

EL MERCURIO COMO AGENTE INDUCTOR DE DAÑO RENAL

Palabras clave: riñón, mercurio, transportadores de aniones orgánicos.
Key words: kidney, mercury, organic anion transporters.

El mercurio es un conocido contaminante ambiental que causa efectos deletéreos en la salud humana. Las exposiciones que conducen al daño de la salud se originan de muchas fuentes como por ejemplo la exposición ocupacional no intencional, la incorporación al organismo por medio de las amalgamas dentales, la comida y por su presencia como agente preservante de vacunas. A fin de desarrollar mejores estrategias farmacológicas para el tratamiento de individuos intoxicados y expuestos, es importante conocer como las diferentes especies químicas de este metal llegan y afectan los órganos blancos. El mercurio se acumula y ocasiona efectos tóxicos en cerebro, riñón, intestino, hígado y placenta. En los riñones la acumulación de mercurio produce insuficiencia renal aguda. Estudios recientes han demostrado que la actividad de transportadores de membrana, principalmente de los transportadores de aniones orgánicos 1 y 3 (Oat1 y Oat3) y de la proteína de resistencia a multidrogas 2 (Mrp2) determinan los niveles de acumulación del mercurio en riñón. En este artículo se describen también algunos resultados obtenidos en nuestro laboratorio, como por ejemplo los efectos de la exposición del mercurio sobre la expresión y función de Oat1, Oat3 y Mrp2 en el riñón, las posibles implicancias de la modulación de la expresión y función de estos transportadores en la farmacoterapéutica de las intoxicaciones con mercurio y la validación de la excreción urinaria del transportador de aniones orgánicos 5 (Oat5) como biomarcador temprano de la nefrotoxicidad inducida por mercurio.

Mercury is a prominent environmental contaminant that causes detrimental effects to human health. The exposure leading to health hazards are originated from many sources including: unintentional occupational exposure, body incorporation of Hg as an ingredient in amalgam fillings, food and as a preservative in vaccines. In order to develop better pharmacological strategies for the treatment of intoxicated and exposed people, it is relevant to understand how the diverse chemical species of this metal arrive and affect the target organs. Mercury accumulates in brain, kidney, intestine, liver and placenta producing toxic effects. In the kidneys, mercury accumulation produces acute kidney injury. Recent studies have demonstrated that the activity of membrane transporters, mainly organic anion transporters 1 and 3 (Oat1 and Oat3) and the multidrug resistance protein 2 (Mrp2), determines the accumulation levels of mercury in the kidney. In this article are also described some results obtained in our laboratory, such as the effects of acute mercury exposition on the expression and function of Oat1, Oat3 and Mrp2 in the kidney, the possible implications of the modulation in the expression and function of these transporters in the pharmacotherapeutics of mercuric intoxications and the validation of urinary excretion of the organic anion transporter 5 (Oat5) as an early biomarker of mercury induced nephrotoxicity.

■ FUENTES Y ESPECIES QUÍMICAS DE MERCURIO.

El mercurio es un metal pesado que ha sido usado con fines médicos y comerciales durante siglos. Este metal causa efectos deletéreos para la salud humana, es ubicuo en el medio ambiente global de donde nunca desaparece asegurando que la contaminación del presente será un problema para las futuras generaciones. Este metal deriva de fuentes

naturales (erupciones volcánicas y erosiones de minerales que contienen mercurio) y de fuentes antropogénicas como los procesos industriales. El mercurio se emplea para la fabricación de lámparas, termómetros, barómetros, amalgamas dentales, baterías, etc. Su uso en pinturas, pesticidas, conservadores de semillas, cosméticos y vacunas ha sido restringido sólo en algunos países. La centrales térmicas de carbón y los pequeños emprendimientos mi-

neros dedicados a la extracción de oro con mercurio en Latinoamérica son también importantes fuentes contaminantes de mercurio (Clarkson y Cols, 2003; Counter y Buchanan, 2004, Zalups, 2000). La extracción de oro con mercurio y posterior calentamiento de la amalgama para eliminar el mercurio es una técnica que aún se usa en algunos países no desarrollados.

En nuestro país se han identifi-

Adriana Mónica Torres

Directora Académica Área Farmacología-Investigadora Principal CONICET.
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas.
Universidad Nacional de Rosario.
Suipacha 590-S2002LRK Rosario.

admotorres@yahoo.com.ar

cado diferentes niveles de contaminación con mercurio en compartimientos abióticos (sedimentos de superficie, partículas en suspensión) y biológicos (peces, cangrejos, líquenes y algas), en la laguna de Mar Chiquita, en el estuario de Bahía Blanca, en el estuario del Río de La Plata y en el alto valle del Río Negro (Arribére y Cols, 2003; Marcovecchio, 2004; De Marco y Cols, 2006).

Como consecuencia de que el riesgo de exposición de los seres humanos al mercurio se incrementa, resulta de relevancia para los investigadores conocer como las varias formas químicas de este metal llegan y afectan los tejidos y órganos blancos de manera de que se puedan desarrollar estrategias farmacológicas más eficaces para el tratamiento de

individuos intoxicados o expuestos.

El mercurio (Hg) existe en tres especies: mercurio elemental (mercurio metálico, Hg^0), compuestos de mercurio inorgánico (principalmente cloruro mercúrico, HgCl_2) y compuestos de mercurio orgánico (principalmente metilmercurio, CH_3Hg^+ y etilmercurio, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$).

La contaminación de la población con Hg^0 se produce fundamentalmente por su presencia en termómetros, en amalgamas dentales, en cosméticos, en rituales de algunas sectas religiosas y en conmutadores de mercurio presentes en zapatillas luminosas para niños (Clarkson y Cols, 2003; Counter y Buchanan, 2004) (Ver Figura 1).

Las sales mercúricas tienen aún muy diversas aplicaciones en la industria y la descarga de residuos industriales en ríos ha introducido al mercurio en el entorno de diversas zonas del mundo. El pescado y los mamíferos marinos constituyen la principal fuente de CH_3Hg^+ . El $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$ en la forma de timersal ha sido usado como antiséptico tópico y su empleo como agente preservante en vacunas dadas rutinariamente a niños aún se emplea en algunos países (Clarkson y Cols, 2003; Counter y Buchanan, 2004, Zalups, 2000).

■ FARMACOCINÉTICA DEL MERCURIO.

El Hg^0 , CH_3Hg^+ y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$ ocasionan toxicidad a nivel de siste-

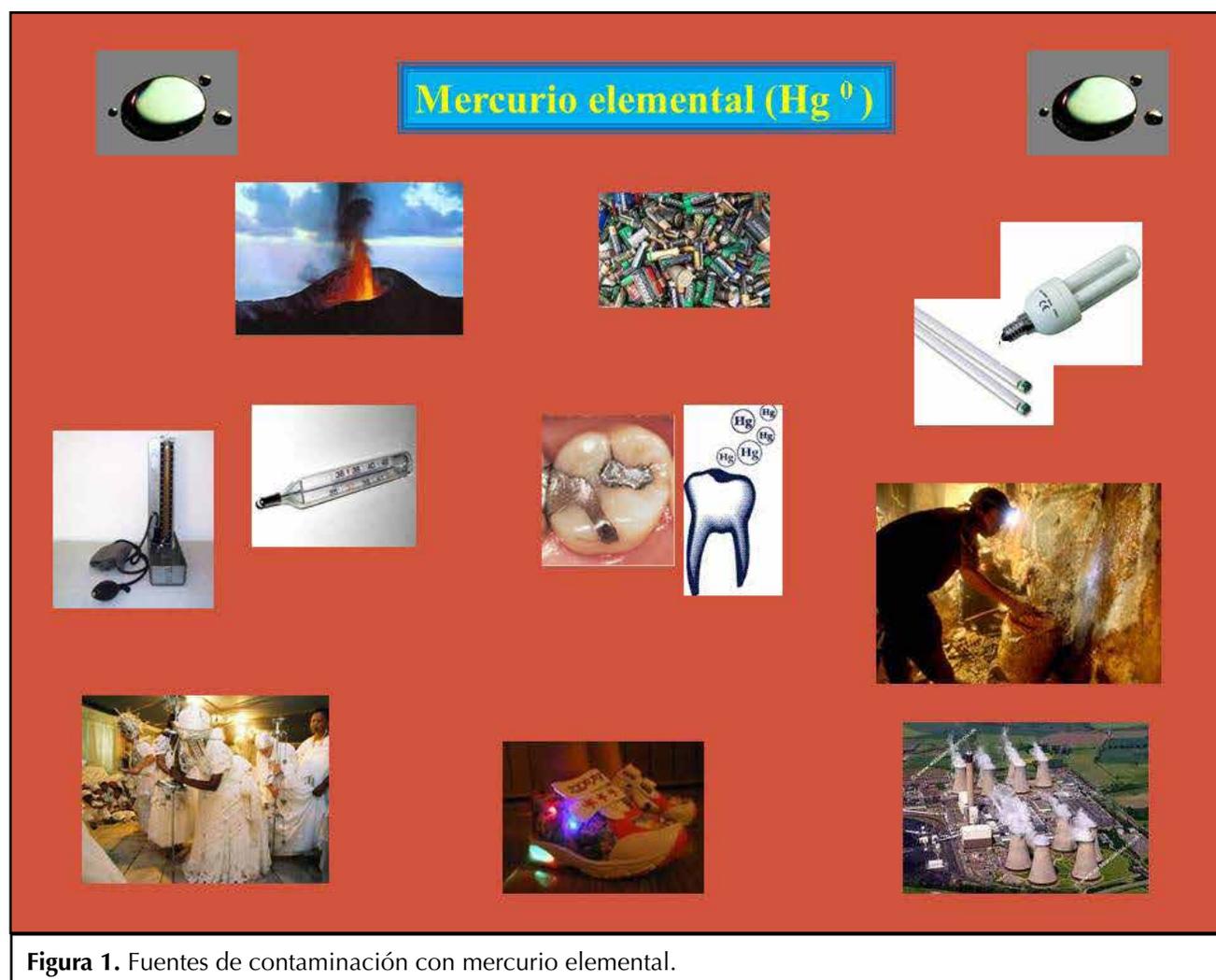


Figura 1. Fuentes de contaminación con mercurio elemental.

ma nervioso central y se convierten en el organismo total o parcialmente a la forma inorgánica la cual es altamente nefrotóxica (Clarkson y Cols, 2003; Counter y Buchanan, 2004, Zalups, 2000).

Los vapores de mercurio (Hg^0) inhalados se absorben casi completamente en los pulmones, donde se oxidan hasta dar catión mercúrico divalente. Una cantidad importante de vapores penetran en el encéfalo antes de oxidarse. Las sales mercúricas inorgánicas solubles llegan a la circulación sanguínea luego de ser ingeridas. La mayor concentración de Hg^{2+} se observa en los riñones, donde se retiene por más tiempo que en otros tejidos. El Hg^{2+} no atraviesa fácilmente ni la placenta ni la barrera hematoencefálica. Se elimina por materia fecal y por orina con un tiempo de vida medio de aproximadamente sesenta días (Counter y Buchanan, 2004, Zalups, 2000, Klassen, 2003). Los compuestos orgánicos de mercurio como CH_3Hg^+ y $CH_3CH_2Hg^+$ presentan una mayor absorción en el tubo digestivo que las sales inorgánicas, cruzan la barrera hematoencefálica y la placenta. El $CH_3CH_2Hg^+$ es velozmente metabolizado a mercurio inorgánico. El CH_3Hg^+ se conjuga principalmente con glutatión en hígado, se secreta por bilis y se excreta en heces, y solamente el 10 % de la dosis se elimina por orina. Una parte del metilmercurio se desmetila a Hg^{2+} . Presenta una vida media que oscila entre cuarenta y ciento cinco días (Counter y Buchanan, 2004, Zalups, 2000, Klassen, 2003).

A consecuencia de que existe una alta afinidad entre los iones mercúricos y los grupos sulfidrilos reducidos, los conjugados mercúricos con albúmina, L-cisteína, homocisteína y glutatión son las formas biológicamente importantes del Hg^{2+} en circulación (Zalups, 2000).

Tanto las formas orgánicas como inorgánicas del mercurio se captan, acumulan y expresan su toxicidad a nivel renal. Se acumulan en la corteza renal y en la zona externa de la médula externa, principalmente a lo largo de los tres segmentos del túbulo proximal (Zalups, 2000).

■ NEFROPATÍAS OCASIONADAS POR AGENTES TÓXICOS.

La alteración funcional o morfológica del riñón ocasionada por un fármaco, una sustancia química o un agente biológico que haya sido ingerido, inyectado, inhalado o absorbido se denomina nefropatía tóxica (Brady y Cols, 1996; Green y Cols, 2000; Walker, 2000).

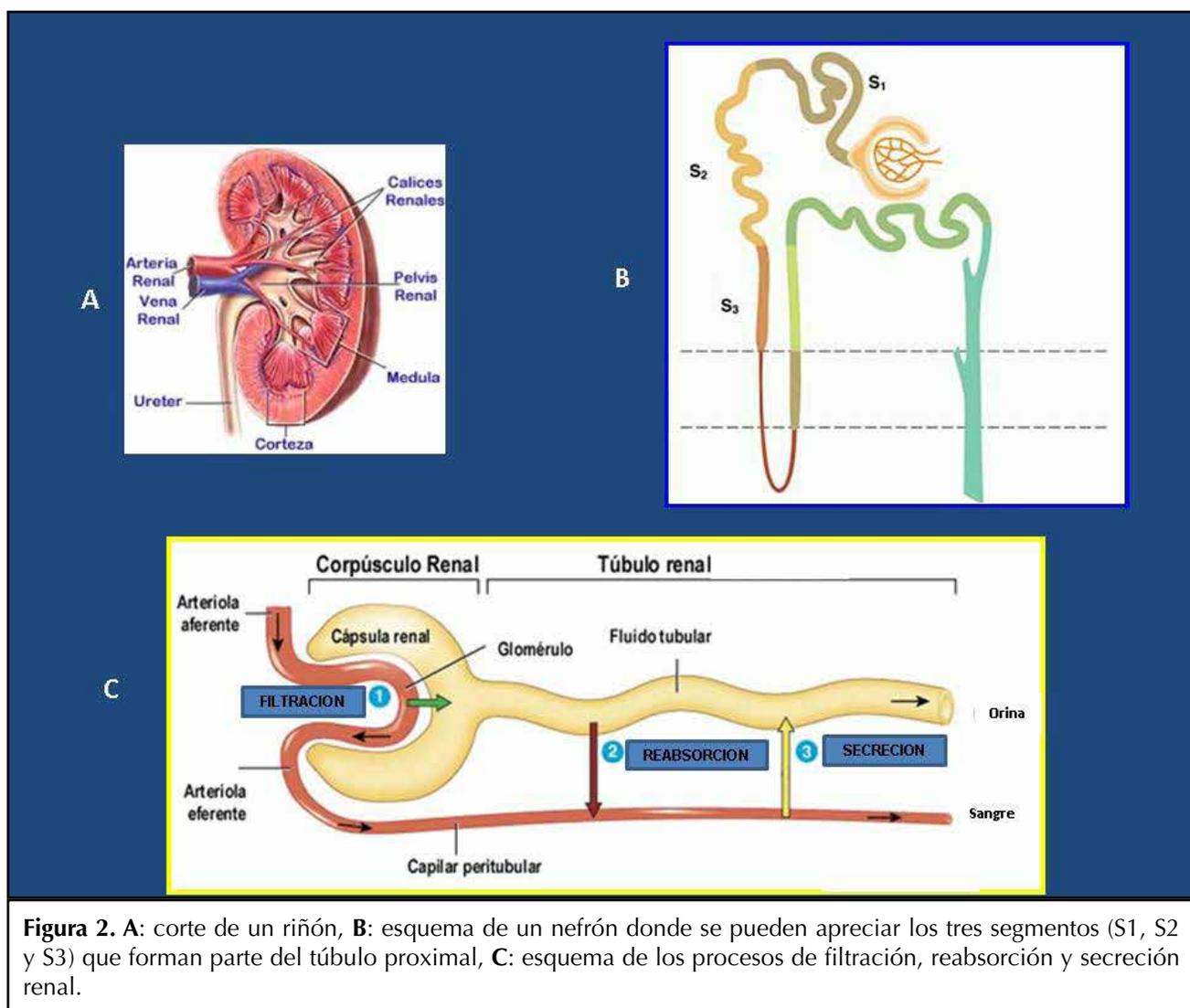
Entre los agentes más comunes que pueden ocasionar nefrotoxicidad se pueden mencionar: metales pesados (**mercurio**, plomo, cadmio, uranio, oro, cobre, arsénico, hierro), fármacos (antibióticos, analgésicos, antivirales, inmunosupresores, antineoplásicos), compuestos usados con fines diagnósticos (yoduro sódico, todos los agentes yodados de contraste), agentes biológicos (aflatoxinas, venenos de serpientes y arañas), herbicidas y pesticidas (paraquat, dioxina, lindano) y disolventes (metanol, dietilenglicol, tetracloruro de carbono).

La concentración de una droga y/o sus metabolitos en el interior de las células renales tiene un rol crítico en el desarrollo de nefrotoxicidad. La heterogeneidad de la función celular renal y del metabolismo son factores importantes en la generación de toxicidad renal. La concentración de una droga y/o sus metabolitos será modificada por la reabsorción y secreción tubular de la misma y también por la distribución renal de enzimas específicas para el metabolismo de drogas y/o sus metabolitos (Brady y Cols, 1996; Green y Cols, 2000; Walker, 2000).

El nefrón es la unidad funcional del parénquima renal. En el ser humano cada riñón contiene alrededor de 1.000.000 a 2.000.000 de nefrones. La estructura del nefrón es compleja, se compone de un corpúsculo renal en comunicación con un túbulo renal. El corpúsculo renal de Malpighi es una estructura esferoidal, constituida por la cápsula de Bowman y el ovillo capilar contenido en su interior el glomérulo. En la Figura 2 se pueden observar las diferentes partes que forman un nefrón.

El grado de nefrotoxicidad será dependiente de la duración de la exposición a la cantidad de toxina que llegue a un segmento particular del nefrón y de la existencia de mecanismos de captación celular que faciliten la acumulación intracelular de la toxina. Diferentes grados de daño estructural pueden ocurrir. Los cambios pueden ser expresados desproporcionadamente, al menos durante un periodo en organelas específicas (ej. lisosomas durante la toxicidad a gentamicina). Alternativamente, pueden afectar la topología, la complejidad y la polaridad de la superficie epitelial, sin modificar la integridad celular. En situaciones más severas puede ocurrir disrupción estructural irreversible. La evidencia histológica del daño celular puede aparecer sólo si el daño tóxico excede la capacidad de los mecanismos celulares para responder al mismo. La expresión final de la nefrotoxicidad también dependerá de la disponibilidad de importantes mecanismos intracelulares para la reparación celular y para el mantenimiento de la integridad celular.

La concentración de una droga, y/o de sus metabolitos puede variar considerablemente con un patrón de distribución no homogéneo entre los distintos compartimientos intrarenales. A través de la filtración glomerular grandes cantidades de fluido y pequeños solutos incluyendo



drogas llegan a la luz del túbulo renal donde se produce la reabsorción a través de las células epiteliales, las cuales poseen numerosos mecanismos para el transporte de diferentes solutos/drogas. Esto puede generar elevados gradientes de concentración a través de la luz tubular. Por ejemplo, cuando la velocidad de reabsorción de agua excede la velocidad de reabsorción de la droga en el nefrón, se incrementará en el lumen la concentración de la droga. En forma similar la reabsorción o secreción tubular activa en el nefrón modificará la concentración luminal del agente. La concentración inicial en el fluido tubular en el espacio de Bowman es equivalente a la concentración de la droga en plasma que no está unida a proteínas y la concentración final de la droga en

el fluido tubular es equivalente a la concentración en la vejiga, asumiendo que no hay metabolismo por el epitelio de la vejiga o por posibles patógenos urinarios. Entre estos dos puntos, la concentración de la droga puede variar en varios órdenes de magnitud, dependiendo de la solubilidad en lípidos de la droga, su coeficiente de disociación, el pH urinario, la reabsorción y secreción tubular de la droga, el manejo tubular de agua, la velocidad de flujo urinario y la presencia de compuestos análogos que podrían competir por el transporte tubular (Walker, 2000).

El nefrón es muy complejo y heterogéneo desde el punto de vista morfológico, bioquímico y fisiológico. Existe una excelente correlación entre los atributos funcionales

y morfológicos de cada segmento del nefrón y el potencial desarrollo de nefrotoxicidad. Esto se pone en evidencia en el túbulo proximal donde tiene lugar la mayor proporción de daño asociado a drogas. Los dos primeros segmentos (S1 y S2) del túbulo proximal se caracterizan por membranas con ribete en cepillo en el dominio luminal, un sistema fagolisosomal altamente desarrollado, un gran aparato endocítico con numerosas vesículas apicales y mitocondrias asociadas con la membrana basolateral. Funcionalmente esta región se asocia con una elevada reabsorción de fluidos y solutos acoplada a un gradiente osmótico generado por el transporte activo de sodio a través de la membrana basolateral mediante la sodio-potasio ATPasa y con la captación tubular y

el metabolismo de proteínas a través de los sistemas endocíticos y fagolisosomales. El segmento final S3 del túbulo proximal se localiza en la franja más externa de la médula externa. Las células se caracterizan por un sistema fagolisosomal y endocítico menos desarrollado pero contienen una mayor proporción de retículo endoplásmico liso y peroxisomas. Dentro de estas células se localizan predominantemente las oxidasas de función mixta. Estas enzimas pueden tener un rol relevante en la activación metabólica y en la generación de nefrotoxicidad de ciertas drogas (Walker, 2000).

■ EL MERCURIO COMO AGENTE NEFROTÓXICO.

Si bien todas las especies de mercurio ocasionan daño renal, las especies inorgánicas son las que poseen mayor relevancia nefrotóxica. Por el contrario, se necesitan elevadas dosis y múltiples exposiciones de compuestos orgánicos de mercurio para producir insuficiencia renal.

La alteración renal generada por mercurio inorgánico se evidencia por lo general durante las 24 h siguientes a la exposición y es posible reproducirlo en ratas de laboratorio. El segmento S3 del túbulo proximal es la parte del nefrón más sensible a los efectos tóxicos tanto de las especies orgánicas como inorgánicas del mercurio. Los efectos tóxicos del mercurio en el riñón se ponen en evidencia muy rápidamente. Luego de 1 h de exposición a una dosis muy alta de HgCl_2 (100 mg/kg) se han observado cambios degenerativos a lo largo del túbulo proximal. A dosis más bajas de mercurio inorgánico (1-5 mg/kg) no se han descrito cambios patológicos en el microscopio óptico hasta pasadas las 6 h de exposición. A nivel de microscopía electrónica se observan alteraciones luego de 3 h de tratamiento con 4 mg/kg s.c. de HgCl_2 . Se ha descrito

daño mitocondrial, dilatación de las cisternas del retículo endoplásmico rugoso y pérdida de ribosomas. A dosis nefrotóxicas la necrosis celular es evidente a lo largo del segmento S3 del túbulo proximal tanto con microscopio óptico como electrónico luego de 12 h de exposición. Si la exposición a dosis nefrotóxicas de mercurio inorgánico no es fatal, el epitelio del túbulo proximal por lo general sufre un proceso de regeneración completa durante las dos semanas posteriores a la inducción de la patología tubular (Zalups, 2000).

La insuficiencia renal aguda producida por exposición a HgCl_2 se caracteriza por marcada vasoconstricción, disminución en la velocidad de filtración glomerular y colapso tubular con importantes modificaciones funcionales y estructurales de los túbulos. Numerosos estudios en animales experimentales tratados con dosis nefrotóxicas de mercurio han descrito modificaciones de la integridad de las membranas plasmáticas (pérdida del ribete en cepillo de las membranas apicales y fragmentación, pérdida de las invaginaciones de las membranas basolaterales) en forma simultánea con la inhibición de proteínas transportadoras, lo que podría explicar las alteraciones en las funciones de reabsorción y secreción del túbulo proximal (Herak-Kramberger y Sabolic, 2001; Aleo y cols, 2005; Pelis y cols, 2007).

La captación de Hg^{2+} por las células epiteliales del túbulo proximal es mediada por proteínas transportadoras presentes en membranas plasmáticas apicales y basolaterales (Zalups, 2000). Algunos estudios han sugerido que las proteínas de membrana involucradas en el transporte de especies mercúricas tendrían un rol regulador en la expresión de los efectos tóxicos del mercurio (Zalups, 2000; Torres y Cols, 2011; Hazelhoff y Cols, 2012).

El mercurio que llega a la luz del túbulo renal proveniente de la filtración glomerular es captado en la membrana luminal por sistemas transportadores de aminoácidos (ASC, LAT, bo) y de péptidos. En la membrana basolateral la captación de las diferentes especies de mercurio es mediada por los transportadores de aniones orgánicos 1 y 3 (Oat1 y Oat3) (Zalups y Cols, 2004; Lash y Cols, 2005; Zalups y Ahmad, 2005a; 2005b). Se ha descrito además que el mercurio conjugado con glutatión dentro de la célula renal puede ser secretado a la luz tubular mediante la intervención de la proteína de resistencia a multidrogas 2 ("multidrug transporter protein 2", Mrp2) (Aleo y Cols, 2005). El mercurio que circula unido a proteínas también puede ingresar a la célula renal mediante un mecanismo de endocitosis. En la Figura 3 se puede observar un esquema con los principales mecanismos de captación y secreción del mercurio en la célula renal.

■ PERSPECTIVAS PARA EL TRATAMIENTO Y DIAGNÓSTICO DE LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR MERCURIO-ALGUNOS ESTUDIOS REALIZADOS EN NUESTRO LABORATORIO.

En nuestro laboratorio se han realizado estudios empleando ratas Wistar macho adultas tratadas con una única dosis nefrotóxica de HgCl_2 (5 mg/kg p.c.) 18 h antes de los experimentos. Para la realización de estos estudios se emplearon técnicas de uso corriente en nuestro laboratorio (Villar y Cols, 2005; Brandoni y Cols, 2006^a, 2006^b; Di Giusto y Cols 2009a). Estudios histológicos demostraron que los riñones de estos animales presentaban algunos túbulos con células vacuoladas, con pérdida de membranas apicales, disrupción de membranas basales y necrosis según lo previamente descrito en este modelo experimental (Nava y Cols, 2000; Stacchiotti

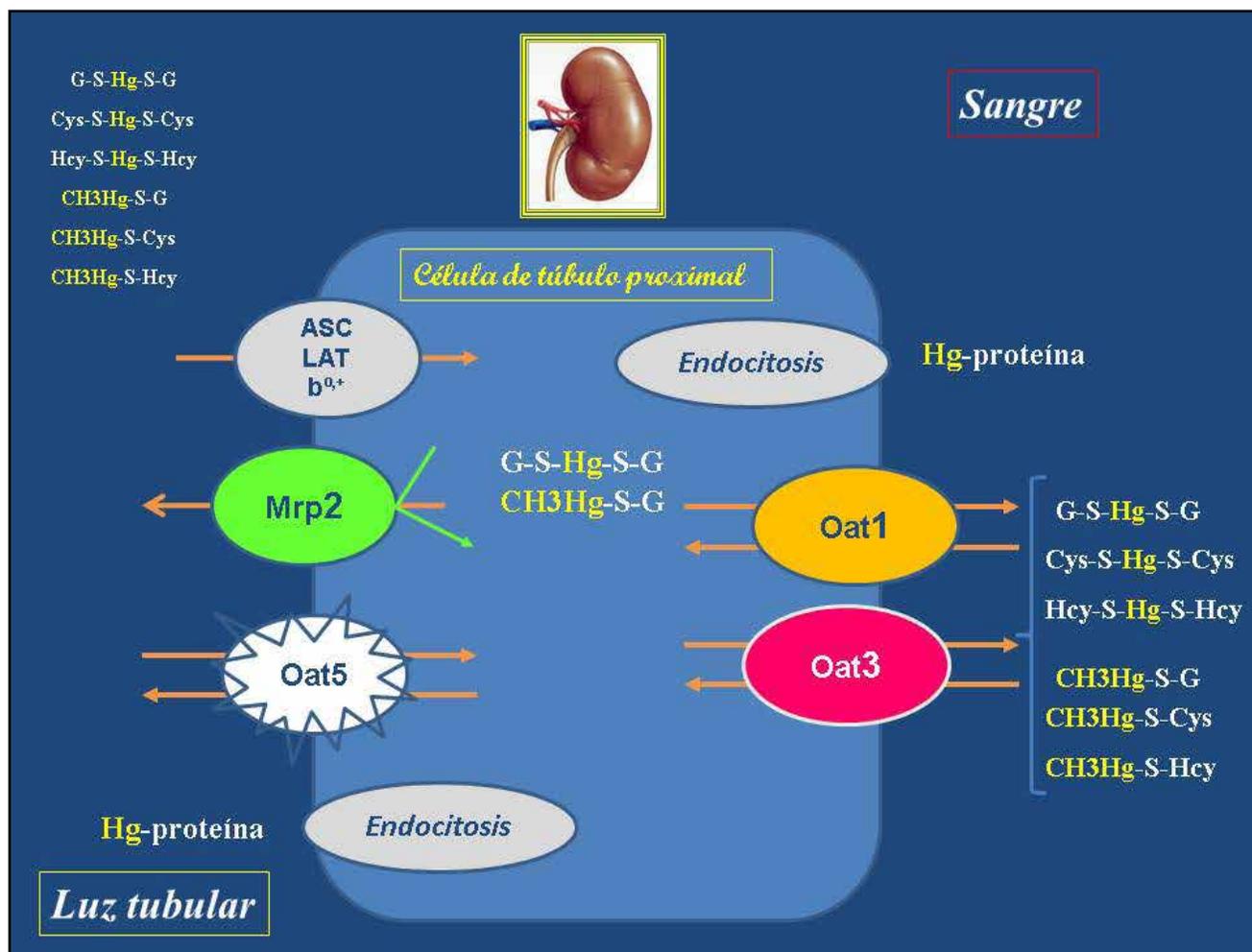


Figura 3. Mecanismos de captación y secreción de diferentes especies de mercurio en la célula del túbulo proximal renal.

Oat1: proteína transportadora de aniones orgánicos 1; Oat3: proteína transportadora de aniones orgánicos 3; Oat5: proteína transportadora de aniones orgánicos 5

Mrp2: proteína de resistencia a multidroga 2

ASC, LAT,bo,+ : proteínas transportadoras de aminoácidos

G-S-Hg-S-G, CH3Hg-S-G: conjugados de mercurio y de metilmercurio con glutatión respectivamente.

Cys-S-Hg-S-Cys, CH3Hg-S-Cys: conjugados de mercurio y de metilmercurio con cisteína respectivamente.

Hcy-S-Hg-S-Hcy, CH3Hg-S-Hcy: conjugados de mercurio y de metilmercurio con homocisteína respectivamente.

y Cols, 2006). Mediante análisis de Western blotting y de inmunohistoquímica observamos que las ratas expuestas a HgCl₂ presentaban una disminución en la expresión de los transportadores renales de aniones orgánicos Oat1 y Oat3 a nivel de membrana basolateral renal. La disminución en la expresión de estas proteínas se evidenció también en los estudios de funcionalidad, observándose una disminución en la captación de *p*-aminohipurato (PAH, sustrato de Oat1, Oat3 y Mrp2) en

vesículas de membranas basolaterales y en la depuración sistémica de este anión orgánico (Di Giusto y Cols 2009b).

Se ha descrito que la intoxicación con mercurio dispara en las células del túbulo proximal una serie de mecanismos destinados a favorecer la sobrevivencia de las mismas (Aleo y Cols, 2005; Sabolic, 2006). Entre ellos se puede mencionar: aumento de los niveles intracelulares de tioles protectores (glutatión y me-

talotioneinas) y sobre-expresión de genes que codifican bombas de flujo capaces de remover los conjugados de mercurio con glutatión (por ej. Mrp2). Dado que Oat1 y Oat3 median el ingreso del mercurio a las células del túbulo proximal, la disminución en la expresión de las mismas podría ser otro mecanismo de defensa de las células destinado a protegerlas a sí mismas contra la injuria generada por mercurio.

Además, trabajos recientes nos

han permitido demostrar que Oat1 tiene un rol muy importante en el desarrollo de nefrotoxicidad inducida por mercurio. Por un lado hemos demostrado que ratones "knock out" para Oat1 presentan una amplia protección al daño renal producido por HgCl₂ (Torres y Cols, 2011). Por otro lado, hemos observado que existe una diferencia ligada al sexo en ratas Wistar en lo que respecta al grado de nefrotoxicidad inducida por mercurio. Las ratas hembras son más resistentes a los efectos deletéreos del mercurio a nivel renal probablemente debido a que Oat1 presenta menor expresión en el riñón de ratas hembras en comparación con ratas macho (Cerrutti y Cols, 2002, Hazelhoff y Cols, 2012)

Es habitual emplear quelantes como dimercaprol (en caso de exposiciones de alto nivel o sujetos sintomáticos) o penicilamina (exposiciones de bajo nivel o personas asintomáticas) para tratar la intoxicación con mercurio inorgánico o elemental (Klassen, 2003).

Los mercuriales orgánicos de cadena corta en particular el metilmercurio, son las formas más difíciles de movilizar desde el organismo, tal vez por su escasa reactividad con los quelantes. El dimercaprol está contraindicado en la intoxicación por metilmercurio porque se ha demostrado que aumenta los niveles cerebrales de esta sustancia en animales de experimentación. La penicilamina facilita la eliminación de metilmercurio del organismo, pero no tiene elevada eficacia clínica en el tratamiento de la intoxicación por dicho compuesto (Klassen, 2003).

En los últimos años, se han clonado un elevado número de transportadores y se ha progresado considerablemente en el conocimiento de las características moleculares de los transportadores individuales. Resulta ahora claro que algunas de

estas proteínas son responsables del transporte de fármacos y tóxicos en varios tejidos y que pueden ser determinantes de las características farmacocinéticas de una droga, como la absorción, la distribución tisular y la eliminación (Giacomini y Sugiyama, 2011).

Actualmente se considera relevante al estudio de la expresión, función y regulación de transportadores de drogas en el diseño y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas (Giacomini y Sugiyama, 2011).

La modulación farmacológica de la expresión y/o función de Oat1, Oat3 y Mrp2 podría ser una estrategia terapéutica eficaz para reducir la nefrotoxicidad del mercurio.

Al respecto se está estudiando en nuestro laboratorio el grado de nefrotoxicidad inducida por una dosis nefrotóxica de HgCl₂ en ratas previamente tratadas con algunas de las siguientes drogas: rifampicina (inductor de la expresión de Mrp2), (Kauffman y Cols, 1998; Nishimura y Cols, 2006), furosemida (inductor de la expresión de Oat1) (Kim y Cols, 2003); MK-571 (inhibidor de la función de Mrp2) (Kala y Cols, 2004) y probenecid (principalmente inhibidor de la función de Oat1) (Tanaka y Cols, 1992).

La modulación de la expresión y/o función de Oat1, Mrp2 y de otros transportadores involucrados en el transporte de mercurio a nivel renal podría tener importancia terapéutica en el tratamiento de la nefrotoxicidad inducida por este metal.

Con respecto a las perspectivas diagnósticas de la insuficiencia renal producida por mercurio, recientemente hemos propuesto a la excreción urinaria del transportador de aniones orgánicos 5 (Oat5) como potencial biomarcador temprano de daño tubular proximal en insuficien-

cia renal aguda de origen isquémico (Di Giusto y Cols, 2009) y de origen nefrotóxico, inducida por cisplatino (Bulacio y Torres, 2013) e inducida por mercurio (Di Giusto y Torres, 2010). Oat5 se expresa exclusivamente en membrana apical de las células del túbulo proximal renal (Ver Figura 3). Esta proteína transporta ocratoxina A, esteroides, dicarboxilatos e interacciona con drogas antiinflamatorias no esteroideas, diuréticos y con algunos antibióticos (Anzai y Cols, 2005). En nuestro laboratorio hemos sido pioneros en la detección de Oat5 en orina (Di Giusto y Cols, 2009a). En el caso de la insuficiencia renal aguda producida por mercurio hemos observado que su excreción urinaria aumenta en forma dosis dependiente con las dosis de HgCl₂ administradas (Di Giusto y Torres, 2010). Los niveles de Oat5 aumentan en orina antes de que se alteren los marcadores tradicionales de daño renal como urea y creatinina plasmática, clearance de creatinina y actividad de fosfatasa alcalina en orina. Adicionales estudios en modelos experimentales de insuficiencia renal aguda y estudios clínicos en pacientes con elevado riesgo de desarrollar insuficiencia renal aguda deberán realizarse a fin de validar el uso de la excreción urinaria de Oat5 como biomarcador temprano de daño tubular renal.

■ GLOSARIO

Farmacocinética: es la parte de la farmacología que estudia los procesos de absorción, distribución, metabolización y excreción de los fármacos.

Western blotting: es una técnica analítica empleada para detectar proteínas específicas en una muestra determinada. Las proteínas se separan mediante una electroforesis en gel. Luego se transfieren a una membrana adsorbente, donde se busca la proteína de interés con anticuerpos

específicos para ella. Para finalizar se detecta la unión antígeno-anticuerpo mediante actividad enzimática, fluorescencia, etc.

Inmunohistoquímica: se refiere al proceso en el que se usan anticuerpos para detectar antígenos en un corte o sección de tejido biológico.

Ratones knock out: un ratón knock out es un ratón modificado por ingeniería genética para que uno o más de sus genes estén inactivados. El objetivo es comprender la función de un gen que ha sido secuenciado. Inactivando el gen y estudiando las diferencias que presenta el ratón afectado es posible inferir la/s función/es de ese gen.

■ BIBLIOGRAFÍA.

- Aleo M.F., Morandini F., Bettoni F., Giuliani R., Rovetta F., Steimberg N., Apostoli P., Parrinello G., Mazzoleni G. (2005). Endogenous thiols and MRP transporters contribute to Hg²⁺ efflux in HgCl₂-treated tubular MDCK cells. *Toxicology* 205, 137-151.
- Anzai N., Jutabha P., Enomoto A., Yokoyama H., Nonoguchi H., Hirata T., Shiraya K., He X., Cha S.H., Takeda M., Miyazaki H., Sakatada T., Tomita K., Igarashi T., Kanai Y., Endou H. (2005). Functional characterization of rat organic anion transporter 5 (Slc22a19) at the apical membrane of renal proximal tubules. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 315, 534-544.
- Arribére M.A., Ribeiro Guevara S., Sánchez R.S., Gil M.I., Román Ross G., Daurade L.E., Fajon V., Horval M., Alcalde R., Kestelman A.J. (2003). Heavy metals in the vicinity of a chlor-alkali factory in the upper Negro River ecosystem, Northern Patagonia, Argentina. *Sci. Total Environm.* 301, 187-203.
- Brandoni A., Anzai N., Kanai Y., Endou H., Torres A.M. (2006a). Renal elimination of p-aminohippurate (PAH) in response to three days of biliary obstruction in the rat. The role of OAT1 and OAT3. *Biochim. Biophys. Acta* 1762, 673-682.
- Brandoni A., Villar S.R., Picena J.C., Anzai N., Endou H., Torres A.M. (2006b). Expression of rat renal cortical OAT1 and OAT3 in response to acute biliary obstruction. *Hepatology* 43, 1092-1100.
- Brady H.R., Brenner B.M., Lieberthal W. (1996). Acute renal failure, In: *The Kidney*, 5th ed., edited by Brenner B.B., Rector F.C., Philadelphia, WB Saunders, pp 1200-1252.
- Bulacio R.P., Torres A.M. (2013). Organic anion transporter 5 (Oat5) renal expression and urinary excretion in rats treated with cisplatin. A potential biomarker of cisplatin induced nephrotoxicity. *Arch. Toxicol.* 87, 1953-1962.
- Cerrutti J.A., Brandoni A., Quaglia N., Torres A.M. (2002). Sex differences in p-aminohippuric acid transport in rat kidney: Role of membrane fluidity and expression of OAT1. *Mol. Cell. Biochem.* 233, 175-179.
- Clarkson T.W., Magos L., Myers G.J. (2003). The toxicology of mercury-Current exposures and clinical manifestations. *N. Engl. J. Med.* 349, 1731-1737.
- Counter S.A., Buchanan L.H. (2004). Mercury exposure in children: a review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 198, 209-230.
- De Marco S.G., Botté S., Marcovecchio J.E. (2006). Mercury distribution in abiotic and biological compartments within several estuarine systems from Argentina: 1980-2005 period. *Chemosphere* 65, 213-223.
- Di Giusto G., Anzai N., Endou H., Torres A.M. (2009a). Oat5 and NaDC1 protein abundances in kidney and urine following renal ischemic reperfusion injury. *J. Histochem.Cytochem.* 57, 17-27.
- Di Giusto G., Anzai N., Ruiz M.L., Endou H., Torres A.M. (2009b). Expression and function of Oat1 and Oat3 in rat kidney exposed to mercuric chloride. *Arch. Toxicol.* 83, 887-897.
- Di Giusto G., Torres A.M. (2010). Organic anion transporter 5 renal expression and urinary excretion in rats exposed to mercuric chloride: a potential biomarker of mercury induced nephropathy. *Arch. Toxicol.* 84, 741-749.
- Giacomini K.M., Sugiyama Y. (2011). Transportadores de membrana y respuesta a fármacos. En: *Goodman & Gilman's Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, Brunton LL, Chabner B., Knollman B. (Ed.) 12ed. Editorial McGraw Hill pp.89-121.
- Green J., Abassi Z., Winaver J., Skorecki K.L. (2000). Acute renal failure: clinical and pathophysiological aspects. In: *The Kidney. Physiology and Pathophysiology*, 3rd ed. edited by Seldin DW, Giebisch G, Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, pp 2329-2373.
- Hazelhoff M.H., Bulacio R.P., Torres A.M. (2012) Gender related differences in kidney injury induced by mercury. *Int. J. Mol. Sci.* 13: 10523-10536.
- Herak-Kramberger C.M., Sabolic I. (2001). The integrity of renal

- cortical brush-border and basolateral membrane vesicles is damaged in vitro by nephrotoxic heavy metals. *Toxicology* 156, 139-147.
- Kala S.V., Kala G., Prater C.I., Sartorelli A.C., Lieberman M.W. (2004). Formation and urinary excretion of arsenic triglutathione and methylarsenic diglutathione. *Chem. Res. Toxicol.* 17, 243-249.
- Kauffman H-M., Keppler D., Gant T.W., Schrenk D. (1998). Induction of hepatic mrp2 (cmrp/cmoat) gene expression in non-human primates treated with rifampicin or tamoxifen. *Arch. Toxicol.* 72, 763-768.
- Kim G-H., Na K.Y., Kim S-Y., Joo K.W., Oh Y.K., Chae S-W., Endou H., Han J.S. (2003). Up-regulation of organic anion transporter 1 protein is induced by chronic furosemide or hydrochlorothiazide infusion in rat kidney. *Nephrol. Dial. Transplant.* 18, 1505-1511.
- Klassen C.D. (2003). Metales pesados, In: Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica, 10th ed. Edited by Harman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A, México, Mc Graw-Hill Interamericana, pp 1873-1897.
- Lash L.H., Hueni S.E., Putt D.A., Zalups R.K. (2005). Role of organic anion and amino acid carriers in transport of inorganic mercury in rat renal basolateral membrane vesicles: Influence of compensatory renal growth. *Toxicol. Sci.* 88, 630-644.
- Marcovecchio J.E. (2004). The use of *Micropogonias furnieri* and *Mugil liza* as bioindicators of heavy metals pollution in La Plata river estuary, Argentina. *Sci. Total Environ.* 323, 219-226.
- Nava M., Romero F., Quiroz Y., Parra G., Bonet L., Rodríguez-Iturbe B. (2000). Melatonin attenuates acute renal failure and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats. *Am. J. Physiol.* 279, F910-F918.
- Nishimura M., Koeda A., Suzuki E., Kawano Y., Nakayama M., Satoh T., Narimatsu S., Naito S. (2006). Regulation of mRNA expresión of MDR1, MRP1, MRP2 and MRP3 by prototypical microsomal enzyme inducers in primary cultures of human and rat hepatocytes. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 21, 297-307.
- Pelis R.M., Dangprapai Y., Wunz T.M., Wright S.H. (2007). Inorganic mercury interacts with cysteine residues (C451 and C474) of hOCT2 to reduce its transport activity. *Am. J. Physiol.* 292, F1583-F1591.
- Sabolic I. (2006). Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals. *Nephron Physiol.* 104, 107-114.
- Stacchiotti A., Ricci F., Rezzani R., Li Volti G., Borsani E., Lavazza A., Bianchi R., Rodella L.F. (2006). Tubular stress proteins and nitric oxide synthase expression in rat kidney exposed to mercuric chloride and melatonin. *J. Histochem. Cytochem.* 54, 1149-1157.
- Tanaka T., Naganuma A., Imura N. (1992). Routes for renal transport of methylmercury in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 228, 9-14.
- Torres A.M., Dnyanmote A.V., Bush K.T., Wei Wu W., Nigam S. (2011). Detection of multispecific organic anion transporter (OAT1/SLC22A6) protects from mercury-induced nephrotoxicity. *J. Biol. Chem.* 286, 26391-26395.
- Villar S.R., Brandoni A., Anzai N., Endou H., Torres A.M. (2005). Altered expression of rat renal cortical OAT1 and OAT3 in response to bilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 68, 2704-2713.
- Walker R.J. (2000). Cellular mechanisms of drug nephrotoxicity In: *The Kidney. Physiology and Pathophysiology*, 3rd ed. edited by Seldin DW, Giebisch G, Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, pp 2835-2859.
- Wright S.H., Dantzer W.H. (2004). Molecular and cellular physiology of renal organic cation and anion transport. *Physiol. Rev.* 80, 987-1049.
- Zalups R. (2000). Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacol. Rev.* 52, 113-143.
- Zalups R.K., Ahmad S. (2005a). Handling of the homocysteine S-conjugate of methylmercury by renal epithelial cells: role of organic anion transporter 1 and amino acid transporters. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 315, 896-904.
- Zalups R.K., Ahmad S. (2005b). Transport of N-acetylcysteine S-conjugates of methylmercury in Madin-Darby canine kidney cells stably transfected with human isoform of organic anion transporter 1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 314, 1158-1168.
- Zalups R.K., Aslamkhan A.G., Ahmad S. (2004). Human organic anion transporter 1 mediates cellular uptake of cysteine-S conjugates of inorganic mercury. *Kidney Int.* 66, 251-261.



**34 CENTROS DE INVESTIGACIÓN PROPIOS, ASOCIADOS,
VINCULADOS O EN RED**

INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

**CARRERA DEL PERSONAL DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO**

PROGRAMA DE BECAS

- Becas de entrenamiento para alumnos universitarios
- Becas de estudio
- Becas de perfeccionamiento

SUBSIDIOS

- Para la Realización de Reuniones Científicas y Tecnológicas y Asistencia a Reuniones
- Para Publicaciones Científicas y Tecnológicas
- Para Proyectos de Investigación de Interés Provincial

**INNOVACIÓN, TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA Y CULTURA
EMPREDEDORA**

PROGRAMA DE MODERNIZACIÓN TECNOLÓGICA

PROGRAMA EMPRECIC

CRÉDITO FISCAL

**PROGRAMA DE FORMACIÓN DE FORMADORES EN
EMPREDEDORISMO**

Ciencia Tecnología Innovación

 *comisíondeinvestigaciones.
cientificas*

www.cic.gba.gov.ar

El 98 por ciento de los doctores formados por el CONICET tiene empleo

Según un informe dado a conocer por este organismo científico acerca de la inserción de doctores, sólo un 1 por ciento de estos ex-becarios no tiene trabajo o no poseen ocupación declarada y un 10 por ciento posee remuneraciones inferiores a un estipendio de una beca doctoral.

Asimismo, proyecta que el 89 por ciento de los encuestados tiene una situación favorable en su actividad profesional, pero sobre todo asegura que más del 98 por ciento de los científicos salidos del CONICET consigue trabajo.

Los datos surgidos del estudio "Análisis de la inserción laboral de los ex-becarios Doctorales financiados por CONICET", realizado por la Gerencia de Recursos Humanos del organismo, involucró 934 casos sobre una población de 6.080 ex-becarios entre los años 1998 y el 2011.

Al respecto, en el mismo se considera que del número de ex-becarios consultados, el 52 por ciento (485 casos), continúa en el CONICET en la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico.

De los que no ingresaron en el organismo pero trabajan en el país, sobre 341 casos, el 48 por ciento se encuentra empleado en universidades de gestión pública y un 5 por ciento en privadas; el 18 por ciento en empresas, un 6 por ciento en organismos de Ciencia y Técnica (CyT), un 12 por ciento en la gestión pública y el resto en instituciones y organismos del Estado.

En tanto, en el extranjero, sobre 94 casos, el 90 por ciento trabaja en universidades, el 7 por ciento en empresas y el 2 por ciento es autónomo.

El mismo informe traduce que la demanda del sector privado sobre la

incorporación de doctores no es aún la esperada, pero está creciendo. La inserción en el Estado, si se suma a las universidades nacionales y ministerios, se constituye en el mayor ámbito de actividad.

Frente a ello, a los fines de avanzar en la inserción en el ámbito publico-privado el CONICET realiza actividades políticas de articulación con otros organismos de CyT, es decir, universidades, empresas, a través de la Unión Industrial Argentina (UIA), y en particular con YPF que requiere personal altamente capacitado en diferentes áreas de investigación.

Desde el CONICET se espera que en la medida que la producción argentina requiera más innovación, crecerá la demanda de doctores. Para cuando llegue ese momento el país deberá tener los recursos humanos preparados para dar respuestas. Es por ello se piensa en doctores para el país y no solamente doctores para el CONICET.

Programa +VALOR.DOC

Sumar doctores al desarrollo del país

A través de esta iniciativa nacional, impulsada por el CONICET y organismos del Estado, se amplían las posibilidades de inserción laboral de profesionales con formación doctoral

El programa +VALOR.DOC bajo el lema "Sumando Doctores al Desarrollo de la Argentina", busca vincular los recursos humanos con las necesidades y oportunidades de desarrollo del país y fomentar la incorporación de doctores a la estructura productiva, educativa, administrativa y de servicios.

A partir de una base de datos y herramientas informáticas, se aportan recursos humanos altamente calificados a la industria, los servicios y la gestión pública. Mediante una página Web, los doctores cargan sus curriculum vitae para que puedan contactarlos por perfil de formación y, de esta manera, generarse los vínculos necesarios.

Con el apoyo del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, este programa tiene como objetivo reforzar las capacidades científico-tecnológicas de las empresas, potenciar la gestión y complementar las acciones de vinculación entre el sector que promueve el conocimiento y el productivo.

+VALOR.DOC es una propuesta interinstitucional que promueve y facilita la inserción laboral de doctores que por sus conocimientos impactan positivamente en la sociedad.

Para conocer más sobre el programa www.masVALORDoc.conicet.gov.ar.

