

# EL CADMIO COMO CITOTÓXICO Y METALOHORMONA. EFECTOS SOBRE EL EJE HIPOTÁLAMO-HIPOFISARIO

**Palabras clave:** cadmio, estrés oxidativo, proliferación celular.  
**Key words:** cadmium, oxidative stress, cell proliferation.

En las últimas décadas, la contaminación ambiental ha aumentado considerablemente y junto con ella la preocupación concerniente a los efectos adversos de diferentes tóxicos ambientales. Entre ellos, el cadmio (Cd), un metal pesado ampliamente usado en la industria y presente en altas concentraciones en el humo del cigarrillo, ha sido objeto de numerosos estudios. Con una vida media muy larga dentro del organismo y una notoria capacidad de bioacumulación, el Cd es en sí una grave amenaza para la salud. Como muchos tóxicos, los efectos del Cd en el organismo dependen de la concentración del metal, del tiempo de exposición al mismo y de la susceptibilidad diferencial de los tejidos a su acción. Generalmente el Cd a concentraciones micromolares -tanto *in vivo* como *in vitro*- provoca en órganos endocrinos estrés oxidativo, muerte celular por apoptosis y desbalance hormonal. A concentraciones nanomolares, el Cd es capaz de mimetizar los efectos del estrógeno -hormona clave en la reproducción con acción en tejidos como útero y mama- con potenciales implicancias en la aparición y desarrollo de patologías neoplásicas hormona-dependientes. Este manuscrito se enfoca en los resultados de las investigaciones de nuestro laboratorio con respecto a los efectos tanto citotóxicos como proliferativos del Cd sobre el sistema hipotálamo-hipofisario y se discute sobre posibles tratamientos para revertir sus efectos deletéreos.

In the last decades, environmental pollution has considerably increased and also the concern regarding the adverse effects of many environmental toxicants. Among them, cadmium (Cd), a heavy metal widely used in industry and present in high concentrations in cigarette smoke, has been the subject of numerous studies. Once in the organism it shields a very long half-life and a remarkable ability to bioaccumulate, which makes of Cd a serious threat to health. As many toxics, Cd effects in the body depend on the metal concentration, exposure time and differential susceptibility of tissues to its action. Generally, Cd at micromolar concentrations in endocrine organs causes oxidative stress, cell death by apoptosis and hormonal imbalance both, *in vivo* and *in vitro*. At nanomolar concentrations, Cd is able to mimic the effects of estrogen -reproductive hormone with key actions in tissues such as uterus and breast- with potential implications for the onset and progression of hormone-dependent neoplastic diseases.

This manuscript focuses on the results from our laboratory regarding to both, proliferative and cytotoxic effects of Cd on the hypothalamus-pituitary system and discusses possible treatments to reverse its deleterious effects.

*"Alle Dinge sind ein Gift und nichts ist ohne Gift*

*Allein die Dosis macht, daß ein Ding kein Gift ist"*

(Todas las cosas son veneno y nada es sin veneno.

Sólo la dosis hace que una cosa no sea un veneno).

Paracelso, 1493-1541

## ■ INTRODUCCIÓN

Los metales han sido utilizados por el hombre desde la antigüedad. El uso antropogénico de los mismos ha llevado a su dispersión global y a la contaminación del medio ambiente. Las plantas y los animales, entre ellos el hombre, están expues-

tos a una variedad de metales a través del alimento, del agua y del suelo. Ciertos metales al no ser biodegradables persisten en el medio ambiente por períodos muy largos y causando problemas ecotoxicológicos muy serios.

Muchos de los elementos metá-

■ **Beatriz H. Duvilanski\*,  
Jimena P. Cabilla**

Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIO-MED) UBA-CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Paraguay 2155 piso 10, C1121ABG, Buenos Aires, Argentina.

\*neuroend@ffyb.uba.ar

licos, tales como el zinc, el cobre, el calcio, el cromo trivalente, el cobalto, el magnesio y el hierro, en concentraciones traza son esenciales para la vida e intervienen en diversos ciclos bioquímicos ya sea por sí mismos o como constituyentes del centro activo de numerosas enzimas. Estos elementos traza están involucrados en una variedad de funciones celulares tales como el control de la transcripción genética, la conducción del impulso nervioso, el transporte de oxígeno; de esta forma regulan eventos moleculares vitales dentro de la célula, tales como la expresión genética, el metabolismo, la proliferación y la muerte celular. Sin embargo, en el medio ambiente y debido al uso cada vez más extendido, se ha incrementado la presencia de muchos otros elementos metálicos que no son esenciales para la vida tales como mercurio (Hg), cadmio (Cd), níquel (Ni), aluminio (Al), plomo (Pb), cromo hexavalente (CrVI), arsénico (As) y otros. Estos elementos metálicos, sin efectos benéficos conocidos en humanos son, por sus características, capaces de mimetizar a los metales esenciales y de esta manera afectar, activando o desactivando, los procesos moleculares regulados por ellos (Rana, 2008). A diferencia de los metales traza esenciales que pueden ser tóxicos cuando son incorporados a la célula en concentraciones elevadas, los no esenciales son tóxicos cualquiera sea su concentración aunque sus efectos sean diferentes dependiendo de ella.

Existen evidencias que indican que el Hg, el Cd, el As, el Pb y el CrVI son cancerígenos pero también exhiben un amplio rango de efectos tóxicos sobre la mayoría de los sistemas del organismo, efectos que dependen del grado y el tiempo de exposición además de la edad del individuo expuesto (Agency for Toxic Substances and Disease Registry,

2008; Sears y col., 2012).

En general, la exposición prolongada a estos elementos metálicos lleva a una predisposición a enfermedades renales, cardiovasculares, inmunológicas, endocrinas, hepáticas, óseas y neurológicas. Los niños y los fetos son los que corren más riesgo ya que la exposición temprana predispone potencialmente a dichas enfermedades en los jóvenes y, debido a la mayor susceptibilidad del sistema nervioso, a problemas cognitivos y conductuales. La exposición en poblaciones adultas aumenta la presencia de las enfermedades relacionadas con la mayoría de los sistemas del organismo y favorece un declive temprano de la función cognitiva (Sears y col., 2012).

La exposición a los elementos metálicos puede tener un origen natural o antropogénico. Algunas poblaciones por sus características geoquímicas están expuestas a elevados niveles de elementos tóxicos, por ejemplo, se encuentran niveles elevados de As y CrVI en regiones de Asia como Bangladesh, de As en la zona cordillerana de Argentina y Chile y en diferentes regiones de México y Estados Unidos de América (Bardullas y col., 2008). Por su parte, el Cd y el Hg así como también el Pb y el CrVI son productos cuyo origen es principalmente antropogénico. Los desechos industriales contaminan las aguas y los suelos y como consecuencia los vegetales, las carnes, los granos, los alimentos marinos (mariscos, peces y otros). (Copes y col., 2008; Perilli y col., 2010)

El problema más grave que inicialmente enfocó la atención de los investigadores sobre estos metales y metaloides pesados se basó en sus efectos nocivos sobre la salud reproductiva, lo cual llevó a que fueran

denominados **“toxinas reproductivas”**. El deterioro de la salud reproductiva es un problema mundial no sólo como consecuencia de la disminución en la fertilidad femenina y masculina sino también por los efectos deletéreos en la salud de las generaciones futuras.

La envergadura de este problema mundial pero también muy nacional, la importancia del eje hipotálamo-hipofisario en la reproducción y los conocimientos aún escasos del efecto de estos elementos metálicos sobre el mismo, nos condujo a investigar el efecto de algunos metales y metaloides (Cd, Cr VI, As) sobre dicho eje (Quinteros y col., 2007; Nudler y col., 2009; Ronchetti y col., 2012). En este trabajo nos dedicaremos a mostrar los estudios realizados particularmente con Cd.

## ■ CADMIO

El Cd es un componente natural de la corteza terrestre. Este metal está ampliamente disperso en todo el ecosistema y se encuentra a menudo combinado con otros elementos, como el zinc, el plomo y el cobre.

La presencia de Cd en el ambiente tiene, en buena parte, un origen natural tal como el producido como consecuencia de la actividad volcánica. La erosión de las rocas y los incendios forestales constituyen otras formas naturales de liberación de este metal. Sin embargo, actualmente, gran parte del Cd liberado al ambiente proviene de diferentes actividades humanas (Thornton, 1992). El uso industrial del Cd se ha expandido notablemente a partir de la mitad del siglo pasado. El Cd es utilizado en la elaboración de algunos plaguicidas y fertilizantes, en la galvanoplastia, en la fabricación de pilas y baterías, en la estabilización de algunos plásticos y en la indus-

tria minera (Goering y col., 1995; Satarug y col., 2003). Otras fuentes importantes de descarga de Cd al ambiente son la quema de combustibles fósiles (como el carbón o el petróleo) y la incineración de los residuos domésticos comunes.

La exposición humana al Cd se produce primariamente a través de la inhalación o ingestión siendo mucho mayor el porcentaje absorbido por la vía inhalatoria. Esta vía es muy significativa en los soldadores (Bernhoft, 2013). La inhalación del humo del tabaco es otra importante fuente de intoxicación por Cd (Koller, 1998). Se sabe que la planta de tabaco acumula Cd del suelo y que puede alcanzar concentraciones muy elevadas (Scherer y Barkemeyer, 1983; Chaney y col., 1999). El óxido de cadmio formado durante la combustión del cigarrillo es altamente absorbible por el organismo y aproximadamente el 50% del metal inhalado ingresa a circulación. Se ha detectado hasta 5 veces más Cd en los órganos de los fumadores que en los de los no fumadores (Benedetti y col., 1999; Satarug y col., 2003).

La capacidad de ciertas plantas de acumular Cd del suelo y ser relativamente resistentes a sus efectos tóxicos (De Figueiredo, 1965) está siendo aprovechada para la fitorremediación de suelos contaminados (Liu y col., 2012; Shukla y col., 2012).

La exposición al Cd por ingestión sucede a través del agua y/o los alimentos contaminados (carne, vegetales, peces, crustáceos, etc.). Diferentes drogas y suplementos dietarios también pueden ser una fuente de contaminación (Genuis y col. 2012). La exposición ocupacional incrementa aún más el grado de intoxicación pues se suman al consumo de agua o alimentos contaminados, la inhalación del humo o del

polvo en el lugar de trabajo (Miura, 2009).

Los efectos tóxicos del Cd dependen de la vía de acceso, la cantidad y el grado de exposición. El Cd se elimina difícilmente, con lo cual se va acumulando en los diferentes tejidos y alcanza una vida media mayor a 20 años en el organismo. La exposición prolongada al Cd ha sido asociada a numerosos problemas de salud en humanos que se manifiestan en el desarrollo y funcionalidad de diversos órganos y sistemas, produciendo alteraciones neurológicas, óseas, cardiovasculares, reproductivas, endocrinas, inmunológicas, así como en el desarrollo de diferentes tumores. Este metal ha sido clasificado como un carcinógeno humano de tipo I por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) y por el Programa Nacional de Toxicología (International Agency for Research on Cancer, 1993; Huff y col., 2007). La inhalación de Cd durante períodos largos es una de las causas condicionantes para el desarrollo de cáncer de pulmón y de mama (Waalkes y col., 1999; Waisberg y col., 2003; Mosavi-Jarrahi y col., 2009; Beveridge y col., 2010), hecho que ha sido observado en el caso de muchos de los fumadores.

Clínicamente, el riñón es el órgano humano que sufre el mayor impacto tóxico del metal. El Cd induce estrés oxidativo y daño mitocondrial, lo cual lleva a la muerte celular programada o apoptosis de las células tubulares. El daño renal determina que se afecten las múltiples funciones de este órgano como la filtración y la reabsorción, la síntesis de vitamina D, etc. que pueden llevar al Síndrome de Fanconi, a una mayor susceptibilidad a la diabetes, la osteomalacia y/o la osteoporosis (Bernhoft, 2013). El ejemplo más extremo de la intoxicación prolongada con Cd es la enfermedad de itai-itai

en Japón (Jarup y col., 1998; Ogawa y col., 2004).

El Cd parece tener un papel determinante como inductor de cáncer en tejidos hormona-dependientes tales como mama, útero, ovario y próstata (García-Morales y col., 1994; Antila y col., 1996; Martin y col., 2003; Siewit y col., 2010), hechos observados principalmente en animales experimentales o en células *in vitro*. Apoyando estos estudios, hallazgos recientes en humanos han mostrado una estrecha relación entre los niveles de Cd en sangre y el cáncer de mama (Nagata y col., 2013; Lafuente, 2013), así como también con el cáncer de páncreas y la mortalidad cardiovascular (Lukkett y col., 2012) o con alteraciones endocrinas (Ciarroca y col., 2013). Sin embargo, hay que considerar que el individuo no está expuesto a un solo metal en el ambiente sino a una mezcla de ellos que potencian entre sí sus efectos nocivos favoreciendo el desarrollo de enfermedades neoplásicas.

## ■ EL CADMIO SOBRE EL EJE HIPOTÁLAMO-HIPOFISARIO

El eje hipotálamo-hipofisario controla la homeostasis del organismo. Regula funciones fisiológicas básicas como el crecimiento, la reproducción y el metabolismo, así como también la adaptación a cambios del medio externo y al estrés.

El hipotálamo es una estructura nerviosa situada en la base del encéfalo. Es el sitio de la regulación neuroendocrina, autonómica y homeostática ya que actúa como un centro integrador que coordina mensajes del entorno, ritmos, patrones de desarrollo endógenos y señales corporales para evocar respuestas autonómicas y endocrinas.

La hipófisis es la glándula en-

docrina directriz. Se localiza en la región ventral del cerebro, aunque fuera de la barrera hematoencefálica, en íntima relación con el hipotálamo a través de la eminencia media y el tallo pituitario (Page y col., 1994). Está compuesta por el tallo pituitario, la hipófisis anterior o adenohipófisis y la hipófisis posterior o

neurohipófisis.

La adenohipófisis es la glándula productora de cinco hormonas: prolactina, hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH), hormona estimulante de tiroideas (TSH) y adrenocorticotrofina (ACTH), que regulan las respectivas

glándulas periféricas y los tejidos efectores.

A su vez, existe un retrocontrol desde las diferentes glándulas periféricas hacia el hipotálamo y la hipófisis (Figura 1).

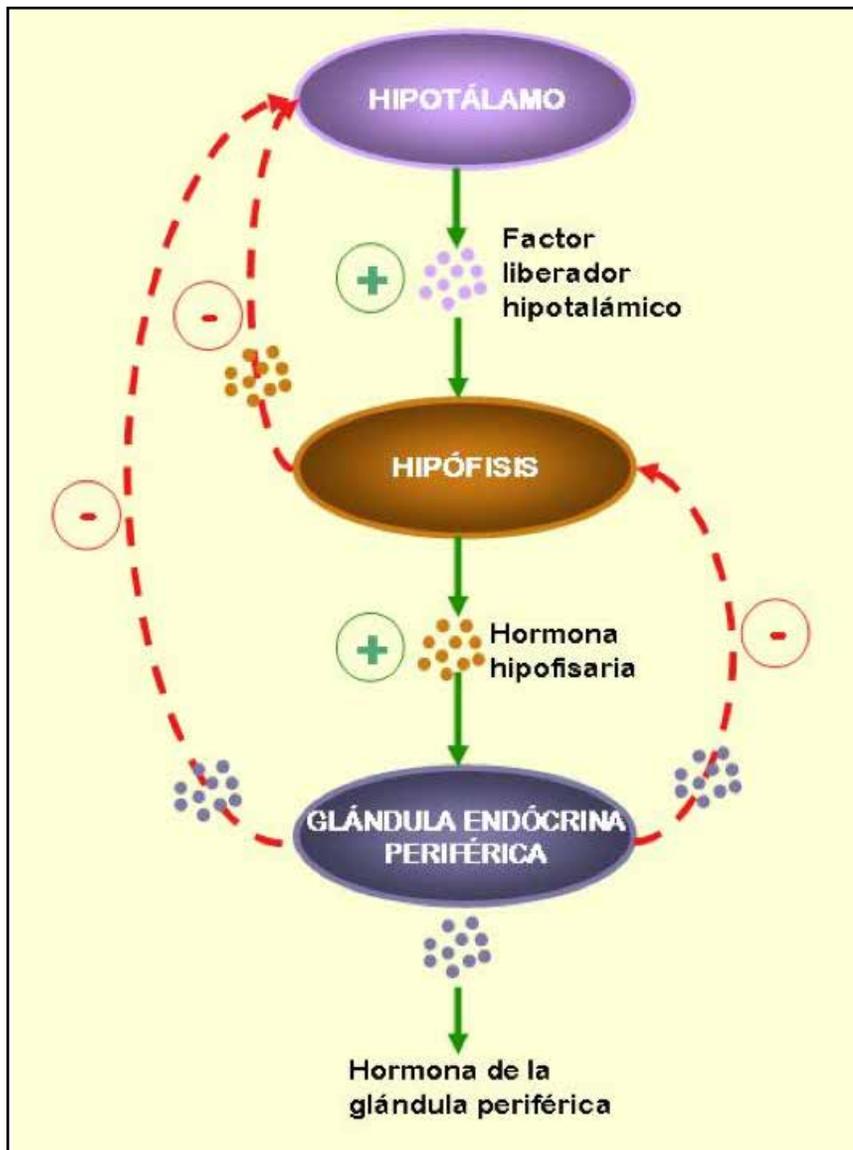
## ■ EL CADMIO Y LA SECRECIÓN HORMONAL

Diferentes estudios han demostrado que el Cd afecta la secreción de varias hormonas, tanto *in vivo* como *in vitro*, así como también que existe una relación neta entre los niveles de Cd plasmático y las alteraciones en los niveles de dichas hormonas en animales de experimentación y en humanos (Iavicoli y col., 2009; Lafuente, 2013).

Con respecto a los efectos del Cd a nivel neuroendocrino y en especial sobre la glándula adenohipofisaria, las evidencias iniciales indicaban que este metal modificaba la liberación de neurotransmisores hipotalámicos y la secreción hormonal adenohipofisaria (Lafuente, 2013). Sin embargo, no se conocía si éste era un efecto directo ni sus mecanismos de acción. Iniciamos nuestro estudio demostrando que el Cd se acumula tanto en el hipotálamo como en la glándula hipofisaria así como también en el hígado. La acumulación de Cd es mayor en la glándula hipofisaria que en el hipotálamo (Poliandri y col., 2003). También se ha observado que se acumula en las gónadas (Lafuente, 2013).

Como mencionamos más arriba el Cd es un disruptor endocrino el cual, dependiendo de la concentración, es capaz de inhibir o estimular la secreción hormonal adenohipofisaria.

El Cd es capaz de actuar a nivel hipotálamo-hipofisario causando estrés oxidativo, impidiendo la función



**Figura 1. Caminos clásicos de control en el eje hipotálamo-hipófisis-glándula periférica.** Las células de la adenohipófisis responden a factores estimuladores hipotalámicos (+) secretando la hormona correspondiente hacia la circulación general. Esta hormona ejerce su efecto (+) en una glándula periférica blanco y a su vez sobre el hipotálamo generando un circuito inhibitorio corto (-) de manera de regular su propia secreción. La glándula periférica responde secretando su propia hormona, que tiene efecto sobre los tejidos receptores. Además, forma un circuito inhibitorio largo (-) que al actuar a nivel del eje hipotálamo-hipofisario regula su propia secreción.

mitocondrial e induciendo apoptosis, *in vivo* e *in vitro*. Por otro lado, este metal es capaz de mimetizar los efectos de los estrógenos sin serlo, al actuar como un metaloestrógeno. Uno de los blancos preferenciales del Cd a nivel adenohipofisario es la secreción de prolactina y las células que la liberan, los lactotropos.

### ■ EL CADMIO COMO INHIBIDOR DE LA SECRECIÓN DE PROLACTINA

*Estudios in vitro y mecanismos de acción.*

El estudio del efecto de la exposición al Cd demostró que este metal (en forma dependiente de la dosis y el tiempo) afecta la viabilidad de las células adenohipofisarias de las ratas de la cepa Wistar en cultivos primarios e inhibe la liberación de prolactina pero no de LH. En estas condiciones, el Cd induce apoptosis especialmente de los lactotropos (Poliandri y col., 2003). La inhibición de la liberación de prolactina causada por el metal se debe, en buena parte, a la muerte de estas células, prueba de ello es que sustancias capaces de prevenir la muerte celular reducen simultáneamente el efecto inhibitorio sobre la liberación de la hormona (Poliandri y col., 2003; Poliandri y col., 2004; Poliandri y col., 2006).

El estudio de los mecanismos de acción a través de los cuales el Cd interfiere con el metabolismo celular y afecta la secreción hormonal y la viabilidad celular adenohipofisaria nos permitió demostrar que este metal posee un efecto nocivo sobre las mitocondrias. El Cd altera la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa y la cadena mitocondrial de transporte de electrones, lo cual lleva a un aumento en la producción de **especies reactivas del oxígeno** (ERO). Este aumento en

la producción de ERO es el responsable del efecto deletéreo del metal sobre las mitocondrias y, como consecuencia, sobre las células (Poliandri y col., 2006a). Prueba de ello es que el tratamiento con distintos antioxidantes reduce el efecto del Cd no sólo sobre las mitocondrias sino que también previene la apoptosis y la inhibición de la liberación de prolactina (Poliandri y col., 2003; Poliandri y col., 2006a).

Otro radical libre que también interviene en los efectos del Cd es el **óxido nítrico (NO)**, elemento de gran importancia para la homeostasis celular y que regula la cadena mitocondrial de transporte de electrones (Poderoso y col., 1996). El Cd estimula la producción de NO en las células adenohipofisarias. Este incremento tiene un efecto citoprotector. El NO reduce la producción de ERO aumentada por el Cd (Poliandri y col., 2004) previniendo el estrés oxidativo, el daño a las mitocondrias y la activación de las caspasas, enzimas que intervienen específicamente en el proceso de apoptosis (Poliandri y col., 2003; Poliandri y col., 2004).

El Cd también estimula la síntesis de **metalotioneínas (MT)** en la adenohipofisis (Miler y col., 2010). Estas proteínas pequeñas ricas en cisteínas funcionan como el principal secuestrador celular de los metales y su síntesis se induce por la presencia de los mismos (Coyle y col., 2002). Se ha sugerido que las MT cumplen un papel importante en la homeostasis de los metales esenciales (Zn, Cu, etc.) y que además desempeñan funciones de protección contra las ERO (Kumari y col., 1998). El NO, ejerce un efecto dual: aunque tiene la capacidad de liberar Cd y Zn unidos a las MT (Khatai y col., 2004), favoreciendo así el efecto tóxico de los metales, también actúa como protector al estimular la síntesis de

las MT. La citotoxicidad del Cd no pudo ser evitada de manera completa en presencia de los inhibidores de caspasas (Poliandri y col., 2003) ni de ciclosporina A (CsA), una molécula que previene la disrupción de la integridad mitocondrial (Poliandri y col., 2006a), lo cual sugiere la existencia de alguna vía alternativa independiente de la vía mitocondrial. Observamos que el Cd afecta los niveles citosólicos de calcio y la actividad de calpaínas indicando la existencia de otra vía, posiblemente la microsomal, por la cual el Cd manifiesta sus efectos deletéreos sobre estas células (Poliandri, 2006c).

Que el estrés oxidativo es el mecanismo principal por el cual el Cd induce su toxicidad fue comprobado mediante el tratamiento simultáneo con antioxidantes. Tres antioxidantes fueron usados, un análogo hidrosoluble de la vitamina E, que protege las membranas de la peroxidación lipídica, la N-acetil cisteína, un precursor del glutatión que interviene en la regulación de las ERO, o la melatonina, hormona secretada por la glándula pineal que tiene propiedades antioxidantes y es secuestradora de ERO (Jou y col., 2004). Los antioxidantes protegen a las células adenohipofisarias del efecto citotóxico del Cd y regulan la secreción de prolactina (Poliandri y col., 2003).

De esta manera, podemos concluir que el efecto citotóxico del Cd a nivel de las células adenohipofisarias parece seguir al menos dos vías paralelas: una mitocondrial y otra relacionada con los cambios en los niveles citosólicos de calcio sugiriendo que también esté involucrado el retículo endoplasmático (estrés microsomal). El efecto inhibitorio del Cd sobre la secreción de prolactina parece estar relacionado con la citotoxicidad preferencial de este metal por los lactotropos dado que no se

observó cambios en la hormona luteinizante (LH), otra de las hormonas adenohipofisarias predominantes en la glándula.

### **Estudios *in vivo*.**

Con el fin de corroborar si el tratamiento *in vivo* con Cd reproducía los efectos observados en el modelo de células adenohipofisarias en cultivo, ratas de la cepa Wistar fueron expuestas a 5 ppm de Cd en el agua de bebida de forma crónica durante un mes (Poliandri y col., 2006b). Esta concentración corresponde a la menor dosis que produjo cambios en los niveles hormonales de prolactina. En estas condiciones observamos que, al igual que en las células en cultivo, el Cd reduce la liberación de prolactina pero no la de LH. Además el Cd disminuye los niveles séricos de TSH.

El tratamiento con Cd causó estrés oxidativo en la adenohipófisis, aumentando los niveles de peroxidación lipídica y la expresión de la enzima hemo oxigenasa-1 (HO-1) (Poliandri y col., 2006b) y de MT (Miler y col., 2010), ambos marcadores de estrés oxidativo. Además el Cd provocó un incremento de la expresión de las enzimas oxido nítrico sintasas (NOSs) 1 y 2 (Poliandri y col., 2006b). Estos resultados *in vivo* serían los correlatos del aumento en la producción de ERO y NO observados *in vitro*.

En el hipotálamo, la exposición al Cd también causó estrés oxidativo, medido como un incremento en la expresión de HO-1 y MT-3 pero no modificó la peroxidación lipídica (Poliandri y col., 2006b; Miler y col., 2010). El hecho de que estos parámetros no hayan sido afectados en el hígado (tejido usado como control) indicó la existencia de una sensibilidad diferencial del eje hipotálamo-hipofisario a este metal (Poliandri y

col., 2006b).

Estos resultados, tanto *in vivo* como *in vitro* muestran que el Cd induce estrés oxidativo y que el incremento en la producción de ERO sería el factor determinante del daño celular que lleva a la apoptosis. Estudios posteriores han corroborado estos resultados (Cuyper y col., 2010; Kim y col., 2013).

En el estudio *in vitro* con las células adenohipofisarias en cultivo mostramos que el tratamiento con antioxidantes previene los efectos del Cd sobre la viabilidad celular y la secreción de prolactina. De igual manera, el tratamiento con melatonina *in vivo* reduce el estrés oxidativo inducido por Cd en el hipotálamo y la adenohipófisis (Poliandri y col., 2006b), lo cual nos permite concluir que el tratamiento con antioxidantes tanto *in vivo* como *in vitro* reduce el estrés oxidativo. Es interesante notar también que es posible revertir el estrés oxidativo inducido por la exposición prolongada al Cd un tiempo después de que ésta fuera suspendida (Miler y col., 2010).

Los efectos citotóxicos del cadmio sobre la adenohipófisis, tanto *in vivo* como *in vitro*, se resumen en la **figura 2**.

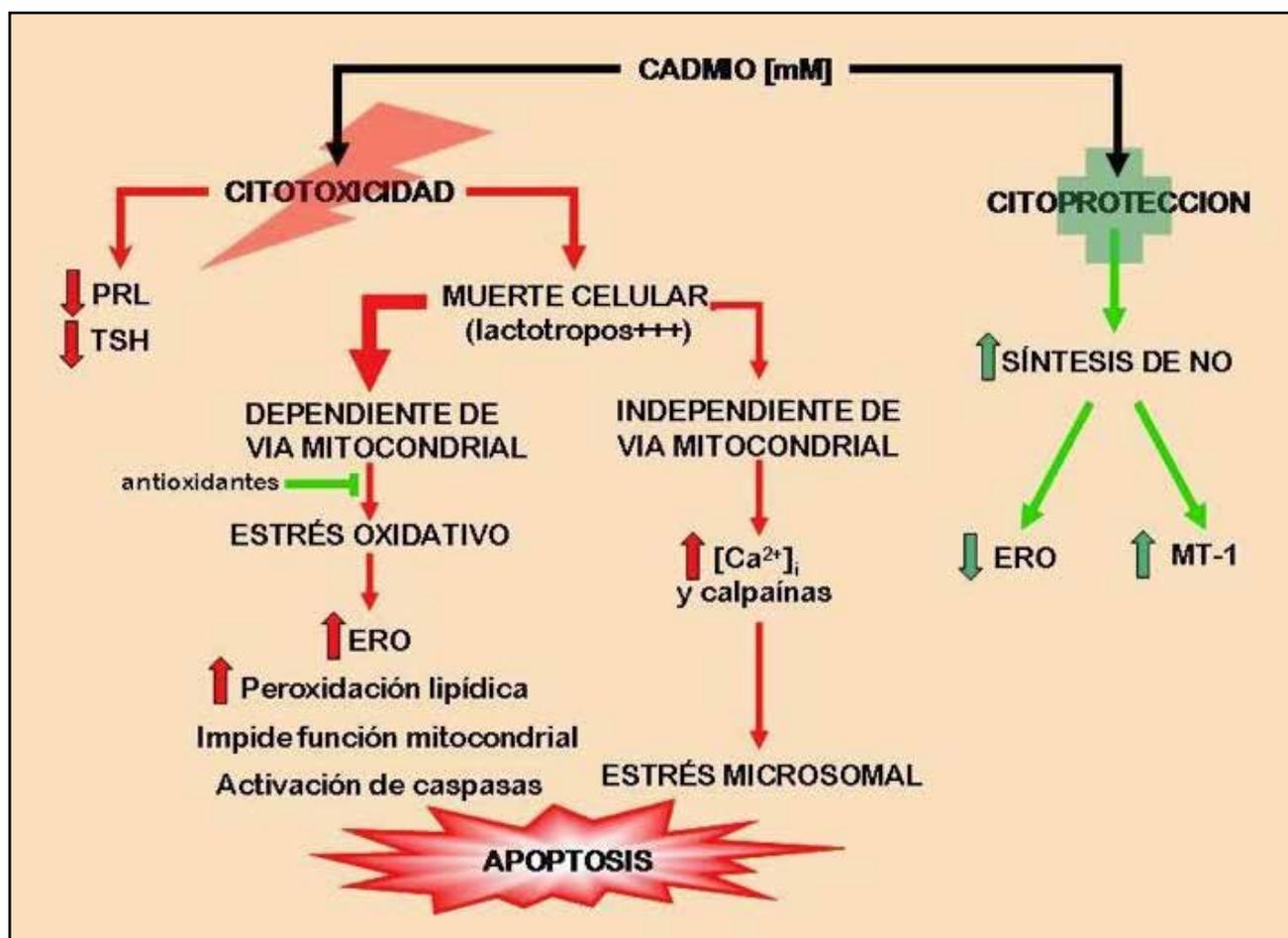
### **■ DISRUPTOR ENDOCRINO**

Desde mediados del siglo pasado, distintos informes indicaban que las poblaciones animales manifestaban alteraciones en la capacidad reproductiva, aumento de la mortalidad en los adultos y en su progenie, deformaciones en los órganos reproductivos, comportamientos sexuales anormales y alteraciones del sistema inmunológico. Algunos de estos problemas también fueron observados en los seres humanos. La Dra. Theo Colborn (zoóloga) encaja las piezas de este rompecabezas y encuentra

el punto común de las múltiples manifestaciones observadas en las diferentes especies y en distintas partes del mundo: "todas las especies de animales estudiadas sufrían alteraciones en el funcionamiento de su sistema endocrino ocasionadas por la exposición a sustancias químicas de constitución muy heterogénea a los cuales denominamos **disruptores endocrinos**" (Colborn y col., 1993).

Los disruptores endocrinos (DE) son agentes químicos naturales o sintéticos que interfieren con la biosíntesis, el metabolismo o la acción de las hormonas endógenas, alterando la homeostasis y por lo tanto, provocando variaciones en la reproducción y en el desarrollo del organismo y/o de su progenie (Diamanti-Kandarakis y col., 2009). El grupo de moléculas clasificadas como DE es altamente heterogéneo e incluye químicos sintéticos utilizados como solventes/lubricantes y plastificantes industriales y sus productos derivados (bifenilos policlorados, bifenilos policromados, dioxinas), plásticos (bisfenol A), plastificantes (ftalatos), pesticidas (diclorodifeniltricloroetano, DDT), fungicidas (vinclozolina) y agentes farmacéuticos (dietilstilbestrol). Pertenecen a este grupo sustancias naturales como los fitoestrógenos (genisteína y cumestrol), tan abundantes en alimentos como la soja.

La mayoría de los estudios realizados sobre los DE revelan que estas sustancias ejercen sus efectos actuando como agonistas o antagonistas de receptores hormonales específicos (Waring y Harris, 2005). Los DE son, por lo tanto, capaces de imitar la actividad de las hormonas y producir efectos equivalentes, pueden bloquear la actividad normal de las hormonas al competir por los receptores específicos o modificar la concentración fisiológica de las mismas al afectar los mecanismos de



**Figura 2. Efectos citotóxicos del cadmio sobre la hipófisis.** El cadmio (Cd) se acumula significativamente en la adenohipófisis y, en concentraciones micromolares, ejerce efectos tóxicos inhibiendo la liberación de prolactina (PRL) y tirotrófina (TSH). Los lactotropos son blanco preferencial de este metal. La citotoxicidad del Cd se debe mayormente a la generación de estrés oxidativo que dispara la apoptosis por la vía mitocondrial. El Cd también causa desbalances en la concentración de calcio intracelular e incrementa la actividad de calpaínas lo cual conduce a la apoptosis por la vía de estrés microsomal. Ambas vías pueden ser prevenidas por el tratamiento con antioxidantes. Por otra parte, el Cd induce la síntesis de óxido nítrico (NO), el cual ejerce efectos citoprotectores en las células disminuyendo la concentración de especies reactivas del oxígeno (ERO) y aumentando la síntesis de metalotioneína-1 (MT-1)..

retrocontrol alterando así su bio-disponibilidad (Waring y Harris, 2005).

Los “**xenoestrógenos**” son un grupo particular de DE, capaces de reproducir las acciones de los estrógenos y/o interferir con su señalización normal. Algunos metales, tales como Cd, Hg, Pb, U (uranio), Ni y As, también pueden actuar como DE mimetizando las acciones de los estrógenos y se denominan “**metaloes-trógenos**” (García-Morales y col., 1994; Stoica y col., 2000; Martin y

col., 2003; Diamanti-Kandarakis y col., 2009; Iavicoli y col., 2009).

#### ■ **ESTRÓGENOS**

Los estrógenos (E2) son una familia de hormonas esteroideas sintetizadas principalmente por los ovarios durante la edad reproductiva y en menores cantidades por las glándulas adrenales y otros tejidos. Su función más importante es promover el crecimiento y la diferenciación de los órganos sexuales y de otros te-

jidos relacionados con la reproducción. También tienen un papel muy importante en el funcionamiento del cerebro, en la remodelación del hueso y en la acumulación de tejido adiposo. El 17β-estradiol (E2) es el estrógeno natural más potente y ejerce sus efectos mediante la activación de múltiples vías de señalización tanto genómicas como no genómicas (Heldring y col., 2007; Shanle y Xu, 2010; Shanle y Xu, 2011). Sus acciones están mediadas por dos receptores específicos (REα

y REβ), que pueden actuar como factores de transcripción nuclear (Drummond y col., 1999; Rousseau y col., 2002; Adamson y col., 2008). Esta hormona, actúa a nivel hipotálamo-adenohipofisario regulando la secreción de varias hormonas hipofisarias (**Figura 1**). De las hormonas adenohipofisarias, la prolactina es la única que se libera espontáneamente por lo cual requiere de factores hipotalámicos inhibidores que controlen dicha secreción. La dopamina hipotalámica es el principal factor inhibidor de la secreción de esta hormona. Sin embargo, su secreción también puede ser estimulada y el E2 no solo es el principal regulador de su secreción (Rhode y Gorski, 1991) sino que además funciona como un factor trófico que induce la proliferación de los lactotopos (Lam y col., 1990; Hashi y col., 1996) y la trans-diferenciación de somatolactotopos a lactotopos (Boockfor y col., 1986; Kineman y col., 1992).

La prolactina es una hormona vital implicada en una variedad de funciones fisiológicas tales como el desarrollo fetal, la reproducción y la respuesta inmune, de manera tal que cualquier alteración en su producción y liberación afecta diferentes funciones del organismo (Bolefeysot y col., 1998).

### ■ EFECTOS XENOESTROGÉNICOS DEL Cd O CADMIO

Como comentamos más arriba, diversos estudios epidemiológicos indican un aumento en la incidencia de enfermedades a nivel del sistema reproductor, tanto en humanos como en otros animales, así como también un incremento en la incidencia de cánceres hormona-dependientes. Diversas investigaciones sugieren que estas y otras patologías relacionadas son consecuencia de la exposición a contaminantes ambientales. Entre ellos, los conocidos

como xenoestrógenos parecen jugar un papel significativo en el desencadenamiento y desarrollo de dichas enfermedades (Jones y King, 1995).

Las hormonas de la adenohipófisis regulan a las diferentes glándulas periféricas. Los estrógenos, actuando a nivel del eje hipotálamo-hipofisario, regulan la secreción de varias de las hormonas adenohipofisarias en especial la de prolactina. La integridad de la unidad de este eje es un factor fundamental para el desarrollo y funcionamiento normal del sistema reproductivo y del individuo como un todo. Sin embargo, aún teniendo un papel cardinal sobre el sistema reproductor, poco se conocía sobre un posible efecto xenoestrogénico del Cd a este nivel.

Nuestro estudio nos permitió demostrar que el Cd, en concentraciones nanomolares, promueve la proliferación celular adenohipofisaria (Ronchetti y col., 2013). Mediante técnicas inmunocitoquímicas determinamos que este efecto se manifiesta principalmente en los lactotopos. Los somatotopos y los gonadotropos, células de la adenohipófisis que sintetizan la hormona de crecimiento y las hormonas LH y FSH, respectivamente, en cambio, no modificaron su tasa de proliferación por efecto del metal. Confirmando el efecto del Cd sobre la proliferación celular, este metal estimula la expresión de proteínas que controlan el ciclo celular tales como las ciclinas D1 y D3, que modulan la progresión de la transición G1/S (Altucci y col., 1996; Dinda y col., 1997), y c-fos, cuya expresión es rápidamente inducida ante estímulos mitogénicos (Angel y Karin, 1991; Saulian y Karin, 2002). Un incremento en la expresión de estas proteínas es indicador de un estímulo de la proliferación celular.

La exposición al Cd también es-

timuló la proliferación de la línea celular GH3, derivada de un tumor sensible a E2 (Ronchetti y col., 2013). Es decir que el Cd es capaz de incrementar la proliferación celular no sólo de las células adenohipofisarias normales sino también de las tumorales, a pesar de su alta tasa de proliferación intrínseca. En este sentido, existen evidencias de que el Cd es capaz de inducir un efecto similar en diferentes líneas celulares tumorales de mama humanas (Siewit y col., 2010; Byrne y col., 2009), así como también de próstata humana LNCaP (Martin y col., 2002).

El Cd estimula la secreción de prolactina. Este metal aumenta la síntesis (expresión del ARN mensajero) y la liberación de prolactina en las células adenohipofisarias en cultivo (Ronchetti y col., 2013). Existen muy pocos trabajos que hayan estudiado los efectos xenoestrogénicos de los contaminantes ambientales sobre la secreción de esta hormona. Wade y col. reportaron que el endosulfano (pesticida órgano clorado) no posee efectos sobre la liberación de prolactina *in vivo* (Wade y col., 1997), mientras que Rousseau y col. postularon que dicho xenoestrógeno, al igual que el clordano (otro pesticida órgano clorado), aumentan la expresión de su ARN mensajero en la línea celular GH3 (Rousseau y col., 2002). El BPA (compuesto utilizado en la fabricación de plásticos de policarbonato, resinas y selladores dentales) presenta una potente actividad xenoestrogénica y, en forma similar al Cd<sup>2+</sup>, modula la liberación de prolactina tanto *in vitro* como *in vivo*, además de inducir la proliferación celular de los lactotopos (Steinmetz y col., 1997).

Los efectos de este metal -sobre la proliferación celular y sobre la secreción de prolactina- se producen por activación del receptor de estrógenos alfa (REα) (Ronchetti y col.,

2013). Este hecho fue confirmado dado que los efectos del Cd no se observan en presencia de un antiestrógeno puro que se une al receptor de estrógenos (ICI 182,780) (Wakeling y col., 1991). Resultados similares fueron obtenidos en la línea celular MCF-7, derivada de un tumor de mama (Brama y col., 2007; Siewit y col., 2010). Respecto a la prolactina, Elango y col. demostraron que el aumento en la expresión de esta hormona inducido por otro xenoestrógeno como el DDT es impedido por la administración conjunta con el antiestrógeno ICI 182,780 en cultivos primarios de adenohipofisis de trucha arco iris (Elango y col., 2006).

Otro de los efectos inducidos por el Cd en las células adenohipofisarias fue su capacidad de modificar la expresión del RE $\alpha$  (Ronchetti y col., 2013). El E2 regula la expresión de su propio receptor en diferentes tejidos. Nuestros resultados muestran que el Cd es capaz de modular la expresión del ARN mensajero del RE $\alpha$  en las células adenohipofisarias. Los niveles de dicho ARN mensajero muestran un aumento marcado durante los primeros tiempos de exposición al metal (8 y 24 hs) (Ronchetti y col., 2013). Martin y col. también observaron un efecto del Cd sobre la expresión del RE $\alpha$ . Sin embargo, a diferencia de nuestros resultados, estos autores trabajando con las células MCF-7, derivada de un tumor de mama, encuentran una disminución en la expresión del ARN mensajero del RE $\alpha$  al cabo de 24 hs de exposición al metal (García Morales y col., 1994; Martin y col., 2003). Aunque los resultados no son totalmente comparables dado que la concentración de Cd utilizada por dicho grupo fue dos órdenes de magnitud mayor a la empleada por nosotros, apoyan el hecho de que el Cd<sup>2+</sup> sea capaz de afectar la expresión del RE $\alpha$ .

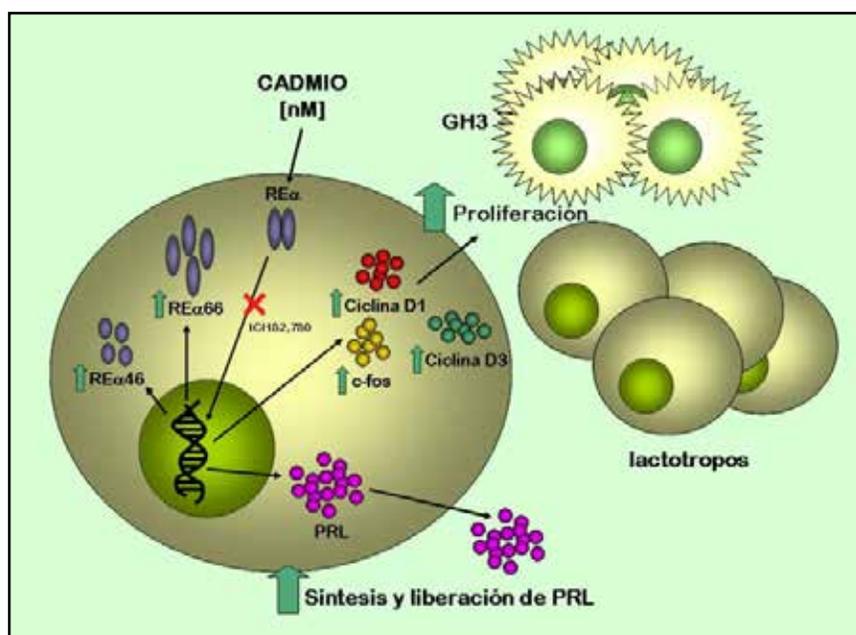
El RE $\alpha$  se expresa en diferentes

isoformas, la isoforma con un peso molecular de 66 kDa y sus variantes truncadas de 46 kDa y 36 kDa. La adenohipofisis expresa tanto la isoforma de 66 kDa del RE $\alpha$  (RE $\alpha$ 66), como las dos variantes truncadas (RE $\alpha$ 46 y RE $\alpha$ 36). El Cd modifica los niveles proteicos de la isoforma del RE $\alpha$ 66 y de su variante truncada RE $\alpha$ 46, siendo estos cambios paralelos a aquellos observados en la expresión del mensajero. La expresión de la variante RE $\alpha$ 36 fue comparativamente baja y difícil de detectar en las mismas condiciones de ensayo.

Existen evidencias bibliográficas que muestran que el tratamiento con E2 afecta la expresión del RE $\alpha$ 66 y de sus variantes truncadas. Se ha demostrado que el tratamiento con estrógenos aumenta la expresión de

los ARN mensajeros de ambas variantes truncadas en las hipófisis de ratas de la cepa Fischer 344, mientras que en las ratas de la cepa Sprague-Dawley se afecta una sola de las variantes (Mitchner y col., 1998). Otros autores han observado que el tratamiento con estrógenos induce la expresión de la isoforma RE $\alpha$ 66 y la variante RE $\alpha$ 46 en cultivos de macrófagos humanos (Murphy y col., 2009). Se ha propuesto que el RE $\alpha$ 46 es capaz formar un dímero con el RE $\alpha$ 66, el cual sería menos activo y por lo tanto funcionaría como un dominante negativo regulando así la actividad del receptor (Mitchner y col., 1998).

Estos resultados confirman que el Cd es un disruptor endocrino con una potente actividad xenoestrogé-



**Figura 3. Efectos xenoestrogénicos del cadmio sobre la adenohipofisis.**

El Cd a concentraciones nanomolares es capaz de unirse al receptor de estrógenos a (RE $\alpha$ ) y estimular la expresión de diferentes genes blanco activados por el E2 (vía genómica), hecho impedido en presencia de un antagonista del RE (ICI 182,780). El Cd aumenta la expresión del propio RE $\alpha$  tanto en su versión completa (RE $\alpha$ 66) como en su versión truncada (RE $\alpha$ 46). El metal estimula preferencialmente la proliferación de los lactotropos incrementando la expresión de proteínas clave en la progresión del ciclo celular, como c-fos y las ciclinas D1 y D3. Al igual que el E2, el Cd también estimula la síntesis y liberación de la prolactina (PRL). Un efecto similar se observa en línea tumoral de lactosomatropos GH3.

nica en las células adenohipofisarias (Figura 3).

### ■ RESUMEN FINAL

El Cd tiene un efecto directo sobre las células adenohipofisarias en cultivo y dependiendo de su concentración presenta un efecto citotóxico o un efecto xenoestrogénico.

El Cd, en concentraciones micromolares, afecta la viabilidad celular y la secreción de prolactina. Este metal induce apoptosis en especial de los lactotropos por, al menos, dos vías independientes: la vía mitocondrial con un aumento en la producción de ERO y la vía citosólica a través de un incremento en los niveles citosólicos de calcio. Por otro lado, demostramos que el Cd estimula la síntesis de NO y este radical libre cumple un papel citoprotector. El Cd específicamente causa una inhibición de la liberación de prolactina pero no de LH.

La exposición al Cd *in vivo* produce estrés oxidativo en el eje hipotálamo-hipofisario (peroxidación lipídica, expresión de hemooxigenasa-1, de metalotioneínas y NO sintasas, confirmando los efectos observados en el modelo de células adenohipofisarias en cultivo.

Mediante el uso de antioxidantes es posible prevenir muchos de los efectos del Cd sobre las células en cultivo. *In vivo*, utilizando melatonina, también se redujo el estrés oxidativo generado por el Cd pero no su acción sobre las hormonas. Futuros tratamientos con otros antioxidantes o con melatonina -en dosis que no afecten por sí mismas la liberación hormonal- es posible que se puedan mejorar también estos parámetros.

El Cd como xenoestrógeno, actuando a través del RE $\alpha$  es capaz de inducir proliferación celular en

cultivos celulares de adenohipofisis en especial de los lactotropos. Este efecto se ve corroborado por un aumento en la expresión de las ciclinas D1 y D3, así como también de c-fos, indicadores de la estimulación del proceso de proliferación.

Este metal estimula la síntesis y liberación de prolactina y modula la expresión del RE $\alpha$  y de sus variantes truncadas imitando los efectos del E2 sobre su receptor en las células adenohipofisarias.

### ■ CONCLUSIÓN

Los humanos así como el resto de los animales están expuestos a numerosos contaminantes químicos que les llegan a través del aire, el agua y los alimentos. Muchos de ellos son nocivos para la salud y afectan la mayoría de los sistemas del organismo, desde el sistema nervioso al inmunológico y el endocrino. Diferentes mecanismos dan cuenta de sus efectos tóxicos. Estos contaminantes por sí mismos son capaces de inducir estrés oxidativo y daño celular. Además, por su capacidad de interactuar con diferentes receptores hormonales, actúan como disruptores endocrinos afectando la homeostasis hormonal y de los tejidos regulados por dichas hormonas

Dentro de los muchos contaminantes ambientales, los metales han incrementado notablemente su presencia en el ambiente debido al uso antropogénico de los mismos. Evidencias bien sustentadas han demostrado que el sistema reproductivo es muy sensible a estos elementos metálicos, tanto aquellos con actividad de disruptores endocrinos como los de actividad citotóxica. Estos últimos, generalmente, inducen estrés oxidativo que lleva a la muerte celular y/o a modificaciones en la estructura del ADN o alteraciones

epigenéticas que causan cambios en la expresión genética favoreciendo la inducción de cáncer.

Los disruptores endocrinos, por su capacidad de activar algunos tipos de receptores y sus vías celulares de señales, pueden actuar a muy bajas concentraciones y alterar la homeostasis hormonal. Teniendo en cuenta el papel crítico que juegan las hormonas en el organismo, los disruptores endocrinos, al igual que ellas, pueden controlar todos los mecanismos fisiológicos de un individuo. Además, y debido a esta misma propiedad, pueden afectar tejidos sensibles durante el proceso de desarrollo. Es posible que los disruptores endocrinos estén asociados al aumento significativo en una variedad de enfermedades endocrinas que incluyen infertilidad y pubertad prematura, obesidad y diabetes, cánceres endocrinos tales como los de mama, ovario, útero y próstata. Como hemos indicado existen evidencias en animales de experimentación y en células *in vitro* de la participación de los disruptores endocrinos en dichos efectos. Estudios en humanos también han demostrado una relación entre los niveles sanguíneos de algunos de los metales y ciertas patologías endocrinas. Sin embargo, por la variedad de contaminantes y sus combinaciones en el ambiente es aun difícil establecer una conclusión definitiva, aunque los resultados presentados sean suficientes para pensar que los contaminantes metálicos son un problema para la salud pública y deben ser tenidos en cuenta.

### ■ GLOSARIO Y ABREVIATURAS

**Antioxidante:** compuesto capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.

**Apoptosis:** proceso de muerte celular programada debido a la pérdida

de señales de supervivencia o a la presencia de señales de muerte.

**Carcinógeno:** agente físico, químico o biológico potencialmente capaz de producir cáncer al exponerse a tejidos vivos.

**Ciclo celular:** conjunto ordenado y secuencial de sucesos que conducen al crecimiento de la célula y la división en dos células hijas.

**Estrés oxidativo:** desequilibrio entre la producción aumentada de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermediarios o reparar el daño resultante.

**Homeostasis:** capacidad de los seres vivos de mantener una condición interna estable compensando los cambios en su entorno mediante el intercambio regulado de materia y energía con el exterior.

**Peroxidación lipídica:** daño oxidativo de los lípidos de las membranas biológicas.

**Traza:** elemento químico necesario en cantidades mínimas para el crecimiento, desarrollo y procesos fisiológicos de un organismo.

**E2:** estrógenos

**ERO:** especies reactivas del oxígeno

**HO-1:** hemooxigenasa-1

**MT-1:** metalotioneína-1

**NO:** óxido nítrico

**PRL:** prolactina

**RE:** receptor de estrógenos

**TSH:** hormona estimulante de tiroides

**LH:** hormona luteotrófica

**FSH:** hormona folículo estimulante

### ■ AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por subsidios de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), de la Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Universidad de Buenos Aires.

Los resultados presentados aquí forman parte de las tesis de doctorado y/o son publicaciones relacionadas de los Dres. Ariel H. Poliandri, Fernanda A. Quinteros, Eliana A. Miler, Silvana I. Nudler y de la Lic. Sonia A. Ronchetti.

### ■ BIBLIOGRAFÍA

Adamson A.D., Friedrichsen S., Semprini S., Harper C.V., Mullins J.J., White M.R.H, Davis J.R.E. (2008) Human prolactin gene promoter regulation by estrogen: Convergence with tumor necrosis factor- $\alpha$  signaling. *Endocrinology* 149, 687–694.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008) Toxicological Profile: Cadmium, <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=48&tid=15>.

Altucci L., Addeo R., Cicatiello L., Dauvois S., Parker M.G., Truss M., Beato M., Sica V., Bresciani F., Weisz A. (1996) 17 $\beta$ -Estradiol induces cyclin D1 gene transcription, p36D1-p34cdk4 complex activation and p105Rb phosphorylation during mitogenic stimulation of G(1)-arrested human breast cancer cells. *Oncogene* 12, 2315–2324.

Angel P., Karin M. (1991) The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in

cell-proliferation and transformation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1072, 129-157.

Antila E., Mussalo-Rauhamaa H., Kantola M., Atroschi F., Westermarck T. (1996) Association of cadmium with human breast cancer. *Science of the Total Environment* 186, 251–256.

Bardullas U., Limón-Pacheco J.H., Giordano M., Cardizales L., Mendoza-Trejo M.S., Rodríguez V.M. (2008) Chronic low-level arsenic exposure causes gender-specific alterations in locomotor activity, dopaminergic system and thioredoxin expression in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 239, 169-177.

Benedetti J.L., Samuel O., Dewailly E., Gingras S., Lefebvre M.A. (1999) Levels of cadmium in kidney and liver tissues among a canadian population (Province of Quebec). *Journal of Toxicology and Environmental Health* 56, 145-163.

Ben-Jonathan N., Steinmetz R. (1998) Xenoestrogens: The emerging story of bisphenol A. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 9, 124-8.

Bernhoft R.A. (2013) Cadmium Toxicity and Treatment. *The Scientific World Journal* Volume 2013, Article ID 394652, 7 pag.

Beveridge R., Pintos J., Parent M.E., Asselin J., Siemiatycki J. (2010) Lung cancer risk associated with occupational exposure to nickel, chromium VI, and cadmium in two population-based case-control studies in Montreal. *American Journal of Industrial Medicine* 53, 476-485.

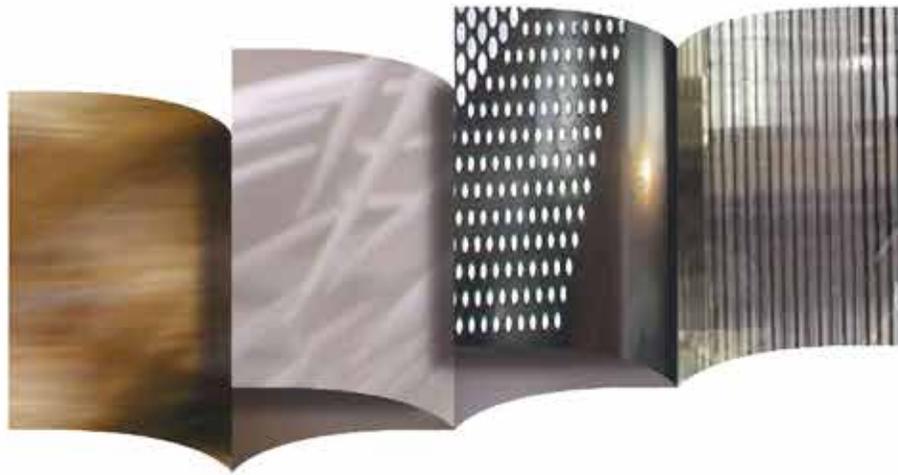
Bole-Feysot C., Goffin V., Edery

- M., Binart N., Kelly P.A. (1998) Prolactin (PRL) and its receptor: Actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews* 19, 225-268.
- Boockfor F.R., Hoeffler J.P., Frawley L.S. (1986) Estradiol induces a shift in cultured cells that release prolactin or growth hormone. *American Journal of Physiology* 250, E103-E105.
- Brama M., Gnessi L., Basciani S., Cerulli N., Politi L., Spera G., Mariani S., Cherubini S., d'Abusco A.S., Scandurra R., Migliaccio S. (2007). Cadmium induces mitogenic signaling in breast cancer cell by an ERalpha dependent mechanism. *Molecular and Cellular Endocrinology* 264, 102-108.
- Byrne C., Divekar S.D., Storchan G.B., Parodi D.A., Martin M.B. (2009) Cadmium - a metallo-hormone?. *Toxicology and Applied Pharmacology* 238, 266-271.
- Ciarrocca M., Capozzella A., Tomei F., Tomei G., Caciari, T. (2013). Exposure to cadmium in male urban and rural workers and effects on FSH, LH and testosterone. *Chemosphere* 90, 2077-2084.
- Colborn T., vom Saal F.S., Soto A.M.. (1993) Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives* 101, 378-384.
- Copes R., Clark N.A., Rideout K., Palaty J., Teschke K. (2008) Uptake of cadmium from Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in British Columbia oyster growers. *Environmental Research* 107, 160-169.
- Coyle P., Philcox J.C., Carey L.C., Rofe A.M. (2002) Metallothionein: the multipurpose protein. *Cellular and Molecular Life Sciences* 59, 627-647.
- Cuyper A., Plusquin M., Remans T., Jozefczak M., Keunen E., Gielen H., Opdenakker K., Nair A.R., Munters E., Artois T.J., Nawrot T., Vangronsveld J., Smeets K. (2010) Cadmium stress: an oxidative challenge. *BioMetals* 23, 927-940.
- Chaney R.L., Ryan J.A., Li Y.M., Brown S.L. (1999). Soil cadmium as a threat to human health. In: McLaughlin, M.J., Singh, B.R. (Eds.), *Developments in Plant and Soil Sciences*, vol. 85. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 219-256.
- De Figueiredo F.J. (1965). Piqui Plant Food. *Revista Brasileira Medicina* 22, 580-582.
- Diamanti-Kandarakis E., Bourguignon J.P., Giudice L.C., Hauser R., Prins G.S., Soto A.M., Zoeller R.T., Gore A.C. (2009) Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews* 30, 293-342.
- Dinda S., Kodali-Gali S., Sevilla L., Burkley M., Hurd C. and Moudgil V. K. (1997) Inhibition of proliferation of T47D human breast cancer cells: Alterations in progesterone receptor and p53 tumor suppressor protein. *Molecular and Cellular Biochemistry* 175, 81-89.
- Drummond A.E., Baillie A.J., Findlay J.K. (1999) Ovarian estrogen receptor alpha and beta mRNA expression: impact of development and estrogen. *Molecular and Cellular Endocrinology* 149, 153-161.
- Elango A., Shepherd B., Chen T.T. (2006). Effects of endocrine disruptors on the expression of growth hormone and prolactin mRNA in the rainbow trout pituitary. *General and Comparative Endocrinology* 145, 116-127.
- García-Morales P., Saceda M., Kenney N., Salomon D.S., Kim N., Salomon D.S., Gottardis M. M., Solomon H.B., Sholler P.F., Jordan V.C., Martin M.B. (1994) Effect of cadmium on estrogen receptor levels and estrogen-induced responses in human breast cancer cells. *Journal of Biological Chemistry* 269, 16896-16901.
- Genuis, S.J., Schwalfenberg, G., Siy, A.K., Rodushkin, I. (2012). Toxic element contamination of natural health products and pharmaceutical preparations. *PLoS One* 7, e49676.
- Goering P.L., Waalkes M.P., Klaassen C.D. (1995) Toxicology of cadmium, in: *Toxicology of Metals: Biochemical Aspects, Handbook of Experimental Pharmacology*, Goyer R.A., Cherian M.G. (eds), Springer, New York, 189-213.
- Hashi A., Mazawa S., Chen S., Yamakawa K., Kato J., Arita J. (1996) Estradiol-induced diurnal changes in lactotroph proliferation and their hypothalamic regulation in ovariectomized rats. *Endocrinology* 137, 3246-3252.
- Heldring N., Pike A., Andersson S., Matthews J., Cheng G., Hartman J., Tujague M., Strom A., Treuter E., Warner M., Gustafsson J.A. (2007) Estrogen receptors: How do they signal and what are their targets. *Physiology Reviews* 87, 905-931.

- Huff J., Lunn R.M., Waalkes M.P., Tomatis L., Infante P.F. (2007) Cadmium-induced cancers in animals and in humans. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 13, 202-212.
- Iavicoli I., Fontana L., Bergamaschi A. (2009) The effects of metals as endocrine disruptors. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. Critical Reviews* 12, 206-223.
- International Agency for Research on Cancer (1993) Beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry. Working group views and expert opinions. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* 58, 1-415.
- Jarup L., Berglund M., Elinder C.G., Nordberg G., Vahter M. (1998) Health effects of cadmium exposure-A review of the literature and a risk estimate. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health* 24, 1-51.
- Jones S.B., King L.B. (1995) Plasma phosphoprotein as an indicator of estrogen-induced vitellogenin production in brook trout. *International Congress of Toxicology VII* 6-P20.
- Jou M.J., Peng T.I., Reiter R.J., Jou S.B., Wu H.Y., Wen S.T. (2004) Visualization of the antioxidative effects of melatonin at the mitochondrial level during oxidative stress-induced apoptosis of rat brain astrocytes. *J. Pineal Res* 37, 55-70.
- Khatai L., Goessler W., Lorencova H., Zangger K. (2004) Modulation of nitric oxide-mediated metal release from metallothionein by the redox state of glutathione in vitro. *European Journal of Biochemistry* 271, 2408-2416.
- Kim S., Cheon H.S., Kim S.Y., Juhn Y.S., Kim Y.Y. (2013) Cadmium induces neuronal cell death through reactive oxygen species activated by GADD153. *BMC Cell Biology* 14, 4.
- Kineman R.D., Faught W.J., Frawley L.S. (1992) Steroids can modulate transdifferentiation of prolactin and growth hormone in bovine pituitary cultures. *Endocrinology* 130, 3289-3294.
- Koller L.D. (1998). Cadmium. In: *Immunotoxicology of Environmental and Occupational Metals*. Zelikoff J.T., Thomas, P.T. (eds.), Taylor & Francis, London 41-61.
- Kumari M.V., Hiramatsu M., Ebadi M. (1998) Free radical scavenging actions of metallothionein isoforms I and II. *Free Radical Research* 29, 93-101.
- Lam K.S.L., Srivastava G., Lechan R.M., Lee T., Reichlin S. (1990) Estrogen regulates the gene expression of vasoactive intestinal peptide in the anterior pituitary. *Neuroendocrinology* 52, 417-421.
- Lafuente A. (2013) The hypothalamic-pituitary-gonadal axis is target of cadmium toxicity. An update of recent studies and potential therapeutic approaches. *Food and Chemical Toxicology* 59, 395-404.
- Liu Y., Wang K., Xu P., Wang Z. (2012) Physiological responses and tolerance threshold to cadmium contamination in *Eremochloa ophiuroides*. *International Journal of Phytoremediation* 14, 467-480.
- Luckett B.G., Su L.J., Rood J.C., Fontham E.T. (2012) Cadmium exposure and pancreatic cancer in South Louisiana. *Journal of Environmental and Public Health*. Article ID 180186.
- Martin M.B., Voeller H.J., Gelmann E.P., Lu J., Stoica E.G., Hebert E.J., Reiter R., Singh B., Danielson M., Pentecost E., Stoica A. (2002). Role of cadmium in the regulation of AR gene expression and activity. *Endocrinology* 143, 263-275.
- Martin M.B., Reiter R., Pham T., Avellanet Y.R., Camara J., Lahm M., Pentecost E., Pratap K., Gilmore B.A., Diverakar S., Dagata R.S., Bull J.L., Stoica A. (2003) Estrogen-like activity of metals in MCF-7 breast cancer cells. *Endocrinology* 144, 2425-2436.
- Miler E.A., Nudler S.I., Quinteros F.A., Cabilla J.P., Ronchetti S.A., Duvilanski B.H. (2010) Cadmium induced-oxidative stress in pituitary gland is reversed by removing the contamination source. *Human and Experimental Toxicology* 29, 873-880.
- Miura N. (2009) Individual susceptibility to cadmium toxicity and metallothionein gene polymorphisms: with references to current status of occupational cadmium exposure. *Industrial Health* 47, 487-494.
- Mitchner N.A., Garlick C., Ben-Jonathan N. (1998) Cellular distribution and gene regulation of estrogen receptors {alpha} and {beta} in the rat pituitary gland. *Endocrinology* 139, 3976-3983.
- Mosavi-Jarrahi A., Mohagheghi M., Kalaghchi B., Mousavi-Jarrahi Y., Noori M.K. (2009) Estimating the incidence of lung cancer attribu-

- table to occupational exposure in Iran. *Population Health Metrics* 7, 7.
- Murphy A.J., Guyre P.M., Wira C.R., Pioli P.A. (2009) Estradiol regulates expression of estrogen receptor ERα46 in human macrophages. *PLoS One* 4, e5539.
- Nagata C., Nagao Y., Nakamura K., Wada K., Tamai Y., Tsuji M., Yamamoto S., Kashiki Y. (2013) Cadmium exposure and the risk of breast cancer in Japanese women. *Breast Cancer Research and Treatment* 138, 235–239.
- Nudler S.I., Quinteros F.A., Miler E.A., Cabilla J.P., Ronchetti S.A., Duvilanski B.H. (2009) Chromium VI administration induces oxidative stress in hypothalamus and anterior pituitary gland from male rats. *Toxicology Letters* 185, 187-192.
- Ogawa T., Kobayashi E., Okubo Y., Suwazono Y., Kido T., Nogawa K. (2004) Relationship among prevalence of patients with Itai-itai disease, prevalence of abnormal urinary findings, and cadmium concentrations in rice of individual hamlets in the Jinzu River basin, Toyama prefecture of Japan. *International Journal of Environmental Health Research*. 14, 243-252.
- Page R. (1994) The anatomy of hypothalamus-hypophysial complex. Ed. Knobil E. and Neill J. The physiology of reproduction 2<sup>nd</sup> edition. Raven Press, New York.
- Perilli P., Mitchell L.G., Grant C.A., Pisantea M. (2010) Cadmium concentration in durum wheat grain (*Triticum turgidum*) as influenced by nitrogen rate, seeding date and soil type. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 813-822.
- Poderoso J.J., Carreras M.C., Lisdero C., Riobó N., Schöpfer F., Boveris A. (1996) Nitric oxide inhibits electron transfer and increases superoxide radical production in rat heart mitochondria and sub-mitochondrial particles. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 328, 85-92.
- Poliandri A., Cabilla J.P., Velardez M., Bodo C., Duvilanski B.H. (2003) Cadmium induces apoptosis in anterior pituitary cells that can be reversed by treatment with antioxidants. *Toxicology and Applied Pharmacology* 190, 17-24.
- Poliandri A.H., Velardez M.O., Cabilla J.P., Bodo C.C., Machiavelli L.I., Quinteros A.F., Duvilanski B.H. (2004) Nitric oxide protects anterior pituitary cells from cadmium-induced apoptosis. *Free Radicals Biology and Medicine* 37, 1463-1471.
- Poliandri A.B., Machiavelli L.I., Quinteros A.F., Cabilla J.P., Duvilanski B.H. (2006a) Nitric oxide protects the mitochondria of anterior pituitary cells and prevents cadmium-induced cell death by reducing oxidative stress. *Free Radicals Biology and Medicine* 40, 679-688.
- Poliandri A., Esquifino A., Cano P., Jiménez A., Lafuente A., Cardinali P., Duvilanski B.H. (2006b). In vivo protective effect of melatonin on cadmium-induced changes in redox balance and gene expression in rat hypothalamus and anterior pituitary. *Journal of Pineal Research* 41, 238–246.
- Poliandri A. (2006c) Efectos del cadmio sobre la viabilidad celular y la liberación hormonal adenohipofisaria, mecanismos de acción. Tesis de doctorado. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Quinteros A.F., Poliandri A.B., Machiavelli L.I., Cabilla J.P., Duvilanski B.H. (2007) In vivo and in vitro effects of chromium VI on anterior pituitary hormone release and cell viability. *Toxicology and Applied Pharmacology* 218, 79-87.
- Rana S. V. (2008) Metals and apoptosis: Recent developments. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 22, 262–284.
- Rhode P.R., Gorski J. (1991) Inhibitory effects of serum and stimulatory effects of estrogen on prolactin mRNA levels in GH3 rat pituitary tumor cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* 82, 1-9.
- Ronchetti S.A., Nudler S.I., Cabilla J.P., Gonsebatt M.E., Duvilanski B.H. (2012) Apoptosis induced by arsenic is partially reverted by antioxidants in anterior pituitary cells. *International Congress of Endocrinology (ICE)*. Florencia, Italia. P# 768
- Ronchetti S.A., Miler E.A., Duvilanski B.H., Cabilla J.P. (2013) Cadmium mimics estrogen-driven cell proliferation and prolactin secretion from anterior pituitary cells. *PLoS One* 8, e81101.
- Rousseau J., Cossette L., Grenier S., Martinoli M.G. (2002) Modulation of prolactin expression by xenoestrogens. *General and Comparative Endocrinology* 126, 175-182.
- Satarug S., Baker J.R., Urbenjapol S., Haswell-Elkins M., Reilly P.E.B., Willians D.J. (2003) A global

- perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. *Toxicology Letters* 137, 65–83.
- Scherer G., Barkemeyer H. (1983). Cadmium concentrations in tobacco and tobacco smoke. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 7, 71–78.
- Sears M.E., Kerr K.J., Bray R.I. (2012) Arsenic, Cadmium, Lead, and Mercury in Sweat: A Systematic Review 2012 184745, 10.
- Shanle E.K., Xu W. (2010) Selectively targeting estrogen receptor for cancer treatment. *Advanced Drug Delivery Reviews* 62, 1265–1276.
- Shanle E.K., Xu W. (2011) Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling: Identification and mechanisms of action. *Chemical Research in Toxicology* 24, 6–19.
- Shaulian E., Karin M. (2002) AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nature Cell Biology* 4, 131–136.
- Shukla D., Kesari R., Mishra S., Dwivedi S., Tripathi R.D., Nath P., Trivedi P.K. (2012) Expression of phytochelatin synthase from aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* L. enhances cadmium and arsenic accumulation in tobacco. *Plant Cell Reports* 31, 1687–1699.
- Siewit C.L., Gengler B., Vegas E., Puckett R., Louie M.C. (2010) Cadmium promotes breast cancer cell proliferation by potentiating the interaction between ER alpha and c-Jun. *Molecular Endocrinology* 24, 981–992.
- Steinmetz R., Brown N.G., Allen D.L., Bigsby R.M., Ben-Jonathan N. (1997) The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release in vitro and in vivo. *Endocrinology* 138, 1780–1786.
- Stoica A., Katzenellenbogen B.S., Martin M.B. (2000) Activation of estrogen receptor-alpha by the heavy metal cadmium. *Molecular Endocrinology* 14, 545–553.
- Thornton I. (1992). Sources and pathways of cadmium in the environment. IARC Scientific Publication 118, 149–162.
- Waalkes M.P. (2003) Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research* 533, 107–120.
- Wade M.G., Desaulniers D., Leinhardt K., Foster W.G. (1997) Interactions between endosulfan and dieldrin on estrogen-mediated processes in vitro and in vivo. *Reproductive Toxicology* 11, 791–798.
- Waisberg M., Joseph P., Hale B., Beyersmann D. (2003) Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis: a review. *Toxicology* 192, 95–117.
- Wakeling A.E., Dukes M., Bowler J. (1991) A potent specific pure antiestrogen with clinical potential. *Cancer Research* 51, 3867–3873.
- Waring R.H., Harris R.M. (2005) Endocrine disruptors: A human risk? *Molecular and Cellular Endocrinology* 244, 2–9.



## Desarrollo y gestión de proyectos científicos y tecnológicos innovadores

FUNINTEC es una organización sin fines de lucro creada por la Universidad de San Martín cuyo objetivo es promover y alentar la investigación, el desarrollo tecnológico y la transferencia de conocimientos a los sectores público y privado, sus empresas y en particular a las PyMES.

Dentro de los alcances previstos por la Ley de Innovación Tecnológica, funciona como vínculo entre el sistema científico tecnológico y el sector productivo.

**CONTACTO:**  
[www.funintec.org.ar](http://www.funintec.org.ar)

Fundación  
Innovación  
y Tecnología

**FUNINTEC**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN



## Recuperación de tecnologías ancestrales y sustentables en Jujuy

### La vicuña como modelo de producción sustentable

*Ciencia e historia se unen para preservar a la vicuña*

*Cazando vicuñas anduve en los cerros  
Heridas de bala se escaparon dos.*

*- No caces vicuñas con armas de fuego;  
Coquena se enoja, - me dijo un pastor.*

*- ¿Por qué no pillarlas a la usanza vieja,  
cercando la hoyada con hilo punzó ?*

*- ¿Para qué matarlas, si sólo codicias  
para tus vestidos el fino vellón ?*

*Juan Carlos Dávalos, Coquena*

Lo primero es pedir permiso a la Pachamama. Porque a ella, en la cosmovisión andina, pertenecen las vicuñas que se extienden por el altiplano de Perú, Bolivia, Chile y Argentina. Una ceremonia ancestral, unida a la ciencia moderna, permite que comunidades y científicos argentinos exploten de manera sustentable un recurso de alto valor económico y social.

La vicuña es una especie silvestre de camélido sudamericano que habita en la puna. Hasta 1950-1960 estuvo en serio riesgo de extinción debido a la ausencia de planes de manejo y conservación. Desde la llegada de los españoles se comenzó con la caza y exportación de los cueros para la obtención de la fibra, que puede llegar a valer U\$600 por kilo, lo que llevo a la casi desaparición de estos animales. Por ese entonces, la población de vicuñas en América era cercana a los 4 millones de ejemplares, en 1950 no eran más de 10.000.

A fines de la década del 70 Argentina, Bolivia, Chile, Perú y Ecuador firmaron un Convenio para la conservación y manejo de la vicuña que permitió recuperar su población hasta contar en la actualidad con más de 76 mil ejemplares en nuestro país.

En Santa Catalina, Jujuy, a 3.800 metros sobre el nivel del mar, investigadores de CONICET, junto a comunidades y productores locales, han logrado recuperar una tecnología prehispánica sustentable para la obtención de la fibra de vicuña. Se trata de una ceremonia ancestral y captura mediante la cual se arrean y esquilan las vicuñas silvestres para obtener su fibra. Se denomina chaku y se realizaba en la región antes de la llegada de los conquistadores españoles. Según Bibiana Vilá, investigadora independiente de CONICET y directora del grupo Vicuñas, Camélidos y Ambiente (VICAM) *"Hoy podemos pensar en volver a hacer ese chaku prehispánico sumado a técnicas que los científicos aportamos para que las vicuñas pasen por toda esa situación sufriendo el menor stress posible. Las vicuñas vuelven a la naturaleza, la fibra queda en la comunidad, y nosotros tomamos un montón de datos científicos."*

### El chaku

El chaku es una práctica ritual y productiva para la esquila de las vicuñas. Durante el imperio inca, las cacerías reales o chaku eran planificadas por el inca en persona. En esta ceremonia se esquilaba a las vicuñas y se las liberaba nuevamente a la vida silvestre. La fibra obtenida era utilizada para la confección de prendas de la elite y su obtención estaba regulada por mecanismos políticos, sociales, religiosos y culturales. Se trata de un claro ejemplo de uso sustentable de un recurso natural. Hugo Jacobaccio, zoológico e investigador principal de CONICET, explica que *"actualmente el chaku concentra hasta 80 personas, pero durante el imperio inca participaban de a miles. Hoy las comunidades venden esa fibra a acopiadores textiles y obtienen un ingreso que complementa su actividad económica principal, el pastoreo de llamas y ovejas"*.

El proceso comienza con la reunión de todos los participantes, luego toman una soga con cintas de colores reunidos en semicírculo y arrean lentamente a las vicuñas guiándolas hacia un embudo de red de 1 km de largo que desemboca en un corral. Cuando los animales están calmados se los esquila manipulándolos con sumo cuidado para reducir el stress y se los libera. Hoy, 1500 años después del primer registro que se tiene de esta ceremonia, la ciencia argentina suma como valor agregado: el bienestar animal y la investigación científica. En tiempo del imperio Inca, el chaku se realizaba cada cuatro años, actualmente se realiza anualmente sin esquilarse a los mismos animales *"se van rotando las zonas de captura para que los animales renueven la fibra"* explica Jacobaccio. Según Vilá *"es un proyecto que requiere mucho trabajo pero que demuestra que la sustentabilidad es posible, tenemos un animal vivo al cual esquilamos y al cual devolvemos vivo a la naturaleza. Tiene una cuestión asociada que es la sustentabilidad social ya que la fibra queda en la comunidad para el desarrollo económico de los pobladores locales."*

Yanina Arzamendia, bióloga, investigadora asistente de CONICET y miembro del equipo de VICAM, explica que se

esquilan sólo ejemplares adultos, se las revisa, se toman datos científicos y se las devuelve a su hábitat natural. Además destaca la importancia de que el chaku se realice como una actividad comunitaria *“en este caso fue impulsada por una cooperativa de productores locales que tenían vicuñas en sus campos y querían comercializar la fibra. Además participaron miembros del pueblo originario, estudiantes universitarios y científicos de distintas disciplinas. Lo ideal es que estas experiencias con orientación productiva tengan una base científica.”*

### **Paradojas del éxito.**

La recuperación de la población de vicuñas produjo cierto malestar entre productores ganaderos de la zona. Muchos empezaron a percibir a la vicuña como competencia para su ganado en un lugar donde las pasturas no son tan abundantes. En este aspecto el trabajo de los investigadores de CONICET fue fundamental, según Arzamendia *“el chaku trae un cambio de percepción que es ventajoso para las personas y para la conservación de la especie. Generalmente el productor ve a las vicuñas como otro herbívoro que compite con su ganado por el alimento y esto causa prejuicios. Hoy comienzan a ver que es un recurso valioso y ya evalúan tener más vicuñas que ovejas y llamas. Nuestro objetivo es desterrar esos mitos”,* concluye.

Pedro Navarro es el director de la Cooperativa Agroganadera de Santa Catalina y reconoce los temores que les produjo la recuperación de la especie: *“Hace 20 años nosotros teníamos diez, veinte vicuñas y era una fiesta verlas porque habían prácticamente desaparecido. En los últimos años se empezó a notar un incremento y más próximamente en el último tiempo ya ese incremento nos empezó a asustar porque en estas fincas tenemos ovejas y tenemos llamas”. Navarro identifica la resolución de estos problemas con el trabajo del grupo VICAM: “Yo creo que como me ha tocado a mí tener que ceder en parte y aprender de la vicuña y de VICAM, se puede contagiar al resto de la gente y que deje de ser el bicho malo que nos perjudica y poder ser una fuente más productiva.”*

### **La fibra de camélido**

Además de camélidos silvestres como la vicuña o el guanaco, existen otros domesticados como la llama cuyo manejo es similar al ganado, para impulsar la producción de estos animales y su fibra, el Estado ha desarrollado dos instrumentos de fomento. En la actualidad se encuentran en evaluación varios proyectos para generar mejoras en el sector productor de fibra fina de camélidos que serán financiados por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Se trata de dos Fondos de Innovación Tecnológica Sectorial destinados a la agroindustria y al desarrollo social que otorgarán hasta \$35.000.000 y \$8.000.000 respectivamente. Los proyectos destinados a la Agroindustria son asociaciones entre empresas y organismos del sector público con el objetivo de mejorar la calidad de la fibra de camélido doméstico a partir del desarrollo de técnicas reproductivas, mejoramiento genético e innovaciones en el manejo de rebaños; incorporar valor a las fibras a partir de mejoras en la materia prima o el producto final; permitir la trazabilidad de los productos para lograr su ingreso en los mercados internacionales y fortalecer la cadena de proveedores y generar empleos calificados.

La convocatoria Desarrollo Social tiene como fin atender problemas sociales mediante la incorporación de innovación en acciones productivas, en organización social, en el desarrollo de tecnologías para mejorar la calidad de vida de manera sostenible y fomentar la inclusión social de todos los sectores. Otorgará hasta \$8.000.000 por proyecto que mejore las actividades del ciclo productivo de los camélidos domésticos, la obtención y/o el procesamiento de la fibra, el acopio, el diseño y el tejido, el fieltro y la confección de productos.

