



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

Departamento de Fisiología y Farmacología

“ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA N-ACETILCISTEÍNA SOBRE LA TOXICIDAD RENAL Y HEPÁTICA PRODUCIDA POR EL CROMO”

Trabajo Realizado Por:

L.A.Q.B. ELVIA CRISTINA MENDOZA.

Para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS, EN EL ÁREA DE TOXICOLOGÍA

Asesores:

DR. FERNANDO JARAMILLO JUÁREZ

DR. FRANCISCO A. POSADAS DEL RÍO

DRA. MA. CONSOLACIÓN MARTÍNEZ SALDAÑA

Aguascalientes, Ags., mayo de 2009



DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ RODRÍGUEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
PRESENTE.

De mi mayor consideración:

Por este conducto, me permito comunicarle que el trabajo de tesis "*Análisis del efecto de la N-acetilcisteína sobre la toxicidad renal y hepática producida por el cromo*" realizado por la LAQB Elvia Cristina Mendoza, estudiante de la Séptima Generación del programa de Maestría en Ciencias-Área Toxicología, ha sido revisado y corregido por los miembros de su Comité Tutoral, quienes están de acuerdo con su contenido. Por ello, y para dar cumplimiento a lo establecido en el Artículo 162 (Fracciones I, II y III) y Artículo 175 (Fracciones I y II) del Reglamento General de Docencia de la UAA, mucho he de agradecerle autorizar a la persona antes citada inicie los trámites administrativos para que se le fije fecha de examen de grado.

Aprovecho este conducto para saludarlo cordialmente.

ATENTAMENTE
Aguascalientes, Ags., a 13 de Abril del 2009.
"SE LUMEN PROFERRE"


DR. FERNANDO JARAMILLO JUÁREZ
Secretario Técnico-Maestría en Ciencias

c.c.p.- Archivo.

Centro de Ciencias Básicas

**LAQB. ELVIA CRISTINA MENDOZA
ALUMNO (A) DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS ÁREA
TOXICOLOGÍA,
P R E S E N T E .**

Estimado (a) Sr. (ta): Mendoza:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis titulada "**Análisis del efecto de la N-acetilcisteína sobre la toxicidad renal y hepática producida por el cromo**", de acuerdo con su contenido y para dar cumplimiento a los establecido en el Artículo 162 (Fracciones I, II y III) y Artículo 175 (Fracciones I y II) del Reglamento de docencia de la U.A.A., me permito comunicarle que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

A T E N T A M E N T E
Aguascalientes, Ags., 13 de abril de 2009
"SE LUMEN PROFERRE"
EL DECANO

DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ RODRÍGUEZ



c. c. p.- Archivo

FJAR,mjda

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Jaramillo Juárez, quien aceptó apoyarme y asesorarme a lo largo de este importante proyecto, así como estuvo al pendiente del mismo y creyó en mí para lograrlo.

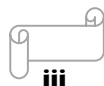
Al Dr. Francisco A. Posadas del Río, por sus consejos y su asesoría en la cuestión teórica.

A la Dra. Consolación Martínez Saldaña, por su apoyo en la parte histológica del proyecto.

A la L.C.N. Ma. Luisa Rodríguez Vázquez, involucrada al 100% en la cuestión práctica, por sus consejos y su tiempo.

A mis maestros, parte fundamental, quienes me ofrecieron las bases necesarias para lograr este reto.

Su paciencia y sus enseñanzas con nada se pagan. ¡Mil gracias!



Dedicatorias

A ti Señor, por prestarme este instante de vida.

A mis hijos Santiago y Rodrigo, bendito regalo.

A mi abuela, que me acompaña en mis oraciones.

A mi madre, a quien debo mi carácter.

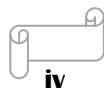
A mi hermana, cómplice y amiga.

A mis amigas y compañeras de maestría Esther, Mily y Licha,, por su apoyo.

A mis maestros y asesores, por su tiempo, su paciencia y sobre todo sus consejos.

Y especialmente a ti Ulises, por estar a mi lado, por tu apoyo y tu amor, por darme los ánimos de continuar cuando estaba a punto de desistir, por ayudarme y comprenderme, este logro también es tuyo.

Dios los Bendiga.

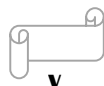


RESUMEN

La exposición ambiental u ocupacional a los xenobióticos genera problemas de salud a los seres humanos. En el estado de Aguascalientes y zonas aledañas, el agua de consumo humano contiene metales pesados en concentraciones cercanas a los límites máximos permitidos por la Norma Oficial Mexicana. En esta región, la única fuente de suministro de agua son los acuíferos y, para hacer frente al aumento en el consumo, los pozos se perforan a profundidades cada vez mayores. Esto conlleva el riesgo de exponer a la población a concentraciones altas de metales pesados. Llama la atención que en nuestro estado, la insuficiencia renal es un problema serio ya que los trasplantes de riñones anualmente superan a la media nacional.

En este contexto, la exposición a compuestos de cromo puede generar problemas de toxicidad aguda y crónica. Las manifestaciones de toxicidad aguda incluyen estado de choque, oliguria y anuria, pudiendo aparecer un cuadro clínico muy grave conocido como síndrome hepatorenal que, en la inmensa mayoría de los casos, conduce a la muerte. A su vez, en la intoxicación crónica se presenta dermatitis eccematosa, hepatitis e ictericia, aumentando considerablemente la frecuencia de cáncer pulmonar en los individuos expuestos. Se ha reportado que la toxicidad de los compuestos de cromo hexavalente se debe a su gran acción oxidante, los cuales son transformados *in vivo* en sustancias menos tóxicas de cromo trivalente. Al respecto, conviene señalar que la N-acetilcisteína (NAC) es un fármaco con propiedades antioxidantes, vasodilatadoras e inhibidoras de la agregación plaquetaria. En nuestro trabajo investigamos la capacidad de la NAC para prevenir o disminuir la toxicidad producida por el cromo a nivel hepático y renal.

Este trabajo se realizó con ratas Wistar machos (200-250 g de peso). Los animales fueron distribuidos en cuatro grupos (10 ratas/grupo): 1) control negativo



(sin tratamiento), 2) tratados con $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c., control positivo), 3) tratamiento preventivo-NAC (15 mg/Kg/día, 5 días, i.p) + $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c.) y 4) tratamiento terapéutico $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c.) + NAC (100 mg/Kg/día, 5 días, i.p). Dada la alta mortandad de los animales tratados con NAC (100 mg/Kg/día, 5 días, i.p.), se trabajó con nuevos lotes de ratas y se disminuyó la dosis: 50 mg/Kg/día y luego a 15 mg/Kg/día, 5 días, i.p., dosis con la que finalmente se trabajó. Además, se introdujo un grupo adicional tratado solamente con NAC. Es pertinente señalar que bajo este esquema de dosificación de la NAC (15 mg/Kg/día, 5 días, i.p.) el porcentaje de mortalidad fue de cero.

Después del tratamiento, se obtuvieron muestras de sangre y orina (jaulas metabólicas) a los 2, 5 y 8 días. En la sangre se determinó: a) la concentración de creatinina y de albúmina y b) las actividades de TGO y TGP. En la orina se analizó: a) el volumen urinario y b) las concentraciones de sodio, glucosa, fosfatos y proteínas. Posteriormente, los animales fueron sacrificados y se obtuvieron el hígado y los riñones. En ellos, se cuantificaron las concentraciones de GSH y de ATP. Finalmente, se realizó el estudio histológico de estos órganos. Los resultados obtenidos fueron analizados con las pruebas de ANOVA y de Tukey-Kramer. Además, en algunos de los casos se utilizó la *t de student* como prueba complementaria.

RESULTADOS

I) RIÑONES

Con relación al grupo control negativo, la concentración de creatinina en la sangre de las ratas tratadas con Cr aumentó significativamente a los 2, 5 y 8 días del tratamiento. Este fenómeno fue revertido por la NAC ya que, en los animales tratados con NAC+Cr disminuyó significativamente a los 2 días, mientras que en el grupo Cr+NAC disminuyó a los 2, 5 y 8 días. Al valorar la función de las células tubulares proximales, la masa excretada de sodio disminuyó significativamente en

los animales tratados con Cr a los 2, 5 y 8 días; a su vez, en los animales tratados con NAC+Cr aumentó a los 2 y 5 días, mientras que en el grupo Cr+NAC disminuyó a los 2 y 8 días. En este contexto, la masa excretada de glucosa aumentó en el grupo NAC+Cr a los 2 y 8 días, así como en el grupo Cr+NAC a los 2 y 5 días. A su vez, en los animales tratados con Cr, la masa excretada de fosfatos aumentó a los 2 días y disminuyó a los 8 días; en los animales tratados con NAC+Cr aumentó a los 2 días y disminuyó a los 5 días, mientras que en el grupo Cr+NAC disminuyó a los 2 días del tratamiento. Por otra parte, con relación al grupo control negativo, la masa excretada de proteínas aumentó significativamente en los grupos NAC+Cr y Cr+NAC a los 2 días. Finalmente, la concentración renal de GSH disminuyó significativamente en los grupos NAC y Cr+NAC a los 8 días del tratamiento. Además, la concentración de ATP disminuyó de manera significativa solamente en el grupo tratado con Cr, sin que se presentaran cambios significativos en los otros grupos experimentales.

II) HÍGADO

Con relación a los animales tratados con Cr, la actividad plasmática de la TGO aumentó significativamente en los grupos NAC+Cr y Cr+NAC a los 2, 5 y 8 días; además, la actividad plasmática de la TGP también aumentó significativamente en el grupo NAC+Cr a los 5 días y en el grupo Cr+NAC a los 2, 5 y 8 días; por otra parte, la concentración de albúmina en plasma disminuyó de manera significativa en los animales del grupo NAC+Cr a los 2 días del tratamiento. A su vez, con relación grupo control negativo, la concentración hepática de GSH disminuyó en los animales tratados con Cr y Cr+NAC; además, la concentración de ATP también disminuyó significativamente en el grupo tratado con Cr a los 8 días.

III) ESTUDIO HISTOLÓGICO.

El Cr alteró la estructura y organización del tejido renal generando necrosis tubular aguda. Este efecto fue revertido parcialmente con la administración de la NAC (15 mg/Kg). Además, el Cr también generó cambios estructurales del tejido hepático

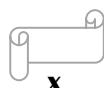
caracterizados por vacuolización intensa y necrosis de hepatocitos. Sin embargo, es importante señalar que en los hígados de las ratas tratadas con NAC+Cr y Cr+NAC (tratamientos preventivo y terapéutico) hubo menor daño estructural.

Los resultados anteriores nos permiten concluir lo siguiente: 1) la disminución de la velocidad de filtración glomerular (creatinina en sangre) producida por el cromo es revertida de manera parcial por la NAC, 2) las alteraciones de las masas excretadas de glucosa y fosfatos se relacionan con daño en la reabsorción proximal de estas sustancias, fenómeno exacerbado por la NAC, 3) la disminución de la concentración de ATP en hígado y riñones se relaciona con el estrés oxidativo producido por el cromo, fenómeno atenuado parcialmente por la NAC.

Í N D I C E

	<i>Página</i>
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	5
3. JUSTIFICACIÓN	11
4. HIPÓTESIS	11
5. OBJETIVO GENERAL	12
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
6.1. OBJETIVO ESPECÍFICO 1	12
6.2. OBJETIVO ESPECÍFICO 2	12
7. METODOLOGÍA	13
8. RESULTADOS	15
8.1 DAÑO RENAL (NAC 100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.)	15
8.1.1 Flujo urinario y concentración de creatinina en sangre	15
8.1.2 Masa excretada de Na ⁺ , proteínas, fosfatos y glucosa	15
8.1.3 Concentraciones de GSH y ATP en tejido renal	16
8.2 DAÑO HEPÁTICO (NAC 100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.)	17
8.2.1 Albúmina y actividades de GOT y GPT en sangre	17
8.2.2 Concentraciones de GSH y ATP en el hígado	18
8.3 DAÑO RENAL (NAC 50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.)	20
8.3.1 Concentración de creatinina en sangre y flujo urinario	20
8.3.2 Masa excretada de Na ⁺ , proteínas, fosfatos y glucosa	21
8.3.3 Concentraciones de GSH y ATP en los riñones	22
8.4 DAÑO HEPÁTICO (NAC 50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.)	23

8.4.1. Albúmina y actividades séricas de GOT y GPT	23
8.4.2 Concentraciones de GSH y ATP en el hígado	24
8.5 DAÑO RENAL (NAC 15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.)	26
8.5.1 Concentración de creatinina en sangre y flujo urinario	26
8.5.2 Masa excretada de Na ⁺ , proteínas, fosfatos y glucosa	29
8.5.3 Concentraciones de GSH y ATP en los riñones	35
8.6 DAÑO HEPÁTICO (NAC 15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.)	38
8.6.1 Albúmina y actividades séricas de GOT y GPT	38
8.6.2 Concentraciones de GSH y ATP en el hígado	42
8.7 DAÑO ESTRUCTURAL DE LOS TEJIDOS	43
8.7.1 Estudio Estructural del riñón	43
8.7.2 Estudio Estructural del hígado	48
9. DISCUSIÓN	53
9.1 ESTUDIO DEL DAÑO HEPÁTICO	54
9.2 ESTUDIO DEL DAÑO RENAL	57
9.3 ESTUDIO HISTOLÓGICO	61
10. CONCLUSIONES	63
11. GLOSARIO	64
12. BIBLIOGRAFIA	66



ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA N-ACETILCISTEÍNA SOBRE LA TOXICIDAD RENAL Y HEPÁTICA PRODUCIDA POR EL CROMO

1. INTRODUCCIÓN

La toxicidad de los metales y sus compuestos sobre la salud de los animales y el hombre es un fenómeno reconocido desde hace siglos. El papiro de Ebers (1500 a.C) contiene información sobre enfermedades producidas por distintos tóxicos, entre ellos algunos metales. Posteriormente, en el siglo XV, Paracelso describió por primera vez los peligros ocupacionales relacionados con los metales en su libro: "Acerca de la enfermedad de los mineros" (Klaessen y Watkins, 2001). A su vez, el médico italiano Bernardino Ramazzini, considerado el padre de la medicina del trabajo, en el siglo XVIII profundizó el estudio sobre las enfermedades ocupacionales y en sus libros "De Re Metálica" y "Discurso acerca de las enfermedades de los trabajadores" (1899), trató los efectos potenciales que se producían en los trabajadores expuestos a humos y vapores de metales en sus sitios de trabajo. Otros autores también han descrito la característica especial que tienen los metales de bioacumularse en el organismo y, por lo tanto, de aumentar la cantidad de metales en el cuerpo humano en la medida en que la edad se incrementa (Repetto y Repetto, 2000).

Algunos metales son indispensables en bajas concentraciones, ya que forman parte de sistemas enzimáticos, como el cobalto, zinc, molibdeno, o como el hierro que forma parte de la hemoglobina. Su ausencia causa enfermedades y su exceso intoxicaciones (Fergusson, 1990). Los metales tóxicos son aquellos cuya presencia en el ambiente puede causar daños en la salud de los animales y del humano. Los términos metales pesados y metales tóxicos se usan como sinónimos pero sólo algunos de ellos pertenecen a ambos grupos (Harte et al, 1991). Al respecto, los metales pesados tienen una densidad por lo menos cinco veces mayor que la del agua, se usan en numerosos procesos industriales y son

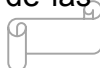


tóxicos para los seres vivos. Los más importantes son: Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Mercurio (Hg), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Estaño (Sn) y Cinc (Zn) (Harte et al, 1991).

El desarrollo tecnológico, el consumo masivo e indiscriminado y la producción de desechos principalmente urbanos, ha provocado la presencia de muchos metales en cantidades importantes en el ambiente, generando numerosos efectos sobre la salud y el equilibrio de los ecosistemas, además, tienden a incorporarse con los alimentos o como partículas que se respiran y se van acumulando en el organismo, hasta llegar a concentraciones tóxicas. La incorporación lenta produce intoxicaciones crónicas que dañan los tejidos u órganos en los que se acumulan (Fergusson, 1990). En la medida en que se afecta la homeostasis del medio interno se limitan las posibilidades del individuo para tener una vida normal. En este contexto, la integridad del hígado y de los riñones es esencial para el mantenimiento de la homeostasis corporal de los seres humanos (Jaramillo et al, 2006).

El hígado es el órgano más grande del cuerpo y llega a pesar en humano adulto hasta 1.5 Kg. Está formado de dos lóbulos principales de los cuales el derecho es más grande que el izquierdo y el color café rojizo de este órgano se debe a la cápsula de tejido conectivo que lo cubre. La vena porta transporta al hígado los compuestos absorbidos en el intestino y en el estómago, incluyendo sustancias que pueden ser tóxicas; a su vez, la arteria hepática conduce al hígado hasta un 25% del gasto cardiaco y se encarga de oxigenar los tejidos de este órgano. Del hígado salen vasos linfáticos y dos conductos biliares (uno de cada lóbulo). Los conductos biliares se unen entre sí para luego unirse al conducto cístico que sale de la vesícula biliar, entonces forman un solo conducto que viaja hasta el duodeno del intestino delgado, donde descarga la bilis (Siller, 2006).

El hígado realiza muchas funciones y entre las más importantes están el almacenamiento y biotransformación de las sustancias que recibe por medio de



la sangre. Normalmente biotransforma y acumula sustancias útiles para el organismo como la glucosa (en forma de glucógeno), aminoácidos, grasas y vitaminas A y B₁₂. El hígado produce y regula la concentración de diversas sustancias en la sangre, ejemplos: la albúmina, el fibrinógeno y la mayoría de las globulinas y proteínas de la coagulación (Siller, 2006; Kopplin, 2001).

Cuando se altera la síntesis de estas sustancias, el individuo se encuentra bajo en defensas y con problemas de coagulación de la sangre. Otras sustancias reguladas por el hígado son los azúcares y los aminoácidos; cuando se retrasa su ingesta, el hígado utiliza su almacén de glucógeno para producir glucosa y de las proteínas de reserva produce aminoácidos. Produce la bilis por medio de la cual se excretan al intestino un número considerable de metabolitos (Siller, 2006; Kopplin, 2001).

El hígado es un órgano muy propenso a sufrir daños por la exposición a tóxicos debido a que los dos sistemas circulatorios pueden llevarle sustancias tóxicas o que se vuelven tóxicas con las transformaciones metabólicas que realiza. Al respecto, algunas de las reacciones que sufren los xenobióticos en el hígado los convierten en sustancias menos tóxicas o no tóxicas y más fáciles de excretar (proceso de detoxificación). Sin embargo, otros xenobióticos son inertes bajo su estructura original y al ser biotransformados originan metabolitos tóxicos, ejemplo, la biotransformación del CCl₄ que es tóxico para el hígado. Para realizar sus funciones, el hígado cuenta con una gran cantidad de enzimas. Las que participan en la biotransformación de los xenobióticos incluyen: oxidasas y reductasas, como el citocromo-P450 (CYP450), flavin-monooxigenasas, peroxidasas, esterases y amidasas. Otras enzimas conjugan metabolitos endógenos de las células a los xenobióticos o sus metabolitos, ejemplos, las glucuroniltransferasas, sulfotransferasas, acetiltransferasas y transferasas de aminoácidos. Algunas sustancias transportadas por la bilis al intestino delgado pueden ser transformadas por la flora intestinal dando lugar al ciclo enterohepático. En algunas ocasiones, el incremento del tiempo de permanencia del tóxico en el

organismo, producido por este ciclo favorece la generación de respuestas tóxicas, incluso hepatotóxicas (Siller, 2006; Kopplin, 2001).

Los factores que predisponen al hígado a sufrir toxicidad de los agentes químicos son varios, entre ellos se encuentran los siguientes (Kopplin, 2001).

- El flujo sanguíneo elevado que puede ser portador de sustancias tóxicas.
- La gran capacidad para biotransformar o metabolizar xenobióticos.
- Su función excretora que permita la concentración de tóxicos.

Por otra parte, los riñones son dos órganos que participan de manera importante en el mantenimiento de la homeostasis corporal y, para ello, reciben un porcentaje elevado del gasto cardiaco. Se encuentran en la región retroperitoneal, a ambos lados de la columna vertebral, ocupando la región posterior del abdomen. Cada riñón se encuentra alojado en una cápsula fibroadiposa. Tienen forma de frijol, con dos caras (anterior y posterior), un borde externo convexo, un borde interno (cóncavo en su centro) y dos polos redondeados (superior e inferior). En el hilio penetran los vasos sanguíneos y sale el uréter y es seguido inmediatamente por una cavidad profunda, denominada seno del riñón. Están constituidos por dos tipos de estructuras diferentes: la parte cortical, inmediatamente debajo de la cápsula fibrosa, y la zona medular. La corteza, de color rojo oscuro envuelve a médula que penetra profundamente en ella dando lugar a formaciones radiadas llamadas pirámides de Ferrein o radios medulares de Ludwig. Los riñones contienen glomérulos incluidos en la cápsula de Bowman, que se repliega en el lugar en donde confluyen las arteriolas aferente y eferente. El conjunto de glomérulo y cápsula de Bowman se denominan corpúsculo de Malpighio, y el conjunto de glomérulo, cápsula renal y túbulo renal constituye la nefrona que es la unidad funcional de los riñones. Se estima que los riñones del humano tienen alrededor de 1 millón de nefronas (Kopplin, 2001; Reyes y Jaramillo, 2008).



2. ANTECEDENTES

Los metales constituyen una familia importante de compuestos tóxicos con riesgo significativo para la salud de los seres humanos por exposición ocupacional y ambiental. Los riñones y el hígado de los mamíferos son los órganos más afectados por la acción tóxica de metales pesados como el cromo. Los metales pesados tienen características especiales que juegan un papel importante en la toxicidad hepática y renal, como ejemplo se puede mencionar que en su forma catiónica existen en diferentes estados de oxidación y cada uno de esos estados generalmente difiere en su toxicidad (especiación). En general, los cationes metálicos son capaces de formar complejos y quelatos con ligandos endógenos (Ellenhorn y Barceloux, 1988; Lock, 1995; Klaassen, 1996).

Pallas descubrió en Rusia (1765) la crocoita o plomo rojo, un mineral de cromo que contiene plomo. El metal fue aislado en 1797 en Francia por Vanquelin quien reconoció que era una combinación de óxido de plomo con un ácido nuevo, cuyo componente metálico designó con la palabra griega *chroma* (color), ya que sus compuestos por lo general adoptan una hermosa coloración. El cromo es un metal muy duro y poco alterable. Aparece como terrones, gránulos, polvo o cristales, es soluble en ácido sulfúrico, su símbolo químico es Cr, número atómico 24, pertenece al grupo VI B de la tabla periódica, situado entre los grupos IIA y IIIA dentro de los llamados metales de transición. Sus principales propiedades físicas son: peso atómico: 52 g/mol, densidad 7.19 g/cm³, punto de fusión 1.857 °C, punto de ebullición 2.672 °C (Repetto y Repetto, 2000). El cromo no se encuentra solo en la naturaleza, sino distribuido ampliamente como cromita (FeCr₂O₄) o piedra de cromo férrico. Puede presentarse en estados de oxidación de 2+ y 3+ a 6+. Los estados de valencia que son de interés industrial son en primer lugar el cromo hexavalente (cromatos) y en menor grado el cromo trivalente (crómico forma estable) (Gil y col., 2002).

Los compuestos que contienen cromo se utilizan como colorantes y mordientes (industria textil), en el cromado electrolítico o galvanoplastia (industria mueblera y automotriz), para el curtido de cueros y pieles (industria peletera), como conservadores de madera y anticorrosivos en calderas y lodos de perforación en la industria petrolera (WHO, 1988; Klaassen y Watkins, 2001). Los efectos de toxicidad aguda y crónica del cromo se deben, en gran parte, a los compuestos que contienen cromo hexavalente. Al respecto, en los animales de experimentación, la toxicidad tubular aguda de cromatos y dicromatos está bien documentada y la necrosis tubular renal también ha sido descrita en seres humanos, después de la intoxicación aguda (Langard y Norseth, 1986). Estudios epidemiológicos han demostrado que el cromo (6+) puede producir disfunción tubular en trabajadores expuestos de manera crónica. En efecto, se ha reportado que en la orina de soldados expuestos al cromo aumenta la prevalencia y las concentraciones de β -glucuronidasa y de proteínas. Estas observaciones han sido confirmadas por estudios en los que se han usado marcadores más sensibles de daño tubular, como las β_2 -microglobulinas, la proteína enlazadora de retinol y el antígeno renal BB-50 (Mutti et al, 1979, 1985; Lindberg y Vesterberg, 1983).

En España un estudio realizado en 1976, reportó que el 54% de las personas que consultaron al departamento de dermatología laboral del Instituto de Medicina, Higiene y Seguridad en el Trabajo de Madrid por dermatosis, eran trabajadores expuestos a compuestos de cromo especialmente dicromato de potasio (Grimalt, 1980). En nuestro país (1976), la empresa Cromatos de México regaló desechos de cromo para tapar los baches de las calles del pueblo de Lechería en Tultitlán, Edo. de México, y posteriormente se reportaron varios casos de personas con ulceraciones dérmicas y perforación del tabique nasal. A su vez, la dirección del medio ambiente de Argentina informó (1998) sobre la presencia de niveles muy altos de contaminación por cromo, que superaban varias veces los límites permisibles, en 24 personas que residían cerca de dos industrias de curtiduría localizadas en la provincia de Santa Fe; también se informó de la aparición de 12 casos de leucemia en estos pobladores. Como característica

común de estas dos industrias de curtido se encontró la disposición inadecuada en el ambiente de los residuos del cromo (Guzmán y Fernández, 2000). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), clasificó al cromo hexavalente y sus compuestos en el Grupo I de sustancias cancerígenas, porque se ha comprobado su capacidad para producir cáncer en el humano (Boffetta, 1993).

Como ya se señaló, el hígado y los riñones tienen un papel relevante en el mantenimiento de la homeostasis y actúan de manera conjunta para mantener el equilibrio adecuado de varios procesos bioquímicos y fisiológicos. Como ejemplo de ello se puede mencionar su participación en la regulación del equilibrio ácido-base de los líquidos corporales, ayudando a mantener el pH sistémico y determinando la excreción de los iones de amonio. En efecto, la síntesis hepática de urea remueve al amonio, consume bicarbonato y produce H^+ , mientras que los riñones se encargan de excretar urea, la atrapan y eliminan iones de amonio, excretan H^+ y recuperan el bicarbonato perdido durante la amortiguación de las sustancias ácidas en la sangre. Además, el hígado y los riñones evitan la acumulación en el organismo de sustancias potencialmente tóxicas (xenobióticos o productos del metabolismo celular) por diferentes mecanismos, entre ellos, la alteración enzimática de sus estructuras químicas y su excreción (Oster y Pérez, 1988).

Se han reportado diversas alteraciones que pueden conducir a la falla renal aguda durante el daño hepático. En primer lugar, la falla renal puede ser una consecuencia de la función hepática comprometida, tal es el caso del daño renal asociado a ictericia severa. En segundo lugar, la falla renal aguda y el daño hepático pueden ser originados por una misma causa, ejemplo de ello es la intoxicación con paracetamol que puede producir necrosis tubular aguda y necrosis hepática. En tercer lugar, existen alteraciones renales específicas asociadas con la enfermedad hepática, como la nefropatía por IgA en pacientes con cirrosis alcohólica (López Novoa y Díez, 1990).

Ahora bien, durante el metabolismo celular, los organismos aerobios producen *radicales libres*, principalmente en la mitocondria durante el transporte de electrones de la cadena respiratoria, que son transformados en sustancias inocuas por las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa. En la producción de radicales libres participan diversas enzimas solubles y algunas unidas a las membranas. Además, muchos xenobióticos al ser biotransformados en el organismo generan *metabolitos electrófilos* altamente reactivos y tóxicos. Estos compuestos forman aductos con algunas macromoléculas de las células, alterando con ello su función (Turrens et al, 1982).

Para neutralizar a los radicales libres y evitar daño a las células, los organismos aeróbicos han desarrollado mecanismos de protección que funcionan como atrapadores de esas sustancias (mecanismos antioxidantes). En efecto, en condiciones fisiológicas, los radicales libres son destoxificados en las células a través de los mecanismos antioxidantes, de tal forma que existe un equilibrio entre los fenómenos pro-oxidantes y los antioxidantes. Sin embargo, bajo diversas circunstancias este equilibrio puede ser alterado, por ejemplo cuando se producen radicales libres en exceso. Así, la aparición del daño celular puede ser debido a que los sistemas de protección antioxidante son insuficientes o se encuentran deteriorados (Maxwell, 1995).

Abundando sobre este tema, la forma reducida del glutatión (GSH) destoxifica una gran cantidad de metabolitos reactivos ya sea por conjugación espontánea o mediante una reacción catalizada por las transferasas de glutatión (GST). Así, las GST son una familia de enzimas involucradas en la destoxificación de xenobióticos y de sustancias reactivas endógenas, mientras que el glutatión (GSH) es un tripéptido (L- γ -glutamil-L-cisteinil-glicina) sintetizado en el hígado a partir de la γ -glutamilcisteína y la glicina (Koppele y Mulder, 1991). Las GST neutralizan a los radicales libres catalizando la reacción de estas sustancias con el grupo tiol (-SH) del glutatión reducido; con ello, se neutralizan los sitios electrófilos de los radicales libres y se incrementa su hidrosolubilidad. Los epóxidos, los

hidroperóxidos orgánicos y los metabolitos oxidados son los sustratos de las GST. La transferencia del GSH a compuestos electrofílicos es el mecanismo principal de detoxificación de los intermediarios reactivos generados por el sistema de monooxigenasas (Kaneo et al, 1994; Reed, 1994). Las GST se localizan principalmente en el citoplasma de las células y, en menor cantidad, en la membrana del retículo endoplásmico. El hígado, los riñones, los testículos, el intestino y las glándulas suprarrenales son los órganos que tienen mayor actividad de GST (Glenn y Jay, 1986). *La reducción de un 20-30% del GSH intracelular produce una marcada incapacidad de las células para amortiguar las acciones de los compuestos tóxicos* (Reed, 1990).

En este contexto, la N-acetilcisteína (NAC) es el precursor acetilado de los aminoácidos L-cisteína y del glutatión reducido (GSH). La cisteína, el aminoácido del que se obtiene la NAC, se encuentra en la mayoría de los alimentos ricos en proteínas. Es importante señalar que la NAC es un fármaco con propiedades antioxidantes, vasodilatadoras e inhibitoras de la agregación plaquetaria (Robinson, 1995; Rank et al, 2000). Ha sido utilizada en diversas patologías que afectan a los humanos y en estudios experimentales de daño hepático y renal producido por xenobióticos; al respecto, se pueden mencionar:

- a) La protección de la función hepática en enfermos con shock séptico (Rank et al, 2000).
- b) El tratamiento de la hepatotoxicidad grave producida por la intoxicación con acetaminofeno (Moling et al, 2006).
- c) El tratamiento de la falla renal durante el síndrome hepatorenal (Holt et al, 1999).
- d) Para disminuir los efectos colaterales de las sales de oro utilizadas en el tratamiento de pacientes con artritis reumatoide (Lorber et al, 1973).
- e) Para disminuir el daño renal producido por el mercurio en animales de experimentación (Girardi y Elias, 1991).

Sin embargo, la NAC tiene efectos colaterales que se manifiestan principalmente a dosis altas, entre ellos: alteraciones gastrointestinales (náusea y vómito), reacciones anafilácticas debidas a la liberación de histamina (prurito, angioedema, espasmo bronquial, taquicardia y cambios en la presión sanguínea) (Zimet, 1988). **Además, puede producir efectos pro-oxidantes aún a dosis terapéuticas** (www.thorne.com). En este contexto, ha sido publicado que la NAC disminuye la concentración de GSH e incrementa la concentración de GSSG en individuos sanos, lo que manifiesta su acción pro-oxidante. También, se ha descrito que la NAC causa daño oxidativo al DNA en presencia de iones metálicos como el Cu^{2+} (Kleinveld et al., 1992; Oikawa et al, 1999).

Por lo antes expuesto, consideramos importante investigar la capacidad de la NAC para prevenir o disminuir la magnitud de las acciones tóxicas y las lesiones histológicas producidas por el cromo, a nivel hepático y renal.

3. JUSTIFICACIÓN

La exposición ambiental u ocupacional a los metales pesados produce problemas de salud a los seres humanos. En este contexto, la exposición a los compuestos derivados del cromo daña al hígado y a los riñones. Dado que estos órganos participan de manera importante en el mantenimiento de la homeostasis corporal, cuando son afectados por los xenobióticos aparecen alteraciones fisiopatológicas graves, como la falla hepática y renal. Esto frecuentemente conduce a la muerte de los humanos o les genera una calidad de vida muy baja. Por ello, es importante investigar la capacidad de la NAC para prevenir o disminuir la toxicidad producida por el cromo a nivel de hígado y riñones.

4. HIPÓTESIS

La administración de N-Acetilcisteína a animales de experimentación previene o disminuye la magnitud de los efectos tóxicos producidos por el cromo en el hígado y en los riñones.

5. OBJETIVO GENERAL

Estudiar el posible efecto protector de la N-Acetilcisteína sobre el daño renal y hepático producido por el cromo, en ratas Wistar machos.

6. OBJETIVOS ESPECIFICOS

6.1. Analizar el posible efecto preventivo y/o terapéutico de la N-Aceticisteína sobre el daño hepático producido por el $K_2Cr_2O_7$ en ratas machos adultos, mediante las determinaciones de:

- a) Las actividades séricas de las transaminasas glutámico-pirúvica (TGP) y glutámico-oxalacética (TGO).
- b) Las concentraciones de albúmina en sangre.
- c) Las concentraciones hepáticas de glutatión reducido (GSH).
- d) Las concentraciones hepáticas de ATP.
- e) Las alteraciones estructurales del hígado.

6.2. Analizar el posible efecto preventivo y/o terapéutico de la N-Acetilcisteína sobre el daño renal producido por el $K_2Cr_2O_7$ en ratas machos adultos, mediante las determinaciones de:

- a) Las concentraciones de creatinina en sangre.
- b) El volumen urinario.
- c) Las concentraciones de proteínas y sodio en la orina.
- d) Las concentraciones urinarias de glucosa y fosfatos.
- e) Las concentraciones de ATP en corteza renal.
- f) Las concentraciones renales de glutatión reducido (GSH).
- g) Las alteraciones estructurales de los riñones.

NOTA: Las determinaciones anteriores fueron hechas administrando la N-Acetilcisteína antes del $K_2Cr_2O_7$ (**Efecto Preventivo**) y después de la administración del mismo (**Efecto Terapéutico**).

7. METODOLOGÍA

El estudio se realizó en ratas Wistar machos de 200-250 g de peso. Se trabajó con 4 grupos de ratas (10 ratas/grupo): 1) control negativo (sin tratamiento), 2) tratado con $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c., control positivo), 3) tratamiento preventivo-NAC (100 mg/Kg/día, 5 días, i.p) + $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c.) y 4) tratamiento terapéutico $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c.) + NAC (100 mg/Kg/día, 5 días, i.p). Dada la alta mortandad de los animales tratados con NAC (100 mg/Kg/día, 5 días, i.p), se trabajó con nuevos lotes de animales y se disminuyó la dosis de NAC a la mitad (50 mg/Kg/día, 5 días, i.p.); finalmente, se trabajó con la dosis de 15 mg/Kg/día, 5 días, i.p. Además, se introdujo un grupo adicional: tratado con NAC (15 mg/Kg/día, durante 5 días, vía i.p.). Así, los grupos de animales de experimentación quedaron establecidos de la siguiente manera:

TESTIGOS (control negativo)	TRATADOS $K_2Cr_2O_7$	TRATADOS NAC	TRATAMIENTO PREVENTIVO (NAC + $K_2Cr_2O_7$)	TRATAMIENTO TERAPÉUTICO ($K_2Cr_2O_7$ + NAC)
Se obtuvieron muestras de sangre de la arteria caudal de las ratas y se realizaron las pruebas programadas con este fluido. Las ratas reposaron 3 días. Al día siguiente, se colocaron en jaulas metabólicas y se obtuvieron muestras de orina de 24 h. Se realizaron las cuantificaciones programadas en la orina.	Se administró a las ratas $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c.), de una solución acuosa de 10 mg/ml. Posteriormente, se hicieron las cuantificaciones programadas en muestras de orina (24 h) y sangre a los 2, 5 y 8 días después del tratamiento con el $K_2Cr_2O_7$.	Se administró a las ratas NAC (15 mg/Kg/día, durante 5 días, vía i.p.). Posteriormente, se hicieron las cuantificaciones programadas en muestras de orina (24 h) y sangre a los 2, 5 y 8 días después del tratamiento con NAC.	Se administró a las ratas NAC (15 mg/Kg/día, durante 5 días, vía i.p.). Al día siguiente, se administró $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c.), de una solución acuosa de 10 mg/ml. Posteriormente, se hicieron las cuantificaciones programadas en muestras de orina (24 h) y sangre a los 2, 5 y 8 días después de la administración del $K_2Cr_2O_7$.	Se administró a las ratas $K_2Cr_2O_7$ (15 mg/Kg, s.c.), de una solución acuosa de 10 mg/ml. Al día siguiente, se administró NAC (15 mg/Kg/día, durante 5 días, vía i.p.). Posteriormente, se hicieron las cuantificaciones programadas en muestras de orina (24 h) y sangre a los 2, 5 y 8 días después del tratamiento con el $K_2Cr_2O_7$.
Se sacrificó a los animales. Se obtuvieron el hígado y los riñones. En ellos, se cuantificó la concentración de GSH y de ATP.	Se sacrificó a los animales. Se obtuvieron el hígado y los riñones. En ellos, se cuantificó la concentración de GSH y de ATP.	Se sacrificó a los animales. Se obtuvieron el hígado y los riñones. En ellos, se cuantificó la concentración de GSH y de ATP.	Se sacrificó a los animales. Se obtuvieron el hígado y los riñones. En ellos, se cuantificó la concentración de GSH y de ATP.	Se sacrificó a los animales. Se obtuvieron el hígado y los riñones. En ellos, se cuantificó la concentración de GSH y de ATP.
Finalmente, se realizó el estudio histológico de estos órganos.	Finalmente, se realizó el estudio histológico de estos órganos.	Finalmente, se realizó el estudio histológico de estos órganos.	Finalmente, se realizó el estudio histológico de estos órganos.	Finalmente, se realizó el estudio histológico de estos órganos.

Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

PARÁMETRO	MÉTODO
Actividades séricas de TGO y TGP.	Schlebusch, et al., 1974.
Concentración de albúmina en sangre.	Doumas, et al., 1971.
Concentraciones de GSH en hígado y corteza renal.	Cohn y Lyle, 1966.
Concentraciones de ATP en hígado y corteza renal.	Adams, 1963.
Concentraciones de creatinina en sangre.	Bauer, 1982.
Volumen urinario.	Volumétrico.
Concentraciones de proteínas en la orina.	Peterson, 1977.
Concentración urinaria de sodio.	Flamométrico.
Concentraciones de glucosa y fosfatos en orina.	Trinder, 1969; Summer, 1944.
Estudio histológico de hígado y riñones.	Técnica de inclusión en parafina para microscopía óptica y tinción de hematoxilina y eosina (H/E).

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente con las pruebas de ANOVA y de Tukey-Kramer. Además se utilizó la *t de student* como apoyo en algunos de los casos.

8. RESULTADOS

8.1 DAÑO RENAL (NAC 100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.).

8.1.1 Flujo urinario y concentración de creatinina en sangre.

Comparados con el valor medio del grupo control negativo, la concentración de creatinina en sangre del grupo tratado con Cr (control positivo) aumentó significativamente a los 2, 5 y 8 días del tratamiento, mientras que en las ratas que recibieron NAC+Cr el incremento fue significativo a los 2 y 8 días del tratamiento. Además, en los animales tratados con cromo, el flujo urinario no cambió durante los 2 y 5 días posteriores al tratamiento, sin embargo, hubo una disminución significativa a los 8 días de tratamiento; a su vez, en los animales tratados con NAC+Cr, el flujo urinario disminuyó significativamente en los tres períodos de muestreo (2, 5 y 8 días) (tabla 1).

GRUPO	Creatinina en sangre (mg/L)			Flujo urinario (μL/min)		
	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	3.9 (±0.4)	3.9 (±0.4)	3.9 (±0.4)	11.4 (±1.6)	11.4 (±1.6)	11.4 (±1.6)
Cromo (N=10)	19.7** (±2.9)	16.3** (±3.3)	7.5 *** (±2.0)	13.3 (±1.5)	13.2 (±1.5)	4.64** (±0.6)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=9)	32.1*** (±4.4) M=0/9	47.3* (±28.2) M=6/9	154.8 ----- M=8/9	2.51*** (±0.63) M=0/9	5.4* (±1.8) M=5/9	2.0 * ----- M=7/9

Tabla 1.- Efecto de la administración de la NAC (100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). M=mortalidad. Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$).

8.1.2 Masa excretada de Na^+ , proteínas, fosfatos y glucosa.

La tabla 2 muestra los valores del manejo renal de electrolitos, proteínas y glucosa. Con relación al valor medio del grupo control negativo, se encontró lo siguiente: 1) la masa excretada de sodio disminuyó significativamente tanto en el grupo de animales tratados con cromo como en el grupo tratado con NAC+Cr,

durante los tres períodos de muestreo; 2) la masa excretada de fosfatos tuvo un comportamiento variable en el grupo tratado con cromo, ya que aumentó significativamente a los 2 días, no presentó cambios a los 5 días y disminuyó significativamente a los 8 días de tratamiento; mientras que en el grupo tratado con NAC+Cr disminuyó significativamente en los tres períodos de muestreo; 3) la masa excretada de proteínas también tuvo un comportamiento variable en el grupo tratado con cromo, ya que no presentó cambios significativos a los 2 y 5 días, pero disminuyó de manera significativa a los 8 días de tratamiento; sin embargo, en el grupo tratado con NAC+Cr disminuyó significativamente en los tres períodos de muestreo y 4) la masa excretada de glucosa no se modificó en los animales tratados con cromo, mientras que en el grupo tratado con NAC+Cr aumentó de manera significativa solamente a los 5 días del tratamiento.

GRUPO	Na ⁺ Masa Excretada (μEq/min)			Proteínas Masa Excretada (μg/min)			Fosfatos Masa Excretada (μg/min)			Glucosa Masa Excretada (μg/min)		
	2	5	8	2	5	8	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	700 (±70.5)	700 (±70.5)	700 (±70.5)	52.7 (±5.32)	52.7 (±5.32)	52.7 (±5.32)	23.72 (±1.19)	23.72 (±1.19)	23.72 (±1.19)	0.17 (±0.03)	0.17 (±0.03)	0.17 (±0.03)
Cromo (N=10)	300*** (±46.2)	500 (±28.3)	200*** (±28.2)	65.55 (±3.08)	70.42 (±23.1)	29.19** (±2.74)	31.29** (±1.5)	24.02 (±1.71)	14.53*** (±1.51)	0.07 (±0.04)	0.19 (±0.07)	0.13 (±0.01)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=9)	50*** (±17) M=0/9	300** (±100) M=5/9	90*** 0 M=7/9	32.55* (±7.34) M=0/9	16.1*** (±4.5) M=5/9	5.3*** 0 M=7/9	4.93*** (±1.29) M=0/9	0.16*** (±0.06) M=5/9	0.04*** 0 M=7/9	0.51 (±0.31) M=0/9	0.9* (±0.51) M=5/9	0.06 0 M=7/9

Tabla 2.- Efecto de la administración de la NAC (100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). M=mortalidad. Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$).

8.1.3 Concentraciones de GSH y ATP en tejido renal.

A los 8 días de tratamiento y comparados con el valor medio del control negativo, la concentración renal de: 1) glutatión reducido (GSH) disminuyó significativamente en el grupo tratado con cromo, mientras que en las ratas que recibieron NAC+Cr el decremento no fue significativo y 2) el ATP también

disminuyó de manera significativa en el grupo tratado con cromo, mientras que en las ratas tratadas con NAC+Cr el decremento no fue significativo (tabla 3).

GRUPO	GSH EN RIÑÓN ($\mu\text{g/g}$ tejido)	ATP EN RIÑÓN ($\mu\text{mol/g}$ tejido)
	8	8
Control Negativo (N=12)	1755 (± 164)	2503 (± 420)
Cromo (N=10)	1258* (± 57)	934** (± 71)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=9)	1265 M=8/9	1140 M=8/9

Tabla 3.- Efecto de la administración de la NAC (100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). M=mortalidad. Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

8.2 DAÑO HEPÁTICO (NAC 100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.).

8.2.1 Albúmina y actividades de GOT y GPT en sangre.

Comparados con el valor medio del grupo control negativo, la concentración de albúmina en sangre del grupo tratado con Cr (control positivo) no se modificó a los 2, 5 y 8 días del tratamiento, mientras que en las ratas que recibieron NAC+Cr el decremento fue significativo a los 2 y 5 días del tratamiento. Además, en los animales tratados con cromo, la actividad sérica de TGO aumentó en los tres períodos estudiados, con cambios significativos a los 8 días posteriores al tratamiento, mientras que en los animales tratados con NAC+Cr, el incremento fue altamente significativo a los 5 días de tratamiento. Con relación a la actividad sérica de la TGP se observó un comportamiento semejante al de la TGO (tabla 4).

GRUPO	Albúmina en plasma (g/dL)			TGO en plasma (U/L)			TGP en plasma (U/L)		
	2	5	8	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	3.23 (±0.07)	3.23 (±0.07)	3.23 (±0.07)	18.94 (±6.06)	18.94 (±6.06)	18.94 (±6.06)	24.56 (±7.15)	24.56 (±7.15)	24.56 (±7.15)
Cromo (N=10)	3.245 (±0.09)	3.456 (±0.14)	3.113 (±0.14)	37.97 (±12.19)	56.95 (±13.28)	185.98*** (±25.7)	38.76 (±5.95)	37.18 (±7.55)	197.61*** (±17.76)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=9)	2.72*** (±0.1) M=0/9	2.12*** (±0.14) M=6/9	2.48 ----- M=8/9	54.5 (±18.8) M=0/9	9567* (±8692) M=6/9	1575 --- M=8/9	131.8*** (±36.3) M=0/9	26950*** (±7875) M=6/9	1050 --- M=8/9

Tabla 4.- Efecto de la administración de la NAC (100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño hepático producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). M=mortalidad. Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001).

8.2.2 Concentraciones de GSH y ATP en el hígado.

A los 8 días de tratamiento y comparados con el valor medio del control negativo, la concentración hepática de glutatión reducido (GSH) aumentó significativamente en el grupo tratado con cromo, mientras que en las ratas que recibieron NAC+Cr no hubo cambios significativos; a su vez, la concentración de ATP también disminuyó de manera significativa en el grupo tratado con cromo, mientras que en las ratas tratadas con NAC+Cr el decremento no fue significativo (tabla 5). Además, luego del sacrificio de las ratas, se observaron alteraciones macroscópicas del hígado y los riñones (imagen 1).

GRUPO	GSH EN HIGADO (μ g/g tejido)	ATP EN HIGADO (μ mol/g tejido)
	8	8
Control Negativo (N=12)	3823 (±272)	2687 (±546.42)
Cromo (N=10)	2534*** (±131)	1281* (±56)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=10)	3289 M=9/10	1240 M=9/10

Tabla 5.- Efecto de la administración de la NAC (100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño hepático producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001).



Imagen 1.- Efecto de la administración de la NAC (100 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal y hepático producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se observó gran cantidad de exudado peritoneal viscoso de color blanquesino.

8.3 DAÑO RENAL (NAC 50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.).

8.3.1 Concentración de creatinina en sangre y flujo urinario.

Comparados con el valor medio del grupo control negativo, la concentración sérica de creatinina: 1) aumentó en el grupo tratado con Cr (control positivo) en los tres períodos estudiados, con diferencia significativas a los 2 y 5 días del tratamiento, 2) disminuyó de manera no significativa en las ratas que recibieron NAC, 3) aumentó en los animales tratados con NAC+Cr durante los tres períodos estudiados, con diferencias significativas a los 5 y 8 días de tratamiento y 4) aumentó en los animales tratados con Cr+ NAC durante los tres períodos estudiados, con diferencias significativas a los 5 días de tratamiento (tabla 6). Además, el flujo urinario no se modificó de manera significativa en los cinco grupos experimentales, durante los tres períodos estudiados (tabla 6).

GRUPO	Creatinina en sangre (mg/L)			Flujo urinario (μL/min)		
	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	3.9 (±0.4)	3.9 (±0.4)	3.9 (±0.4)	11.4 (±1.6)	11.4 (±1.6)	11.4 (±1.6)
Cromo (N=10)	19.7** (±2.9)	16.3** (±3.3)	7.5 (±2.0)	13.3 (±1.5)	13.2 (±1.5)	4.64 (±0.6)
NAC (N=5)	1.73 (±0.45)	1.73 (±0.45)	1.73 (±0.45)	10 (±30.2)	10 (±30.2)	10 (±30.2)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=7)	15.11 (±0.74)	20.5*** (±3.4)	21.2* (±11.7) M=1/7	10.4 (±1.26)	10.9 (±1.63)	12.3 (±2.5) M=1/7
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=9)	31.1 (±16.7)	15.6* (±2.86)	6.61 (±0.89)	3.09 (±0.99)	6.77 (±0.85)	6.78 (±0.85)

Tabla 6.- Efecto de la administración de la NAC (50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). M=mortalidad. Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$).

8.3.2 Masa excretada de Na^+ , proteínas, fosfatos y glucosa.

La tabla 7 muestra los valores del manejo renal de electrolitos, proteínas y glucosa. Con relación al valor medio del grupo control negativo, se encontró lo siguiente:

- 1) La masa excretada de sodio disminuyó significativamente en los grupos tratados con cromo, NAC+Cr y Cr+NAC, durante los tres períodos de muestreo. En el grupo tratado con NAC no se presentaron cambios significativos.
- 2) La masa excretada de fosfatos tuvo un comportamiento variable ya que en el grupo tratado con cromo aumentó a los 2 días y disminuyó significativamente a los 8 días. En el grupo tratado con NAC no se presentaron cambios significativos. En el grupo tratado con NAC+ Cr disminuyó a los 5 días y aumentó a los 8 días de manera significativa. A su vez, en el grupo tratado con Cr+NAC hubo una disminución significativa en los tres períodos estudiados.
- 3) La masa excretada de proteínas disminuyó de manera significativa en el grupo tratado con Cr a los 8 días de tratamiento. En el grupo tratado con NAC no se presentaron cambios significativos. Sin embargo, en el grupo tratado con NAC+Cr aumentó significativamente a los 2 días de tratamiento. A su vez, en el grupo tratado con Cr+NAC hubo una disminución significativa a los 2 y 5 días de tratamiento.
- 4) La masa excretada de glucosa no se modificó en los grupos tratados con cromo o NAC. Sin embargo, en los grupos tratados con NAC+Cr o Cr+NAC aumentó de manera significativa, en los tres periodos estudiados.

GRUPO	Na ⁺ Masa Excretada (μ Eq/min)			Proteínas Masa Excretada (μ g/min)			Fosfatos Masa Excretada (μ g/min)			Glucosa Masa Excretada (μ g/min)		
	2	5	8	2	5	8	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	700 (\pm 70.5)	700 (\pm 70.5)	700 (\pm 70.5)	52.7 (\pm 5.32)	52.7 (\pm 5.32)	52.7 (\pm 5.32)	23.72 (\pm 1.19)	23.72 (\pm 1.19)	23.72 (\pm 1.19)	0.17 (\pm 0.03)	0.17 (\pm 0.03)	0.17 (\pm 0.03)
Cromo (N=10)	300*** (\pm 46.2)	500* (\pm 28.3)	200*** (\pm 28.2)	65.55 (\pm 3.08)	70.42 (\pm 23.1)	29.19** (\pm 2.74)	31.29* (\pm 1.5)	24.02 (\pm 1.71)	14.53** (\pm 1.51)	0.07 (\pm 0.04)	0.19 (\pm 0.07)	0.13 (\pm 0.01)
NAC (N=5)	600 (\pm 50.2)	600 (\pm 50.2)	600 (\pm 50.2)	54.99 (\pm 10.7)	54.99 (\pm 10.7)	54.99 (\pm 10.7)	24.93 (\pm 4.04)	24.93 (\pm 4.04)	24.93 (\pm 4.04)	0.13 (\pm 0.03)	0.13 (\pm 0.03)	0.13 (\pm 0.03)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=7)	200*** (\pm 15.9)	500* (\pm 26.8)	400** (\pm 21.5) M=2/7	114.5*** (\pm 5.28)	39.31 (\pm 1.99)	41.7 (\pm 2.21) M=2/7	23.67 (\pm 0.44)	16.02* (\pm 0.81)	30.07*** (\pm 2.01) M=2/7	15.61*** (\pm 3.15)	6.51* (\pm 3.02)	11.62*** (\pm 4.57) M=2/7
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=9)	100*** (\pm 27.8)	200*** (\pm 16.3)	300*** (\pm 44.2)	33.57** (\pm 6.3)	19.61* (\pm 0.96)	44.55 (\pm 1.96)	10.42*** (\pm 2.05)	14.23** (\pm 1.58)	12.61*** (\pm 0.83)	0.77*** (\pm 0.42)	6.02* (\pm 1.3)	1.23*** (\pm 0.35)

Tabla 7.- Efecto de la administración de la NAC (50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). M=mortalidad. Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001).

8.3.3 Concentraciones de GSH y ATP en los riñones.

A los 8 días de tratamiento y comparados con el valor medio del grupo control negativo: 1) la concentración renal de glutatión reducido (GSH) disminuyó significativamente en los grupos tratados con cromo y NAC, mientras que en las ratas que recibieron NAC+Cr o Cr+NAC el decremento no fue significativo y 2) el ATP solamente disminuyó de manera significativa en el grupo tratado con cromo, mientras que en los otros grupos de experimentación el decremento no fue significativo (tabla 8).

GRUPO	GSH EN RIÑÓN ($\mu\text{g/g}$ tejido)	ATP EN RIÑÓN ($\mu\text{mol/g}$ tejido)
	8	8
Control Negativo (N=12)	1756 (± 164.03)	2503 (± 420)
Cromo (N=10)	1258* (± 57)	934*** (± 71)
NAC (N=5)	630*** (± 18)	2220 (± 158)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=6)	1701 (± 60)	1697 (± 143)
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=9)	1688 (± 161)	1905 (± 142)

Tabla 8.- Efecto de la administración de la NAC (50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

8.4 DAÑO HEPÁTICO (NAC 50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.).

8.4.1. Albúmina y actividades séricas de GOT y GPT.

Con relación al valor medio del grupo control negativo, las concentraciones séricas de albúmina no se modificaron de manera significativa en los diferentes grupos de experimentación, excepto en el grupo que recibió NAC+Cr (tratamiento preventivo) en el cual hubo un decremento significativo a los 8 días del tratamiento. Por otra parte, la actividad sérica de TGO no se modificó significativamente en los grupos tratados con cromo o NAC, en los tres períodos estudiados; sin embargo, en los animales tratados con NAC+Cr o Cr+NAC, la actividad de esta enzima aumentó de manera altamente significativa, en los tres períodos estudiados; un comportamiento semejante al de la TGO se presentó al determinar la actividad sérica de la TGP (tabla 9).

GRUPO	Albúmina en plasma (g/dL)			TGO en plasma (U/L)			TGP en plasma (U/L)		
	2	5	8	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	3.23 (±0.07)	3.23 (±0.07)	3.23 (±0.07)	18.94 (±6.06)	18.94 (±6.06)	18.94 (±6.06)	24.56 (±7.15)	24.56 (±7.15)	24.56 (±7.15)
Cromo (N=10)	3.245 (±0.09)	3.46 (±0.14)	3.11 (±0.14)	37.97 (±12.19)	56.95 (±13.28)	186 (±25.7)	38.76 (±5.95)	37.18 (±7.55)	197.61 (±17.76)
Control NAC (N=5)	3.42 (±0.12)	3.42 (±0.12)	3.42 (±0.12)	37.1 (±2.1)	37.1 (±2.1)	37.1 (±2.1)	77 (±20.4)	77 (±20.4)	77 (±20.4)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=7)	2.85 (±0.14)	1.92 (±0.08)	2.07*** (±0.21) M=1/7	110** (±14.1)	240*** (±25.8)	385*** (±64.5) M=1/7	260*** (±47.6)	340*** (±51.6)	616* (±156.9) M=1/7
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=9)	3.07 (±0.08)	1.31 (±1.17)	3.61 (±0.07)	178.9*** (±31.1)	218*** (±11.1)	506*** (±98.7)	186.7*** (±20.2)	267.2*** (±44.5)	1419.4*** (±217.2)

Tabla 9.- Efecto de la administración de la NAC (50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño hepático producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). M=mortalidad. Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$).

8.4.2 Concentraciones de GSH y ATP en el hígado.

A los 8 días de tratamiento y comparados con el valor medio del grupo control negativo, la concentración hepática de glutatión reducido (GSH) aumentó de manera significativa en el grupo tratado con cromo, NAC y NAC+Cr, mientras que en las ratas que recibieron Cr+NAC no hubo cambios significativos; por otra parte, la concentración de ATP también disminuyó de manera significativa en el grupo tratado con cromo, mientras que en los grupos de ratas que recibieron los otros tratamientos el decremento no fue significativo (tabla 10). Además, luego del sacrificio de las ratas, el análisis macroscópico evidenció lo siguiente: 1) los riñones aumentaron de tamaño y su color fue blanquecino y 2) el hígado presentó bordes no definidos y manchas blanquecinas (imagen 2).

GRUPO	GSH EN HIGADO ($\mu\text{g/g}$ tejido)	ATP EN HIGADO ($\mu\text{molas/g}$ tejido)
	8	8
Control Negativo (N=12)	3823 (± 272) M=1/12	2687 (± 546)
Cromo (N=10)	2534*** (± 131)	1281* (± 56)
NAC (N=5)	2075*** (± 91)	2026 (± 75)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=6)	2528** (± 320)	1601 (± 100)
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=9)	3080 (± 191)	1682 (± 161)

Tabla 10.- Efecto de la administración de la NAC (50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño hepático producido por el cromo ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).



Imagen 2.- Efecto de la administración de la NAC (50 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal y hepático producido por el cromo ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se observan riñones edematizados.

8.5 DAÑO RENAL (NAC 15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.)

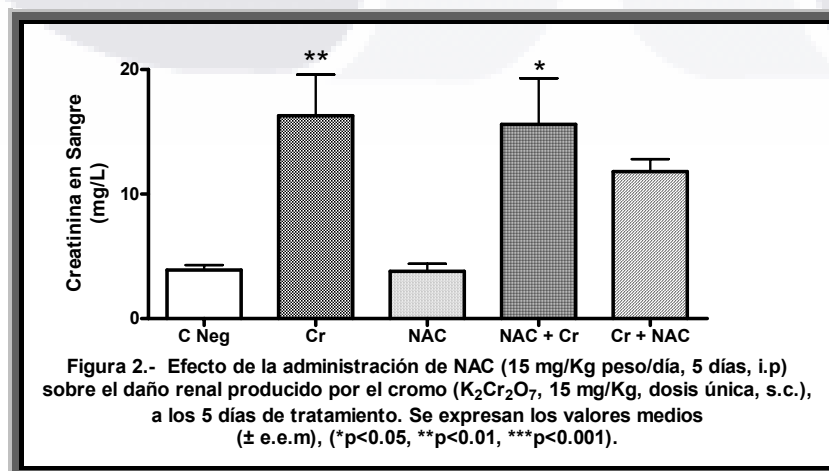
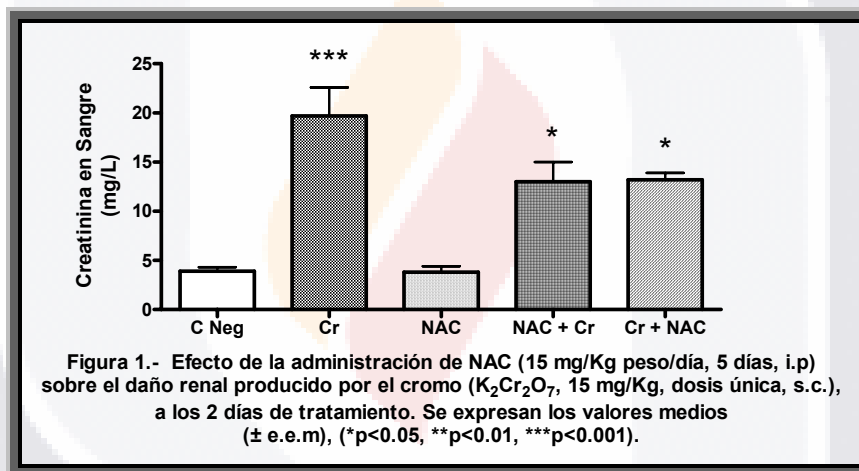
8.5.1 Concentración de creatinina en sangre y flujo urinario.

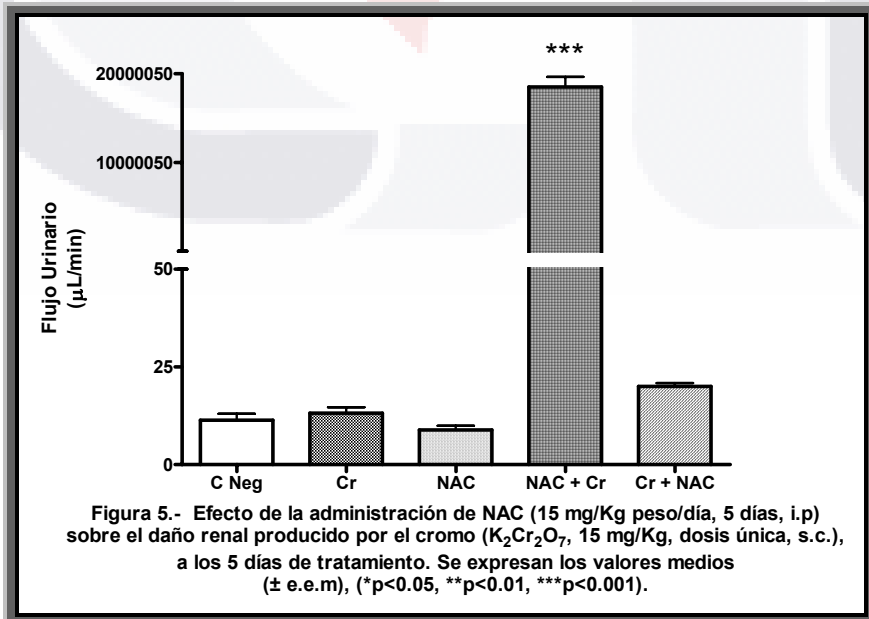
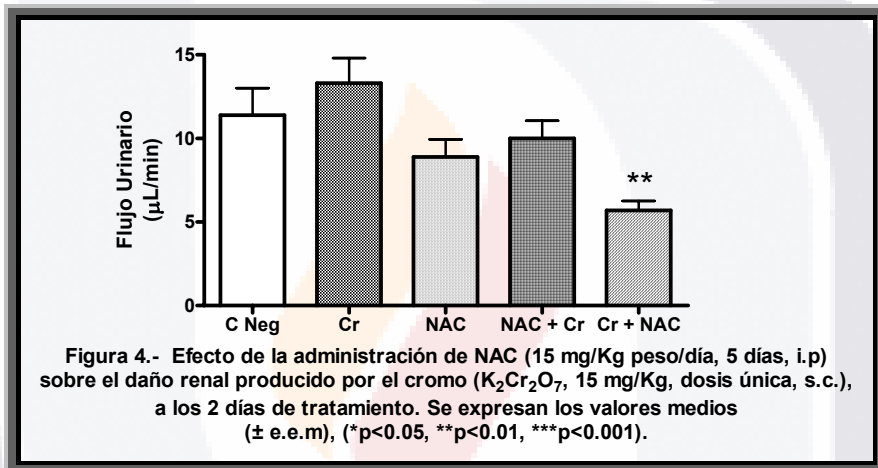
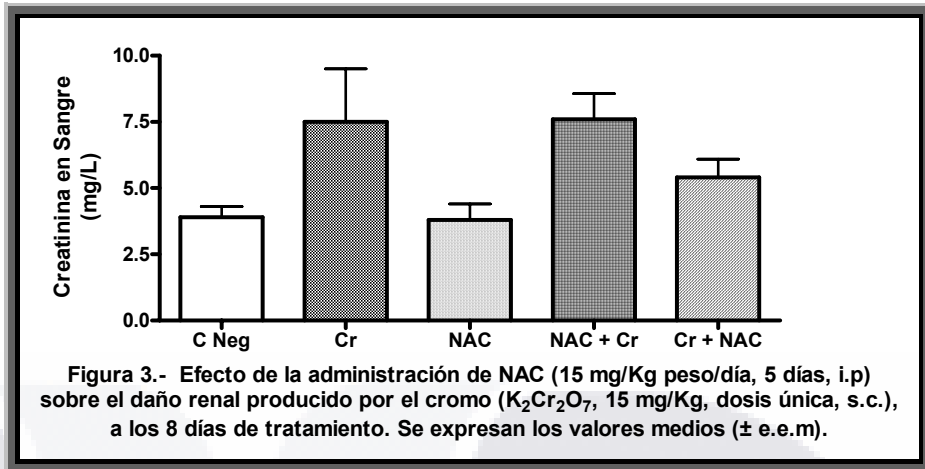
Comparados con el valor medio del grupo control negativo, la concentración sérica de creatinina: 1) aumentó en el grupo tratado con Cr (control positivo) en los tres períodos estudiados, con diferencia significativas a los 2 y 5 días del tratamiento, 2) no se modificó en las ratas que recibieron NAC, 3) aumentó en los animales tratados con NAC+Cr durante los tres períodos estudiados, con diferencias significativas a los 2 y 5 días de tratamiento y 4) aumentó en los animales tratados con Cr+ NAC durante los tres períodos estudiados, con diferencias significativas a los 2 días de tratamiento (tabla 11 y figuras 1-3); además, con relación al valor medio de los animales tratados con cromo, la concentración sérica de creatinina: 5) disminuyó de manera no significativa en los grupos tratados con NAC+Cr y Cr+NAC, a los 2 días de tratamiento (tabla 11).

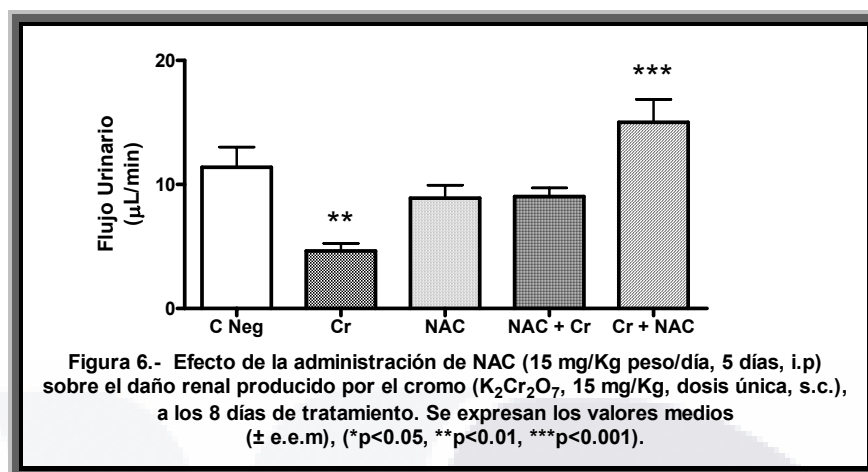
Por otra parte, comparados con el valor medio del grupo control negativo, el flujo urinario: 6) disminuyó significativamente en el grupo tratado con cromo (control positivo) a los 8 días de tratamiento, 7) disminuyó de manera no significativa en el grupo tratado con NAC y 8) aumentó significativamente en los grupos tratados NAC+Cr y Cr+NAC a los 5 días de tratamiento (tabla 11 y figuras 4-6). En este contexto, con relación al valor medio de los animales tratados con cromo: 9) el flujo urinario disminuyó significativamente en el grupo tratado con Cr+NAC a los 2 días de tratamiento, mientras que a los 5 y 8 días de tratamiento aumentó de manera significativa (tabla 11).

GRUPO	Creatinina en sangre (mg/L)			Flujo urinario (μL/min)		
	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	3.9 (±0.4)	3.9 (±0.4)	3.9 (±0.4)	11.4 (±1.6)	11.4 (±1.6)	11.4 (±1.60)
Cromo (N=10)	19.7*** (±2.9)	16.3** (±3.3)	7.5 (±2.0)	13.3 (±1.5)	13.2 (±1.5)	4.6** (±0.60)
NAC (N=6)	3.8 (±0.6)	3.8 (±0.6)	3.8 (±0.6)	8.9 (±1.0)	8.9 (±1.05)	8.9 (±1.05)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=6)	13.0* (±2.0)	15.6* (±3.7)	7.6 (±0.96)	10.0 (±1.05)	18.6*** (±1.15)	9.0 (±0.69)
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=6)	13.2* (±0.7)	11.8 (±1.0)	5.4 (±0.7)	5.7** (±0.57)	20.0** (±0.88)	15.0 (±1.9)

Tabla 11.- Efecto de la administración de la NAC (15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001).







8.5.2 Masa excretada de Na^+ , proteínas, fosfatos y glucosa.

La tabla 12 muestra los valores del manejo renal de electrolitos, proteínas y glucosa. Con relación al valor medio del grupo control negativo, se encontró lo siguiente:

1) La masa excretada de sodio disminuyó significativamente en el grupo tratado con cromo, durante los tres períodos de muestreo; en el grupo tratado con NAC no hubo cambios; aumentó significativamente en el grupo tratado con NAC+Cr a los 2 y 5 días; disminuyó de manera significativa en el grupo Cr+NAC a los 2 y 8 días de tratamiento. Además, con relación al grupo tratado con cromo: aumentó significativamente en el grupo NAC+Cr, durante los tres períodos de muestreo, así como en el grupo Cr+ NAC a los 8 días de tratamiento (tabla 12 y figuras 7-9).

2) La masa excretada de proteínas tuvo un comportamiento variable ya que en el grupo tratado con cromo disminuyó significativamente a los 8 días de tratamiento; en el grupo tratado con NAC no se presentaron cambios significativos; sin embargo, en los grupos tratados con NAC+Cr y Cr+NAC aumentó significativamente a los 2 días de tratamiento (tabla 12 y figuras 10-12); además, con relación al valor medio de los animales tratados con cromo, la masa excretada

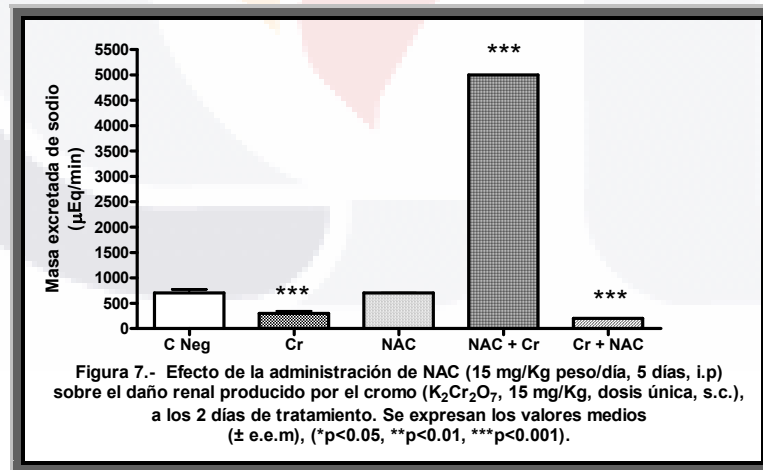
de proteínas aumentó de manera significativa en el grupo tratado con NAC+Cr a los 2 y 8 días de tratamiento, (tabla 12 y figuras 10-12).

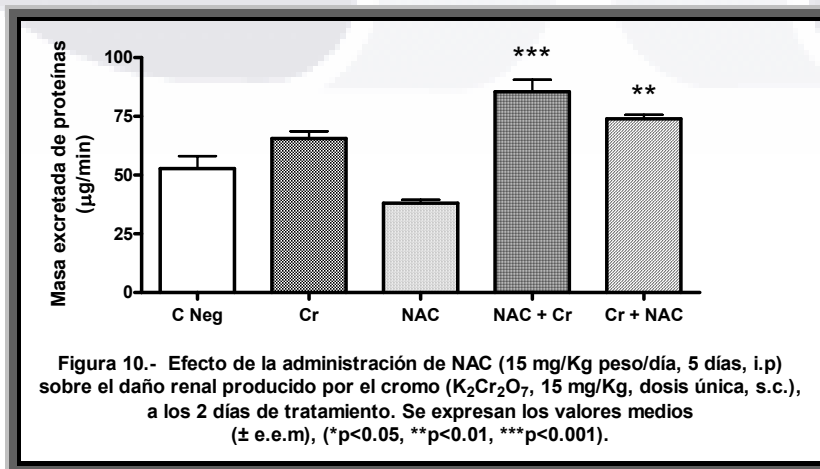
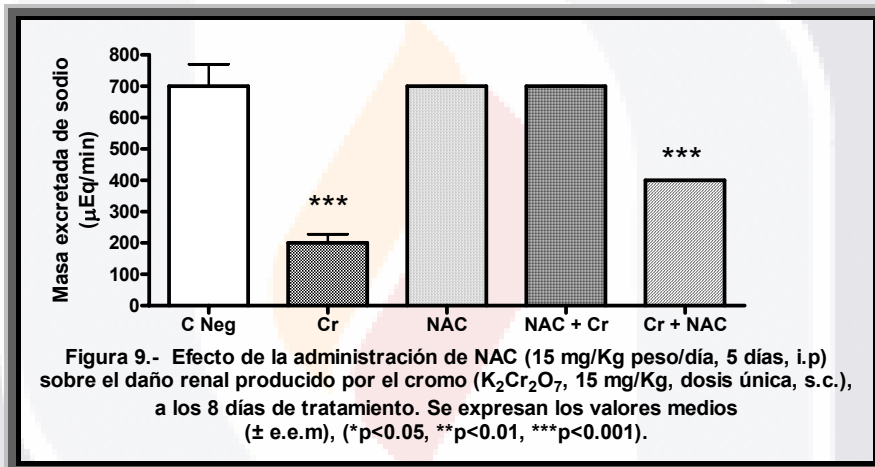
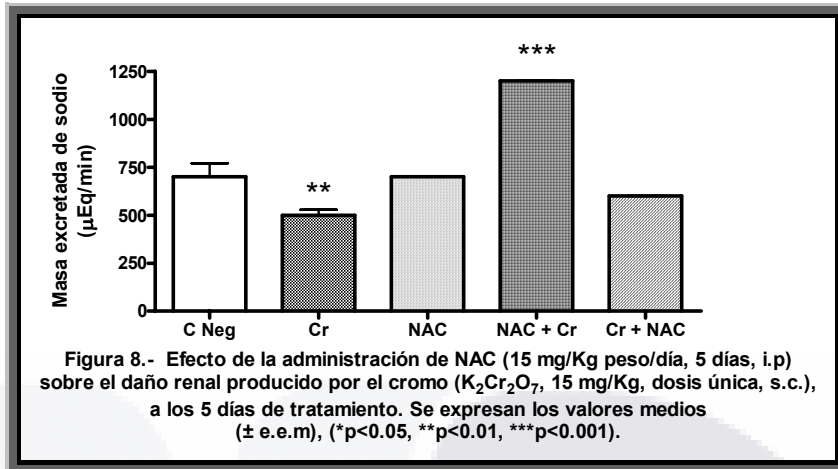
3) La masa excretada de fosfatos aumentó en el grupo tratado con cromo a los 2 días y disminuyó de manera significativa a los 8 días de tratamiento; en el grupo tratado con NAC no se presentaron cambios significativos; sin embargo, en el grupo tratado con NAC+Cr aumentó a los 2 y disminuyó significativamente a los 5 días de tratamiento; a su vez, en el grupo tratado con Cr+NAC hubo una disminución significativa a los 2 días de tratamiento (tabla 12 y figuras 13-15); además, con relación al valor medio de los animales tratados con cromo, la masa excretada de fosfatos disminuyó de manera significativa en el grupo tratado con NAC+Cr a los 5 días de tratamiento, mientras que en el grupo tratado con Cr + NAC disminuyó significativamente a los 2 días de tratamiento (tabla 12 y figuras 13-15).

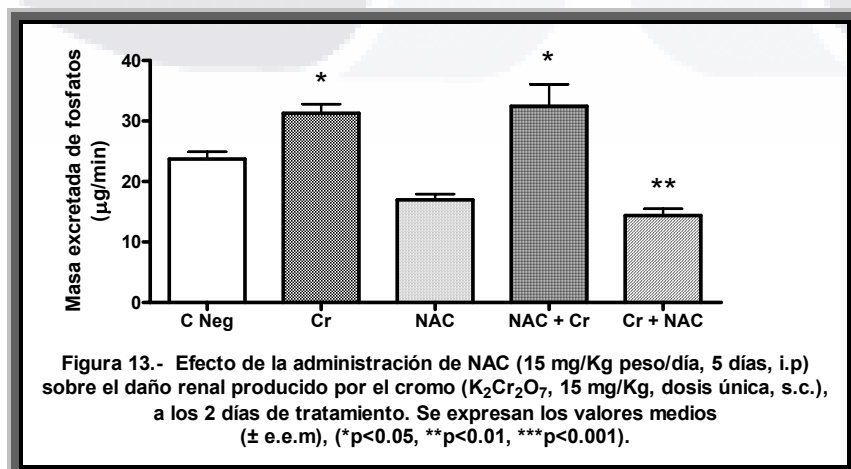
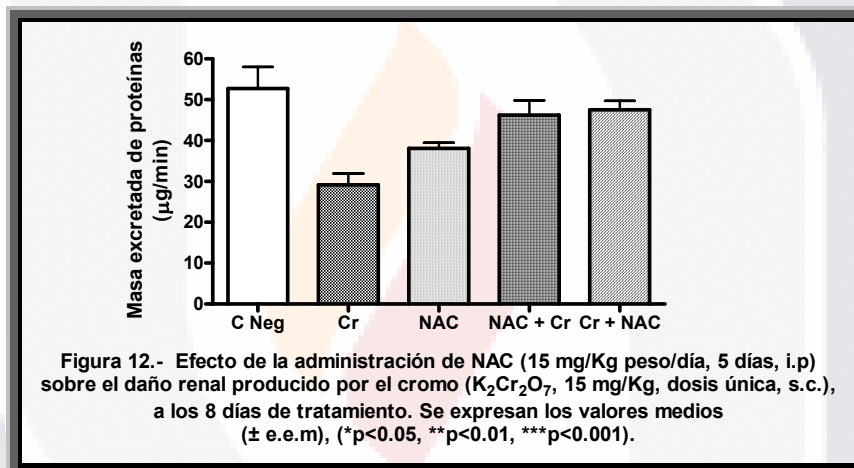
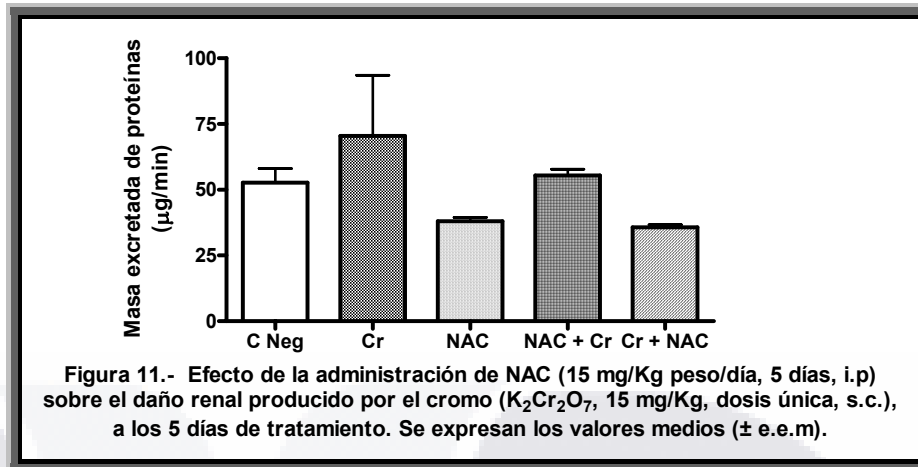
4) La masa excretada de glucosa no se modificó en los grupos tratados con cromo o NAC, sin embargo, en el grupo tratado con NAC+Cr aumentó significativamente a los 2 días y disminuyó a los 8 días de tratamiento; a su vez, en los animales tratados con Cr+NAC aumentó de manera significativa a los 2 y 5 días de tratamiento (tabla 12 y figuras 16-18); además, con relación al valor medio de los animales tratados con cromo, la masa excretada de glucosa aumentó de manera significativa en el grupo tratado con NAC+Cr a los 2 y 8 días de tratamiento, asimismo, en el grupo tratado con Cr + NAC aumentó significativamente a los 5 días de tratamiento (tabla 12 y figuras 16-18).

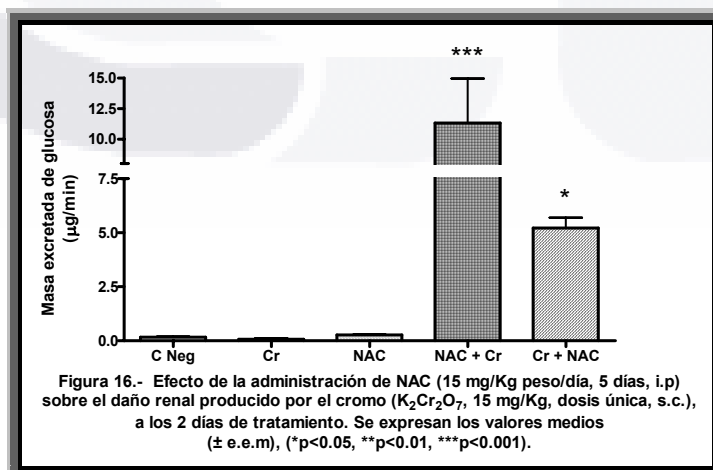
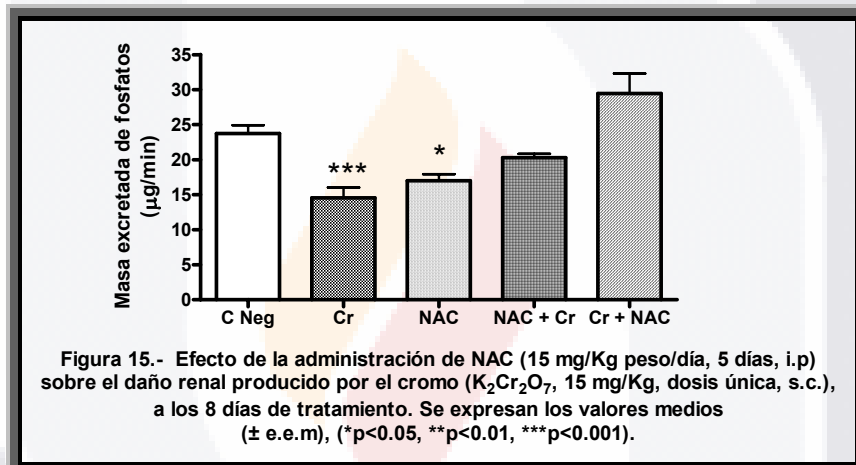
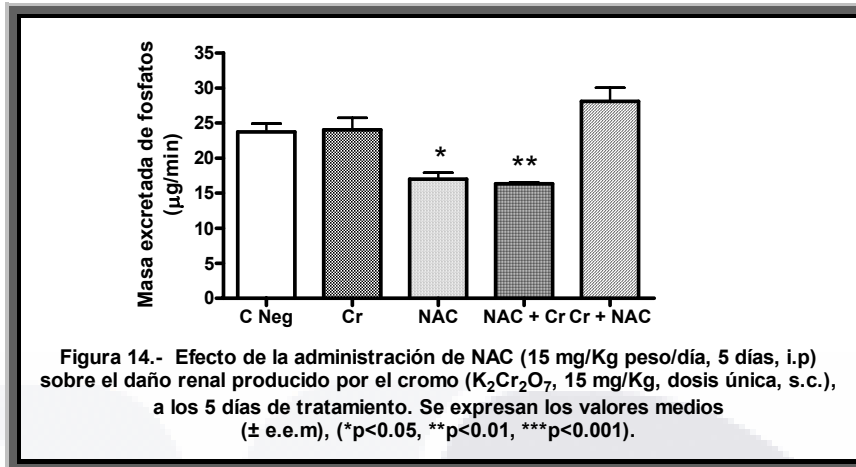
GRUPO	Na ⁺ Masa Excretada (μEq/min)			Proteínas Masa Excretada (μg/min)			Fosfatos Masa Excretada (μg/min)			Glucosa Masa Excretada (μg/min)		
	2	5	8	2	5	8	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	700 (±70.5)	700 (±70.5)	700 (±70.5)	52.7 (±5.3)	52.7 (±5.3)	52.7 (±5.3)	23.72 (±1.19)	23.72 (±1.19)	23.72 (±1.19)	0.17 (±0.03)	0.17 (±0.03)	0.17 (±0.03)
Cromo (N=10)	300*** (±46)	500** (±28)	200*** (±28)	65.5 (±3.1)	70.4 (±23.1)	29.2*** (±2.7)	31.29* (±1.5)	24.02 (±1.71)	14.53*** (±1.51)	0.07 (±0.04)	0.19 (±0.07)	0.13 (±0.01)
NAC (N=6)	700 (±0.33)	700 (±0.33)	700 (±0.33)	38.07 (±1.4)	38.07 (±1.4)	38.07 (±1.4)	17.00 (±0.93)	17.00 (±0.93)	17.00 (±0.93)	0.27 (±0.02)	0.27 (±0.02)	0.27 (±0.02)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=6)	5000*** (±0.20)	1200*** (±0.73)	700 (±0.41)	85.5*** (±5.0)	55.5 (±2.3)	46.2 (±3.6)	32.44* (±3.66)	16.35** (±0.2)	20.30 (±0.54)	11.31*** (±3.66)	1.44 (±0.72)	1.32** (±0.67)
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=6)	200*** (±0.37)	600 (±0.37)	400*** (±0.12)	73.9** (±1.7)	35.7 (±1.0)	47.5 (±2.2)	14.39** (±1.08)	28.11 (±1.92)	29.44 (±2.85)	5.22* (±0.48)	21.21*** (±1.86)	0.42 (±0.09)

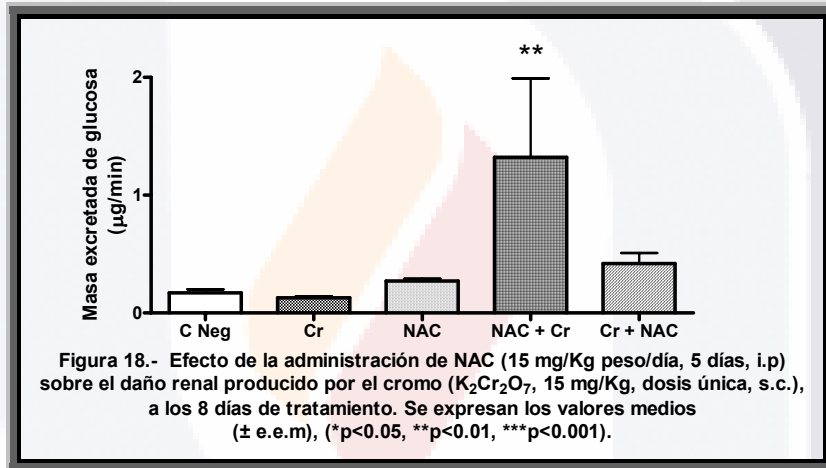
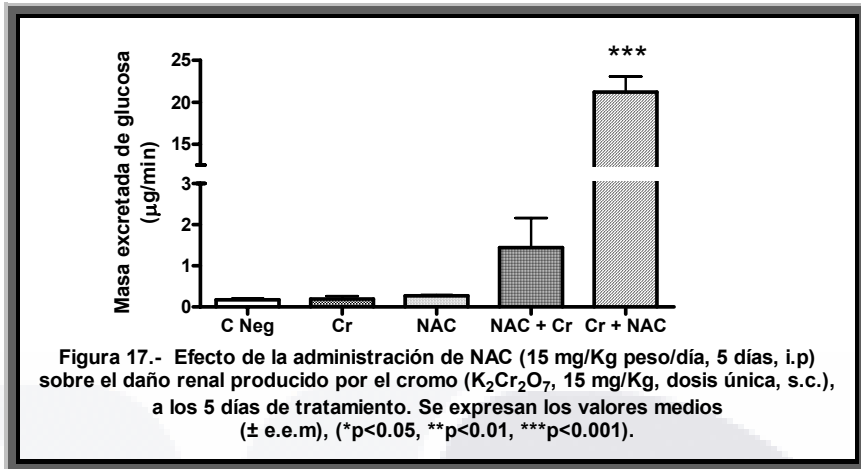
Tabla 12.- Efecto de la administración de la NAC (15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo (K₂Cr₂O₇, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (± e.e.m), (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).











8.5.3 Concentraciones de GSH y ATP en los riñones.

A los 8 días de tratamiento y comparados con el valor medio del grupo control negativo: 1) la concentración renal de glutatión reducido (GSH) disminuyó en todos los grupos experimentales, con diferencias significativas en los grupos tratados con NAC y Cr+NAC, 2) el ATP disminuyó de manera significativa solamente en el grupo tratado con cromo, mientras que en los otros grupos de experimentación el decremento no fue significativo (tabla 13, figuras 19 y20).

GRUPO	GSH EN RIÑÓN (µg/g tejido)	ATP EN RIÑÓN (µmolas/g tejido)
	8	8
Control Negativo (N=12)	1755 (±164)	2503 (±420)
Cromo (N=10)	1258 (±57)	934*** (±71)
NAC (N=6)	463*** (±12)	1963 (±63)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=6)	1181 (±83)	2034 (±60)
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=6)	438*** (±10)	1419 (±69)

Tabla 13.- Efecto de la administración de la NAC (15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

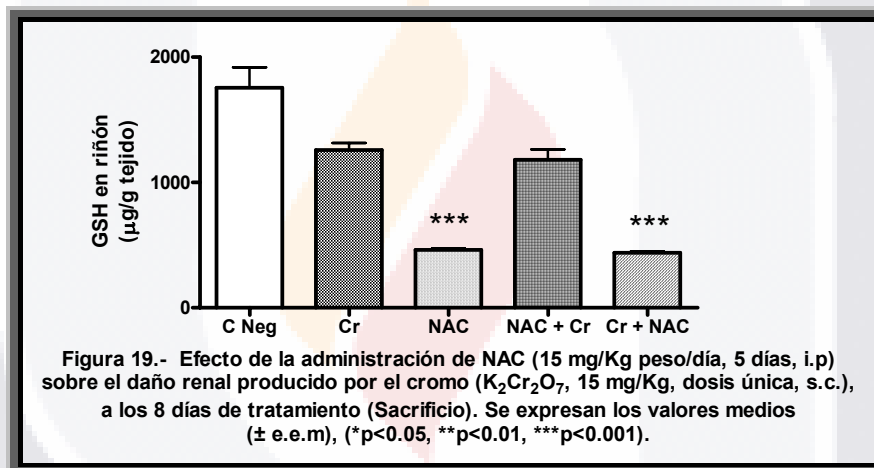


Figura 19.- Efecto de la administración de NAC (15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.), a los 8 días de tratamiento (Sacrificio). Se expresan los valores medios (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

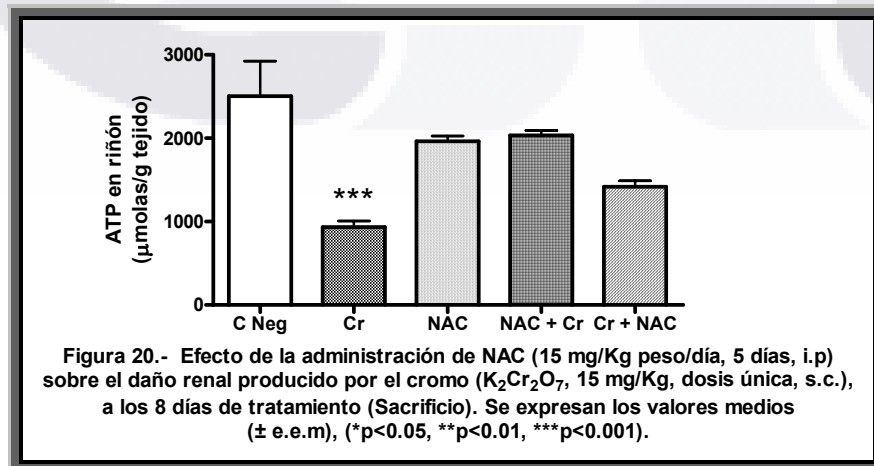


Figura 20.- Efecto de la administración de NAC (15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño renal producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.), a los 8 días de tratamiento (Sacrificio). Se expresan los valores medios (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Además, luego del sacrificio de las ratas, el análisis macroscópico evidenció que los riñones edematizados (imagen 3).



Imagen 3.- Aspecto macroscópico de riñones de ratas tratadas con NAC+Cr, Cr+NAC y NAC. Se obtuvieron riñones edematizados.

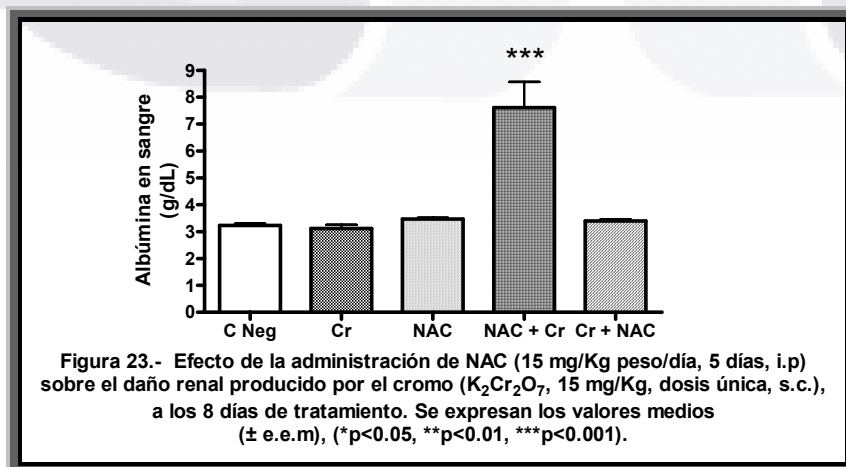
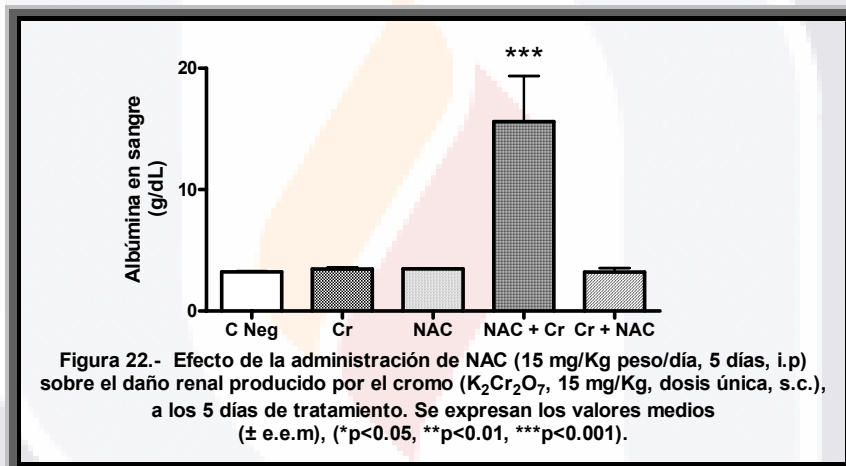
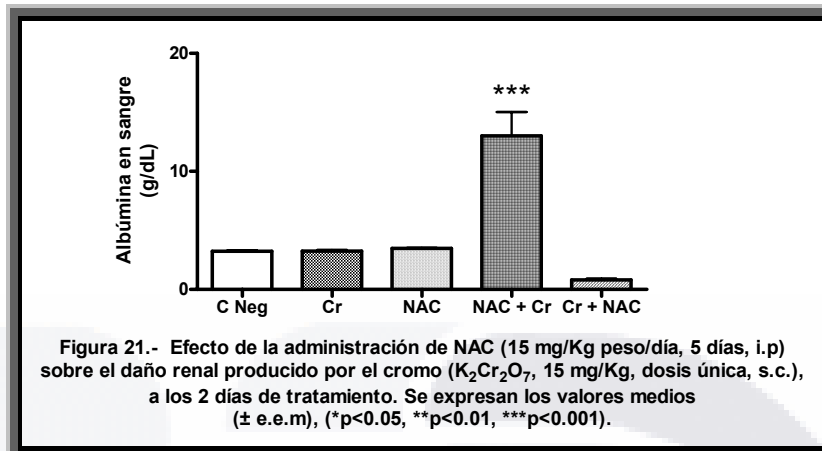
8.6 DAÑO HEPÁTICO (NAC 15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p.).

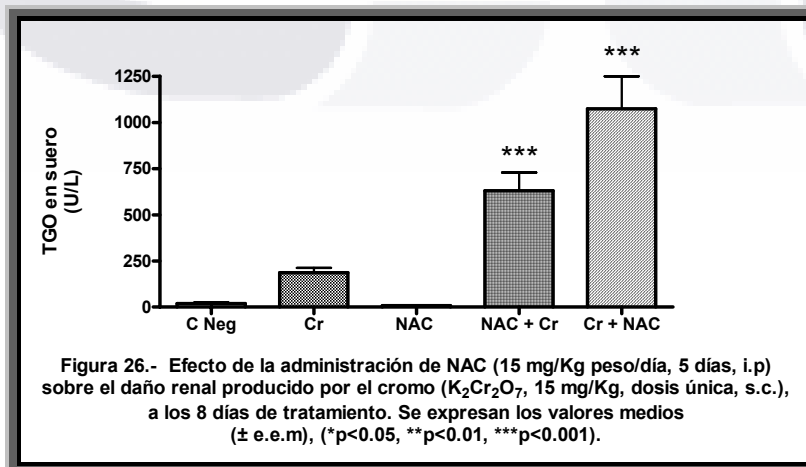
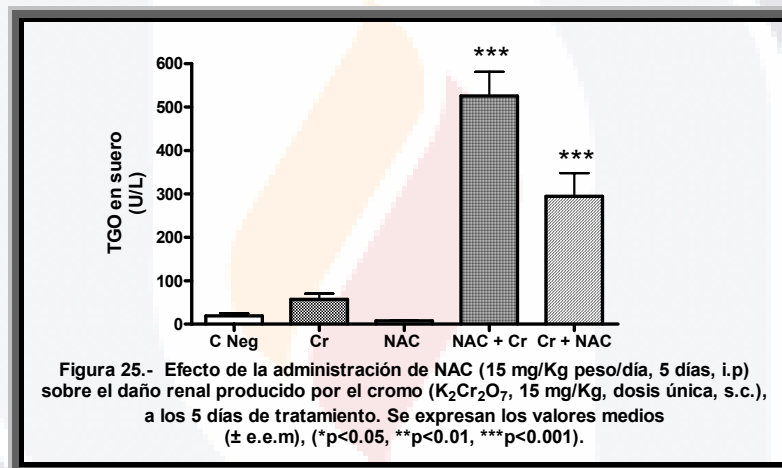
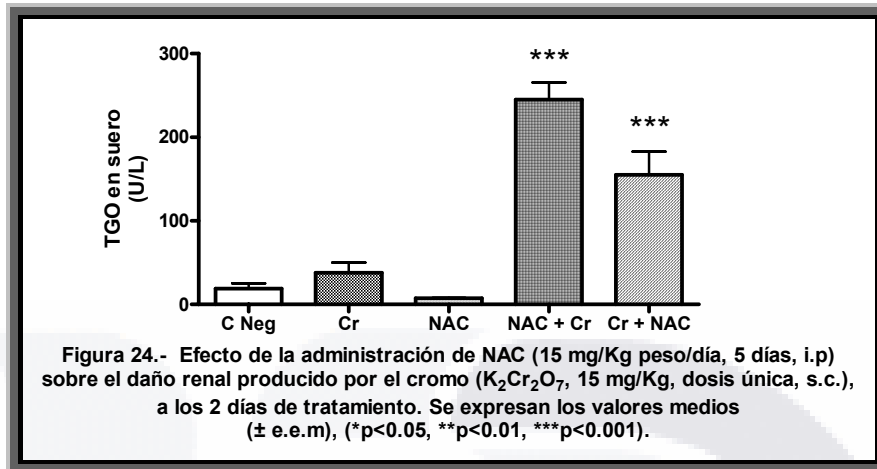
8.6.1 Albúmina y actividades séricas de GOT y GPT.

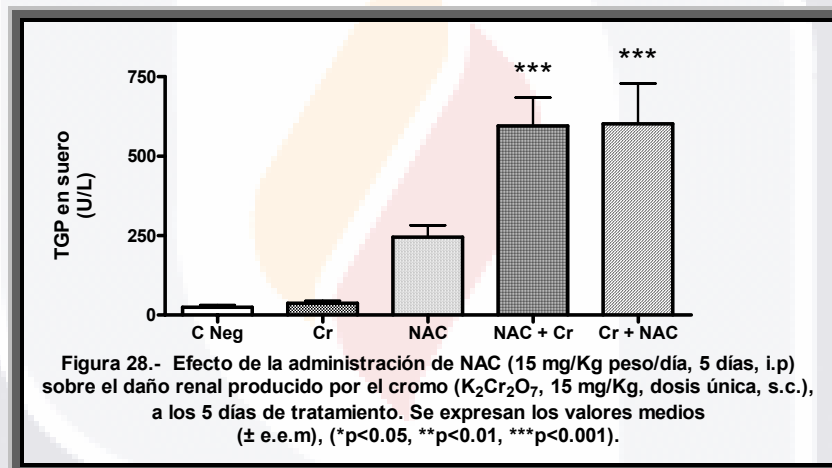
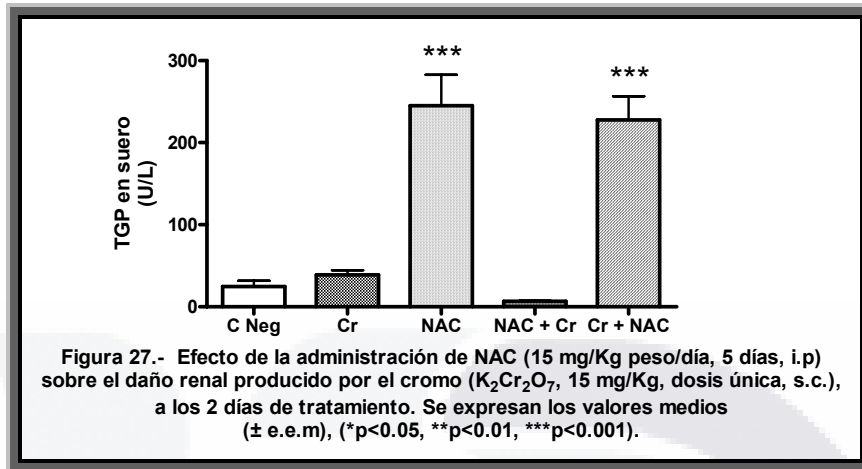
Con relación al valor medio del grupo control negativo, las concentraciones séricas de albúmina no se modificaron de manera significativa en los grupos tratados con cromo, NAC o Cr+NAC; sin embargo, en el grupo que recibió NAC+Cr (tratamiento preventivo) hubo un aumento significativo en los tres períodos estudiados (tabla 14, figuras 21-23). Por otra parte, la actividad sérica de TGO aumentó significativamente en el grupo tratado con cromo (a los 8 días); no hubo cambios en el grupo tratado con NAC; aumentó significativamente en los grupos NAC+Cr y Cr+NAC, durante los tres períodos estudiados; además, la actividad sérica de TGP no se modificó significativamente en el grupo tratado con cromo, aumentó de manera significativa en el grupo NAC (durante los tres periodos estudiados), en el grupo NAC+Cr (5 días) y en el grupo Cr+NAC, durante los tres periodos estudiados (tabla 14, figuras 24-29).

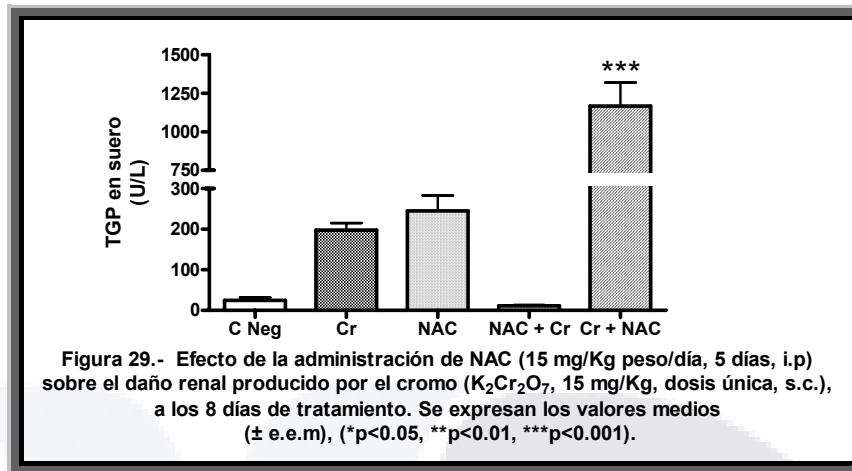
GRUPO	Albúmina en plasma (g/dL)			TGO en plasma (U/L)			TGP en plasma (U/L)		
	2	5	8	2	5	8	2	5	8
Control Negativo (N=10)	3.23 (±0.07)	3.23 (±0.07)	3.23 (±0.07)	18.94 (±6.06)	18.94 (±6.06)	18.94 (±6.06)	24.56 (±7.15)	24.56 (±7.15)	24.56 (±7.15)
Cromo (N=10)	3.24 (±0.09)	3.46 (±0.14)	3.11 (±0.14)	38 (±12.2)	57 (±13.3)	186*** (±25.7)	38.76 (±5.95)	37.18 (±7.55)	197.61 (±17.76)
NAC (N=6)	3.47 (±0.04)	3.47 (±0.04)	3.47 (±0.04)	7.30 (±0.47)	7.30 (±0.47)	7.30 (±0.47)	245*** (±37)	245*** (±37)	245 (±37)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=6)	13.0*** (±2.03)	15.6*** (±3.75)	7.61*** (±0.96)	245*** (±21)	525*** (±56)	630*** (±99)	6.71 (±0.72)	595*** (±90)	11.2 (±2.0)
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=6)	0.81 (±0.09)	3.21 (±0.33)	3.39 (±0.06)	155*** (±28)	294*** (±54)	1073*** (±176)	227*** (±29)	602*** (±127)	1166*** (±152)

Tabla 14.- Efecto de la administración de la NAC (15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño hepático producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).







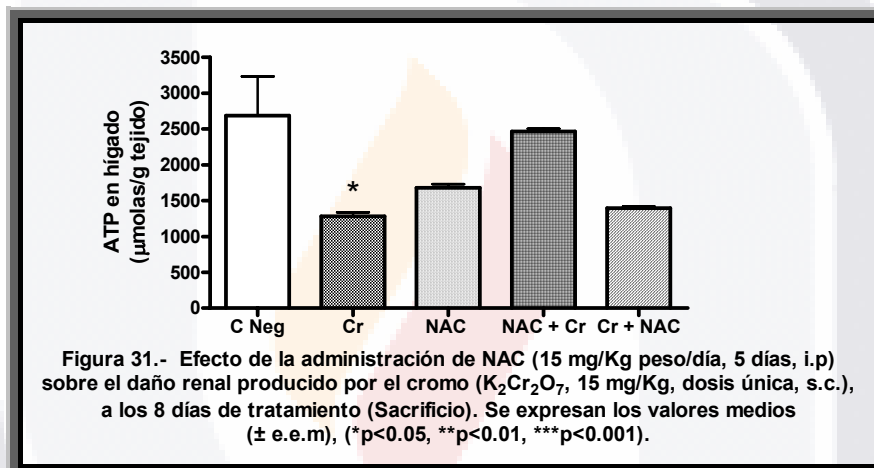
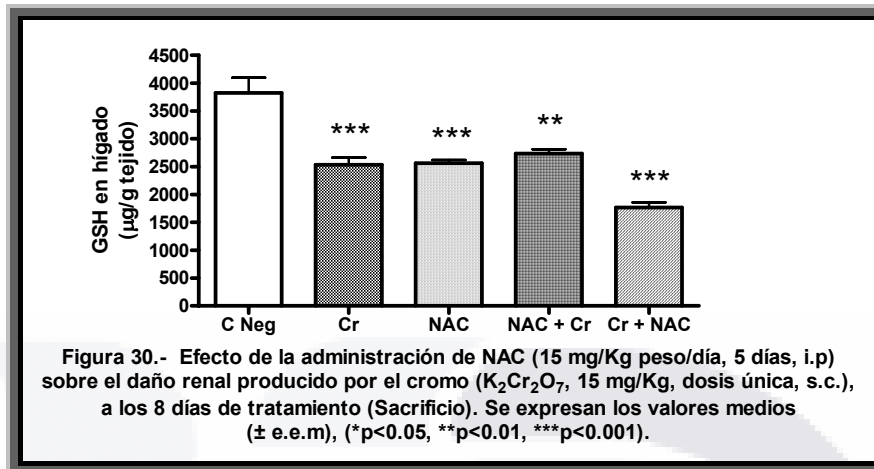


8.6.2 Concentraciones de GSH y ATP en el hígado.

A los 8 días de tratamiento y comparados con el valor medio del grupo control negativo, la concentración hepática de glutatión reducido (GSH) disminuyó de manera significativa en los grupos tratados con cromo, NAC, NAC+Cr y Cr+NAC (tabla 15). Por otra parte, la concentración de ATP disminuyó de manera significativa en el grupo tratado con cromo, mientras que en los grupos de ratas que recibieron los otros tratamientos el decremento no fue significativo (tabla 15, figura 31).

GRUPO	GSH EN HIGADO (μ g/g tejido)	ATP EN HIGADO (μ mol/g tejido)
	8	8
Control Negativo (N=12)	3823 (\pm 272) M=1/12	2687 (\pm 546)
Cromo (N=10)	2534*** (\pm 131)	1281* (\pm 56)
NAC (N=6)	2562*** (\pm 57)	1678 (\pm 54)
Tratamiento Preventivo (NAC + Cr) (N=6)	2736** (\pm 79)	2465 (\pm 39)
Tratamiento Terapéutico (Cr + NAC) (N=6)	1766*** (\pm 90)	1397 (\pm 22)

Tabla 15.- Efecto de la administración de la NAC (15 mg/Kg peso/día, 5 días, i.p) sobre el daño hepático producido por el cromo ($K_2Cr_2O_7$, 15 mg/Kg, dosis única, s.c.). Se presentan los valores de la media (\pm e.e.m), (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).



8.7 DAÑO ESTRUCTURAL DE LOS TEJIDOS.

A continuación se muestran las imágenes de los cortes histológicos de riñones e hígado de las ratas que recibieron los diferentes tratamientos, describiéndose las características más sobresalientes a nivel microscópico.

8.7.1 Estudio Estructural del riñón.

En el estudio histológico de los riñones de los grupos de ratas tratadas con NAC a una dosis de 15 mg/Kg/día, mostraron en el grupo control Positivo, al 8° día de tratamiento necrosis tubular, intensa vacuolización celular y zonas con túbulos

proximales en proceso de regeneración (imagen 5). Los riñones de las ratas del grupo NAC presentaron vacuolización fina del epitelio tubular proximal (imagen 6) a diferencia de los riñones de las ratas Control, que presentaron la estructura normal del epitelio (imagen 4). En los riñones de las ratas del grupo Preventivo, se observó necrosis tubular intensa con infiltrado inflamatorio en el estroma (imagen 7). El grupo Terapéutico presentó túbulos con vacuolización citoplásmica, incremento de acidofilia y pérdida de células epiteliales (imagen 8).

El estudio estructural de los riñones de ratas del grupo preventivo tratadas con dosis de 100 mg/Kg/día y 50 mg/Kg/día de NAC i.p. durante 5 días, presentaron áreas con túbulos necróticos, epitelio con células con edema celular y pérdida del borde en cepillo, y algunas de ellas con incremento de acidofilia (imágenes 9 y 10).

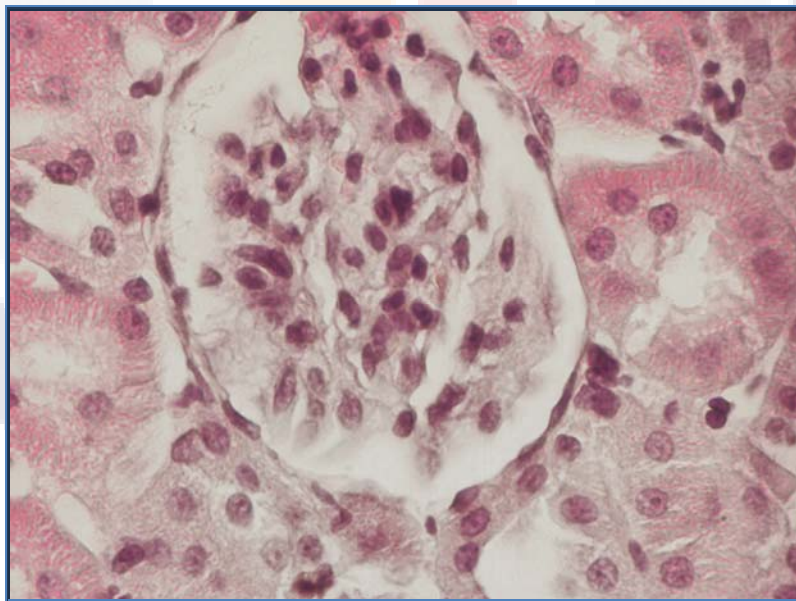


Imagen 4.- Riñón Control Negativo. H/E, 400X.

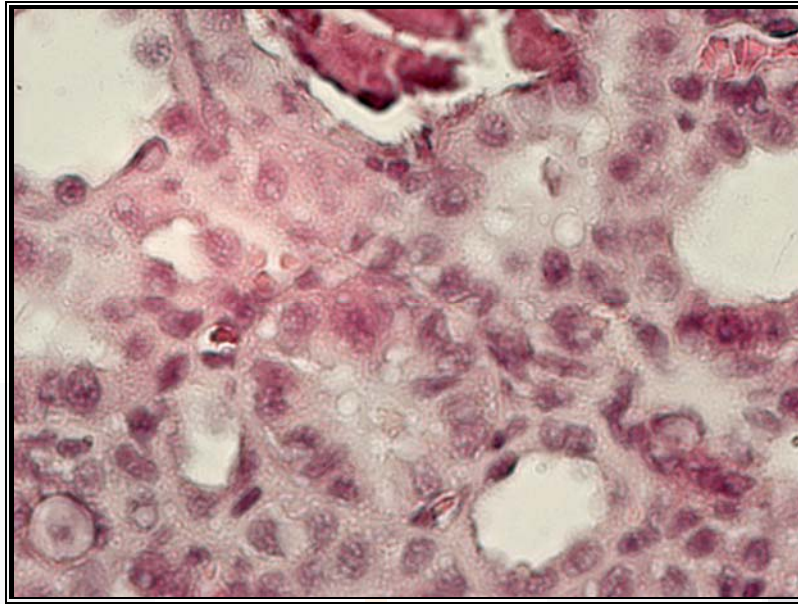


Imagen 5.- Riñón Control Positivo (Cr). H/E, 400X.

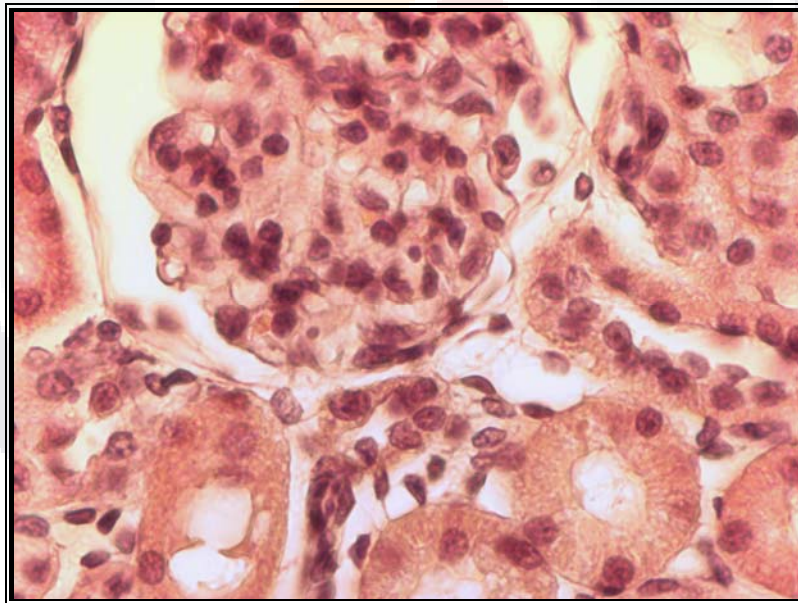


Imagen 6.- Riñón Control (15mg/kg/día NAC). H/E, 400X.

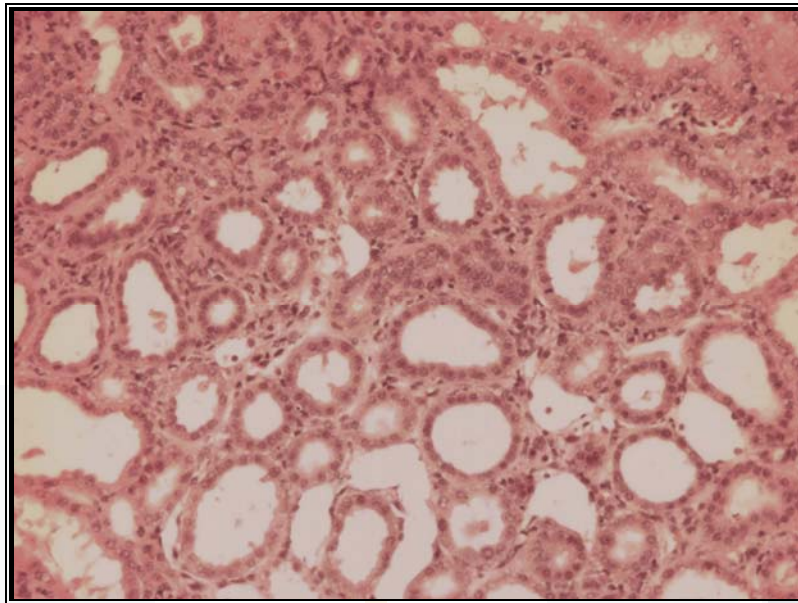


Imagen 7.- Riñón Tratamiento Preventivo (15 mg/Kg/día NAC) H/E, 400X.

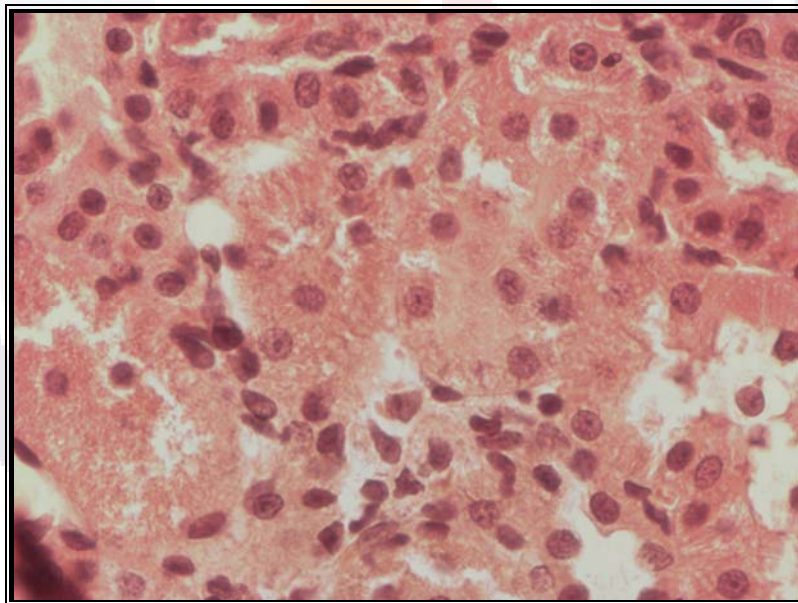


Imagen 8.- Riñón Tratamiento Terapéutico (15mg/kg/día NAC) H/E, 400X.

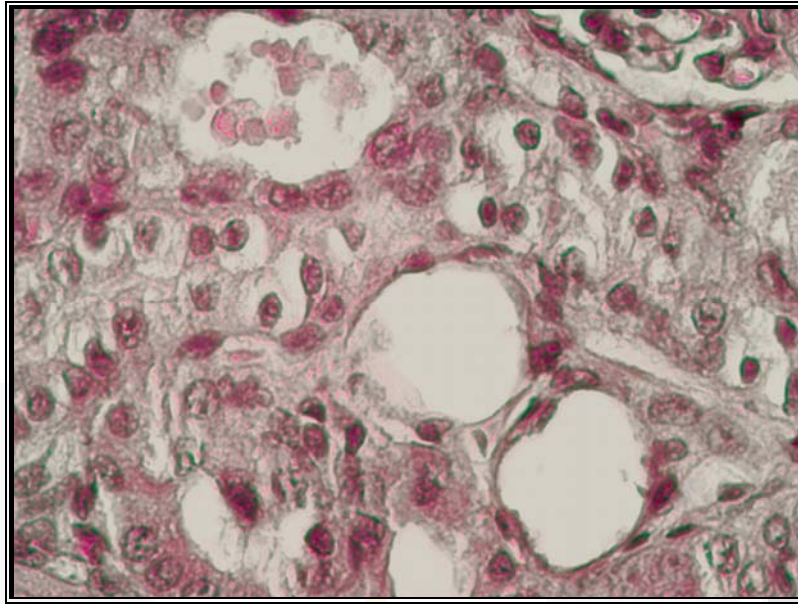


Imagen 9.- Riñón Tratamiento Preventivo (100 mg/Kg/día NAC) H/E, 400X.

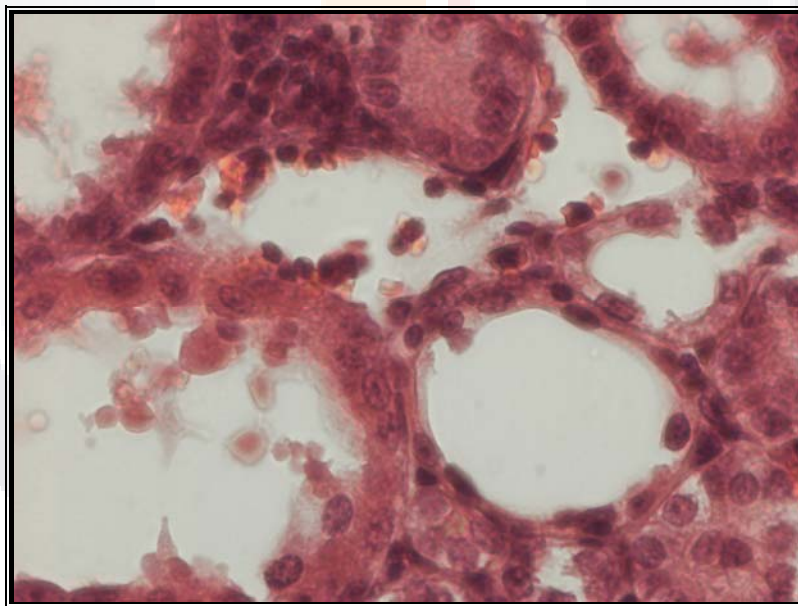


Imagen 10.- Riñón Tratamiento Preventivo (50 mg/Kg/día, NAC.) H/E, 400X.

Debe subrayarse que, conforme se redujo la dosis de NAC, el daño histológico renal disminuyó. Sin embargo, cuando se sacrificaron los animales en todos los grupos tratados con NAC (a cualquier dosis) se observó un aspecto edematizado de los riñones

8.7.2 Estudio Estructural del hígado.

En el estudio histológico de los hígados del grupo control Negativo se observó la estructura de los hepatocitos y la citoarquitectura normal (imagen 11). El control Positivo mostró algunos hepatocitos con intensa vacuolización citoplásmica, otros con incremento de acidofilia e infiltrado celular (imagen 12), mientras que los hígados del grupo control NAC solo presentaron hepatocitos con incremento de acidofilia (imagen 13).

Los hígados de los grupos Preventivo y Terapéutico presentaron hepatocitos con incremento de acidofilia y picnosis (imagenes 14 y 15).

Los hígados de las ratas del grupo Preventivo (100 mg/Kg/día, NAC) presentaron hepatocitos con intensa vacuolización como se muestra en la imagen 16, además de zonas con hepatocitos necróticos, mientras que los hígados de las ratas del grupo Preventivo (50 mg/Kg/día, NAC) presentaron menor vacuolización y hepatocitos necróticos (imagen 17).

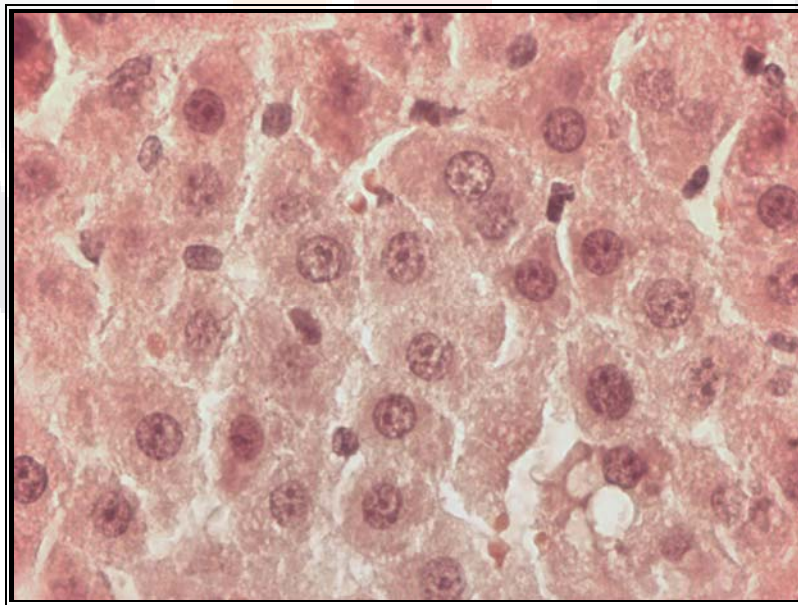


Imagen 11.- Hígado Control Negativo. H/E, 400X

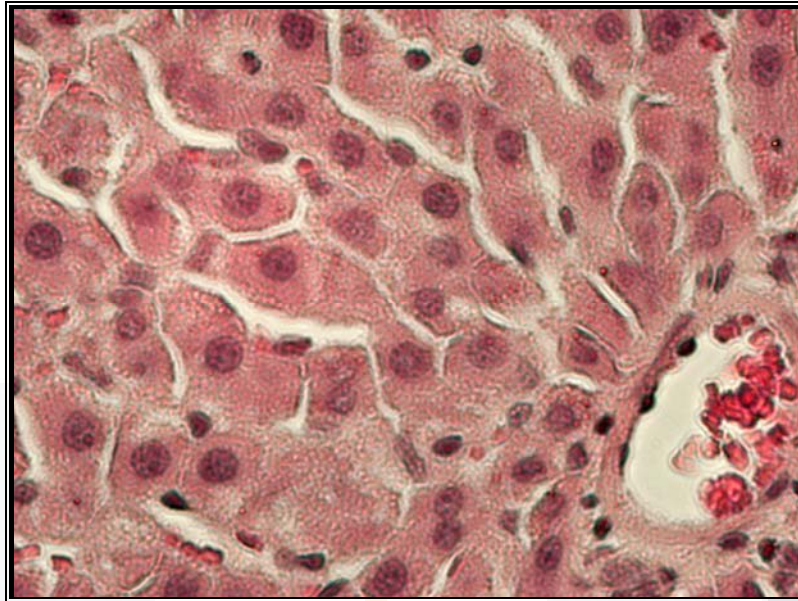


Imagen 12.- Hígado Control Positivo (Cr). H/E, 400X.

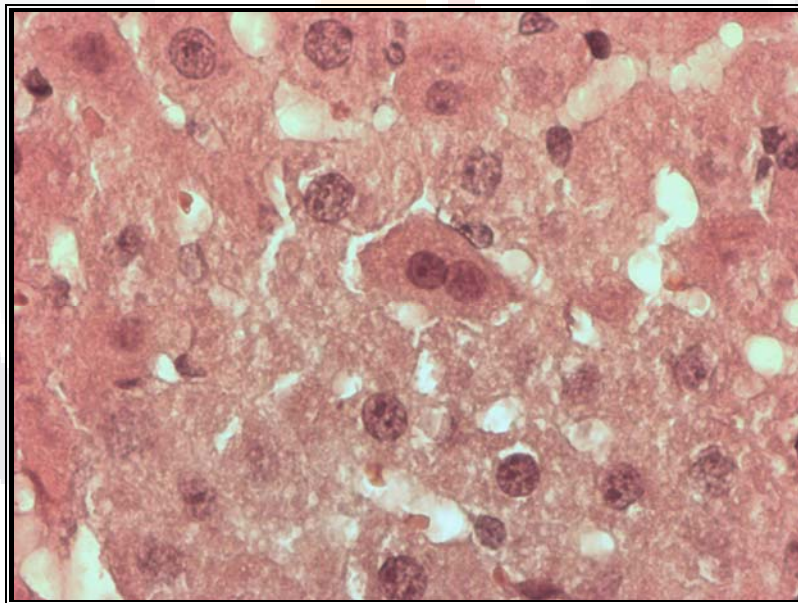


Imagen 13.- Hígado Control (15 mg/Kg/día, NAC). H/E, 400X

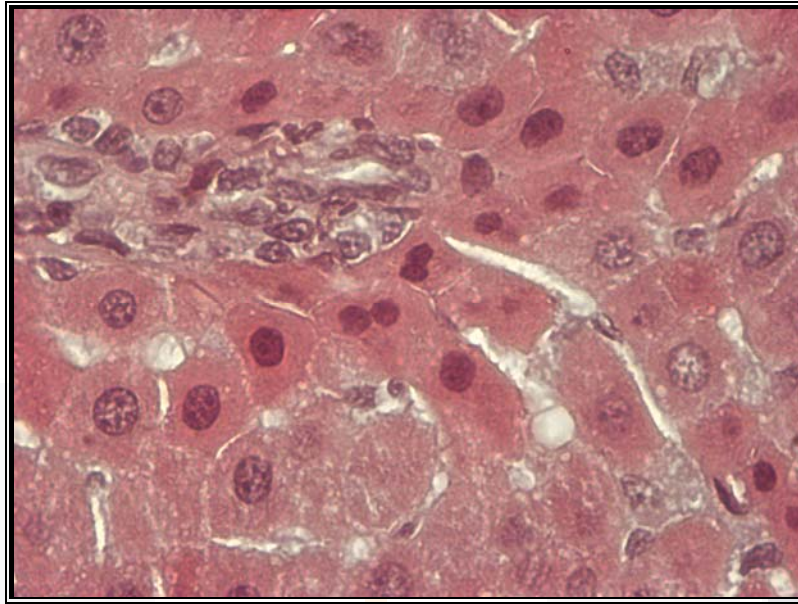


Imagen 14.- Hígado Tratamiento Preventivo (15 mg/Kg/día,NAC) H/E, 400X.

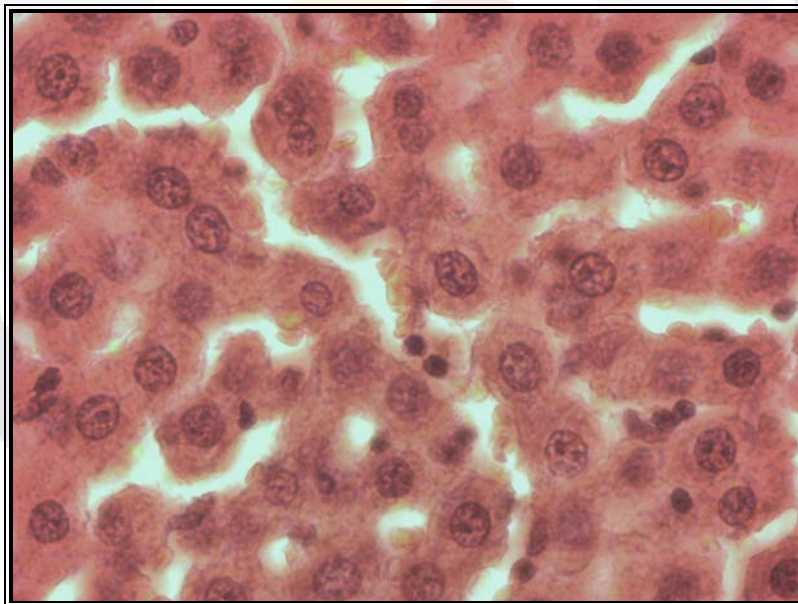


Imagen 15.- Hígado Tratamiento Terapéutico (15 mg/Kg/día,NAC) H/E, 400X.

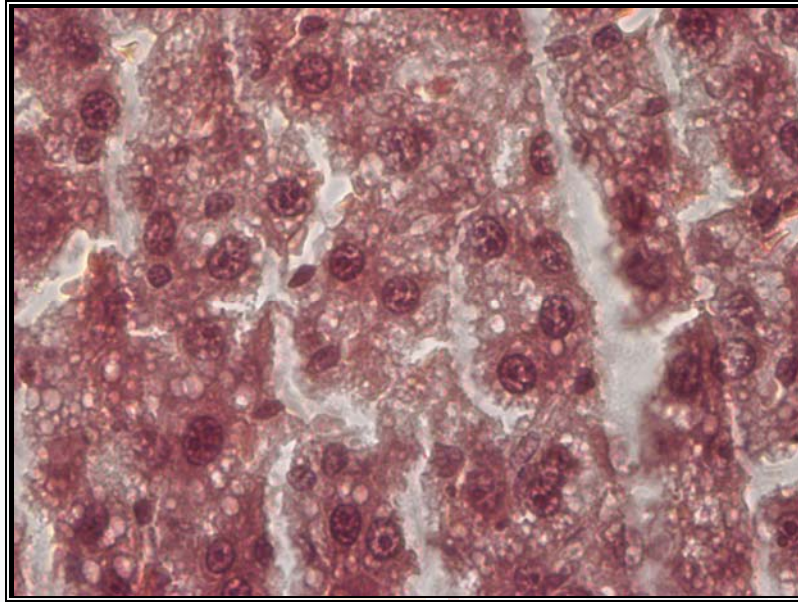


Imagen 16.- Hígado Tratamiento Preventivo (100 mg/Kg/día, NAC) H/E, 400X.

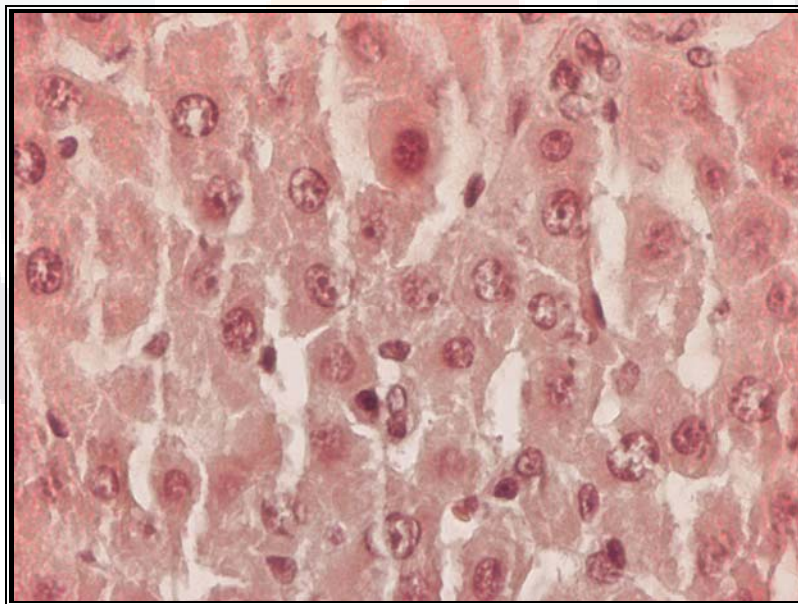


Imagen 17.- Hígado Tratamiento Preventivo (50 mg/Kg/día, NAC) H/E, 400X.

El análisis histológico mostró que, en las ratas tratadas con cromo, a medida que se reduce la dosis de NAC disminuye el daño renal y hepático, de manera semejante a lo encontrado con los resultados de los estudios bioquímicos y funcionales. Sin embargo, aún con la dosis más baja de la NAC se presentaron algunas alteraciones tisulares.



9. DISCUSIÓN.

El hígado y los riñones participan de manera importante en el mantenimiento de la homeostasis corporal y en la eliminación de xenobióticos. Sin embargo, estos órganos pueden ser dañados por muchas sustancias tóxicas. Al respecto, los metales son una familia numerosa de compuestos tóxicos y representan un riesgo importante para la salud de los humanos y para el medio ambiente. La exposición de los humanos y de los animales a los metales se puede dar por el consumo de alimentos y agua contaminados con estas sustancias. En el hombre, la exposición al cromo es principalmente de naturaleza ocupacional (Klaassen y Watkins, 2001).

Los compuestos de cromo se absorben en el tracto gastrointestinal y en los pulmones y este metal se almacena en todos los tejidos corporales. Los riñones excretan $\approx 60\%$ de la cantidad ingerida de cromatos, aunque la eliminación urinaria puede tardar más de 14 días. La toxicidad de los compuestos de Cr^{+6} se relaciona con su acción oxidante, ya que en las células de los mamíferos se transforman en compuestos de Cr^{+3} (Bagchi et al., 1995). Ha sido reportado que la exposición de los humanos a los compuestos de Cr^{+6} produce daño agudo en las células de los túbulos renales y en el hígado (Langard y Norseth, 1986; Susa et al, 1989).

En este contexto, la N-acetilcisteína (NAC) es un fármaco con propiedades antioxidantes, vasodilatadoras e inhibitoras de la agregación plaquetaria (Robinson, 1995; Rank et al, 2000). La acción antioxidante se relaciona con su capacidad de neutralizar radicales libres a través del grupo sulfidrido (-SH) (De Vries y De Flora, 1993). La NAC ha sido utilizada en diversas patologías que afectan a los humanos y en estudios experimentales de daño hepático y renal producido por metales pesados como el mercurio (Girardi y Elias, 1991).

Sin embargo, la NAC tiene efectos colaterales que se manifiestan principalmente a dosis altas, entre ellos: alteraciones gastrointestinales (náusea y vómito), reacciones anafilácticas debidas a la liberación de histamina (prurito, angioedema, espasmo bronquial, taquicardia y cambios en la presión sanguínea) (Zimet, 1988). Además, puede producir efectos pro-oxidantes aún a dosis terapéuticas (www.thorne.com). En este contexto, ha sido publicado que la NAC disminuye la concentración de GSH e incrementa la concentración de GSSG en individuos sanos, lo que manifiesta su acción pro-oxidante. También, se ha descrito que la NAC causa daño oxidativo al DNA en presencia de iones metálicos como el Cu^{2+} (Kleinveld et al., 1992; Oikawa et al, 1999).

9.1 ESTUDIO DEL DAÑO HEPÁTICO.

En este trabajo, la administración de cromo a las ratas dañó su hígado y aumentó significativamente la actividad plasmática de la TGO y de la TGP a los 8 días del tratamiento. En los animales tratados con NAC (100 mg/kg/día, 5 días, ip) + Cr (tratamiento preventivo) el daño hepático se incrementó aún más, ya que la actividad plasmática de la TGO y de la TGP aumentó 8 y 5 veces, respectivamente, a los 8 días del tratamiento; además, la concentración de albúmina en plasma disminuyó significativamente en este grupo. También la mortalidad fue muy elevada (89 %).

Al disminuir a la mitad la dosis de la NAC (50 mg/kg/día, 5 días, ip), con relación a los animales tratados con cromo, la actividad plasmática de la TGO y de la TGP aumentó significativamente en las ratas de los grupos NAC+Cr (tratamiento preventivo) y Cr+NAC (tratamiento terapéutico), durante los tres periodos estudiados (2, 5 y 8 días); además, la concentración de albúmina en el plasma disminuyó más en los animales del grupo NAC+Cr que en las ratas tratadas solamente con cromo. Sin embargo, la mortalidad disminuyó significativamente hasta el 14%.

Disminuyendo aún más la dosis de la NAC (15 mg/kg/día, 5 días, ip), con relación a los animales tratados con cromo, la actividad plasmática de la TGO aumentó significativamente en el grupo NAC+Cr a los 2 días (seis veces), 5 días (9 veces) y 8 días (3 veces), así como en el grupo Cr+NAC a los 2 días (cuatro veces), 5 días (cinco veces) y 8 días (seis veces); además, la actividad plasmática de la TGP también aumentó significativamente en el grupo NAC+Cr a los 5 días (16 veces) y en el grupo Cr+NAC a los 2 días (seis veces), 5 días (16 veces) y 8 días (seis veces). Por otra parte, la concentración de albúmina en plasma disminuyó más en los animales del grupo NAC+Cr que en las ratas tratadas con cromo a los 2 días (75%).

Finalmente, con relación a los controles, la concentración hepática de GSH disminuyó en los animales tratados con cromo (28 %) y Cr+NAC (75 %); además, la concentración de ATP en el hígado también disminuyó significativamente en el grupo tratado con cromo (63%), a los ocho días del tratamiento. Es pertinente señalar que, bajo este esquema de dosificación de la NAC, el porcentaje de mortalidad fue de cero.

Ahora bien, en presencia de daño hepático, los hepatocitos se destruyen y las enzimas TGP y TGO pasa del citoplasma al torrente sanguíneo, aumentando sus valores en este fluido en cantidades proporcionales a la lesión del hígado. Por ello, la determinación de la actividad sérica de estas enzimas facilita la identificación de hepatopatías agudas y de otros padecimientos (Lynch et al., 1977; Hamilton y Rose, 1985; Fischbach, 1997).

A su vez, la albúmina es una de las principales proteínas del plasma y constituye más del 50% del total de las proteínas séricas. Esta proteína mantiene la presión oncótica en los vasos sanguíneos (evitando con ello la fuga del agua plasmática desde los capilares) y transporta en la sangre a las sustancias insolubles en agua. El hígado sintetiza la albúmina y, por ello, su cuantificación en

la sangre contribuye a la identificación de hepatopatías (Hamilton y Rose, 1985; Fischbach, 1997).

Respecto al glutatión reducido (GSH), conviene señalar que es un tripéptido (L- γ -glutamil-L-cisteinil-glicina) sintetizado en el hígado y en los riñones a partir de la γ -glutamilcisteína y la glicina (Koppele y Mulder, 1991). Su forma reducida (GSH) detoxifica a muchos xenobióticos y metabolitos reactivos ya sea por conjugación espontánea o mediante una reacción catalizada por las transferasas de glutatión (GST). La cuantificación de GSH es un indicador de la capacidad antioxidante de las células ya que su reducción, en un 20-30 %, produce una marcada incapacidad de las células para amortiguar las acciones de los compuestos tóxicos (Reed, 1990). Por lo tanto, en presencia de xenobióticos que dañan al hígado y a los riñones disminuyen sus concentraciones normales en estos órganos.

Además, como ya se señaló, en individuos sanos la NAC disminuye la concentración de GSH e incrementa la concentración de GSSG, lo que subraya su acción pro-oxidante (Kleinveld et al, 1992). También se ha reportado que los compuestos de Cr^{+6} inhiben la actividad de la reductasa de glutatión en las células de los mamíferos (Sugiyama et al., 1989).

Por último, el ATP es un compuesto que almacena y proporciona energía química en muchas reacciones celulares, es decir, es un compuesto rico en energía que se libera al ser hidrolizado y la cual es utilizada en la síntesis de biomoléculas, en el transporte activo de iones, etc. Por lo tanto, la determinación de ATP permite valorar la capacidad energética de las células (Hamilton y Rose, 1985; Fischbach, 1997).

La toxicidad hepática y renal de los compuestos de Cr^{+6} ha sido reportada en trabajadores y en animales de experimentación expuestos a este metal. En este contexto, y con relación al daño hepático producido por el cromo, nuestros

resultados son semejantes a los datos publicados por otros autores (Laborda et al., 1986; Goyer, 1990; Hojo y Satomi, 1991; Nava et al., 1997). Conviene señalar que bajo nuestras condiciones experimentales, la NAC no protegió al hígado contra la necrosis hepática producida por el cromo (actividades séricas de TGO y TGP). Sin embargo, con la dosis más baja que se administró a las ratas disminuyó o evitó el daño funcional de los hepatocitos remanentes, valorado por su capacidad para sintetizar albúmina y ATP.

Finalmente, la disminución de la concentración hepática del GSH encontrada en los grupos de ratas tratadas con Cr y Cr+NAC puede relacionarse con el consumo de este antioxidante en presencia de un aumento del estrés oxidativo celular y con la capacidad del Cr⁺⁶ para inhibir la actividad de la reductasa de glutatión en las células de los mamíferos (Sugiyama et al., 1989).

9.2 ESTUDIO DEL DAÑO RENAL.

Con relación al grupo control negativo, la concentración de creatinina en la sangre de las ratas tratadas con cromo aumentó significativamente a los 2, 5 y 8 días del tratamiento. Este fenómeno fue revertido por la NAC ya que, en los animales tratados con NAC (100 mg/kg/día, 5 días) + Cr (tratamiento preventivo), la concentración de creatinina en sangre disminuyó a los 2 días (63 %) y 5 días (190 %). Al disminuir a la mitad la dosis de la NAC (50 mg/kg/día, 5 días, ip), la concentración de creatinina en sangre aumentó significativamente en el grupo tratado con cromo a los 2 días (405 %), 5 días (318 %) y 8 días (92 %). Este fenómeno no fue revertido por la NAC ya que, en los animales tratados con NAC+Cr y Cr+NAC, la concentración de creatinina en sangre se mantuvo en concentraciones semejantes a las de las ratas tratadas solamente con cromo. Sin embargo, al disminuir aún más la dosis de la NAC (15 mg/kg/día, 5 días, ip), la concentración alta de creatinina sérica de las ratas tratadas con cromo fue revertida por la NAC ya que, en los animales tratados con NAC+Cr disminuyó a los

2 días (34 %), mientras que en el grupo Cr+NAC disminuyó a los 2 días (33 %), 5 y 8 días (28 %).

Al respecto, la creatinina (principal metabolito de la creatina) es eliminada del plasma fundamentalmente por filtración glomerular para ser excretada en la orina. No hay una “recirculación” de la creatinina, razón por la cual la depuración de esta sustancia es un indicador eficaz de la filtración glomerular (Fischbach, 1997). En nuestro estudio, la caída de la filtración glomerular en las ratas tratadas con cromo (medida por el aumento de la concentración plasmática de creatinina), en general, fue revertida por la NAC. Este fenómeno puede deberse a la acción vasodilatadora de la NAC la cual, al incrementar la circulación sanguínea de los riñones, mejora la intensidad de la filtración glomerular (Robinson, 1995; Rank et al, 2000).

Nuestros resultados también identificaron la existencia de daño funcional de las células proximales de la nefrona en las ratas tratadas con cromo, daño caracterizado por alteraciones de la reabsorción de los tres marcadores utilizados: sodio, glucosa y fosfatos. Estas alteraciones no fueron corregidas por la NAC ni en el tratamiento preventivo (NAC+Cr) ni en el tratamiento terapéutico (Cr+NAC), incluso en algunos casos fueron exacerbadas. En efecto, las masas excretadas de sodio, glucosa y fosfatos, en general, fueron mayores en estos grupos que en las ratas tratadas solamente con cromo.

Al respecto, al valorar la función de las células tubulares proximales, la masa excretada de sodio disminuyó significativamente en los animales tratados con cromo a los 2 días (57 %), 5 días (28 %) y 8 días (71 %); a su vez, en los animales tratados con NAC+Cr aumentó a los 2 días (614 %) y 5 días (71 %), mientras que en el grupo Cr+NAC disminuyó a los 2 días (71 %) y 8 días (43 %). En este contexto, la masa excretada de glucosa aumentó en el grupo NAC+Cr a los 2 días (66 veces) y a los 8 días (8 veces), así como en el grupo Cr+NAC a los 2 días (31 veces) y a los 5 días (72 veces). A su vez, en los animales tratados con

cromo, la masa excretada de fosfatos aumentó a los 2 días (32 %) y disminuyó a los 8 días (39 %); en los animales tratados con NAC+Cr aumentó a los 2 días (37 %) y disminuyó a los 5 días (31%), mientras que en el grupo Cr+NAC disminuyó a los 2 días (39 %) del tratamiento.

La determinación de sodio tiene la finalidad de evaluar el desequilibrio de líquidos y electrolitos que acompañan a los trastornos renales. El aumento o la disminución de las concentraciones de sodio en la orina pueden indicar la presencia de insuficiencia renal. A su vez, los fosfatos son aniones que predominan en las células y permiten almacenar y utilizar energía, así como participar en la regulación de las concentraciones de calcio, el equilibrio acidobásico, etc. Los fosfatos filtrados en los glomérulos se reabsorben en el túbulo proximal de la nefrona. Por ello, su excreción urinaria facilita la identificación de daño renal y alteraciones del equilibrio ácido-básico (Fischbach, 1997; Jaramillo et al, 2008).

Las alteraciones producidas por el cromo se relacionan con un cuadro de insuficiencia renal por lesión parenquimatosa o necrosis tubular aguda (NTA). Durante la NTA existe caída de la filtración glomerular, aumento de la creatinina sérica, oliguria e hiperazoemia. Con frecuencia se presentan trastornos de electrolitos (hiperpotasemia e hiponatremia) ya que, generalmente, la excreción fraccionaria de sodio (EF_{Na}) es $> 1 \%$, aunque en presencia de daño hepático la $EF_{Na} < 1 \%$ (Peña, 2005). Con ello, los procesos de reabsorción y secreción realizados en el túbulo proximal son afectados, alterándose así la reabsorción de proteínas de peso molecular bajo, de aminoácidos, glucosa, fosfatos y la secreción de ácido úrico (Clarkson y Shaikh, 1982).

En nuestro trabajo, con relación al grupo control negativo, la masa excretada de proteínas aumentó significativamente en los grupos NAC+Cr y Cr+NAC a los 2 días (62 y 40 %, respectivamente). En este contexto y con relación a la filtración de proteínas, en condiciones fisiológicas normales, la

membrana de los capilares glomerulares impide la salida de compuestos de peso molecular elevado (como la albúmina), pero permite que se filtren proteínas de peso molecular bajo, como las microglobulinas, las cuales son reabsorbidas por las células de los túbulos renales y solo se excreta una cantidad pequeña de ellas. La lesión de la membrana glomerular y/o el daño de la resorción tubular permiten la pérdida de proteínas en la orina. Así, su excreción urinaria es útil para identificar lesiones en los glomérulos o en los túbulos renales proximales (Hamilton y Rose, 1985; Fischbach, 1997).

En este contexto, se ha reportado que la administración parenteral de $K_2Cr_2O_7$ genera daño renal agudo en las ratas, caracterizado por alteraciones en la velocidad de filtración glomerular, obstrucción tubular y flujo retrógrado del filtrado glomerular (Biber et al., 1968). Además, los compuestos del Cr^{+6} pueden producir disfunción tubular, la cual se caracteriza por la presencia en la orina de β -glucuronidasa y concentraciones altas de proteínas (Costa, 1997; Jaramillo-Juárez et al., 2006). Es pertinente señalar que la falla renal aguda se asocia con una elevada mortalidad y con la acumulación del cromo en el túbulo proximal, su principal sitio de toxicidad (Liano et al., 1998).

Finalmente, en nuestro estudio, la concentración renal de GSH disminuyó significativamente en los grupos NAC y Cr+NAC (75 %) a los ocho días del tratamiento. Además, la concentración de ATP disminuyó de manera significativa solamente en el grupo tratado con cromo (63 %), sin que se presentaran cambios significativos en los otros grupos experimentales. Lo anterior indica que la NAC disminuyó el daño producido por el cromo en las mitocondrias de las células renales, posiblemente por su acción antioxidante.

Debe señalarse que durante la necrosis tubular aguda, la reducción tisular del ATP puede aumentar la concentración intracelular de calcio, lo cual conduce a la muerte celular. Además, la disminución de la concentración de los sustratos energéticos de las células (el ATP es el más importante de ellos) produce la

pérdida rápida de polaridad en las células tubulares proximales. Al respecto, la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ normalmente existe en la membrana basolateral unida al citoesqueleto y la polaridad de esta enzima es esencial para la reabsorción tubular del sodio. Bioquímicamente e histológicamente se ha demostrado que la isquemia o la reducción de la concentración celular del ATP conducen a la rápida redistribución de la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ en la membrana apical de las células tubulares proximales (Molitoris, 1991). Por consiguiente, una vez que se establece la depleción de energía en las células, se colapsan los gradientes de electrolitos (Na^+ , K^+) y se desorganizan los microfilamentos que contienen actina (Weinberg, 1991).

9.3 ESTUDIO HISTOLÓGICO.

El cromo generó cambios estructurales del tejido hepático caracterizados por: intensa vacuolización y necrosis de hepatocitos. Sin embargo, es importante señalar que en los hígados de las ratas tratadas con cromo y NAC en dosis de 15 mg/Kg (tratamientos preventivo y terapéutico) hubo menor daño estructural. Existen reportes (Arfsten *et al*, 2004) donde la NAC a dosis de 600 a 1200 mg/Kg7día, por 30 días, oral es un excelente antioxidante, sin embargo en nuestro estudio las dosis utilizadas de NAC potenciaron el daño producido por el cromo. Los resultados de los efectos de la NAC con las dosis utilizadas no concuerdan hasta el momento con los reportes de otros autores (debido quizá a susceptibilidad de nuestras ratas al tratamiento), ya que animales que solo recibieron NAC presentaron cambios en relación con los controles negativos, evidenciando un efecto directo de la exposición a la NAC. Así mismo, los hallazgos de daño estructural coinciden con el incremento en la concentración plasmática de TGO y TGP y la disminución de GSH.

Por otra parte, se sabe que el estudio histológico del tejido renal proporciona datos valiosos en padecimientos como la glomerulonefritis aguda y crónica, la pielonefritis, la trombosis de la vena renal, la necrosis tubular aguda, entre otros. (Hamilton y Rose, 1985; Fischbach, 1997). En este contexto, nuestro

estudio histológico mostró que el cromo altera la estructura y organización del tejido renal generando: necrosis tubular aguda. Este efecto fué revertido parcialmente con la administración de la NAC a una dosis de 15 mg/Kg. Al respecto, la toxicidad tubular aguda de cromatos y dicromatos ha sido bien documentada en animales de experimentación y la necrosis tubular renal también ha sido descrita en humanos (Langard y Norseth, 1986).

Cabe mencionar que en estudios anteriores, varios autores (Arfsten *et al*, 2004, Dickey *et al*, 2007, Massola *et al*, 2005, Ramesh *et al*, 2006, Schaller *et al*, 2007, Ventura *et al*, 2003,) han utilizado dosis de NAC mayores a las de nuestro estudio, administradas por las vías oral, intravenosa e intraperitoneal, reportando protección a nivel hepático y renal ante diversos agentes de daño.

10. CONCLUSIONES

- La disminución de la velocidad de filtración glomerular (creatinina en sangre) producida por el cromo es revertida de manera parcial por la NAC.
- Las alteraciones de las masas excretadas de glucosa y fosfatos se relacionan con daño en la reabsorción proximal de estas sustancias, fenómeno exacerbado por la NAC.
- La disminución de la concentración de ATP en los riñones se relaciona con el estrés oxidativo producido por el cromo, fenómeno atenuado por la NAC.
- El incremento de las transaminasas en plasma indica necrosis de las células hepáticas, fenómeno exacerbado por la NAC en presencia de cromo.
- La disminución de la concentración de ATP en el hígado se relaciona con el estrés oxidativo producido por el cromo, fenómeno revertido parcialmente por la NAC.
- De las tres dosis analizadas de NAC (100, 50 y 15 mg/Kg/día, 5 días, ip), la menor de ellas no produjo la muerte de los animales de experimentación.
- El análisis histológico mostró que, en las ratas tratadas con cromo, a medida que se reduce la dosis de NAC disminuye el daño estructural de los riñones y del hígado.
- Lo anterior sugiere que reduciendo aún más la dosis de NAC se podría mejorar la protección de esta sustancia contra el daño ocasionado por el cromo en las ratas.

11. GLOSARIO

Acidofilia: Conjunto de coloraciones basadas en el comportamiento de las diferentes proteínas a las variaciones del pH.

Aductos: En biología, un aducto es un complejo que se forma cuando un compuesto químico se une a una molécula biológica, como ADN o proteínas.

Antioxidante: Todos aquellos elementos que tienen como función eliminar de nuestro organismo los radicales libres.

Bioacumular: El término bioacumulación hace referencia a la acumulación neta, con el paso del tiempo, de metales (u otras sustancias persistentes) en un organismo a partir de fuentes tanto bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua).

Biotransformación: Proceso mediante el cual los fármacos son alterados químicamente por los sistemas enzimáticos del organismo para producir moléculas más hidrosolubles y así eliminarse eficientemente.

Corpúsculo: Nombre genérico que reciben una serie de pequeñas estructuras como células, moléculas, partículas o elementos.

Dermatitis: Consiste en un estado reaccional de la piel caracterizado por erupciones pruriginosas y con aspecto de escamas, más frecuente en niños, en la cual intervienen factores tanto ambientales como constitucionales.

Dicromato de potasio: El dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) es una sal del hipotético ácido dicrómico (este ácido en sustancia no es estable) $H_2Cr_2O_7$. Se trata de una sustancia de color intenso anaranjado. Es un oxidante fuerte. En contacto con sustancias orgánicas puede provocar incendios.

Estrés oxidativo: Es causado por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.

Homeostasis: (Del griego homeo que significa "similar", y estasis, en griego "posición", "estabilidad"). Es la característica de un sistema abierto o de un sistema cerrado, especialmente en un organismo vivo, mediante la cual se regula el ambiente interno para mantener una condición estable y constante.

Metales pesados: Son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano.

N-acetilcisteína: Derivado de la cisteína con un efecto mucolítico capaz de diluir la viscosidad de la secreción bronquial tiene también una capacidad antioxidante .

Necrosis: (Del griego "muertos"). Es el nombre dado a la prematura muerte de las células y de vida de tejidos y es causada por factores externos, tales como infecciones, toxinas, o trauma.

Pro-oxidante: Sustancia que puede producir subproductos del oxígeno del metabolismo que pueden dañar las células.

Reacción anafiláctica: Reacción alérgica severa en todo el cuerpo.

Shock séptico: Causado por las toxinas liberadas por cualquier tipo de bacteria, al igual que por hongos y, en raras ocasiones, por virus, pueden causar daño tisular y llevar a que se presente hipotensión arterial y funcionamiento deficiente de órganos.

Síndrome hepatorenal: Condición clínica que ocurre en pacientes con enfermedad hepática avanzada, insuficiencia hepática e hipertensión portal, caracterizado por un deterioro de la función renal, una intensa alteración de la circulación arterial y activación de los sistemas vasoactivos endógenos.

Tóxico: (Del griego toxón, punta de flecha y, por extensión, veneno que se aplica en la punta de la flecha). Es toda sustancia química que, administrada a un organismo vivo, tiene efectos nocivos.

Vacuolización: Necrosis grasa que se caracteriza por la presencia de histiocitos espumosos y adipocitos de citoplasma.

Xenobiótico: Compuesto externo a un organismo vivo que interacciona con él, generalmente a través de alteraciones metabólicas.

12. BIBLIOGRAFIA

- Adams H: Adenosine-5-triphosphate determination with phosphoglycerate kinase. In: Methods of enzymatic analysis (Bergmeyer Ed), Academic Press, pp 539-543, 1963.
- Arfsten D, Johnson E, Thitoff A, Jung A, Wilfong E, Lohrke S, Bausman T, Eggers J, Bobb A (2004). Impact of 30-day oral dosing with N-acetyl-L-cysteine on Sprague-Dawley rat physiology. *Int J Toxicol*, 23(4):239-47.
- Avelar FJ, Llamas J: Monitoreo de pesticidas organoclorados, metales, fluoruros y cianuro en agua potable de pozos considerados de alto riesgo en diez municipios del estado de Aguascalientes. Informe final SIHGO-CONACYT. UAA-CEAPA. 2000.
- Bagchi D, Hassoun EA, Bagchi M, Stohs SJ: Chromium-induced excretion of urinary lipid metabolites, DNA damage, nitric oxide production and generation of reactive oxygen species in Sprague-Dawley rats. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 110(2): 177-187, 1995.
- Bauer JB: Carbohydrates and nitrogen compounds. In: Clinical Laboratory Methods, Chap. 21, 9th. Edition. CB Mosby Co., St. Louis. Pp. 472-505. 1982.
- Biber TU, Mylle M, Baines AD: A study by micropuncture and microdissection of acute renal damage in rats. *Am J med*, 44: 664-705, 1968.
- Boffetta P. "Carcinogeny of trace elements with reference to evaluation made by international agency for research on cancer. *Scandinavian Journal Working Environmental Health*. Vol. 19, supl. 1. pp. 67-70. 1993.
- Castera J, Bourdais A, et al: Intoxication aigue par ingestion massive de bichromate de potassium. *Guerison Bull. Med. Leg. Toxic*, 12: 134-143, 1969.
- Clarkson TW, Shaikh ZA: General principles underlying the renal toxicity of metals. En: Bach and Bonner, *Nephrotoxicity-Assessment and Pathogenesis*, First Ed., Wiley & Sons, pp 263-279, 1982.

- Cohn VH, Lyle J: A fluorometric assay for glutathione. *Anal. Biochem.*, 14: 434-440, 1966.
- Cooper P: Poisoning by drugs and chemicals. Alchemist Publications-London, 3rd. Ed., pp 180-181, 1974.
- Costa M: Toxicity and carcinogenicity of Cr (VI) in animal models and humans. *Crit. Rev.Toxicol.*, 27(5): 431-442, 1997.
- De Vries N, De Flora S: N-Acetyl-L-Cysteine. *J. Cell Biochem.*, 17F: S270-277, 1993.
- Dickey DT, Muldoon LL, Doolittle ND, Peterson DR, Kraemer DF, Neuwelt EA. Effect of N-acetylcysteine route of administration on chemoprotection against cisplatin-induced toxicity in rat models. *Cancer Chemother Pharmacol*, Oct 2 AOP.
- Doumas B, et al: Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromoresol green. *Clin. Chim. Acta*, 31: 87-96, 1971.
- Ellenhorn M, Barceloux D: Metals and related compounds. In *Medical Toxicology*, Elsevier, pp 1020-1022, 1988.
- Fergusson JF., *The heavy elements, Chemistry. Environmental Impact and Health Effects*. Pergamon Press.1990.
- Fischbach FT: *Manual de pruebas diagnósticas*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 5^a. Edición. México. pp: 1149. 1997.
- Gil Tocados G., Manrique Plaza A., Fernández JM. "Introducción a la dermatitis de contacto en la construcción" *Historia del cromo*. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz. España. 2002
- Girardi G, Elias MM: Effectiveness of N-Acetylcysteine in protecting against mercuric chloride-induced nephrotoxicity. *Toxicology*, 67 (2): 155-164, 1991.
- Glenn S II, Jay GA: General principles of toxicology. En *Toxicology, The Basic Science of Poisons* (Curtis & Doull Eds), McMillan Publishing Company, NY, 1986.

-
- Goyer RA: Environmentally related disease of the urinary tract. Environ Med 74: 377-389. 1990.
 - Grimalt F. "Dermatitis de contacto". Ed. Fontalba. Barcelona, España. 1980.
 - Guzmán Ramos A., Fernández G. "Cromo, medio ambiente y salud humana: comentarios sobre la situación en las Toscas, Santa Fe, Argentina". Centro de Investigaciones ecogeográficas y ambientales, UNCPBA, Tandil, Argentina. 2000.
 - Hamilton HK, Rose MB: Manual de diagnóstico clínico. Ed. Interamericana. 1ª. Edición. México. pp: 81-533.1985.
 - Harte J., Holden C., Scheneider R., Shirey C., Toxics A to Z. A guide to everyday pollution hazards. University of California Press. 1991.
 - Hojo Y, Satomi Y: *In vitro* nephrotoxicity induced in mice by chromium (VI): involvement of glutathione and chromium (V). Biol Trace Elem Res. 31: 21-31. 1991.
 - Holt S, Goodier D, Marley R, Patch D, Moore K: Improvement in renal function in hepatorenal syndrome with N-Acetylcysteine. Lancet, 353: 294-295, 1999.
 - Jaramillo-Juárez F, Rodríguez-Vázquez ML, Rincón-Sánchez AR, Martínez Saldaña MC, Ortiz Genaro G, Llamas Viramontes J, Posadas del Río FA, Reyes JL: Acute renal failure induced by carbon tetrachloride in rats with hepatic cirrhosis. Ann. Hepatol., 7(4): 331-338, 2008.
 - Jaramillo-Juárez F, Rodríguez-Vázquez ML, Reyes-Sánchez JL: Toxicología Renal. En Toxicología Básica (Eds. Jaramillo-Juárez F, Rincón Sánchez AR y Posadas del Río F). Textos Universitarios-Ciencias Biomédicas. Editado por UAA, U de G y UJED. Primera Edición, Cap. 9, pp 137-166, ISBN 970-728-048-4, 2006.
 - Jaramillo-Juárez F., Rodríguez-Vázquez ML., Reyes-Sánchez JL. Toxicología Básica UAA, U de G, UJED, serie de textos Universitarios. Cap. 9. pp. 137-166. 2006.

- Kaneo Y, Ogawa K, Tanaka T, Fujihara Y, Iguchi S: A protective effect of glutati3n-dextran macromolecular conjugates on acetaminophen-induced hepatotoxicity dependent on molecular size. *Biol Pharmacol Bulletin*, 17: 1379-1384, 1994.
- Kehrer JP: Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Rev. Toxicol.*, 23: 21-48, 1993.
- Klaassen CD: Heavy metals and heavy metals antagonists. In: Goodman & Gilman's *The Pharmacological Bases of Therapeutics*. 9th Edition. McGraw-Hill, New York, pp. 1649-1673, 1996.
- Klaassen CD, Watkins JB: Efectos t3xicos de metales. En Casarett and Doull's *Manual de Toxicolog3a*. Cap. 23, 5a. Edici3n. MacGraw-Hill Interamericana, M3xico, pp. 659-722, 2001.
- Klaessen C. Watkins J. *Manual de Toxicolog3a, la ciencia b3sica de los t3xicos*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. M3xico. Quinta edici3n. pp 3-10. 2001.
- Koppele JM, Mulder GJ: Stereoselective glutathione conjugation by subcellular fractions and purified glutathione-S-transferases. *Drug Metab. Rev.*, 23: 331-354, 1991.
- Kopplin M. *Toxicologia Ambiental*. University of Arizona. Ed. McGraw-Hill. pp 20-36. 2001. -Langard S, Norseth T: Chromium. In: Friberg L, Nordberg G & Vouk VB, ed. *Handbook on the toxicology of metals*. Elsevier SP, Vol. II, pp 185-210, 1986.
- Laborda R, Diaz-Mayans J, Nuñez A: Nephrotoxic and hepatotoxic effects of chromium compounds in rat. *Bull Environ Contam Toxicol* 36: 332-336. 1986.
- Liano F, Junco E, Pascual J, Madero R, Verde E: The spectrum of acute renal failure in the intensive care unit compared with that seen in other settings. The Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int Suppl*, 66: S16-S24, 1998.
- Lindberg E, Vesterberg O: Urinary excretion of proteins in chromeplaters, ex-chromeplaters and referents. *Scand. J. Work Environ. Health*, 9: 505-510, 1983.

-
- Lock EA: Responses of the kidney to toxic compounds. In: General & Applied Toxicology, Chap. 21. Ballantyne B, Marris T and Turner P., editors. Macmillan Press Ltd., London, pp. 443-472, 1995.
 - López-Novoa JM, Díez J: Acute renal failure in liver disease-Clinical, diagnostic and therapeutic aspects. In: The patient with acute renal insufficiency, pp 1098-1109, 1990.
 - Lorber A, Baumgartner WA, Bovy RA, Chang CC, Hollcraft R: Clinical application for heavy metal complexing potential of N-acetylcysteine. J. Clin. Pharmacol., 13: 332-336, 1973.
 - Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurements with the Folin phenol reagent. J. Biol Chem, 193, 265-275, 1951.
 - Lynch MJ *et al*: Métodos de laboratorio. Nueva Editorial Interamericana. 2ª. Edición. México. pp: 1522. 1977.
 - Massola Shimizu MH, Machado Coimbra T., De Araujo M., Menezes LF., Seguro AC., N-acetylcysteine attenuates the progression of chronic renal failure, Kidney International, 68, pp. 2208 – 2217, 2005.
 - Maxwell RJ: Prospects for the use of antioxidant therapies. Drugs, 49: 345-361, 1995.
 - Mertz W: Chromium occurrence and function in biological systems. Physiol Rev, 49: 163-239, 1969.
 - Moling O, Cairon E, Rimenti G: Severe hepatotoxicity after therapeutic doses of acetaminophen. Clinical Therapeutics, 28 (5): 755-760, 2006.
 - Molitoris BA: New insights into the cell biology of ischemic acute renal failure. J Am Soc Nephrol, 12: 1263-1270, 1991.
 - Mutti A, Cavatorta A, Pedroni C, Borghi A, Giaroli C, Franchini I: The role of chromium accumulation in the relationship between airborne and urinary chromium in welders. Int. Arch. Occup. Environ. Health, 43: 123-133, 1979.

- Mutti A, Lucertini S, Valcavi P, Neri TM, Fornari M, Alinovi R, Franchini I: Urinary excretion of brush-border antigen revealed by monoclonal antibody-early indicator of toxic nephropathy. *Lancet*, 2(8461): 914-917, 1985.
- Nava *et al*: Programa de vigilancia epidemiológica para los trabajadores de la curtiduría. *Concyteg*. 4:33. 1997.
- Oster JR, Pérez GO: Acid-base homeostasis and pathophysiology in liver disease. In: *The kidney in liver disease*, Third Edition, M. Epstein, ed., W. W. Baltimore, pp 119-129, 1988.
- Peterson GL: A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal. Biochem.*, 83:346-356, 1977.
- Ramazzini B. "As doenças dos trabalhadores". "De morbis artificum diatriba". Fundacentro. Ministerio de Trabalho. Segunda edicao. Río de Janiero. Brasil. 1999.
- Ramesh N, Pillai RK, Abraham T, Padmaja NP, Hameed S, Vijayaraghavan G: Reno-protective effect of N-acetyl cysteine in patients with impaired renal function undergoing coronary angiography and interventions. *J Assoc Physicians India* 54:449-452, 2006.
- Rank N, Michel C, Haertel C, Med C, Lenhart A, Welte M: N-acetylcysteine increases liver blood flow and improves liver function in septic patients: Results of a prospective, randomized, double blind study. *Crit Care Med*, 28: 3799-3807, 2000.
- Reed JD: Chemical toxicity and glutathione regulation. *Crisp. Data. Base (NIOH)*, 1994.
- Reed JD: Glutathione-Toxicological Implications. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 30: 603-631, 1990.
- Repetto R, Repetto G. *Manual de Toxicología Básica*. Editorial Díaz de Santos. Madrid, España. pp 619-646. 2000.
- Reyes S, Jaramillo Juárez F. *Farmacología General*. 2ª. Edición. UAA, U de G, serie de textos universitarios. Cap 6. pp. 103- 115. 2008.
- Roberfroid M, Buc Calderón P: Antioxidants and radical scavengers. In: *Free Radicals and oxidation phenomena in biological systems*. First Edition, Marcel Dekker, Inc., Chapter 5, pp 207-223, 1995.

-
- Robinson C: N-Acetylcysteine. *Drugs Future*, 20: 559-563, 1995.
 - Ross MH, Pawlina W: *Histología Texto y Atlas a color con Biología Celular y Molecular*. 5a Edición, Cap 1, 2-5 pp, 2006.
 - Schaller G, Pleiner J, Mittermayer F, Posch M, Kapiotis S, Wolzt M: Effects of N-acetylcysteine against systemic and renal hemodynamic effects of endotoxin in healthy humans. *Crit Care Med*, 35(8):1869-1875, 2007.
 - Schlebusch H, Rick W, Lang H, Knedel M: *Dtsch. Med. Wschr.*, 99: 765, 1974.
 - Siller López, F. *Toxicología Básica*. UAA, U de G, UJED, serie de textos Universitarios. Cap 8. pp. 117- 135. 2006.
 - Stevens A, Lowe J: *Histología Humana*. 3a Edición, Elsevier España, Cap 1, 4-6 pp, 2006.
 - Sugiyama M., Ando A., Ogura R: Effect of vitamin E on survival, glutathione reductase and formation of chromium (V) in Chinese hamster V-79 cells treated whit sodium chromate (VI). *Carcinogenesis*. Apr; 10 (4): 737-41. 1989.
 - Sumner JB: A method for the colorimetric determination of phosphorus. *Science*, 100, 413-414, 1944.
 - Susa N, Ueno S, Furukawa Y, Michiba N, Minoura S: Induction of lipid peroxidation in mice by hexavalent chromium and its relation to the toxicity. *The Jap. J. Vet. Sci.*, 51(6): 1103-1110, 1989.
 - Trinder P: Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem*, 6: 24, 1969.
 - Turrens JF, Freeman BA, Levitt JG, Crapo JD: The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. *Arch. Biochem. Biophys*, 217: 401-410, 1982.
 - Ventura P, Panini R, Abbati G, Marchetti G, Salvioli G: Urinary and plasma homocysteine and cysteine levels during prolonged oral N-acetylcysteine therapy. *Pharmacology* 68(2):105-114, 2003.

-
- Weinberg JM: The cell biology of ischemic renal injury. *Kidney Int*, 39: 476-500, 1991.
 - WHO: Chromium. Environmental Health Criteria. International Programme in Chemical Safety. World Health Organization. Ginebra, Suiza, 1988.
 - Zafarullah M., Li WQ., Sylvester J., Ahmad M., Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions, *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*, 60, pp. 6 – 20, 2003.
 - Zimet I: Acetylcysteine, a drug that is much more than a mucokinetic. *Biomed. & Pharmacother*, 42: 513-520, 1988.
 - www.thorne.com/n_acetylcysteine_monograph.pdf (bajado 9-feb-09).

