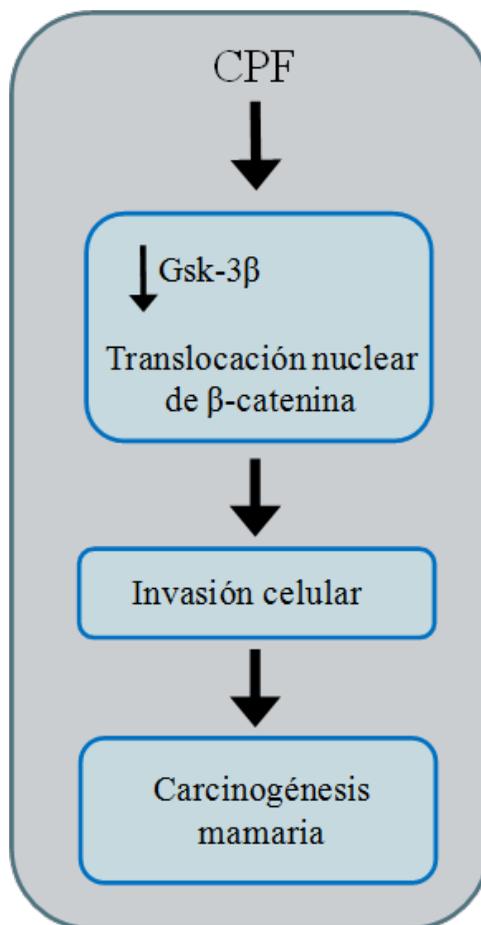


Figura 4. Efectos del CPF sobre la capacidad invasiva en la línea MCF-7.

medad (Blair y Kazerouni 1997). Actualmente existe un gran interés en comprender cuál es el papel de los contaminantes ambientales en el riesgo de padecer cáncer de mama. A pesar que las evidencias son cada vez más contundentes, las cuestiones en torno a la relación entre la incidencia de esta enfermedad maligna y la exposición a pesticidas que se aplican en las zonas agrícolas quedan aún sin resolver (Reynolds y col. 2005). Los pesticidas han despertado el interés de distintos investigadores debido a que muchos de estos compuestos o sus metabolitos actúan como los estrógenos (Andersen y col. 2002; Bennett y Davis 2002; Brody y Rudel 2003). Un gran número de los pesticidas de uso común son considerados DEs, dado que pueden actuar a través de receptores de esteroides, receptores de neurotransmisores como por ejemplo de serotonina, dopamina o norepinefrina, receptores huérfanos como el receptor de arilos hidrocarbonados,

vías enzimáticas involucradas en la biosíntesis o metabolismo de esteroides y otros numerosos mecanismos que convergen en los sistemas endócrinos o reproductores. El conjunto de moléculas identificadas como DEs es muy heterogéneo e incluye sustancias químicas sintéticas como solventes o lubricantes y sus subproductos, plásticos, plaguicidas, agentes farmacéuticos y metales pesados como cadmio o plomo. De esta manera, resulta imperativo conocer las consecuencias que estos productos ejercen sobre la salud. Varias evidencias señalan la contribución de los DEs en el desarrollo del cáncer de mama (De Coster y Van Larebeke 2012). En este contexto, nos propusimos evaluar los efectos del uso del plaguicida organofosforado CPF sobre el desarrollo del cáncer

de mama utilizando diferentes modelos experimentales tanto *in vitro* como *in vivo*.

A partir de nuestro trabajo, evidenciamos dos mecanismos de toxicidad del CPF independientes de la inhibición colinesterasa. En principio, la acción del CPF sobre el sistema redox celular, conlleva a activación de diferentes vías de señalización y al incremento de ERO, lo cual podría derivar en la aparición de mutaciones, inestabilidad genómica y/o finalmente, en la muerte celular. Por otro lado, los resultados de nuestras investigaciones también aportan nuevas evidencias acerca de la acción del insecticida CPF como posible DE, sugiriendo la necesidad de revisar su uso, ya que podría actuar como un factor de riesgo ambiental para el cáncer de mama (Figura 5).

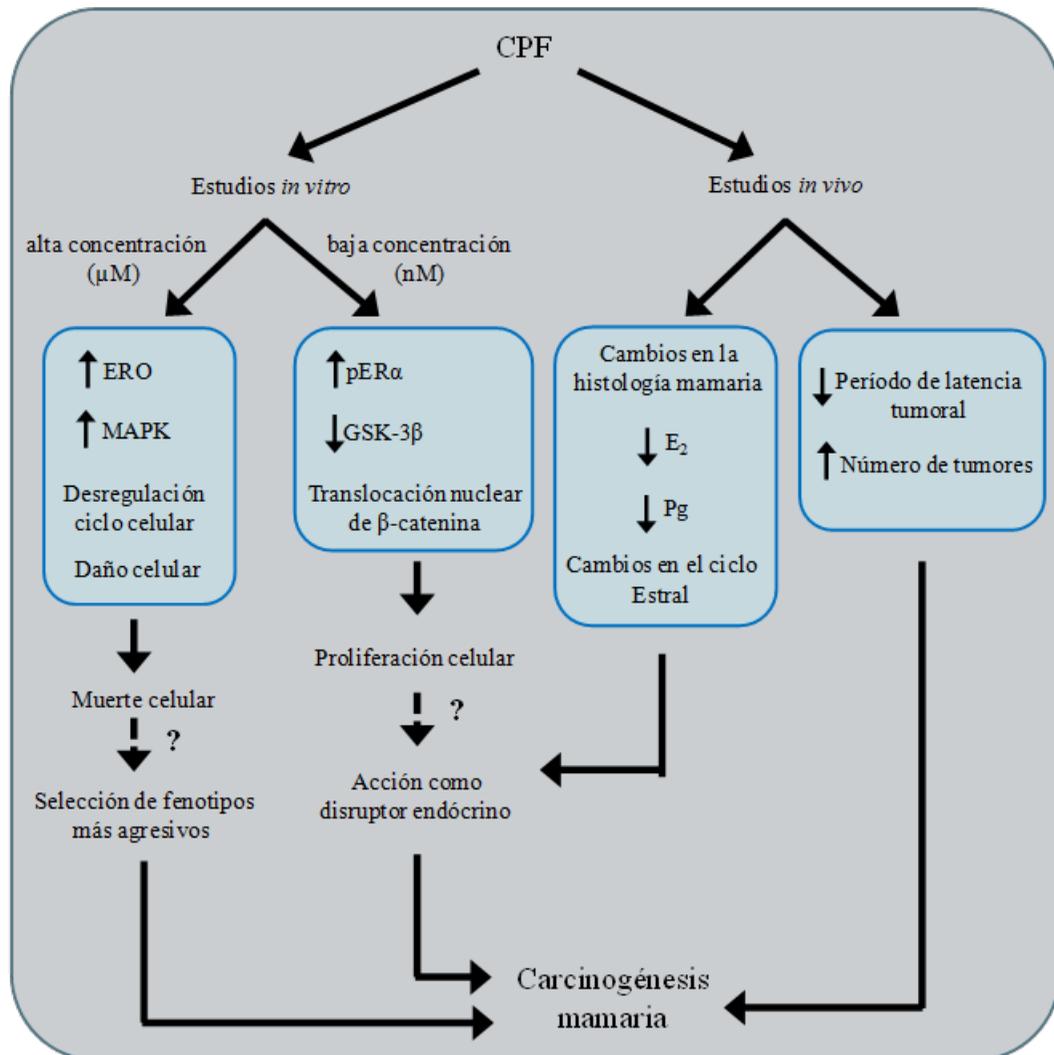


Figura 5. Resumen de los efectos que señalan al CPF como posible factor de riesgo ambiental para el cáncer de mama.

Resulta fundamental señalar que muchos otros investigadores encontraron que el CPF es capaz de inducir muerte celular *in vitro* (Nakadai y col. 2006; Li y col. 2009). Sin embargo, los reportes que señalan que el plaguicida podría inducir proliferación o la viabilidad celular son muy escasos, probablemente porque muy pocas investigaciones fueron llevadas a cabo con concentraciones del plaguicida del orden nanomolar como en este caso.

A partir de nuestros resultados y los de otros investigadores concluimos que el cambio en la legislación que regula el uso de los plaguicidas debería resultar inminente. Puesto que muchos de estos compuestos modulan tanto el sistema neuronal y hormonal en el hombre y la mujer, con consecuencias inmediatas y a largo plazo sobre la salud de las personas, y muy probablemente de las próximas generaciones.

Bibliografía citada

Andersen H.R., Vinggard A.M., Rasmussen T.H., Gjermansen I.M., Bonfeld-Jørgensen E.C. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicology and applied pharmacology*. 2002;179:1–12.

ANMAT. 2008. Disposición 2659/2008.

Bennett L.M., Davis B.J. Identification of mammary carcinogens in rodent bioassays. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2002;39:150–157.

Blair A., Kazerouni N. Reactive chemicals and cancer. *Cancer causes & control*. 1997;8:473–490.

Brody J.G., Rudel R.A. Environmental pollutants and breast cancer. *Environmental Health Perspectives*. 2003;111:1007–1019.

Clarke R.B., Sims A.H., Howell A. The origin of estrogen receptor α -positive and α -negative breast cancer. *Hormonal Carcinogenesis V*. 2008;617:79–86.

De Coster S., Van Larebeke N. Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. *Journal of environmental and public health*. 2012;2012:713696.

Del Prado Lu J.L. Multipesticide residue as-

essment of agricultural soil and water in major farming areas in Benguet, Philippines. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2010;59:175–181.

Grünfeld H.T., Bonfeld-Jørgensen E.C. Effect of *in vitro* estrogenic pesticides on human oestrogen receptor alpha and beta mRNA levels. *Toxicology letters*. 2004;151:467–480.

Gupta S.C., Mishra M., Sharma A., Deepak Balaji T.G.R., Kumar R., Mishra R.K., Chowdhuri D.K. Chlorpyrifos induces apoptosis and DNA damage in *Drosophila* through generation of reactive oxygen species. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2010;73:1415–1423.

Howard M.D., Pope C.N. *In vitro* effects of chlorpyrifos, parathion, methyl parathion and their oxons on cardiac muscarinic receptor binding in neonatal and adult rats. *Toxicology*. 2002;170:1–10.

Jaipieam S., Visuthismajarn P., Siriwong W., Borjan M., Robson M.G. Inhalation exposure of organophosphate pesticides by vegetable growers in the Bang-Rieng subdistrict in Thailand. *Journal of environmental and public health*. 2009;2009:452373.

Jergentz S., Mugni H., Bonetto C., Schulz R. xAssessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina. *Chemosphere*. 2005;61:817–826.

Lee W.J., Blair A., Hoppin J.A., Lubin J.H., Rusiecki J.A., Sandler D.P., Dosemeci, M., Alavanja, M.C.R. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2004;96:1781–1789.

Lee W.J., Colt J.S., Heineman E.F., McComb R., Weisenburger D.D., Lijinsky W., Ward M.H. Agricultural pesticide use and risk of glioma in Nebraska, United States. *Occupational and environmental medicine*. 2005;62:786–792.

Lee W.J., Sandler D.P., Blair A., Samanic C., Cross A.J., Alavanja M.C.R. Pesticide use and colorectal cancer risk in the Agricultural Health Study. *Int J Cancer*. 2007;121:339–346.

Li Q., Kobayashi M., Kawada T. Chlorpyrifos in-

duces apoptosis in human T cells. *Toxicology*. 2009;255:53–57.

Loewy M., Kirs V., Carvajal G., Venturino A., Pechen de D'angelo M. Groundwater contamination by azinphos methyl in the northern Patagonic Region (Argentina). *The Science of the total environment*. 1999;225:211–218.

Loewy R.M., Monza L.B., Kirs V.E., Savini M.C. Pesticide distribution in an agricultural environment in Argentina. *Journal of Environmental Science and Health*. 2011;46:662–670.

Marino D., Ronco A. xCypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2011;75:820–826.

Nakadai A., Li Q., Kawada T. Chlorpyrifos induces apoptosis in human monocyte cell line U937. *Toxicology*. 2006;224:202–209.

Organización Mundial de la Salud. WHO specifications and evaluations for public health pesticides. Chlorpyrifos. 2009.

Qiao D., Seidler F.J., Slotkin T.A. Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos modeled in vitro: comparative effects of metabolites and other cholinesterase inhibitors on DNA synthesis in PC12 and C6 cells. *Environmental health perspectives*. 2001;109:909–913.

Querejeta G.A., Ramos L.M., Flores A.P., Hughes E.A., Zalts A., Montserrat J.M. Environmental pesticide distribution in horticultural and floricultural periurban production units. *Chemosphere*. 2012;87:566–572.

Reynolds P., Hurley S.E., Gunier R.B., Yerbati S., Quach T., Hertz A. Residential Proximity to Agricultural Pesticide Use and Incidence of Breast Cancer in California, 1988–1997. *Environmental Health Perspectives*. 2005;113:993–1000.

Rush T., Liu X.Q., Hjelmhaug J., Lobner D. Mechanisms of chlorpyrifos and diazinon induced neurotoxicity in cortical culture. *Neuroscience*. 2010;166:899–906.

Sanghi R., Pillai M.K.K., Jayalekshmi T.R., Nair

A. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in breast milk from Bhopal, Madhya Pradesh, India. *Human & Experimental Toxicology*. 2003;22:73–76.

Song X., Seidler F.J., Saleh J.L., Zhang J., Padilla S., Slotkin T.A. Cellular mechanisms for developmental toxicity of chlorpyrifos: targeting the adenylyl cyclase signaling cascade. *Toxicology and applied pharmacology*. 1997;145:158–174.

Tan D.H., Peng S.Q., Wu Y.L., Wang Y.M., Lu C.F., Ding W., Wang, Q.X., Yang C.H. Chlorpyrifos induces delayed cytotoxicity after withdrawal in primary hippocampal neurons through extracellular signal-regulated kinase inhibition. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2009;32:1649–1655.

Torres M. Mitogen-activated protein kinase pathways in redox signaling. *Frontiers in Bioscience*. 2003;8:369–391.

Ventura C., Núñez M., Miret N., Martinel Lamas D., Randi A., Venturino A., Rivera E., Cocca C. Differential mechanisms of action are involved in chlorpyrifos effects in estrogen-dependent or -independent breast cancer cells exposed to low or high concentrations of the pesticide. *Toxicology Letters*. 2012;213:184–193.

Ventura C., Ramos Nieto M.R., Bourguignon N., Lux-Lantos V., Cocca C., Núñez M. Chlorpyrifos: estudio de sus efectos como disruptor endócrino. *Revista Medicina*. 2014;74:271.

Ventura C., Ramos Nieto M.R., Bourguignon N., Lux-Lantos V., Rodriguez H., Cao G., Randi A., Cocca C., Núñez M. Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. En prensa.

Ventura C., Venturino A., Miret N., Randi A., Rivera E., Núñez M., Cocca C. Chlorpyrifos inhibits cell proliferation through ERK1/2 phosphorylation in breast cancer cell lines. *Chemosphere*. 2015;120:343–350.

Wu D., Pan W. GSK3: a multifaceted kinase in Wnt signaling. *Trends Biochem Sci*. 2011;35:161–168.

Investigamos

Desarrollamos

Creamos

con Innovación

En Laboratorios Bagó trabajamos diariamente en la búsqueda de nuevas respuestas terapéuticas para ofrecer al cuerpo médico y pacientes, productos innovadores de última generación. 71 patentes obtenidas por investigación propia son fieles testimonios de nuestra misión.



Ética al servicio de la salud

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) es el órgano oficial de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Integra, desde el año 2007, el Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas y se puede acceder a sus artículos a texto completo a través de SciELO Argentina.

Acta Toxicológica Argentina tiene por objetivo la publicación de trabajos relacionados con las diferentes áreas de la Toxicología, en formato de artículos originales, reportes de casos, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, artículos de divulgación, notas técnicas, imágenes, resúmenes de tesis, cartas al editor y noticias.

Los artículos originales son trabajos de investigación completos y deben presentarse respetando las siguientes secciones: Introducción; Materiales y métodos; Resultados y Discusión (que pueden integrar una sección conjunta).

Los reportes de casos son descripciones de casos clínicos que por sus características signifiquen un aporte importante a la Toxicología.

Las comunicaciones breves son trabajos de menor extensión pero con connotación toxicológica novedosa y que signifiquen un aporte al campo toxicológico.

Las revisiones o actualizaciones comprenden trabajos en los cuales se ha realizado una amplia y completa revisión de un tema importante y/o de gran interés actual en los diferentes campos de la toxicología.

Los artículos de divulgación y artículos especiales son comentarios de diversos temas de interés toxicológico.

Las notas técnicas son descripciones breves de técnicas analíticas o dispositivos nuevos avalados por trabajos experimentales concluyentes.

Las imágenes en Toxicología pueden corresponder a imágenes relacionadas con la toxicología, desde lo artístico a los aspectos biológicos: plantas tóxicas, hongos tóxicos, animales venenosos, animales ponzoñosos, floraciones algales, químicos, alteraciones ambientales, casos clínicos, diagnóstico por imágenes (radiografía, electrocardiogramas, ecografías, angiografía, tomografía, resonancia magnética, microscopía óptica o electrónica, etc.).

El objetivo de la Sección Imágenes en Toxicología es la publicación de imágenes originales

(1-2 figuras de alta calidad) o clásicas interesantes o hallazgos inusuales que faciliten el diagnóstico clínico, de laboratorio o eco-epidemiológico de causas con origen toxicológico. Las imágenes pueden no ser excepcionales, pero sí ilustrativas.

El título debe ser corto y descriptivo. Si la imagen es una imagen clínica, el texto debería ser una descripción de la presentación del paciente seguida por puntos relevantes explicativos y el diagnóstico final. Las imágenes deberían incluir una leyenda descriptiva. Si la imagen corresponde a otros puntos de la toxicología, se debe incluir una breve descripción del contexto de la misma en el texto.

Por favor, utilice flechas o signos para identificar los puntos de interés en la imagen. En los casos clínicos remueva cualquier información de identificación del paciente.

El máximo de palabras recomendado es: resumen 200, texto 1000 y no más de 12 referencias.

Se aceptará un máximo de 3 autores por imagen.

En caso que la imagen no sea original, debe acompañarse de la autorización del propietario o de quien posea los derechos de la misma, lo que debe estar indicado en la nota que se presente al Comité Editorial de *Acta Toxicológica Argentina*.

Los resúmenes de tesis: son resúmenes ampliados que describen tesis de Maestría o Doctorales aprobadas. Estas deben incluir copia de la aprobación de la tesis con la declaración jurada del autor y su director. El texto no debe superar los 1000 caracteres.

Acta Toxicológica Argentina (en adelante *Acta*), publicará contribuciones en español, portugués y/o inglés. Todas serán evaluadas por al menos dos revisores; la selección de los mismos será atributo exclusivo de los editores. Este proceso determinará que el mencionado Comité opte por rechazar, aceptar con cambios o aceptar para su publicación el trabajo sometido a su consideración. La identidad de autores y revisores se mantendrá en forma confidencial.

Envío de manuscritos

El envío de manuscritos se realizará a través del Portal de Publicaciones Científicas y Técnicas (PPCT) del Centro Argentino de Infor-

mación Científica y Tecnológica (CAICYT). En la página web del PPCT-CAICYT <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/ata> se encuentran las instrucciones para los autores.

Gratuidad de las publicaciones

El envío, revisión, edición y publicación de cualquier tipo de material técnico científico o de divulgación aceptado por Acta Toxicológica Argentina es totalmente gratuito para los autores, no debiendo estos abonar ningún tipo de costo para su publicación ni para ninguna de las etapas previas.

Derechos de autor

Acta Toxicológica Argentina es una publicación de acceso abierto y posee una Licencia Pública de Creative Commons (CC-BY-NC). Los autores conservan los derechos de autor y garantizan a la revista el derecho de ser la primera publicación del trabajo. Los autores retienen el derecho sobre sus trabajos bajo las normas de la licencia CC de tipo BY-NC, [HYPERLINK "http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/"](http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/) Licencia Pública de Creative Commons que permite compartir el trabajo reconociendo su publicación inicial en esta revista, pudiendo los autores disponer del trabajo para el fin que consideren, con la sola excepción de su reproducción con fines comerciales, de acuerdo a este tipo de licencia de CC.

Derechos de publicación

Los autores retienen los derechos de publicación. Acta Toxicológica Argentina es una publicación de acceso abierto y posee una Licencia Pública de Creative Commons (CC-BY-NC). Los autores conservan los derechos de publicación y garantizan a la revista el derecho de ser el primer sitio de publicación del trabajo. Los autores retienen el derecho para publicar sus trabajos bajo las normas de la licencia CC de tipo BY-NC, [HYPERLINK "http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/"](http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/) Licencia Pública de Creative Commons que permite compartir el trabajo reconociendo su publicación inicial en esta revista, pudiendo los autores disponer del trabajo para el fin que consideren, con la sola excepción de su reproducción con fines comerciales, de acuerdo a este tipo de licencia de CC.

Aspectos generales en la preparación del manuscrito para artículo original

Los manuscritos deberán redactarse con procesador de texto (Microsoft Word versión 2003 o superior), a doble espacio (incluso los resúmenes, referencias y tablas) con un tamaño mínimo de letra Arial en 12 puntos. Las páginas deberán numerarse desde la portada. Las letras en negrita o itálica se usarán sólo cuando corresponda.

En la primera página se indicará: título del trabajo, nombres y apellidos completos de todos los autores; lugar de trabajo (nombre de la institución y dirección postal); de haber autores con distintos lugares de trabajo se colocarán superíndices numéricos -no encerrados entre paréntesis- junto a los nombres, de manera de identificar a cada autor con su respectivo lugar de trabajo; fax y/o correo electrónico del autor responsable de la correspondencia (que se indicará con un asterisco en posición de superíndice ubicado junto al nombre).

En la segunda página se incluirá el título en inglés y el resumen en el idioma del artículo y en inglés, seguido cada uno de ellos de una lista de cuatro palabras clave, en el idioma correspondiente. Si el trabajo estuviese escrito en inglés, deberá tener un resumen en español. Las palabras clave iniciarán con mayúscula e irán separadas por punto y coma.

Introducción. Incluirá antecedentes actualizados acerca del tema en cuestión y los objetivos del trabajo definidos con claridad.

Materiales y métodos. Contendrá la descripción de los métodos, aparatos, reactivos y procedimientos utilizados, con el detalle suficiente para permitir la reproducción de los experimentos.

Consideraciones éticas. En todos los estudios clínicos se deberá especificar el nombre del Comité de Ética e Investigación que aprobó el estudio y que se contó con el consentimiento escrito de los pacientes. En todos los estudios con organismos no humanos, se deberán especificar los lineamientos éticos con respecto al manejo de los mismos durante la realización del trabajo.

Análisis estadístico. Se deberán informar las pruebas estadísticas con detalle suficiente como para que los datos puedan ser verificados por otros investigadores y fundamentar el empleo de cada una de ellas. Si se utilizó un

programa estadístico para procesar los datos, éste deberá ser mencionado en esta sección.

Resultados. Se presentarán a través de una de las siguientes formas: en el texto, o mediante tabla/s y/o figura/s. Se evitarán repeticiones y se destacarán sólo los datos importantes. Se dejará para la sección Discusión la interpretación más extensa.

Las **tablas** se presentarán en hoja aparte, numeradas consecutivamente con números arábigos, con las leyendas y/o aclaraciones que correspondan al pie. Las llamadas para las aclaraciones al pie se harán empleando números arábigos entre paréntesis y superíndice. Sólo los bordes externos de la primera y la última fila y la separación entre los títulos de las columnas y los datos se marcarán con línea continua. No se marcarán los bordes de las columnas. Asegúrese que cada tabla sea citada en el texto. Las **figuras** se presentarán en hoja aparte, numeradas consecutivamente con números arábigos. Los dibujos deberán estar en condiciones que aseguren una adecuada reproducción. Los gráficos de barras, tortas o estadísticas deberán tener formato GIF. Los números, letras y signos tendrán dimensiones adecuadas para ser legibles cuando se hagan las reducciones necesarias. Las referencias de los símbolos utilizados en las figuras deberán ser incluidas en el texto de la leyenda.

Las **fotografías** deberán ser realizadas en blanco y negro, con buen contraste, en papel brillante y con una calidad suficiente (mínimo 300 dpi) para asegurar una buena reproducción. Los dibujos originales o las fotografías tendrán al dorso los nombres de los autores y el número de orden escritos con lápiz.

Las fotos para la versión electrónica deberán ser realizadas en el formato JPEG o GIF, con alta resolución. Tanto las figuras como las fotografías deberán ser legibles. El tamaño mínimo será media carta, es decir, 21 x 15 cm, a 300 dpi. En todos los casos se deberá indicar la magnificación utilizada (barra o aumento).

Los epígrafes de las figuras se presentarán exclusivamente en una hoja aparte, ordenadas numéricamente y deberán expresar específicamente lo que se muestra en la figura.

Abreviaturas. Se utilizarán únicamente abreviaturas normalizadas. Se evitarán las abreviaturas en el título y en el resumen. Cuando en el texto se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

Unidades de medida. Las medidas de longi-

tud, talla, peso y volumen se deberán expresar en unidades métricas (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos decimales.

Las temperaturas se facilitarán en grados Celsius y las presiones arteriales en milímetros de mercurio.

Todos los valores de parámetros hematológicos y bioquímicos se presentarán en unidades del sistema métrico decimal, de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). No obstante, los editores podrán solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores añadan unidades alternativas o distintas de las del SI.

Nomenclatura. En el caso de sustancias químicas se tomará como referencia prioritaria a las normas de la IUPAC. Los organismos se denominarán conforme a las normas internacionales, indicando sin abreviaturas el género y la especie en itálica.

Discusión. Se hará énfasis sobre los aspectos del estudio más importantes y novedosos y se interpretarán los datos experimentales en relación con lo ya publicado. Se indicarán las conclusiones a las que se arribó, evitando la reiteración de datos y conceptos ya vertidos en secciones anteriores.

Agradecimientos. Deberán presentarse en letra Arial con un tamaño de 10 puntos y en un sólo párrafo.

Bibliografía. Las citas bibliográficas se señalarán en el texto mediante el apellido del/los autor/es (hasta dos autores) y el año de publicación todo entre paréntesis, separados por punto y coma en el caso de más de una cita, empezando por la cita más antigua a la más actual. En el caso de más de dos autores se señalará el apellido del primer autor seguido de y col. y el año de la publicación.

Ejemplos:

“La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) es la sustancia psicoactiva más consumida en el mundo (Concon 1988; Lewin 1998; Nehlig 1999)”.

“El consenso general es que sería deseable que la ingesta total de cafeína durante el embarazo no supere los 300 mg/día (Organization of Teratology Information Specialists (OTIS) 2001; Kaiser y Allen 2002; Nawrot y col. 2003)”.

Las referencias bibliográficas completas se incluirán al final del manuscrito bajo el título de Bibliografía Citada, en orden alfabético, con el

nombre de todos los autores en cada caso.

Ejemplos:

1. **Artículo estándar en publicación periódica**

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347(4):284-287.

2. **Libros y monografías**

Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A.. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.

3. **Capítulo de libro**

Meltzer P.S., Kallioniemi A., Trent J.M. Chromosome alterations in human solid tumors. En: Vogelstein B., Kinzler K.W., editores. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

4. **Material electrónico**

a. Artículo en publicación periódica en internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [en línea]. 2002 Jun. [consulta 12 de Agosto 2002];102(6):[1 p.].

Disponible en: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>Article

B. Página en internet

Cancer-Pain.org [en línea]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [actualizado al 16 de Mayo de 2002; consulta 9 de Julio de 2002]. Disponible en: <http://www.cancer-pain.org/>.

c. Parte de una página de internet

American Medical Association [en línea]. Chicago: The Association; c1995-2002 [actualizado al 23 de Agosto de 2001; consulta 12 de Agosto de 2002]. AMA Office of Group Practice Liaison. Disponible en: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

Para la correcta citación de posibles referencias bibliográficas que pudiesen no citarse en este instructivo, consultar el estilo propuesto por el Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas en "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" disponible en: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) is the official publication for scientific promotion of the *Asociación Toxicológica Argentina*. It is a member of the *Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas* (Basic Core of Argentinean Scientific Journals) since 2007. Full articles can be accessed through SciELO Argentina electronic library.

The goal of *Acta Toxicológica Argentina* is to publish articles concerning all areas of Toxicology, including original articles, case reports, short communications, revisions, popularization of science articles, technical notes, images, thesis summaries, letters to the editor and relevant news.

Original articles must detail complete research and should be organized into the following sections: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion (the last two can be combined into one section).

Case reports include description of clinical case studies which represent a contribution to the field of Toxicology.

Short communications are brief, concise articles that contribute to the respective area of Toxicology.

Revisions or updates comprise studies where an extensive revision of a topic of current importance and/or interest has been carried out.

Articles concerned with popular science and special articles can comment on a broad range of toxicological topics.

Technical notes should briefly describe new devices or analytical techniques validated by conclusive experimental studies.

Images in Toxicology may be images related with Toxicology from the artistic to the biological and medical aspects: toxic plants, toxic fungi, venomous animals, poisonous animals, algal bloom, chemicals, environmental ecotoxicological alterations, clinic cases, diagnostic images (radiograph, electrocardiogram, echography, angiography, tomography, magnetic resonance Image, optic or electron microscopy, etc).

The objective of the Section of Images in Toxicology is the publication of original images (1-2 high quality figures) of classic, interesting or unusual findings that facilitate the clinical, laboratorial or eco-epidemiological diagnosis of toxicological origin.

Such images should be not necessarily exceptional, but illustrative.

The title should be short and descriptive. If the image is a clinic image, text should be a description of the patient presentation, followed by relevant explicative points and the final diagnosis. Images should include a descriptive legend. If the image is of other fields of the toxicology, a brief description of the context should be included in the text.

Please use labels and arrows to identify points of interest on the image. In clinical cases remove any identifying patient information.

Maximum word guidance: abstract 100 words, text 1000 words. The number of references should not be over 12.

No more than three authors may be listed.

If the image is not original, the authorization of the author or whom posses the copyright must be added in the presentation letter to be presented to the Editorial Committee of *Acta Toxicológica Argentina*.

Thesis summaries are sufficiently detailed abstracts of approved doctoral or magisterial thesis. They must include a copy of acceptance and a sworn statement by the author and director, and should not exceed 1,000 characters.

Articles can be submitted to *Acta Toxicológica Argentina* (henceforth *Acta*) in Spanish, Portuguese or English. All submissions will be evaluated by at least two independent reviewers, selected by the editors. The Editorial board will base its decision to reject, accept with changes or accept for publication the submitted article on these reviews. The identity of authors and reviewers will not be disclosed throughout this process.

Submission of manuscripts

Submission of manuscripts will be made through the Portal de Publicaciones Científicas y Técnicas (PPCT) of the Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT). Instructions for authors will be found at the *Acta-PPCT-CAICYT* web page <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/ata>

Free publishing costs

The submission, reviewing, editing and publishing of any kind of scientific or technical material or of any disclosure material accepted by

Acta Toxicological Argentina is totally free for authors, not having to pay any cost for its publication or for any of the previous stages.

Copyright

Acta Toxicológica Argentina is an open access journal and has a Creative Commons Public License (CC-BY-NC). Authors retain copyright on their work; nevertheless, they guarantee the journal the right to be the first in its publication. Authors retain the rights of their work under the guidelines of the license CC BY-NC, Creative Commons Public License. They can freely share their work (always recognizing its initial publication in this journal) with the sole exception of its reproduction for commercial purposes, according to this kind of CC license.

Publishing rights

Acta Toxicológica Argentina is an open access journal and has a Creative Commons Public License (CC-BY-NC). Authors retain the license of their article and the publication rights on their work; nevertheless, they guarantee the journal the right to be the first in its publication. Authors retain the license and rights to their work under the guidelines of the license CC BY-NC, Creative Commons Public License. They can freely share their work (recognizing its initial publication in this journal) with the sole exception of reproduction of the work published for commercial purposes, according to this kind of CC license.

General guidelines in the preparation of manuscripts for original articles

Articles must be written using a word processor (Microsoft Word 2003 or higher) with double-spacing throughout (including abstract, references and tables), and a minimum letter size of Arial 12. Manuscripts must contain page numbers on each page from the first page. The use of bold and italic letters must be limited to the bare minimum necessary.

First page should contain the article title, full name and affiliations of all authors, workplace (name of institution and postal address; if it differs between authors, numerical superscripts, not in parentheses, next to each author should be used to identify it); fax and/or e-mail address of the corresponding author (signaled by

a subscript asterisk next to the name).

Second page must include an English title and the abstract, both in the language of submission and in English, each followed by four key words in the corresponding language. If the article is written in English, then the abstract in Spanish must be provided. Keywords must be headed by capital letters and separated by semicolons.

Introduction. It should include updated background references and clearly stated study goals.

Materials and methods. This section should describe the methods, devices, reagents and procedures used, sufficiently detailed to enable the experiments to be reproduced.

Ethical considerations. All clinical studies must specify the name of the Ethics and Research Committee responsible for the approval of the study, as well as the patients' written consent. Studies involving non human experimental subjects must give assurance that ethical guidelines for the protection of animal handling and welfare were followed.

Statistical analysis. The statistical tests employed should be properly explained and justified to allow verification by other researchers. If statistical software was used to process data, it should be mentioned.

Results can be showed through one of the following formats: text, tables or figures. Authors should avoid repetition, and only the relevant data should be presented. An extensive interpretation of the results should be left for the Discussion section.

Tables must be typed in separate pages and numbered consecutively with Arabic numerals in order of appearance in the text. Legends or explanations should be included as footnotes. Marks for footnotes must be superscript Arabic numerals in parentheses. Continuous lines may be only used for the outer borders of the first and last row and to separate columns and data titles, not for outer borders of columns. Please make sure that each table is cited in the text.

Figures should be numbered consecutively with Arabic numerals and presented in separate pages. Drawings must be of good enough quality to ensure adequate reproduction. Bar, pie or statistical charts must be prepared in

GIF format. Numbers, letters and signs within figures must be of the appropriate size to be legible when the final sizing takes place. All signs used must have a reference in the figure caption.

Black-and-white only **photographs** should have proper contrast and a minimum resolution of 300 dpi. Submit all original drawings and photographs in glossy paper with the authors' name and figure number written in pencil in the back. For the electronic submission, photographs should be in high resolution JPEG or GIF formats. Both figures and photographs must be clearly legible. The minimum size for figures is half-letter paper size (21 x 15 cm) at 300 dpi. Magnification must be indicated whether by a scale bar or the magnification number.

Present figure captions in a separate page, accordingly numbered. Only the elements visible in the corresponding figure must be included in the caption.

Abbreviations. Authors should only use conventional abbreviations, avoiding their use in the title and abstract. When an abbreviation is first introduced in the text it must be preceded by the full term, except in the case of unit measures.

Unit measures. Length, size, weight and volume measures should be expressed according to the metric system (meter, kilogram, liter or their decimal multiples). Temperatures will be provided in degrees Celsius; blood pressure in millimeters of mercury.

All hematological and biochemical parameters should follow the metric system, according to the International System of Units (SI). However, editors could require that alternate units be provided before publication.

Nomenclature. For chemicals, authors should primarily adhere to IUPAC norms. Designate organism names according to international norms by stating the unabbreviated genus and species in italic.

Discussion. Emphasis should be placed on the most relevant and novel aspects of the study. Interpret experimental data in terms of previous published findings. Include conclusions without repeating data and concepts stated elsewhere.

Acknowledgements. Limit to a single paragraph, using Arial 10 lettering.

References. Citations in the text consist of the authors' last name (up to two authors) and the year of publication in parentheses. In the case of more than one citation, list them from the

oldest to the newest and separate citations by semicolons. For more than two authors, only cite the first author's last name followed by *et al.* and the year of publication.

Examples:

"Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) is the psychoactive substance with the largest consumption worldwide (Concon 1988; Lewin 1998; Nehlig 1999)".

"During pregnancy the total consumption of caffeine should not exceed 300 mg/day (Organization of Teratology Information Specialists (OTIS) 2001; Kaiser and Allen 2002; Nawrot *et al.* 2003)".

Full references must be listed alphabetically at the end of the manuscript under the subheading References.

Examples:

1. **Standard article in periodical publications**

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347(4):284-7.

2. **Books and monographs**

Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.

3. **Book chapters**

Meltzer P.S., Kallioniemi A., Trent J.M. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B., Kinzler K.W., editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. P. 93-113.

4. **Electronic material**

a. Article published in an online journal
Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [on line]. 2002 Jun. [accessed August 12, 2002];102(6):[1 p.]. Available at: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>Article

B. Website

Cancer-Pain.org [online]. New York: Association of Cancer On line Resources, Inc.; c2000-01[updated May 16, 2002; accessed July 9, 2002]. Available at: <http://www.cancer-pain.org/>.

c. Partial website

American Medical Association [online]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated August 23, 2001; accessed August 12, 2002]. AMA Office of Group Practice Liaison. Available at: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

For correct citation please refer to the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” proposed by the International Committee of Medical Journals Directors, available at: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) é o órgão oficial de difusão científica da Associação Toxicológica Argentina. Engloba o Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas, tem acesso a artigos e textos completos através da SciELO Argentina. **Acta Toxicológica Argentina** tem como objetivo a publicação de trabalhos relacionados com diferentes áreas da Toxicologia, em artigos originais, relatos de casos, comunicações breves, atualizações ou revisões, artigos de divulgação, resumos da tese, imagens, notas técnicas, cartas ao editor e notícias.

Os artigos originais são trabalhos de pesquisa completos e devem ser apresentados respeitando as seguintes seções: Introdução; Materiais e métodos; Resultados e Discussão (que podem integrar uma seção anexa).

Os relatos de casos são descrições de casos clínicos que tenham em suas características um significado ou aporte importante à Toxicologia.

As comunicações curtas são trabalhos de menor extensão, mas com conotação toxicológica inovadora e que aporte ao campo toxicológico.

Resumos de tese: Resumos ampliados que descrevem teses de Mestrado e Doutorado aprovadas. Estas devem incluir cópia da aprovação da tese com a declaração juramentada do autor e seu orientador. O texto não deve superar 1000 palavras.

As revisões ou atualizações compreendem trabalhos nos quais se tenha realizado uma ampla e completa revisão de um tema importante e/ou de grande interesse atual nos diferentes campos da toxicologia.

Os artigos de divulgação e artigos especiais são comentários de diversos temas de interesse toxicológico.

Imagens em Toxicologia podem corresponder a imagens relacionadas com a toxicologia, desde o artístico aos aspectos biológicos: plantas tóxicas, fungos tóxicos, animais venenosos, animais peçonhentos, florações de algas, químicos, alterações ambientais, casos clínicos, diagnóstico por imagens (radiografia, eletrocardiogramas, ecografias, angiografia, tomografia, ressonância magnética, microscopia óptica ou eletrônica, etc.).

O objetivo da Sessão Imagens em Toxicologia é a publicação de imagens originais (1-2 figuras de alta qualidade) ou clássicas interessantes

ou achados pouco usuais que facilitem o diagnóstico clínico, laboratorial ou eco epidemiológico de causas com origem toxicológica.

As imagens não devem ser excepcionais, mas sim ilustrativas.

O título deve ser curto e descritivo. Se a imagem é uma imagem clínica, o texto deveria ser uma descrição da apresentação do paciente seguida por pontos relevantes explicativos e o diagnóstico final. As imagens deveriam incluir uma legenda descritiva. Se a imagem corresponde a outros pontos de toxicologia, se deve incluir uma breve descrição do contexto da mesma no texto.

Por favor, utilize flechas ou símbolos para identificar os pontos de interesse na imagem. Nos casos clínicos remova qualquer informação de identificação do paciente.

O máximo de palavras recomendado é: Resumo 200, Texto 1000 e não mais de 12 referências.

Não deve haver mais de três (3) autores.

No caso que a imagem não seja original, deve ser acompanhada de autorização do proprietário ou de quem possua os direitos da mesma, o que deve estar indicado na nota que apresentada ao Comitê Editorial da *Acta Toxicológica Argentina*.

As notas técnicas são descrições breves de técnicas analíticas ou dispositivos novos ou apoiados por trabalhos experimentais conclusivos.

Acta Toxicológica Argentina (em adiante *Acta*) publicará contribuições em espanhol, português e/ou inglês. Todas serão avaliadas por pelo menos dois revisores; a seleção dos mesmos será atributo exclusivo dos editores. Este processo determinará que o mencionado Comitê opte por rejeitar, aceitar com alterações ou aceitar para publicação o trabalho submetido à sua consideração. A identidade dos autores e revisores será mantida de forma confidencial.

Envio de trabalhos

O envio de manuscritos será realizado através do Portal de Publicações Científicas e Técnicas (PPCT) do Centro Argentino de Informação Científica e Tecnológica (CAICYT). Na página web do PPCT-CAICYT <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/ata> estão apresentadas as instruções para autores.

Custos de publicação gratuitos

O envio, revisão, edição e publicação de qualquer tipo de material de divulgação científica ou técnica aceita pela Acta Toxicológica Argentina é livre para os autores, não ter que pagar qualquer custo para publicação ou qualquer das fases anteriores.

Direitos autorais

Acta Toxicológica Argentina é uma open access publicação com uma Licença Pública Creative Commons (CC-BY-NC). Autores mantêm seus direitos autorais e garantir a o revista o direito de ser a primeira em publicação da obra. Autores mantêm os direitos a seu trabalho sob as regras da licença CC BY-NC, Licença Pública Creative Commons para a partilha de trabalho, reconhecendo sua publicação inicial nesta revista. Os autores são livres para usar a obra para qualquer fim, menos comercial, de acordo com este tipo de licença CC.

Os direitos de publicação

Acta Toxicológica Argentina é uma open access publicação com uma Licença Pública Creative Commons (CC-BY-NC). Autores mantêm seus direitos de publicação e licença e garantir a o revista o direito de ser a primeira em publicação da obra. Autores mantêm os direitos a seu trabalho sob as regras da licença CC BY-NC, Licença Pública Creative Commons para a partilha de trabalho, reconhecendo sua publicação inicial nesta revista. Os autores são livres para usar a obra para qualquer fim, menos comercial, de acordo com este tipo de licença CC.

Aspectos gerais na preparação do trabalho como artigo original

Os trabalhos devem ser digitados em processador de texto (Microsoft Word versão 2003 ou superior), **com espaço duplo** (inclusive resumos, referências e tabelas) com tamanho mínimo de letra Arial 12. As páginas deverão ser numeradas desde a capa. As letras em **negrito** ou **italico** serão usadas somente quando responder.

Na primeira página deverá estar indicado: título do trabalho, nomes e sobrenomes completos de todos os autores; lugar de trabalho (nome da instituição e endereço postal), se houver autores com distintos lugares de trabalho, de-

verão ser colocados superíndices numéricos, não entre parênteses, junto aos nomes, para identificar cada autor com seu respectivo lugar de trabalho; fax e/ou correio eletrônico do autor responsável correspondente (que será indicado com um asterisco na posição de super-índice localizado junto ao nome).

Na segunda página será incluído título em inglês e o resumo no idioma do artigo e em inglês, seguido cada um deles de uma lista de quatro palavras-chave, no idioma correspondente. Se o trabalho estiver escrito em inglês, deverá apresentar um resumo em espanhol. As palavras-chave devem começar com letra maiúscula e estar separadas por ponto-e-vírgula.

Introdução. Deve incluir antecedentes atualizados sobre o tema em questão e objetivos do trabalho definidos com clareza.

Materiais e métodos. Deverá conter a descrição dos métodos, equipamentos, reativos e procedimentos utilizados, com detalhes suficientes para permitir a repetição dos experimentos.

Considerações éticas. Em todos os estudos clínicos deverá estar especificado o nome do Comitê de Ética e Investigação que aprovou o estudo e que foi realizado com o consentimento escrito dos pacientes. Em todos os estudos com organismos não humanos, devem estar especificadas as linhas éticas com respeito ao manejo dos mesmos durante a realização do trabalho.

Análises estatísticas. Devem ser informadas as provas estatísticas com detalhe suficiente para que os dados possam ser revisados por outros pesquisadores descrevendo detalhes de cada uma delas. Se for utilizado um programa estatístico para processar os dados, este deverá ser mencionado nesta seção.

Resultados. Deverão ser apresentados através de **uma** das seguintes formas: no texto, ou através de tabelas e/ou figura/s. Deverão ser evitadas repetições e serão destacados somente dados importantes. Deverá ser deixada para a seção Discussão a interpretação mais extensa.

As **tabelas** deverão ser apresentadas em folha à parte, numeradas consecutivamente com números arábicos, com as aclarações correspondentes. Os avisos para esclarecimentos de rodapé deverão ser realizados empregando números arábicos entre parênteses e super-ín-

dice. Somente as bordas externas da primeira e última linhas e a separação entre os títulos das colunas e os dados deverão ser marcados com linha contínua. Não marcar as bordas das colunas. Assegurar-se de que cada tabela seja citada no texto.

As **figuras** deverão ser apresentadas em folhas à parte, numeradas consecutivamente com números arábicos. Os desenhos deverão estar em condições que assegurem uma adequada repetição. Os gráficos de barras, tortas ou estatísticas deverão estar no formato GIF. Os números, letras e sinais deverão ter dimensões adequadas para serem legíveis quando forem impressas. As referências dos símbolos utilizados nas figuras deverão ser incluídas no texto da legenda.

As **fotografias** deverão ser feitas em branco e preto, com contraste, em papel brilhante e com qualidade suficiente (mínimo 300 dpi) para assegurar uma boa reprodução. Nos desenhos originais ou fotografias deverão constar, no verso, os nomes dos autores e número de ordem escritos com lápis.

As fotos para versão eletrônica deverão ser realizadas em formato JPEG ou TIFF, com alta resolução. Tanto as figuras quanto as fotografias deverão ser legíveis. O tamanho mínimo deverá ser de média carta, ou seja, 21 x 15 cm, a 300 dpi. Em todos os casos deverá estar indicado o aumento (barra o aumento).

As epígrafes das figuras deverão ser apresentadas exclusivamente em folha à parte, ordenadas e numeradas, e deverão expressar especificamente o que mostra a figura.

Abreviaturas. Serão utilizadas unicamente abreviaturas normalizadas. Deverão ser evitadas as abreviaturas no título e no resumo. Quando no texto se empregar pela primeira vez uma abreviatura, esta deverá ir precedida do termo completo, com exceção se tratar-se de uma unidade de medida comum.

Unidades de medida. As medidas de longitude, tamanho, peso e volume deverão ser expressas em unidades métricas (metro, quilograma, litro) ou seus múltiplos decimais. As temperaturas serão expressas em graus Celsius e as pressões arteriais em milímetros de mercúrio. Todos os valores de parâmetros hematológicos e bioquímicos deverão ser apresentados em unidades do sistema métrico decimal, de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI). Não obstante, os editores poderão solicitar que, antes de publicar o artigo,

os autores agreguem unidades alternativas ou diferentes das do SI.

Nomenclatura. No caso de substâncias químicas será tomada como referência prioritária as normas da IUPAC. Os organismos serão denominados conforme as normas internacionais, indicando sem abreviaturas o gênero e a espécie em itálico.

Discussão. Terá ênfase sobre os aspectos mais importantes e inovadores do estudo, e serão interpretados dados experimentais em relação com o que já foi publicado. Serão indicadas as conclusões, evitando reiterar dados e conceitos já citados em seções anteriores.

Agradecimentos. Deverão ser apresentados em letra Arial, tamanho 10 e em um parágrafo.

Bibliografia. As citações bibliográficas deverão estar indicadas no texto por meio do sobrenome

de/os autor/es (até dois autores) e o ano de publicação, tudo entre parênteses, separados por ponto-e-vírgula, e no caso de mais de uma citação, deve-se começar pela mais antiga à mais atual. No caso de mais de dois autores, serão indicados o sobrenome do primeiro autor seguido de *et al.* e o ano da publicação.

Exemplos:

“A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é uma substância psicoativa mais consumida no mundo (Concon 1988; Lewin 1998; Nehlig 1999)”.

“Em um consenso geral, seria desejável que a ingestão total de cafeína durante a gravidez supere 300 mg/dia (Organization of Teratology Information Specialists (OTIS) 2001; Kaiser y Allen 2002; Nawrot *et al.* 2003)”.

As referências bibliográficas completas serão incluídas ao final do trabalho, abaixo do título da Bibliografia Citada, em ordem alfabética, com o nome de todos os autores em cada caso.

Exemplos:

1. Artigo padrão em publicação periódica

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347(4):284-287.

2. Livros e monografias

Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A.. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.

3. Capítulo de livro

Meltzer P.S., Kallioniemi A., Trent J.M. Chromosome alterations in human solid tumors. En: Vogelstein B., Kinzler K.W., editores. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw- Hill; 2002. p. 93-113.

4. Material eletrônico

a. Artigo em publicação periódica em internet

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [on-line]. 2002 Jun. [consulta 12 de Agosto 2002];102(6):[1 p.]. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>Article.

b. Página de internet

Cancer-Pain.org [en línea]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.;

c2000-01 [atualizado em 16 de Maio de 2002; consulta 9 de Julho de 2002]. Disponível em: <http://www.cancer-pain.org/>.

c. Parte de uma página de internet

American Medical Association [on-line]. Chicago: The Association; c1995-2002 [atualizado em 23 de Agosto de 2001; consulta 12 de Agosto de 2002]. AMA Office of Group Practice Liaison. Disponível em: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

Para a correta citação de possíveis referências bibliográficas que puderam não estar citadas neste documento, consultar o estilo proposto pelo Comitê Internacional de Diretores de Revistas Médicas em "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.