

## Alteraciones hepáticas y renales en rata albina por administración de cromo (VI) en agua de bebida

R. Laborda\*, J. Díaz-Mayans y A. Núñez

Departamento de Fisiología Animal  
Facultad de Ciencias Biológicas  
46080 Valencia (España)

(Recibido el 10 de febrero de 1986)

R. LABORDA, J. DIAZ-MAYANS and A. NUÑEZ. *Effects of Chromium (VI) in Drinking Water on Liver and Kidney of Albino Rats*. Rev. esp. Fisiol., 43 (3), 275-280, 1987.

The effects of sodium chromate administered in drinking water on liver and kidney of albino rats have been studied, through investigation of histological alterations and monitoring changes on serum urea levels and transaminases (GOT and GPT). Measurements have been done after 4, 8 and 12 weeks of treatment. The liquid intake of treated animals decreases with time. The amount of water drunk by treated rats is 1/2 of that drink by controls after 12 weeks. The histological alterations in liver and kidney are similar to those described elsewhere. Serum urea level is always higher in treated animals than in controls. GOT levels are similar in both treated and control rats, although always higher in the treated ones. GPT levels increase significantly after 12 weeks of treatment.

**Key words:** Chromium (VI), Liver and kidney damage, Albino rats.

La exposición profesional al cromo viene ligada a numerosas facetas del trabajo en la industria, tales como las operaciones de cromado, el curtido de pieles, la fabricación y aplicación de pinturas, etc. Los riesgos para la salud que tales trabajos comportan han sido reconocidos por varios autores (2, 19).

El cromo está presente, sobre todo, en los estados de oxidación III y VI. Desde el punto de vista biológico, la forma trivalente ha sido considerada como relativamente inerte (2); sin embargo, se han descrito úlceras y alteraciones del tracto

respiratorio en obreros (17) y, recientemente, se ha calificado de teratógeno al  $\text{Cr}_3$  (12, 16).

Por lo que respecta a los compuestos de cromo hexavalente, están etiquetados como nefrotóxicos y hepatotóxicos (2, 9, 20), existiendo dudas acerca de la carcinogenicidad de algunos de ellos (4).

La absorción de cromo por el organismo tiene lugar fundamentalmente por vía inhalatoria y, en menor grado, a través de la vía digestiva (7, 21). Por esta vía, el cromo es absorbido en escasa proporción, siendo siempre mayor la absorción de la forma hexavalente que la de la trivalente (8), si bien para ambas formas

\* A quien debe dirigirse la correspondencia.

tiene lugar una mayor absorción del metal en condiciones de ayuno que cuando, de modo paralelo, se ingieren alimentos (14). En cualquier caso, se han descrito alteraciones en hígado y riñones producidas por los compuestos de cromo administrados a diferentes animales en distintas concentraciones, junto con el alimento o disueltos en el agua de bebida, durante períodos de tiempo variables y con resultados dispares (1, 10).

En este sentido, parece interesante profundizar en el estudio de los efectos producidos por el cromo administrado por vía digestiva. Para ello se han analizado algunos parámetros bioquímicos en suero, tales como niveles de transaminasas (GOT y GPT) y de urea, y se han examinado histológicamente los órganos previsiblemente más afectados, hígado y riñón.

#### Material y Métodos

Se partió de una población de 30 ratas albinas (Wistar) machos, de edad comprendida entre 11 y 12 semanas y peso de 214 a 233 gramos.

Los animales se repartieron en tres grupos (I, II y III) de 10 individuos cada uno, 5 de los cuales servían como control. Fueron mantenidos a temperatura ambiente y fotoperíodo de 12 h luz/oscuridad, iniciando el ciclo diurno a las 9 h a.m. Se alimentaron con Standard Pellets (Panlab) y se les dejó libre acceso al agua de bebida, a la cual se añadió cromato sódico (Merck) 0,7 g de Cr (VI)/l (pH a 7,5), para los animales tratados. A lo largo del período experimental se determinó semanalmente el peso de cada animal y el del líquido bebido, para obtener una estimación aproximada de la dosis de cromo ingerida.

Debido a la disminución del consumo de agua por parte de los animales experimentales, a partir de la segunda semana de tratamiento, se utilizaron 3 ratas macho adicionales por grupo, a las que se

restringió semanalmente el agua de bebida, permitiéndoles ingerir un volumen de líquido igual al que habían ingerido la semana anterior los animales tratados.

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación después de 4, 8 y 12 semanas de tratamiento, respectivamente. Se recogió la sangre, para las determinaciones bioquímicas, y el hígado y los riñones para el posterior estudio histológico.

Del suero obtenido por centrifugación se determinó la actividad de las transaminasas GOT y GPT (18), y los niveles de urea mediante la reacción de Berthelot (15).

El hígado y los riñones de cada animal se fijaron en formol 10% y tras el tratamiento estándar, se incluyeron en parafina. Se practicaron cortes de 5  $\mu$ m y se llevó a cabo la tinción con hematoxilina-eosina, para su examen histológico.

Los resultados analíticos obtenidos se compararon mediante el test de la t de Student, fijando como criterio de significación el nivel de confianza de 0,01.

#### Resultados

A lo largo del tratamiento no se observó mortalidad ni morbilidad en la población estudiada. Los animales controles y tratados presentaban un aspecto normal y no se apreciaron diferencias en el comportamiento.

El peso medio inicial de todos los animales fue de  $220,7 \pm 19,4$  g. Los animales del grupo I sufrieron un incremento del 7% (controles), 3,2% (controles ficticios) y 5,1% (tratados). Los del grupo II incrementaron su peso en 11% (controles), 9,2% (controles ficticios) y 7,8% (tratados). Finalmente, los animales del grupo III experimentaron un aumento en su peso de 16, 14,2 y 10,3% en controles, controles ficticios y tratados, respectivamente. En ningún caso presentaron diferencias significativas al comparar los con-

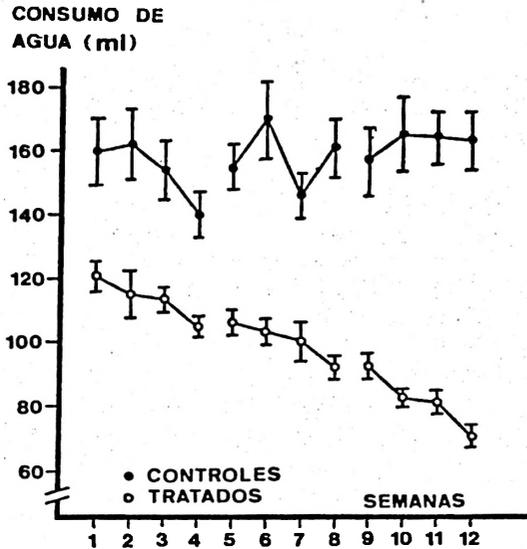


Fig. 1. Cantidad de líquido con cromo (VI), ingerido semanalmente por los animales controles y tratados (grupos I, II y III).

Cada valor representa la media  $\pm$  DS de 5 ratas. En cada caso,  $p < 0,01$  cuando se comparan los valores controles y experimentales mediante el test de la *t* de Student.

troles frente a los tratados dentro de cada grupo.

La cantidad media semanal de líquido de bebida ingerido por los animales, en cada uno de los tres períodos de tratamiento, muestra diferencias significativas entre unos y otros. Al cabo de 12 semanas de tratamiento, los animales tratados con cromo ingirieron menos de la mitad de líquido que los controles (fig. 1).

Al comparar los niveles de urea entre los tres grupos, sólo se obtienen diferencias significativas en los animales del grupo I (4 semanas), los valores de GOT no presentan diferencias significativas en ningún grupo. En cuanto a la actividad de la GPT en suero, sólo los animales tratados del grupo II muestran un incremento en relación con los controles. En ningún caso se obtuvieron diferencias entre los animales controles y los controles ficticios (tabla I).

El hígado de todos los animales controles muestra una estructura hepática normal. El de los tratados con cromo durante 4 semanas (grupo I), muestra estructura normal con una ligera vacuolización en algunos hepatocitos, el de los del

Tabla I. Niveles de urea y transaminasas en suero de rata (grupos I, II y III).

Las actividades de GOT y GPT se expresan en unidades/ml de suero. Una unidad se define como la cantidad que transforma  $1 \mu\text{mol}$  de sustrato por minuto a  $37^\circ\text{C}$ . La urea se expresa en  $\text{mg}/100 \text{ ml}$ . Los valores representan la media  $\pm$  DS para 5 ratas en los grupos controles y tratados y 3 ratas para los ficticios.

GRUPO:		I	II	III
UREA	Controles	$0,370 \pm 0,022$	$0,367 \pm 0,013$	$0,365 \pm 0,025$
	Tratadas	$0,461 \pm 0,034^*$	$0,402 \pm 0,038$	$0,408 \pm 0,035$
	Ficticios	$0,375 \pm 0,021$	$0,370 \pm 0,012$	$0,368 \pm 0,030$
GOT	Controles	$92,91 \pm 4,56$	$94,31 \pm 3,97$	$91,62 \pm 6,37$
	Tratadas	$106,42 \pm 8,23$	$109,71 \pm 8,96$	$103,12 \pm 14,05$
	Ficticios	$100,02 \pm 6,41$	$98,5 \pm 5,37$	$96,38 \pm 7,73$
GPT	Controles	$52,61 \pm 10,71$	$60,03 \pm 11,21$	$54,13 \pm 10,83$
	Tratadas	$47,16 \pm 5,34$	$59,38 \pm 5,57$	$105,75 \pm 20,98^*$
	Ficticios	$49,12 \pm 8,31$	$58,42 \pm 7,82$	$56,03 \pm 8,08$

\*  $p < 0,01$  en comparación con el control, mediante el test de la *t* de Student.

grupo II, clara vacuolización en los hepatocitos y dilatación en venas centrales y sinusoides y en los del grupo III las alteraciones anteriormente reseñadas, de modo más acusado, así como pequeñas áreas con ligera necrosis, que en ningún caso es generalizada.

Los cortes de riñón de ratas controles y controles ficticios muestran una apariencia normal. La administración de cromo (VI) en el agua de bebida durante 4 y 12 semanas, causa una dilatación en el túbulo contorneado proximal, acompañada de un aplanamiento del forro epitelial y vacuolización de intensidad variable. En la mayoría de los cortes se detectan abundantes depósitos de albúmina que podrían indicar desintegración del epitelio tubular. Los riñones del grupo I presentan un aspecto semejante a los tratados durante 8 y 12 semanas, aunque las alteraciones son menos generalizadas.

### Discusión

Los animales a los que se añadió cromo en el agua de bebida, ingieren cantidades significativamente menores de líquido que los controles. Además, a lo largo del período de tratamiento la ingestión de agua disminuye progresivamente hasta que, al cabo de 12 semanas, los tratados ingieren menos de la mitad de líquido que los controles. En consecuencia, la cantidad total de cromo ingerida también va disminuyendo. Considerando que el cromo administrado por vía digestiva, se absorbe en solo un 3% aproximadamente (14), que además, una elevada proporción de cromo (VI) se reduce a cromo (III) en presencia de jugo gástrico, y que el cromo (III) se absorbe más difícilmente que el cromo (VI) (0,3-0,5%) (21), se puede tener una idea aproximada de la cantidad de cromo que llega a intervenir como agente tóxico en las ratas tratadas. Así, suponiendo que sólo el 50% del cromo (VI) se redujera a cromo

(III), se obtendrían valores medios de 184, 165 y 133  $\mu\text{g}$  de cromo absorbido diariamente por los animales tratados, a lo largo de 4, 8 y 12 semanas de tratamiento, respectivamente.

Durante el período experimental, las ratas tratadas pierden peso respecto a los controles, si bien no se observan diferencias significativas debido, posiblemente, a la elevada dispersión en el peso de los animales utilizados.

De los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas, se desprende que el cromo provoca un incremento en los niveles de la GPT sérica, sobre todo tras 90 días de tratamiento. La GOT, sin embargo, no experimenta variaciones significativas entre individuos tratados y controles. Estos resultados podrían estar de acuerdo con la localización celular de ambas enzimas. La GPT está localizada en el citoplasma celular, mientras que la GOT se encuentra en el citoplasma y también en las mitocondrias (6). Tras una lesión hepática, el aumento en el nivel sérico de los enzimas de origen mitocondrial debería ser menor que el experimentado por los enzimas de localización citoplasmática. Después de 12 semanas de tratamiento con cromo (VI), a las dosis utilizadas en el presente trabajo, las alteraciones producidas en las células hepáticas no producen variaciones en los niveles de GOT, pero son suficientes para inducir una variación en los niveles circulantes de GPT. De cualquier modo se considera que en ratas, sólo la GPT tiene un origen claramente hepático, mientras que la GOT presenta una distribución tisular variable (5). Así, un incremento de la GPT en suero puede atribuirse directamente a un daño hepático, mientras que un aumento en los niveles de GOT, puede ser debido a diversas causas.

Los niveles de urea en suero aumentaron en los individuos tratados, pero las diferencias con respecto a los controles fueron significativas sólo en las primeras 4 semanas del período experimental. Al

prolongar éste, se aprecia una disminución en las diferencias, llegando a no ser significativas en relación con los controles, tras 8 y 12 semanas de tratamiento. Este incremento parece estar relacionado con un daño renal tubular. Además, el examen histológico del riñón confirma la presencia de alteraciones típicas a nivel del túbulo contorneado proximal, que constituye una manifestación frecuente en la nefropatía tóxica (11), en concordancia con otros estudios anatómicos (3, 13). En relación con el hígado, las observaciones histológicas están de acuerdo con las alteraciones hepáticas anteriormente consideradas, si bien la intensidad y extensión de tales alteraciones es algo más reducida que la descrita en otros trabajos (20), lo cual puede ser debido a la presencia de una proporción más baja de cromo activo en el presente experimento. Finalmente, puede decirse que el cromo (VI) administrado en agua de bebida produce a las ratas daño hepático y renal, similar al que origina este metal administrado por vía intraperitoneal o intravenosa, aunque menos acusado, precisando, probablemente, exposiciones más largas para obtener los mismos efectos.

### Resumen

Se estudia en rata el efecto del cromo (VI) administrado en el agua de bebida, sobre el hígado y riñones. El líquido ingerido por los animales tratados desciende a la mitad del ingerido por los controles, tras 12 semanas de tratamiento. Se observan alteraciones histológicas en hígado y en riñones. En suero los niveles de urea aumentan en animales tratados, no se encuentran diferencias significativas en los de GOT y los de GPT aumentan significativamente.

**Palabras clave:** Cromo (VI), Daño hepático y renal, Rata albina.

### Bibliografía

1. Anwar, R. A., Langham, R. F., Hoppert, C. A., Alfredson, B. W. y Byurrun, R. U.: *Arch. Environ. Health*, 3, 92-102, 1961.
2. Baetjer, A. M., Birmingham, D. J., Enterline, P. E., Mertz, W. y Pierce, J. D.: Chromium. National Academy of Sciences, Washington, 1974.
3. Biber, T., Mylle, M., Baines, A. D., Gottschalk, C. W., Oliver, J. y MacDowell, M. C.: *Amer. J. Med.*, 44, 664-705, 1968.
4. Bryson, W. G. y Goodall, C. M.: *Carcinogenesis*, 4, 1535-1539, 1983.
5. Clampitt, R. B.: *Arch. Toxicol.*, Sup. 1, 1-3, 1978.
6. Czok, R.: *Proc. European Soc. Drug Study of Drug Toxicity*, 5, 65-72, 1965.
7. Chen, N. S., Tsai, A. y Dear, I. A.: *J. Nutr.*, 103, 1182-1186, 1973.
8. Donaldson, R. M. y Barreras, R. F.: *J. Lab. Clin. Med.*, 68, 484-493, 1986.
9. Evan, A. P. y Dail, W. G.: *Lab. Invest.*, 30, 704-715, 1974.
10. Grosse, W. y Heller, R.: *J. Indust. Hyg. Toxicol.*, 28, 52-68, 1946.
11. Hepinstall, R. H.: *Pathology of the kidney*. Little and Brown, Boston, 1966.
12. Iijima, S., Matsumoto, N. y Chiung Lu.: *Toxicology*, 26, 257-265, 1983.
13. Kramp, R. A., MacDowell, M., Gottschalk, C. W. y Oliver, J.: *Kidney Inter.*, 5, 147-176, 1974.
14. MacKenzie, R. D., Anwar, R. A., Byurrun, R. U. y Hoppert, C. A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 79, 200-205, 1959.
15. Manual de química clínica. E. Merck. Darmstadt. 1981. p. 175.
16. Matsumoto, N., Iijima, S. y Katsunuma, H.: *J. Toxicol. Sci.*, 1, 1-13, 1976.
17. NIOSH. Criteria for a recommended standard: Occupational exposure to chromium (VI). U. S. Government Printing Office. Washington. DC, 1975. p. 129.
18. Reitman, S. y Frankel, S.: *Amer. J. Clin. Pathol.*, 28, 56-63, 1957.
19. Royle, H.: *Environ. Res.*, 10, 39-53, 1975.
20. Tandon, S. K., Saxena, D. K., Gaur, J. S. y Chandra, S. V.: *Environ. Res.*, 15, 90-99, 1978.
21. Viseck, W. J., Whitney, I. B., Khun, U. S. y Comar, C. L.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 84, 610-615, 1953.

