



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TOXIDAD DE LOS MERCURIALES, SUS  
EFECTOS Y SU IMPORTANCIA COMO  
CONTAMINANTES MARINOS.

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

P R E S E N T A :

**ROSALINDA ESCALANTE PLIEGO**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS 1974

CLAS \_\_\_\_\_  
LIB \_\_\_\_\_ 33  
SOMA \_\_\_\_\_  
RDC \_\_\_\_\_  
S \_\_\_\_\_

1300



PRESIDENTE      Prof. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA,  
VOCAL            Prof. ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES,  
SECRETARIO      Prof. ENRIQUE CALDERON GARCIA,  
1er SUPLENTE    Prof. CESAR A. DOMINGUEZ CAHACHO,  
2o SUPLENTE     Prof. ANA MA. MENDEZ CHAVEZ.

*Sitio donde se desarrolló el tema: Facultad de Química,  
UNAM.*

SUSTENTANTE:    ROSALINDA ESCALANTE PLIEGO.

ASESOR DEL TEMA: Q.F.B. ENRIQUE CALDERON GARCIA.

CÓN GRATITUD:

A LA MUJER QUE ME ALENTÓ SIEMPRE:

MI MADRE

AL HOMBRE QUE ME BRINDÓ SU APOYO:

MI PADRE.

AL HOMBRE QUE ME ENSEÑÓ QUE EL AMOR  
NO ES SOLO EL ESTAR JUNTOS:

JUAN MANUEL

A QUIÉNES SIEMPRE ME OFRECIERON SU  
CARINO:

MIS HERMANOS

MIS AMIGOS.

## TEMARIO.

	PAG.
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	
HISTORIA DEL MERCURIO	3
PROPIEDADES FISICAS	6
PROPIEDADES QUIMICAS	7
ANALISIS DEL MERCURIO	31
USOS	36
EFFECTOS DE LOS MERCURIALES A NIVEL BIOQUIMICO.	
REACCIONES CON PROTEINAS	39
INHIBICION DE ENZIMAS	52
TRANSPORTE DE ELECTRONES Y LA FOSFORILACION OXIDATIVA.	94
FERMENTACION Y GLICOLISIS	97
CICLO DEL ACIDO TRICARBOXILICO	99
RESPIRACION	101
OTRAS VIAS METABOLICAS	105
LA MEMBRANA CELULAR COMO UN SITIO DE ACCION DE LOS MERCURIALES.	111
EFFECTOS SOBRE LA PERMEABILIDAD Y EL TRANSPORTE ACTIVO	119
EFFECTOS DE LOS MERCURIALES EN LOS TEJIDOS	
RINON	127
MUSCULO ESQUELETICO	140
CORAZON	143
MUSCULO LISO	147
SISTEMA NERVIOSO	147
PIEL	148
EFFECTOS OBSERVADOS EN ANIMALES	150
SINTOMATOLOGIA CLINICA	150
DOSIS TOXICAS Y LETALES	153
DISTRIBUCION, METABOLISMO Y EXCRECION	156

EFFECTOS SOBRE LA MITOSIS Y DIFERENCIACION	
HUEVOS Y ENBRIONES	162
PLANTAS	163
CELULAS DE MANIFEROS Y CULTIVOS DE TE_	
JIDOS.	163
ALGUNOS ASPECTOS GENERALES DE LOS EFEC_	
TOS DE MERCURIALES SOBRE LA MITOSIS Y	
EL CRECIMIENTO	165
EFFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE MICROORGA_	
NISMOS.	166
BACTERIAS, HONGOS Y LEVADURAS	167
VIRUS	170
PROTOZOARIOS	170
DESARROLLO DE RESISTENCIA A MERCURIALES	174
EL MERCURIO COMO CONTAMINANTE MARINO	
PRESENCIA DEL MERCURIO EN EL MEDIO	
AMBIENTE	176
CICLO BIOGEOQUIMICO DEL MERCURIO	182
METILACION DEL MERCURIO	186
CADENAS ALIMENTARIAS	193
PRINCIPALES CASOS DE CONTAMINACION POR	
MERCURIO EN EL MUNDO	205
PRODUCCION DE MERCURIO	221
PRINCIPALES ZONAS PRODUCTORAS DE MER_	
CURIO EN LA REPUBLICA MEXICANA	222
DISTRIBUCION DE MERCURIO EN ALGUNOS	
PECES DE IMPORTANCIA COMERCIAL DE LA	
REPUBLICA MEXICANA	224
CONCLUSIONES	226
BIBLIOGRAFIA	228

## INTRODUCCION.

Hasta hace poco tiempo, la actividad humana no contribuyó mucho a modificar el ambiente marino, pero con el rápido adelanto tecnológico de los últimos decenios se hizo una realidad la evacuación directa e indirecta de varios productos y subproductos potencialmente perjudiciales en los mares y océanos. A este grupo pertenecen el mercurio y sus compuestos, calculándose que en la actualidad la mitad del mercurio que anualmente llega a los mares y océanos (unas 5000 toneladas) es el resultado de falta de control con que en la agricultura y en la industria se ha salido a los compuestos de mercurio. Las proporciones de contaminación comienzan ya a ser alarmantes y las precauciones tomadas muy pocas, es sólo cuando la situación se torna irremediable que empezamos a interesarnos en sus efectos a corto y largo plazo. Las primeras noticias que se tienen de contaminación de mar ocurre al principio de la década de los cincuentas en Minamata, Japón, donde la cantidad de mercurio que se vertió en las aguas de mar y que pasó a los organismos comestibles elevó su concentración de manera que ocasionó la muerte de más de cuarenta personas. En los países escandinavos tuvieron que aplicarse disposiciones estrictas para evitar tragedias similares.

La concentración de mercurio en el agua de mar es muy baja, 0.03-0.27 ppm, pero debido a su alta reactividad química y toxicidad biológica su aumento ejerce en los organismos un fuerte efecto deléctico. La transformación biológica de formas de mercurio relativamente menos tóxicas en otras de más alta toxicidad, y su bioacumulación directamente a partir de las aguas del mar o a través de las cadenas alimentarias, hace que el mercurio vuelva al hombre en una forma concentrada, lo que aparte de ejercer efectos tóxicos directos, puede tener una consecuencia de tipo genético.

Los efectos producidos por los mercuriales dentro de un organismo vivo son muy variados, desde estimular la funcionalidad de ciertos sistemas, hasta anularlos por completo, dependiendo todo ello de la concentración del mercurial, de la vía de entrada, de las condiciones del organismo, de la forma química, del tiempo de exposición, etc.. Sin embargo, la gran cantidad de efectos adversos que ocasionan hace necesario un estudio más a fondo, para conocer como ocurren y porque ocurren, con el fin de estimular su control en la salida de desperdicios industriales y promoviendo el reciclaje para su regeneración en la industria.

## GENERALIDADES.

## HISTORIA.

El mercurio llamado también azogue, fue conocido por el hombre desde épocas prehistóricas. Los arqueólogos lo han hallado como pigmento en ruinas del antiguo Egipto, Babilonia y en Mojenho Daro, en Pakistán. El cinabrio o sulfuro de mercurio, fue extraído por vez primera hace más de dos mil trescientos años. Las muestras de mercurio que han sido encontradas en tumbas egipcias muy antiguas datan de 1,500 a 1,600 años A.C.

Los griegos conocían la forma de obtener mercurio a partir del cinabrio. Se considera que ARISTÓTELES (384-322 A.C.), fue el primero en utilizar mercurio en ceremonias religiosas. Plinio lo llamó *Hidargirium*, nombre latino que quiere decir plata líquida, de donde proviene el actual símbolo Hg, para representarlo químicamente. Ocasionalmente, al mercurio también se le denomina azogue, un derivado de la traducción latina *Argentum Vivum* (plata viva), llamado así por su movilidad, forma líquida y brillo argéntico.

Los chinos usaban el mercurio en forma metálica en medicinas o elixires que se creían tenían la capacidad de prolongar la vida. Se tienen noticias de que algunos emperadores chinos murieron en sus vanos intentos de alcanzar la inmortalidad.

Existen evidencias de que el primer uso práctico del mercurio fue debido a su color. Después de las guerras púnicas, grandes cantidades de cinabrio fueron llevadas a Roma en donde el mineral era transformado en un pigmento color bermellón que se utilizó para decorar las villas romanas, así como también para elaborar productos de belleza.

Plinio relata en sus escritos, que el cinabrio fue usado en las fiestas romanas para entorpecer la cara de estatuas de Júpiter en Roma. También fue utilizado para escribir sobre libros y decorar paredes y tumbas, así como en amalgamas para proteger o cubrir con cobre objetos de oro.

Vitruvius, el famoso arquitecto romano, describió el proceso de amalgamación como el primer uso práctico no decorativo del mercurio. Observó que el mercurio disolvía el oro y describió un método para recuperarlo.

Desde la época de Aristóteles hasta la Edad Media, existen evidencias escritas de la prominencia del uso del mercurio y sus sales en medicina. En Grecia se recomendaba el uso del bicloruro de mercurio y del mercurio en unguento o pomada para curar varias enfermedades de la piel. Se atribuye a Paracelso, el uso médico del mercurio. Disolviendo mercurio en ácido sulfúrico lo destiló con alcohol y lo utilizó para curar la sífilis. También Hipócrates prescribió el sulfuro de mercurio como una medicina y este fue probablemente el primer uso de un compuesto metálico que se aplicara terapéuticamente. Sin embargo durante la edad Media se consideró al mercurio como una sustancia mágica, y sólo cuando los alquimistas sintetizaron sustancias como cloruros, óxidos y otros compuestos inorgánicos, el uso del mercurio en la medicina se empezó a extender. El calomel, se utilizó como purgante, y en el siglo XVI los compuestos del mercurio empezaron a ser utilizados para el tratamiento de las sífilis.

Muchos investigadores de esta época, incluso los alquimistas, estaban fascinados con este metal misterioso, el cual jugaba un papel importante como intermediario en sus vanos esfuerzos por transmutar metales básicos, ya seleccionados, en oro.

Durante los siglos XVII y XVIII, las propiedades físicas y químicas del mercurio fueron descubiertas. A mediados del siglo XVIII, el mercurio no estaba aún universalmente clasificado entre los metales, debido a su naturaleza líquida.

Este concepto fue desaprobado en San Petersburgo, Rusia, durante el invierno de 1759/1760 (uno de los fríos más intensos sentidos en esa época), cuando el mercurio en un termómetro se hizo sólido durante un experimento llevado a cabo por Lomonosov, este estableció el punto de solidificación del mercurio en aproximadamente  $-38.9^{\circ}\text{C}$ .

El uso del mercurio para la curación de la sífilis persistió aún en el siglo XX, aproximadamente hasta 1930.

En cuanto a la naturaleza tóxica del mercurio, ésta fue reportada por Hipócrates, Plinio, Galeno y Avicena. En el siglo V, Dioscórides, escribió que el cinabrio era bueno para enfermedades de los ojos, ayudaba a la curación de quemaduras y disminuía el desarrollo de ampollas. Pero hizo notar que ingerido el mercurio era peligroso.

Sin embargo, es a Ulrich Ellenbog, en 1473, a quien se le atribuye, de acuerdo con Koelsch, haber sido el autor del primer trabajo sobre higiene industrial y la descripción de los síntomas del envenenamiento por los vapores de mercurio.

En 1533, Paracelso, escribió un libro sobre enfermedades ocupacionales y describió en detalle el envenenamiento de los mineros por causa del mercurio.

Sobre la naturaleza tóxica del mercurio, también existen evidencias de que Napoleón, Iván el terrible, y Carlos II de Inglaterra, pudieron haber muerto de envenenamiento de mercurio ya sea en forma accidental o deliberada.

Entre los trabajos importantes escritos sobre el mercurio como causa de enfermedades ocupacionales en el siglo XX, está el de Langget, en el que se describen las manifestaciones clínicas causadas por compuestos orgánicos e inorgánicos del mercurio.

Las descripciones del envenenamiento ocupacional por mercurio hechas por Paracelso y Agricola en el siglo XVI, por Ramazzini a principios del siglo XVIII, por Kusamaul a mediados del siglo XIX y por Thompson en el siglo XX son muy semejantes. Todos describen los síntomas característicos: temblor, gingivitis, eretismo, como las principales manifestaciones presentadas por los enfermos.

Cuando von Hofmann en 1843 y Frankland en 1850 sintetizaron compuestos orgánicos de mercurio, inauguraron la era de la toxicología industrial. Según Teleky, las primeras víctimas de los compuestos sintéticos alquilomercuriales fueron dos tle-

nicos de laboratorio que estaban trabajando con dimetil-mercurio. Esto ocurrió en 1850.

En la actualidad se sabe que los vapores de mercurio son muy venenosos, así como muchas de sus combinaciones, produciéndoles a las personas que trabajan en la destilación de este metal una enfermedad llamada Hidrangismo o Mercurialismo,

#### PROPIEDADES FÍSICAS.

MASA ATÓMICA	200.59
NÚMERO ATÓMICO	80
DISTANCIA ATÓMICA	3.005 Å
PUNTO DE SOLIDIFICACIÓN	-38.87 °C
PUNTO DE EBULLICIÓN	356.9 °C/760 mm
DENSIDAD	15.546 g/ml a 20°C
SECCIONABILIDAD EN AGUA	20-30 g/l
TENSIÓN SUPERFICIAL	475 dina/cm a 20°C
ÁNGULO DE CONTACTO	128° a 18°C
RESISTENCIA ESPECÍFICA	$95.8 \times 10^{-6}$ ohm/cm a 20°C
VISCOSIDAD	0.0155 poise a 20°C
CONDUCTIVIDAD TÉRMICA	0.022 cal/seg/ml/°C
COEFICIENTE DE EXPANSIÓN	$1.82 \times 10^{-4}$ ml a 20°C
CAPACIDAD CALORÍFICA	0.0334 cal/g a 20°C
CALOR LATENTE DE FUSIÓN	2.82 cal/g
CALOR LATENTE DE EVAPORACIÓN	65 cal/g
PRESIÓN CRÍTICA	732 atm
TEMPERATURA CRÍTICA	1697°C
PRESIÓN DE VAPOR.	0.2729 mm a 100°C
	17.287 mm a 200°C
	246.8 mm a 300°C
	672.7 mm a 350°C.

## PROPIEDADES QUÍMICAS. X

## Generalidades.

El poder disolvente del mercurio se manifiesta en las amalgamas.

Se ha indicado que dicho metal presenta divergencias con las conductas del zinc y del cadmio (a pesar de ser de la misma familia), debido a su naturaleza de metal noble que, prácticamente, se manifiesta al ser oxidado sólo por los halógenos, por el azufre y por los ácidos nítrico y sulfúrico. El que se obtengan compuestos de la serie mercuriosa (de  $Hg_2^{2+}$ ) o mercuríca ( $Hg^{2+}$ ) depende de la sustancia con que reaccione, de las proporciones y de las condiciones de la reacción, y de acuerdo con los potenciales de oxidación-reducción. En el equilibrio:



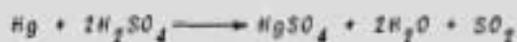
la concentración de  $Hg_2^{2+}$  es unas 166 veces mayor que la de  $Hg^{2+}$ ; siendo el potencial positivo del paso  $2Hg \rightleftharpoons Hg_2^{2+}$ , más bajo que el del  $Hg \rightleftharpoons Hg^{2+}$ :

$$\frac{[Hg_2^{2+}]^2}{[Hg^{2+}][Hg]} = K \qquad K = 166$$

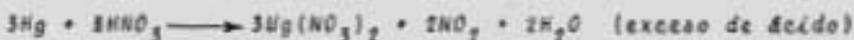
Un exceso de mercurio favorece, por tanto, el desplazamiento del equilibrio hacia la derecha, esto es, la formación de compuestos de  $Hg_2^{2+}$ , o mercuriosos.

He aquí algunas reacciones importantes con el mercurio: entre 350° y 500°C se combina con el oxígeno, aunque con lentitud, sin que la temperatura deba exceder de la indicada para evitar que se descomponga el óxido de mercurio II que se forma,  $HgO$ . El vapor de mercurio se combina con el de azufre y da  $HgS$ . No es atacado por el ácido clorhídrico, ni por el ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico concentrado es reducido, en calien-

te, por el mercurio:



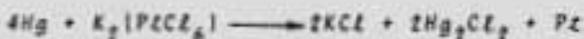
Reacciona ya en frío, con el ácido nítrico:



No le atacan los hidróxidos alcalinos.

A continuación se indican sus reacciones con algunas

sales:



Algunas Propiedades Importantes para Estudios Bioquímicos.

Los mercuriales constituyen un grupo muy importante de compuestos, desde el punto de vista: Inhibición Enzimática, ya que son capaces de demostrar la presencia y la importancia de grupos SH en reacciones enzimáticas. Como muchas enzimas po-

seen grupos SH activos cerca de sus centros activos, los mercuriales inhibiran una gran cantidad de enzimas. A nivel celular es bastante difícil predecir el sitio de acción, aunque con su uso restringido puede dañar las bases generales metabólicas de la función de secreción de ácido gástrico, del transporte renal y de la mitosis. De cualquier forma el uso primario de los mercuriales lo constituye la titulación de grupos SH de enzimas, ya que son de los reactivos más específicos y difícilmente existe algún grupo SH resistente a los mercuriales y sensible a otro tipo de inhibidores.

De cerca de 1360 publicaciones de los efectos de mercuriales sobre enzimas aisladas, únicamente el 4% se hizo antes de 1950, 16% de 1950 a 1956, 80% de 1956 a 1964. Actualmente es un hecho notable que cada nueva enzima que es aislada se somete a uno o más mercuriales con el propósito de detectar grupos SH.

(El compuesto de mercurio inorgánico más comúnmente usado como inhibidor es el cloruro mercurico  $HgCl_2$ ). Sus propiedades fundamentales se localizan en la tabla 1. La solubilidad del cloruro mercurico en agua se incrementa con la presencia de NaCl, KCl u otro haluro presente; por lo que la solubilidad del  $HgCl_2$  en el medio de Krebs-Ringer es de alrededor de 17.5 g/100ml y en agua de mar de 27 g/100ml. La deficiencia del carácter iónico del  $HgCl_2$  se manifiesta por la alta solubilidad en etanol (26.3g/100ml) y aún en éter (4.55g/100ml). A la vez, el  $HgCl_2$  se ha dicho que es razonablemente soluble en lípidos, un hecho de importancia al considerar la distribución en los tejidos.

A) Equilibrio entre el  $Hg^{++}$  y los iones Haluros.

(En solución acuosa el  $HgCl_2$  no se disocia simplemente en iones  $Hg^{++}$  y  $Cl^-$ , sino que forma una serie de complejos, cuyas concentraciones relativas dependen de la concentración de ion  $Cl^-$  y del pH. Las siguientes especies son las más importantes:  $Hg^{++}$ ,  $HgCl^+$ ,  $HgCl_2$ ,  $HgCl_3^-$  y  $HgCl_4^{--}$ .) Para estudiar las constantes de equilibrio de estos complejos se tomaron en consideración las constantes de disociación a 25°C; mientras que para indicar las disociaciones individuales por K y las disociaciones acumulati-

TABLA I

Algunas propiedades del Mercurio, el ion mercurico, y los haluros mercuricos.

Radio	
Atomo de Hg	1.59 Å
Ion Hg <sup>++</sup>	0.66 Å
Longitud de la unión	
Hg-Cl	2.20 Å
Hg-Br	2.40 Å
Hg-I	2.55 Å
Carácter iónico de la unión	
Hg-Cl en HgCl <sub>2</sub>	28%
Tipos de unión	
HgCl <sub>2</sub>	Lineal (sp)
HgCl <sub>4</sub>	Tetraedral (sp <sup>3</sup> )
Electronegatividad	
Hg(II)	1.9
Solubilidad en Agua (g/100ml sol.)	
HgCl <sub>2</sub>	6.8 (25°C) 8.9 (37.5°C)
Producto de Solubilidad	
HgCl <sub>2</sub>	1.06 × 10 <sup>-18</sup> (25°C)
K <sub>sp</sub> = [Hg <sup>++</sup> ][Cl <sup>-</sup> ] <sup>2</sup>	2.95 × 10 <sup>-18</sup> (37.5°C)
pH de la solución saturada	
HgCl <sub>2</sub>	4.7 (25°C)
Equilibrio Redox	
Hg <sup>++</sup> + Hg(l) ⇌ Hg <sub>2</sub> <sup>++</sup>	
K = [Hg <sub>2</sub> <sup>++</sup> ]/[Hg <sup>++</sup> ]	129.2
Potenciales Redox (E <sub>25</sub> <sup>o</sup> )	
Hg <sub>2</sub> <sup>++</sup> ⇌ 2Hg <sup>++</sup> + 2e <sup>-</sup>	-0.92v
2Hg ⇌ Hg <sub>2</sub> <sup>++</sup> + 2e <sup>-</sup>	-0.79v
Hg ⇌ Hg <sup>++</sup> + 2e <sup>-</sup>	-0.85v

vas por  $\beta$ . Las disociaciones fundamentales y sus constantes se encuentran en la tabla 2. Es evidente que la unión del primero de los dos iones  $Cl^-$  es más fuerte, mientras que el segundo está unido sólo débilmente, debido quizás al cambio de configuración de la unión y al incremento de la negatividad.

Las concentraciones relativas de los diferentes complejos depende en soluciones simples, principalmente de la concentración del ion  $Cl^-$ . Las fracciones de mercurio total para complejos en particular pueden ser calculadas a partir de las siguientes ecuaciones:

$$[Hg^{++}]/[Hg_c] = 1/A$$

$$[HgCl^+]/[Hg_c] = [Cl^-]/\beta_1 A$$

$$[HgCl_2]/[Hg_c] = [Cl^-]^2/\beta_2 A$$

$$[HgCl_3^-]/[Hg_c] = [Cl^-]^3/\beta_3 A$$

$$[HgCl_4^{2-}]/[Hg_c] = [Cl^-]^4/\beta_4 A$$

donde:

$$A = 1 + \frac{[Cl^-]}{\beta_1} + \frac{[Cl^-]^2}{\beta_2} + \frac{[Cl^-]^3}{\beta_3} + \frac{[Cl^-]^4}{\beta_4}$$

La concentración de  $Cl^-$  varía en un amplio rango en el medio usado. En una reacción enzimática aislada puede ser muy bajo la menos que se agregue  $KCl$  o  $NaCl$ , es de 102 mM en suero, de 126 mM en el medio de bicarbonato de Krebs-Ringer, 154 mM en suero fisiológico salino y 515 mM en agua de mar. La distribución entre las diferentes especies de complejos para tres diferentes situaciones (baja, moderada y alta concentración de  $Cl^-$ ) se muestra en la tabla 3, y la distribución sobre un espectro completo de concentraciones de  $Cl^-$  se ilustra en la figura 1. Esto es lo que ocurre en la mayoría de los medios usados para cultivo de células y de tejidos, las concentraciones de  $HgCl_2$ ,  $HgCl_3^-$ , y  $HgCl_4^{2-}$  casi son iguales, mientras que en agua de mar la forma predominante es  $HgCl_2$ . En el medio para estudio enzimático

TABLA 2

Constantes de Disociación para Complejos de Cloruro Mercurico.

Equilibrio	Definición de $K$	$K$	$pK$	Definición de $\beta$	$\beta$	$p\beta$
$Hg^{++} + Cl^- \rightleftharpoons HgCl^+$	$K_1 = \frac{[Hg^{++}][Cl^-]}{[HgCl^+]}$	$1.82 \times 10^7$	6.74	$\beta_1 = \frac{[Hg^{++}][Cl^-]}{[HgCl^+]}$	$1.82 \times 10^{-7}$	6.74
$HgCl^+ + Cl^- \rightleftharpoons HgCl_2$	$K_2 = \frac{[HgCl^+][Cl^-]}{[HgCl_2]}$	$3.31 \times 10^7$	6.48	$\beta_2 = \frac{[Hg^{++}][Cl^-]^2}{[HgCl_2]}$	$6.03 \times 10^{-14}$	13.22
$HgCl_2 + Cl^- \rightleftharpoons HgCl_3^-$	$K_3 = \frac{[HgCl_2][Cl^-]}{[HgCl_3^-]}$	$1.41 \times 10^7$	6.85	$\beta_3 = \frac{[Hg^{++}][Cl^-]^3}{[HgCl_3^-]}$	$8.51 \times 10^{-15}$	14.07
$HgCl_3^- + Cl^- \rightleftharpoons HgCl_4^{2-}$	$K_4 = \frac{[HgCl_3^-][Cl^-]}{[HgCl_4^{2-}]}$	$1.00 \times 10^7$	7.00	$\beta_4 = \frac{[Hg^{++}][Cl^-]^4}{[HgCl_4^{2-}]}$	$8.51 \times 10^{-16}$	15.07

Las constantes acumulativas son, por supuesto dadas por:  $\beta_1 = K_1$ ,  $\beta_2 = K_1 K_2$ ,  $\beta_3 = K_1 K_2 K_3$  y  $\beta_4 = K_1 K_2 K_3 K_4$ .

TABLA 3.

Distribución de Complejos de Cloruro Mercuríco como fracciones del Mercurio Total en medios de diferentes concentraciones de  $Cl^-$ .

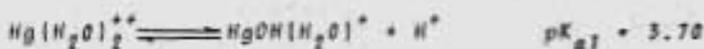
Fracción	$(Cl^-) = 1$ ml	Medio	
		Krebs-Rénger $(Cl^-) = 126$ ml	Agua de Mar $(Cl^-) = 515$ ml
$[Hg^{++}] / [Hg_{\Sigma}]$	$6.03 \times 10^{-8}$	$1.26 \times 10^{-12}$	$9.8 \times 10^{-15}$
$[HgCl^+] / [Hg_{\Sigma}]$	$3.31 \times 10^{-4}$	$8.68 \times 10^{-7}$	$2.8 \times 10^{-8}$
$[HgCl_2] / [Hg_{\Sigma}]$	0.9925	0.331	0.0423
$[HgCl_3^-] / [Hg_{\Sigma}]$	$7.09 \times 10^{-3}$	0.296	0.156
$[HgCl_4^{2-}] / [Hg_{\Sigma}]$	$7.09 \times 10^{-5}$	0.373	0.801

co aislado, en el cual, la concentración del ion  $\text{Cl}^-$  es amenudo baja, la forma predominante puede ser  $\text{HgCl}_2$  o aún  $\text{HgCl}^+$ .

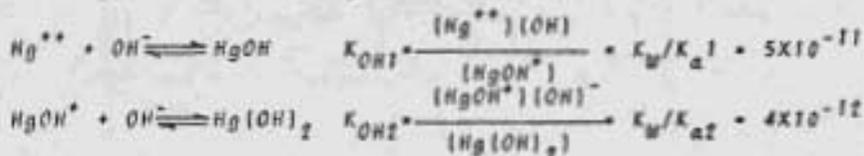
Ha sido amenudo considerado en el pasado que el ion mercuríco  $\text{Hg}^{++}$  es la forma predominante o el inhibidor activo, pero se ha demostrado que este no es el caso. La importancia de tales complejos en estudios de inhibición abarca dos campos. En primer término, el equilibrio de la unión del mercurio a los grupos SH se modifica, y considerando que los iones  $\text{Cl}^-$  compiten con los grupos SH por el  $\text{Hg}^{++}$ , esto afecta las constantes de disociación para los complejos  $\text{R-S-Hg}^+$  y  $\text{R-S-Hg-S-R}$ . En segundo término, la penetración del inhibidor dentro de la célula dependerá de las concentraciones relativas de estos complejos. Para facilitar la estimación de las concentraciones relativas de los complejos en un rango estrecho de concentraciones del ion  $\text{Cl}^-$  como comúnmente se hace en estudios de inhibición se presenta la figura 2.

B) Equilibrio entre  $\text{Hg}^{++}$  y iones hidroxilo.

Se ha considerado por lo general que el ion  $\text{Hg}^{++}$  está hidratado y que se ioniza de acuerdo a las siguientes ecuaciones:



En el sentido estricto se dice que el ion hidratado es un ácido dibásico. Es evidente que a un pH cercano a la neutralidad,  $\text{Hg}(\text{OH})_2$ , será la forma predominante. Para comparar este equilibrio con el del ion cloruro, es mejor expresar estas reacciones como el simple acomplejamiento con los iones  $\text{OH}^-$ . Entonces  $pK_{OH1} = 10.3$  y  $pK_{OH2} = 11.4$ :



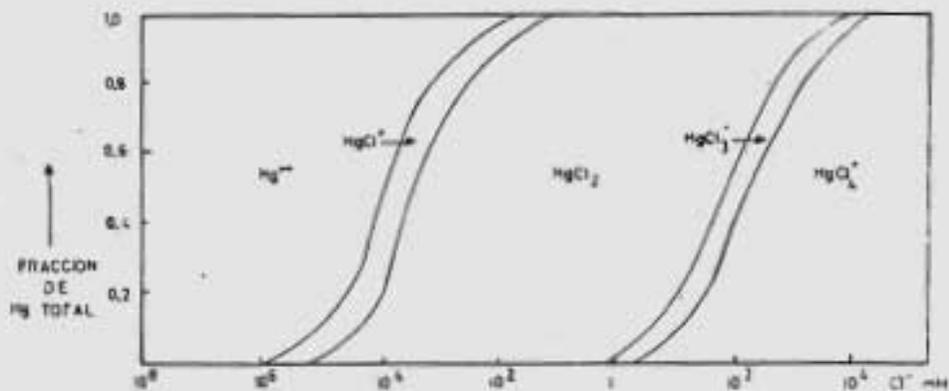


FIG 1 CURVAS MOSTRANDO LA DISTRIBUCION DE LOS DIFERENTES COMPLEJOS CLORUROS DE Hg<sup>2+</sup> CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE Cl<sup>-</sup>.

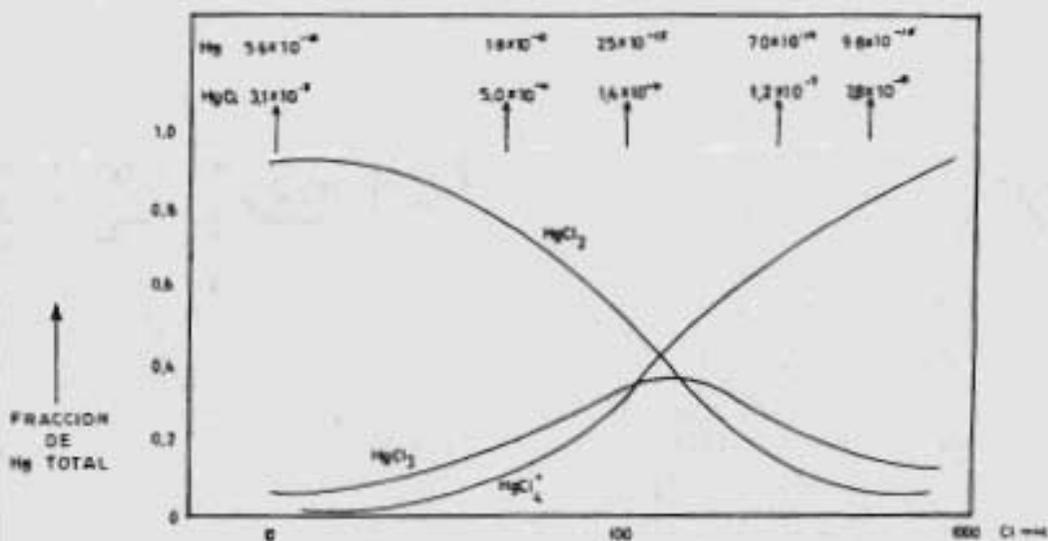
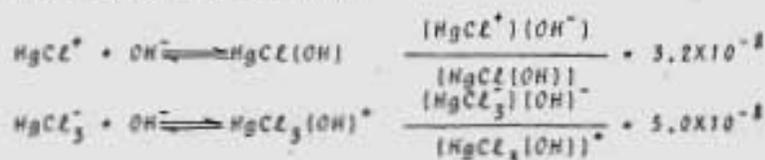


FIG 2 FRACCION DE MERCURIO EN VARIAS FORMAS EN MEDIO ACIDO CON CONCENTRACIONES VARIABLES DE Cl<sup>-</sup>. EN LA PARTE SUPERIOR SE DAN LAS CONCENTRACIONES DE Hg<sup>2+</sup> Y HgCl<sub>4</sub><sup>2-</sup> A DIFERENTES CONC. DE Cl<sup>-</sup>.

Lo cual puede ser comparado al  $pK_{Cl} = 6.74$ , y  $pK_{Cl_2} = 6.48$  (tabla 2). Ahora en un medio libre del ion  $Cl^-$ , aún a pH 5, la relación  $(Hg(OH)_2)/(Hg^{++})$  será de 5000 a pH 7 será de 50000000 así que el ion  $Hg^{++}$  será despreciable. Aunque la afinidad del  $Hg^{++}$  por  $OH^-$  es más grande que para  $Cl^-$ , cuando  $Cl^-$  está presente en concentración apreciable (10-150 mM) competirá efectivamente por el ion  $Hg^{++}$  ya que en la neutralidad su concentración será de  $10^5$  a  $10^6$  veces la del  $OH^-$ . Por lo que se puede predecir que en el medio usual para estudios de inhibición, los complejos de  $Cl^-$  predominarán sobre los complejos de  $OH^-$ , aunque particularmente cuando el pH está por arriba de 7, es claro que complejos del tipo de  $HgCl(OH)$ ,  $HgCl(OH)_2^-$ ,  $HgCl_2(OH)^-$ , y  $HgCl_3(OH)^-$  pueden contribuir significativamente a la población total. Los datos aportados por Sneed y Brasted [1955] permiten calcular las constantes de los siguientes equilibrios:

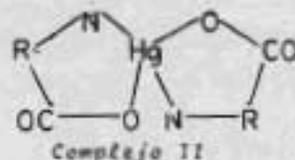
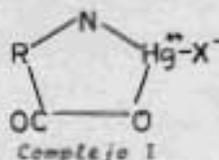


La afinidad de los complejos del  $Cl^-$  son del mismo orden de magnitud y menores que para el ion  $Hg^{++}$ . A pH 7,  $[HgCl^+]/[HgCl(OH)] = 0.32$  y  $[HgCl_3^-]/[HgCl_3(OH)^-] = 0.5$ , por lo que los complejos del  $OH^-$  son significativos.

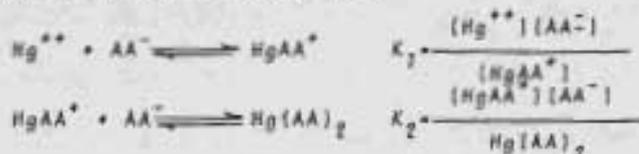
#### C) Complejos del $Hg^{++}$ con varios ligandos.

El ion  $Hg^{++}$  es capaz de formar uniones covalentes iónicas fuertes con átomos capaces de donar un par de electrones ( $Cl^-$ ,  $OH^-$ ). Como se ha establecido el  $Hg^{++}$  reacciona con grupos SH selectivamente y otros grupos de proteínas rara vez contribuyen a la unión, pero es necesario valorar cuantitativamente la relativa afinidad del  $Hg^{++}$  por otros grupos. Los complejos del  $Hg^{++}$  con el amoníaco son bastante conocidos así como la unión a grupos amino y, puede existir interacción con grupos carboxila-

dos, se predice que los aminoácidos actuarán como ligandos efectivos. Dos son los principales complejos considerados, probablemente con las siguientes estructuras:



La constante compuesta  $\beta_2 = K_1 K_2$ , donde  $K_1$  y  $K_2$  son definidas por el siguiente equilibrio:



que determinado en cada caso, y los valores se dan en la tabla 4. La forma necesaria del aminoácido para la quelación con el  $\text{Hg}^{++}$  es  $-\text{OOC}-\text{R}-\text{NH}_2$  y para el cálculo de las constantes únicamente la fracción del aminoácido y el pH usado son tomados en consideración.

El hecho de que aminoras simples forman complejos con el  $\text{Hg}^{++}$  en el mismo grado aproximadamente que los aminoácidos indica que el grupo amino es el ligando importante, y el grupo carboxílico quizás contribuye ligeramente a la estabilidad. Átomos de nitrógeno en anillos son probablemente no tan efectivos como los grupos amino. El  $\text{Hg}^{++}$  reacciona con los grupos amino e imidazol de la histidina, pero más fuertemente con el formador, los pK's son 10.6 y 7.5 respectivamente.

En cualquier caso es claro que los complejos del  $\text{Hg}^{++}$  con aminoácidos y muchos otros compuestos son lo suficientemente estables, cuando estas sustancias están presentes en el medio usado para el estudio de inhibición, una fracción considerable

del Hg puede estar en forma de dichos complejos.

(D) Complejos del  $Hg^{++}$  con nucleótidos y ácidos nucleicos.

Los complejos entre el  $Hg^{++}$  y ciertas purinas y pirimidinas, especialmente timina, son bastante estables (tabla 4) y los complejos con fosfatos son probablemente formados rápidamente, por lo que se esperaba que los nucleótidos y los ácidos nucleicos también se unan al  $Hg^{++}$ . Se han hecho estudios en ácidos nucleicos del timo, plantas, neumococos y virus del mosaico del tabaco. Los efectos generales sobre los ácidos nucleicos se puede resumir como sigue: descenso en la viscosidad, incremento en la turbidez, en la constante de sedimentación, agregación y relación dímero-monómero, un incremento en la flexibilidad de las cadenas con la producción de una configuración más compacta, y un cambio en el espectro de absorción de luz ultravioleta. Originalmente se creyó que el acomplejamiento era con los grupos fosfato, pero la naturaleza de los cambios del espectro de absorción, la estequiometría de las reacciones, y el desprendimiento de  $H^+$  indica que las bases son los sitios de unión, la relación de combinación Hg:base es de 1:1 en la mayoría de los casos, el Hg aparentemente interacciona con las dos bandas de la hélice del DNA. La única banda del RNA del virus del mosaico del tabaco, da una relación 1:1. Debe ser tomado en cuenta que la relación de combinación es de 1:1 para oligonucleótidos de guanina (GpGpG). Los complejos son generalmente reversibles agregando acomplejadores del  $Hg^{++}$  ( $Cl^-$ , cianuro, EDTA, o tioles), de ahí que el DNA del neumococo después de la demercuración retiene toda su actividad, y el virus del mosaico del tabaco después de quitarle el  $Hg^{++}$  recupera su infectividad, estas observaciones indican que las configuraciones originales de los ácidos nucleicos pueden ser restablecidas a pesar de las marcadas modificaciones que ocurren durante la reacción con  $Hg^{++}$ .

TABLA 4

Constantes de disociación para varios Complejos Hexadricos.

Ligando	$pK_1$	$pK_2$	$p\beta_2$
<b>iones inorgánicos</b>			
$Cl^-$	6.74	6.48	13.22
$Br^-$	9.05	8.28	17.33
$I^-$	12.87	10.95	23.81
$OH^-$	10.3	11.4	21.7
$CN^-$	--	--	34.7
$SCN^-$	--	--	17.4
<i>Pirrogosfato</i>	--	--	17.45
<b>Compuestos Nitrogenados</b>			
<i>Metilamina</i>	8.6	9.3	17.9
<i>Trietilamina</i>	7.8	7.8	15.6
<i>1,2-Diaminopropano</i>	--	--	23.5
<i>1,2,3-Triaminopropano</i>	19.6	--	--
<i>Etilendiamina</i>	--	--	23.4
<i>Etanolamina</i>	8.5	8.8	17.3
<i>Dietanolamina</i>	7.8	7.8	15.6
<i>Trietanolamina</i>	6.9	6.2	13.1
<i>1,2'-Diaminodietilamina</i>	21.8	--	--
<i>Trietilentetramina</i>	25.3	--	--
<i>Amoníaco</i>	8.8	8.7	17.5
<i>piridina</i>	5.1	4.9	10.0
<i>Piperidina</i>	8.7	8.7	17.4
<i>imidazol</i>	--	--	16.7
<i>Etilendiamindiacetato</i>	9.75	6.05	15.8
<i>Etilendiamintetracetato</i>	22.1	--	--
<i>Hexametildiamintetracetato</i>	21.4	--	--
<b>Amino ácidos</b>			
<i>Glicina</i>	10.3	8.9	19.2
<i>Glicilglicina</i>	--	--	12.4

TABLA 4 (Continuación)

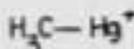
Ligando	$pK_1$	$pK_2$	$pB_2$
Alanina	--	--	18.4
Leucina	--	--	17.5
Prolina	--	--	20.5
Serina	--	--	17.5
Tirosina	--	--	17.1
Arginina	--	--	17.4
Histidina	--	--	21.2
Metionina	6.52	4.93	17.45
Etionina	7.25	5.92	13.17
Cisteína	14.21	--	--
S-Metilcisteína	7.20	5.81	13.01
<i>Purinas y pirimidinas</i>			
Adenina	--	--	11.4
Adenosina	--	--	8.5
Timina	--	--	21.2
Timidina	--	--	21.2
Citosina	--	--	10.9
<i>Varios</i>			
Acetato	4.0	--	--
Ciclohexeno	4.3	--	--
Penicilamina	16.15	--	--

### E) Mercuriales Orgánicos.

La mayoría de los mercuriales orgánicos se desarrollaron para la quimioterapia, desinfección y actividad diurética, y aunque algunas veces se han usado para trabajos de inhibición, los inhibidores mercuriales son por lo general moléculas simples. Estos compuestos actúan como iones que son los que eventualmente forman complejos con grupos SH u otros ligandos:



Ion fenilmercurico



Ion metilmercurico



Ion p-mercuribenzoato



Ion p-mercuriiphenilsulfonato

Se usan como cloruros, hidróxidos, nitratos o acetatos, pero una vez que se han adicionado al medio, los iones (como los representados) forman complejos con diferentes ligandos, como ocurre con el  $\text{Hg}^{++}$ .

Para mayor comprensión, usaremos las siguientes abreviaturas para estos compuestos:

Ion	Abreviatura
Fenilmercurico	PH
Metilmercurico	MH
p-Mercuribenzoato	p-MB
p-Mercuriiphenilsulfonato	p-MPS

A continuación se resumen las diferencias importantes entre los mercuriales orgánicos y el  $\text{HgCl}_2$ :

a) Funcionalidad: El  $\text{HgCl}_2$  es bifuncional en el senti-

do de que puede reaccionar con dos ligandos para formar complejos del tipo  $L-Hg-L$ , mientras que los mercuriales orgánicos son monofuncionales por lo que pueden reaccionar con sólo un ligando para dar  $R-Hg-L$ . El  $Hg^{++}$  puede formar también mercáptidos cíclicos con dos grupos SH adyacentes y los mercuriales orgánicos no. Estas diferencias son a menudo muy importantes en las reacciones con tioles y enzimas, y una de las principales razones para la preferencia de muchos investigadores por los mercuriales orgánicos, especialmente en la titulación cuantitativa de grupos SH, es su naturaleza monofuncional.

b) Solubilidad en agua. Los mercuriales orgánicos son menos solubles que el  $HgCl_2$ , y ocasionalmente esto crea un problema si se requieren altas concentraciones, a pesar de esto, en la mayoría de las titulaciones y estudios de inhibición la concentración que se requiere raras veces es arriba de 1 mM, y esto se consigue fácilmente en la mayoría de los casos. El cloruro de fenilmercurio es sólo soluble 0.16 mM en agua, pero aumenta al adicionar sales o grupos aniónicos. El ácido p-cloromercuribenzoico es poco soluble a pH neutral, de ahí que se requiera disolver en soluciones diluidas de KOH o NaOH.

c) Solubilidad en lípidos. Los alquil y arilmercuriales sin sustituir son más solubles que el ion  $Hg^{++}$  y sus complejos en lípidos. Hughes (1957) ha estimado que los alquilmercuriales simples son alrededor de 100 veces más solubles en lípidos que en agua. Esta propiedad muy probablemente hace que los mercuriales orgánicos penetren con mayor rapidez que el mercurio inorgánico dentro de las células y tejidos, y la evidencia a esto se demuestra en la toxicidad al sistema nervioso central por los mercuriales orgánicos. De acuerdo con esto si se desea máxima penetración es conveniente usar fenilmercuriales o alquilmercuriales sin sustituir, ya que los grupos  $COO^-$  y  $SO_3^-$  reducirán la permeabilidad.

d) Configuración. Aunque el  $HgCl_2$  es lineal, como lo demuestra el espectro Raman y la difracción de electrones, los mercuriales orgánicos, por alguna razón aparentemente no. Estu-

dios del momento dipolar, (por ejem. para cloruro de fenilmercurio  $\mu=2.99$ ) sugieren que el ángulo de las uniones C-Hg-X es de alrededor de  $130^\circ$  o más alto. El momento se dirige como sigue:  $R-Hg^+X^-$ .

e) Tamaño Molecular. Los mercuriales orgánicos, son por supuesto, de mayor tamaño que los complejos simples del  $Hg^{++}$ . Esto puede ser de importancia en la reacción con grupos SH de proteínas y enzimas, ya que los factores estéricos pueden impedir la aproximación del mercurial al grupo SH no expuesto a la superficie. Una reducción en volumen fue una de las razones para la introducción de alquilmercuriales por Hughes. En suma, la penetración dentro de las células dependerá en cierto grado del tamaño molecular.

f) Afinidades por ligandos. Los iones mercuriales orgánicos en solución tienden a formar complejos con varios ligandos de la misma manera que el ion  $Hg^{++}$ , formando complejos del tipo  $R-Hg-L$ . Las afinidades parecen ser algo menores para los iones mercuriales orgánicos que para el  $Hg^{++}$ , aunque muy poco ha sido estudiado. Simpson (1961) da las constantes de disociación para complejos de III (Tabla 5) y generalmente los pK son de alrededor de 1.3 unidades menores que para los complejos de  $Hg^{++}$ .

Una característica de los mercuriales orgánicos es la debilidad de la unión C-Hg, la energía de la cual es únicamente de 15-19 Kcal/mol, así es que el Hg inorgánico puede ser intercambiado rápidamente. La reacción es la siguiente:



ocurre rápidamente, la constante de velocidad es de 5.4 litros  $mol^{-1} seg^{-1}$  a  $25^\circ C$  con una energía de activación de 12 Kcal/mol, lo cual indica la inestabilidad de la unión C-Hg.

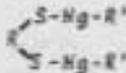
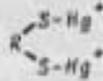
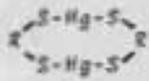
TABLA 5

Constantes de Disociación para Complejos con con el ion  
Hexametilencobáltico.

Ligando	pK
Cl <sup>-</sup>	5.45
Br <sup>-</sup>	6.7
I <sup>-</sup>	8.7
OH <sup>-</sup>	9.5
CN <sup>-</sup>	14.2
SCN <sup>-</sup>	6.2
Acetato	3.6
Fenolato	6.5
HEDTA <sup>3-</sup>	6.2
Amoníaco	8.4
Piridina	4.8
Imidazol	7.3
Histidina (grupo NH <sub>2</sub> )	8.8
Histidina (grupo imidazol)	6.4

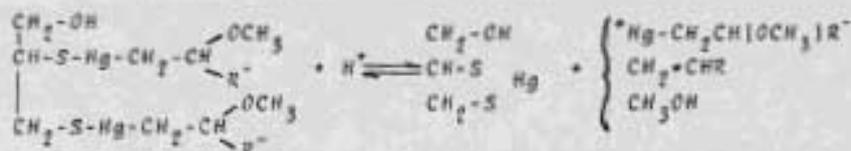
## F) Reacciones de los Mercuriales con grupos SH.

Los diferentes tipos de mercaptidos que pueden formarse se indican en la siguiente tabulación:

	Mercuriales Orgánicos monofuncionales $R^1-Hg^+$	Mercuriales Inorgánicos bifuncionales $Hg^{++}$
<b>Monotioles</b>		
$R-SH$	$R-S-Hg-R^1$	$R-S-Hg^+$ $R-S-Hg-S-R$
<b>Ditioles</b>		
		  
		$\{ -R-S-Hg-S- \}_n$

Los complejos formados bajo circunstancias particulares dependerán de las concentraciones relativas del tiol y del mercurial, la presencia de ligandos capaces de formar complejos con los mercuriales, el arreglo espacial de los grupos SH, el pH, y la naturaleza de los grupos R y R<sup>1</sup>. Mercuriales monofuncionales, tales como p-ME y PH, reaccionan con cisteína, glutatióna y L-mercaptoetanol en una relación molar de 1:1 para formar complejos del tipo R-S-Hg-R<sup>1</sup>. Las reacciones de los tioles son más complejas. El dimercaptido formado de PH y dimercaprol (BAL)

es insoluble, pero los grupos hidrofílicos que aparecen sobre el lado del mercurial del producto son generalmente solubles. La inestabilidad de la unión C-Hg puede dar lugar a otra reacción para formar el mercáptido cíclico, como ocurre con el mensalil:



donde  $\text{R} = -\text{CH}_2\text{CONH-}\psi\text{-OCH}_2\text{COO}^-$

Ha sido demostrado también que el difenilmercurio y glutatona reaccionan para formar GS-Hg-SG y fenilacetileno. Los mercuriales del tipo  $\text{R}_2\text{Hg}$  deberían esperarse no reaccionar con los grupos SH; pero a pesar de ello resulta ser muy tóxico. Webb y col. (1950) estudiaron sus reacciones y encontraron que, aunque la mayoría de los tioles no son atacados, reacciona como sigue:



Este tipo de rompimiento de la unión C-Hg ocurre a temperatura y pH fisiológico.

Los productos primarios de las reacciones entre  $\text{HgCl}_2$  y cisteína, glutatona, tioglicolato, y otros monotioles son los dimercáptidos del tipo  $\text{R-S-Hg-S-R}$ , y resulta difícil el estudio de la formación inicial de un mono-mercáptido  $\text{R-S-Hg}^+$ . Las reacciones entre  $\text{HgCl}_2$  y ditiolos son complejas y varios tipos de mercáptidos pueden ser formados, como se indica en la tabulación anterior. La presencia de mercáptidos cíclicos y polimermercáptidos lineales dependerá principalmente de la configuración espacial de los grupos SH.<sup>10</sup>

Regresando al problema de la estabilidad de los mercáptidos y la importancia de establecer las constantes de diso-

ciación para los complejos fundamentales formados con reacciones simples tenemos lo siguiente:



La tabla 6 muestra algunas constantes de disociación recientemente determinadas para  $Hg^{++}$  y  $HM$ . Si uno considera que  $pK_1$  y  $pK_2$  son similares en cuanto a magnitud, lo cual es razonable, se ha visto que  $pK_1$  se encuentra entre 10 y 11, con un valor promedio de 11.3. Este valor nos indica la afinidad entre los mercuriales y los tioles en ausencia de protones y ligandos que compitan. Comparando estos valores con los de las tablas 4 y 5 se muestra que la afinidad de los mercuriales por los grupos SH es mucho más grande que para cualquier otro ligando, y que una mezcla de tioles y varios otros ligandos complejantes, un mercurial se asocia predominantemente con los tioles. Las variaciones de  $pK$  con la temperatura y la ionización de grupos auxiliares se muestran en los estudios de Stricks y Kollhoff (tabla 7).

La protonación de un grupo amino sobre la cisteína o glutatona reduce algo de la afinidad del tiol por el  $Hg^{++}$ , mientras que la ionización de los grupos carboxílicos del tioglicolato tiene poco efecto. Con las constantes de la tabla 7 es posible predecir las concentraciones relativas de las diferentes especies presentes.

Es importante tomar en cuenta el efecto del pH sobre la formación del mercáptido y particularmente considerar las reacciones con el grupo SH y el grupo ionizado  $S^-$ . Considerando los dos siguientes equilibrios:

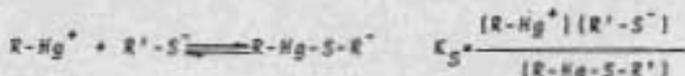


TABLA 6

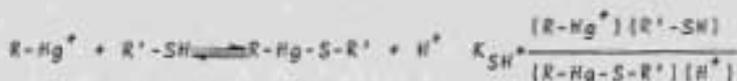
Algunas Constantes de Disociación para Mercaptidos Simples.

Mercúrial <sup>o</sup>	Tiol	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>
Hg <sup>++</sup>	Cisteína <sup>-</sup>	10.1	43.57
	Glutamina <sup>-</sup>	--	41.58
	Tioglicolato <sup>-</sup>	--	43.82
Metil-Hg <sup>+</sup>	Cisteína <sup>-</sup>	15.7	--
	Seroalbúmina humana	22.6	--
	Seroalbúmina bovina	22.6	--
	HbO <sub>2</sub> bovina	22.1	--
	HbCO bovina	22.6	--

TABLA 7

Constantes de Disociación para Mercaptidos con Hg<sup>++</sup>. Ilustrando los efectos de pH y Temperatura.

Constante	Cisteína		Glutamina		Tioglicolato	
	12°	25°	12°	25°	12°	25°
pK <sub>1</sub>	41.82	40.25	42.29	40.96	45.66	44.31
pK <sub>2</sub>	45.21	43.60	43.54	41.92	45.85	44.33
pK <sub>3</sub>	45.40	43.57	43.47	41.58	45.52	43.82
pK <sub>e</sub>	7.39	7.10	7.97	7.85	---	---
pK <sub>f</sub>	10.72	10.41	9.28	9.15	---	---



y la ionización del SH (por ejem.  $K_a = [H^+][R'-S^-]/[R'-SH]$ ) es fácil demostrar que:

$$pK_S = pK_{SH} + pK_a$$

El  $pK_a$  para los grupos SH varía de 7 a 10 (valor promedio 8.7). En cualquier caso  $pK_S$  y  $pK_{SH}$  difieren marcadamente. Esto es, por supuesto, esencialmente una competencia entre los iones  $H^+$  y el mercurial por el grupo  $S^-$ . A un pH fisiológico, el grupo SH predominará sobre  $S^-$ , y aparentemente el  $pK$  para la disociación del mercáptido será más pequeña que las dadas en las tablas 6 y 7.

Generalmente se considera que los mercuriales no reaccionan con las uniones disulfuro (S-S), y hay suficientes evidencias de que esto es verdad para muchas proteínas y enzimas en condiciones fisiológicas. Aún así Cunningham y col. (1957) han demostrado que el p-HB cataliza el rompimiento de las uniones S-S en cistina, insulina y ribonucleasa a pH 7 si la incubación se realiza a 80°C.

Ciertos cofactores metabólicos importantes, tales como la coenzima A y el ácido lipoico, son tioles, y es de interés saber si los mercuriales reaccionan rápidamente con ellos. Pero pocos estudios se han hecho al respecto; Galaton y col (1955) encontraron que el p-HB incrementa el rendimiento de la peroxidasa, catalasa y tirosinasa en extracto de planta cuando se agrega al medio de preparación; ya que la coenzima A inactiva estas enzimas, se propone que el p-HB protege a las enzimas por formar un mercáptido con la coenzima A. En ratas deficientes de CoA, la toxicidad de los mercuriales aumenta e inhiben la acetilación dependiente de la CoA de la sulfanilamida. Volviendo al ácido lipoico (DL-lipoato), se encuentra que su administración previene la intoxicación de mercuriales en el ratón, y que reduce la inhibición de la piruvato oxidasa por  $HgCl_2$  a altas concentraciones.

Es interesante que con más bajas concentraciones de  $\text{HgCl}_2$  (1.3mM), el lipato incrementa la inhibición de la oxidación del piruvato en células intactas de *Streptococcus faecalis*, el mercáptido posiblemente entra a las células más rápidamente que los complejos del  $\text{Hg}^{++}$ .

Considerando ahora el rompimiento de los tioésteres por mercuriales, Sachs (1921) mostró que los acetiltioésteres son rápidamente rotos por el  $\text{HgCl}_2$  a acetato y mercurioetanol y en general todos los acilmercaptanos parecen comportarse en esta forma. Entonces Lynex y col. (1951) en sus primeros estudios sobre el acetato activo y la coenzima A investigaron la acetilCoA y encontraron que se producía rompimiento de la molécula por aproximadamente 100 mM de acetato de Hg, resultado de gran importancia desde el punto de vista fisiológico, Stern (1956) estudió la acetoacetilCoA, un tioéster de importancia en el metabolismo de lípidos, y que posee una fuerte absorción máxima alrededor de 303  $\mu\mu$ , y encontró que el  $\text{HgCl}_2$  en concentraciones más altas que 0.001 mM produce un rápido descenso en su absorción, 0.1-0.2 mM completamente la anula, esto corresponde a un radio molar de 1:1 entre el Hg y el tioéster. Se sugiere la siguiente secuencia de reacciones:



La reacción inicial es aparentemente con el grupo enol del radical acetoacetil, Stern cree que esta reacción ocurre a baja concentración de  $\text{Hg}^{++}$  y tan rápidamente que puede ser de gran importancia en los efectos de los mercuriales sobre el metabolismo. En contraste, Gibson y col (1954) reportaron que el p-HB no reacciona ni rompe el succinilCoA a una velocidad significativa, y Sanner y Phil (1962) encontraron una variedad de tioésteres que

son resistentes al p-HB (por ejem. acetilCoA, succinilCoA, y benzilCoA). De este limitado trabajo se debería concluir que el Hg Cl<sub>2</sub> puede romper algunos tioésteres y que el p-HB no. Pero Vagelos *et al* (1959) encontraron que, en contraste con la mayoría de los tioésteres, malonil semialdehidopantoteína reacciona rápidamente con p-HB y proponen que los β-carbonil tioésteres pueden ser susceptibles. El posible rol de estas reacciones en inhibiciones metabólicas es en el presente desconocido.

#### ANÁLISIS DEL MERCURIO.

Existen varias técnicas para la determinación de mercurio en donde el tipo de análisis y la forma del método que se utilice dependerá en gran parte de la clase de muestra que se desea analizar ya sea en aguas, tierra, aire o en alguna muestra biológica.

Se puede determinar en una muestra según lo que se quiera analizar ya sea el mercurio total inorgánico y orgánico o bien cada uno por separado, hay también técnicas para determinar los compuestos organomercuriales que separan e identifican sólo el compuesto que se desea, como en algunos casos que se requiere saber de la existencia de algún compuesto muy tóxico, como puede ser el caso de la determinación de metilmercurio. Pero la mayoría de los métodos analizan el mercurio total de la muestra.

Es importante tomar en cuenta para efectuar un análisis muchos factores, como pueden ser, el tiempo requerido, el costo, la exactitud y sensibilidad del método que se desea utilizar o bien la disponibilidad de los materiales y reactivos que se empleen en dicho análisis.

La mayoría de los métodos requieren de una preparación de la muestra, con el objeto de dejar libre al mercurio de sus uniones con azufre y carbón en las moléculas orgánicas.

Esta materia orgánica puede ser destruida a través de dos formas: una que es por vía húmeda que se realiza en un medio

fuertemente ácido, para lo cual se puede utilizar el ácido sulfúrico, el ácido nítrico, el ácido perclórico o bien mezclas de estos en diferentes proporciones, además se utilizan agentes oxidantes tales como el peróxido de hidrógeno o bien el permanganato de potasio. La otra forma de destrucción de la materia orgánica es por vía seca, que consiste en quemar la muestra en una atmósfera de oxígeno, esto se puede llevar a cabo en un sistema cerrado para lo cual existe un matraz especial llamado de Schoniger o bien puede quemarse la materia orgánica en una corriente de oxígeno.

Se debe tener mucha precaución en ambos casos para no tener pérdidas de mercurio debidas a su alta volatilidad.

Entre los métodos más utilizados para el análisis de mercurio se tienen: gravimétricos (precipitación, amalgamación, electrolisis), volumétricos (método Seaman), colorimétricos (método de la ditizona) e instrumentales (absorción atómica, rayos X, ultravioleta, radioquímicos y activación de neutrones).

Determinación de Mercurio por precipitación con Sulfuro de Amonio.

El elemento es precipitado con sulfuro de amonio, como sulfuro de mercurio, el precipitado es disuelto en hidróxido de sodio y nuevamente precipitado con nitrato de amonio como sulfuro de mercurio. La solución, si está ácida, se neutraliza con carbonato de sodio, y se le agrega sulfuro de amonio e hidróxido de sodio hasta que por ebullición del líquido, éste aparezca completamente claro. A continuación se trata la solución con nitrato de amonio y se calienta hasta que no se perciba olor a amoníaco. En estas condiciones se toma el sulfuro de mercurio, el cual se filtra y se lava. Si el precipitado tiene azufre como impureza, puede lavarse éste con sulfuro de carbono. Al tratar la solución que contiene mercurio con sulfuro de amonio y con hidróxido de sodio, se forma  $HgS_2Na_2$ .

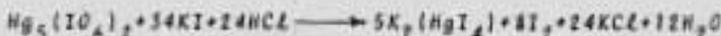
da a la pared del Gooch, se lave tres o cuatro veces con porciones de eten anhidro. El precipitado se seca en una bomba por 10 min, [o a peso constante] en un desecador al vacío. Se pesa como  $[Cuen_2][HgI_4]$ .

#### ✓ Determinación de Mercurio por el Método del Periodato.

El mercurio puede determinarse por precipitación con periodato de sodio como para-periodato de mercurio:  $Hg_5[IO_6]_2$ ; cantidades moderadas de cobre, cadmio, aluminio, níquel, zinc, calcio y magnesio no interfieren, pero el fierro debe estar ausente, ya que se precipita como periodato férrico. Cloruros y otros haluros deben de estar ausentes porque previenen la precipitación completa del mercurio. La acidez máxima posible es 0.15 N de ácido nítrico o 0.1 N de ácido sulfúrico, y bajo estas condiciones se requiere de un gran exceso de periodato.

Para realizar esta determinación se disuelve el derivado mercurico en ácido nítrico o sulfúrico 0.1 N, calentar a ebullición, y añadir lentamente y con agitación constante una solución de periodato de sodio o de potasio en 50 ml de agua. Se enfría y se colecta el precipitado en un Gooch, se lava con agua caliente, y se seca a 100°C a peso constante. Se pesa como  $Hg_5[IO_6]_2$ .

Para determinarse volumétricamente: se transfiere el precipitado a un matraz y se le agrega una solución de yoduro de potasio, se agita hasta que el periodato se disuelva. Se acidifica con ácido clorhídrico 1N y se titula el iodo liberado con tiosulfato de sodio [almidón como indicador]:



#### ✓ Determinación de Mercurio por el Método de Amalgamación.

Este método para determinar mercurio en minerales está basado en la destilación del metal del material seco, reduciendo el material si es necesario con limaduras de hierro, colectando

el metal en una lámina de oro o plata, se utiliza para esto el aparato de Whitton. Cantidades no mayores de 0.1 gr de mercurio deben de estar presentes en el material por analizar. La muestra se pesa y se coloca en un crisol y se le agregan 5-10 gr de limaduras de hierro. La hoja de plata se pesa y se coloca entre el crisol y el refrigerante. El crisol se calienta gradualmente con una pequeña flama teniendo cuidado de no sobrecalentar, durante 30 minutos. Se seca la placa, se sumerge en alcohol, posteriormente se seca en un desecador. El incremento de peso de la lámina es debido al mercurio metálico.

#### Determinación de Mercurio por Electrólisis.

El mercurio se deposita rápidamente como metal en soluciones ligeramente ácidas de sus sales. La solución neutra o ligeramente ácida de sales de  $Hg(I)$  &  $(II)$ , se diluyen con agua y 3 ml de  $HNO_3$ . La solución es electrolizada con una corriente de 0.5 a 0.1 ampere y una e.f.m. de 3.5 a 5 volts. Se puede utilizar un cátodo de platino. Un gramo de mercurio se deposita en 15 horas. El metal se lava con agua y alcohol, y el cátodo se coloca en un desecador para poderlo pesar posteriormente. El incremento en peso del cátodo, se debe al mercurio metálico.

#### Método de Seamons para determinar Mercurio.

La muestra se disuelve en ácido, con posterior neutralización utilizando hidróxido de amonio, posterior acidificación con ácido nítrico y titulación con solución de yoduro de potasio, utilizando como indicador una solución de almidón.

#### Determinación de Mercurio por el Método de la Dilitona.

La base de este método es la formación de color naranja o amarillo de los compuestos de  $Hg(II)$  con dilitona a pH

1-2. El complejo formado es insoluble en agua, soluble en tetracloruro de carbono y cloroformo. Concentraciones moderadas de cloruros interfieren, por lo que se emplea ácido sulfúrico para acidificar. Materia orgánica interfiere y debe ser eliminada.

#### Determinación de Mercurio por Métodos Instrumentales.

Se han empleado muchas técnicas instrumentales para la determinación de bajas concentraciones de mercurio, entre ellas: absorción atómica, rayos X, ultravioleta, activación de neutrones e intercambio de isótopos radioquímicos. Un método muy utilizado en absorción atómica consiste en la digestión de la muestra con oxidantes ( $H_2O_2$  y  $KMnO_4$ ), adición de una solución de cloruro de sodio-hidroxilamina, para reducir cualquier exceso de oxidante el cual mantiene el mercurio como  $Hg(II)$ , siguiendo con la medición de la concentración a 2537 Å.

También existen las técnicas usando radioisótopos, practicada en orina y en homogenados biológicos, para esta técnica no se requiere la digestión de la muestra, sin embargo los compuestos organomercuriales no son detectados mediante esta técnica y esto constituye la gran desventaja para el método.

Por otra parte tenemos las técnicas cromatográficas usadas en la separación e identificación de compuestos organomercuriales, las más usadas son las de capa fina, papel y la de gas-líquido, cada una requiere de una preparación de la muestra, efectuándose una extracción con solventes adecuados.

Estas técnicas son de suma importancia ya que los compuestos organomercuriales son sumamente tóxicos, en especial los compuestos del metilmercurio, aún más que los correspondientes a compuestos del fenilmercurio. En estudios realizados en Suecia, por análisis cromatográficos, en peces de aguas dulces, se encontró que el 91% del contenido total de mercurio era en la forma de compuestos derivados del metilmercurio y en peces marinos el porcentaje de este mismo tipo de compuestos era de 81% del contenido total de mercurio.

## USOS DEL MERCURIO.

Se dice que el mercurio es el metal de mil usos, y tiene: a) Usos permanentes en los que el metal es de uso continuo sin pérdida, b) Usos con desperdicio, en los que el metal tiene pérdidas por fugas, absorción o pérdidas químicas, c) Usos efímeros en los cuales el metal se pierde completamente. Todos los usos del mercurio se derivan del metal y no del mineral.

Mercurio consumido en Estados Unidos en 1968 (Frascos de 76 lb):

Preparaciones electrolíticas	10,987
Aparatos eléctricos	9,277
Otros	5,829
Bidestilado	5,203
Pinturas Antiincrustantes	4,414
Agricultura	3,069
Caldría	2,077
Industrial	1,067
Farmacéutico	1,479
Laboratorios	837
Preparaciones dentales	803
Papel	334
Amalgamación	310

En agricultura.- El mercurio se utiliza para la fabricación de fungicidas líquidos para frutas. Los compuestos de fenilmercurio son usados como fungicidas y bactericidas en la industria textil. Las sales de alquimercurio se utilizan como fungicidas para semillas, algodón, avena y sorgo.

En amalgamas.- Con excepción del hierro, todos los demás metales pueden ser amalgamados con mercurio. Amalgamas de sodio y potasio son utilizadas como agentes reductores. El mercurio se utiliza como cátodo en celdas electrolíticas para la obtención de cloro e hidróxido de sodio.

**En catalizadores.**- Los cloruros, óxidos, sulfatos, acetatos y fosfatos de mercurio son buenos catalizadores para muchas reacciones químicas.

**En aparatos eléctricos.**- En donde se utiliza principalmente por su estabilidad, fluidez, alta gravedad específica y conductividad eléctrica que son únicas. El mercurio se utiliza en lámparas de mercurio de baja presión o fluorescentes y de alta presión usadas en alumbrado público. Estas lámparas son también utilizadas en fotocopiado, proyección de películas, fotografía y esterilización de agua. El mercurio también se utiliza en osciloscopios, contactos, computadoras, etc.

**En usos varios.**- El mercurio se utiliza principalmente en termómetros y barómetros.

**En compuestos orgánicos e inorgánicos.**- El uso del mercurio es el que sigue en importancia después del magnesio. Tiene usos considerables en medicamentos y antisépticos:

Acetato de Mercurio(I)	$Hg_2(C_2H_3O_2)_2$	Reactivo
Acetato de Mercurio(II)	$Hg(C_2H_3O_2)_2$	Reactivo
Bromuro de Mercurio(II)	$HgBr_2$	Medicina
Carbonato de Mercurio(I)	$Hg_2CO_3$	Inestable
Cianuro de Mercurio(II)	$HgCN_2$	Antiséptico
Cloruro de Mercurio(I)	$HgCl$	Antiséptico
Cloruro de Mercurio(II)	$HgCl_2$	Antiséptico
Cloruro Mercuriamónico	$C_2H_5NH_2$	Antiséptico
Cloruro de Fenilmercurio(II)	$C_6H_5HgCl_2$	Fungicida
Formiato de Mercurio(I)	$Hg_2(CHO_2)_2$	Inestable
Fulminato de Mercurio(II)	$Hg(ONC)_2$	Explosivo
Nitrato de Mercurio(I)	$Hg_2(NO_3)_2$	Reactivo
Nitrato de Mercurio(II)	$HgNO_3$	Reactivo
Oxicianuro de Mercurio	$Hg(CN)_2 \cdot HgO$	Explosivo
Oleato de Mercurio(II)	$Hg(C_{18}H_{33}O_2)_2$	Antiséptico
Oxido de Mercurio(II)	$HgO$	Pintura, reactivo
Sulfato de Mercurio(I)	$Hg_2SO_4$	Pilas
Sulfato de Mercurio(II)	$HgSO_4$	Catalizador

Sulfuro de Mercurio(I)	$Hg_2S$	
Sulfuro de Mercurio(II)	$HgS$	Pigmentos
Salicilato de Mercurio(II)	$C_7H_4HgO_3$	Antisifilítico
Yoduro de Mercurio(II)	$HgI_2$	Medicina, reactivo

En medicina.- Aparte de los antisépticos ya mencionados, son de gran importancia los diuréticos. Estos compuestos son todos (hidroxímercuri)metoxi-n-propil) amidas de ácidos dibásicos y pueden ser representados por la fórmula  $HOOCXCONHCH_2CH(OCH_3)-CH_2-HgOH$ , en la cual X es un radical bivalente, como  $-CH_2-CH_2-$ . Se venden generalmente en combinación con teofilina, que acelera la movilización del mercurial desde el punto de inyección, disminuye la toxicidad local en los tejidos y acelera la excreción de mercurio.

De interés especial son tres diuréticos de mercurio relativamente nuevos: el mercaptomerín (tiomerín), el mercumatilín (cumentilín) y la mergadona (merdroxona). El primero de estos compuestos difiere de la mercurofilina en que el mercurial está asociado al ácido tioglicólico en lugar de la teofilina. El mercumatilín es el primer compuesto de mercurio no derivado de la alilamina usado con éxito como diurético. La mergadona es un derivado mercurico de la N-alil-2 piridona, por consiguiente, puede considerarse como una amida cíclica sustituida.

## EFECTOS DE LOS MERCURIALES A NIVEL BIOQUÍMICO.

## REACCIONES CON PROTEÍNAS.

Antiguamente se creía que el mercurio, al igual que otros metales pesados, se absorbía sobre las proteínas, desnaturalizándolas y precipitándolas, pero estudios recientes muestran que existe la combinación del mercurio con las proteínas, y la desnaturalización y precipitación no implican un fenómeno general. Estos complejos se forman, en la mayoría de las veces por medio de los grupos SH de las proteínas. La importancia de los complejos de mercurio con proteínas radica en que aquellos sistemas que contienen proteínas no enzimáticas, particularmente preparaciones celulares, la reacción con el mercurio puede tener efectos definitivos en la inhibición enzimática, y pueden ser responsables, en parte, de cambios metabólicos y funcionales.

*(Grupos Proteicos que reaccionan con Mercuriales.)*

Los mercuriales reaccionan rápidamente con ciertos grupos SH libres y expuestos de las proteínas, más lentamente con otros, y con sólo algunos que se encuentran embebidos en la estructura de la proteína o que tienen impedimento estérico. Muchos grupos SH reaccionan únicamente después de la desnaturalización de la proteína, ya que así se exponen al ataque de los mercuriales. Como los mercuriales a menudo inician la desnaturalización pueden estar produciendo la progresiva pérdida de la estructura de la proteína haciendo viables varios grupos SH que originalmente no reaccionaban, el proceso continúa hasta que se hace irreversible, y la restauración de la configuración normal no es posible cuando se quita el mercurial.

El examen de las constantes para el acomplejamiento de mercuriales con grupos SH y con grupos normalmente presentes en las proteínas, conduce a la inmediata conclusión de que ningún grupo puede competir efectivamente con los grupos SH de las proteínas.

Sin embargo existen tres factores que hay que tomar en consideración: 1) Ciertos arreglos fortuitos de dos o más grupos no SH quizás produzcan el acomplejamiento del mercurial, pudiéndose incrementar la afinidad marcadamente (Tabla 4); 2) La mayoría de los grupos SH reactivos o grupos de una proteína en particular, no poseen una fuerte afinidad por el mercurial, debido a factores estéricos o a desfavorable campo eléctrico, por lo que los grupos no SH pueden competir más efectivamente; 3) Como apunta Hughes [1950], los mercuriales acomplejarán con grupos no SH, cuando los grupos SH se hayan saturado o antes en algunos casos; como el exceso de mercurial está a menudo presente, especialmente en estudios enzimáticos, tales complejos secundarios se pueden tomar en cuenta, aún cuando los grupos SH hayan reaccionado primero.

#### Ejemplos de Reacciones con Proteínas Específicas.

a) Ovoalbúmina. Poco trabajo se ha hecho al respecto Anson [1941], cuando un método indirecto que involucra la unión de p-NB a cisteína en presencia de ovoalbúmina, propone que si el p-NB no reacciona con todos los grupos SH de la ovoalbúmina o, si es así, la unión es mucho menos fuerte que a la cisteína. Si la ovoalbúmina se desnaturaliza, se demuestra que sí ocurre la unión del mercurial. Tres de los cuatro grupos SH de la ovoalbúmina reaccionan y el cuarto reacciona únicamente después de la desnaturalización. El complejo es muy estable y no se disocia ni con cisteína y diálisis prolongada. Si graficamos la cantidad de mercurial combinado, se pueden obtener diferentes curvas (fig. 3). Si las reacciones con los grupos SH libres son equivalentes una relación lineal de saturación se obtendrá (curva A y B), pero si ocurre interacción entre los grupos SH (por ejem. si la unión de un mercurial reduce la del siguiente) o los grupos SH se combinan con diferentes afinidades se obtiene una curva cuya tendencia es a la concavidad (curva C). Si no existen más reacciones con grupos proteícos después de la saturación con los grupos SH, la curva será más horizontal (curva A), pero si otros

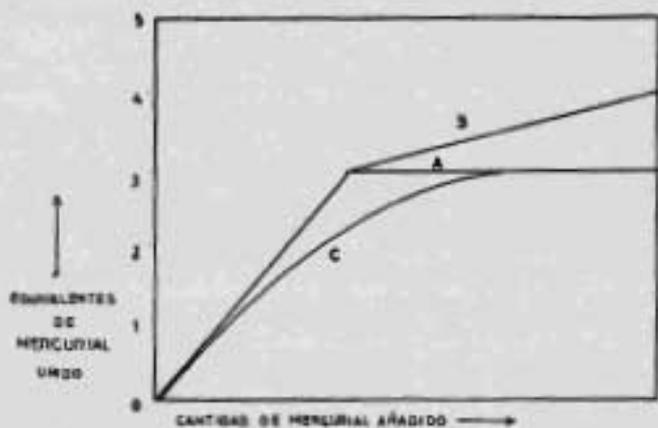


FIG. 3. CURVAS TEÓRICAS PARA LA REACCIÓN DE UN MERCURIO CON UNA PROTEÍNA CON TRES GRUPOS SH RELATIVOS.

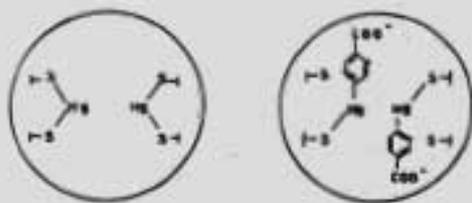


FIG. 4. LAS REACCIÓNES DE LOS PARES DE GRUPOS SH SOBRE LA HEMOGLOBINA CON  $Hg^{2+}$  Y  $Hg^{+}$ .

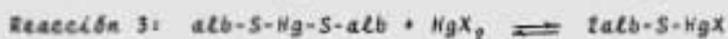
grupos con mayor afinidad al mercurial continúan reaccionando se obtiene una línea recta (curva B).

B) Hemoglobina. La oxihemoglobina humana cristalizada reacciona con dos moles por mol de NH pero la velocidad es muy lenta a pH 7.5. Ingram (1955) estableció que el  $Hg^{++}$ , NH, y p-HB se combinan rápidamente con 4 grupos SH de la hemoglobina de caballo en estado nativo, y con seis en forma desnaturalizada; las hemoglobinas humana y de res son similares pero la humana presenta ocho grupos SH cuando se desnaturaliza. En la hemoglobina nativa, el  $Hg^{++}$  posiblemente reacciona con dos grupos SH simultáneamente, al menos dos equivalentes de  $Hg^{++}$  reducen los grupos SH libres a cero. Al igual que el p-HB bloquea dos grupos SH y como la reacción de una molécula de p-HB con dos grupos SH es imposible, es probable que un par de grupos SH están tan cerca que cada grupo no puede reaccionar con un mercurial voluminoso. Es difícil decir en el caso de  $Hg^{++}$  si el efecto es estérico o debido a la formación de un puente entre los dos grupos SH en un par. Esta situación se presenta en la figura 4.

La reacción de la hemoglobina con mercuriales produce notables cambios en las características de oxigenación: la afinidad de la hemoglobina por el  $O_2$  puede permanecer inalterable o aumentada, pero las interacciones entre los grupos heme se reducen o son abolidas por todos los mercuriales. El mersalil y el  $Hg^{++}$  a pH 6.8 incrementan la afinidad por el  $O_2$  marcadamente, pero el p-HB y NH no alteran la afinidad. Es interesante que los efectos máximos son producidos por relaciones por dos moles de mercurial por una mol de hemoglobina; sin embargo cuando la cantidad de mersalil se incrementa, los cambios en la interacción del heme y la afinidad de  $O_2$  progresivamente desaparecen, así la relación de 15-16 moles de mercurial por mol de hemoglobina no producen gran efecto. Esta curiosa contradicción se encuentra sin explicación. La mercuriación de la oxihemoglobina incrementa las constantes de velocidad para la disociación del  $O_2$  de tres de los hemes, pero decrece la constante de velocidad para la disociación del último  $O_2$ . Riggs (1959) considera que la mo-

Elcúla de hemoglobina consiste de dos mitades, cada una con un par de grupos SH reactivos y un par de hemes, los grupos SH probablemente entre los hemes. Cualquier mercurial que pueda formar un puente entre los dos grupos SH de un par incrementa la afinidad de los hemes por el  $O_2$ , mientras que los mercuriales que reaccionan con un sólo grupo SH no tiene este efecto. Cualquier interacción con los grupos SH reduce la interacción entre los hemes, probablemente por producir cambios estructurales reversibles en la configuración de la proteína.

C) Merceptoalbúmina. La merceptoalbúmina es una fracción de la albúmina del suero conteniendo un sólo grupo SH, mientras que las otras albúminas no contienen ninguno. Las tres principales reacciones son las que siguen:



donde alb indica la merceptoalbúmina y X algún ligando (por ejem.  $\text{Cl}^-$ ). La primera reacción es la formación del mercáptido, la segunda dimerización, y la tercera disociación del dímero por exceso de  $\text{HgX}_2$ . La formación del dímero incrementa la turbidez y, si algo de etanol se adiciona se forman cristales. Estudios de viscosidad y sedimentación conducen a la representación del dímero como en A de la fig. 5, mientras que los estudios de difracción de rayos X son compatibles con la estructura B.

La reacción 1 es bastante rápida, pero la reacción 2 es lenta porque involucra dos moléculas grandes de carga similar. La dimerización requiere de cerca de 25 min. para la mitad de la reacción y dos horas para el equilibrio cuando el  $\text{Hg}^{++}$  se ha mezclado con la merceptoalbúmina en una relación de 0.5 a 1. La dimerización es reversible por medio de la reacción 3 (fig. 6) el  $\text{Hg}^{++}$  compete con la merceptoalbúmina para el monómero alb-S-Hg.

Los mercuriales orgánicos tales como p-MB, PH y MH reaccionan en una relación de 1 a 1 con la merceptoalbúmina y, por supuesto, no se forma el dímero. La constante de equilibrio

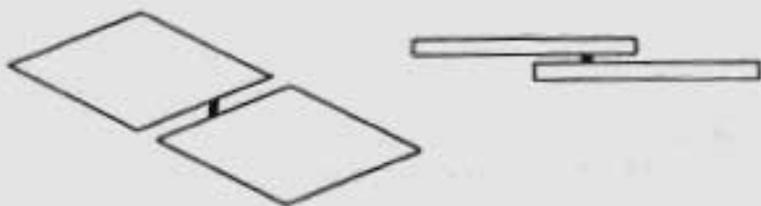


FIG 5 FORMAS POSIBLES DE EL DÍMERO HOMOCAPTALCISTEÍNA, LA MANERA NUESTRA REPRESENTA  $H_2^{++}$

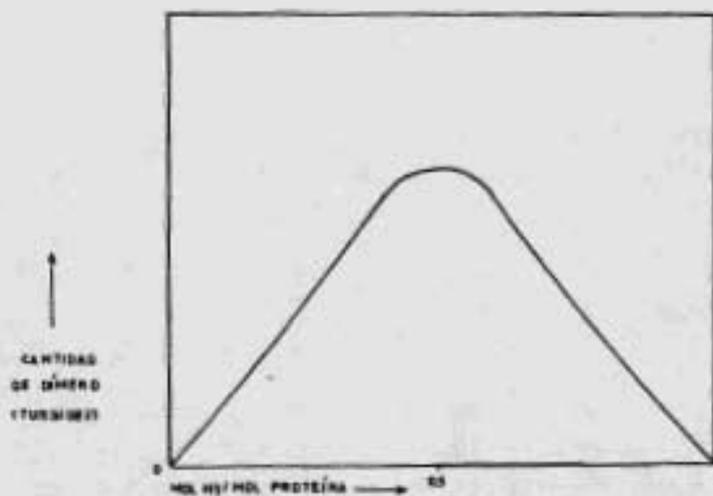
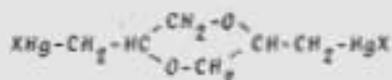


FIG 6 LA FORMACIÓN Y DISOCIACIÓN DEL DÍMERO  $H_2$  MERCAPTALCISTEÍNA CONFORME SE INCREMENTA LA RELACIÓN MOLAR DE  $H_2$  A PROTEÍNA

para la reacción:



fue encontrada por Hughes (1950), siendo  $3,5 \times 10^{-5}$  [pK=4.46]. Por otro lado, los mercuriales orgánicos bifuncionales, tales como:



puede unir dos moléculas de mercaptoalbúmina juntas.

La importancia de estos resultados con la mercaptoalbúmina para estudios de inhibición con mercuriales es clara. Primero, la posibilidad de dimerización de ciertas enzimas con  $\text{Hg}^{++}$  conduce al concepto de que la inhibición puede ocasionar secuestro estérico de los sitios activos y no necesariamente por la reacción de los grupos SH en los sitios activos. Es también posible que la oclusión de los sitios activos se debiera a un "cruzamiento" de una proteína noenzimática a la proteína por medio de un puente con Hg. Segundo, este sistema proporciona un modelo en el cual los efectos de ligandos, pH, temperatura y otros factores pueden ser mejor apreciados. Tercero, representa un claro ejemplo en el cual los mercuriales reaccionan específicamente con grupos SH de proteínas, ya que no hay evidencia de que otros grupos estén involucrados en la mercuriación de la mercaptoalbúmina. Y por último, es significativo en el uso de mercuriales en animales intactos que el suero contiene suficiente mercaptoalbúmina que une la mayoría sino todo, el mercurial presente factor a considerar en la penetración, distribución, y acciones de los mercuriales en animales.

#### Efecto del pH.

Basándonos únicamente en la ionización del grupo SH, uno podría predecir que los mercuriales reaccionarían más rápidamente y más completamente a pH más altos. Ya los siguientes factores, sumados a la ionización de grupos SH, deben ser considerados: 1) El pH puede variar el número de grupos SH reactivos o

su reactividad individual, por efectos sobre la estructura de la proteína o por la asociación de subunidades. 1) El pH determinará la carga sobre la proteína (por ejem. con un aumento del pH la proteína se hará más negativa y posiblemente repela mercuriales cargados negativamente, tales como p-Hg, p-HgS o complejos superiores del  $\text{Cl}^-$  con  $\text{Hg}^{++}$ ). 2) El aumento en el pH incrementará las concentraciones de  $\text{OH}^-$  y éste competirá por los grupos SH con el mercurial. 3) El pH puede determinar el grado de unión del hidrógeno de los grupos SH y entonces su reactividad con los mercuriales. La dependencia del pH será de acuerdo al mercurial usado.

Un efecto final del pH involucra la dimerización donde ella ocurre. La velocidad y el grado de dimerización en presencia de  $\text{Hg}^{++}$  dependerá de la carga total de la proteína, siendo máxima en el punto isoeléctrico.

Efectos de los Mercuriales sobre la estructura y las propiedades de las proteínas.

A muy altas concentraciones de  $\text{Hg}^{++}$  y de la mayoría de los mercuriales orgánicos decrece la solubilidad de las proteínas, y pueden precipitarlas o coagularlas. Lo que induce a conceptuar a los mercuriales como agentes desnaturizantes. Sin embargo, el efecto primario es raramente la desnaturización (en el sentido de la ruptura de la estructura de una cadena polipeptídica), y el que se alteren las propiedades de la proteína está más directamente relacionado con la modificación de grupos laterales de la cadena y la introducción de nuevos grupos. El contacto prolongado de las proteínas con mercuriales ocasionalmente conduce a la desnaturización verdadera como una reacción secundaria, pero la completa reversibilidad puede generalmente ser obtenida quitando el mercurial; esto indica que si ocurre el cambio estructural es probablemente localizado, y la configuración normal se restablece.

En vista de la importancia de los cambios configuracionales con la inhibición enzimática se resumen algunos de los

posibles mecanismos por los cuales se producen tales efectos: 1) En aquellos casos en los cuales existe equilibrio entre grupos SH y S-S, o donde hay una oxidación y reducción cíclica, y los cuales en que las uniones S-S contribuyen a la estabilidad de una configuración local, la formación del mercáptido puede perder la estructura, 2) los grupos SH por sí mismos pueden contribuir a la estabilidad, así que la mercuración puede otra vez aumentar la disolución de la estructura nativa, 3) La introducción de un grupo cargado (p-HB o p-MPS) alterará el campo eléctrico local, y puede favorecer la inestabilidad, 4) El  $Hg^{++}$  y los mercuriales orgánicos, los cuales se disocian para formar  $Hg^{++}$ , pueden unirse a dos grupos simultáneamente y distorsionar la configuración proteica. 5) La reacción de mercuriales con grupos no SH, esencialmente grupos que contengan N u O, pueden reducir el hidrógeno produciendo unión entre cadenas polipeptídicas. No es necesario que la afinidad de estos grupos sea especialmente alta, y hay evidencia indirecta que es a menudo el exceso de mercurial arriba del requerido para saturar los grupos SH, el cual es responsable de la denaturalización. Las proteínas no son estructuras rígidas sino que a menudo exhiben un cierto grado de flexibilidad, de ahí que una modificación reversible de su estructura se puede inducir fácilmente.

#### Estimación y Titulación de Grupos SH de Proteínas con Mercuriales.

Muchos métodos han sido utilizados para determinar grupos SH usando nitroprusiato, ferricianuro, iodo y otros reactivos, pero sin especificidad y siendo laboriosos. Leach (1960) establece los requerimientos para un reactivo ideal de grupos SH: deberá: 1) Ser específico para grupos SH, 2) Ser altamente reactivo, 3) Tener pequeño tamaño molecular, 4) Ser preferentemente monofuncional, 5) Estar ausentes de carga y otros grupos reactivos para que todos los grupos SH sean igualmente favorecidos independientemente de sus diferentes medios, 6) Ser solubles, estables, y reactivos dentro de un cierto rango de pH, y 7) Mostrar pasos bien definidos de reducción para uso amperométrico.

único. El  $\text{NH}_2$  llena la mayoría de estos criterios y sin embargo ha sido muy poco usado en trabajo enzimático.

El método más comúnmente usado en la actualidad es la titulación espectrofotométrica con p-NB desarrollada por Boyer (1954). A continuación se presentan algunos detalles, precauciones y dificultades.

1) El único mercurial que puede ser usado es el p-NB, y su reacción con los grupos SH conduce a un incremento en la absorbancia a 250 m $\mu$  a pH 7 (fig 7). Pero por ser una molécula grande con carga negativa, y factores eléctricos y electrostáticos puede reducir su reacción con ciertos grupos SH.

2) La adición de un exceso p-NB ocasionalmente produce un pequeño incremento en la absorbancia, de tal forma que la porción final de la curva puede no ser exactamente horizontal, y esto puede indicar la reacción con grupos no SH o grupos SH que reaccionan más lentamente. Esto interfiere con la determinación del punto final.

3) Las relaciones de tiempo deben ser consideradas. Es común practicar la incubación de la proteína y el p-NB por 10 a 15 min para que reaccionen, pero esto dependerá de los grupos SH. En algunas proteínas, grupos SH adicionales reaccionan cuando la incubación se prolonga, en tales casos no se está seguro si estos grupos están inicialmente expuestos o si lo hicieron durante una desnaturalización progresiva de la proteína. (fig 8)

4) Ambas proteínas y p-NB absorben significativamente a 250-255 m $\mu$  y se deben correr los controles apropiados.

5) Las soluciones proteicas o enzimáticas deberán ser tan puras como sea posible, ya que pequeñas cantidades de ciertas impurezas pueden causar grandes errores.

6) Especiales consideraciones se deben tomar para con el pH ya que como se han mostrado afectan marcadamente la velocidad y la extensión de la reacción.

7) Efectos de sales sobre la reacción de p-NB con proteínas es también amenudo de considerable magnitud, así que se debe poner atención en la composición iónica del medio y en los buffers usados.

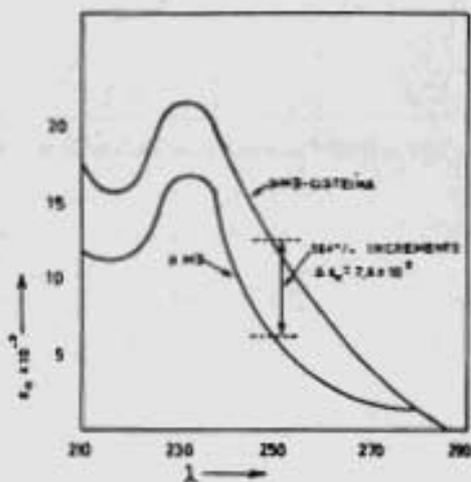


FIG. 7 CURVAS DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN PARA  $\beta$ -HS Y SU MERCÁPTIDO CON CISTEÍNA.

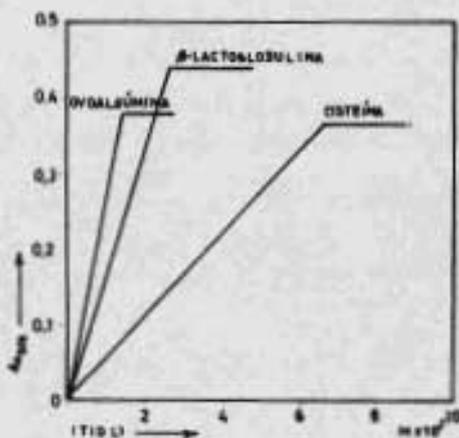


FIG. 8 TITULACIÓN DE CISTEÍNA Y PROTEÍNAS CON  $\beta$ -HS LOS TIEMPOS DE REACCIÓN SON: CISTEÍNA Y OVALBÚMINA 15 MIN Y LACTOGLUBULINA 30 MIN.

8) Es importante notar que Boyer encontró que el EDTA interfiere, presumiblemente debido a que forma un complejo con el p-MB, por lo que es conveniente omitir esta sustancia.

9) El enmascaramiento de grupos SH reactivos (por ejem. agentes alquilantes) suprime los cambios de absorbancia al agregar p-MB, esto prueba que los grupos SH son los responsables de estos cambios.

10) El p-MB debe ser puro, debe ser analizado iodométricamente o espectrofotométricamente, y debe ser estandarizado con glutatona y usado en soluciones preparadas en el momento.

11) La presencia de dos o más grupos SH adyacentes sobre la proteína pueden prevenir la reacción de cada uno con p-MB. Esto conducirá a valores bajos del número total de grupos SH en proteínas o enzimas.

Una titulación típica de una enzima se muestra en la fig. 9. La titulación de la deshidrogenasa del 3 fosfogliceraldehído a  $pH$  4.6 presenta un claro punto final indicando la rápida reacción de los grupos SH. Esto produce 10.3 grupos por molécula de enzima (considerando el peso molecular de 115,000).

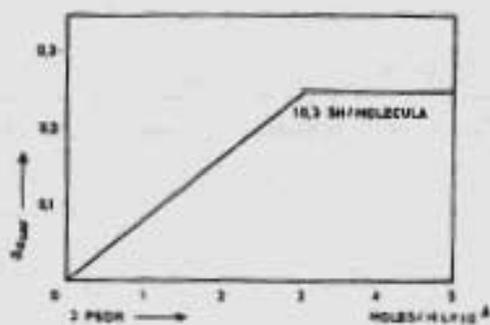


FIG 5 TITULACION DE LA 3-MERCIPTOPROPIONIL-L-HOMOCISTEINA CON pMS A PH 4,8 Y 0,53 MOLES/LITRO.

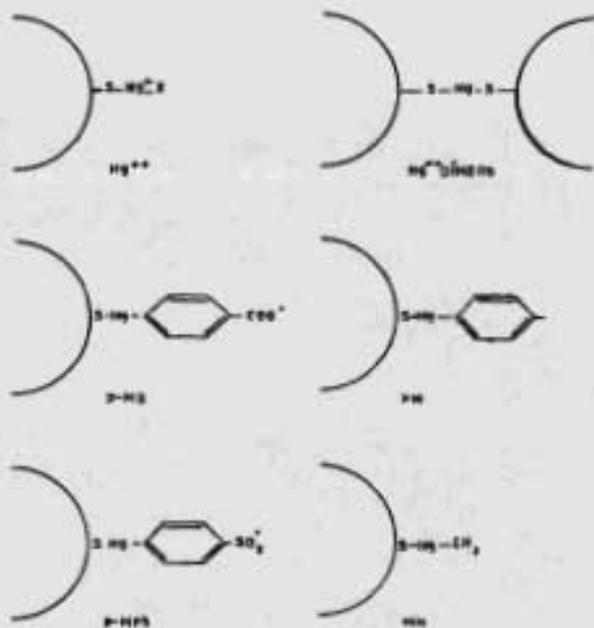


FIG 10 CADENAS LATERALES INTRODUCIDAS SOBRE PROTEINAS POR VARIOS MERCAPTIDOS. LAS UNIONES S-SH-S NO SON LINEALES.

## INHIBICIÓN DE ENZIMAS.

La inhibición por mercuriales no necesariamente implica un grupo SH dentro de un centro activo o la participación de un grupo SH en la catálisis; en conexión con esto es conveniente tener en mente los diferentes grupos que son introducidos sobre las superficies de las enzimas cuando se utilizan distintos mercuriales, que en un momento dado pueden ser críticos para producir inhibición.

## Tipos de Inhibición observados con los mercuriales.

Las curvas concentración-inhibición para los mercuriales son generalmente sigmoideas y bastante empinadas, como debería esperarse de aquellos inhibidores que se combinan fuertemente con grupos enzimáticos. Debe enfatizarse que los estudios cinéticos adecuados pueden ser hechos únicamente en preparaciones de enzimas puras.

Uno puede clasificar las inhibiciones clásicamente en competitivas, no competitivas, incompetitiva y mixta. (Tabla I) El comportamiento formalmente competitivo debe esperarse que ocurra en las siguientes circunstancias: 1) El inhibidor actúa por medio de una reacción que no involucre el grupo SH, los mercuriales orgánicos particularmente poseen grupos capaces de interaccionar con los sitios activos de el átomo de Hg, 2) la unión del mercurial a los grupos SH puede por alguna razón ser más débil de lo usual y de una comparable magnitud a la afinidad por el sustrato, 3) el mercurial está unido mucho más fuertemente que el sustrato, pero las mediciones son hechas antes de que el equilibrio se alcance, cuando las inhibiciones se determinan inmediatamente después de adicionar el mercurial en cantidades variables de sustrato, los datos aportan una gráfica de tipo competitivo.

La inhibición no competitiva puede ser observada cuando el mercurial reacciona con grupos SH u otros, adyacentes al centro reactivo, y entonces deprime la velocidad de rompimiento del complejo ES, y cuando la afinidad por el sustrato no es tan

TABLA 8

Algunos Ejemplos de los Tipos de Inhibición observados con los Mercúricos.

Enzima	Fuente	Con respecto a
<i>No Competitiva</i>		
Glutamato descarboxilasa	Cerebro de ratón	L-Glutamato
Lactato deshidrogenasa	Suero humano	Piruvato
Malato deshidrogenasa	Hígado de caballo	Oxaloacetato
Histidasa	Músculo de conejo	ADP
<i>Incompetitiva</i>		
Fosfatasa Alcalina	Intestino	p-Nitrofenil fosfato
<i>Competitiva</i>		
Fosfatasa Acida	Schistosoma mansoni	p-Nitrofenil fosfato
Aldehído oxidasa	Hígado de conejo	N <sup>1</sup> -N-etilnicotinamida
Aldehído oxidasa	Hígado de puerco	Acetaldehído
D-Aminoácido oxidasa	Riñon de puerco	Alanina FAD
$\beta$ -Amilasa	Trigo	Almidón
Anhidrasa carbónica	Hojas de espinaca	Bicarbonato
Colinesterasa	Suero de caballo	Acetilcolina
$\alpha$ -Glucosidasa	Saccharomyces italicus	p-Nitrofenil- $\alpha$ -D- glucopiranosido
$\beta$ -Glucuronidasa	Glándula prepuccial de rata	Fenolftaleína- $\beta$ -glucuronido
Invertasa	Levadura	Sacarosa.

alta se produce la depleción mutua, la interferencia con el rompimiento de ES puede ser estérica por medio de las cadenas laterales introducidas o por alteración secundaria de la estructura proteica. Ningún ejemplo de inhibición incompetitiva ha sido reportada, pero no es improbable que la reacción con el complejo ES ocurra. La inhibición de la fosfatasa alcalina es mixta (no competitiva e incompetitiva), pero el p-HB reacciona más rápidamente con el complejo ES que con E.

Otro intento para la clasificación de las inhibiciones por mercuriales y quizás la primera, es la determinación del componente (enzima, sustrato, coenzima o cofactor) con el cual el mercurial reacciona. La reacción con la apoenzima puede ser dividida en tres tipos: 1) La unión a un grupo SH en el centro activo, previniendo el acomplejamiento de la apoenzima con cualquier otro de los componentes, 2) la unión a un grupo SH vecino al centro activo e interfiriendo con la catálisis estérica o electrostáticamente, y 3) Alterando en forma secundaria la estructura de la proteína por el rompimiento de la configuración normal del centro activo. En el último caso, el cual es bastante común, la inhibición puede ser formalmente competitiva (si el sustrato estabiliza la estructura enzimática), no competitiva o bastante compleja. La reacción con el sustrato debe amenudo de ocurrir, especialmente cuando el sustrato es una proteína, ácido nucleico, nucleótido o tiol, pero en la mayoría de los casos se ignora esta posibilidad. Este puede ser un mecanismo importante cuando los tioésteres están involucrados, por ejem. el acetoacetil CoA en la síntesis de ácidos grasos. La reacción con coenzimas es evidente cuando el ácido lipóico y la CoA en la síntesis de ácidos grasos. La reacción con coenzimas es evidente cuando el ácido lipóico y la CoA están involucrados, pero puede ocurrir más amenudo de lo que se supone. Una reacción del p-HB con NAD se ha detectado espectrofotométricamente por Palmer y Harsay (1962). Hill (1956) había establecido previamente un complejo 1:1 de Hg y NADH.

*Protección de las Enzimas contra los Mercuriales.*

Las enzimas pueden ser protegidas contra los mercuriales por medio de 1) Sustratos, 2) Coenzimas, 3) Iones metálicos que son cofactores, 4) Inhibidores reversibles, y 5) Tioles u otros acomplejadores de mercuriales. La protección puede ocurrir por dos mecanismos generales: reacción del protector con la enzima para bloquear al mercurial o la reacción del protector con el mercurial. Este último mecanismo se aplica a los tioles tales como la cisteína o glutatióna, aunque no resulta muy útil ya que lo único que hace es reducir la concentración efectiva del mercurial.]

Algunos ejemplos de protección se resumen en la tabla 9, así como aquellos casos en que no se produce protección. El signo + no indica que la protección sea total, sino sólo parcial. El grado de protección puede depender de las concentraciones del mercurial y del protector, por ejem., la protección puede ser completa con bajas concentraciones del mercurial, mientras que el protector puede ser relativamente inefectivo contra altas concentraciones. La mayoría de los investigadores han notado que aunque los protectores en la tabla 9 son efectivos cuando están presentes durante el desarrollo de la inhibición, ellos no hacen reversible la inhibición una vez que ha alcanzado un cierto valor constante, esto indica aparentemente que la mayoría de la protección resulta fundamentalmente de una disminución de la velocidad de la inhibición.

El hecho de que la acción de un mercurial se reduzca por un sustrato, no necesariamente implica que el sustrato reaccione con un grupo SH ni que el grupo SH esté involucrado en la catálisis, aunque puede darse el caso. La falla en la protección puede ser debida a una inadecuada concentración del protector y también a la relativa afinidad de la enzima por el protector.

TABLA 9

Ejemplos de la Protección de Enzimas contra los Mercuriales por componentes de la Reacción Enzimática.

Enzima	Fuente	Mercurial	Sustancia	Protección
Adenosíntrifosfatasa	Músculo de rana	p-Hg	Hg <sup>**</sup>	+
Alcohol deshidrogenasa	Levadura	p-Hg	Etanol	-
	Hígado de caballo	p-HgPS	NAD	+
Aldehído deshidrogenasa	Levadura	p-Hg	NADP	+
			NAD	-
	Hígado de res	p-Hg	NADP	+
			NAD	-
Aldolasa	Músculo de conejo	p-Hg	Fructuosa dP	-
Aminoácido descarboxilasa	Proteus vulgaris	p-Hg	Aminoácidos	+
			Piridoxal-P	-
D-Amino oxidasa	Riñon de borrego	p-Hg	FAD	+
			Alanina	+
Amilomaltasa	E. coli	p-Hg	Maltosa	-
Arginina descarboxilasa	Streptomyces griseus	p-Hg	Arginina	+
Aspartato carbamilo-transferasa	E. coli	p-Hg	Aspartato	-
Betain-aldehído deshidrogenasa	Hígado de rata	p-Hg	Betain aldehído	+
			NAD	+
Butiril-CoA deshidrogenasa	Hígado de res	p-Hg	Butiril-CoA	+
			FAD	+
Carbamil-P sintetasa	Hígado de rana	p-Hg	Acetilglutamato	+
Carboxipeptidasa	Páncreas de res	p-Hg	Zn <sup>**</sup>	+
Estradiol-17 $\beta$ deshidrogenasa	Placenta humana	p-Hg	Estradiol	+
			NAD	+
Ácido graso sintetasa	Hígado de paloma	p-Hg	Acetil-CoA	+
$\beta$ -Fructofuranosidasa	Levadura	Hg <sup>**</sup>	Sacarosa	+
	Neurospora crassa	p-Hg	Sacarosa	+

TABLA 9 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Sustancia	Protección
Fumasa	Levadura	p-HB	Fumato Malato	+ +
Fumato hidrolasa	<i>Propionibacterium pentosaceum</i>	p-HB	Fumato Malato	+ -
L-Galactona-flacto- na deshidrogenasa	<i>Coli</i> flon	p-HB	L-Galactona l-lactona	+ +
Glucocinasa	Riñon de Puercos	p-HB	Gluconato ATP	- -
Glucosa 6P deshi- drogenasa	Eritrocitos humanos	p-HB	NADP	+
$\beta$ -Glucosidasa	Levadura	p-HB	Sustratos	+
L-Glutamato descar- boxilasa	Cerebro de ratón	p-HB	Pinidoxal-P	-
Glioxalato reductasa	Hojas de tabaco	p-HB	Glioxalato NADH	+ +
Hexocinasa	Cerebro	p-HB	Glucosa	+
Hexocinasa (In de- pendiente)	<i>Neurospora crassa</i>	p-HB	Zn <sup>++</sup>	+
3-Hidroxiantranilato oxidasa	Hígado de res	p-HB	3-Hidroxiantranilato Fe <sup>++</sup>	+ +
$\beta$ -Hidroxisobutirato deshidrogenasa	Riñon de puercos	p-HB	$\beta$ -Hidroxisobutirato NAD	+ +
Hidroxipiruvato reductasa	<i>Aspergillus niger</i>	p-HB	Hidroxipiruvato NADH	+ +
Isocitrato deshidro- genasa	Corazón de res	p-HPS	Isocitrato+Mn <sup>++</sup>	+
Lactato deshidroge- nasa	Corazón de res	p-HB	Piruvato NADH	- +
	Cerebro de res	p-HB	NAD	+
	Músculo de conejo	p-HB	NAD	+
Leucina descarboxi- lase	<i>Proteus vulgaris</i>	p-HB	Leucina Pinidoxal-P	+ +

TABLA 9 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Sustancia	Protección
Malato descarboxi- laza oxidativa	Hígado de cordero	p-HPS	Malato NADP Mn <sup>++</sup>	+ + +
NADH oxidasa	Streptococcus faecalis	p-MS	FAD	+
Nicotinamidasa	Toxula gramonis	p-MS	Nicotinamida -	
Oxalil carbamil transferasa	Hígado de rata	p-MS	Oxalilina Carbamil-P	+ +
3-Fosfogliceraldehido deshidrogenasa	Músculo de conejo	p-MS	2,6-Diclorofe- nolindogenol	+ -
Prolidasa	Riñon de puerco	p-MS	Mn <sup>++</sup>	-
Piruvato descarboxi- laza	Levadura	p-MS	Piruvato	+
Piruvato oxidasa	Proteus vulgaris	p-MS	Tiamín-díP	+
Succinato deshidro- genasa	Hígado de rata Hígado de rat Hígado de puerco	p-MS p-MS p-MS	NAD Succinato Succinato	- + +
Transaminasa (tínosi- na: acetoglutarato)	Levadura	p-MS	Piridoxal-P	-
Urocanasa	Hígado de gato	p-MS	Urocanato	+
Xantina oxidasa	Hígado de pollo	p-MS	Hipoxantina	-

## Desplazamiento de Coenzimas y Cofactores de la Enzimas.

En relación a los experimentos de protección están aquellos en los cuales se muestra a un mercurial que disocia un complejo enzima-coenzima o enzima-cofactor. Actualmente se cree que varias coenzimas e iones metálicos activadores pueden unirse a la apoenzima a través de grupos SH en parte, y si esto es así debería esperarse que aquellos reactivos que se unen fuertemente a grupos SH, tales como los mercuriales, desplazarán a coenzimas o activadores. Una molécula de la deshidrogenasa alcohólica de corazón de caballo une dos moléculas de NADH a pH fisiológico y esto se acompaña por un pico en el espectro de absorción de el NADH. La adición de p-MB revierte el pico espectral, y se concluye que la unión entre un grupo SH de una enzima y el anillo piridínico del NADH se rompe con el mercurial. Sin embargo, algunas dudas recientemente han hecho que no sea tan simple la interpretación. La molécula de la deshidrogenasa alcohólica tiene 18 grupos SH como se determina por titulación con p-MB. La presencia de NADH no reduce este número, aunque el NADH protege a la enzima moderadamente. Wetten postula, sobre una base ligera, que la función de los grupos SH es para mantener estable la estructura enzimática para que pueda unirse al NADH; la desintegración de la estructura por el p-MB produce secundariamente el desprendimiento de la coenzima.

De los resultados sobre el desplazamiento de coenzimas se puede resumir estableciendo que las mismas dificultades se encuentran como en los experimentos de protección. Hay tres mecanismos generales por los cuales un mercurial pudiera disociar un complejo enzima-coenzima: 1) Competir con la enzima por el grupo SH, 2) Interferencia estérica o electrostática con la unión de la coenzima por reaccionar en un sitio adyacente, y 3) Alterar la configuración enzimática, en tal caso es una forma secundaria de alterar la unión de la coenzima.

. Cambios en la Estructura Enzimática por medio de Mercuriales.

Durante los últimos años se han acumulado evidencias de que los mercuriales ocasionalmente inician cambios configuracionales en las enzimas. Una de las razones más obvias para sospechar que la desnaturalización es el desarrollo progresivo de la irreversibilidad durante el contacto con el mercurial, son los casos reportados para la colinesterasa, fosfomonoesterasa prostática, aldolasa del músculo y la 3-PGDH del músculo, para mencionar sólo pocos ejemplos. Por supuesto se debe atribuir falta a la reversibilidad por la fuerte unión a la enzima, pero el progresivo incremento en la irreversibilidad apunta más a cambios estructurales.

Blodi (1960) investigó los cambios en varias propiedades de la 3-PGDH del cerdo tratada con p-Hg, y encontró significativas desviaciones en la rotación óptica y la viscosidad intrínseca, esta última se incrementa conforme se añaden equivalentes de mercuriales. Las siguientes fases fueron postuladas: 1) Una unión inicial reversible e inhibición. 2) Una progresiva desintegración de la estructura secundaria de la enzima como resultado del bloqueo de los grupos SH, y 3) Polimerización y precipitación consecuente a la liberación de grupos los cuales forman puentes intermoleculares. Los cambios simultáneos en la actividad, la unión del NADH y la dispersión rotatoria de la deshidrogenasa alcohólica de la levadura tratada con p-Hg condujo a Wallenfels y Miller-Hill a postular que las modificaciones de la estructura secundaria y terciaria de la proteína ocurren cuando los grupos SH se bloquean.

Otro tipo de cambio estructura es la despolimerización de la enzima en subunidades después de la mercurialización. La fosforilasa del músculo es progresivamente inhibida por p-Hg y hasta alrededor de 18 equivalentes del mercurial son combinados, esto se acompaña por la aparición de una nueva especie molecular en la ultracentrífuga, la constante de sedimentación siendo más baja que para cualquier fosforilasa a o b:

Fosforilasa a:	S: 13.2
Fosforilasa b:	S: 8.2
Enzima inactiva:	S: 5.6

Ambas, la fosforilasa a y la b, forman esta nueva especie con p-HB y se ha sugerido que esta enzima inactiva se rompe en 4 subunidades las cuales a su vez se rompen en otras dos.

No hay duda de que los mercuriales pueden inducir cambios estructurales en ciertas enzimas y causar agregación o fraccionamiento en subunidades, pero la importancia de la inhibición primaria no ha sido esclarecida. ¿Es la inhibición debida al bloqueo de grupos funcionales SH o secundariamente a cambios estructurales? ¿Resulta la desnaturalización de la reacción general con grupos SH o puede originarse solamente por la formación del mercaptido en el centro activo? Todos los resultados tienden a explicar que la inhibición generalmente ocurre en la reacción inicial de los grupos SH en o cerca del centro activo, esto siendo reversible, y que alteraciones estructurales más lentas ocurren como resultado del mercurial ya combinado o de la reacción continua con más mercurial, estos cambios siendo más y más irreversibles, una progresiva inactivación se sobrepone a la inhibición primaria.

*Efectos del pH, iones y buffers sobre la Inhibición por Mercuriales.*

Los efectos por lo anteriormente dicho pueden resumirse como sigue: 1) El pH afecta la ionización de los grupos SH o la competencia entre el mercurial y  $H^+$  por el grupo  $S^-$ , 2) El pH altera la concentración de  $OH^-$  y de ahí la cantidad de mercurial acomplejado con este anión, 3) El pH influye en la carga de la proteína posiblemente atrayendo o repeliendo los mercuriales cargados, 4) El pH determina la velocidad de la inactivación secundaria o desnaturalización, 5) El pH afecta el estado de agregación de los complejos proteína-mercurial, 6) El pH afecta tanto la velocidad como el número de grupos SH que reaccionan, y 7) Generalmente hay un incremento en la velocidad de la reacción de la proteína con mercuriales conforme se reduce el pH. Los efectos del pH sobre la inhibición enzimática por los mercuriales son aún más complejos y no se puede antici-

por un comportamiento consistente.

Algunos de los efectos del pH sobre la inhibición mercurial se muestran en la tabla 10. En 7 casos la inhibición es más grande a pH bajo y en 6 casos a pH alto; y esto indica que más de un factor debe de estar involucrado.

El incremento de cualquier ligando capaz de acomplejar los mercuriales deberá reducir la inhibición, pero esto ha sido estudiado muy poco. Fernley (1951) notó que el aumento de concentración de  $\text{Cl}^-$  suprime la inhibición de la  $\beta$ -glucuronidasa por  $\text{Hg}^{++}$ . Es muy difícil en tales casos separar una acción directa acomplejante de un fuerte efecto iónico. Green y Neurath (1953) variando la fuerza iónica con  $\text{NaCl}$ ,  $\text{NaCl}_2$  y  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  encontraron que la inhibición de la tripsina por  $\text{Hg}^{++}$  se suprime a altas fuerzas iónicas. En suma, los efectos iónicos, y ciertas acciones específicas deben ser tomadas en cuenta, especialmente con la ATPasa, cuando las concentraciones de  $\text{Hg}^{++}$  y  $\text{Ca}^{++}$  determinan en cierta parte la susceptibilidad de las enzimas mitocondriales a los mercuriales, generalmente el  $\text{Hg}^{++}$  disminuye la inhibición, aunque aquí se localiza más de una enzima.

#### Estimulación de Enzimas por Mercuriales.

Los mercuriales en común con otros metales pesados y reactivos SH, frecuentemente incrementan la actividad enzimática, especialmente a baja concentración, las curvas de acción concentración son bisélicas. Muchos diferentes tipos de enzimas exhiben este fenómeno (tabla 11) pero los mecanismos involucrados han sido someramente clarificados. Algunos de los posibles mecanismos son los siguientes:

a) El mercurial inactiva un inhibidor natural presente. Si un inhibidor está aislado con la enzima y está suprimiendo la actividad, y si este inhibidor es una proteína SH (como muchos de los inhibidores naturales pueden serlo), un mercurial reaccionando preferentemente con el inhibidor, puede liberar a la enzima de la inhibición. Tal es el caso de la ribonucleasa de hígado de rata y de la citocromo c reductasa.

TABLA 10

Efectos del pH sobre la Inhibición de Enzimas por Mercúricales.

Enzima	Fuente	Mercúricales	Concentración (mM)	pH	% de Inhibición		
Adenosíntrifos- forasa	Hígado de conejo	p-Hg	0.04 $\mu$ mol/mg de proteína	5.5	63		
				6.5	+17		
				7.5	+100		
				8.5	8		
				9.5	65		
Alcohol deshi- drogenasa	Levadura	p-Hg	0.00016	7.6	50		
				8.6	50		
				Hg**	0.000064	7.6	50
				0.00025	8.6	50	
				0.0001	7.6	100	
			8.6	0			
$\alpha$ -Amilasa	<i>Bacillus subtilis</i>	p-Hg		4.7	58		
				6.0	0		
Bromelina	Pira	p-Hg	0.1	5.3	90		
				7.0	73		
$\beta$ -Fructofurano- sidas	Levadura	Hg**	0.0005	2.8	30		
				3.4	36		
				4.6	46		
				5.5	57		
				6.5	68		
$\beta$ -Glucuronidasa	Glándula pre- pucial de rata	Hg**	0.05	3.5	46		
				4.0	21		
				4.5	40		
				5.0	36		
				5.5	29		
		Pii	0.4	4.0	59		
				4.5	48		
				5.0	48		
				5.5	53		

TABLA 10 (Continuación).

Efectos del pH sobre la Inhibición de Enzimas por Mercuriales.

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración (mM)	pH	% de Inhibición			
L-Glutamato deshidrogenasa	Hgado de res	PH	0.5 $\mu$ mole/mg proteina	< 7.9	100			
				8.5	+150			
NADH-quinona oxidoreductasa	Hgado de cerdo	Mensalil	0.07	7.4	50			
				8.0	50			
Penicilinas	Aerobacter cloacae	p-MB	0.014	6.0	50			
				0.06	100			
				0.002	7.4	50		
				0.07	100			
Proteinas	Clostridium perfringens	Hg**	1	5.0	89			
				7.0	3			
				Levadura	p-MB	1	4.3	0
							5.0	55
							6.0	67
							7.0	84
Ribonucleasa	Tumores as-citico de ratón	p-MB	0.4	5.0	+36			
				6.0	+232			
				7.0	+535			
				8.0	+50			
				8.5	42			
Tirosinasa	Papa	Hg**	0.9	9.6	79			
				4.5	19			
				5.6	46			
				6.3	75			
				7.1	87			
Ureasa	Frijol	Hg**	0.0185	4.94	41			
				5.96	38			
				7.0	15			
				8.03	22			
				9.18	27			

TABLA 11

Ejemplos de Estimulación Enzimática por Mercúricos.

Enzima	Fuente	Mercúrico	Concentración (mM)	% de Estimulación
Adenosíntrifosfatasa	Mitocondria de hígado de rata	p-Hg	0.1	130
	Hígado de rata	PH	1.25	115
	Hígado de rata	p-Hg	0.05 $\mu$ mol/mg	250
Aminooxidasa	Hígado de rata	Hg <sup>++</sup>	0.0005	15
			0.005	42
Activadora de Aminoácido	Hígado de cerdo	p-Hg	1	13
Arilsulfatasa	Charonia lampas	p-Hg	0.5	15
Arilsulfatasa	Córnea de res	p-Hg	0.2	20
Aspartato carbamílasa	<i>E. coli</i>	p-Hg	0.1	50
C-esterasa	Riñon de cerdo	PH	0.4	100
Dehidrofolato reductasa	Hígado de pollo	p-Hg	0.08	300
Esterasa	Hicostomas	p-Hg	0.1	22
	Hígado de cerdo			
Glucosaminidasa	Cerebro humano	Hg <sup>++</sup>	0.5	40
Glutamato dehidrogenasa	Hígado de cerdo	MM	0.0006	132
		MM	0.008	422
		PH	0.5 $\mu$ mol/mg	150
		MM	0.008 $\mu$ mol/mg	400
Glicerato dehidrogenasa	Hígado de res	PH	0.49 $\mu$ mol/mg	300
		p-Hg	0.00003	250

TABLE II (Continuación)

Enzima	Fuente	Mezcla	Concentración [mM]	% de Estimulación
Glicerato 2,3 difosfatasa	Eritrocitos de conejo	Hg <sup>++</sup>	0.1-0.4	230
	Músculo de conejo	Hg <sup>++</sup>	0.02	80
		Hg <sup>++</sup>	0.1	633
Glicerato 2-fosfatasa	Eritrocitos de conejo	Hg <sup>++</sup>	0.1	590
Glicerato 3-fosfatasa	Eritrocitos de conejo	Hg <sup>++</sup>	0.1	3800
NADH quinona oxidoreductasa	Levadura	p-MB	0.025	100
NADPH-citocromo c oxidoreductasa	Hígado de cerdo	p-MB	0.0008	1
	Hígado de rata	p-MB	0.16	50
Incorporadora del nucleótido	Músculo de conejo	p-MB	0.1	75
Fosfatasa (Acid-lupinus alba)		p-MB	0.037	115
Fosfatasa (Alcalina)	E. coli	p-MB	15	20
3-Fosfoglicerato dehidro- genasa	Músculo de cerdo	p-MB	1/E+2	10-20
Fosforilfosfatasa	Riñon de cerdo	Hg <sup>++</sup>	0.004	30
Piridoxal des- hidrogenasa	Levadura	p-MB	0.01	25
Ribonucleasa	Tumor ascítico	p-MB	0.4	535
Succinato oxidasa	Huevos de Oca	PM	0.01	10
Triptofano peroxidasa	Hígado de rata	p-MB	0.8	100



g) El mercurial reduce la unión de un producto inhibitorio. La deshidrogenasa del L-Glutamato es estimulada por PM a pH 8.5 y este es reducido por el sustrato, NAD y glutarato, un inhibidor competitivo. Entonces el PM debe combinarse en o cerca del centro activo. El acetoglutarato es el producto inhibitorio de la reacción. El PM incrementa la constante de inhibición para acetoglutarato 1 veces y para el glutarato más de 10 veces. Parte de la estimulación por PM puede ser debida a la reducción de los efectos del acetoglutarato.

h) El mercurial disocia la enzima en subunidades activas. Algunos de los centros activos pueden ser más accesibles cuando la enzima está disgregada y es conocido que los mercuriales pueden en ocasiones separar a las enzimas en subunidades.

i) El mercurial reacciona primeramente con un inhibidor de grupos SH. Tal es el caso de la ATPasa en la que los mercuriales previenen el cambio que produce el ATP al unirse al centro activo incrementando la actividad enzimática.

j) El mercurial inhibe una segunda enzima la cual suprime la velocidad de la reacción. En una cadena monolineal:



la inhibición de la  $E_2$  incrementará el nivel basal de B o su velocidad de formación. Si la formación de B se está midiendo y la enzima que lo destruye está presente, la inhibición de esta enzima puede estimular  $E_1$ . En una cadena divergente, la inhibición de una rama puede incrementar la velocidad de la otra, si se quiere observar la estimulación dependerá de que se está midiendo.

#### Panorama de las Inhibiciones Enzimáticas.

Algunas inhibiciones enzimáticas producidas por los mercuriales se dan en la tabla 12. Estas representan una quincuagésima parte de las enzimas estudiadas, y resulta muy difícil poder escoger que enzimas son más importantes para ser mencionadas. Otro problema que no se menciona en la tabla 12 es que el

TABLA 12

Inhibición de Algunas Enzimas por Mercuriales.

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración [mM]	% de Inhibición		
Acetato cinasa	<i>E. coli</i>	Hg**	0.0001	50		
		p-HB	0.0003	50		
Acetoacetato descarboxilasa	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Hg**	0.01	100		
Acetil-CoA carboxilasa	Germen de tri- go	Hg**	0.01	100		
		p-HB	0.01	90		
Acetil-CoA cinasa	<i>Aspergillus niger</i>	p-HB	0.04	26		
			0.1	63		
			1.6	100		
Acetilasa	<i>E. coli</i>	p-HB	0.5	35		
		<i>Bacillus subtilis</i>		25		
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>		20		
		<i>Micrococcus lysodeikticus</i>		14		
		<i>Aspergillus niger</i>		0		
		<i>Streptomyces griseus</i>		0		
		Levadura		0		
		Chilchano germinando		2		
		Hgado de paloma	Hg**	0.05	38	
				0.5	44	
		Acilasa	Riñon de cordero	Hg**	0.004	50
				PM	0.0063	50
		Adenosinasa	<i>Vibrio cholerae</i>	Hg**	0.01	100
Adenilato desaminasa	Chilchano	Hg**	0.01	100		
		p-HB	0.2	100		
Adenilsuccí- nato liasa	Levadura	p-MPS	0.00035	70		
			0.006	100		
		Hg**	0.000046	23		
Alanina des- hidrogenasa	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	p-HB	0.0003	13		
			0.001	52		
			0.01	100		
		<i>Bacillus cereus</i>	Hg**	0.1	37	
			p-HB	0.01	41	
		p-MPS	0.01	54		

TABLA 17 (Continuación)

Esquina	Fuente	Microorganismos	Concentración % de Inhibición
Alcohol deshidrogenasa	Pseudomonas aeruginosa	p-HB	1
		p-HB	100
	Leuconostoc mesenteroides	p-HB	0.1
		p-HB	100
	Levadura	p-HB	0.001
		Hg**	0.00016
	Algod	p-HB	0.00025
		p-HB	0.1
	Hgado de caballo	p-HB	0.006
		p-HB	0.06
		1.5	
Lúcido deshidrogenasa	Pseudomonas aeruginosa	p-HB	0.01
		p-HB	25
	Acetobacter suboxydans	Hg**	0.1
		Hg**	0.02
		p-HB	0.2
		p-HB	98
		p-HB	0.01
		p-HB	38
		p-HB	0.02
		p-HB	70
		p-HB	0.1
		p-HB	97
	Acetobacter sp	p-HB	0.6
		p-HB	44
	Levadura	p-HB	0.1
p-HB		50	
Hgado de conejo	p-HB	0.004	
	p-HB	61	
	p-HB	0.033	
	p-HB	10	
	p-HB	0.49	
	p-HB	51	
	p-HB	0.067	
	p-HB	88	
Hgado de caño	p-HB	0.04	
	p-HB	8	
	p-HB	0.0001	
	p-HB	5	
	p-HB	0.001	
	p-HB	70	
	p-HB	0.002	
	p-HB	85	
Hgado de pino	p-HB	0.01	
	p-HB	35	
	p-HB	0.1	
	p-HB	80	
Aldehído	Mycobacterium	p-HB	0.004
		p-HB	50
	Spirochaeta	p-HB	0.4
		p-HB	100
Acetabacteria	p-HB	0.1	
	Hg**	0	

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración %	% de Inhibición	
	Músculo de conejo	Hg <sup>**</sup>	0.02	16	
		p-HB	0.03	22	
		p-HB	0.1	50	
Amino-peptidasa	Cristalinos de Aea	Hg <sup>**</sup>	0.001	50	
		p-HB	0.0005	50	
α-Amilasa	Bacillus subtilis	Hg <sup>**</sup>	0.001	0	
			0.1	16	
β-Amilasa	Vicia faba		1	56	
		Hg <sup>**</sup>	1	100	
		p-HB	0.0005	140	
	Trigo	p-HB	0.001	35	
		PH	0.001	73	
	Cebada	p-HB	0.2	100	
			0.1	91	
		Hg <sup>**</sup>	0.01	100	
			p-HB	0.0005	38
				0.001	67
			0.005	91	
Arginina de-aminasa	Streptococcus faecalis	p-HB	0.0001	16	
			0.001	94	
Arginina cínasa	Músculo de langostino	p-HB	0.00001	27	
			0.0001	100	
Acilasa	Suero humano	Hg <sup>**</sup>	0.0007	50	
		p-HB	0.01	97	
L-Asparaginasa	Suero de cuy	Hg <sup>**</sup>	0.01	70	
			0.1	83	
		p-HPS	0.1	40	
L-Asparagina deamidasa	Bacillus coagulans	p-HB	0.001	42	
Aspartasa	Bacillus cadaveris	Hg <sup>**</sup>	0.01	100	
		p-HB	0.02	100	
Aspartasa transcantamíasa	Hígado de rata	Hg <sup>**</sup>	0.067	20	

TABLE 12 (Continued)

Enzima	Fuente	Mercúrial	Concentración % de Inhibición [mM]	% de Inhibición
Carbamil-ADP Fosfolisasa	Serratia marcescens	p-Hg	0.002	60
Enzima activa- dona del CO <sub>2</sub>	Conarín de cerdo	Hg** p-Hg	0.005 0.006	100 100
Anhidrasa carbónica	Hojas de remolacha	Hg** p-Hg	0.1 0.0022	100 24
			0.0043	40
			0.022	90
	Hojas de espinaca	Hg** p-Hg	0.1 0.5	100 100
Catalasa	Malta	Hg**	0.00077	5
			0.003	14
			0.049	29
			0.39	50
			3.1	83
	Hígado de caballo	Hg**	0.001	23
			0.01	51
			0.1	92
	Hígado de vaca	PH	0.045	36
			0.0033	10
			0.083	25
			0.33	37
Colecterol esterasa	Hígado de vaca	p-Hg	0.4	95
Colina acetilasa	Ganglio de calamar	p-Hg	0.004 0.002	72 40
			0.01	69
			0.04	96
Colinesterasa	Electrophorus electricus	p-Hg	0.5	35
	Cobra venenosa	Hg**	3.3	29
			5	40
			10	69

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración % de Inhibición (ml)		
	Suero de caballo	Hg**	0.0037	4	
			0.037	15	
			0.37	26	
			3.7	45	
	Suero Humano	Hg**	0.22	50	
			1	40	
			pHPS	1	7
			Hg**	0.114	76
				0.14	50
				1.5	50
Eritrocitos humana	Hg**	1.5	50		
		p-NB	6.3	50	
			10	0	
Citrato síntetasa	Corydon de cerdo	p-NB	0.2	27	
			0.4	95	
Creatinasa	Pseudomonas ovalis	p-NB	0.04	100	
Creatina cinasa	Eritrocitos de conejo	Hg**	0.01	17	
			0.1	100	
			p-NB	0.1	14
				1	100
			Músculo de conejo	p-NB	0.01
	Músculo de borrego	p-NB	0.00001	6	
			0.0001	29	
			0.001	100	
			0.001	100	
Catalonasa	Hígado de res	p-NB	0.001	25	
			0.01	51	
			0.1	74	
Citocromo oxidasa	Penicillium chrysogenum	p-NB	0.1	0	
			Arum spadis	0.05	0
			Micthococcus	0.1	50

TABLE 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración % de Inhibición (mM)
Deoxialbosa-P aldolasa	Hígado de rata	p-MB	0.0075
			13
			0.01
			60
			100
Dipeptidasa	Hígado de cerdo	Hg**	0.01
			40
			0.02
			100
			0.01
	p-MB		19
			0.02
			50
			0.1
			99
Enolasa	Papa	Hg**	2.7
			90
			p-MB
			0.0027
			50
	Hígado de conejo	p-MB	0.7
			50
Fructocinasa	Hígado de res	p-MB	0.015
			50
Fructosa difosfatasa	Hojas de espárrago	p-MB	0.2
			75
β-Frucofurano-sidasa	Hígado de levadura	PH	0.1
			100
		Hg**	0.0058
			56
			0.014
			77
			0.029
			90
			0.000001
			10
	0.000001		
	25		
	0.00001		
	40		
	0.0001		
	55		
	0.001		
	75		
	Neurospora crassa	p-MB	0.004
			49
			0.01
			63
			0.02
			87
			0.1
			96
Funerina	Levadura	p-MB	0.02
			87
			0.03
			96
α-Galactosidasa	Diplococcus pneumoniae	p-MB	0.1
			80

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Hemorrajal	Concentración % de Inhibición (ml)	
$\beta$ -Galactosidasa	Epididimo de rata	Hg**	0.0001	16
			0.0004	100
Gluconato 6P deshidrogenasa	Streptomyces olivaceus Planta de calchano Hígado de rata	p-NB	0.06	5
		p-NB	1	100
		p-NB	0.1	35
			0.25	83
			0.35	90
Glucocinasa	Riñon de cando	p-NB	0.001	0
			0.01	59
Glucosa deshidrogenasa	Escherium anitratum Hígado de rata	p-NB	3.6	0
		p-NB	0.01	0
Glucosa 6P deshidrogenasa	Leuconostoc mesenteroidea Streptomyces olivaceus Hojas de tabaco Hígado de rata Eritrocitos humanos	Hg**	1	13
			5	100
		p-NB	1	11
		p-NB	0.06	20
		p-NB	0.1	50
		p-NB	0.25	91
		p-NB	0.01	100
Glucosa P isomerasa	Trichinella spiralis Phaseolus aedius Eritrocitos humanos	p-NB	6	0
			10	75
		Hg**	2	13
		Hg**	1	100
		p-NB	2	0

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración % de Inhibición (ml)
$\beta$ -Glucosidasa	<i>Blaberus craniifex</i>	Hg <sup>++</sup>	0.83 65
		p-NB	0.002 40
			0.04 62
$\beta$ -Glucuronidasa	<i>E. coli</i>	p-NB	0.0009 18
			0.009 68
			0.017 73
			0.09 86
			0.17 91
D-Glutamato oxidasa	<i>Octopus vulgaris</i>	p-NB	0.001 27
			0.01 74
			0.1 100
L-Glutamato deshidrogenasa	<i>Pasteurella tularensis</i>	Hg <sup>++</sup>	0.005 28
			0.01 32
			0.03 56
		p-MB	0.06 65
			0.6 75
		p-NPS	0.042 49
		0.17 57	
		0.42 63	
		Hojas de maíz p-NB 1 13	
		Hígado de tana p-NPS 0.16 0	
		Hígado de cerdo p-NB 0.5 100	
		Hígado de res Hg <sup>++</sup>	0.001 2
			0.004 50
	0.01 63		
	p-NB	0.01 19	
		0.11 50	
		1 85	
Glutamínasa	Hígado de cuy	Hg <sup>++</sup>	0.5 73
		p-NB	0.5 75

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración % de Inhibición (mM)	
Glutamín sintetasa	Chicharos	p-Hg	0.001	19
			0.01	99
Glutamín semi-aldehído reductasa	Hígado de rata	Hg**	0.01	19
			0.02	40
			0.04	82
		p-Hg	0.006	12
			0.02	87
			0.04	94
Glutathión reductasa	Hígado de rata	Hg**	0.000067	15
			0.00033	100
		p-Hg	0.0001	52
			0.0033	60
			0.017	89
Glicerato deshidrogenasa	Hojas de espinaca	p-Hg	0.001	30
			0.005	55
			0.01	91
		PH	0.001	38
			0.005	83
			0.01	87
Glicerato cinasa	Candida micodermis	p-Hg	0.0012	50
	Brassica campestris	p-Hg	0.01	100
			0.011	89
$\alpha$ -Glicerato deshidrogenasa	Trypanosoma rhodesiense	p-Hg	0.001	46
	Músculo de conejo		0.01	93
Glicilglicina dipeptidasa	Levadura	p-Hg	0.001	57
			0.01	14
Glicoxalato reductasa	Hojas de Tabaco	p-Hg	0.00013	50
Guanosín fosforilasa	Eritrocitos humanos	Hg**	0.001	87
			0.01	100

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Hexonúcl. E	Concentración % de Inhibición [mM]	
Hexocinasa	Acetobacter	PM	0.1	100
	suboxidans			
	Bacillus sp	Hg**	1	95
		p-ME	0.01	95
	Neurospora	p-ME	1	89
	crassa			
	Germe de	Hg**	1	32
	Taigo	p-ME	0.01	18
	Schistosoma	p-ME	0.01	52
	mansoní		0.02	84
	Echinococcus	p-ME	1.4	38
	granulosus		2.5	81
Cerebro de	hata	p-ME	0.0017	23
			0.0042	78
			0.0084	93
Flecho oxidasa	Ferrobacillus	p-ME	0.01	54
	ferrooxidans		0.1	73
Isoamilasa	Levadura	Hg**	0.1	98
		p-ME	0.01	59
		PM	0.01	55
Isocitrato deshidrogenasa	Mycobacterium	p-ME	0.002	45
	tuberculosis		0.02	100
	Thyranosoma	p-ME	0.1	60
	evazi		1	100
	Colazón de	p-ME	0.000025	50
	ceño			
	Colazón de	p-MPS	0.0067	100
	hata			
$\alpha$ -Cetoglutarato oxidasa	Mosquitos	p-ME	0.01	42
			0.1	96
	Colazón de	p-ME	0.07	50
	ceño		0.2	100
	Hígado de	p-ME	0.055	50
	hata			

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración (mM)	% de Inhibición	
$\alpha$ -Celoglucanato reductasa	Achromobacter p-MB		0.1	63	
Lactato deshidrogenasa	Propionibacterium pentosaceum		1	19	
			1.7	47	
	Levadura p-MB		0.005	0	
			0.01	35	
			0.013	53	
			0.033	100	
			p-NPS	0.0005	60
			5	60	
	Hígado de embrión de pollo p-MB		0.03	0	
			10	70	
Músculo de conejo	p-MB	0.16	23		
		0.4	44		
		0.64	61		
Corazón de res	p-MB	Hg**	8.0000035	50	
		0.1	92		
Cerebro de res	p-MB	0.1	50		
Suero humano	Hg**	0.0009	50		
Lisina descarboxilasa	E. coli	Hg**	0.01	98	
Malato deshidrogenasa	Pseudomonas ovalis		PM	100	
			Hg**	0.01	100
	Mycobacterium avium		0.01	100	
	Hígado de pollo	p-MB	0.03	0	
			10	90	
Corazón de paloma	p-MB	0.2	100		



TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercúrial	Concentración [mM]	% de Inhibición
	Cerveza de caño	p-NB	0.01	12
			0.015	50
			0.025	94
	Hígado de caballo	p-NB	0.05	35
	Cerveza de sea	p-NB	0.05	50
	Eritrocitos humanos	p-NPS	0.33	10
Malato	Hígado de	Hg <sup>++</sup>	0.005	94
dehidrogenasa (descarboxilante)	paloma	p-NB	0.0007	52
			0.001	100
			Cristalino de sea	PH
			1	87
Malonil-CoA CO <sub>2</sub> intercambiadora	Clostridium kluyveri	p-NB	0.003	25
			0.01	60
			0.1	100
Malonato	Hígado de rata	p-NB	0.01	70
			0.1	100
Monoamín oxidasa	Hígado de sea	p-NB	0.005	0
			0.01	25
			0.017	50
			0.1	90
			1.2	100
NADH oxidasa	Azotobacter vinelandii	p-NB	0.025	94
			Lactobacillus casei	p-NB
	Clostridium perfringens	p-NB	0.0017	44
			0.017	94
	Streptococcus faecalis	p-NB	0.001	100

TABLA 11 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mezcla	Concentración (mM)	% de Inhibición
	Xanthomonas phaseoli	p-MB	1	51
	Rhodospirillum rubrum	p-MB PW	0.5 1	100 100
	Papas	p-MB	0.1 1	0 100
	Pepinos	p-MB	0.02	50
	Mitosomas de hígado de rata	p-MB	0.01	100
	Sarcosomas de corazón de rata	p-MB	0.01	33
	Hígado de cerdo	Hg <sup>++</sup> p-MB	0.1 0.1	100 97
	Corazón de cerdo	Hg <sup>++</sup>	0.005 0.02	12 100
		p-MB	0.02 0.1	40 100
	Corazón de res	p-MB	0.1	100
NADH-CoQ oxidoreductasa	Corazón de res	p-MPS	0.006	100
NADH-citocromo c oxidoreductasa	Bacillus cereus	p-MB	0.01	49
	E. coli	p-MB	0.01	81
	Proteus vulgaris	Hg <sup>++</sup> p-MB	0.1 0.0033	94 100
	Hígado de cerdo	Hg <sup>++</sup> p-MB p-MPS PW	1 0.01 0.01 0.1	100 97 97 98
	Hígado de res	p-MB	0.1	100
	Músculo de rata	p-MB	0.1 0.5	60 100

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración (mM)	% de Inhibición
	Corazón de cordero	p-MB	0.1	100
	Corazón de res	p-MB	0.0005	27
			0.001	56
NADH-DCPIP oxidoreductasa	Hígado de rata	p-MB	0.1	45
			1	85
	Hígado de cordero	p-MB	0.01	85
		p-MPS	0.01	85
		PH	0.1	87
	Corazón de res	p-MB	0.0005	31
			0.001	40
			0.01	55
NADH:Flavínmonooxidasa	<i>Streptococcus faecalis</i>	Hg**	0.01	21
		p-MB	0.33	20
	Hígado de cordero	p-MB	0.02	50
			0.2	100
NADH:quinona oxidoreductasa	Hígado de cordero	p-MB	0.17	50
		Mercurial	0.07	50
NADPH:citocromo c oxidoreductasa	<i>Neurospora crassa</i>	p-MB	0.0001	9
			0.01	100
	Cloroplastos de espinaca	p-MB	0.8	57
			5	91
	Hígado de cordero	p-MB	0.0016	43
			0.002	87
			0.003	97
	Corazón de res	p-MB	1	12
NADPH:metahemoglobina oxidoreductasa	Eritrocitos humanos	p-MB	0.01	20
	Eritrocitos de conejo	p-MB	0.5	1
			1.65	45
NADPH oxidasa	Hígado de conejo	Hg**	0.01	2
			0.2	78
	Eritrocitos humanos	p-MB	0.03	60

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración % de Inhibición [mM]		
Neuraminidasa	Embrión de pollo (coro-afantoideas)	p-MB	0,0005	0	
			0,005	30	
			0,05	93	
		MM	0,005	0	
			0,05	87	
Oxalil transferasa	Hígado de rata	p-MB	0,0001	56	
Oxalosuccinato descarboxilasa	Corazón de cerdo	p-MB	0,00004	50	
Fenilalanina desaminasa.	Cebada	Hg <sup>++</sup>	0,01	100	
		p-MPS	0,01	100	
Fosfoenolpiruvato carboxilasa	Nocardia corallina	p-MB	0,025	100	
		Levadura	p-MB	0,1	98
Fosfofructocinasa	Chicharos	Hg <sup>++</sup>	5	96	
3-Fosfoglicerato	Músculo de conejo	p-MB	0,025	50	
dehidrogenasa	de conejo	PM	0,02	50	
Fosfoglicerato mutasa	Músculo de conejo	Hg <sup>++</sup>	0,1	100	
		p-MB	0,05	100	
Fosfoevalonato cinasa	Hígado de cuy	p-MB	0,1	100	
Fosforilasa	Papas	Hg <sup>++</sup>	0,1	65	
			p-MB	2,5	51
		p-MB	Músculo de langosta	0,01	100
			Músculo de conejo	p-MB	0,001
Fosforibosil amidotransferasa	PP Hígado de pollo	p-MB	0,025	45	
Fosfoserina fosfatasa	Hígado de pollo	p-MB	0,0011	0	
			0,011	85	
			0,11	100	

Tabla 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración	% de Inhibición	
			[mM]		
Propionil CoA carboxilasa	Hígado de res	p-Hg	0.0001	0	
			0.001	42	
			0.01	100	
	Corteza de cacao	p-Hg	0.01	100	
Proteína disul- furo reductasa	Chicharos	Hg**	0.002	92	
		p-Hg	0.054	88	
Piruvato carbo- xilasa	Hígado de pollo	Hg**	0.001	41	
			0.01	87	
		PH	0.01	81	
Piruvato descarboxilasa	Acetobacter suboxidans	Hg**	0.2	95	
		p-Hg	0.2	95	
		Hg**	0.2	100	
		p-Hg	0.36	100	
		p-Hg	0.0014	50	
	Levadura	Hg**	0.00235	20	
			0.0094	82	
Piruvato dehidrogenasa	Clostridium pasteurianum	p-Hg	0.1	100	
	Mycobacterium tuberculosis	p-Hg	1	0	
Piruvato cinasa	Levadura	p-Hg	0.01	100	
		Hg**	0.01	60	
		humanos	0.1	94	
		p-Hg	0.01	0	
			0.1	100	
Piruvato oxidasa	Proteus vulgaris	p-Hg	0.4	100	
		Hg**	0.01	100	
		p-Hg	0.11	82	
		Háculo de paloma	Hg**	0.1	25
		Cerebro de paloma		0.2	65
		0.3	85		
	Corteza de perro	p-Hg	0.1	52	

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Metabolito	Concentración	% de Inhibición
			(mM)	
Rivoglavin cinasa	Phaseolus radiatus	Hg <sup>**</sup>	0.01	52
Ribosa isomerasa	Germen de trigo	p-MB	0.5	96
Ribosa 5P isomerasa	Echinococcus granulosus	p-MB	0.00052	24
			0.001	61
			0.0052	95
	Hojas de capi- naca	p-MB	0.22	20
			0.44	45
	Eritrocitos humanos	p-MB	0.1	95
		Mensalil	0.02	35
	Músculo de conejo	p-MB	0.1	100
Ribulosa 5P cinasa	Hojas de capi- naca	Hg <sup>**</sup>	0.00002	33
			0.00005	64
			0.0005	100
		p-MB	0.00015	77
			0.00036	87
			0.007	100
Succinato dehidrogenasa	Micrococcus lactilyticus	p-MB	0.03 μmol/mg	52
			0.15 μmol/mg	77
			0.90 μmol/mg	100
	Mycobacterium avium	p-MB	0.75	90
	Proteus vulgaris	p-MB	1	100
	Rhizobium japonicum	p-MB	0.02	95
			0.05	100
	Phaseolus vulgaris	p-MB	0.01	75
	Papas	PH	0.001	33
			0.01	33
			0.1	95

TABLE 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración % de Inhibición [mM]	
	Huevos de	PH	0.1	35
	ostra		1	97
	Músculo de	Hg <sup>++</sup>	0.012	50
	paloma	p-MB	0.05	74
	Hígado de	Hg <sup>++</sup>	5	95
	kata	p-MB	0.5	93
	Riñon de	p-MB	0.001	50
	kata			
	Corazón de	p-MB	0.04	50
	kata	Mercurial	0.015	50
			0.04	90
	Corazón de	p-MB	0.0005	41
	tes		0.001	76
Succinato semialdehído deshidrogenasa	Pseudomonas aeruginosa	Hg <sup>++</sup>	0.1	80
		p-MB	0.01	93
	Cerebro de	p-NPS	0.001	50
	kata			
Treonina deshidrogenasa	Hígado de kata	p-MB	0.01	100
Transaminasa alanina: α-cetoglutarato	Hígado de kata	p-MB	0.001	9
			0.0025	45
			0.005	82
			0.01	93
	Corazón de	p-MB	0.055	100
	cerdo			
	Cerebro de	p-NPS	1	74
	kata			
Transaminasa aspartato: α-cetoglutarato	Coliñon	p-MB	0.5	50
	Hígado de	p-MB	0.1	27
	kata		0.5	77
	Corazón de	p-MB	0.05	99
	cerdo.			

TABLE 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración % de Inhibición (mM)			
Transaminasa glutamina:piruvato	Hígado de rata	p-HB	0.01	10		
Transaminasa glicina:aceto-glutarato	Hígado de rata	p-HB	0.5	0		
Transacetolasa	Hígado de cerdo	Hg <sup>**</sup>	0.005	7		
			0.2	40		
		p-NPS	0.2	72		
			0.025	6		
			0.25	16		
Triptofanasa	<i>E. coli</i>	Hg <sup>**</sup>	0.001	20		
			0.01	95		
		p-HB	0.05	100		
UDP-glucosa deshidrogenasa	Semillas de chícharos	p-HB	0.001	55		
			Hígado de becerro	p-HB	0.0001	27
				0.0002	43	
				0.0003	69	
				0.0004	72	
				0.0005	93	
UDP-glucuronil transferasa	Hígado de ratón	p-HB	0.4	100		
			7M	0.4	100	
Ureasa	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Hg <sup>**</sup>	0.00016	90		
			0.0008	93		
			0.004	97		
		Folfol	Hg <sup>**</sup>	0.0016	15	
				0.0032	33	
Ureasa	Hosca	p-HB	0.0064	65		
			0.1	96		
		Hg <sup>**</sup>	0.002	22		
Uroporfobilinógeno	Reticulocitos de conejo	p-HB	0.7	98		

TABLA 12 (Continuación)

Enzima	Fuente	Mercurial	Concentración (mM)	% de Inhibición
Xantina deshidrogenasa	Hígado de pollo	p-HB	0.0007	90
Xilanasas	<i>Periculinia oxyzae</i>	p-HB	0.01	100
Xilulocinasa	<i>Aerobacter aerogenes</i>	Hg <sup>++</sup>	0.002	38
			0.02	51
			0.2	85
		p-HB	0.001	48
			0.1	68
			2.5	85
			1	74

grado de inhibición de los mercuriales depende de un gran número de factores particularmente importantes como: pH, temperatura, composición del medio, período de incubación con el inhibidor y presencia de impurezas. Entonces esta tabla nos proporciona, de una manera somera, información sobre las sensibilidades relativas de las más importantes enzimas, y presentan unas bases experimentales para la apreciación de la falta de especificidad de los mercuriales cuando se usan en preparaciones celulares complejas.

Es difícil encontrar enzimas que son insensibles a los mercuriales. Las siguientes enzimas deben ser consideradas como relativamente resistentes, (<10% de inhibición a  $10^{-6}$  o más): adenilato cinasa, la mayoría de las fosfatasas alcalinas,  $\alpha$ -amilasa, celobiasa, coagulasas, coproporfinógeno oxidasa, dinitrofenol reductasa, elastasa,  $\beta$ -glicerofosfatasa, glicolato oxidasa, ciertas lipasas, maltasa, neuraminidasa, nitritoreductasa, oxalato descarboxilasa, pepsina, peroxidasa, fosfolipasas, muchas proteasas y peptidasas, algunas pirofosfatasas, la mayoría de las RNasas y DNasas, ciertas sulfitasas, tiamina difosfatasa, y uricasa.

#### Comparación de mercuriales.

De los reportes hechos sobre inhibición enzimática en el 25% se han usado  $Hg^{++}$  y p-HB produciéndose una inhibición del 100%. Se debe admitir que el  $Hg^{++}$  es más potente que p-HB porque: 1) Es más pequeño y por lo tanto debe de ser más capaz para penetrar y reaccionar con grupos SH inaccesibles a las moléculas más grandes y 2) pudiera posiblemente en algunos casos inducir la dimerización de la enzima [o aún polimerización], ya que es bifuncional.

Existen razones para creer que mercuriales alquillícos más pequeños descargados, como el HM, deben ser mejores para el estudio que cualquier otro mercurial, pero hasta el momento es poca la comparación hecha para hablar de su relativa efectividad.

### Inhibición de la ATPasa.

Los resultados de las acciones de los mercuriales sobre la ATPasa no se incluyen en la tabla 12 porque son complejas, particularmente los efectos de mercuriales sobre la ATPasa mitocondrial y miosina son de importancia en el trabajo sobre la fosforilación oxidativa y contracción del músculo respectivamente. Algunas de las inhibiciones reportadas de la ATPasa se muestran en la tabla 13. La variación de resultados se debe a las diferentes fuentes de la enzima y condiciones de los experimentos. La figura 11 muestra la inhibición o estimulación dentro de un cierto rango de pH. Se observa la simetría de la curva para la ATPasa de la miosina, la máxima estimulación ocurre a un pH alrededor de 7.5 debido probablemente a cambios en grupos ionizables en o cerca del centro activo, mientras que la curva de la ATPasa mitocondrial es más compleja quizás por factores adicionales relacionados a la estructura mitocondrial o a efectos de componentes intramitocondriales sobre la ATPasa.

Es conveniente hacer notar en estos trabajos de inhibición hay que tomar en cuenta dos factores: primero, la reacción de los primeros grupos SH no conduce a la inactivación inmediatamente y segunda, esta reacción inicial reduce la concentración de mercurial así es que los grupos que reaccionan más lentamente son expuestos a mucha más baja concentración que la que fue originalmente añadida.

TABLA 13  
Inhibición de ATPasas por los Mercuriales.

Tejido	Preparación	Fuente	pH	Mercurial	Concentración (mM)	% Inh.
Noja	Cloroplastos	Espinaca	7.5	p-HB	0.1	62
Epermatozoides	Enzimas de la cola	<i>Mytilus edulis</i>	8.6	p-HB	0.1	67
Animal completo		Mosquito	7.4	p-HB	0.1	0
Organo elctri- co	Microsomal (K <sup>+</sup> -Na <sup>+</sup> )	Anguila	7.1	p-HB	0.1	96
Riñon	Retículo endoplasmico	Rata	6.1	Mercaptomenina	3.4	45
			6.6			43
			7.2			33
			7.9			20
			8.2			17
			8.1	Mercuride	12.1	0
			7.1			22
			7.9			38
Extracito	Estroma	Humano	7.4	p-HB	0.04	50
			7.5	Hg <sup>++</sup>	4.7	100
			7.4		0.00125	50
	Membrana	Pollo	7.4	p-HB	0.025	65
Páncreas	Enzima puri- ficada	Res	5.8	p-HB	1	40
Higado	Mitocondria	Rata	7.4	p-HB	0.5	73
			7.4	p-HB	0.05	87
					0.1	99
			7.4	PH	0.003	70
	Fragmentos mitocondriales	Ratón	7.5	p-HB	3	35
Cerebro	Suspensión	Rata	7.4	Hg <sup>++</sup>	0.0025	8
	Membrana (K <sup>+</sup> -Na <sup>+</sup> )	Res	7.6	p-HB	0.01	53
Corazón	Fragmentos mitocondriales	Res	7.4	p-HB	0.5	0

TABLA 13 (Continuación)

Tejido	Preparación	Fuente	pH	Mercurial	Concentración % TNH. (mM)	
Músculo	Mitocondria	Paloma		PM	1.67	82
	Fragmentos mitocondriales	Conejo	6.8	Hg <sup>++</sup>	0.0005	11
					0.001	68
					0.002	94
	Homogenado	Conejo	6.8	p-HB	4	77
	Miosina	Cucanacha	7.4	p-HB	0.005	7
					0.01	40
					0.05	82
					0.1	89
		Neaca	7.4	p-HB	0.1	0
					0.5	40
				1	57	

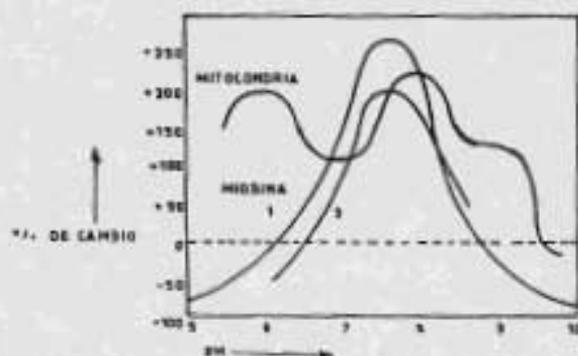


FIG. 13 EFECTOS DEL pH SOBRE LA ACCIÓN DE LA ATPASA MITOCONDRIAL TRATADA CON EDTA, ATPASA DE MISOCONIA (CURVA 1) CON  $\mu\text{MOL/L}$  DE  $\text{MgSO}_4$  Y CURVA 2 CON  $200 \mu\text{MOL/L}$  DE  $\text{MgSO}_4$

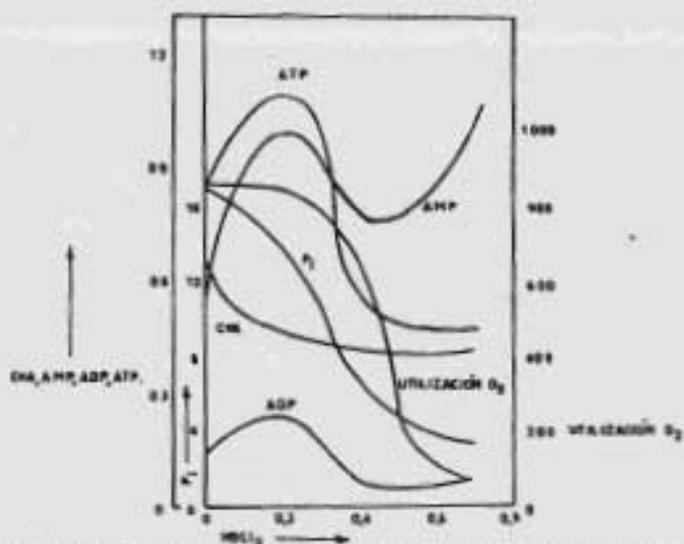


FIG. 14 EFECTOS DEL  $\text{pH}$  SOBRE LA RESPIRACIÓN Y LOS NIVELES DE SUSTANCIAS EN LA LEVADURA, LAS CONCENTRACIONES SE DAN EN  $\mu\text{MOL/L}$  PESO SECO.

## TRANSPORTE DE ELECTRONES Y FOSFORILACIÓN OXIDATIVA.

La mayoría de las deshidrogenasas son bastante sensibles a los mercuriales y una inspección a la tabla 12 muestra que el 50% de la inhibición se produce generalmente por concentraciones de 0.001-0.05 mM. Si definimos la NADH deshidrogenasa como un componente enzimático responsable de la transferencia de electrones a una variedad de aceptores, debe ser puesta en la misma categoría con respecto a sensibilidad a la NADH-citocromo c reductasa que es aún más susceptible. Se atribuye la inhibición de varias oxidaciones por los mercuriales a una acción al comienzo de la cadena de transporte de electrones:

El esquema de la inhibición de la secuencia de transporte de electrones se puede resumir en las siguientes cuatro categorías: 1) la actividad de la citocromo oxidasa, determinada por la oxidación de ascorbato, es inhibida muy potentemente, el 50% de la depresión se observa con 0.006-0.012 mM PH y 0.032 mM p-NB. 2) la succinato oxidasa es mucho más sensible a los mercuriales que la succinato deshidrogenasa. 3) Las inhibiciones de la citocromo oxidasa y succinato oxidasa no son revertidas por tioles. Esto haría pensar que la inhibición no involucra grupos SH pero como hemos visto esto no es válido. 4) Ninguna evidencia de reacción de mercuriales con ascorbato o citocromo c se han obtenido por espectroscopía o técnicas de preincubación.

Hay diferentes formas para explicar la inhibición diferencial de la oxidasa y deshidrogenasa del succinato. Ya que las actividades de estos dos sistemas se determinan en forma muy diferente (la deshidrogenasa generalmente por la reducción del azul de metileno y la oxidasa manométricamente) uno debería preguntarse si esto pudiera influir en las sensibilidades observadas. La actividad de la deshidrogenasa asociada con la reducción del azul de metileno no debe ser exactamente la misma que la asociada a la transferencia normal de electrones a los citocromos, ya que puede ser diferente el sitio sensible a los mercuriales. Una situación comparable se presenta en el caso de

la NADH deshidrogenasa, NADH citocromo c reductasa y NADH oxidasa en la que los métodos de detección nos hacen tener reservas en cuanto a las conclusiones.

#### Fosforilación Oxidativa.

Los resultados se resumen en la tabla 14 mostrando que los mercuriales no son particularmente específicos o desacopladores efectivos de la fosforilación oxidativa en la mitocondria. Es interesante ver que dosis altas de diuréticos mercuriales y  $HgCl_2$  pueden amenudo reducir el radio P:O, en mitocondrias de riñones extirpados, varias horas después de la administración, sin simultáneamente afectar la fosforilación oxidativa en el hígado, pero esto es indudablemente debido a la alta concentración del mercurial en el riñón. El radio P:O es, sin embargo, no alterado significativamente por dosis ordinarias del diurético, así que es cuestionable si la acción se relaciona a la diuresis.

El intercambio  $P_4^{32}$ -ATP es inhibido potentemente por mercuriales en mitocondrias obtenidas de mosquito, hígado de cerdo e hígado de rata. Los intercambios  $ADP^{32}$ -ATP y  $ADP-C^{14}$ -ATP son también inhibidos pero quizás no tan fuertemente. Estas reacciones de intercambio están relacionadas íntimamente con la fosforilación oxidativa. Además, Madkins y Lehninger (1958) postulan que el intercambio  $P_4$ -ATP es una medida de dos reacciones terminales en la fosforilación oxidativa:



donde X es quizás la proteína enzimática, mientras que el intercambio  $ADP$ -ATP mide únicamente la última reacción. Sugieren también que los mercuriales inhiben esta última reacción principal-

TABLA 14  
Efectos de los Mercuriales sobre la Fosforilación Oxidativa en Preparaciones Mitocondriales.

Fuente	Sustrato	Mercurial	Dosis o concentración (mM)	Efecto sobre la rel. P:O
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	NADH	p-HB	0.01	0.33 → 0.27
			0.1	0.33 → 0.67
Papa dulce	Citrato	p-HB	0.01	2.21 → 2.23
Hígado de rata	Malato	Mersalil	Dosis tóxica	Ningún efecto
	Colina	p-HB	0.05	Disminuye
	p-OH-butirato	Hg <sup>**</sup>	0.1	2.7 → 0
	Succinato	Hg <sup>**</sup>	0.033	1.64 → 1.68
Riñón de rata	Piruvato	Hg <sup>**</sup>	0.056	0.43 → 0.22
	Malato	Mersalil	0.027 mmol/kg	Ningún efecto
		Mercaptome	10.7 mgHg/kg	0.57 → 0.16
		Acina	16.7 mgHg/kg	0.55 → 0.097
	Glutamato	Clohexo- drina	10 mgHg/kg	Ningún efecto
	α-Cetoglutarato	Hg <sup>**</sup>	3 mgHg/kg	2.1 → 1.1
Cerebro de ratón	Piruvato	p-HB	0.03	Ningún efecto
Corazón de res	Succinato	p-HB	0.01	-79%

mente. Si los mercuriales actuaran solamente sobre la transferencia de fosfato al ATP deberían ser buenos desacopladores, pero sus acciones a la vez en la cadena de transporte de electrones limita su eficiencia.

#### ✓ FERMENTACIÓN Y GLICÓLISIS

La primera impresión del panorama de los estudios de la acción del mercurial sobre la fermentación y glicólisis es que estas fases son amenudo sorprendentemente insensibles a este grupo de inhibidores. En muchos casos se requiere de concentraciones de más de 1mM para reprimir la glicólisis considerablemente en sistemas celulares. En la tabla 12 se muestra que varias enzimas de la vía Embden-Meyerhof son significativamente inhibidas por mercuriales, por ejemplo: hexocinasa, aldolasa, 3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa, concentraciones de 0.001-0.05 mM generalmente inhiben el 50% o más en músculo, aunque poco se sabe de las sensibilidades de enzimas de levadura. Como varias enzimas de la vía son susceptibles debería anticiparse que la inhibición secuencial por mercuriales en concentraciones arriba de 0.05 mM produciría una muy fuerte depresión del  $\text{CO}_2$  anaeróbico o formación de lactato. Se plantean tres explicaciones a esto: 1) Los mercuriales no penetran dentro de la célula rápidamente, 2) Las enzimas glicolíticas son protegidas en la célula (por ejemplo por sustratos o coenzimas), y 3) La gran cantidad de material no enzimático en preparaciones celulares une mucho del mercurial. Cleland (1949) encontró que 1mM PH inhibe la glicólisis en huevos de ostra sólo el 17% en 0-45 min y 48% en 45-90 min, mientras que la glicólisis en homogenado de huevo (con glicógeno, ATP, y NAD adicionados) es completamente bloqueado. Estos resultados indican la deficiente penetración por el mercurial, pero las otras dos explicaciones dadas arriba contribuyen de alguna manera en una cierta extensión.

### Fermentación por Levadura.

Desde el primer trabajo de Schultz (1888), quien reportó una estimulación inicial de la fermentación a bajas concentraciones de  $Hg^{++}$  (0.005-0.008 mM) e inhibición por altas concentraciones ( $>0.01$  mM), han habido muchos estudios de fermentación de levadura con resultados variables. La discrepancia de los resultados es debida a las diferentes densidades de las suspensiones de levadura usadas, el medio empleado y el estado de la levadura (lo cual afecta su actividad fermentativa).

### Glicólisis del Músculo.

Los resultados obtenidos sobre la glicólisis del músculo con mercuriales han sido bastante inconsistentes y aún más difíciles de explicar que aquellos con levadura.

El único estudio serio de la glicólisis del músculo fue hecho por Bailey y Marsh (1952) sobre homogenado de músculo de conejo. Aquí el p-HB produce una inhibición definitiva (ver tabulación siguiente), pero la concentración es tan alta que

	Control	p-HB 4mM
$\Delta pH$	-0.18	-0.08
$\Delta$ fructuosa-díP	+27	+6
$\Delta$ Tríosa-P	+3	-1
$\Delta$ ATP	-14	-5
ATP resíntesis	45	13
Inhibición de ATPasa		77%

es notorio que la inhibición no es mucho más grande. Todos estos resultados sobre músculo intacto parecen ser incompatibles con la demostración de Demis y Rothstein (1955) en que la utilización de glucosa por el diafragma es muy sensible a  $Hg^{++}$ , siendo completamente inhibida a 0.1 mM. Sin embargo, la respiración y la formación anaeróbica de lactato, siendo dependiente de sustrato endógeno, son mucho menos sensibles y sólo lentamente inhibidas.

La estimulación de la glicólisis por los mercuriales no está confinada a las levaduras y músculo. El  $Hg^{++}$  debajo de 0.11 mM estimula la glicólisis en sangre de cuy y se inhibe en altas concentraciones, mientras que en sangre humana el  $Hg^{++}$  estimula la glicólisis anaeróbica de 0.0185 a 1.85 mM aunque a 18.5 mM hay una inhibición casi completa. La utilización de glucosa, el desprendimiento de  $CO_2$  y la formación de lactato en eritrocitos humanos son estimulados por p-MB arriba de 5  $\mu$ moles/ml de eritrocitos. No existe hasta ahora explicación evidente.

#### CICLO DEL ACIDO TRICARBOXILICO.

Si se toma en cuenta el análisis de los efectos de los mercuriales sobre el ciclo o sobre la operación de la mitocondria que se han hecho, se podría predecir una potente inhibición en base a las sensibilidades de las enzimas individuales. Concentraciones del mercurial cercanas a 0.01 mM deprimirán varias enzimas muy significativamente (por ejem. piruvato oxidasa, isocitrato deshidrogenasa, acetoglutarato oxidasa, succinato deshidrogenasa, etc.) y concentraciones del orden de 0.1 mM lo bloquearán completamente. Sin embargo hemos visto que en la glicólisis no ocurre lo mismo, por lo que se deben tomar precauciones al considerarlo. La utilización de piruvato y acetato por una gran variedad de preparaciones celulares y subcelulares se ha demostrado que es rápidamente inhibida por mercuriales (ver tabla 15), pero en ningún caso fue la operación del ciclo completamente probada, así es que la inhibición completa debe ser sobre la reacción enzimática inicial (piruvato oxidasa o acetato cinasa).

Para estudiar los efectos de los mercuriales sobre el ciclo, el Dr Yang examinó los efectos del  $Hg^{++}$  sobre la utilización de  $O_2$  por mitocondria de corazón de conejo. Los cambios a los 60 min son los siguientes:

TABLA 15  
 Inhibición de las Oxidaciones de los Sustratos del Ciclo por  
 Mercuriales.

Preparación	Sustrato	Mercurial	Concentración (mM)	% de Inhibición
<i>Acetobacter melanogenum</i>	Piruvato	p-Hg	0.1	100
<i>Escherichia coli</i>	Piruvato	Hg <sup>++</sup>	0.033	100
Mitocondria de papa dulce	Citrato	p-Hg	0.1	13
Suspensión de hígado de pollo	Piruvato	p-Hg	0.5	90
Mitocondria de hígado de cuy	Glutamato	p-Hg	0.03	10
Mitocondria de hígado de rata	Glutamato	p-Hg	0.1	49
Mitocondria de corazón de rata	Piruvato	p-Hg	0.01 0.05	19 100
Mitocondria de cerebro de rata	Piruvato	p-Hg	0.03	27
Corazón de conejo des- menzado	Acetato	p-Hg	0.25 0.5 1	24 33 95

Sustratos	% de cambio de $Hg^{++}$ en			
	0.001 mM	0.003 mM	0.01 mM	0.1 mM
Piruvato+malato	-10	-	-79	-99
$\alpha$ -cetoglutarato	+4	+5	-74	-100
Succinato	0	+5	-41	-100
Malato	-6	-	-79	-99

Estos datos muestran claramente que varios pasos del ciclo son inhibidos fuertemente cuando la concentración va de 0.003 mM a 0.01 mM, y que en 0.1 mM la actividad del ciclo es esencialmente completamente bloqueada.

#### RESPIRACION.

Los efectos de los mercuriales sobre la utilización de  $O_2$  por tejidos, varía considerablemente y depende del mercurial usado, del sustrato, del pH, de las especies y de muchos otros factores (tabla 16). Un factor el cual es poco conocido y que podría ser muy importante es el grosor del tejido cuando la preparación es un corte o una sección, ya que posiblemente el mercurial no penetra igualmente sobre las capas celulares más externas.

Existen varios ejemplos en los que se estimula la respiración por los mercuriales, más amenudo a baja concentración, pero en un caso la respiración de la levadura en forma endógena, la estimulación aparece sólo a altas concentraciones de 1-2 mM. Se podría postular en estos casos que los mercuriales pudieran incrementar la permeabilidad de la membrana para que los sustratos puedan entrar a las células más rápidamente. Como hemos visto que los mercuriales reducen el radio  $P:O$  en varios sistemas aislados, es posible que en la célula una acción desacoplante incremente la utilización de  $O_2$  dentro de ciertos límites de concentración, y también es posible que los mercuriales por medio de un efecto a nivel membrana altere movimientos de iones y concentraciones, y secundariamente se produzca estimulación

TABLE 16  
Inhibición de la Respiración por los Mercuriales.

Organismo	Preparación	Sustrato	Mercurial	pH	Conc. (mM)	% Inh.	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Suspensión	Glucosa	Hg <sup>++</sup>	7.0	0.0037	~80	
				7.4	0.08	50	
			Tiomersol	7.4	0.045	50	
<i>Bacterium lactis</i>	Suspensión	Glucosa	Hg <sup>++</sup>	7.0	0.0022	~65	
<i>Brevibacterium flavum</i>	Suspensión	Glucosa	p-HB	7.0	1	100	
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	Suspensión	Succinato	PH	7.0	0.015	50	
<i>Aspergillus niger</i>	Suspensión	Sacarosa	Hg <sup>++</sup>	7.2	0.2	65	
<i>Trichophyton rubrum</i>	Suspensión	Ninguno	Hg <sup>++</sup>	4.6	1	28	
				10	79		
			PH	4.6	0.45	40	
<i>Levadura</i>	Suspensión	Glucosa	Hg <sup>++</sup>	-	0.009	0	
				0.018	28		
				0.037	100		
				PH	7.2	0.032	90
				p-MB	4.5	0.01	5
		0.05	34				
		0.1	70				
		1	100				
		Ninguno	p-HB	4.5	0.1	20	
		0.5	40				
1	75						
<i>Schizophyllum commune</i>	Sedimentos miceliales	Glucosa	Hg <sup>++</sup>	7.0	2	100	
				7.0	0.3	10	
			1.25	95			
			PH	7.0	0.1	97	

TABLA 16 (Continuación)

Organismo	Preparación	Sustrato	Mercurial	pH	Conc. (mM)	% Inh.
Cuy	Cortes de riñón	Glucosa	Hg <sup>++</sup>	--	0.0037	10
					0.037	63
					0.37	100
Ratón	Hucosa gástrica	Glucosa	p-MB	7.4	0.178	13
					0.71	26
					1.41	54
Rata	Mitochondria de hígado	$\beta$ -OH butírico	Hg <sup>++</sup>	7.4	0.1	99
	Cortes de riñón	Ninguno	Mercaptomecina	7.4	0.08	11
					0.18	22
					0.37	29
					1	31
	Diáfragma	Glucosa	p-MB	6.8	1	15
			Hg <sup>++</sup>	7.4	0.5	0
					2	90
	Cortes de corazón	Glucosa	Maralunide	7.4	5.8	57
	Conejo	Corazón desmenuzado	Acetato	p-MB	7.4	0.25
					0.5	83
					1	95
Cortes de riñón		Glucosa	Hg <sup>++</sup>	7.4	0.33	0
				1	22	
Borrego	Cortes de riñón	Glucosa	Hg <sup>++</sup>	7.4	1	77
			p-MB	7.4	1	88
			PH	7.4	1	81

metabólica, pero no hay evidencia directa de ninguno de estos mecanismos.

Una serie de experimentos indican que la inhibición de la respiración no implica una reducción en la utilización de glucosa: En el diafragma, 1 mM p-NB deprime la utilización de  $O_2$  un 15%, disminuye el contenido de glicógeno, y todavía incrementa la utilización de glucosa en algo. En la mayoría de los casos (por ejem. levadura y *Chlorella*), la utilización de glucosa es más sensible que la respiración endógena a los mercuriales, pero esto no ha sido suficientemente estudiado.

Poco se conoce acerca de los efectos de los mercuriales en la vía de las pentosas u otras rutas de la degradación de la glucosa. En extractos crudos de *Pseudomonas* convirtiendo 6-P gluconato a 3-fosfogliceraldehído y piruvato, el p-NB a 1 mM lo inhibe completamente. El sitio de la inhibición no es claro, pero es presumiblemente no sobre la dehidrasa del 6-P gluconato, la cual se ha purificado y se ha visto ser poco sensible al p-NB. La utilización de pentosa-P por extractos de *Lactobacillus brevis* es inhibida sólo un 10% por 0.1 mM de p-NB. No hay datos que comparen las relativas sensibilidades de las vías de Embden-Meyerhof y pentosa monofofato.

#### SINTESES DE LIPIDOS.

La larga secuencia de reacciones en la biosíntesis de esteroides parece fuertemente inhibida por mercuriales en diferentes sitios. La incorporación total de mevalonato- $C^{14}$  por *Lactobacillus casei* a las 4 hrs es inhibida en un 50% por 0.1 mM de p-NB y 96% por 1 mM. La conversión de farnesil-P-P y mevalonato a escualeno por varias fracciones de hígado de rata se deprime en un 50% por p-NB, p-NPS, y  $Hg^{++}$  a concentraciones cercanas a 0.05 mM y es completa arriba de 0.1 mM. La conversión posterior del escualeno a esteroides es un 97% bloqueada por 0.33mM de p-NB. Las enzimas sensíbles son probablemente todas localizadas en los microsomas.

La biosíntesis de ácidos grasos del acetato en homogenados de glándula mamaria se inhiben un 95% por 0.1 mM de  $Vg^{++}$  y de acetyl-CoA y malonil CoA en fracciones purificadas de hígado de paloma un 95% por 0.075 mM de p-NB. La inhibición es probablemente al principio de la secuencia. La oxidación de ácidos grasos es potentemente inhibida por mercuriales, y un sitio probable es la activación inicial por ATP (con o sin CoA), catalizada por la tiorcinasa de ácidos grasos, ya que es completamente inhibida por 0.1 mM de p-NB.

Las acciones directas de los mercuriales sobre la biosíntesis de lípidos combinada con otras acciones las cuales secundariamente inhiben estas vías, por ejem. las reacciones con la coenzima A o la reacción del ATP utilizable, debe conducir a una interferencia seria y la formación de ácidos grasos y esteroides en microorganismos proliferativos y contribuir a la supresión del crecimiento, y es interesante especular si juegan un rol en la intoxicación crónica por mercuriales en animales.

#### SINTESIS DE PROTEINAS.

La síntesis de proteínas no es particularmente sensible a los mercuriales. Todos los resultados no indican contundentemente la exacta sensibilidad de la síntesis de proteínas por los mercuriales, sólo algo sorprendente que hay que tomar en cuenta es que deben ser usadas concentraciones altas para inhibirla efectivamente.

#### SINTESIS DE PORFIRINAS

La formación de porfirinas de glicina y acetoglutarato por *Rhodospseudomonas spheroides* es completamente bloqueada por 0.04 mM de p-NB, y de aminolevulinato por 0.1 mM. La formación de aminolevulinato de glicina, fosfoenolpiruvato, y succinil-CoA es completamente prevenida por 0.44 mM de p-NB. Esto

indicarla que los pasos pre y post aminolevulinato son vulnerables. La condensación de porfobilinógeno a uroporfobilinógeno es casi totalmente bloqueada por 0.02 mM de  $Hg^{++}$  y 0.1 mM de p-MS, y la subsecuente conversión de uroporfobilinógeno a coproporfobilinógeno es otra vez esencialmente bloqueada por 0.012 mM de  $Hg^{++}$  y 0.7 mM p-MS. La incorporación de  $Fe^{++}$  en la porfina para formar el heme no es tan sensible. Otra vez se puede especular que una depresión de la síntesis de porfirinas puede ser de alguna importancia en estudios de crecimiento o intoxicación crónica.

### Bioluminiscencia

Houch (1942), estudió los efectos de la luminiscencia de *Achromobacter fischeri*. Las condiciones estándar fueron: pH 7.3, temperatura 25°, 25 mM de glucosa como sustrato, y una suspensión de  $4 \times 10^8$  células/ml. Ambas respiración y luminiscencia de estas células se inhibe potentemente por  $Hg^{++}$ , la última siendo más sensible (fig. 13). La velocidad de inhibición es mucho más rápida que con la mayoría de las actividades celulares, la inhibición máxima media se alcanza a los 30-40 seg (fig. 14). Los efectos de la densidad celular en las inhibiciones es muy fuerte (fig. 15). Actualmente por este trabajo no se puede localizar el sitio de inhibición, ni se puede saber si es sobre las reacciones de bioluminiscencia, sino que interfieren la utilización de glucosa u oxidación, o el aporte de ATP podría ser responsable.

### FOTOSÍNTESIS Y FOTOFOSFORILACION.

La fotoreducción de varios colorantes en cloroplastos aislados o grana (reacción de Hill) es muy sensible. En cloroplastos de espinaca se inhibe un 90% por 0.005 mM de  $Hg^{++}$ . La reducción del colorante puede estar mediada por el NADPH, el cual es el aceptor inicial. La NADP reductasa fotosintética de espinaca

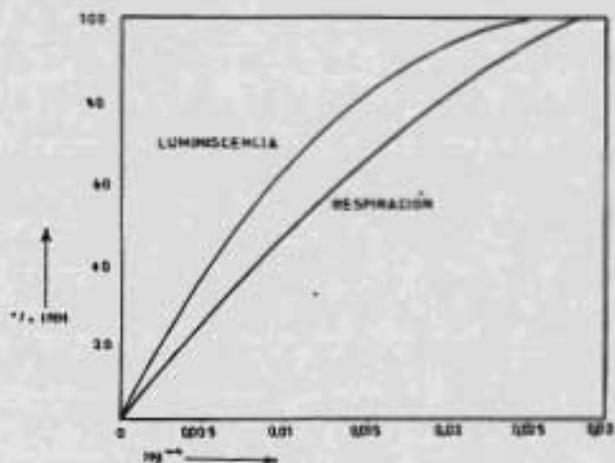


FIG 13 EFECTOS DEL H<sub>2</sub>S SOBRE LA RESPIRACION Y BIOLUMINISCENCIA DE ACHROMOBACTER.

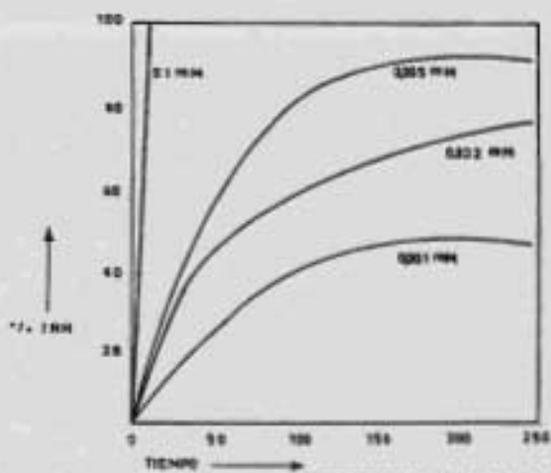


FIG 14 EFECTOS DEL H<sub>2</sub>S A DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE LA LUMINISCENCIA DE ACHROMOBACTER.

se inhibe un 50% por 0.012 mM y 90% por 0.016 mM p-MB, y la fotoreducción del NADP en cloroplastos es inhibida en forma similar, aunque ligeramente menos potentemente. La fotoreducción del citocromo c y del NADP por las enzimas del cloroplasto se reduce en un 50% por 0.004 mM de p-HPS. Finalmente, la dióxigenasa del NADP del cloroplasto, posiblemente involucrada en la reducción de los colorantes de Hill por NADPH, es inhibida un 53% por 0.023 mM de  $Hg^{++}$  y 50% por 0.13mM de p-MB. Los cambios iniciales foto-reductivos son potentemente inhibidos por mercuriales, y esto debe ser ciertamente un sitio de acción sobre toda la fotosíntesis.

La fotofosforilación para formar ATP no está necesariamente acoplada con la reducción de NADP, pero aún así uno debería predecir que sería reducida por mercuriales. Se ha encontrado que la incorporación de  $P_i$  en ATP en cloroplastos iluminados se inhibe en un 50% por p-MB en 0.05-0.1 mM.

La fijación fotoquímica de  $C^{14}O_2$  por cloroplastos se inhibe un 14% y 88% por 0.01 y 0.05 mM de p-MB, respectivamente, pero un sistema reconstruido (extracto + fragmentos de cloroplasto) es más sensible, un 61% y 94% de inhibición se ejerce en estas concentraciones de p-MB. No se sabe si esto implica alguna barrera a la penetración en cloroplastos intactos.

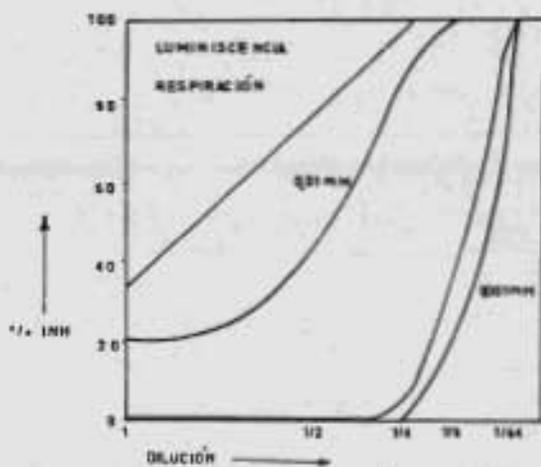


FIG 15 EFECTOS DE LA DILUCIÓN DE LA SUSPENSIÓN DE *AGROBACTER* SOBRE LA RESPIRACIÓN Y LUMINISCENCIA POR  $H_2^{35}$

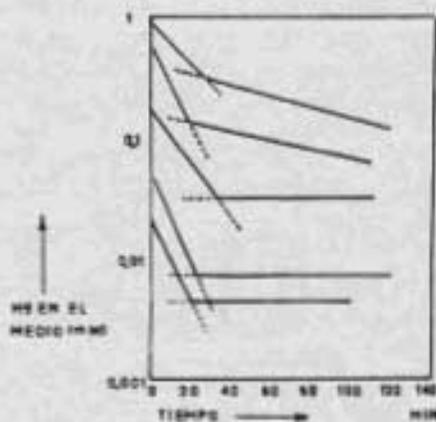


FIG 16 LA UTILIZACIÓN DE  $H_2^{35}$  POR EL DIAFRAGMA DE RATA A pH 7,4 Y 30°C.

LA MEMBRANA CELULAR COMO UN SITIO DE ACCIÓN DE  
LOS MERCURIALES.

Principalmente Rothstein y colaboradores se han encargado en los últimos 15 años del estudio de los efectos de los metales pesados sobre la membrana. Aunque la mayoría de las evidencias está basada en trabajos hechos sobre el cobre, molibdeno y iones uranio, en teoría es posible aplicar estos conceptos a iones de metales pesados en general. Las ideas básicas de Rothstein se resumen como sigue: 1) La membrana celular está expuesta directamente a iones de metales pesados en el medio y es aquella parte de la célula que reacciona inicialmente. Grupos ligados en la superficie o dentro de la membrana se combinan con los iones de metales pesados cuando difunden, y por ende la membrana experimentará los primeros efectos y ciertos cambios en el metabolismo celular o función dependiendo de la acción selectiva de la membrana. 2) La membrana celular generalmente presenta una barrera a la penetración de los iones de metales pesados dentro de la célula y protege a las enzimas citoplásmicas, 3) Grupos ligados no enzimáticos o no funcionales en la membrana o dentro de la célula se combinan con los iones de metales pesados y así protegen los sitios activos reduciendo la cantidad de iones de metales pesados que está libre para reaccionar, 4) Como resultado del segundo y tercer postulados, las enzimas dentro de las células son menos rápidamente atacadas por los iones metálicos, que cuando están aisladas de las células, 5) Como resultado del primer postulado y la cuarta deducción, es probable que el principal sitio de acción de los iones de metales pesados sobre las células y tejidos sea amenudo la membrana celular, más que las enzimas y sistemas metabólicos dentro de la célula, 6) Los más importantes sitios activos en la membrana son enzimas u otros componentes involucrados en el transporte de sustancias a través de la membrana. De esta forma la mayoría de la toxicidad será debida a la interferencia con los movimientos de los sustratos o iones hacia el interior o exterior de la célula.

### Utilización de Glucosa y Respiración del Diafragma.

La utilización de glucosa por el diafragma de rata es casi completamente abolida a los 10-30 min por 0.2 mM de  $Hg^{++}$ , pero la respiración no se afecta antes de 30 min, y se inhibe sólo un 30% máximo después de 2 hrs. Se requiere 2 mM de  $Hg^{++}$  para inhibir la respiración un 90% y después de 1.5 hrs. Entonces la utilización de glucosa se deprime mucho más rápidamente y es más sensible que la respiración por lo menos en un factor de 10. Estos resultados suponen que el  $Hg^{++}$  actúa inicialmente sobre la glucosa bloqueando su transporte y posteriormente sobre el sistema respiratorio intracelular, la depresión de la utilización no inhibe por sí misma la respiración ya que ésta última depende de sustrato endógeno.

### Captación de Mercurio por el Diafragma.

La gráfica logarítmica de la utilización de mercurio con diferentes concentraciones iniciales en el medio se muestra en la fig. 16. Aparecen como dos componentes, una fase rápida con una vida media de 12 min y una fase lenta con una vida media de alrededor de 60 min. La utilización esencialmente cesa después de 20 a 30 min a bajas concentraciones. Se considera que la fase rápida corresponde a la difusión del  $Hg^{++}$  dentro del espacio extracelular y la unión a las membranas plasmáticas, y la fase lenta a la penetración dentro de las células.

Existen ciertos aspectos difíciles de explicar con simples teorías, ¿por qué la utilización de  $Hg^{++}$  cesa después de la fase rápida para las concentraciones iniciales más bajas? El  $Hg^{++}$  que es captado por el diafragma en la fase rápida se da en la siguiente tabulación:

Concentración inicial de $Hg^{++}$ (mM)	% Utilización	Cantidad de $Hg^{++}$ captada ( $\mu$ moles/g de tejido)
0.9	63	9.4
0.6	77	7.7
0.2	85	2.9
0.05	84	0.70
0.025	78	0.33

Si esto representa el  $Hg^{++}$  unido a las membranas y tanto como 9.4  $\mu$ moles/g de tejido puede ser tomado, ¿por qué la utilización para cuando tan poco está unido a las concentraciones más bajas? Uno esperaría que todo el  $Hg^{++}$  desapareciese del medio cuando la cantidad inicial de  $Hg^{++}$  es menor que la requerida para saturar las membranas. El máximo  $Hg^{++}$  unido finalmente a la concentración más alta fue establecido de 15  $\mu$ moles/g de tejido. Además como las membranas plasmáticas no pueden contribuir más que el 1% de la masa del tejido, ¿cómo es que puede unir arriba de la mitad de esta cantidad?

La cantidad de  $Hg^{++}$  difundiendo al espacio extracelular y la que haya sin unir debe ser despreciable, ya que los diafragmas pesaron 0.6 g y el volumen total del medio fue de 10 ml, así es que el espacio extracelular sería de aproximadamente el 1% del volumen total. Se ha encontrado que el diafragma expuesto al  $Hg^{++}$  muestra inhibición de la deshidrogenasa únicamente en las capas celulares más externas. Por lo que el  $Hg^{++}$  no parece que penetra fácilmente a través del tejido. Uno debe preguntarse si la fase rápida debe correlacionarse con la unión sólo a las membranas más externas sobre ambos lados de los diafragmas, asumiendo un grosor de membrana de 200 Å, da  $1.5 \times 10^4$   $\mu$ mol/g de tejido. Si todo el  $Hg^{++}$  utilizado estuviera unido a estas membranas, habría 62,000 iones  $Hg^{++}$  unidos por molécula de proteína (si se considera un peso molecular de 100,000), y como este valor es inconcebiblemente alto, se debe concluir que la mayoría del  $Hg^{++}$  debe estar unida profundamente en el tejido.

Los datos de captación por sí mismos pudieran ser explicados en una gran variedad de formas. La unión a proteínas amenudo muestra diferentes fases debido a las diferentes reactividades de los varios tipos de grupos SH, y en sistemas celulares uno debe quizás también considerar otros ligandos más que grupos SH. Una explicación que podría darse a la inhibición primaria de la utilización de glucosa y posteriormente a la respiración, es que, primeramente el  $Hg^{++}$  reacciona con grupos involucrados en la utilización de glucosa.

Comparación de Efectos del  $Hg^{++}$  sobre diafragma intacto y homogenados.

La respiración endógena de homogenados del diafragma es inhibida más rápidamente y menos potentemente que la respiración del diafragma intacto por  $Hg^{++}$ . Aunque resulta muy difícil poder interpretar las diferencias en las inhibiciones de células intactas y extractos, ya que los sustratos utilizados y los estados de las enzimas son probablemente muy diferentes. La inhibición por mercuriales ha sido encontrada generalmente más potente en extractos de células que en células intactas.

Unión de  $Hg^{++}$  a células de levadura y pérdida de  $K^+$

La salida de  $K^+$  de las levaduras se acelera por  $Hg^{++}$  como la de la mayoría de las células. La pérdida de  $K^+$  de las células es muy sensible al  $Hg^{++}$ , 0.001 mM produce un ligero efecto después de un largo período lag, y 0.003 mM produce al menos un triplicado de la velocidad; en la concentración más alta usada, 0.1 mM, el 80% del  $K^+$  de la célula se pierde en una hora.

El  $Hg^{++}$  se une relativamente rápido a las células de levadura, el tiempo medio es de 2 a 4 min y la unión máxima ocurre en 15 a 20 min. Passow y Rothstein (1960) determinaron la utilización de ambos  $Hg^{++}$  y  $Cl^-$ , y encontraron que inicialmente

sólo el  $Hg^{++}$  está unido, el  $Cl^-$  entra cuando la concentración de  $Hg^{++}$  es lo suficientemente alta. La unión a bajas concentraciones fue considerada entonces "la unión de  $Hg^{++}$  más que de  $HgCl_2$ ". Como la concentración del  $Hg^{++}$  es en este caso extremadamente pequeña, parece más probable que el  $HgCl_2$  u otro complejo de cloro reaccione con la pared celular y la membrana de la levadura separándose el  $Cl^-$  el cual difunde hacia el medio. Cuando la concentración del mercurial llega a ser grande produce un significativo incremento en la permeabilidad, el  $Cl^-$  entonces entra, la conclusión general es que el efecto de la membrana por el  $Hg^{++}$  no es específico para  $K^+$  pero es un rompimiento más o menos específico de la membrana, causado por la tensión molecular originada por la formación de puentes S-Hg-S en la membrana, cuando esta tensión alcanza un nivel crítico. La desintegración de la membrana y los componentes celulares son desprendidos. Poca consideración se da a los posibles efectos del  $Hg^{++}$  sobre los mecanismos del transporte activo por los cuales el  $K^+$  se acumula y se ha dado mayor énfasis en los cambios estructurales que ocurren en la membrana. La mayoría de los estudios sobre la pérdida de  $K^+$  de los tejidos se ha interpretado en términos de una inhibición del transporte activo, y esta debería ser la explicación más lógica y directa. Debe también hacerse notar que como en todos los estudios de efectos de sustancias sobre los flujos transmembranales, es muy difícil distinguir entre las acciones sobre la membrana y dentro de las células, y de ahí que estos resultados no puedan tomarse como evidencia para un efecto directo y específico sobre la membrana.

#### Permeabilidad del Eritrocito y Hemólisis.

Los mercuriales orgánicos incrementan la fragilidad del eritrocito y promueven la hemólisis, amenudo a muy bajas concentraciones, pero los efectos del  $Hg^{++}$  son más complejos, la hemólisis es favorecida o inhibida dependiendo de las condi-

ciones, de las cuales la concentración de  $Hg^{++}$  y el tipo de hemólisis son las más importantes. Si se estudia la hemólisis en una solución isotónica de glicerol, el  $Hg^{++}$  puede notoriamente retardar la hemólisis. Los eritrocitos humanos se hemolizan rápidamente en sol. isotónica de glicerol a pH 7.2; cuando la concentración de  $Hg^{++}$  se aumenta, se observa la primera inhibición a 0.025 mM y muy fuerte inhibición a 0.05 mM. Esto se ha interpretado como una inhibición a la entrada del glicerol a las células gracias al  $Hg^{++}$ . Por otro lado, si se examina la hemólisis hipotónica de eritrocitos humanos, el  $Hg^{++}$  puede hacer más rápida o lenta la hemólisis (fig. 17). En un medio débilmente diluido o normal, el  $Hg^{++}$  favorece la hemólisis, pero a bajas concentraciones suprime la hemólisis en medios marcadamente hipotónicos. Mercuriales orgánicos (p-NB, etil- $Hg^+$  y timerosal), sin embargo, son sólo líticos, aún a altas concentraciones. Arbutnott relaciona esto al número de cargas de los mercuriales, aunque es más probable que se deba a la habilidad del  $Hg^{++}$  para formar puentes S-Hg-S los cuales incrementan la estabilidad de la membrana.

El  $Hg^{++}$  parece tener una potencia lítica mayor en comparación a los mercuriales orgánicos, ya que la dosis letal media para eritrocitos de conejo es de 0.0034 mM para  $Hg^{++}$  y 0.0174 mM para el mensalil y también se ha encontrado que la lisis puede ocurrir en una hora con 0.017 mM de  $Hg^{++}$ , mientras que se requiere 1 mM p-NB o etil- $Hg^+$ . Otras células no se lisan tan fácilmente en presencia de mercuriales, pero esto no prueba necesariamente que los grupos SH sean de mayor importancia para la membrana del eritrocito, ya que la estabilidad inherente puede ser mayor. Se podría decir que la cantidad de  $Hg^{++}$  necesaria para alterar las propiedades de la membrana es del mismo orden de magnitud que el contenido de grupos SH de la membrana. Por otro lado se ha visto que el número de moléculas/célula del mercurial orgánico requerido para la hemólisis es más grande que el necesario para cubrir la superficie del eritrocito; pero más importante es conocer cuanto del mercurial se une a la hemoglobina u otros componentes no membranales.

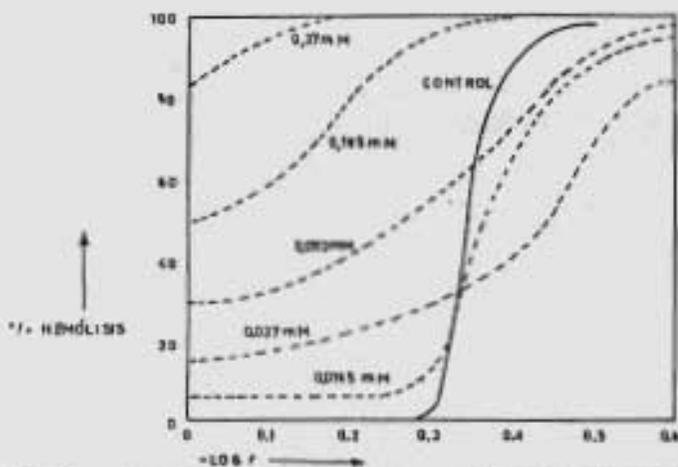


FIG 17 HEMÓLISIS DE ERITROCITOS HUMANOS POR Hg A DIFERENTES DILUCIONES (F), LA CURVA CONTROL MUESTRA LA HEMÓLISIS EN AUSENCIA DE Hg<sup>++</sup>.

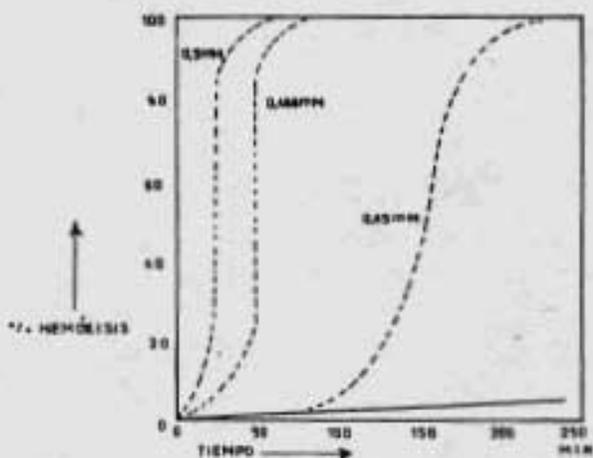


FIG 18 HEMÓLISIS DE ERITROCITOS DE CARNERO POR Hg, MOSTRANDOSE LAS MARCADAS DIFERENCIAS EN UN RANGO ESTRECHO DE CONCENTRACIONES.

La cinética de hemólisis mercurial está generalmente caracterizada por un período lag, la duración del cual depende de la concentración del mercurial, seguida de una más rápida hemólisis (fig. 18). El período lag es parcialmente debido a la unión lenta de los mercuriales orgánicos. Lavando los eritrocitos 1 min después de la exposición a p-Hg se protegen completamente, después de 30 min se protegen parcialmente, y después de 60 min. no hay protección.

¿La hemólisis por mercuriales está de alguna forma relacionada con los efectos sobre la utilización de glucosa o el metabolismo? La utilización de glucosa por glóbulos rojos humanos se inhibe moderadamente dentro de un rango de concentración de  $Hg^{++}$ , y la inhibición desaparece cuando la cantidad de  $Hg^{++}$  se incrementa. La cuestión proviene de que si los efectos de la pérdida de  $K^+$  y la utilización de glucosa vienen de la acción sobre todo las células o son debidas a la hemólisis de unas pocas. Parece claro que la pérdida de  $K^+$  y la supresión de la utilización de glucosa a los niveles más bajos de  $Hg^{++}$  unido son debidos casi completamente a los efectos sobre todas las células y no sobre la lisis de una fracción de ellas. Sin embargo a niveles más altos de  $Hg^{++}$  unido, la lisis debe contribuir a la pérdida de  $K^+$  y a la interferencia con la utilización de glucosa.

En otros estudios hechos con p-Hg, este compuesto no inhibe la utilización de glucosa probablemente porque no puede penetrar a través de la membrana y la hemólisis que ocurre es debido a la acción sobre la membrana. Se podría concluir que el  $Hg^{++}$  penetra en los eritrocitos más rápidamente que el p-Hg lo cual es indudablemente el caso, pero es posible también especular que el  $Hg^{++}$  bifuncional podría distorsionar los poros de la membrana formando puentes S-Hg-S de tal forma que la penetración de glucosa se haga más lenta y mientras que la permeabilidad de  $K^+$  se incrementa.

La posibilidad de que la hemólisis por el mercurial este relacionada a la acción de la glutatona con reactivo SH ya ha sido considerada, sin embargo, el  $Hg^{++}$  y el p-Hg pueden

producir hemólisis sin considerable pérdida de glutatióna. También se ha encontrado que de las tres principales fuentes de grupos SH en el eritrocito (estroma, hemoglobina y glutatióna) el último tiene la afinidad más baja por el mercurial y constituye sólo el 5% del total de grupos SH. Es posible que la glutatióna reaccionará sólo cuando los otros grupos SH se hayan saturado.

#### EFFECTOS SOBRE LA PERMEABILIDAD Y EL TRANSPORTE ACTIVO.

Los mecanismos generales por los cuales los sistemas de transporte en la membrana pueden ser afectados por reactivos de grupos SH se aplica a los mercuriales, y la mayoría de los resultados se resumen en la tabla 17. De los resultados de la tabla claramente se ve que los mercuriales amenudo causan la pérdida de sustancias intracelulares, por ejemplo:  $K^+$ , carbohidratos y aminoácidos. Es probable que muchas sustancias salgan de la célula tratada con los mercuriales como un resultado no sólo de la interferencia sino también por efectos distorsionantes directos sobre la estructura de la membrana conduciendo a un incremento en la permeabilidad. No es fácil determinar si la acción primariamente es sobre el transporte activo sobre la difusión hacia al exterior, aún con sustancias marcadas. Por ejemplo, si uno está estudiando la salida de  $K^{42}$ , hay inhibición de una bomba para mantener el nivel de  $K^+$  intracelularmente alto, debe alterar esta salida, ya sea por cambio en el potencial de la membrana o directamente si parte de la salida del  $K^+$  está mediada por la bomba, ya que la bomba de  $Na^+$  no debe ser completamente específica para  $Na^+$  y debe llevar algo de  $K^+$  hacia afuera de la célula. Si se mide la entrada de  $K^{42}$ , una alteración de la permeabilidad puede fácilmente cambiar la velocidad a la cual el transporte activo ocurre, particularmente si se acelera la pérdida de  $K^+$  de la bomba. En la mayoría de los casos parece existir un decremento en el radio intracelular de  $K^+/Na^+$ , pero el mecanismo no es claro.

TABLA 17  
Efectos de Los Mercuriales sobre el Proceso del Transporte  
Activo.

Sustancia transportada	Organismo y tejido	Mercurial	Conc. $\mu$ Inh. (mM)	$\Delta(X)_{\Delta}$ (%)	Efectos generales	
Cationes Inorgánicos.	K <sup>+</sup>	Levadura	Hg <sup>**</sup> 0.2	-	-15	-
			0.6	-	-100	-
	Hemocita banksii	Porphya perforata	p-NB 0.1	-	0	-
			p-NB 0.1	-	-24	K/Na 3.7a2.4
	Eritrocitos de conejo	Eritrocitos humanos	p-NB 0.1	-	-55	K/Na 3.7a1.1
			Hg <sup>**</sup> 0.4 $\mu$ mol/ml cel.	-	-	PÉRDIDA DE K <sup>+</sup> >100X
	Mitochondria de hígado de rata	Mitochondria de hígado de conejo	Hg <sup>**</sup> 0.01	-	-50	-
			2.5 $\mu$ mol/ml cel.	-	-30	-
	Mitochondria de hígado de conejo	Mitochondria de corazón de conejo	Hg <sup>**</sup> 0.01	-	-92	K/Na 2.3a0.25
			1	100	-	-
	Na <sup>+</sup>	Porphya perforata	Hg <sup>**</sup> 0.0072	-	-50	-
			p-NB 0.054	-	-50	-
		Mitochondria de hígado de rata	PM 0.081	-	-50	-
			Hg <sup>**</sup> 0.01	0	-	-
	Mitochondria de hígado de rata	Mitochondria de hígado de rata	p-NB 0.5	55	-	-
1			85	-	-	
		Hg <sup>**</sup> 0.01	-	-28	-	

TABLA 17 (Continuación)

Sustancia transportada	Organismo y Tejido	Mercurial	Conc. (mM)	% Inh.	$\Delta(X)_t$ (%)	Efectos generales
Rb <sup>+</sup>	Raíces de frijol	PH	0.0006	60	-	-
Hg <sup>++</sup>	Mitochondria de hígado de rata	Hg <sup>++</sup>	0.01 0.1	- -	-4 -23	- -
Ca <sup>++</sup>	Mitochondria de hígado de rata	Hg <sup>++</sup>	0.01 0.1	- -	+7 -17	- -
	Intestino de rata	Hg <sup>++</sup>	1	-	-	T/W 4.6a1.1
	Cortes de Intestino de rata	Hg <sup>++</sup>	1	-	-	T/W 5.2a1.5
	Mitochondria de riñón de rata	Hg <sup>++</sup>	0.1	80	-	-
Cu <sup>++</sup>	Cortes de hígado de rata	p-NB	0.1	+5	-	-
Aniones inorgánicos.						
Cl <sup>-</sup>	Ileon de perro	Hg <sup>++</sup>	0.1 0.7	Ligera 100	- -	- -
I <sup>-</sup>	Fucus ceranoideas	p-NB	0.05	50	-	-
	Cortes de Clavos de botrego	Hg <sup>++</sup> p-NB	1 1	77 88	- -	- -
	Intestino de rata	p-NPS	0.1 0.67	30 75	- -	- -
HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	Micrococcus aureus	Hg <sup>++</sup> PH	0.1 0.1	48 72	- -	- -

TABLE 17 (Continuación).

Sustancia transportada	Organismo y tejido	Mercurial	Conc + [mM]	% Inh	$\Delta(X)_4$ (%)	Efectos generales
	Eritrocitos humanos	p-MB	0.25	87	-	-
Carbohidratos						
Glucosa	Caña de azúcar	Hg <sup>++</sup>	0.01 0.1	5-10 100	- -37	- -
		p-MB	0.01 0.1 1	0 0-10 100	- - -39	- - -
	Eritrocitos humanos	Hg <sup>++</sup> p-MB	0.0012 0.02	50 100	- -	- -
Xilosa	Diaphragma de rata	p-MB	0.01	20	-	-
Sacarosa	Rhizoctonia solani	Hg <sup>++</sup>	0.185	47	-	-
Varios						
Indolacetato	Coleoptilo de avena	p-MB	0.01 0.1	0 40	- -	- -
Triyodotiroacetato	Intestino de rata	Hg <sup>++</sup>	1	93	-	-
Uracilo	Intestino de rata	p-MB	1	100	-	-
Agua	Córnea de conejo	Clorhexidina	10	100	-	-

Ciertos resultados ocasionalmente apuntan a un efecto de los mercuriales sobre la fase endergónica del transporte más que una simple depresión de la formación de ATP. El hecho de que el  $Hg^{++}$  a 0.5 mM inhiba a los 20 segs la utilización de acetato por el diafragma sin un período lag, con una más lenta depresión del metabolismo, es indicativo de una acción directamente sobre la membrana.

#### Transportes Transmembranales y Transcelulares.

El transporte de un sistema hacia el interior de la célula es a menudo un proceso diferente del transporte a través de una capa de células. Si una sustancia se mueve en contra de un gradiente de concentración, es un transporte activo, mientras que la acumulación de una sustancia dentro de la célula puede ser el resultado de la unión. La acumulación de  $Fe^{+++}$  y  $Cu^{++}$  por cortes de hígado de rata es ligeramente estimulada por el p-Hb y es muy probable que estos sean ejemplos de unión a ligandos intracelulares. En algunas ocasiones no existe clara separación de los transportes transmembranales y transcelulares. Los cortes de intestino de rata acumulan  $Ca^{++}$  en una relación tejido/medio 3.8, y 1 mM de  $Hg^{++}$  reduce esto a 1.5. El transporte a través de la pared intestinal produce una relación interno/externo de 4.6 y 1 mM de  $Hg^{++}$  lo baja a 1.1. En este ejemplo no existe diferencia considerable en la inhibición por mercurial, pero ciertos otros inhibidores afectan el proceso transintestinal más fuertemente. Los resultados a menudo dependerán de la localización del mecanismo del transporte activo.

#### $K^+$ mitocondrial.

Mitocondrias aisladas de hígado de rata en un medio 0.25 M de sacarosa contiene 620-640  $\mu$ moles  $K^+$ /g N y esto puede ser perdido si las mitocondrias se ponen en un medio hipotónico o tratado con saponina, 2-4-dinitrofenol o  $Hg^{++}$ . La mayoría de  $K^+$  aparece libre, pero una fracción puede estar unida, la reten-

ción del  $K^+$  "libre" es dependiente de la fosforilación oxidativa. Así, Gamble encontró que los fragmentos mitocondriales que catalizan la fosforilación oxidativa pueden unir  $K^+$ . Esta unión no depende del ATP. El  $Hg^{++}$  a 0.01 mM y el p-MB a 0.03 mM producen un incremento de 5 veces en la velocidad del intercambio del  $K^+$ . El  $Hg^{++}$  en concentraciones alrededor de 0.01 mM se encontró que incrementa la velocidad de intercambio, reduciendo la unión de  $K^+$  un 50% e inhibiendo la fosforilación un 50%. Los mercuriales orgánicos son menos efectivos. Estas tres acciones son presumiblemente no mediadas por el mismo mecanismo, ya que el EDTA previene los efectos del  $Hg^{++}$  y del p-MB sobre la unión del  $K^+$ , no tiene efecto sobre la velocidad de la estimulación del intercambio, y protege la fosforilación oxidativa del  $Hg^{++}$  pero no del p-MB.

#### Secresión de Ácido Gástrico.

La secreción gástrica de HCl, se deprime a un nivel básico por 1 mM de p-MB, si la secreción se estimula con histamina, la inhibición aparece ser más grande pero la velocidad se reduce al mismo nivel (fig. 19). Existe entonces un nivel basal de secreción (alrededor del 30% del máximo) resistente a los mercuriales. El análisis gráfico indicó que dos grupos SH están involucrados en la inhibición. La formación de lactato cuando la glucosa es el sustrato, se inhibe por p-MB, un grupo SH está involucrado aquí pero es improbable que la inhibición glicolítica sea el mecanismo por el cual la secreción de ácido se deprime, además la inhibición ocurre cuando el piruvato o acetoacetato son el sustrato. La respiración asociada con la secreción es también inhibida por el p-MB, y se cree que el sitio de ataque es sobre algún sistema desconocido íntimamente relacionado con el proceso secretor. Posiblemente la inhibición primaria por el p-MB sea sobre el sistema de transporte mismo, y la respiración se reduce en forma secundaria.

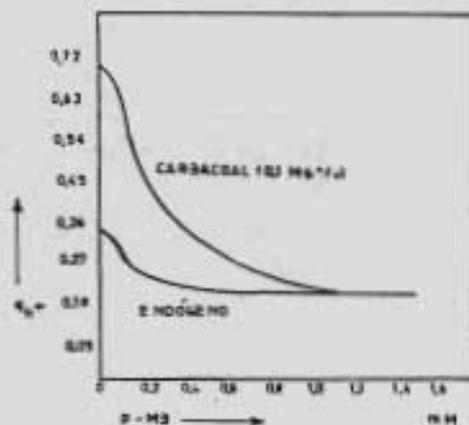


FIG 18 INHIBICIÓN DE LA SECRECIÓN DE ÁCIDO GÁSTRICO POR p-HS EN PRESENCIA DE 30mM DE GLUCOSA Y EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE CARBACOL.

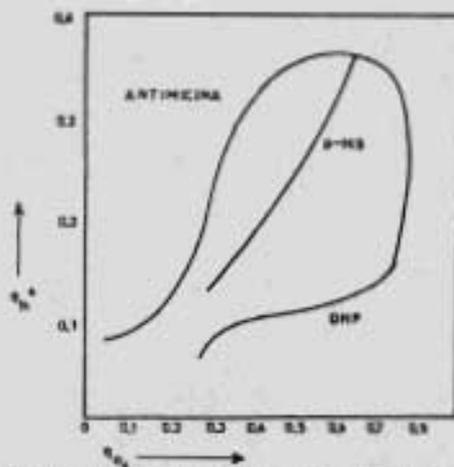


FIG 19 EFECTOS DE INHIBIDORES SOBRE LA RESPIRACIÓN Y LA SECRECIÓN ÁCIDA DE LA MUCOSA GÁSTRICA DE RATÓN ESTIMULADA POR CARBACOL.

### Transporte Intestinal.

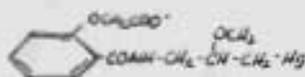
Los transportes de  $\text{Na}^+$ , agua y glucosa a través del intestino de rata son inhibidos por el  $\text{Hg}^{++}$ . El potencial eléctrico transintestinal depende del transporte de  $\text{Na}^+$  y de las permeabilidades iónicas de las membranas del lumen. 0.01-1 mM de  $\text{Hg}^{++}$  produce una rápida y breve elevación del potencial al cual le sigue una caída, la rapidez de la cual está determinada por las concentraciones de  $\text{Hg}^{++}$ . Hay dos fases en la respuesta: 1) Una inmediata pérdida de  $\text{K}^+$  y fosfato de la pared intestinal y una marcada inhibición en la utilización de glucosa, y 2) Un retraso (ocurriendo después de 10 min o más) de la inhibición del transporte transintestinal de  $\text{Na}^+$ , agua y glucosa, con una supresión de la formación de lactato. Se ha mostrado que los cambios de potencial son producidos cuando ciertas cantidades de  $\text{Hg}^{++}$  están unidas al intestino, por ejem. cuando diferentes concentraciones de  $\text{Hg}^{++}$  se aplican al intestino, los cambios de potencial ocurren a diferentes velocidades las cuales están relacionadas a las velocidades de captación. Como los transportes y potenciales dependen de la glucosa, se ha sugerido que las inhibiciones del transporte transintestinal son quizás el resultado de la interferencia con la utilización de glucosa en las células. Esto no explica la respuesta inmediata, la cual puede ser debida al efecto directo del  $\text{Hg}^{++}$  sobre las membranas celulares. Realmente, todos los cambios observados pueden provenir de modificaciones en las propiedades de permeabilidad de las membranas del lumen.

## EFFECTOS DE LOS MERCURIALES EN LOS TEJIDOS.

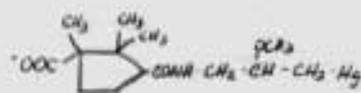
Es sorprendente ver los pocos estudios que se han hecho sobre otros tejidos que no sea el riñon, sobretodo por los bien conocidos efectos tóxicos y terapéuticos de los mercuriales. Además la mayoría del trabajo se ha hecho "in vitro" con concentraciones relativamente altas (alrededor de 1mM o más alto) así es que es imposible determinar si los resultados son aplicables a los efectos vistos en animales intactos.

### RIÑON.

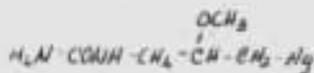
La efectividad clínica de los mercuriales en ciertos edemas ha estimulado mucho la investigación dirigida al descubrimiento del mecanismo por el cual se produce la diuresis. Ahora es claro que la acción es sobre el proceso del transporte tubular. Estos transportes son principalmente activos y dependientes del metabolismo celular tubular, así como de ciertos acarreadores específicos y sistemas enzimáticos. Las estructuras de los cuatro diuréticos mercuriales ya usados experimentalmente se muestran en su forma iónica:



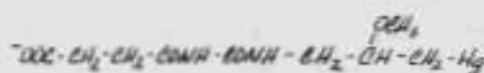
Mersalil (Salixgan)



Mercurina (Mercaptomerina,  
Eliomerina)



Clomerodrina (Neohidrina)



Mersalunide (Mercurhidrina)

Las preparaciones para uso clínico se utilizan acomplejadas con diferentes ligandos ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ , tioacetato o tiofilina), pero una vez introducidos en el cuerpo o en medios experimentales, los mercuriales generalmente establecen un nuevo equilibrio con los ligandos libres. Los acomplejadores alteran: la solubilidad, las acciones locales sobre los tejidos, y velocidades de absorción, pero probablemente no afectan considerablemente los efectos básicos sobre los sistemas de transporte tubulares.

#### Resumen de las Acciones Renales Generales de los Mercuriales.

A) La Acción Diurética es completamente Renal. Efectos sobre otros tejidos que no sean los riñones pueden ocurrir, especialmente a altas dosis, pero no contribuyen considerablemente a disminuir su acción como diuréticos.

B) La Acción Primaria es sobre el Transporte Tubular más que sobre la Filtración Glomerular. Ciertos estudios han demostrado que las velocidades de filtración glomerular no se alteran durante una diuresis clínica marcada. Análisis de cambios en composición del filtrado que pasa a través del nefrón muestran que el incremento de flujo de orina puede ser atribuido por completo a la depresión de ciertos procesos de transporte tubular. Los mercuriales dados intramuscularmente u oralmente a sujetos humanos no afectan el flujo sanguíneo renal o la filtración glomerular, pero inyectados en forma intravenosa en animales producen efectos definitivos los cuales posiblemente modifiquen la acción diurética primaria. La vasoconstricción y una reducción en el flujo sanguíneo se observan generalmente.

C) La Acción Diurética es Principalmente debida a una Inhibición de la Reabsorción Activa del  $\text{Na}^+$  en los Túbulos Proximales. Es en la actualidad generalmente considerado que los mercuriales son principalmente natriúricos, y que la reabsorción de  $\text{Cl}^-$  y agua por los túbulos proximales sigue de él mo-

vimiento del  $\text{Na}^+$  por razones electrostáticas y osmóticas.

D) Los Mercuriales pueden actuar también sobre el Nefrón ya sea modificando la Composición de la Orina o la Velocidad de Flujo. Se ha acumulado suficiente evidencia para demostrar que los mercuriales pueden ejercer efectos menores a través del nefrón (sobre el asa de Henle, el túbulo distal y el ducto colector) y además de alterar el volumen de la orina, el proceso de transporte y reacciones de intercambio de varios lípos pueden ser inhibidos. Esto es, el sitio primario de la acción puede ser el transporte activo de  $\text{Na}^+$  en los túbulos proximales, pero esto no significa que sea un sólo sitio de acción. Los transportes de una variedad de sustancias, incluyendo  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ , urato, p-aminohipurato, aminoácidos y varios colorantes, se deprimen por los mercuriales.

E) Sólo un pequeño Efecto relativo sobre la Reabsorción de  $\text{Na}^+$  necesita ejercerse para producir una marcada diuresis. Tanto como un 98 a 99% del  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y agua filtrado es reabsorbido, es evidente que una reducción de esto a 90-95% causará un incremento de diez veces en la velocidad de excreción. Consecuentemente uno podría predecir que sólo una ligera distorsión metabólica por los mercuriales sería necesaria para la acción diurética. Además, sólo 15-30% de la reabsorción total de  $\text{NaCl}$  puede ser inhibida por los mercuriales, el resto probablemente controlado por sistemas de resistencia a mercuriales.

F) La Acción Selectiva de los Mercuriales sobre el Riñón es principalmente a consecuencia de la acumulación del Mercurial. Los mercuriales ejercen efectos demostrables sólo sobre los riñones en un cierto rango de dosis, y esto es debido principalmente a las concentraciones relativas altas del mercurial alcanzadas en el tejido renal, ya que esto es conseguido por la secreción tubular o por la reabsorción del filtrado.

G) Las Respuestas Renales reportadas para los Mercuriales son bastante variables. Las principales razones a estas discrepancias se deben a: 1) Trabajo hecho con diferentes especies puede ser frecuentemente no comparable, 2) Animales en di-

ferentes estados de aporte de agua, de iones o pH responderán en forma diferente a los mercuriales, 3) El uso de mercuriales conteniendo teofilina ha producido interpretaciones confusas ya que la teofilina por si misma posee una acción diurética por un mecanismo bastante diferente al de los mercuriales, 4) Mucho del trabajo sobre la distribución de mercuriales y sus acciones sobre enzimas en el riñón ha sido hecho con dosis tóxicas o letales o concentrados. Si un mecanismo para el efecto diurético normal se busca, uno debe usar concentraciones de mercurial que no se desvlen apreciablemente de aquellas que produzcan la diuresis máxima. 5) Diferentes rutas de administración amenudo conducen a diferentes resultados.

#### *Sitios de Acción en el Nefrón.*

Varios tipos de evidencias han sido usadas para localizar los principales sitios de la acción del mercurial sobre el proceso del transporte renal, las cuales serán discutidas brevemente:

A) Inhibición del proceso de transporte localizado en diferentes regiones del nefrón. Los mercuriales interfieren con el transporte de una variedad de sustancias por el segmento proximal del nefrón. Esto incluye la reabsorción de glucosa, aminoácidos, urato, fosfato, bicarbonato,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  y la secreción activa de p-aminohipurato, ion tetraetilamonio, rojo fenol y varios colorantes. El incremento en la excreción de  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$  en el hombre y en el perro tratados con mercuriales se ha reportado, y es probable que el sitio de acción sea el proximal. La inhibición de la secreción de p-aminohipurato, con tetraetilamonio, y rojo fenol se ha demostrado no sólo en animales intactos con bajas concentraciones sino en túbulos aislados o en cortes de riñón. Estas y otras observaciones apuntan definitivamente a que el principal sitio de acción se encuentra en el segmento proximal del nefrón. Sin embargo, hay también evidencias de que transportes más distales pueden ser afectados.

Por ejemplo, la secreción de  $K^+$  y los intercambios de  $H^+$  y  $NH_4^+$  en el segmento distal, y la reabsorción de solutos libres en el asa de Henle y por el segmento distal son disminuidos por los mercuriales. Es difícil comparar las acciones sobre las porciones proximal y distal del nefrón por las diferentes magnitudes del proceso de transporte, por ejem. efectos sobre el transporte proximal deberían de ser mucho más marcados por el rol principal de este segmento en la reabsorción.

B) Desaparición de grupos SH renales. La determinación histoquímica de los grupos SH libres en diferentes regiones del riñón en animales normales y tratados con mercurio, provee de alguna información sobre el sitio de acción, si se observan claras diferencias. Seguida de una inyección de una dosis grande de mersalil (20 mg/Kg), se observa la reducción de grupos SH en todas las porciones del nefrón excepto las porciones contorneadas proximal y distal (ver siguiente tabulación):

	Valores de extinción		% Cambio
	Control	Mersalil	
Túbulos proximales (contorneado)	0.619	0.613	-1
Túbulos proximales (terminal)	0.415	0.227	-45
Asa de Henle (descendente)	0.355	0.238	-33
Asa de Henle (ascendente)	0.373	0.229	-39
Túbulos distales (contorneado)	0.592	0.596	+1
Ducto colector (medular)	0.279	0.136	-51

Con dosis bajas (2.5 mg/Kg), la desaparición de grupos SH se observa sólo en la porción terminal de los túbulos proximales y el asa ascendente, esta última siendo la región más sensible del nefrón.

No existe correlación entre diuresis y disminución de grupos SH, ya que el p-HB y el HM, ambos no diuréticos, producen cambios similares en estos grupos. Los grupos S-S renales no cambian por varias horas después de inyecciones de  $HgCl_2$  o clormerodrina, pero de 6 a 24 hrs hay un incremento en grupos S-S a expensas de grupos SH. Esto puede estar relacionado con la potente inhibición de la disulfuro reductasa, pero probable-

mente no está correlacionado con la diuresis ya que ocurre cierto tiempo después del flujo máximo de orina.

Todos estos resultados demuestran que los mercuriales reaccionan con grupos SH renales y que algo de selectividad se ejerce sobre ciertas regiones, pero no necesariamente inhiben el transporte de algún sitio, ya que los grupos SH involucrados en el transporte (asumiendo que así sea) pueden estar en sólo una muy pequeña fracción del total en el tejido, además es muy posible que sólo 1 a 2% del total de los grupos SH sean necesarios para conseguir producir un máximo de diuresis.

C) Reducción de potenciales eléctricos de las células tubulares. Hay dos potenciales eléctricos de las células tubulares proximales del nefrón aislado, un potencial transmembranal de -72 mv y un potencial transtubular de -10 mv (lumen negativo). La clormerodrina en una concentración de alrededor de 220  $\mu\text{gHg/g}$  de tejido reduce ambos potenciales; en los nefrones aislados el potencial transmembranal decrece un 62%, y el potencial transtubular un 63%. Ya que estos potenciales dependen de el transporte activo de iones, es muy posible que se relacionen con la función renal.

D) Patrón de acumulación de mercuriales en el riñón. Los riñones de ratas intoxicadas con  $\text{HgCl}_2$  (3mg/Kg intraperitonealmente) fueron examinadas de 5 min. a 48 hrs después y el mercurio se encontró depositado primero en las células endoteliales de los capilares intersticiales, que en las crestas glomerulares, y eventualmente en el epitelio de los túbulos proximales, comenzando apicalmente y progresivamente hacia las bases de las células. El mercurio en las células proximales está particularmente asociado con las mitocondrias situadas en la parte basal. Se concluyó que el  $\text{Hg}^{++}$  es filtrado a través de los glomerulos y recogido por las células tubulares durante la reabsorción, lo cual es la ruta más obvia para  $\text{Hg}^{++}$  y una de las cuales explica los rápidos y marcados efectos sobre los túbulos proximales. Otros muchos sugieren que el mercurial es secretado por las células tubulares y que esto conduce a su elevada concentración en los túbulos y los efectos selectivos sobre el transpor-

te proximal. Se ha enfatizado en que no existe una relación obvia entre diuresis y la cantidad total del mercurial en el riñón o sus partes, y se establece que, "la diuresis es una consecuencia de la acción sobre un receptor renal específico por una muy pequeña cantidad de mercurio".

E) Técnica de parado de flujo. Un muestreo seriado de orina seguido de un detenimiento uretral, conduce a un análisis de los cambios de composición a través del nefrón, y tales estudios han apuntado uniformemente mas al sitio proximal que al distal de la acción del mercurial. Esto se aplica exclusivamente al sitio de inhibición de la reabsorción de  $\text{Na}^+$  y a la diuresis.

F) Daño diferencial a las células renales. Se ha pensado que aquellas porciones del nefrón que más rápidamente se dañan por dosis tóxicas de los mercuriales deberán ser las mismas porciones que se afectan primeramente para producir diuresis. Suzuki fue el primero en demostrar que los mercuriales pueden dañar más selectivamente las porciones más terminales de los túbulos proximales. Toda una serie de evidencias sugieren que varias porciones del nefrón (asa de Henle, glomerulos, túbulo contorneado proximal) se ven afectados de una forma u otra por los mercuriales, y que la porción que puede estar involucrada dependerá del transporte en particular considerado.

#### Efectos sobre la Actividad Enzimática en Los Riñones.

La mayoría del trabajo se ha hecho desafortunadamente sobre la deshidrogenasa succínica, presumiblemente porque su actividad puede medirse fácilmente, pero esta enzima probablemente no está directamente involucrada en el transporte renal, y además es mucho menos sensible a los mercuriales que otras muchas enzimas. El mercurio inyectado en forma intravenosa a una dosis de 8 mgHg/Kg en perros y ratas reduce la actividad de la deshidrogenasa succínica alrededor de un 45% en el riñón en el pico de la diuresis, mientras que no se observan inhibiciones en el hígado o corazón. Dosis altas (10-60 mgHg/Kg) de mercuriofi-

Lina conducen a la pérdida de la actividad de la deshidrogenasa succínica en los túbulos distales, y más tarde se encontró algo de inhibición en los túbulos proximales y asas de Henle, la conclusión es que hay poca correlación entre tal inhibición y la inhibición del transporte.

La  $\alpha$ -cetoglutaratoxidasa es más sensible a los mercuriales que la deshidrogenasa succínica, y es inhibida un 64% en 3-4 hrs y un 91% en 6 hrs en ratas a las que se les ha dado  $HgCl_2$  en 3 mgHg/Kg, la disulfuro reductasa es aparentemente más potentemente inhibida en el riñón durante la acción mercurial, pero esto indudablemente no tiene relación con el efecto diurético.

#### Efectos sobre el Metabolismo Renal.

Los mercuriales pueden deprimir la respiración del riñón en dosis suficientemente altas, y esto puede ser posiblemente un factor en el daño renal producido, pero hay poca evidencias de que dosis diuréticas no tóxicas de mercuriales reduzcan el consumo  $O_2$ . Toda una serie de estudios indican que la operación del ciclo del ácido cítrico se ve alterada por los mercuriales. Los resultados sobre la fosforilación oxidativa son contradictorios. Se ha encontrado que aún a grandes dosis (arriba de 10 mgHg/Kg, lo cual es 20 veces la dosis diurética) no se altera la relación P:O de la mitocondria de riñón con glutamato como sustrato, pero también se ha reportado una marcada falla en la relación P:O con  $\alpha$ -cetoglutarato como sustrato después de dosis tóxicas (3 mgHg/Kg) de  $HgCl_2$ .

Si se suman todos los datos obtenidos sobre la inhibición enzimática y metabólica en el riñón, apuntan a que ningún sistema es particularmente sensible a los mercuriales, y que no existe ninguna correlación entre inhibición y proceso de transporte demostrada. Si las bases de la diuresis mercurial son metabólicas, no existe hasta ahora ninguna evidencia clara que lo demuestre.

### Acumulación y Excreción de Mercuriales por los Riñones.

nes.

Todos los mercuriales son lentamente acumulados por los riñones y los niveles altos se mantienen por períodos de varios días. La relación riñón plasma es máxima alrededor de 1000 en el perro y la rata y se da con clormerodrina, pero estas relaciones se alcanzan sólo después de muchas horas, y son en parte debido a la retención por el riñón con caída de los niveles del plasma. La correlación entre la distribución y la excreción de un mercurial y la diuresis se ilustra en la figura 11. La pérdida del mercurial del plasma se divide en tres componentes; que se excretan en la orina, que entran a varios tejidos y que se acumulan en los riñones. Algunos mercuriales se excretan rápidamente y otros lentamente; el mercurial administrado intramuscularmente en el hombre un 50% en 3 hrs, pero la clormerodrina dada por la misma ruta a ratas es solamente excretada un 21% después de 24 hrs. Los mercuriales no se excretan enteramente en la forma administrada. Algunos pueden convertirse a  $Hg^{++}$  pero la mayoría se excretan como un complejo con cisteína, u otros tioles. El origen de este complejo con cisteína no se conoce, y puede ser en el riñón o en la sangre. Los diferentes mercuriales se distribuyen en forma diferente a través de los tejidos, y se deben esperar a las diferentes propiedades de sus moléculas que deben producir algún efecto no sólo en el riñón sino en otros tejidos a dosis altas. El estudio más a fondo fue hecho por Kessler, y sus resultados se resumen en la tabla 18.

### Forma Activa de los Mercuriales y la Relación Estructura-Función.

La mayoría de los diuréticos mercuriales tienen la estructura:

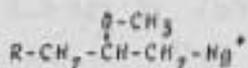
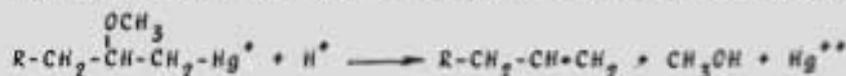


TABLA 11

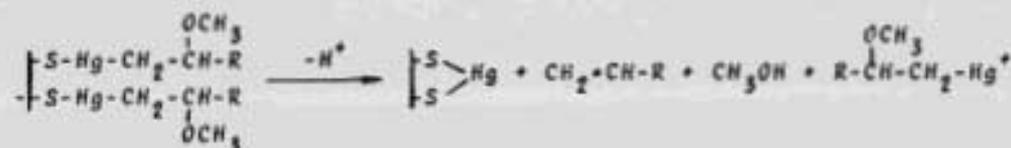
Concentración del Mercurio en Tejidos del Perro después de Administración Intravenosa de Mercuriales.

Tejido	Concentración del Tejido ( $\mu\text{g/g}$ peso seco)				
	Clormerodrina	Mercuriuride	Mersalil	$\text{HgCl}_2$	p-HB
Corteza renal	155	19	7.7	113	36
Médula renal	125	13	4.0	79	--
Papila renal	4.5	1.4	0.4	2.3	--
Hígado	3.9	0.8	0.8	6.6	2.8
Corazón	0.3	0.2	0.4	0.5	0.7
Páncreas	1.4	0.6	1.1	74	2.1
Pulmón	1.2	0.9	0.9	2.0	2.8
Diafragma	0.2	0.2	0.1	0.3	0.8
Intestino	0.7	0.5	0.7	1.1	2.5
Piel	0.4	1.0	0.7	0.8	1.0
Plasma	1.1	1.3	1.2	2.9	--

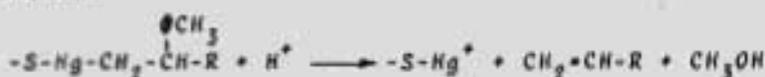
El grupo metoxi proviene de que estos mercuriales son sintetizados por oximercuración de alquenos en metanol, la naturaleza de este grupo no es particularmente importante para la actividad. Es posible que el reverso de esta reacción podría o-



currir bajo condiciones fisiológicas. Tal rompimiento ocurriría más rápidamente a pH más bajo. Ciertamente este desprendimiento del  $Hg^{++}$  no es generalmente responsable de las acciones y toxicidad de los mercuriales orgánicos, y la mayoría de los mercuriales, tales como p-MB, PM, y MM son bastante estables. Los diuréticos mercuriales presentan una diferente situación y la teoría del desprendimiento de  $Hg^{++}$  debe ser reconsiderada. La posibilidad de que la reacción anterior fuera catalizada o acelerada por tioles por la formación de mercáptidos se presenta a continuación:



En este esquema, el  $Hg^+$  libre no se puede producir directamente, en lugar de ello se forma el mercáptido cíclico, el cual posiblemente sea el complejo inhibidor en el transporte renal, aunque es también posible que monotioles puedan actuar en forma similar:



Otros tipos de rompimiento estimulados por ácidos deberían ser las reacciones simples:



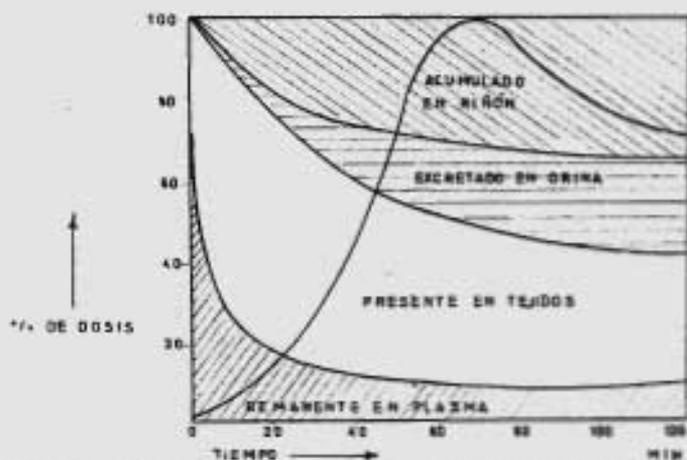


FIG 21 DISTRIBUCIÓN DE  $Hg^{2+}$  DESPUÉS DE INYECCIÓN INTRAVENOSA DE CLORHIDRATO DE MERCURIO A 1 MG/KG. LA CURVA MUESTRA EL CAMBIO EN EL FLUJO DE ORINA DIURÉSIS.

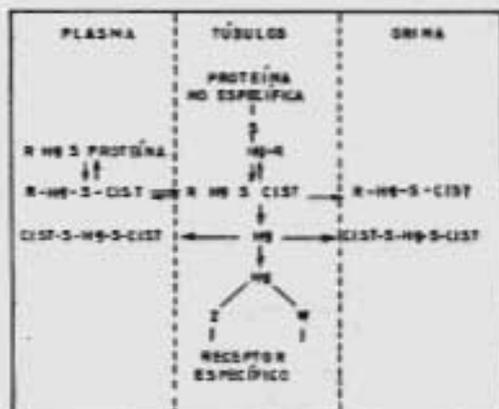


FIG 22 ESQUEMA DE LAS REACCIONES DEL MERCURIAL EN EL RIÑÓN.

pero generalmente ocurren muy lentamente, especialmente para los alquilmercuriales.

La hipótesis de que los mercuriales orgánicos diuréticos activos deben desplazar al  $Hg^{++}$  en el riñón fue propuesta por Hudge y Weiner. La evidencia es principalmente en dos direcciones: 1) una correlación entre la labilidad a los ácidos de los mercuriales orgánicos y su actividad diurética, y 2) la potencialidad de la actividad diurética por la acidificación del  $NH_4Cl$ , la cual ha sido materia de mucho trabajo y especulación pero los mecanismos todavía son desconocidos.

No se hace manifiesto inmediatamente el porque el  $Hg^{++}$  deba ser formado a partir de los mercuriales orgánicos para inhibir el transporte renal, ya que en la mayoría de los casos los mercuriales orgánicos reaccionan rápidamente con grupos SH. Si mercaptinas o dimercaptidos participan en el rompimiento de los mercuriales, el  $Hg^{++}$  formado debe disociarse de estos grupos SH y atacar a otros, porque el componente celular al que originalmente se une el mercurial debe ser bloqueado: Si el  $Hg^{++}$  es necesario para la diuresis debe ser porque: 1) Se requiere un mercaptido cíclico o 2) los grupos SH importantes no son estéricamente accesibles para las moléculas grandes de los mercuriales orgánicos. Weiner propone que el receptor específico para la acción diurética contiene dos grupos, uno siendo un grupo SH, y el otro siendo un grupo SH de otro ligando que acompleja con el  $Hg^{++}$  (por ejem. un grupo amino). El esquema completo se muestra en la figura 21. Es extraño que este componente del transporte no sea inhibido por mercuriales orgánicos unidos a un grupo SH, o que ciertos reactivos SH potentes, tales como MM o p-MB, no lo inactiva. El p-MB no diurético previene y revierte los efectos diuréticos, mientras que el MM no lo hace. Una competencia entre el p-MB y el  $Hg^{++}$  para los grupos SH receptores se ha sugerido. Miller y Farah también postulan un receptor de dos grupos, un grupo siendo SH; los mercuriales los cuales son diuréticos atacan al grupo SH, rompiéndolo, y el  $Hg^{++}$  resultante ha un ataque a los dos puntos.

Otro mecanismo de la acción diurética fue propuesto por Kessler, quien asume que los mercuriales orgánicos actúan como moléculas intactas por un ataque en dos puntos a un receptor. La estructura básica para la actividad diurética fue dada como  $R-C-C-C-Hg^+$ , el grupo R interactúa de alguna manera con un grupo espacialmente apropiado en relación a un grupo SH. Pero esta teoría ha sido abandonada ya que varios mercuriales no conformes a esta estructura son diuréticos, por ejem. algunos arilmercuriales.

#### Mecanismo de la Inhibición del Transporte.

Todas las evidencias apuntan a una falta de depresión significativa de las fases exergónicas del metabolismo renal en concentraciones que marcadamente afectan el transporte, así que es probable que la acción es sobre algún componente del sistema funcional. De acuerdo a lo dicho sobre los efectos de los mercuriales sobre las membranas y sus permeabilidades, es más probable que el sitio de acción es la membrana de la célula tubular. La bomba de  $Na^+$  está probablemente localizada en la membrana peritubular y la difusión de  $Na^+$  a través de la membrana luminal es pasiva a lo largo de gradientes de concentración y eléctricos. De acuerdo a una serie de trabajos, los mercuriales podrían disminuir la reabsorción de  $Na^+$  actuando de tres formas: 1) inhibición de la bomba de  $Na^+$ , 2) disminución de la permeabilidad del  $Na^+$  en la membrana luminal, o 3) incremento de la permeabilidad para el  $Na^+$  de la membrana peritubular.

#### MUSCULO ESQUELETICO.

El diafragma de rata en reposo tratado con 1-2 mM de metilmercurial inhibe prontamente las contracciones fibrilatorias acompañadas por variaciones pequeñas (1 mV) rápidas del potencial de membrana, lo cual persiste por varios minutos, a esto sigue un aumento de la tensión de reposo durante los siguientes 10 min, y finalmente el desarrollo de una lenta contractura

irreversible y pérdida de excitabilidad. El  $Hg^{++}$  causa sólo la contractura lenta y pérdida de excitabilidad. El Decametónio y el curare abolen la fibrilación debida al mersalil indicando que es sobre la placa final. Además un músculo crónicamente denervado no muestra la fibrilación por el mersalil. Además como la fisostigmina y neostigmina causan una fibrilación similar, y como el mersalil inhibe la colinesterasa del músculo, se concluye que la fibrilación resulta de la inhibición de la colinesterasa, conduciendo a la acumulación de acetilcolina.

Kuschinsky y Lullman encontraron que el mersalil causa una rápida pérdida de  $K^+$  en músculo de rana y se atribuye a una contracción inicial rápida, por una despolarización de las fibras. La contracción por el mersalil depende del  $Ca^{++}$  en el medio, pero esto puede ser verdad para la mayoría de los tipos de contracción.

La contracción de fibras de músculo, glicerínados, por ATP se inhibe por  $Hg^{++}$  en concentraciones de alrededor de 0.01-0.1 mM y por mersalil en concentraciones similares. Una preparación contraída por ATP es relajada por la adición del mercurial. Estos efectos son irreversibles por el lavado o tratamiento con cistelna. Weber y Portzehl sugieren que la inhibición del efecto del ATP es debido al bloqueo de la ATPasa así es que el ATP puede actuar sólo para producir plasticidad, pero hay también, de acuerdo con Edman, un efecto directo ya que hay algo de relajación en la ausencia de ATP.

Se ha hecho un gran trabajo sobre las proteínas de músculos contractiles expuestas a mercuriales, y la importancia de los grupos SH ha sido concluyentemente demostrada. Los efectos de los mercuriales se resumen en la tabla 19. Actina y miosina poseen grupos SH de diferentes grados de reactividad y función. En el acomplejamiento de la actina y la miosina para formar actomiosina, son los grupos de la miosina los importantes.

Los efectos de los mercuriales sobre proteínas extraídas de músculo son interesantes y amenudo obtenidas a bajas concentraciones, pero actualmente no hay forma de determinar si son las responsables de cualquier cambio observado en músculo intacto.

TABLA 14  
Efectos de los Mercuriales sobre las Proteínas Contráctiles  
del Músculo.

Efecto Producido	Mercurial	Concentración (mM)
Inhibición de la formación de actomiosina-	p-NB	1/3 SH's reaccionados
	Hg <sup>++</sup>	--
	Mersalil	1-7 moles/10 <sup>5</sup> g
	MN	-
Disociación de la actomiosina	p-NB	-
	Mersalil	-
Inhibición de la contracción del gel de actomiosina por ATP	Mersalil	0.3
Inhibición de G-actina → F-actina (polimerización)	p-NB	2.5
	p-NB	2-5 SH's reaccionados.
	Hg <sup>++</sup>	-
	Mersalil	-
	Mersalil	0.3
Depolimerización de la F-actina	p-NB	1
Prevención de la unión del ATP a la G-actina.	Hg <sup>++</sup>	0.11
	Mersalil	0.12
Disociación del ATP unido a la G-actina	p-NB	0.1
Desprendimiento del Ca <sup>++</sup> unido a la G-actina.	p-NB	1
	MN	1
	Mersalil	1
Incremento de la viscosidad de la miosina	Mersalil	0.3
Desprendimiento de la subunidad de la miosina	MN	

## CORAZON.

Los efectos de los mercuriales en detrimento del corazón han sido muy reconocidos y muchos casos de muertes clínicas por inyecciones intravenosas de diuréticos mercuriales han sido reportadas. Se atribuye en general la muerte a la acción directa sobre el corazón durante concentraciones temporales elevadas en el plasma, mientras que a las usuales concentraciones [bajas] requeridas para la diuresis no hay efectos cardíacos detectables. Las acciones de los mercuriales sobre el corazón han sido bien estudiadas pero no así si estas acciones involucran disturbios metabólicos. Los investigadores han demostrado únicamente que el corazón puede ser suprimido por mercuriales y que las potencias relativas dependen de las sustancias con las cuales el  $Hg^{++}$  está acomplejado. Por ejemplo, se ha visto que compuestos del tipo de  $R-Hg-OH$  o  $R-HgCN$  son alrededor de 10 veces tan cardiotoxicos en gatos como compuestos del tipo  $R-C-Hg-C-R$  en los cuales el  $Hg$  está unido a dos átomos de  $C$ , y que la toxicidad está relacionada a la velocidad con la cual estos compuestos reaccionan con el sulfuro. Los resultados más importantes obtenidos se resumen en las siguientes secciones:

## a) Preparaciones aisladas de corazón.

Los efectos de los mercuriales dependen de las especies, del mercurial usado y su concentración (tabla 20). Como era de esperarse, hay una depresión general de la amplitud de la contractilidad, velocidad de latido, y velocidad de conducción, lo último conduce a varios grados de bloqueo aurículo-ventricular y disociación de aurículas y ventriculos. La detención ventricular amenudo ocurre antes de que la aurícula cese de latir. La taquicardia y la fibrilación son frecuentemente vistas en animales con intoxicación aguda con mercuriales, pero no se descubre en preparaciones aisladas, aunque ocasionalmente a bajas concentraciones, o inicialmente, algún incremento en velocidad y amplitud contractil se puede observar. La mayoría de estos efectos son irreversibles, o sólo parcialmente reversibles en las concentraciones más bajas y con corta exposición, aunque en

TABLA 20  
Resumen de Algunos Efectos de Los Mercuriales sobre el  
Corazón Aislado.

Preparación	Mercurial	Conc. (mM)	Efecto sobre		Otros efectos	
			Contracción	Velocidad		
Corazón de rana	Hg <sup>**</sup>	0.037	0	0	-	
		0.08	Lenta <	0	-	
		0.37	Rápida <	Variable <	Bloqueo a-v	
	p-MB	0.6	Algo >	<	-	
		0.056	<	Detención	Bloqueo a-v	
Corazón de Sontuga	Hg <sup>**</sup>	0.56	Rápida <	Detención	Contracción	
		0.09	Algo >	Algo >	-	
		0.18	Moderada <	Moderada <	-	
	p-MB	0.37	Marcada <	Marcada <	-	
		0.6	<	-	Bloqueo a-v	
Aurícula de rata	Hg <sup>**</sup>	0.0005	0	Ligera <	-	
		0.0013	0	Moderada <	-	
		0.0025	Ligera >	Marcada <	-	
	p-MB	0.05	Lenta <	-	No contracción	
Ventrículo de rata	Hg <sup>**</sup>	0.01	Lenta <	-	-	
Corazón de gato	Hg <sup>**</sup>	0.00013	Algo <	-	-	
		0.00025	Marcada <	Detención	-	
		0.0005	Marcada <	Detención	Diarritmias	
		Hexalunide	0.0003	Algo <	-	-
			0.0009	Marcada <	-	-
	Hexaptomexi- na	0.0025	Marcada <	Detención	-	
		0.044	Algo <	-	-	
		0.11	Marcada <	-	-	
		0.15	Marcada <	-	-	
		0.4	Marcada <	Detención	-	

ocasiones el dimercaprol o cisteína ocasionalmente son capaces de hacer reversibles grados avanzados de depresión.

b) Efectos cardíacos en animales intactos.

La muerte súbita durante, o seguida a una inyección intravenosa de mercuriales clínicamente diuréticos ha sido generalmente atribuida a fibrilación ventricular. En animales (generalmente perros y gatos) los mercuriales producen los siguientes efectos cardíacos: depresión cardíaca inicial, distorsión de la conducción aurículo-ventricular, conduciendo ocasionalmente a una bradicardia ventricular temporal, agitación auricular o fibrilación (raramente), retardo de la conducción ventricular, y amenudo taquicardia ventricular, antes de la fibrilación terminal. La enervación del corazón probablemente juega un rol importante en la iniciación de las disritmias, ya que la atropinización o corte del vago en perros previene la fibrilación ventricular debida al mercurial. También se sabe que la epinefrina potencializa la acción fibrilatoria de los mercuriales. La caída de la presión sanguínea invariablemente durante la infusión intravenosa de los mercuriales debe inducir actividad simpática y un aumento en las catecolaminas del plasma. Varias sales de  $Hg^{++}$  aparentemente no es probable que induzcan disritmias como los mercuriales orgánicos y son depresivos más directos. El  $Hg^{++}$  inorgánico es más tóxico, las dosis letales generalmente están alrededor de un tercio a un medio con respecto a los mercuriales orgánicos.

Los cambios electrocardiográficos son similares para todos los mercuriales diuréticos probados y para  $HgCl_2$ , y son primeramente el resultado de distorsión en la conducción.

c) Potenciales transmembranales y alteraciones iónicas.

Las características de la membrana de la aurícula de la rata son cambiadas marcadamente por 0.05 mM de p-MS, aunque la velocidad de acción es lenta. Durante los primeros 10-30 minutos, no hay una alteración significativa en el comportamiento conductil, pero hay una reducción progresiva en la magnitud del potencial de acción, una aceleración de la velocidad de repola-

nización y un retardo de la conducción. Es posible que estos primeros efectos provengan de una acción selectiva sobre las membranas celulares. Durante la siguiente hora estos cambios continúan pero, en suma, la contracción llega a ser distorsionada. En una hora los cambios pueden resumirse como sigue: ningún cambio significativo en el potencial de reposo (+2.1%), una severa depresión de la magnitud del potencial (-29%), una más rápida repolarización (+51%) que conduce a una más corta acción del potencial (-60%), una disminución de la tensión desarrollada (-48%), un retardo de la conducción (-38%) y una prolongación del período latente (+61%). Aún durante este último período aparece que la depresión de la contractilidad es debido principalmente a una reducción del potencial de acción. No hay marcados cambios en el  $K^+$  intracelular durante la duración de los experimentos, así es que una apreciable depresión de las bombas de iones o incrementa en las permeabilidades iónicas no parece ser una característica de la acción sobre el corazón. Las varias regiones del corazón responden en forma diferente a los mercuriales como ocurre con otros inhibidores y drogas.

d) Enervación cardíaca y respuesta a la acetilcolina y epinefrina.

Se ha establecido que el  $Hg^{++}$  primero sensibiliza del corazón al vago y al final bloquea las terminaciones vagales. Es durante la primera fase de sensibilización que las disritmias son aptas para ocurrir, lo cual es razonable ya que la acetilcolina es profibrilatorio como resultado de su marcado acortamiento de la duración del potencial de acción. El  $Hg^{++}$  y el p-MB en 0.01-0.1 mM antagonizan los efectos de la acetilcolina de corazón de rana. Se concluye que los receptores de acetilcolina pueden contener grupos SH. Se titularon los grupos SH en homogenado de ventrículo de rana y se encontró que la presencia de acetilcolina altera la forma de la curva de titulación pero no el número total de grupos SH titulados, parte de los grupos SH llegan a ser menos reactivos en presencia de acetilcolina. Además como la colinesterasa se inhibe en cierto grado por los mercuria-

Les (tabla 12), es posible que esto pueda contar para la sensibilización vagal, un bloqueo secundario de los receptores por acetil colina revierte este efecto. No hay evidencia para una interferencia específica con la acción de las catecolaminas sobre el corazón, pero la epinefrina potencializa la acción profibrilatoria de los mercuriales.

e) Consideración de algunos mecanismos de acción cardíaca.

En corazón de rana si el  $Ca^{++}$  se reduce a un medio de lo normal, el corazón es deprimido mucho más rápidamente por el  $Hg^{++}$ , pero si el  $Ca^{++}$  se reduce aún más (por sí mismo se suprimen las contracciones), el  $Hg^{++}$  puede entonces estimular la amplitud. Altas concentraciones de  $Ca^{++}$  antagonizan la acción del  $Hg^{++}$ . El incremento de  $K^+$  retarda la velocidad y entonces el  $Hg^{++}$  acelera el corazón y parece tener efecto menor sobre la contracción. Los investigadores sugieren que las alteraciones en respuesta al  $Hg^{++}$  deben ser debidas a cambios en la permeabilidad.

#### MUSCULO LISO.

Las sales de  $Hg^{++}$  son capaces de causar diarrea. Al  $HgCl_2$  no en vano se le llama "sublimado corrosivo" ya que es un irritante directo de los tejidos, por lo cual produce daño de origen metabólico y no metabólico, esto inicia una secuencia inflamatoria, la cual en el intestino causa un incremento en la actividad, depresión de la habilidad para absorber agua y varias sustancias, y consecuentemente colitis y diarrea. En intoxicación severa con mercurio hay una apariencia hiperémica y hemorrágica del intestino con erosión y necrosis.

#### SISTEMA NERVIOSO.

La disfunción neurológica es común en la intoxicación por mercurio pero no se sabe si la acción es axonal o sináptica.

Se ha mostrado que la transmisión en el ganglio cervical superior del gato es rápidamente y reversiblemente deprimida por p-NB en 0.0056-0.01 mM, mientras que simultáneamente los efectos de inyectar acetil colina son potencializados. Si la concentración se incrementa a 0.018 mM, se pierde esta potencialización de la acetil colina. La acción estimuladora del  $K^+$  es inafectada por más bajas concentraciones y deprimida por más altas concentraciones. La inhibición de la síntesis de acetilcolina está aparentemente no involucrada ya que hay un almacenamiento de acetil colina y la depresión de la transmisión es inmediata, así que se postula una reducción de la respuesta de las células post-gangliónicas para la acetil colina. Sin embargo, al tiempo de la supresión inicial de la transmisión hay una potencialización de la respuesta de la acetilcolina, la cual es difícil de explicar, particularmente porque la inhibición de la colinesterasa no es una hipótesis probable para los ganglios. Es posible que los grupos SH de los receptores de la acetil colina se hacen reaccionar a concentraciones más altas del mercurial, como se ha sugerido para los receptores cardíacos.

La conducción axonal también se deprime por p-NB a bajas concentraciones. La conducción en el nervio cático de rana se bloquea en 4 min por 0.001-0.01 mM de p-NB. Hay una despolarización gradual del axón pero el bloqueo ocurre mucho antes de que el potencial se pierda.

Se ha visto que en intoxicación crónica de mercurio es posible que suficiente  $Hg^{++}$  se incorpore a la mielina para distorsionar la función nerviosa.

#### *Piel.*

Varios tipos de reacción de la piel a los mercuriales ya sea administrados tópicamente o sistémicamente han sido reconocidos por años. Los diuréticos mercuriales, como el mersalil, cuando se inyectan en pequeñas cantidades en la piel causan ampollas y se concluye que hay una relación entre actividad diurética y

vesicación. Almkvist propone que los mercuriales causan dilatación vascular en la piel, con la producción de edema, por parálisis de los nervios simpáticos, pero existe poca evidencia de que este sea un factor significativo.

## EFECTOS OBSERVADOS EN ANIMALES.

Los efectos dependen del tipo de mercurial, de las especies consideradas, si la intoxicación es aguda o crónica, la ruta por la cual el mercurial entra al cuerpo, y muchos otros factores. Los síntomas de intoxicación crónica por mercurio (mercurialismo) en el hombre son muy variables y generalmente no están correlacionados con los niveles urinario y sanguíneo del mercurio. Frecuentemente el mercurio urinario puede ser considerablemente más alto que el rango normal y todavía no aparecen síntomas; sin embargo, síntomas definidos pueden algunas veces ser observados en niveles normales. Esta falta de correlación con los niveles urinarios y la naturaleza de la intoxicación no solamente hacen difícil diagnóstico frecuentemente sino que indica que los patrones individuales de respuesta deben relacionarse a un número de factores oscuros, tales como constitución hereditaria, ingestión de vitaminas, balance electrolítico, nutrición proteica y otros imponderables. Las concentraciones de mercurio en sangre u orina son, por supuesto, determinantes, no críticos, en la intoxicación cuando el mercurio se ha tomado lentamente en el cuerpo por un período de meses o años. Otro factor que es de importancia, pero es poco conocido, son las concentraciones de varios tioles en la sangre, ya que no solamente alterarán la captación por todos los tejidos sino el patrón de distribución en el cuerpo.

## SINTOMATOLOGIA CLINICA.

La inhalación lenta de vapores de mercurio produce una intoxicación tónica de la clase comúnmente vista con sales de mercurio inorgánicas, porque el mercurio metálico es oxidado durante y después de la absorción. Sin embargo, cuando la concentración del vapor de mercurio es alta, la absorción es más rápida que la oxidación y los síntomas son únicos, por ejemplo:

hipertermia, taquipnea, tos, náusea, disnea y debilidad. Estos pueden ser debidos primeramente a la gran utilización del mercurio por el sistema nervioso central bajo estas condiciones. La mayor o menor volatilidad, solubilidad en lípidos de los mercuriales alquilicos produce un muy diferente esquema de los mercuriales inorgánicos o diuréticos. Los alquilmercuriales actúan más selectivamente sobre el sistema nervioso central para producir ataxia, parálisis y depresión (en altas concentraciones actúan como ciertos anestésicos) y agudamente estos efectos son posiblemente sin relación al mercurio o reacciones con grupos SH.

Los efectos agudos de los mercuriales sobre el sistema nervioso central son amenudo marcados, pero no han sido analizados en detalle. La respiración generalmente es afectada y puede ser tomada como un índice de ciertas acciones centrales. La estimulación respiratoria por el  $Hg^{++}$  y el mersalil ha sido atribuida a un efecto medular directo a bajas concentraciones pero dosis letales de  $HgCl_2$  y FN causan disnea y depresión de la respiración. La inyección de ciertos mercuriales puede producir una muy rápida reacción del tipo fulminante caracterizada por disnea, convulsiones o muerte, y esto ha sido atribuido a un efecto central sobre los centros respiratorios. Es interesante saber la forma o formas en las cuales el  $Hg^{++}$  penetra en el sistema nervioso, se principalmente como el  $HgCl_2$  descargado o en combinación con tioles u otras sustancias en la sangre.

Los síntomas característicos del mercurialismo, independientemente del tipo de mercurial responsable, pueden ser resumidos como sigue: 1) una fina intención de temor, parálisis de los dedos y manos, y progresivamente a los pies, párpados mejillas, lengua y cuello. La actividad motora es primariamente afectada y generalmente hay poca distorsión en la sensación. 2) Insomnio, anorexia, y varias alteraciones emocionales, tales como depresión y timidez. Hay generalmente poco efecto sobre la inteligencia o memoria. 3) Erelismo, o ruborización es amenudo

común, pero no se sabe si es por distorción emocional o alteración del control vascular autónomo. En algunas ocasiones, especialmente en niños, la piel se vuelve roja, tal eritema es más probablemente de origen vascular. 4) Estomatitis, salivación, e hinchamiento general, son frecuentes y posiblemente debido a la secreción de mercuriales en la saliva.

La excreción urinaria de mercurio en individuos normales es generalmente entre 1 y 15  $\mu\text{g}$  diarios, pero puede ser tan baja para ser indetectable o considerablemente alta sin síntomas obvios. En pacientes con evidente mercurialismo, el mercurio puede variar grandemente (excreciones entre 3 y 8000  $\mu\text{g}/\text{día}$  se han reportado), pero es generalmente arriba de 250  $\mu\text{g}/\text{día}$ . El nivel dependerá de la ingestión diaria y si el individuo está en completo balance o no. El hecho de que el mismo grado de severidad de síntomas puede ser observado, en pacientes con muy diferentes niveles urinarios lo que sugiere que la susceptibilidad al mercurio varía ampliamente, pero posiblemente las concentraciones en los tejidos del mercurio son mucho más conformes que las concentraciones urinarias.

Por muchos años una enfermedad poco común de los niños ha sido reconocida y llamada: enfermedad "rosa", acrodinia infantil, ó eritrema, y está caracterizada por enrojecimiento e hinchamiento de las extremidades y ciertas otras áreas de la piel, acompañada por fotofobia, irritabilidad, pérdida de los reflejos e hipotonía muscular. Un total de 20 casos mostró que la mayoría de los infantes con la enfermedad "rosa" tuvieron definitivamente niveles elevados de mercurio (75% tuvieron más de 50  $\mu\text{g}/\text{l}$  y 10% más de 400  $\mu\text{g}/\text{l}$  de orina) mientras que la mayoría de los niños control mostraron niveles indetectables. Es ahora generalmente aceptado que la mayoría de los casos de la enfermedad "rosa" son debidos a una intoxicación con mercurio, la cual se manifiesta en forma diferente a como los adultos, aunque algunos cambios neurológicos son similares. (La fuente del mercurio son generalmente derivados de calomel o mercurio). Algunos de los síntomas pueden no ser debidos directamente al mercurio pero son condiciones predisponentes a la intoxicación por mercurio. Entonces una elevada alcalinidad intestinal, debi-

da a una falla de secreción de ácido en el estómago de los infantes, pueden acelerar la oxidación del calomel, e incrementar su toxicidad, y simultáneamente reducir la absorción de ciertos ácidos grasos, esta última posibilidad será responsable en parte de la acrodinia. Como la acrodinia en animales puede ser inducida en deficiencia de piridoxina, hay también alguna posibilidad de que el mercurio inhiba ya sea alguna fase del metabolismo de la piridoxina o que bloquee una enzima del piridoxal-P para producir síntomas similares a la deficiencia.

#### Cambios Histológicos.

El esquema neurológico de fasciculaciones, hiperflexia, tremor y debilidad motora, sigue de la atrofia muscular, amenudo se ve en intoxicación crónica por mercuriales orgánicos. Ratas y monos crónicamente intoxicados con MM muestran degeneración Wallerian de los nervios periféricos. Los nervios periféricos y las raíces espinales posteriores son afectados primero y más tarde la columna posterior y la capa granular de la mitad del lóbulo del cerebelo. La ataxia y el tremor podrían resultar de lesiones cerebrales. Perros a los que se les ha administrado  $\text{HgCl}_2$  oralmente (15 mg/kg) exhiben un depósito de grasa en las células que rodean la vaina central, seguida por hinchamiento y necrosis, con eventual extensión a la periferia del lóbulo.

Fourleton cree que el  $\text{Hg}^{++}$  tiene afinidad por los lípidos, no sólo por la solubilidad del  $\text{HgCl}_2$  en grasas sino también debido a la formación de oleatos, y es transportado al hígado en la grasa circulante de la sangre. El daño al hígado resulta de un defecto del metabolismo de lípidos. Hay ciertamente distorsiones definitivas en el metabolismo de lípidos pero no evidencias que indiquen el mecanismo involucrado.

#### DOSES TOXICAS Y LETALES.

Un resumen de los diferentes tipos de mercuriales se analiza en la tabla 21. La dosis letal dependerá del intervalo escogido para la determinación de la mortalidad, ya que la muer-

TABLA 21  
Dosis Tóxicas y Letales de Mercuriales.

Mercurial	Animal	Ruta <sup>a</sup>	Parámetro <sup>b</sup>	Dosis (mgHg/kg)	
HgCl <sub>2</sub>	Ratón	IV	LD <sub>50</sub>	5.6	
		SC	LD <sub>50</sub>	17	
		IP	LD	5.9	
	Rata	SC	AT		2.7
		IP	LD <sub>50</sub>		3
			LD <sub>90</sub>		2.2
			LD <sub>100</sub>		3
	Perro	IP	MLD		4.4
		Oral	LD		11
	Gato	IV	LD		16
Hombre	Oral	LD		2.5	
Hg-salicilato	Conejo	IM	LD	30	
Hg(propionato) <sub>2</sub>	Gato	IV	LD	79	
Hg(benzoato) <sub>2</sub>	Gato	IV	LD	73	
H <sub>2</sub> O-Hg-propionato	Gato	IV	LD	19	
H <sub>2</sub> O-Hg-benzoato	Gato	IV	LD	10	
Mercururide	Ratón	IV	LD <sub>50</sub>	49	
	Perro	IV	MLD	44	
Hexbromina	Rata	IV	LD	15	
	Conejo	IV	LD	5.6	
	Gato	IV	LD	51	
Mercaptomerina	Ratón	IV	LD <sub>50</sub>	178	
	Gato	IV	LD <sub>50</sub>	155	
Mercurina	Gato	IV	LD	30	
Mersalil	Rata	IM	AT	20	
	Perro	IV	AT	9.2	
	Gato	IV	LD	15	
Metil-HgCl	Ratón	IP	LD	16	
Nitromersol	Rata	IV	LD	4	
	Conejo	IV	LD	1.7	

TABLA 21 (Continuación)

Mercurial	Animal	Ruta <sup>a</sup>	Parámetro <sup>b</sup>	Dosis (mgHg/kg)
Fenil-Hg-Acetato	Pollo	Oral	LD <sub>50</sub>	36
Fenil-Hg-Nitrato	Ratón	SC	LD <sub>50</sub>	28
		IV	LD <sub>50</sub>	17
Timenosal	Ratón	SC	LD <sub>50</sub>	33
		IV	LD <sub>50</sub>	22

<sup>a</sup>Rutas de Administración: IV= intravenosa, SC= subcutánea, IM= intra-muscular, IP= intraperitoneal.

<sup>b</sup>Parámetros medidos: AT= dosis tóxica aguda, MID= dosis mínima letal, LD= dosis letal (sin grado especificado), LD<sub>x</sub>= dosis para matar x%.

te por intoxicación del mercurial puede ocurrir varios días después de la administración. Es claro que los mercuriales orgánicos son por lo general menos tóxicos que el  $\text{HgCl}_2$ . Uno de los factores más importantes que determinan la toxicidad de los mercuriales que se administran intravenosamente es el estudio de la disociación de la unión  $\text{R-Hg-X}$ , donde X representa cualquier ion o tiol, ya sea que esté introducido con el mercurial o que esté presente en la sangre. En otras palabras la concentración del ion  $\text{R-Hg}^+$  libre, el cual es capaz de reaccionar con los grupos SH de las membranas de las células de los tejidos, es determinante de una mayor toxicidad. Un segundo factor de importancia indudable es la distribución de los mercuriales, en las formas  $\text{R-Hg-X}$  y  $\text{R-Hg}^+$ . Un grupo R o una unión  $\text{Hg-X}$  de lenta disociación favorecerá la penetración dentro del Sistema Nervioso Central en algunos casos, y esto puede alterar el patrón de toxicidad de una rápida muerte cardiovascular a un desarrollo de una degeneración lenta de ciertas vías nerviosas.

#### METABOLISMO DEL MERCURIO EN ANIMALES.

##### Absorción.

El mercurio entra al cuerpo a través del tracto gastrointestinal, el sistema respiratorio y la piel. La cantidad absorbida depende de la ruta de exposición y de la forma química.

Medidas cuantitativas de la absorción de Hg a través de la piel no son del todo claras; pero, a pesar de todo ha sido reportada una intoxicación en humanos seguida de una aplicación tópica de tiacetamida de metil mercurio, lo que indica absorción. Compuestos solubles de mercurio han sido usados extensamente para el tratamiento de desórdenes de la piel tales como psoriasis y dermatitis seborrética. En ratas y ratones, del 50 al 100% del mercurio inorgánico inhalado fue retenido.

Las formas inorgánicas de mercurio, incluyendo mercurio elemental, sales mercuricas y mercuricas, son poco absorbi-

das por el tracto intestinal.

En contraste con el mercurio inorgánico, la absorción intestinal del mercurio orgánico puede ser tan alta como del 95% en algunas especies. Algunos datos acerca de la absorción de cloruro de metilmercurio ( $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$ ) en cabras lactantes y vacas se encuentran en la siguiente tabla:

Metabolismo de metilmercurio-203 de una sola dosis oral en cabras y vacas lactantes.

	Cabras	Vacas
Absorción neta de $^{203}\text{Hg}$	69%	65%
$^{203}\text{Hg}$ en orina	1.4%	1.3%

#### Transporte Sanguíneo.

Cuando el mercurio elemental ( $\text{Hg}^0$ ) en forma de vapor entra en la sangre, la mayoría de él es oxidado rápidamente a ion mercurioso ( $\text{Hg}^{2+}$ ). El mercurio iónico circula entonces en la sangre unido a la mayoría de las proteínas plasmáticas; una pequeña cantidad del vapor, el cual escapa a la oxidación, cruza la barrera hematoencefálica y puede dañar seriamente el sistema nervioso.

Rápidamente después de la administración oral, pequeñas cantidades de mercurio inorgánico están en la sangre. En contraste, considerable metilmercurio se acumula en la sangre, del cual del 75 al 90% está en los glóbulos rojos. La forma química y la ruta de entrada tiene efectos tremendos sobre la distribución del mercurio en la sangre. Por ejemplo: en dosis orales a terneras, el mercurio radioactivo fue 100 veces más alto cuando se administró metilmercurio ( $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$ ) que cuando fue en forma inorgánica ( $^{203}\text{HgCl}_2$ ). En contraste cuando se les da en forma intravenosa a las terneras, la velocidad de aparición de la radioactividad en la sangre fueron similares y rápidas para ambas formas; todos estos datos se encuentran recopilados en la siguiente tabla:

Tejidos	Terneras						Vacas
	Oral			Intravenoso			
	MeHgCl	HgCl <sub>2</sub>	Radio % de dosis/Kg de tejido fresco	MeHgCl	HgCl <sub>2</sub>	Radio	
Riñon	4.4	0.55	8	10.3	82.1	0.12	1.75
Hígado	2.2	0.15	15	2.8	9.9	0.3	0.87
Cerebro	0.6	0.0028	214	0.6	0.15	4	0.76
Músculo	1.9	0.0032	594	1.8	0.30	6	0.50

#### Distribución en Tejidos.

La distribución del mercurio en tejidos depende de la forma química de la ruta de entrada (ver tabla anterior), del contenido dietario de otros elementos, especialmente selenio, y, al menos en pollos, de la genética. Excepto para el cerebro, la distribución de mercurio en tejidos es similar después de la exposición de mercurio mercuríco, a vapores de mercurio elemental. De cualquier forma, el mercurio como vapor penetra fácilmente la barrera hematoencefálica, produciendo cantidades varias veces más altas en cerebro que con mercurio mercuríco.

La velocidad de desaparición del mercurio en el cerebro es mucho más lenta que en la mayoría de los otros tejidos.

La gran parte de los tejidos del cuerpo acumulan más mercurio en la forma orgánica que en la inorgánica. Independientemente de la forma química o la ruta de la dosis, el mercurio radioactivo fue más alto en el hígado y en el riñon que en otros tejidos de ternera, cabra y otros animales. De cualquier forma la distribución relativa entre los tejidos varía considerablemente con la forma química y la ruta de entrada (ver tabla anterior). Por ejemplo, en músculo de ternera el radio de metilmercurio a cloruro mercuríco fue de 594 cuando se dió oralmente comparado a únicamente 6 con la administración intravenosa. También el mercurio radioactivo (<sup>203</sup>Hg) en hígado y riñon fue varias veces más alto el de la dosis de metilmercurio por vía oral que por vía intravenosa en terneras, el cual fue a su vez más alto en hígado y riñon con respecto a la forma inorgánica

[ $^{203}\text{HgCl}_2$ ]. Estos datos indican que el metabolismo de dosis oral e intravenosa del mercurio es diferente.

Aunque contienen mucho menos que el hígado y el riñón, los músculos acumulan más mercurio orgánico que la mayoría de los otros tejidos. Como los músculos, constituyen una gran porción de la masa del cuerpo, ellos contienen el más grande porcentaje del total del mercurio orgánico del cuerpo.

#### Excreción Endógena.

Las heces son predominantemente la ruta de excreción del mercurio, independientemente de su forma química o de su ruta de entrada al cuerpo. Aunque, la relación de excreción fecal y urinaria puede variar con la cantidad de dosis, especie animal y forma química. Relativamente más mercurio se excreta en orina con dosis altas. Asimismo, la excreción fecal endógena puede ser más alta en rumiantes que en la rata, presumiblemente debido a la excreción por vía biliar. El ratio de la excreción de mercurio fecal a urinaria es mucho más grande del metilmercurio que del cloruro mercuríco. Igualmente el ratio es más pequeño en dosis intravenosa que en dosis oral.

El cuerpo excreta el mercurio inorgánico más rápidamente que el mercurio orgánico. De ahí que la velocidad de excreción del mercurio dependa, en algo, del grado de la biotransformación de la forma orgánica a la inorgánica.

El metilmercurio tiene mucho más lenta velocidad de transformación que el cloruro mercuríco (vida media 70 vs 30 días en humanos y 88 vs 13 días en ratas) [se define como vida media el tiempo requerido para que el 50% del elemento sea removido del tejido]. La velocidad de transformación del metilmercurio se ve influenciada por una lenta velocidad de rompimiento de la fuerte unión covalente existente entre el grupo metilo y el ion mercuríco. Aún así, sobre el tiempo se ha reportado considerable rompimiento y por lo tanto biotransformación en ratas y ratones (50 a 90% en hígado y riñón en 50 días).

Compuestos de mercurio orgánico tales como etil y fenil mercurio son biotransformados a mercurio inorgánico más rápidamente que el metilmercurio. Otro factor que contribuye a la larga vida media biológica del metilmercurio es la rápida reabsorción seguida de la excreción en el intestino. El metilmercurio endógenamente excretado dentro del intestino se combina con cisteína y glutatona y es rápidamente reabsorbido, mientras que la mayoría del mercurio inorgánico que se excreta dentro del intestino sale con las heces.

El mercurio es transferido fácilmente de la dieta en los huevos, particularmente cuando se ingieren compuestos alquilmercúricos. Cerca del 80% del metilmercurio del huevo está en el huevo blanco.

#### Secreción en la leche.

Pocos datos con rumiantes indican que pequeñas cantidades de mercurio radioactivo inorgánico y orgánico son secretados en la leche. Sell y Davidson recobraron 0.28% de una sola dosis oral de metilmercurio en leche de cabra en 13 días, pero no detectaron nada en leche de vaca durante 7 días. Neatheny observó únicamente 0.17% de una dosis oral en leche de vaca a los 14 días. Potten recobró 0.07% de una sola dosis oral de  $^{203}\text{HgCl}_2$  en leche de vaca en 60 días. Howe recobró 0.23% de una sola dosis oral de cloruro mercúrico en leche de cabra después de 16 días y 0.9% para 18 días con dosis intravenosa.

#### Transferencia Placentaria.

La placenta es una importante barrera contra el mercurio inorgánico, en contraste, el metilmercurio es transferido fácilmente a fetos humanos y animales.

TABLA 21

Distribución de Mercuriales en Tejidos Animales.

Mercurial	Animal	Ruta	Dosis ( $\mu\text{gHg}/\text{kg}$ )	Tiempo (HA)	Concentración en Tejido ( $\mu\text{g/g}$ peso seco)								
					Hígado	Hígado	Páncreas	Supra- renales	Pulmón	Músculo	Cerebro	Sangre	
$\text{HgCl}_2$	Rata	IV	2.2	24	75	14.7	21	-	1.5	0.39	-	1.2	
		SC	12.5	54	144	35	-	-	-	-	1.4	4.6	
		IV	0.2	4	24	1.7	0.5	0.43	0.15	0.05	0.22	0.01	0.7
	Conejo	SC	7.0	192	118	9.4	2.0	-	-	-	-	0.36	0.67
		SC	2.0	24	35	3.4	1.54	-	-	-	-	0.07	0.44
				144	58	1.6	0.45	-	-	-	-	0.04	0.12
$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$	Rata	IV	0.1	3	5.1	0.06	-	-	-	-	0.0131	0.19	
				24	61.5	0.04	-	-	-	-	0.06	0.17	
				96	17.5	0.07	-	-	-	-	0.012	0.005	
Metil $\text{HgOH}$	Rata	IV	0.1	3	0.74	0.15	-	-	-	-	0.12	0.65	
				24	0.37	--	-	-	-	-	-	0.45	
				96	0.45	0.10	-	-	-	-	0.02	0.066	
Metil-Hg- dicianidamida	Rata	SC	7.0	192	81.7	14.3	24.8	-	-	-	3.96	48.3	
Fenil-Hg- acetato	Rata	IV	0.1	3	0.2	0.07	-	-	-	-	0.07	0.9	
				24	25	0.7	-	-	-	-	0.03	0.74	
				96	6.8	0.12	-	-	-	-	0.03	0.21	
	IM	3.0	12	21	6	6	-	-	-	1	-		
			24	10	5	6	-	-	-	0	-		
			SC	2.0	24	60	4.6	1.22	-	-	-	0.051	0.46
Mercaptoetanol- Conejo	IV	1.0	48	144	47	2.9	0.63	-	-	-	0.055	0.11	
				5.71	0.26	0.09	0.16	0.04	0.07	-	-		

## EFFECTOS SOBRE LA MITOSIS, CRECIMIENTO Y DIFERENCIACION.

Si los grupos SH son particularmente importantes en la división celular, como se ha creído, los mercuriales deben ser efectivos inhibidores del crecimiento y quizás agentes útiles para determinar si estos grupos SH son enzimáticos o involucrados en la estructura citoplásmica.

### HUEVOS.

Por diversos estudios realizados en peces, se ha encontrado que las intoxicaciones producidas por el mercurio, provocan una disminución en el número de huevos puestos, pudiendo deberse a este decremento a diversas causas, tales como:

a) Inhibición de la mitosis durante la maduración de los huevos, debido a la interacción del mercurio con grupos sulfhidrilo.

b) Inhibición de sistemas enzimáticos debido a los compuestos de mercurio, lo que causa la inactivación de sustancias biológicamente activas del retículo endoplásmico en las células del hígado, con la subsecuente inactivación de hormonas esteroides.

c) Cambios en las actividades de las hormonas proliicas, necesarias para la producción y puesta de huevos, debido a las reacciones del mercurio con los grupos sulfhidrilo.

En los trabajos realizados con peces cebras *Brachydanio rerio*, se obtienen los siguientes resultados: El número de huevos puestos decrece significativamente cuando el agua en donde viven los peces contiene 1 mg de acetato de fenilmercurio por gramo de agua, siendo la dosis media efectiva de 2.2 ng de acetato de fenilmercurio por gramo de agua, sin embargo, la capacidad reproductiva de los animales se disminuye en las dos concentraciones.

Por otra parte, en agua que contiene de 0.2 a 1 ng

de acetato de fenil mercurio por gramo, hay un decremento significativo en la frecuencia de las incubaciones.

El acetato de fenil mercurio quizás influya en los mecanismos de contracción, necesarios para el transporte de los óvulos de los ovarios a la abertura genital, o en las contracciones del músculo que se encuentra alrededor de la abertura genital.

#### PLANTAS.

Muchos mercuriales orgánicos son aplicados a semillas, bulbos o plantas como fungicidas, pero ocasionalmente los tejidos de plantas pueden ser dañados y el crecimiento reprimido. Por ejemplo, las semillas de clavel tratadas con PM radioactivo causa anomalías en el crecimiento de las semillas produce plantas las cuales en 8 a 9 semanas contienen el mercurial en las hojas del cotiledon, el hipocotilo y la raíz adyacente al hipocotilo. Un efecto muy interesante es sobre árboles de café en Kenia con enfermedad de deficiencia de zinc debido al rociado con fungicidas mercuriales. No sólo hacen que las plantas exhiban signos típicos de deficiencia de zinc (clorosis, crecimiento anormal de vasos y hojas) sino que reducen el contenido de zinc a un 25% del normal. El crecimiento de coleótilos de avena es rápidamente inhibido por los mercuriales, siendo el PM mucho más potente que el p-MB.

Las relaciones entre acción y estructura de los mercuriales actuando sobre las esporas de la alga roja marina *Plumaria elegans*, demuestran la importancia de las propiedades lipofílicas y de penetración (tabla 13). Los alquilmercuriales son amenudo 100-300 veces más tóxicos que el  $HgCl_2$ , para las plantas, siendo los compuestos de cadena ramificada menos tóxicos que los de cadena sencilla.

#### CELULAS DE MANIFEROS Y CULTIVOS DE TEJIDOS.

El crecimiento, en común con otros muchos procesos, puede ser acelerado a bajas concentraciones de los mercuriales, pero el mecanismo por el cual ocurre esto se desconoce.

TABLA 23  
 Concentraciones Letales para ESponas de Plumaria  
 expuestas a Mercuriales por 18 Hs.

Mercurial	Concentración para 50% de mortalidad (mM)	Potencia relativa a HgCl <sub>2</sub>
HgCl <sub>2</sub>	0.0115	1
HgI <sub>2</sub>	0.000344	33
Metil-HgCl	0.000176	65
Etil-HgCl	0.000097	119
n-Propil-HgCl	0.000046	250
n-Butil-HgCl	0.000043	268
n-Amil-HgCl	0.000041	280
Isopropil-HgCl	0.000099	116
Isoamil-HgCl	0.000060	192
Fenil-HgCl	0.000173	67
Fenil-HgI	0.00026	45

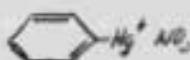
La inhibición del crecimiento es invariable cuando las contracciones del mercurial se elevan después de cierto nivel, lo cual es frecuentemente bastante bajo. La migración fibroblástica y leucocítica se deprime un 50% por  $Hg^{++}$  en concentraciones cercanas a 0.08 mM y el crecimiento se modifica en algo aún a 0.0037 mM. Cultivos de corazón de embrión de pollo cesan de crecer a 0.08 mM de  $Hg^{++}$ , y aquí los mercuriales orgánicos son menos tóxicos. Las pulsaciones de las células cardíacas son detenidas por  $Hg^{++}$  antes de que el crecimiento se vea afectado, pero los mercuriales orgánicos [timerosal y nitromersol] detienen el crecimiento y causan citólisis sin intervenir previamente con la actividad contráctil. Se puede entonces concluir que los mercuriales en concentraciones de alrededor de 0.005-0.05 mM restringen el crecimiento de células de mamíferos en cultivo, concentraciones más altas generalmente matan las células directamente.

#### ALGUNOS ASPECTOS GENERALES DE LOS EFECTOS DE MERCURIALES SOBRE LA MITOSIS Y EL CRECIMIENTO.

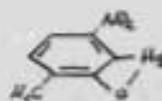
Se cree que el aparato mitótico puede ser una estructura con unión S-S porque la habilidad de los agentes de desdoblamiento las uniones S-S disuelve la estructura. La cuestión es si tal acción puede ser ejercida en concentraciones que se presentan dentro de las células durante la inhibición mitótica. El p-MB interfiere en la síntesis del RNA de los nucleósidos, como se ha determinado por la utilización de citidina dentro del RNA nuclear de las células HeLa, y se sugiere la inhibición de la RNA polimerasa.

EFFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE  
MICROORGANISMOS.

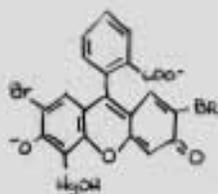
Los mercuriales han sido usados por años en el control del crecimiento de muchos tipos de microorganismos, invertebrados, y plantas, y han sido aplicados comercialmente como preservativos de pinturas, insecticidas de granos, antihelminéticos, antisépticos y desinfectantes, enfermedades bacterianas de plantas, y control de nematodos. Uno de los más importantes usos comerciales en el presente es como fungicidas en el tratamiento de semillas, frutas y plantas, y la gran parte de ciertos mercuriales orgánicos han sido desarrollados con este propósito. El uso clínico de los mercuriales como antisépticos, primero popularizado por Koch, fue abandonado debido al descubrimiento de agentes bacteriales más selectivos, pero la mayoría del trabajo experimental ha sido hecho con este grupo de mercuriales aromáticos:



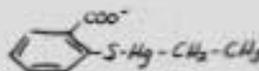
Nitrato Fenilmercurico  
(Merfenil nitrato, Merfino)



Nitromersol  
(Metafeno)



Merbromina  
(Mercurocromo)



Thimerosal  
(merciolate)

## BACTERIAS, HONGOS Y LEVADURAS.

Koch originalmente postuló que el  $Hg^{++}$  poseía la habilidad de matar varias bacterias y sus esporas, pero pronto mostró Geppert que las actividades proliferativas de las bacterias tratadas podían reestablecerse quitando el  $Hg^{++}$  con sulfuros y que la acción del  $Hg^{++}$  es primeramente bacteriostática, un concepto confirmado muchas veces y extendido a otros organismos. Con concentraciones suficientemente altas y exposición prolongada, por supuesto las bacterias pueden ser muertas. Las células de levadura incubadas con 0,93 mM de  $Hg^{++}$  son muertas progresivamente después de una hora, como se demuestra con la tinción de azul de metileno.

Las sensibilidades de varios microorganismos a los mercuriales se muestra en la tabla 24. Uno de los más importantes factores es el medio usado, ya que como el medio de crecimiento contiene muchas sustancias capaces de acomplejar con los mercuriales y reducir su concentración efectiva. Otro importante factor es la temperatura, ya que un incremento en la temperatura notoriamente aumenta el efecto bacteriostático. Hay que hacer notar que concentraciones bajas de mercuriales ocasionalmente estimulan el crecimiento, esto es quizás más cierto para hongos que para bacterias.

Los posibles mecanismos para la acción bacteriostática de los mercuriales ha sido debatida por años y muchas teorías han sido propuestas sin la comprobación de evidencias experimentales. Puede concluirse de las tablas 12 y 16 que el metabolismo se deprime de alguna manera durante la acción de los mercuriales sobre las bacterias, aunque se ha visto en algunos casos que puede detener el crecimiento sin alterar la respiración. El problema a resolver radica en si los mercuriales inactivan alguna enzima SH, o enzimas, involucradas en una importante vía metabólica, o reaccionan con grupos SH en la membrana bloqueando el transporte activo de sustancias necesarias para la célula, estabiliza directamente la membrana para prevenir la división, si interfieren con la utilización de ATP, o si alteran el metabolismo reaccionando con alguna coenzima tiol.

TABLA 24  
Concentraciones Bacteriostáticas y Bactericidas de Mercuriales  
actuando sobre Bacterias, Hongos y Levaduras.

Organismo	Mercurial	Parámetro <sup>a</sup>	Concentración (ml)	
<b>Bacterias</b>				
<i>Bacillus subtilis</i>	p-HB	G <sub>97</sub>	1	
<i>Clostridium histolyticus</i>	Hg <sup>++</sup>	S	0.0074	
<i>Clostridium welchii</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>100</sub>	0.09	
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	PM	S	1.28	
<i>Escherichia coli</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>100</sub>	0.045	
		S <sub>50</sub>	0.0037	
		S	0.0037	
<i>Lactobacillus casei</i>	p-HB	S <sub>50</sub>	0.084	
		PM	S	0.015
<i>Proteus vulgaris</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>1</sub>	0.004	
<i>Proteus vulgaris</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>100</sub>	0.045	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PM	S	0.16	
<i>Salmonella paratyphi</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>100</sub>	0.0037	
<i>Salmonella pullorum</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>1</sub>	0.012	
<i>Salmonella schotmulleri</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>1</sub>	0.012	
<i>Salmonella typhosa</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>1</sub>	0.012	
		C <sub>50</sub>	0.00013	
		S	0.15	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hg <sup>++</sup>	S <sub>100</sub>	0.23	
		C	0.1	
		S <sub>100</sub>	0.9	
		S <sub>50</sub>	0.0014	
		C <sub>33</sub>	0.062	
		C <sub>97</sub>	0.13	
<i>Streptococcus hemolyticus A</i>	Hg <sup>++</sup>	Tímerosal	S <sub>50</sub>	0.00032
		S <sub>100</sub>	0.023	
<b>Hongos</b>				
<i>Coccidioides immitis</i>	p-HB	Spha <sub>20</sub>	0.000028	
		Spha <sub>75</sub>	0.00028	
		S	0.028	

TABLA 14 (Continuación)

Organismo	Mercurial	Pardmetro <sup>a</sup>	Concentración [mM]
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	Hg**	G <sub>50</sub>	<0.05
	PH	G <sub>50</sub>	0.0007
<i>Penicillium notatum</i>	Hg**	S <sub>1</sub>	0.089
	PM	S <sub>1</sub>	0.048
<i>Rhizoctonia solani</i>	Hg**	S <sub>25</sub>	0.185
<i>Sclerotinia fructicola</i>	Hg**	S <sub>1</sub>	0.089
	PH	S <sub>1</sub>	0.048
<i>Stemphylium sarcinaeforme</i>	Hg**	S <sub>1</sub>	0.089
	PM	S <sub>1</sub>	0.048
Levadura			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Hg**	S <sub>70</sub>	0.0185
	p-MB	S <sub>55</sub>	0.00084

<sup>a</sup>Los símbolos representan lo siguiente: C= bactericida, G= inhibición de la germinación, S= bacteriostático, y Spher= inhibición de la esporulación. Los números subscritos indican el por ciento afectado.

## VIRUS.

La mayoría de los virus y fagos pueden ser inactivados por los mercuriales pero requieren de concentraciones mucho mayores a las utilizadas para inhibir el crecimiento bacteriano (tabla 25). Las velocidades de inactivación son bastante diferentes para varios virus: el virus ECHO 7 se inactiva un 50% por 0.05 mM de p-MB en 1 min e inactivado un 99% en 6 min, mientras que el virus del mosaico del tabaco no se inactiva completamente después de 24 Hrs de exposición a 18.5 mM de  $Hg^{++}$ . Esto es de esperarse ya que los grupos SH deben variar ampliamente en los virus en cuanto a reactividad como lo hacen los grupos SH de proteínas en general.

Los mercuriales generalmente no destruyen los virus, ni producen cambios estructurales irreversibles en ellos, ya que la reactivación con tioles se ha observado con el fago del estafilococo, en el virus de influenza, virus psittacosis virus vaccinia, fago del estreptococo y varios enterovirus.

La reactivación con tioles no prueba que los mercuriales reaccionen con los grupos SH del virus, como ha sido concluido, pero hay evidencia de los grupos SH. La resistencia relativa del virus del mosaico del tabaco a los mercuriales es probablemente debida a la inaccesibilidad de los grupos SH, se ha mostrado que el p-MB reacciona con todos los grupos SH del virus desnaturalizado pero no inactiva al virus nativo, se propone que algún factor estérico previene la reacción con el p-MB, ya que el NH reacciona estequiométricamente en una relación 1:1 con los grupos SH.

En cuanto a la inhibición por mercuriales de la multiplicación viral no hay un sitio particular de acción o fase de la multiplicación específica que alteren los mercuriales ya que es diferente para varios fagos y virus.

## PROTOZOARIOS.

Los ciliados son inmobilizados y muertos por los mercuriales pero los resultados reportados son cuantitativamente

TABLA 25

Inactivación de virus y bacteriófagos por Mercuriales.

Virus	Mercurial	Efecto <sup>a</sup>	Concentración [mM]
Adenovirus tipo 5	p-MB	Log TR=5	1
Bronconeumonía	Hg <sup>++</sup>	Inactivación=100%	0.37
Resfriado común	p-MB	Log TR=3	1
Coxsackie	p-MB	Log TR=0	1
Echo 7	p-MB	Log TR=1.5	1
		Log TR=3	0.1
Fago de E. coli	Hg <sup>++</sup>	Inactivación=99%	0.16
	p-MB	Replicación < 80%	1
Ectromelia	Hg <sup>++</sup>	Inactivación mínima	0.037
		Inactivación=100%	0.37
Encefalomiocarditis	Hg <sup>++</sup>	Inactivación mínima	3.7
Plaga de aves	Hg <sup>++</sup>	Log TR=4	0.1
	p-MB	Log TR=3.4	0.1
		Log TR=2	0.1
		Log TR=3.5	1
Herpes	Hg <sup>++</sup>	Inactivación mínima	3.7
	p-MB	Inactivación=100%	0.1
Influenza A	Hg <sup>++</sup>	Inactivación=100%	0.9
	PM	Inactivación=100%	1.1
	Hg <sup>++</sup>	Inactivación=100%	0.18
		Log TR=7	0.74
		Inactivación=100%	3.7
Influenza A Tsaha	p-MB	Log TR=2	1
Influenza A Lee	p-MB	Log TR=1.6	0.1
		Log TR=3.5	1
Influenza A HLI	p-MB	Log TR=2.8	0.1
		Log TR=4.5	1
Influenza A WS	p-MB	Log TR=1.5	0.1
		Log TR=2.4	1

TABLA 25 (Continuación)

Virus	Mercurial	Efecto <sup>a</sup>	Concentración (mM)
Hixoma	p-NB	Log TR=4	1
Newcastle	Hg <sup>**</sup>	Inactivación=100%	1.8
	p-NB	Log TR=3.3	0.1
		Log TR=4	1
Pleuronocumena (salata)	p-NB	Log TR=2	1
Poliomielitis	p-NB	Log TR=1	1
		Log TR=0.7	0.1
Pittacosis	Hg <sup>**</sup>	Inactivación=100%	1
	p-NB	No inactivación	0.01
		Inactivación=100%	0.1
Fago de Staphylococcus	Hg <sup>**</sup>	Inactivación=99%	0.37
Mosaico del tabaco	Hg <sup>**</sup>	Inactivación=47% (8h)	18.5
		Replicación < 50%	4.4
	p-NB	No inactivación	1
Vaccinia	Hg <sup>**</sup>	Inactivación=100%	0.1
		Log TR=4.8	0.1
	p-NB	Log TR=3.8	0.1
	Log TR=5	1	
Encefalitis equina	p-NB	Log TR=0	1

<sup>a</sup>TR es el título reducido resultante de la incubación con el mercurial; Log TR=3 significa que la infectividad (el título) se reduce 1000 veces.

discrepantes. Algunas de las variaciones en sensibilidad son debidas a las cepas usadas y probablemente del medio en el cual se suspenden a los cilios. Es probablemente seguro decir que el movimiento ciliar es muy sensible a los mercuriales y se detiene a los pocos minutos en concentraciones con el rango de 0.001-0.01 mM.

Los efectos de los mercuriales sobre el movimiento amiboide son interesantes ya que recuerdan la contractilidad del músculo. Con 0.001 mM de mersalil no hay cambios inmediatos pero despdes de varios días algo de daño es evidente. A 0.01 mM hay restricción de la respuesta pseudopodial normal y se forman muy pocos pseudópodos. A 0.1 mM los pseudópodos se separan, las células pronto forman numerosos pequeños pseudópodos en el fin de los cuales aparecen pequeñas esferas, la corteza parece ser más gruesa y eventualmente las células se redondean. A 1 mM la respuesta no es específica, la superficie forma burbujas, las células se redondean y pronto la membrana se disuelve. Concentraciones más altas producen vacuolización y citólisis.

## DESARROLLO DE RESISTENCIA A MERCURIALES.

La mayoría de los tipos de microorganismos parecen ser capaces de adaptarse a la presencia de los mercuriales. Algunos factores de resistencia se dan en la siguiente tabulación,

Organismo	Mercurial	Factor de Resistencia.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hg <sup>++</sup>	>50
<i>Escherichia coli</i>	PH	1.8
<i>Salmonella pullorum</i>	Hg <sup>++</sup>	2.6
<i>Salmonella typhosa</i>	Hg <sup>++</sup>	12
<i>Penicillium notatum</i>	Hg <sup>++</sup>	6
<i>Sclerotinia fructicola</i>	Hg <sup>++</sup>	2.5
Levadura	Hg <sup>++</sup>	>10
<i>Candida utilis</i>	Hg <sup>++</sup>	7
<i>Treponema pallidum</i>	Hg <sup>++</sup>	75

pero es probable que mayor tolerancia se pudiera desarrollar en algunos casos si el tratamiento se prolongase. Hay también géneros y especies que en forma natural son resistentes. Un ejemplo interesante es la tolerancia relativa de *Penicillium roqueforti* al PH.

La resistencia es aparentemente no debida a la reducción de la permeabilidad a los mercuriales, ya que se encontró que estafilococos tolerantes al Hg<sup>++</sup> crecen cuando ellos han tomado mucho más del Hg<sup>++</sup> que se requiere para prevenir el crecimiento de una cepa normal. La situación con respecto al contenido de tiol de los organismos resistentes es confuso ya que la *E. coli* tolerante al PH tiene menos grupos SH que la normal. Las células de levadura normal producen H<sub>2</sub>S sólo de sulfitos, mientras que las cepas adaptadas lo producen de sulfato e hiposulfato, aunque no de cisteína y glutatióna. Si las cepas resistentes se crecen con sólo cisteína o glutatióna como fuente de azufre, el Hg<sup>++</sup> rápidamente inhibe su crecimiento.

El desarrollo de resistencia a mercuriales no está confinado a microorganismos sino que se observa en ciertos tejidos de mamíferos. Tsurumaki confirmó que los riñones de conejo sobrevivientes a inyecciones tóxicas de  $\text{HgCl}_2$  no son dañados por las mismas dosis si se dan después de 10-14 días después de la desaparición de la nefritis original. Los efectos depresivos del mercuriuro sobre el transporte intestinal del  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y agua también desaparecen después de la administración repetida de la droga.



al ser éste a su vez, dispersado por el viento y ser nuevamente precipitado por la lluvia. Sería razonable afirmar que la concentración de mercurio en el aire, por lo tanto en la lluvia, sería mucho más alta en zonas industrializadas, principalmente debido al alto consumo de combustibles fósiles y a la evaporación por las pérdidas mecánicas de las industrias que utilizan mercurio.

5) Agua. En un estudio de tan sólo 17 muestras de lluvia, se detectó en 12 de ellas, una concentración de 0.05 a 0.48 g/l.

Se han reportado concentraciones de mercurio en el análisis de lluvia de 0.00 a 0.07 ppb, y utilizando técnicas de análisis de activación neutrónica a baja temperatura, se encontró que el contenido de mercurio en la lluvia de Suecia era de 0.33 ppb. Mientras que estos valores confirman la presencia de mercurio en la lluvia y en el aire, a su vez la gran variabilidad de estos valores, reflejan el aumento de carga de la contaminación que resulta en grandes cantidades de mercurio que se escapan hacia la atmósfera en gran parte de las áreas altamente industrializadas.

\* El hombre utiliza en la actualidad alrededor de diez mil toneladas métricas de mercurio al año y de éstas, el 15% se pierde en el medio ambiente. La quema de combustibles como el carbón y el petróleo, también añaden una cierta cantidad de mercurio en la atmósfera.\*

El océano contiene alrededor de 300 millones de toneladas métricas de mercurio. A lo largo de la Historia del Hombre sobre la Tierra, él ha añadido menos de 100,000 toneladas métricas a los mares del mundo, lo que es considerado como una cantidad relativamente pequeña.

En muchas partes del mundo los desperdicios industriales y los desagues de la agricultura han contaminado realmente las aguas locales con compuestos de mercurio. Principalmente corrientes fluviales, lagos, estuarios y algunas áreas costeras superficiales se encuentran seriamente contaminadas. Y los efec-

tos de esto se hacen aparentes de inmediato en la vida silvestre.

En el complejo industrial del río St. Clair en Michigan, los niveles de mercurio aumentaron al triple de 1965 a 1970 en la lamprea. En el pez lucio y otros de agua dulce, los niveles de mercurio aumentaron 5 veces más de 1965 a 1970. Se reporta que una muestra tomada del lago Ontario cerca de la Bahía Hamilton en Canadá, contenía un promedio de concentración de mercurio de 0.48 ppb. Basados en varios análisis realizados con agua subterránea, se reporta que los niveles de mercurio encontrados en estas, fue de un rango de 0.02 y 0.07 ppb.

En un análisis de aguas alemanas en 1930 se encuentra un rango de 0.02 a 0.07 ppb.

En un estudio de 300 muestras de agua natural del centro de Italia, se encontró un rango de 0.01 a 0.05 ppb de mercurio.

\* Utilizando los métodos de análisis de activación neutrónica a baja temperatura, se estableció el contenido de mercurio de una sola muestra de agua en Suecia, que resultó ser de  $0.46 \pm 0.06$  ppb.

\* Los niveles de mercurio en aguas no contaminadas varían mucho en aguas dulces de los lagos, corrientes y ríos, dependiendo de los iones complejos que generalmente se encuentran presentes en estas aguas.\*

Se reporta que el contenido total en aguas de la Bahía de Minamata, en Japón, iba de 1.6 a 3.6 ppb. En el plancton, se encontró que contenía de 3.5 a 19 ppm de mercurio, lo que sugiere que cantidades considerables de mercurio en aguas del mar son asimiladas por éste. Probablemente los valores más altos de contenido de mercurio en el agua de la Bahía de Minamata, se deban en parte, al aumento del contenido de mercurio en los constituyentes orgánicos. También estos datos indican que grandes cantidades de mercurio se han depositado en la Bahía como resultado de procesos de manufactura en los que se utiliza el mercurio como catalizador. Se estima que una cantidad mayor de 600 tone-

ladas de mercurio se ha depositado en la Bahía, debido a estos procesos.

En otro estudio se encontró que la distribución vertical de mercurio en el área profunda de Ramapo, en el océano Pacífico, aumentaba de acuerdo a la profundidad; y los valores de 0.15 a 0.27 ppb de mercurio fueron obtenidos de la superficie, hasta 3,000 metros de profundidad.

Basados en los datos obtenidos, la concentración de mercurio promedio natural dentro del medio ambiente marino, va de 0.03 a 0.3 ppb. Sin embargo, estos datos demuestran que las variaciones pueden ser mucho mayores dependiendo de donde se tome la muestra.

[E] Suelos y Sedimentos. En los suelos existe una concentración de mercurio aproximadamente de 10 a 15 ppb, Sin embargo se han encontrado niveles más altos de concentración de mercurio asociados con suelos que tienen humus o fracciones orgánicas. ] ✓

Se reporta que los suelos adyacentes a extensos sistemas de vetas ricos en mineral de mercurio, en Real del Monte, Pachuca, contienen de 250 a 1,900 ppb de mercurio sobre un valor base de 50 ppb.

Un factor que hace difícil la tarea de acertar la cantidad exacta de mercurio que pudiera encontrarse en algunas áreas mineralizadas, es que estas áreas además de su contenido natural de mineral de mercurio, han sido contaminadas con éste.

Se han reportado otros datos de concentración de mercurio en suelos en otras partes del mundo. Los niveles de concentración en algunos suelos ingleses varía de 60 a 10 ppb; el contenido natural de mercurio en el suelo arenoso de Payallup en Washington, D.C., Estados Unidos, fue de 0.166 ppm. El contenido de mercurio en suelos de Nevada y Texas y suelos consolidados en general en los Estados Unidos, generalmente es de 0.20 y 0.04 ppm.

Informes o publicaciones que parecen dar niveles raramente altos de concentración de mercurio tanto como 920 ppb, son muy significativas, ya que se han reportado en áreas caren-

tes de mineralización de mercurio.

Una muestra de suelo puede variar en el contenido de mercurio de acuerdo a la localización geográfica. Las diferentes cantidades de materiales húmicos y arcillosos en los suelos modifica su capacidad para acumular mercurio. Se ha reportado que la parte húmica o la parte orgánica de un suelo tiene gran afinidad al mercurio, y por lo tanto, existe una relación directa entre estos dos parámetros.

El promedio de concentración de mercurio en la corteza terrestre, es de 0.07 ppm. Es por lo tanto, menos abundante que metales como el platino, el uranio y la plata. Sin embargo, generalmente se le encuentra en depósitos minerales de alta concentración, lo que facilita su obtención.

Las concentraciones de mercurio en las rocas van de 0.01 a 20 ppm.

Las rocas ígneas generalmente contienen menos de 0.20 ppm y en promedio 0.10 ppm.

Las rocas sedimentarias generalmente presentan un promedio menor de 0.10 ppm y rara vez exceden de 0.20 ppm a excepción de depósitos ricos en arcilla, que pueden tener concentraciones de 10 ppm o más.

Es difícil presentar un cuadro general de la concentración del mercurio en las rocas, ya que en ciertas áreas del mundo como en Crimea y la U.R.S.S., se presentan altas cantidades de mercurio en casi el total de las muestras de roca analizadas; aproximadamente una concentración de 100 veces mayor a los contenidos normales. En el área de la meseta de Colorado en los Estados Unidos las concentraciones son semejantes.

\* [D] Seres vivos. Las plantas y los animales tienden a concentrar el mercurio.

Existe una variable concentración de mercurio en las plantas y los animales, dependiendo de las especies, de las circunstancias y medio donde habiten. Bajo condiciones naturales la concentración de mercurio en la vegetación terrestre (sin contar las plantas cultivadas), alcanza un promedio no mayor de

una fracción de una parte por millón. } ✓

En frutas como la manzana, por ejemplo, los niveles normales son de 0.04 ppm o menos; en los tomates, hasta de 0.02; en las papas, de 0.01 ppm; y en el trigo y la cebada hasta 0.08 ppm.

Sin embargo, se han encontrado valores que son la excepción como por ejemplo, el trigo en Japón presenta (0.15 ppm), en Francia, (0.24 ppm), en Canadá (0.15-0.40 ppm). El arroz en la mayoría de los lugares del mundo contiene 0.015 ppm de mercurio o menos; pero valores más altos se han encontrado en muestras de arroz en los Estados Unidos (0.05), en Japón (0.06-0.24 ppm) y en Canadá (0.21 ppm).

Las plantas concentran el mercurio en cantidades muy variables. Por ejemplo, se ha encontrado que las algas marinas presentan un rango de 0.023 a 0.037 ppm que es una cantidad 100 veces mayor a la cantidad normal aceptada para los niveles en el agua de mar.

Los árboles y arbustos que crecen cerca de depósitos de cinabrio contienen hasta 3.5 ppm de mercurio. Cuando una cosecha o comestible se trata con un fungicida de mercurio serán más altos del nivel considerado como normal en las plantas; aunque en ocasiones esos niveles pueden deberse a altas concentraciones naturales de mercurio en el suelo.

Los residuos encontrados en granos de semillas tratadas con fungicidas de mercurio, son de 23 a 34 ppm. El lavado de la semilla tan sólo remueve de 10 al 40% del mercurio, y parece ser que éste es absorbido en las capas de las semillas tratadas con fungicidas de mercurio y representan un peligro para la salud de los animales o individuos que las ingieran.

Los niveles de mercurio encontrados en carne de aves y en huevos es de 0.02 ppm aproximadamente.

El mercurio se deposita en grandes cantidades en las plumas de las aves. Analizando especímenes como el faisán y la perdiz se ha demostrado, un considerable aumento de mercurio en el medio ambiente desde 1940 a la fecha, debido a los usos del

mercurio como fungicida para el tratamiento de algunas semillas de las cuales se alimentan las aves. También se ha observado un aumento mucho más agudo en las aves depredadoras que se alimentan de aves que comen semillas, como el halcón, el águila y la lechuza.

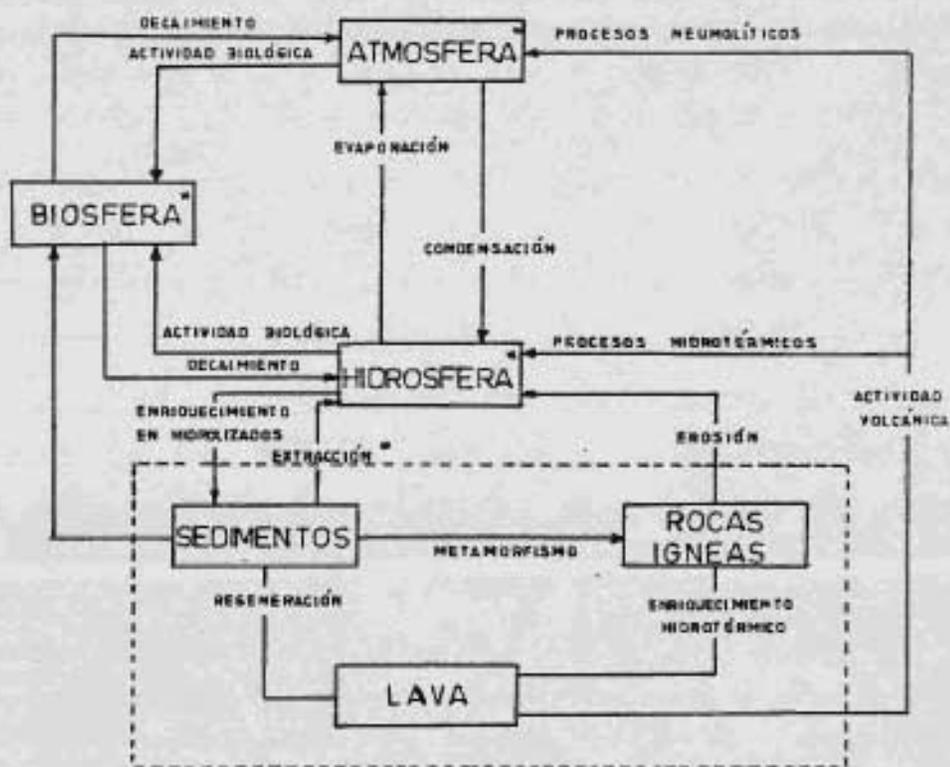
✦ En peces marinos la concentración normal de mercurio es menor de 0.10 ppm y a veces tan baja como 0.015 ppm. Pero particularmente en especies como el atún y el pez espada, las concentraciones que se han llegado a encontrar, sobrepasan el límite de seguridad considerado por la Federación de Drogas y Alimentos en los Estados Unidos, que es de 0.5 ppm. ✦

El atún y el pez espada han tenido altas cantidades de mercurio; en análisis realizados en especímenes de atún que se conservan en el Smithsonian Institution en Washington D.C., Estados Unidos, con una antigüedad desde 1890, presentaron 1 ppm, que es casi la misma cantidad encontrada en la actualidad en atunes colectados en 1971. Además se afirma que especies de atún y anchoveta de las culturas Pre-incas del Perú, tan antiguas como el año 1200 después de Cristo, presentaban incluso niveles de mercurio más altos.

✦ En tiburones se han llegado a encontrar niveles de 1 a 6 ppm. En especies como el pez lucio en Suecia se han llegado a encontrar hasta 17 ppm. ✦

#### CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL MERCURIO.

Durante millones de años el mercurio ha circulado en la litósfera, la hidrósfera y la atmósfera de acuerdo con leyes naturales y en concentraciones consideradas normales, como se indica en la figura 23. Los metales pesados como el mercurio, circulan en el medio ambiente a través de sus ciclos naturales de las rocas hacia el suelo y sedimentos acuáticos, de aquí a los organismos. Del agua, circula hacia la atmósfera por evaporación y también a consecuencia de la actividad volcánica. Por precipitación en la lluvia regresa de nuevo al agua y a los suelos.



\* INDICA LOS PUNTOS EN DONDE PUEDE Ocurrir ALTERACIONES PROVOCADAS POR EL HOMBRE.

FIG 23 CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL MERCURIO.

En los últimos 1000 años, el Hombre ha causado alteraciones en este ciclo natural, aumentando la concentración de mercurio en el medio ambiente, debido a los múltiples usos que se le ha dado, distribuyéndolo ampliamente sobre la Tierra.

Cada etapa en el ciclo del mercurio requiere de mucho tiempo para llevarse a cabo, por lo cual la contaminación de metales pesados en el medio ambiente, en comparación con la corta escala con la vida del hombre se puede decir que es permanente.

Desafortunadamente, se carece de la suficiente información para poder hacer una adecuada estimación de este ciclo ya que se desconoce la forma [metálica, inorgánica y orgánica] en el que, el mercurio se encuentra en las diferentes partes del ciclo, o la velocidad de conversión de una u otra forma química en el medio ambiente, con exactitud.

En los Estados Unidos de América, prácticamente no se le ha prestado atención a las concentraciones de mercurio, en la hidrosfera, hasta 1970, por lo tanto aquí es muy difícil evaluar las concentraciones naturales ó normales de mercurio en el agua. Sin embargo, entre los valores encontrados en algunos ríos considerados exentos de cualquier origen de contaminación industrial, son del orden de 3 ppb.

En la atmósfera, el mercurio se presenta en forma de vapor y en partículas, sin embargo la información respectiva en cuanto a concentraciones normales, se desconoce en realidad. Pero es razonable suponer que por su alta presión de vapor, el mercurio está presente en toda la atmósfera terrestre, simplemente por el ciclo que este sigue en la naturaleza.\*

Las concentraciones consideradas como naturales en la atmósfera a veces son muy bajas, y requieren de métodos muy sensibles para su determinación.

Hay mediciones que han llegado a ser del orden de 1 a 40 ng/ m<sup>3</sup>.

Al llegar a la biosfera la concentración es diferente conforme aumenta el nivel trófico de los animales presentes en

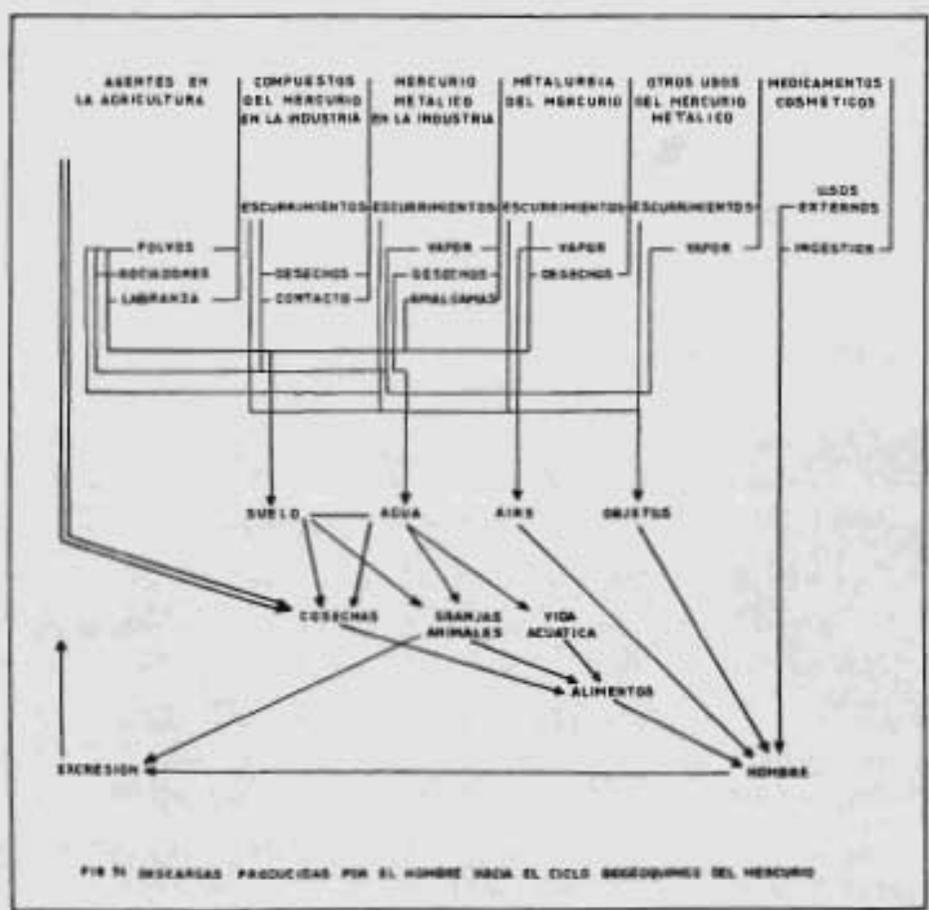


FIG. 21. DESCARGAS PRODUCIDAS POR EL HOMBRE HACIA EL CICLO BIOGEOQUIMICO DEL MERCURIO

La cadena alimentaria, las concentraciones son cada vez mayores sin embargo, bajo condiciones naturales se considera normal una concentración de 1 ppb. ]

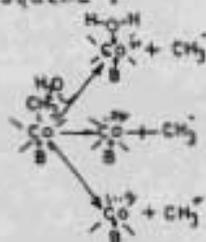
En la figura 14 se muestran las descargas producidas por el hombre hacia el ciclo biogeoquímico del mercurio.

#### METILACION BIOLÓGICA DEL MERCURIO.

Desde el descubrimiento de que el mercurio inorgánico podía ser alquilado a metil mercurio, en sistemas naturales se visualizaron las dimensiones del problema, de la contaminación con mercurio.

El Dr. John M. Wood, un Bioquímico de la Universidad de Illinois, Urbana, fue uno de los primeros en demostrar el mecanismo para la metilación del mercurio en sistemas naturales. En 1964, Jack Halpern y J.P. Maher, en la Universidad de Chicago, mostraron que el metilpentacianocobaltato (un compuesto del modelo de la vitamina B<sub>12</sub>), reaccionaría con el ión mercurio para dar metil mercurio. Entonces el Dr. Wood, concluyó que sistemas enzimáticos que contengan vitamina B<sub>12</sub>, deberían ser capaces de esta síntesis en sistemas biológicos. En las tres principales coenzimas conocidas de ser capaces de transferir grupos metilo en sistemas biológicos (3-adenosilmetionina, derivados del N<sup>5</sup>-Metiltetrahydrofolato y derivados metilcorrinoides), el primero de los dos involucra la transferencia de un grupo metilo como un ion carbonio, como también los tetrahydrofolatos. De ahí que, el Dr. Wood concluye que únicamente los metilcorrinoides son capaces de transferir metilos, ya que están estructuralmente aptos para transferir grupos metilo como carbaniones (CH<sub>3</sub><sup>-</sup>), iones carbono (CH<sub>3</sub><sup>+</sup>), o radicales (CH<sub>3</sub><sup>•</sup>):

Esquema I



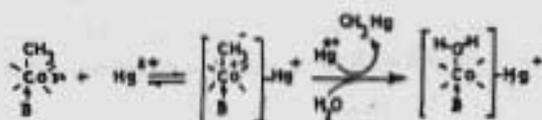
6. base (generalmente 5,6, dimetilbencimidazol, pero una variedad de bases pueden coordinar al átomo de cobalto como un ligando axial).

En 1968, el Dr. Wood y cols. mostraron que la metilcobalamina era capaz de sintetizar monometilmercurio y dimetilmercurio en sistemas enzimáticos y no enzimáticos, con proporción relativa de los productos dependientes de la concentración del ion mercurio. La investigación probó que la biosíntesis del metilmercurio podía ocurrir bajo condiciones anaeróbicas.

Otros experimentos cinéticos han ahora mostrado que el  $Hg^{2+}$  reacciona con metilcorrinoides de dos formas. La transferencia del metilo es dependiente del pH, y no procede estequiométricamente a menos que el ratio de  $Hg^{2+}$  a metilcorrinóide sea de 1:1. Esta estequiometría, el Dr. Wood dice que un ion mercuríco debe reaccionar con una molécula de metilcorrinóide (rápidamente), antes  $CH_3^-$  es sujeto a un ataque electrofílico por un segundo ion mercuríco (lentamente). Esta reacción no enzimática no ocurre en presencia de  $Hg_2^{2+}$  o  $Hg^+$ . Por lo que concluye que esta reacción debe de ser predominante en aquellos organismos aeróbicos que usan metilcorrinoides en su metabolismo intermedio, ya que bajo condiciones anaeróbicas  $2Hg^{2+}$ , más dos electrones produce  $Hg_2^{2+}$ , y  $Hg_2^{2+}$  más dos electrones produce  $2Hg^+$ .

Datos de resonancia magnética nuclear y espectroscopía de luz ultravioleta y visible sugieren que no ocurren cambios de valencia para el átomo de cobalto ( $Co^{3+}$ ) durante la transferencia del metilo al  $Hg^{2+}$ , probando que el grupo metilo se transfiere como  $CH_3^-$  (esquema II).

Esquema II:



El Dr. Wood está todavía intentando determinar, porque dos iones mercurícos son necesarios para desplazar un  $\text{CH}_3^-$  en esta síntesis.

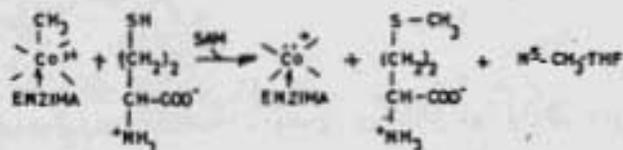
Los metilconinoideos están también implicados en la metilación del mercurio por tres sistemas enzimáticos:

- Cobalamín dependiente de la transmetilasa  $\text{N}^5$ -metilte-trahidrofolato-homocisteína (metionin sintetasa).
- Acetato sintetasa.
- Metano sintetasa.

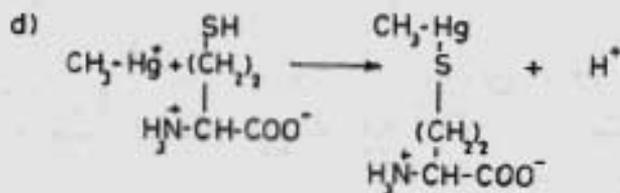
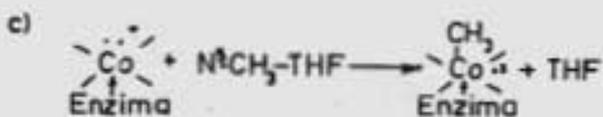
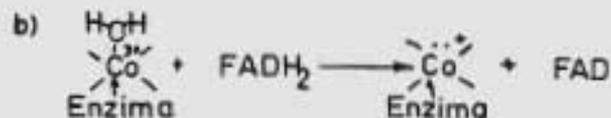
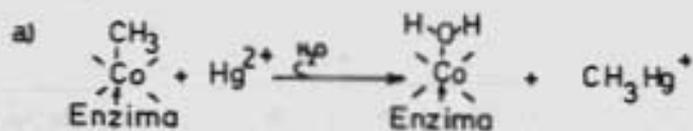
#### METIONIN SINTETASA.

Un Grupo de Microorganismos incluyendo la *Escherichia Coli*, usa la cobalamín dependiente de la metionin sintetasa para producir el aminoácido esencial metionina. Esta enzima está presente en algunos aerobios y anaerobios, así como en el hígado de mamíferos. En este sistema la metilcobalamina se usa a la apoenzima de la metionin sintetasa para dar el complejo activo enzima-sustrato:

Esquema III:



Esquema IV



FAD Flavin adenin dinucleotido oxidado

FADH Flavin adenin dinucleotido reducido



## METANO SINTETASA.

La Metano Sintetasa es una enzima muy común, en ecosistemas anaeróbicos, tales como sedimentos de ríos y lagos y el rumen. En el sistema de la Metano Sintetasa para la metilación del mercurio hay evidencias de que el grupo metilo es transferido a una segunda coenzima de estructura desconocida (X) antes de que la ruptura reductiva a  $\text{CH}_4$  ocurra (esquema VI). Se requiere adenosín trifosfato (ATP) en cantidades catalíticas.

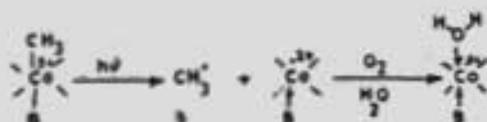
Esquema VI



B =  $\text{H}_2\text{O}$ , 5,5 DIMETILBENZIMIDAZOL ó 5-OH BENZIMIDAZOL

El uso de experimentos controlados con isótopos y fotólisis prueban que la transferencia del metilo en la metano sintetasa ocurre por medio de un mecanismo de radicales. Cuando los metilcorrinoides son fotolizados bajo condiciones anaeróbicas, la homólisis de la unión Co-C ocurre para dar  $\text{Co}^{2+}$  radical y radical metilo.

Esquema VII



Como los datos experimentales prueban la transferencia de  $\text{CH}_3^-$ , y como el potencial redox requerido para el crecimiento de estos anaeróbicos estrictos es menor que  $-400 \text{ mv}$ , entonces cualquier sal mercuríca agregada al sistema enzimático metano sintetasa será reducida a  $\text{Hg}^0$ , el dimetilmercurio es entonces sintetizado por la adición de  $\text{CH}_3^-$  a  $\text{Hg}^0$ .

Esquema VIII;



Parece factible, que el  $\text{Hg}^{2+}$  pueda ser transportado a través de las membranas celulares por estos anaeróbicos, reducido a mercurio metálico, y entonces metilado como en el esquema VIII.

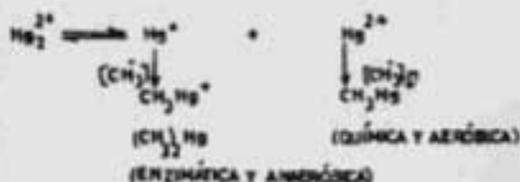
El dimetilmercurio difundiría rápidamente de las células microbianas y si el pH de los sedimentos fuera alcalino este compuesto debería ser desprendido al agua. Y si el pH fuera ácido, debería ser convertido a monometilmercurio y metano:

Esquema IX



Por lo tanto los metilconinoides están presentes en un número suficiente de microorganismos para permitir la síntesis de compuestos de metilmercurio en sistemas aeróbicos y anaeróbicos (Esquema X). Por lo tanto, la velocidad de síntesis dependerá de la población de microorganismos en estos ecosistemas.

Esquema X



Esta población depende de las cantidades de carbono, nitrógeno y compuestos fosforados agregados a los sistemas acuáticos.

#### CADENAS ALIMENTARIAS.

Los organismos vivos en una comunidad acuática representan un conjunto de grupos, que de acuerdo con la utilización de los materiales alimenticios se clasifican dentro de un determinado nivel trófico.

El tamaño de la comunidad acuática depende de los materiales alimenticios disponibles y de su transporte a través de los diferentes grupos.

Las sustancias básicas nutrimentales son los materiales inorgánicos y orgánicos disueltos.

El fitoplancton y las plantas superiores son los principales organismos para llevar a cabo la conversión de estos materiales básicos en sustancias asimilables por los demás organismos. Por lo tanto a estos se les denomina productos prima-

rios del sistema ya que los demás organismos dependen de éstos para su existencia.

Aquellos organismos que se alimentan de las plantas como el zooplankton, insectos, caracoles y peces pequeños, se denominan consumidores primarios. Los consumidores secundarios se alimentan de los consumidores primarios y están representados por los grandes peces como la trucha, el pez lucio, el salmón y otros.

Cada organismo dentro de la comunidad acuática, ya sea por causa de muerte o descomposición, contribuye directamente a aumentar la cantidad de material disuelto que puede ser consumido como alimento por otros organismos. Los microorganismos son los responsables de la degradación de materiales orgánicos y de la liberación de materiales disueltos para su utilización.

En la figura 75 se representa el flujo de materiales a través de una red alimentaria acuática.

Aunque el mercurio no se considera como un material esencial para los organismos, éste es incorporado en su cuerpo simplemente por estar presente en el agua.

Jensen y Jennelov han demostrado que gran parte de los desechos orgánicos e inorgánicos del mercurio procedentes de afluentes industriales son convertidos a metil y dimetilmercurio por microorganismos anaeróbicos, como se indicó en el tema anterior. El metilmercurio siendo soluble en el agua es fácilmente incorporable a los tejidos del cuerpo de los organismos en el medio acuático y después en los organismos depredadores terrestres como el hombre.

El metil mercurio tiende a acumularse en los tejidos vivos en concentraciones que pueden ser extremadamente tóxicas.

La concentración de mercurio en los organismos vivos puede ocurrir a través de la cadena alimentaria o por asimilación directa del medio ambiente. En cualquier caso, cuando el mercurio se introduce en una cadena alimentaria, se vuelve disponible para todos los organismos de la cadena.

(El mercurio en el medio ambiente acuático tiene efectos muy graves en los productos primarios; pero aún no se ha logra)

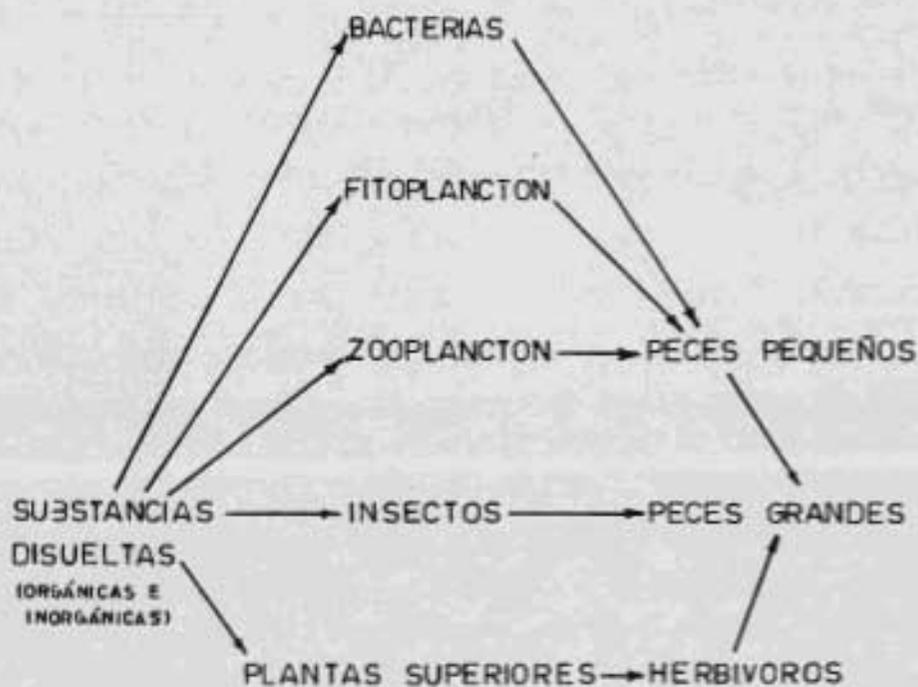


FIG 25 FLUJO DE MATERIALES A TRAVÉS DE UNA RED ALIMENTARIA ACUÁTICA.

do llegar a un acuerdo en los niveles que son tóxicos). Los estudios de North y Clendinning, indican que 100 ppb de cloruro de mercurio causó un 50% de inactivación fotosintética en la especie *Haecocystis pyriferus* (alga marina gigante) durante una exposición de 4 días, y una concentración de 550 ppb causó un 15% de decaimiento en la actividad fotosintética en un sólo día y completa desactivación en 4 días.

Se indica también que 0.6 ppb de fosfato de etil-mercurio es el límite de concentración que inhibe el fitoplancton marino, y que 60 ppb es una concentración letal para todas las especies marinas. Otros investigadores concluyen que el fosfato de etilmercurio era un algicida efectivo a 1000 ppb.

Estos estudios de la acumulación de mercurio ilustran un importante principio ecológico. Los organismos acuáticos y el hombre, concentran el mercurio en sus organismos cuando la velocidad de ingestión excede la velocidad de eliminación. El resultado de esto provoca una acumulación con el tiempo hasta el grado de que el mercurio acumulado se vuelva tóxico y finalmente letal.

Rueker y Amend estudiaron la acumulación en peces exponiendo a la especie *Salmo gairdneri* (trucha del río), durante una hora al día a concentraciones no letales de fosfato de etil-mercurio. Después de 10 días, se sacrificaron varios peces, y se analizaron sus tejidos para ver el contenido de mercurio.

Tejido	Mercurio (ppb)
Sangre	22,800
Riñón	17,500
Hígado	16,700
Cerebro	10,1000
Gónadas	4,100
Músculo	4,000

Los peces que no se sacrificaron se colocaron en agua libre de mercurio, los autores encontraron después de un período de 45 semanas que el mercurio había sido eliminado de los

tejidos a excepción del hígado y del riñón, donde las concentraciones se estabilizaron en 1800 y 12,300 ppb respectivamente.

En un estudio llevado a cabo en peces por Jernelov y Lann se plantea la siguiente pregunta: ¿Que tanto de la cantidad encontrada de metilmercurio en los peces se origina del alimento que ingieren, o del agua que los rodea?

Los siguientes ejemplos de cadenas alimentarias pequeñas dan alguna indicación:

Fauna Bentónica ppm $\text{CH}_3\text{Hg}^+$	Consumidores del fondo consumidos a su vez por pe- ces. (pez Lucio) ppm $\text{CH}_3\text{Hg}^+$	Pez Lucio del Norte ppm $\text{CH}_3\text{Hg}^+$
Río Delangeran 0.07	3	6.0
Río Vanern 0.08	0.4 (Hg Tot)	1
Lago Hjalmarén 0.01	0.1	0.2

Las cantidades arriba indicadas son valores promedio.

De los experimentos en el laboratorio, Jernelov, observó que los peces depredadores tienden a acumular tan sólo del 10 al 15% de mercurio presente en los peces de presa; si esta cantidad se aplica a las cadenas alimenticias de los tres grupos de agua analizados en el ejemplo anterior, y se toma en cuenta la cifra estándar del 10% de eficiencia en la nutrición de la cadena, entonces se encuentran las siguientes estimaciones:

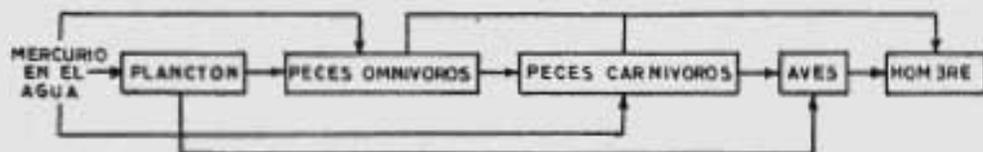
	Acumulación Directa- a través de mente a- la cadena alimentaria ppm	Contenido Total ppm
Río Delangeran, consumidores del 0.07-0.11 fondo	2.9 Pez Lucio 3.0-4.5	3.0 6.0
Lago Vanern, consumidores del 0.07-0.12 fondo	0.3 Pez Lucio 0.4-0.6	0.4 1.0
Lago Hjalmarén, consumidores del 0.01 fondo	0.1 Pez Lucio 0.10-0.15	0.1 0.2

Por lo tanto parece que la acumulación de mercurio a través de una cadena alimentaria causa una concentración básica de los depredadores, la cual es de la misma magnitud que aquella de su presa, y además a ese nivel básico de mercurio, ellos incorporan otra cantidad de agua, por acumulación directa.

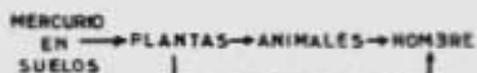
Para el pez Lucio, el porcentaje de mercurio acumulado a través de la cadena alimentaria es casi constante (60%), como lo indican los resultados anteriores en los tres diferentes cuerpos de agua analizados. Para los consumidores del fondo la acumulación directa del agua es más importante, ya que menos del 25% de mercurio acumulado en su organismo proviene de la cadena alimentaria. Una de las teorías que trata de explicar como es que el metilmercurio es concentrado a cada nivel trófico de una cadena alimentaria, es la que sugiere una serie de transferencias que tienen lugar en el agua durante las cuales el metilmercurio es tomado por el fitoplancton y a su vez ingerido por el zooplancton, y después consumido por los peces. Se ha demostrado que los niveles de mercurio en organismos que se alimentan de peces, aumenta a cada nivel trófico de la cadena alimentaria generalizada. En la figura 16 se ilustra el cua-

16

## HIDROSFERA - BIOSFERA



## PELOSFERA - BIOSFERA



## ATMOSFERA - BIOSFERA

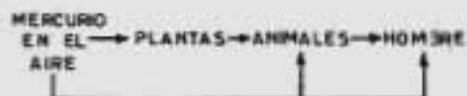


FIG 26 CUADRO GENERALIZADO DE LA CADENA ALIMENTARIA.

dro generalizado de la cadena alimentaria.

Hacer un análisis crítico de las cadenas alimentarias y el papel biológico que desempeñan en la dinámica del mercurio, es muy complicado, debido al gran número de compuestos de este metal que existen en el medio ambiente y a la capacidad de éstos de transformar en otros compuestos de mercurio bajo condiciones apropiadas.

Se afirma que los factores básicos que son capaces de causar la concentración de un tóxico en una cadena alimentaria son:

- 1) Absorción y eficiencia de absorción.-  
Contribuyen a la ingestión de tóxicos a través de los alimentos y a la carga total de concentración de éstos en el organismo.
- 2) Factor de Concentración.-  
Es la relación entre el grado de concentración total de tóxicos en el organismo, respecto a la cantidad de tóxicos ingeridos a través de los alimentos.
- 3) Vida Media.-  
En la descripción empírica derivada de la velocidad de excreción y metabolismo de un tóxico en el organismo.

El concepto de vida media biológica, significa el tiempo requerido para eliminar la mitad del compuesto del organismo.

- 4) Estructura de la comunidad ecológica.-  
Identificación de las cadenas alimentarias y del grado de dependencia entre los diferentes niveles tróficos.

La dinámica del mercurio en una cadena alimentaria en general, se ilustra en la figura 27.

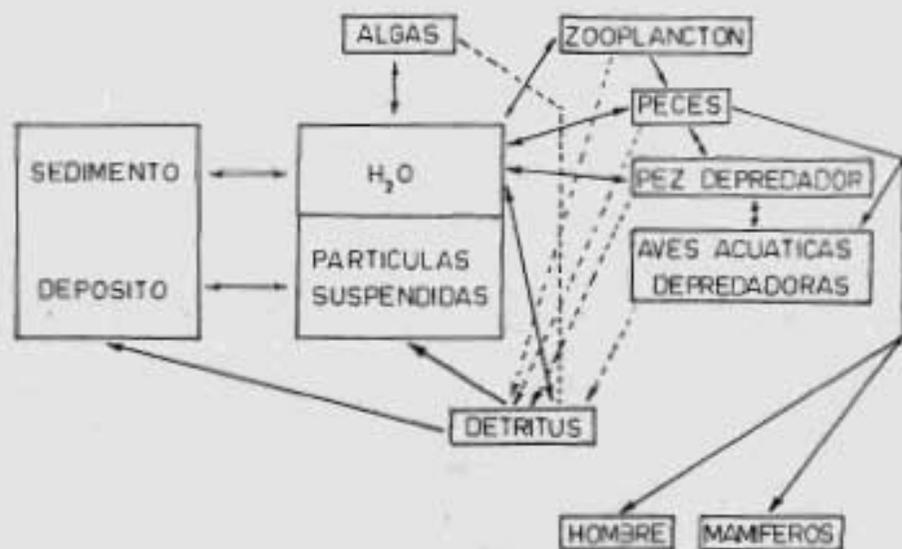


FIG. 27 DINAMICA DEL MERCURIO EN LAS COMUNIDADES ACUATICAS.

*Magnificación Biológica del Mercurio en una Cadena Alimentaria.*

No. de muestras	Rango de Valores (ppm)	Media Aritmética	Organismos más numerosos
Comedores de algas -	0.01-0.18	0.05	Zooplankton: cianococlos y ninfas
Comedores de Zooplankton	0.01-0.07	0.04	larvas de insecto; peces de río.
Omnívoros	0.14-1.16	0.45	larvas de insectos.
Comedores de Detritos	0.13-0.89	0.45	Gusanos; almejas, larvas de insecto.
Depredadores	0.01-5.82	0.73	larvas de insecto e insectos adultos; ranas.

Otra teoría sugiere que el metilmercurio y las bacterias que los producen, son consumidos por organismos bentónicos, los que a su vez, son ingeridos por los peces del fondo, siendo éstos a su vez presa de animales piscívoros. El mecanismo de acumulación de mercurio no está muy claro pero es obviamente una función de una ó más de las siguientes causas:

La velocidad de los peces, las diferencias en la selección de alimentos conforme madura el pez, y diferencias en la superficie epitelial de éste.

Los peces se pueden clasificar de acuerdo a su capacidad para almacenar mercurio.

En la categoría I están los peces que acumulan las cantidades más altas de mercurio. Estos son generalmente depredadores e incluyen entre otros, al pez lucio y a la lobina.

En la categoría II se incluye al pez de agua dulce que contiene menos mercurio que los peces de la categoría I.

Finalmente los peces catalogados en la categoría III generalmente tienen una menor tendencia a acumular mercurio y éstos son los que se alimentan en el fondo; así como también los peces gato.

Se afirma que es importante señalar los efectos sinérgicos de la contaminación térmica dentro de la dinámica del mercurio orgánico e inorgánico en lagos y corrientes.

Hasta ahora no hay datos al respecto del efecto del calor en el problema del mercurio en el medio ambiente.

Debido a que todos los procesos ecológicos son hasta cierto punto controlados térmicamente, el hecho de introducir agua caliente a un ecosistema acuático, puede tener efectos de gran alcance en cuanto al problema ambiental del mercurio.

A pesar de que no hay datos para predecir el efecto de un aumento en la temperatura del agua sobre la velocidad a la cual el mercurio y el metilmercurio son biológicamente asimilados por los organismos acuáticos, las evidencias observadas hasta ahora son las siguientes:

1.- La temperatura afecta directamente la fisiología de todos los organismos acuáticos; y este efecto, se manifiesta generalmente a través del aumento de velocidad en el metabolismo. Esto puede también acelerar la velocidad a la cual los organismos acuáticos acumulan mercurio y compuestos organomercuriales.

2.- El agua caliente no sólo puede estimular el crecimiento primario del alimento de los peces, sino que además puede extender la duración de las actividades alimenticias durante los meses fríos. Ya que los niveles de metilmercurio en los peces en relación directa con el tamaño del pez, es de esperarse niveles más altos de mercurio en esos peces.

3.- El aumento de temperatura en el agua estimula el crecimiento de las bacterias. Por lo tanto, si la metilación biológica de mercurio está en función de la concentración de bacterias se deben de esperar mayores niveles de metilmercurio

en organismos béticos que se alimentan de bacterias.

4.- Las interconversiones químicas de varias formas de mercurio y del ion mercurico son favorecida a altas temperaturas. Por lo tanto, el ion mercurico requerido para la metilación biológica será más fácilmente proporcionado.

5.- Todas las formas de mercurio, especialmente de metilmercurio, son muy solubles a elevadas temperaturas y por lo tanto, son más fácilmente presentadas para los organismos acuáticos.

Por lo tanto, se requieren de estudio científicos para poder determinar los efectos de la introducción de calor en un ecosistema acuático sobre la velocidad a la cual los organismos en el agua acumulan y se ven afectados por el mercurio y especialmente por compuestos organomercuriales.

PRINCIPALES CASOS DE CONTAMINACIÓN POR MERCURIO  
EN EL MUNDO.

De los casos de contaminación ocurridos en el mundo debido al mal uso y descuidado manejo de compuestos organomercuriales, el que mayor número de víctimas ha causado, fue el acontecido en Iraq a fines de 1971.

Varios casos de envenenamiento han dado en otros países como Pakistán y Guatemala, debido a la ingestión de harina de trigo y semillas tratadas con compuestos organomercuriales.

En cuanto a la contaminación por ingestión de alimentos está el caso de la Bahía de Minamata, que fue el primer indicio de que el metilmercurio representaba un peligro para la salud humana.

Existe otro caso muy importante en el que no han habido víctimas humanas, pero sí un gran número de animales, aves en particular, en Estocolmo, Suecia.

Otro de los problemas causados por el mercurio en alimentos ha sido el atún y el pez espada que ha afectado a los Estados Unidos y Canadá principalmente.

Iraq.

Tres casos de contaminación por mercurio han ocurrido en Iraq. El primero en 1956, otro en 1960 y el más grave habiendo causado el envenenamiento de 6,530 personas a fines de 1971. Además de los 6,530 casos de envenenamiento registrados en los hospitales de provincia del país, se reportaron 459 muertos.

Las causas de estas epidemias fueron semillas de un alto contenido de metilmercurio. El trigo tratado había sido importado de México en donde se trataron a las semillas con este compuesto. Las semillas eran para siembra y no para elaborar pan directamente. Por este motivo fueron pintadas con un

colorante rosa como advertencia. Sin embargo, los labriegos ignorantes del peligro que implicaba el manejo inadecuado de dichas semillas y faltos de información por parte de las autoridades, elaboraron su pan directamente con ellos. Fueron más de 60,000 toneladas métricas de semillas de trigo repartidas en las provincias de Iraq.

El contenido de mercurio en las semillas fue analizado por cromatografía de gases, siendo de 3.7 a 14.9 mg/gr. Conteniendo una sola muestra 30.6 mg/gr.

Además de metilmercurio, también se detectó la presencia de otros compuestos en menor cantidad como fenilmercurio, etil y dimetilmercurio.

Se tomaron varios cientos de muestras de sangre y pelo, así como de tejidos obtenidos de autopsias. En todas estas muestras el compuesto predominante fue metilmercurio.

Muestras de pacientes a las que se les tomó el pelo con una longitud hasta de 40 cm y el cual fue analizado por segmentos, permitió una clara observación de las diferencias de las concentraciones de metilmercurio antes y después de la epidemia. Por medio de dichas muestras se intentó obtener el dato del tiempo en que ocurrió la exposición, su duración y las formas químicas de mercurio presentes.

Todas las evidencias de los resultados demuestran que la epidemia fue causada por compuestos de metilmercurio.

El mercurio en las semillas tratadas puede entrar al organismo como resultado de la ingestión oral, por inhalación, o por contacto de la piel.

La ingestión oral pudo haber incluido:

- a) Pan preparado con semillas de trigo y cebada tratadas.
- b) Ingestión de carne o cualquier otro producto animal al que se le hubiese alimentado con semillas de trigo u cebada tratadas con mercurio.
- c) Por ingestión de vegetales que hubieran crecido

en suelo contaminado con mercurio, o que hubieran sido almacenados en sacos que hubieran contenido los granos tratados.

d) Por ingestión de aves alimentadas de esas semillas en el campo.

e) Por peces capturados en ríos, canales y lagos en donde los granos tratados hubiesen sido arrojados por los labriegos.

f) En los recién nacidos una causa muy importante, pudo haber sido la transmisión del compuesto de mercurio en la leche materna.

Asimismo la inhalación y el contacto con la piel pudieron haber sido factores muy importantes que contaminaran a las personas como, por ejemplo, a través de los polvos que se sueltan a la hora de la molienda de las semillas.

Todos los casos de contaminación ocurrieron en familias que ingirieron pan preparado en su propia casa, siendo casi todas familias rurales. 48% hombres y 52% mujeres de todas las edades fueron afectadas. Niños menores de un año y gente anciana.

La severidad de los síntomas y manifestaciones clínicas eran dependientes de la cantidad de pan consumido. Aquellos que lo ingirieron por un corto periodo de tiempo presentaban parestesia. Los que ingirieron por un largo periodo de tiempo presentaban manifestaciones tales como: dificultad al moverse, falta de coordinación en los movimientos, constricción visual, disartria, etc. Estos síntomas se presentaron en personas cuyo contenido de metil mercurio en la sangre era muy alto, incluso llegando a casos en que la concentración fue de 4001 a 5000 ng/ml.

Los efectos de metil-mercurio se hacen detectables en pacientes con una acumulación de 25 a 40 mg de mercurio en el organismo, con esta concentración existe la probabilidad de que uno de cada veinte individuos, presente síntomas de parestesia.

Esta conclusión aún está sujeta a cambios según con-

tinde la investigación, ya que esta cantidad se estimó en pacientes con un peso aproximado de 51 Kg. Esta cantidad es muy importante ya que sirve como guía para saber el grado de peligrosidad de la ingestión de compuestos de metil-mercurio en la dieta.

A continuación se exponen las conclusiones a las que se llegaron en este artículo:

- 1) El metil-mercurio fue el agente causante de la epidemia.
- 2) La concentración de metil-mercurio en la sangre es el mejor indicador de la concentración total de mercurio en el organismo.
- 3) La medición de la concentración de metil-mercurio en segmentos consecutivos de pelo, es la mejor forma de recapitular la historia de la exposición.
- 4) La velocidad a la cual el mercurio se elimina de la sangre varía de acuerdo con cada individuo.
- 5) La eliminación de mercurio de la sangre se puede acelerar por la administración oral de D-penicilamina, N-acetil-Dl penicilamina o resina de tiol. La eficacia de estos agentes varía con cada individuo.
- 6) El metil-mercurio se transfiere a través de la leche materna en concentraciones que igualan al 3% la concentración en la sangre. Esta cantidad puede causar concentraciones peligrosas en el bebé que se está alimentando con leche materna, sobretudo si la concentración de mercurio en la sangre de la madre es alta.
- 7) El período de tiempo en el que los síntomas de envenenamiento por metil-mercurio se hacen evidentes depende de la concentración total del mercurio en el organismo. Pero el síntoma que generalmente se presenta primero es parestesia o parálisis del organismo, seguida por ataxia, disartria y déficits de audición conforme la concentración es mayor.
- 8) Alguna recuperación funcional ocurre después de dos a tres meses que cesó la ingestión de mercurio.
- 9) Las mediciones electrofisiológicas no proporcionan

un medio específicamente sensible para detectar el envenenamiento por metil-mercurio. Más bien este tipo de reacciones sirven para identificar la naturaleza y localización de la lesión en el sistema nervioso.

Este estudio sigue el proceso de investigación, ya que incógnitas como: la velocidad y el grado de recuperación después del envenenamiento por metil-mercurio, el destino metabólico del mercurio en el organismo humano y la reacción a este tipo de compuestos, queda aún por aclararse.

#### Japón: Minamata y Niigata.

El mundo comenzó a preocuparse realmente del problema de la toxicidad de este metal después del descubrimiento de una misteriosa alteración neurológica, como se le denominó al principio, por desconocer las causas de su origen, y que afectó a una serie de gentes, habitantes de la Bahía de Minamata en Japón.

La industria principal de la comunidad la constituye una fábrica de fertilizantes, la compañía Shin-Nihon Chisso Niigyo. En 1949, esta fábrica comenzó a producir cloruro de vinilo y acetaldehído por medio de la conversión catalítica del acetileno, utilizando sulfato de mercurio como catalizador. Como resultado de estas operaciones, los catalizadores fueron metilados en una reacción secundaria formando cloruro de metil-mercurio altamente tóxico, el cual fue descargado a través de las aguas de deshecho hacia la corriente de la Bahía de Minamata.

El metil-mercurio presente en la Bahía comenzó a contaminar a los peces y crustáceos de ahí. Ya que la Bahía de Minamata provee el alimento del mar a muchas familias que viven a lo largo de sus playas y un número relativamente grande de gente fue gradualmente envenenada.

En 1956, fue reportado un paciente con padecimientos y síntomas neurológicos, de causa desconocida. Se llevo a cabo

una supervisión general del distrito de Minamata, donde el paciente residía, y descubrieron una serie de pacientes más, en el mismo estado. Por registros médicos y con el testimonio de los habitantes, se descubrió que esta enfermedad había atacado ya a muchas personas desde 1953.

La gente, temerosa de la desconocida enfermedad creía que era contagiosa como una epidemia y tenía miedo de divulgarla; por tal motivo los pacientes eran secretamente hospitalizados en cuarteles municipales, aislados especialmente para enfermedades contagiosas. Los médicos que llevaban a cabo la investigación aún sin saber las causas de la enfermedad, reportaron como diagnóstico encefalitis típica y apoplejía cerebral o pérdida súbita del sentido.

En septiembre de 1956, un grupo de investigadores de la Universidad de Kumamoto comenzó a estudiar la enfermedad. En el reporte elaborado, se indicó que esta perturbación, no se trataba de una enfermedad contagiosa sino de una intoxicación provocada por la ingestión de productos marinos tomados de la Bahía de Minamata.

A fines de 1958, Takeuchi había ya caracterizado los rasgos patológicos principales de la enfermedad. Y los encontró idénticos a los síntomas de intoxicación por compuestos organo-mercuriales reportados en la bibliografía científica existente.

En 1959, dos años y medio después de que había comenzado la investigación, el agente causante fue identificado como un compuesto organo-mercurial. La investigación posterior estableció que el sulfuro de metil-mercurio y el cloruro de metil-mercurio estaban presentes en los peces y moluscos de la Bahía de Minamata. Estos compuestos produjeron síntomas idénticos en animales de experimentación.

El origen de los compuestos de metil-mercurio fue determinado como ser proveniente de la fábrica de fertilizantes Chisso.

Finalmente, en 1964, once años de que el primer caso de la enfermedad de Minamata fue diagnosticado, concluyeron los investigadores que durante la conversión catalítica del acetile-

no a cloruro de vinilo, parte del catalizador de cloruro de mercurio utilizado, era convertido a un compuesto de metil-mercurio por una reacción desconocida. Este compuesto era transportado a la Bahía de Minamata en el drenaje efluente de la fábrica. Consecuentemente, el compuesto de metil-mercurio era concentrado biológicamente por los peces y moluscos de la Bahía, y era además traspasado a la gente del área cuando se alimentaban de ellos. Desde la inspección de la enfermedad en 1953 hasta 1971, fueron reportados 121 casos de enfermedad con 46 muertes y en diciembre de ese año, 47 víctimas fueron oficialmente registradas.

Goldwater, respecto al caso de la Bahía de Minamata, afirma que aparentemente dos factores tuvieron que ver en el problema: la corriente ya en sí contaminada, que provenía de la planta industrial Chisso, con contenido de metil-mercurio, y el mercurio elemental de la corriente misma, que fue a su vez metilado por microorganismos presentes en el lodo en la parte más profunda de la Bahía. Esta conversión fue nutrida por el enriquecimiento del agua con altas concentraciones de mercurio y los contaminantes orgánicos que promovieron el crecimiento de bacterias metilantes. El resultado fue la acumulación de metil-mercurio en los peces en concentraciones tan altas hasta de 50 ppm (peso húmedo), que representa 100 veces más la cantidad de concentración de mercurio que actualmente es admitida en los Estados Unidos y Canadá.

El efecto tóxico en los peces y sus familias, fue además complementado por el hecho de que sus dietas consistían en gran parte de pescado que obtenían de la Bahía y pudieron haber estado deficientes en otros nutrientes esenciales. Se sabe que las deficiencias dietéticas agravan los efectos adversos de los agentes tóxicos.

El mismo problema en 1965 se comenzó a dar en Niigata, otra de las islas de Honshu al sur de Japón. Así como en Minamata, casi todas las víctimas de Niigata vivían cerca de

una fuente de agua, el Río Agano, y además eran consumidores de pescado local. Basados en la experiencia de Minamata, los investigadores encontraron una alta concentración de compuestos de mercurio en los peces y crustáceos del río Agano. En este caso, el agente responsable era una fábrica de sustancias químicas, la planta Kanose de Showa Denko, localizada aproximadamente a 60 kilómetros hacia arriba de la corriente del río.

Los síntomas de la enfermedad de Niigata al igual que la de Minamata se caracterizaron en las personas por: constricción del campo visual, ataxia incluyendo perturbaciones al hablar y al caminar, dificultad para oír, etc. El primer caso de la enfermedad había sido determinado en agosto de 1964. Para enero de 1972, 102 pacientes, incluso 7 muertos, habían sido confirmados. En 1966, el gobierno japonés finalmente ordenó la inspección de todas las operaciones manufactureras que utilizaran catalizadores de mercurio, para que fueran vigilados constantemente los niveles de mercurio en el agua, así como en los alrededores de las fábricas.

Sin embargo, en 1970, niveles de mercurio hasta de 9,300 ppm, fueron encontrados en los sedimentos de los ríos Jintsu y Kumano, de la jurisdicción de Toyama. Estos niveles de mercurio eran aproximadamente un 50% más altos que aquellos encontrados en Niigata. Estos fueron atribuidos a un efluente de una compañía farmacéutica del río Kumano.

#### Estocolmo, Suecia.

En contraste con el problema del Japón que resultó de la metilación inadvertida del mercurio, el problema en Suecia resultó del uso de compuestos alquilo-mercuriales en pesticidas. Smart, en 1968, reportó que el uso del mercurio en pesticidas en todo el mundo era no menor a 2,100 toneladas métricas por año.

En Suecia, no se reportaron casos de muertes humanas, salvo ciertos casos de intoxicación por consecuencia de la el-

boración de fórmulas para el aderezo de semillas.

Las fórmulas para el tratamiento de semillas contienen aproximadamente 1.5% de mercurio.

El uso de mercurio para tratar semillas de cereal y de azúcar de remolacha comenzó en 1920 y fue utilizado rutinariamente hasta 1930. Diversas especies de *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Ustilago* y *Septoria* son algunos de los organismos parásitos que les producen enfermedades a los cereales, y el mercurio se ha utilizado para controlar esta enfermedad.

El polvo organo-mercurial con acetato de metil-mercurio y silicato de metoxi-etil-mercurio como ingredientes activos fue introducido con mayor frecuencia en el mercado para el aderezo de las semillas de cereal. Subsecuentemente, las preparaciones líquidas para las semillas que contenían compuestos alquilomercuriales, principalmente metilo-mercuriales y, en cierto grado, etilo-mercuriales, fueron introducidas durante 1940. Estos no sólo mostraron ser más efectivos debido a su aumentada toxicidad, sino que fueron mucho más fáciles de ser aplicados. Además de las aplicaciones en las semillas, los compuestos organo-mercuriales fueron también utilizados para las raíces de las coquechas y tratamiento del suelo, así como para rociadores de hojas vegetales y ciertas frutas.

Respecto a la utilización de compuestos de mercurio para rociar las hojas de algunos vegetales, se afirma que al hacer una aplicación foliar del compuesto, sucede una transmutación del compuesto hacia otras partes de la planta; sin embargo, dice que este movimiento del compuesto mercurial no es capaz de altos niveles de contaminación en el grano ya cosechado. Se han reportado los siguientes valores encontrados en una planta tratada con compuestos organo-mercuriales: 150 ng/ga en el coleótilo, 70 a 80 mg/ga en las hojas, y tan sólo 10 ng/ga en el grano.

Otros investigadores en 1964, reportaron residuos de 21 a 32 ng/ga en papas que habían sido rociadas con un compuesto de fenil-mercurio comparado con 5 ng/ga encontrados en los controles no rociados. También han sido reportados residuos en

tomates, peras y manzanas después de aplicaciones foliares en la planta. A fines de 1940 y principio de 1950, se empezó a notar la disminución en la población de ciertos pájaros comedores de semillas, tales como el garrón y el pájaro del estlo. En ese mismo año, al llegar el invierno, se observó que en los nidos había huevos, pero las crías no salían del cascarón.

La reproducción de muchas aves en Suecia se havisto seriamente afectada y reducida en número. Esto se ha comprobado tanto en el campo como en el laboratorio, donde se encontró una notable reducción en la producción y en la apertura de los huevos de gallinas a las que, se les había alimentado la mitad de su dieta, únicamente con semillas que ya habían sido tratadas con compuestos de mercurio. Las aves tendían a poner sus huevos fuera del nido, y se encontró que cuando se alimentaba a faisanes con semillas tratadas por un período de 9 días, no había rotura de los huevos.

Los residuos de mercurio en los huevos de faisán fueron de 1.3 a 2 ppm, pero los datos no son muy amplios al respecto. En el campo, los huevos de faisán no salidos del cascarón, así como huevos de perdiz presentaban alrededor de 3 ppm. Huevos de águilas se asociaron también con hechos ocurridos en el desequilibrio de la reproducción de águilas en Suecia. Borg reporta un número de 5 águilas muertas por mercurio, y las pocas que de ellas quedaban, sufrían una baja, muy seria, en cuanto a su reproducción. Observaciones posteriores indicaban que aves depredadoras de las aves comedoras de semillas como el halcón y otras, empezaron a disminuir notablemente en su población. Se efectuaron los análisis correspondientes con animales muertos, y se encontró que considerables cantidades de mercurio estaban presentes en los tejidos de las aves comedoras de semillas, así como en sus respectivos depredadores. Los residuos de mercurio han sido encontrados principalmente acumulados en el hígado y los riñones de las aves.

También se observó el tiempo en que las aves desalojaban el mercurio de su organismo. En el faisán se vió una con-

centración de 13 a 30 ppm, que disminuyó a 0.25 ppm en un período de 6 meses. La desintoxicación a través del hígado y riñón fue considerada en un 99%.

Posteriormente, se hicieron estudios con peces y animales marinos, como la foca. Respecto a esta última, se hicieron estudios en *Pusa hispida saimensis*, de cuya especie quedan únicamente 250 individuos. Una de ellas fue encontrada en el lago Saimaa, en Finlandia, enferma y atáxica. Cuando se le examinó, se encontró que tenía 197 ppm en los músculos y 210 ppm en el hígado. Sin embargo los niveles de mercurio en los peces de la localidad eran bajos. Se asegura que las pruebas han demostrado que esta especie de foca desaloja el mercurio a una velocidad mucho más lenta que cualquier otro mamífero. Con esta pérdida tan lenta, cualquier nivel de mercurio por bajo que sea en la dieta, puede causar una seria acumulación.

En 1966, 0.5 ppm de mercurio fue la cantidad propuesta por el Instituto de Salud Pública en Suecia, como el nivel de seguridad para el mercurio en los peces de agua dulce. La cifra 0.5 ppm fue establecida porque era 100 veces menor que el nivel reportado de 50 ppm en Minamata, Japón.

Poco tiempo después que este nivel de seguridad fue establecido en los peces de agua dulce, se encontró que la mayoría de los peces en el lago Vanern tenían un rango 0.5 ppm de mercurio. Consecuentemente, en 1967, el nivel de seguridad aumentó a 1.0 ppm en Suecia. Esta medida de cambio el nivel de seguridad trajo por resultado la prohibición por completo de la pesca en ciertas áreas contaminadas, mientras que en otras áreas se permitió pescar si los peces tenían mercurio en menos de 1.0 ppm. Además de esto, el Instituto Nacional de Salud Pública recomendó que no se comiera pescado más de una vez por semana.

En 1967, había datos que aseguraban la acumulación de mercurio en peces tomados de las aguas de Suecia como consecuencia de la cadena alimentaria natural. En general, los peces que presentaban más altos niveles de mercurio eran pescados en

### Áreas de fuerte contaminación industrial.

El número de fuentes de origen de contaminación por mercurio era extenso, pero la mayoría de ellas provenían de las fábricas de papel y pulpa, de la industria del cloro, de la industria eléctrica, de la combustión de combustibles fósiles o petróleo y del mercurio contenido en el desague doméstico.

El problema ambiental se intensificó cuando se descubrió por experimentación en el laboratorio, que el mercurio inorgánico podía ser convertido biológicamente a metil y dimetil mercurio. El proceso aún no está bien entendido; se necesitan estudiar más las condiciones que permiten la metilación y dimetilación así como las velocidades a las cuales estos procesos ocurren en la naturaleza. Fueron Jensen y Jernelov, quienes encontraron en condiciones artificiales, en su laboratorio, que organismos microscópicos convertían al mercurio elemental y a los compuestos de mercurio en metil-mercurio. Los cambios químicos involucrados son probablemente responsables de la gran movilización de mercurio, de los sedimentos del fondo al medio ambiente en general.

### Estados Unidos y Canadá.

A pesar de que los científicos de Estados Unidos habían estado atentos a las experiencias del Japón y de Suecia en cuanto al problema de la contaminación por mercurio, no fue sino hasta 1969 y principios de 1970 cuando este problema realmente captó la atención pública y de las autoridades. En los Estados Unidos uno de los casos más graves causados por alimentos contaminados por mercurio, fue el de la familia Huckleby en Alamogordo, Nuevo México. Ernest Huckleby, un campesino de ese lugar, compró unas semillas de sobranete que supuestamente servían para ser sembradas pero no para ser ingeridas por animales o humanos. Estas semillas habían sido tratadas con un compuesto llamado "Panogen" que contenía metil-mercurio. A pesar de que el producto traía una etiqueta de advertencia para que no fuera ingerido, el Sr. Huckleby hizo caso omiso de ésta, y le

dió los granos a los puercos para alimentarlos.

Después de un tiempo, él y su familia comieron carne de puercos durante tres meses, diariamente. Inmediatamente después de ese tiempo la familia empezó a sufrir las consecuencias. Tres de los niños fueron severamente afectados. Uno de ellos perdió la vista, se quedó sin poder hablar, y perdió el control de sus músculos.

Doctores de la Universidad de Texas, encontraron que la causa había sido el metil-mercurio que se había acumulado en el organismo de los puercos y de éste había pasado a las personas que comieron su carne.

Por otra parte, una investigación llevada a cabo durante dos años en materia de contaminación por mercurio, trajo como consecuencia la suspensión de la pesca en el lago Ontario de Canadá.

Se demostró que el pez lucio contenía hasta 7 ppm de mercurio en su organismo, lo cual lo hacía no comestible; posteriormente, los reportes del laboratorio mostraron 1.36 ppm, siendo esta cantidad tres veces más grande que el nivel considerado como aceptable en el pescado para que éste pudiera ser exportado por Canadá o los Estados Unidos.

Posteriormente, las autoridades de Michigan hicieron inspecciones en el lago St Clair y el lago Erie, ambos contaminados por las descargas de las plantas fabricantes de clordicalis. En estos lagos se encontraron niveles de 7 ppm de mercurio.

Las autoridades de Canadá y los Estados Unidos empezaron a considerar que al problema del mercurio se le debía de dar una importancia a nivel internacional. Se necesitaba elaborar un inventario de los usos del mercurio para poder determinar la concentración de desperdicio de éste que se arrojaba de las industrias hacia el medio ambiente, y además el muestreo debería ser continuado para definir el problema completamente.

En 1970, en Michigan algunos investigadores, anunciaron que altos niveles de mercurio, cadmio, cobre y níquel fueron encontrados en almejas y ostras sacadas del río Clinton,

una vertiente que fluye hacia el lago St. Clair; el perjuicio económico de la contaminación fue indicado cuando dos pescadores y una firma pesquera, hicieron una demanda de 21.5 millones de dólares por daños causados por contaminación en aguas para pescar en el sureste de Michigan, provocada por la Corporación de la Compañía Química Wyandotte y la Compañía Dow de Canadá.

En 1970, el Departamento de Agricultura contribuyó a detener el problema de la contaminación por mercurio en las aguas de la Nación, a través del cancelamiento federal del registro de 48 compuestos utilizados en la industria para controlar las algas, el moho y hongos viscosos.

Se afirma que la ingestión de mercurio en alimentos diarios puede llegar a ser tan apreciable como si se comiera pescado contaminado. Las mediciones de mercurio en alimentos seleccionados al azar en los Estados Unidos, dieron los siguientes resultados: Pan blanco 0.23 ppm, harina 0.14 a 0.38 ppm, tallarines 0.11 ppm, polvo de leche 0.058 a 0.11 ppm, hamburguesas 0.31 ppm, huevos 0.020 ppm, manzanas 0.27 ppm, manzanas 0.27 ppm, nueces y almendras 0.37 ppm.

Se dice que la ingestión de mercurio en las personas de los Estados Unidos es de 300 a 700 microgramos por semana dependiendo de la dieta.

En 1970, el primer producto contaminado con mercurio venenoso registrado en los Estados Unidos provenía de 25,000 píldoras de hígado de foca. La Federación de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos, dió crédito de este registro en nueve estados después de que los inspectores encontraron 60 veces el nivel de seguridad establecido por la Federación, de 0.5 ppm para los alimentos. Las píldoras de hígado de foca habían sido elaboradas por la Compañía de Productos Nutritivos Randal de Santa Rosa, California y vendidas como fortalecedoras de la sangre y laxantes ligeros. Las píldoras fueron hechas con hígados de focas capturadas en las islas Pribilof al sureste de Alaska en 1964. La Federación reportó que los hígados fueron congelados por la Compañía Randal para Almacenamiento y después los utilizaron durante los últimos 6 años para elaborar 1,250,000 píldoras.

afirman que aún se desconoce como es que las focas se contaminaron, ya que las focas emigran hacia arriba y abajo de la costa del Pacífico. Se pensó que probablemente ingirieron el mercurio procedente de alguna descarga industrial. Al encontrar contaminación en las focas, fue el primer descubrimiento de cantidades significativas de mercurio en peces del Océano y en mamíferos.

Por otra parte, se analizó el contenido de mercurio en el atún ya empacado en lata, y encontró una concentración mayor de 75 ppm.

Se anunció que aproximadamente el 23% de 900 millones de latas de atún empacadas en los Estados Unidos durante 1970 contenían mercurio en exceso de 0.5 ppm, el máximo establecido por las autoridades federales. El atún contaminado provenía de todos los lugares de pesca en el mundo y las compañías de alimentos habían acordado retirar del mercado todas las latas de atún que estuvieran sobrepasando el límite recomendado por la Federación de Drogas y Alimentos.

La agencia no podía explicarse cómo es que el metal se introdujo en el atún. Afirmó que era muy poco probable que el mercurio procediera de un sólo origen, ya que había muchas marcas de atún y muchas especies de peces en el mundo que se habían encontrado contaminadas. La Federación de Drogas y Alimentos supervisó 139 lotes empacados. La industria estimó que un total de 30,000 lotes habían sido empacados conteniendo cada uno 600 latas. En un total de 32 lotes fueron encontradas concentraciones de mercurio en el nivel límite de 0.5 ppm, pero el promedio general de concentración fue de 0.37 ppm y se llegaron a encontrar niveles hasta de 1.12 ppm.

Un oficial de la Federación de Drogas y Alimentos, estimó que una pérdida de 14 millones de dólares, más de 1,050 millones de pesos, dentro de la industria enlatadora de atún como resultado del retiro de marcas del mercado.

En los Estados Unidos, se producen alrededor de 11 millones de latas de atún, más de 200 millones de kilos por año.

Alrededor de la mitad es pescado por barcos americanos, y el resto por barcos japoneses, de Taiwan y Corea del Sur. Ya que el atún que se pesca se encuentra lejos de las zonas contaminadas, los científicos estiman que los océanos tienen alrededor de 50 millones de toneladas de mercurio, que resulta generalmente de los procesos naturales de erosión. El atún y el pez espada tienden a concentrar este mercurio natural. Siendo animales que se encuentran en la cima de una cadena alimentaria, ingieren grandes cantidades de peces menores y por lo tanto acumulan, de ellos, el mercurio.

Se ha analizado el contenido de mercurio en especies de atún preservados en museos, que datan de 1878 a 1909. En los resultados de las especies recientemente analizados se han encontrado 0.95 ppm y el contenido de las especies recién capturadas ha sido de 0.91 ppm. De esto, tan sólo se puede concluir que el nivel de mercurio en el atún, no ha cambiado considerablemente durante 90 años.

Existe un dato interesante para agregar a este reporte de los Estados Unidos. Investigadores japoneses describieron un método biológico para deshacerse de los compuestos orgánicos de mercurio en aguas de desecho. En 1968, se encontró que una cepa de bacterias, *Pseudomonas K-62* no se morían con los compuestos de mercurio, sino que al contrario se enriquecían de ellos. En experimentos de laboratorio, el 90% de los compuestos de mercurio en solución, fueron removidos por las bacterias en 30 minutos.

Para poder aplicar el método japonés para limpiar las corrientes canadienses y americanas, se requeriría que cada contaminante industrial, fuera mantenido por medio de un sistema cerrado en el que las bacterias, *Pseudomonas*, pudieran desintegrar a los compuestos de mercurio en estanques y lagunas.

## PAISES PRODUCTORES DE MERCURIO EN EL MUNDO EN 1970.

(En frascos, 1 frasco= 76 lb= 34.5 Kg)

PAIS	1970
España	64,406
Italia	48,733
Unión Soviética	47,000
Estados Unidos	19,360
México	22,500
China	20,000
Canadá	20,000
Yugoslavia	14,330
Japón	5,599
Turquía	4,800
Filipinas	3,478
Colombia	3,360

El mercurio es vendido en botellas de hierro conocidas como frascos los cuales contienen 76 lb o sea 34.5 Kg cada una. El precio medio en Nueva York durante los años de 1900-1950 fue de 94.8 dólares el frasco, el precio mínimo durante este periodo fue de 39.0 dólares el frasco en 1916. El precio máximo durante la Segunda Guerra Mundial fue de 202.52 dólares en enero de 1942.

España, Italia y Estados Unidos han producido más del 80% de la cantidad total de mercurio producido en todo el mundo.

Actualmente el mercurio tiene un costo aproximado de 165 dólares el frasco.

PRINCIPALES ZONAS PRODUCTORAS DE MERCURIO  
EN LA REPUBLICA MEXICANA.

Las principales zonas productoras de mercurio en el país se localizan generalmente en la parte central de la República Mexicana, en donde se han encontrado los yacimientos más ricos; existe otra zona como lo es la Costa del Pacífico, donde ha destacado la producción del estado de Guerrero.

En general, los depósitos de mercurio más importantes están asociados en México con rocas sedimentarias como calizas cretácicas y en otros casos con areniscas como en Saln Alto, Zacatecas. Otros depósitos de menor importancia, se relacionan con riolitas, tal como: Villa García (Canoas), Sierra del Escribano y Sierra Chapultepec en Zacatecas, así como en el Municipio de El Horal, Jalisco.

Los cuerpos mineralizados pueden tener forma de vetas y vetillas; bolsas, mantos, etc., en general consisten de cinabrio y en casos muy especiales de mercurio nativo. En otros casos como en Huítzuc, Guerrero, se han explotado sulfuros de antimonio y mercurio (Livingstonita) y en Huahuaxtla, metacinnabrita.

Existen otros depósitos en que el mercurio se encuentra asociado a minerales de cobre, plata, etc., cerca de la superficie, como Arcelia, Guerrero y en Aramberrí, Chihuahua.

Para jerarquizar en grado de importancia las zonas productoras de mercurio en el país, sería necesario contar con algún conocimiento o control sobre las producciones, pero no existe y por lo tanto, las estadísticas no señalan sino volúmenes anuales producidos de acuerdo con estimaciones hechas por la Secretaría de Industria y Comercio con base al pago de impuestos. Esto es debido, a que el mercurio está sujeto en general a un alto tráfico dentro del país para su comercio. Existen actualmente centros importantes de comercio, aunque también numerosos compradores ambulantes que compran en los patios de las minas o transportan de un centro a otro fuertes volúmenes de mercurio.

Actualmente, Querétaro es el principal centro comercial de mercurio; se calcula un promedio de 400 frascos (34.5 kg/frasco) semanales provenientes de las regiones productoras del Estado, como: San Joaquín, Pinal de Amoles y Rlo Blanco, así como de Huitruco, Huahuaxilla y Taxco, Guerrero; de algunas regiones de Zacatecas, Durango y de otros centros conocidos como San Luis Potosí, Torreón, Saltillo y Coahuila.

DISTRIBUCIÓN DE MERCURIO EN ALGUNOS PECES DE IMPORTANCIA COMERCIAL DE LA REPUBLICA MEXICANA.

Los resultados obtenidos en el estudio de algunos peces de importancia comercial del Golfo de México indican que existe una relación entre la concentración promedio de mercurio de examinada en las estructuras indicadores de su acumulación en peces, con las áreas muestreadas. Se observó que en las áreas de Tampico, Veracruz-Alvarado y Sánchez Magallanes, la concentración promedio de mercurio obtenida en hígado y músculo es más alta que la de las branquias, a diferencia de los resultados obtenidos en la zona de Ciudad del Carmen, en donde la concentración promedio más alta se presentó en las branquias. Con estos resultados se puede considerar que los peces obtenidos en las tres primeras zonas se encontraban sometidos a exposiciones prolongadas de mercurio, a diferencia de las especies del área de Campeche, las cuales posiblemente estuvieron expuestas a breves períodos de contaminación; debido a que los órganos que acumulan mercurio cuando el tiempo de exposición es grande son el riñón, el hígado, etc, y, cuando la exposición de los organismos al mercurio es de breve duración, principalmente la branquia es el órgano acumulador.

Con respecto a los organismos colectados en las localidades de Tampico, Veracruz-Alvarado y Sánchez Magallanes, la concentración promedio obtenida en los contenidos estomacales fue más alta que la detectada en las branquias, lo que nos indica que posiblemente la principal vía de incorporación de mercurio para estos peces fue a través del alimento. La situación inversa se presentó en los organismos del área de Ciudad del Carmen, cuya concentración promedio en contenido estomacal fue más baja que la de las branquias, lo que hace suponer en este caso, que fue a través de las branquias la principal entrada del mercurio.

Las especies que sobrepasaron el límite permisible de 0.5  $\mu\text{g/g}$  de mercurio en músculo fueron: *Calames pennatula*,

*Sagre marinus*, *Bairdiella ronchilus* y *Conodon nobilis*; las cuales presentan dos características en común:

- 1) Hábitos alimenticios de tipo bentónico y
- 2) Mayor concentración en hígado que en músculo.

Con respecto a los niveles de mercurio presentes en los peces del área de Ciudad del Carmen, una de las posibles causas puede ser el uso de pinturas anticorrosivas en el revestimiento de los cascos de los barcos, las cuales contienen compuestos mercuriales, siendo uno de los más importantes el óxido de mercurio, ya sea rojo o amarillo. Así mismo, el acetato de fenilmercurio es agregado a las pinturas impermeabilizantes para evitar el enmohecimiento y el deterioro durante su almacenamiento en lata.

Sin embargo, con los datos obtenidos a la fecha, no puede concluirse cuáles son las zonas más afectadas por el mercurio, ya que para ello es necesario realizar muestreos intensivos, tanto de los elementos bióticos como abióticos, así como de las posibles fuentes de contaminación en cada zona. Por otra parte, resulta de gran interés el realizar un programa de monitoreo de metales pesados en las zonas de importancia pesquera, que aparentemente no presentan contaminación, debido a las migraciones de la fauna, causadas tanto por requerimientos alimenticios como por épocas de reproducción, lo que puede provocar su penetración a zonas contaminadas.

## CONCLUSIONES.

Después de haber tenido una visión del problema que representa el mercurio en nuestro medio, es necesario aplicar una serie de disciplinas para lograr su solución, como lo son: técnicas epidemiológicas, medicina preventiva, salud pública e higiene industrial. Deberá de establecerse un sistema de monitoreo en el medio para la detección de incrementos importantes en la contaminación por mercurio; así como establecer a que niveles y formas de contaminación mercurial atentan contra la vida de cualquier organismo, y diseñarse técnicas rápidas y sencillas para poder detectar si en una población dada se empieza a desarrollar éste problema.

Los mayores daños causados por los mercuriales debido a contaminación se han presentado en las aguas, esto principalmente por la capacidad que tienen ciertos microorganismos de transformar el mercurio inorgánico en una forma mucho más tóxica: el metil-mercurio. Por lo que es útil señalar algunas observaciones y recomendaciones que podrían servir para la planificación de actividades nacionales e internacionales relacionadas con este problema, tal como sigue:

1) Al tener en cuenta que el ciclo vital de muchas especies de importancia pesquera se cumple tanto en aguas dulce y marina y de estuario y que en muchos países para aumentar la agricultura se realizan obras para derivar el agua dulce a las tierras de cultivo, indudablemente se alterarán las características de los esteros y lagunas litorales y de las condiciones de vida de los organismos que los habitan y también de algunos de las aguas marinas adyacentes. Por tanto, como varias especies marinas que se encuentran en esos casos son explotadas comercialmente por los países vecinos, es necesario que se considere en conjunto estos puntos de vista para estudiar las causas de las alteraciones de la vida de algunas áreas marinas de interés común.

2) De ningún modo la contaminación del mar se puede considerar separadamente de la contaminación de las aguas continentales. Los efectos de la contaminación en tierra no deben ser descuidados, y la estrategia de control de la contaminación

debe empezarse ahí mismo. Además, muchas especies pasan algunas fases de su vida en habitats de aguas continentales así como en aguas marinas. En consecuencia, la estrategia respecto a la contaminación debe ser orientada de tal manera, al considerar el habitat del hombre en su totalidad.

3) Ni la demostración, ni el control de las fuentes de contaminación, como tampoco la aplicación coordinada de estas dos medidas, pueden ser suficientes como estrategia contra la contaminación. Debe tenerse en cuenta el principio general de que en la naturaleza, los desechos de una población o de una comunidad son retirados o usados por otras especies, o son depositados en sumideros o bien se acumulan, resultando de todo esto un proceso de sucesión ecológica con desalojamiento y quizás con supresión de una o varias especies. Entonces es responsabilidad del hombre de manejar el ambiente con sus recursos explotables, diseñar prácticas para el uso de sus desechos, etc. No es suficiente dirigir acusaciones contra los empresarios respecto a los desechos de sus fábricas porque esas personas son gentes de la comunidad, y la comunidad debe de compartir con ellos la tarea de descubrir la práctica para el aprovechamiento de los desechos o encontrar la modalidad de almacenarlos en lugar seguro.

## BIBLIOGRAFIA.

## GENERALIDADES.

- 1.-Bergalló, M., *Tratado de Química Inorgánica*. Editorial Porrúa, S.A., México, 1962, pp. 984, 985, 993-997.
  - 2.-Cunningham, L.W., *J. Biol. Chem.* 228, 835, (1957)
  - 3.-*Enciclopedia de Tecnología Química*, Unión Tipográfica, Editorial Hispano-Americana, Vol. 10, pp. 637-686.
  - 4.-Galston, A.W., *Federation Proc.* 14, 213, (1955)
  - 5.-Gibson, K.D., *Biochem. J.* 70, 71, (1958).
  - 6.-Goldwater, L.J., *Mercury in the Environment*, *Scientific American*, 224(5), 15, (1971).
  - 7.-Hughes, W.L., *A Physical rationale for the Biological activity of Mercury and its Compounds*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 65, 454, (1957).
  - 8.-Lynen, F., *Ann.*, 574, 1 (1951).
  - 9.-Sachs, G., *Ber.*, 54, 1849, (1921).
  - 10.-Banner, T., y Pihl, A., *Biochim. Biophys. Acta.*, 62, 1971, (1962).
  - 11.-Simpson, R.B., *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 4711, (1961).
  - 12.-Sneed, H.C., y Braslet, R.C., "Comprehensive Inorganic Chemistry", Van Nostrand, Princeton, New Jersey. Vol 4.
  - 13.-Steen, J.R., *J. Biol. Chem.*, 221, 33, (1956).
  - 14.-Stricks, W., y Kolthoff, J.W., *J. Am. Chem. Soc.* 75, 5673, (1953).
  - 15.-Vagelos, P.R., y Earl, J.H., *J. Biol. Chem.* 234, 2272, (1959).
  - 16.-Vogel, A.I., *Textbook of Quantitative Inorganic Analysis*, Ed. Longmans, 1961, pp. 486-488.
  - 17.-Webb, J.L.A., *J. Am. Chem. Soc.* 72, 91, (1950).
  - 18.-Webb, J.L., *Enzyme and Metabolic Inhibitors*, Academic Press, New York. Vol. II, 1966, pp. 730-751.
- EFFECTOS DE LOS MERCURIALES A NIVEL BIOQUÍMICO.

- 19.-Anson, M.L., *J. Gen. Physiol.*, 23, 321, (1947).
- 20.-Sailey, K., y Marsh, B.B., *Biochim. Biophys. Acta.* 9, 133, (1952).

- 21.-Boyer, P.D., *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 4331, (1954).
- 22.-Demis, D.J., y Rothstein, A., *Am. J. Physiol.*, 180, 566, (1955).
- 23.-Elodi, P., *Biochim. Biophys. Acta.*, 40, 272, (1960).
- 24.-Fennley, H.M., *Biochem. J.*, 82, 500, (1962).
- 25.-Hill, B.R., *Cancer Res.*, 16, 460, (1956).
- 26.-Houch, C.R., *J. Cellular Comp. Physiol.* 20, 277, (1942)
- 27.-Hughes, A.F.W., *The effect of inhibitory substances on cell division: A study of living cells, in tissue cultures*, 91, 252, (1950).
- 28.-Ingram, V.H., *Biochem. J.* 59, 653, (1955)
- 29.-Leach, S.J., *Australian J. Chem.*, 13, 520, (1960).
- 30.-Ledoux, L., *Biochim. Biophys. Acta.* 11, 517, (1953).
- 31.-Palmer, G., y Hassey, V., *Biochim. Biophys. Acta.* 58, 349, (1952).
- 32.-Riggs, A.F., *In Sulfur Proteins*, Benzach ed. Academic Press. N.Y. (1959) p-173.
- 33.-Valle, B.L., y Ulmer, D.D., *Biochemical effects of Mercury, Cadmium, and Lead*, *Ann. Rev. Biochem.* 41, 91, (1972).
- 34.-Wadkins, C.L., y Lehninger, A.L., *J. Biol. Chem.*, 233, 1589, (1958).
- 35.-Webb, J.L., *Enzyme and Metabolic Inhibitors*, Academic Press, New York, Vol. II, 1966, pp. 751-892.
- 36.-Yang, W.C.T., *Science* 125, 1087, (1957).
- LA MEMBRANA CELULAR COMO UN SITIO DE ACCION DE LOS MERCURIALES.
- 37.-Gamble, J.L., *J. Biol. Chem.* 228, 955, (1957)
- 38.-Passow, H y Rothstein, A., *The binding of Mercury by the Yeast cell in relation to changes in permeability*, *J. Gen. Physiol.*, 43, 621, (1960).
- 39.-Rothstein, A., *Federation Proc.*, 18, 1026, (1959).
- 40.-White, J.F., y Rothstein, A., *The interaction of methyl mercury with Erythrocytes*, *Tox. App. Pharmacol.*, 16, 370, (1973)
- EFFECTOS DE LOS MERCURIALES EN LOS TEJIDOS.
- 41.-De Graff, A.C. y Lehman, R.H., *J. Am. Med. Assoc.* 119, 998, (1942).

- 42.-Kuschnitzky y Lullman., *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.*, 221, 299, [1954].
- 43.-Hudge, G.H., y Weiner, I.H., *Ann. N.Y., Acad. Sci.*, 71, 334, [1958].
- 44.-Shore, V. y Shore, B., *Am. J. Physiol.* 203, 15, [1962].
- 45.-Shrivastav, B.B., *Methylmercury: effects on electrical properties of squid axon membranes.*, *Life Science*. 18, 1077, [1976].
- 46.-Weiner, I.H., *J. Pharmacol Exptl. Therap.* 138, 96, [1962].
- 47.-Wesson, L.G., *J. Lab. Clin. Med.* 59, 630, [1962].
- EFFECTOS OBSERVADOS EN ANIMALES.
- 48.-Berlin, H. y Ullberg, S., *Arch. Environ. Health* 6, 589, [1963].
- 49.-Cumings, J.N., *Heavy metals and the brain*, Thomas Springfield, Illinois, [1959], pp. 78.
- 50.-D'Itri, F.H., *The environmental Mercury Problem*, 1a. Ed, Cleveland, Ohio, Chemical Rubber Co., Press, 1972, pp. 33-49, 73, 77, 78, 87-91, 95, 102, 103.
- 51.-Miller, V.L., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2, 344, [1960].
- 52.-Neathery, H.W., y Miller, W.J., *Metabolism and Toxicity of Cadmium, Mercury and Lead in Animals: A review*, *J. Dairy Sci.* 58, 1767, [1975].
- 53.-Stenking, D., *Normal concentrations of Mercury in human Tissue and Urine*, cap. 6, in: *Mercury in the environment*, 1a. Ed. Faiberg, L., Vostal, J., Cleveland, Ohio, Chemical Rubber Co., Press, 1972pp. 77-109.
- EFFECTOS SOBRE LA MITOSIS, CRECIMIENTO Y DIFERENCIACIÓN.
- 54.-Arrhenius, E., *Effects of organic mercury compounds on the toxicative mechanism of liver cells in vitro.* *Oikos* 9, 32, [1967].
- 55.-Boney, A.D., *Biochem Pharmacol.* 2, 37, [1959].
- 56.-Hughes, A.G.W., *The effect of inhibitory substances on cell division. A study of living cells in tissue cultures.* *Quart. Microsc. Sci.* 91, 251, [1950].

- 57.- Kihstrom, J.E., Lundberg, C. and Hulik, L., Number of eggs and young produced by zebra fishes *Brachydanio rerio*, spawning in water containing small counts of phenylmercuric acetate. *Environ. Res.* 4, 335, (1971).
- 58.- Robson, A.D., *Biochem Pharmacol.* 2, 37, (1959).
- EFFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS.
- 59.- Abe., S. *Biol. Bull.*, 124, 107, (1963).
- 60.- Choppin, P.W. y Phillipson L., *J. Exptl. Med.* 113, 713, (1961).
- 61.- Perez, J.E., *J. Immunol.* 62, 405, (1949).
- 62.- Yamada, T. y Yamagita, T. *J. Biochem.* 44, 661, (1957).
- DESARROLLO DE RESISTENCIA A MERCURIALES.
- 63.- Bückenstaff, D.D., *Am. J. Physiol.* 178, 371, (1954).
- 64.- Russell, P. *Nature*, 176, 1123 (1955).
- EL MERCURIO COMO CONTAMINANTE MARINO.
- 65.- Bakir, F., Damaşuji, S.F. Amin-Zaki, L., Methyl mercury poisoning in Iraq. An interuniversity report, *Science* 181(420), 507, (1973).
- 66.- Cadena, U., Tesis Profesional, Facultad de Ciencias. UNAM. Estudio de la Distribución de Mercurio en peces de importancia comercial del golfo de México. 1977.
- 67.- De La Peña y Sobarzo, P.V., Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. La Contaminación por Mercurio. 1975.
- 68.- Dunlap, L., Mercury: anatomy of a pollution problem, *Chemical and Engineering news*, 49, 22, (1971).
- 69.- Jenkins, D.W., The toxic metals in your future and your past. *Smithsonian*, 3, 62, (1972).
- 70.- Jensen, S., Jernelov, A., Biological methylation of mercury in Aquatic Organisms, *Nature*, 223, 753, (1969).
- 71.- Knehl, A.W., Mercury, the slippery metal, *Nutrition Today*, Nov/Dec, 4, (1972).
- 72.- Miller, G.E., Grant, P.M., Kishon, R., Mercury concentration in museum specimens of tuna and swordfish, *Science* 175, 1121, (1972).

73.-Putman, J.J., Hadden, R.W., *Quicksilver and slow leach*. National Geographic Society, 142 (4), 507, (1972), U.S.A.

74.-Wood, J.H., *Advances in Environmental Science and Technology*, Pitts Metcalf. Wiley Interscience, 2, 39, (1972).