

# Inmunotoxicidad en cetáceos. Parte I: metales pesados

Cámara, S.(1); Esperón, F.(1); de la Torre, A. (1); Carballo, M. (1); Aguayo, S. (2); Muñoz, MJ (1); Sánchez-Vizcaino, J.M (2).

(1): Dpto. Sanidad Ambiental. CISA-INIA. Ctra. Valdeolmos-El Casar s/n, 28130 Valdeolmos, Madrid

(2): Dpto. Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria, UCM, Ctra. Coruña s/n, 28040, Madrid

## 1. Introducción a la Inmunotoxicidad

La inmunotoxicología es una disciplina científica relativamente reciente cuyo objetivo es estudiar las alteraciones que se producen en el sistema inmune como consecuencia de la exposición a diferentes agentes químicos (De Guise y col., 2003). Precisamente, dos de los campos fundamentales de menor desarrollo dentro de la fauna silvestre y sobre todo en mamíferos marinos, corresponden a la inmunología y a la inmunotoxicología.

Es a partir de la década de los 70 cuando se empieza a prestar más atención a ciertos efectos producidos por la exposición, mantenida en el tiempo, de bajas concentraciones de ciertos tóxicos. Entre estos efectos nos encontramos con la alteración de la respuesta inmune (Koller, 1979). En los primeros años en los que se empieza a desarrollar esta disciplina, los conocimientos acerca del sistema inmunológico eran menores y los estudios que se realizaban consistían en observar si los animales expuestos a distintos tóxicos presentaban mayor mortalidad frente a agentes infecciosos que los individuos no expuestos, o bien, si los individuos inmunodeprimidos presentaban una mayor susceptibilidad frente a ciertos agentes infecciosos y tumorales (Mosczyński, 1997). Posteriormente y a medida que han ido aumentando los conocimientos sobre el sistema inmune, los estudios de inmunotoxicidad también se han ido especializando en las posibles alteraciones de los distintos tipos celulares que componen el sistema inmune (linfocitos, macrófagos,

natural killer), así como en su funcionalidad (fagocitosis, producción de citoquinas, etc). Actualmente podemos decir que el desarrollo de esta ciencia va adquiriendo una gran consideración si bien resulta difícil interpretar que representa la exposición de muchos de estos tóxicos, que son contaminantes ambientales, en la capacidad de respuesta frente a los agentes infecciosos, y cual es, en definitiva, el porcentaje de contribución de la inmunosupresión en la disminución de la capacidad de supervivencia de nuestras especies silvestres. Ya sabemos que la exposición crónica o subcrónica a concentraciones menores que las que producen efectos tóxicos, pueden alterar la composición o funcionalidad del sistema inmune (Repetto, 1997). Por ello, se sospecha que muchas poblaciones animales expuestas y dependientes de ciertos ambientes contaminados, como p.e. los cetáceos, puedan estar sufriendo el efecto inmunosupresor de los xenobióticos presentes en el medio marino, sin que en la actualidad se conozca el alcance de esa situación ni se pueda valorar la responsabilidad de este factor en la disminución observada de la supervivencia de muchas especies.

En términos generales, la respuesta inmune depende del éxito de la interacción de un antígeno con los diferentes componentes que forman parte del sistema inmune, tanto en la respuesta de tipo celular como en la de tipo humoral. La alteración de la respuesta inmune puede observarse como una inmunosupresión, que puede predisponer a infecciones e incluso favorecer el desarrollo de neoplasias; o bien puede producir

una estimulación de la respuesta inmune dando lugar a alergias o a enfermedades autoinmunes. Los xenobióticos tienen capacidad para actuar a través de muchos de estos procesos.

Se sabe que existe una relación estrecha entre el sistema neuroendocrino y el sistema inmune (WHO, 2002), y que se lleva a cabo a través de neurohormonas secretadas por el primero. Así pues, ciertos glucocorticoides como el cortisol, que se sabe se produce como respuesta a un agente estresante (p.e. exposiciones de muchos contaminantes en el medio acuático), puede alterar la respuesta inmune, inhibiendo por ejemplo, la producción de muchas citoquinas. El Cortisol afecta al timo, a los leucocitos y a muchas funciones como la proliferación de los linfocitos T que pueden verse inhibidas. Existen otros mecanismos mediados por la acción directa de ciertos neuropéptidos que ejercen una acción estimuladora o supresora sobre el sistema inmune. Para su comunicación, las células del sistema inmune llevan receptores para ciertas hormonas, neuropéptidos y neurotransmisores tales como ACTH, GH y esteroides sexuales; pues bien los glucocorticoides pueden inhibir la expresión de los receptores de la superficie de las células del sistema inmune y potenciar la reacción en fase aguda inducida por la citoquinas. Se sabe que la secreción de ciertas hormonas del timo como la timulina, están bajo control neuroendocrino, y moduladas por la GH y PRL y hemos dicho que muchos contaminantes ambientales pueden afectar la secreción de glucocorticoides por lo que podrían afectar esa actividad del timo.

También ciertas hormonas, esta vez sexuales, influyen sobre el sistema inmune. El balance entre las masculinas (testosterona) y las femeninas (E2), influye en el grado de respuesta. Generalmente las primeras son mas inmunoestimuladoras y sin embargo E2 y estrógenos sintéticos no esteroideos como el DES son potentes supresores de la inmunidad específica. Todos aquellos contaminantes con capacidad de alterar el sistema endocrino y mas concretamente el sistema reproductor van también a influir de alguna manera sobre la capacidad de respuesta del individuo a los agentes infecciosos presentes en el medio.

Debemos tener en cuenta que tanto el sistema inmune como el neuroendocrino se van formando progresivamente desde el nacimiento y por ello la capacidad de respuesta de los recién nacidos va a encontrarse disminuida, ofreciendo una alta vulnerabilidad tanto a la exposición de agentes tóxicos contaminantes como a los patógenos, lo que puede poner en peligro la supervivencia de una población natural por una doble vía.

Este artículo pretende ofrecer una revisión sobre los contaminantes ambientales considerados como principales inmunotóxicos, otorgando una mayor trascendencia a aquéllos descritos previamente en cetáceos. Debido a la extensión de esta revisión, la presentamos en dos partes: I) Inmunotoxicidad de metales pesados y II) Inmunotoxicidad de compuestos orgánicos.

## 2. Los metales pesados en el medio marino

Entre los metales que pueden producir efectos adversos sobre la salud, se encuentran algunos como el cobre, el hierro, el cinc o el selenio que, en concentraciones traza, pueden ser esenciales para la vida, y algunos otros como el mercurio, cadmio y plomo que no cumplen ningún papel biológico (metales no esenciales) y que son muy tóxicos incluso a

**Tabla 1.** Inputs de cadmio, mercurio y plomo en medio marino (Chongprasith y col., 1999; Deocadiz y col., 1999; Wong y Tan, 1999).

	Procedencia	Cadmio (t/año)	Mercurio (t/año)	Plomo (t/año)
Aportes naturales	Rocas sedimentarias	21625	25000	24500
	Volcanes Incendios forestales			
Aportes antropogénicos	Minería	4625	16000	?
	Pigmentos			
	Baterías			
	Plásticos			
	Incineración Vehículos			

**Tabla 2.** Concentraciones de cadmio, mercurio y plomo descritas en medio marino (Chongprasith y col., 1999; Deocadiz y col., 1999; Wong y Tan, 1999).

	Océano (µg/L)	Aguas costeras (µg/L)	Sedimento (µg/g)
Cadmio	0.01-2.80		0.1-6.45
Mercurio	0.0005-0.4	0.002-2.7	0.02-350
Plomo	0.003-40		1-283

arsénico y el selenio se suelen considerar, junto con el resto de metales, dentro del grupo de elementos tóxicos que pueden suponer un riesgo para la salud ambiental. Entre todos ellos destacan el cadmio, plomo, mercurio y níquel, que por su toxicidad, persistencia en el medio y poder de bioacumulación, han sido clasificados como Sustancias Prioritarias (SP) (Decision 2455/2001/EC) y PBT (Persistent, Bioaccumulative and Toxic substances) (ECB, 1996), lo que implica una fuerte regulación en la gestión de su producción, comercialización y eliminación al medio (CCE, 2003). Un hecho importante a destacar es su elevada vida media, con una DT<sub>50</sub> mayor de 60 días en agua marina y de más de 180 días en sedimentos marinos, por lo que los organismos superpredadores -entre ellos los cetáceos odontocetos-, estarían mucho más expuestos a la acción de estos compuestos. Actualmente, las políticas de actuación de sustancias con propiedades peligrosas están considerando de manera especial los metales debido al riesgo que presentan por su acumulación en el medio y la posibilidad de propagación a áreas remotas de los océanos, ocasionando daños irreversibles en ambientes naturales (Hanson et al, 2002).

de incorporación de los metales en el mundo oceánico y en la biota. En ambientes costeros hay que tener en cuenta además, las emisiones puntuales y difusas de tierra a mar (Tablas 1 y 2).

Una vez en el medio, las características intrínsecas de los metales junto con las propiedades del medio marino pueden dar lugar a diferentes procesos de adsorción, desorción, degradación biótica y abiótica, precipitación, disolución, etc... que van a definir su comportamiento ambiental (Repetto, 1997). La especiación de los metales, esto es, la proporción de las formas químicas en las que se presenta un metal (Tabla 3), depende de condiciones ambientales como el pH, el potencial redox, la salinidad o la temperatura, y va a influir decisivamente en la biodisponibilidad del metal para ser absorbido por un organismo y, por tanto, en su toxicidad (Ma y col., 2002).

Cambios en el pH del medio próximo a los sedimentos afectan a la especiación de los metales asociados a la materia sólida sedimentada y de esta manera a su biodisponibilidad. Los metales quedarán liberados y se encontraran disponibles en el medio, incrementándose la toxicidad para los seres vivos expuestos (Erickson y col., 1996; Vasconcelos y col., 1997;

**Tabla 3.** Formas de especiación de los metales. Especies predominantes y ecotoxicológicamente relevantes en medio marino para cadmio, mercurio y plomo (Chongprasith y col., 1999; Deocadiz y col., 1999; Wong y Tan, 1999).

Elemento	Formas inorgánicas			Formas orgánicas
	Ión	Haluros (Cl, Br, OH):	Sulfuros	Oxidos: / Compuestos organometálicos
		XCl <sup>+</sup> XCl <sub>2</sub> XCl <sub>3</sub> <sup>-</sup> XCl <sub>4</sub> <sup>-</sup>	XS XHS <sup>-</sup>	XO XCO <sub>3</sub>
Cadmio	Cd <sub>2</sub> <sup>+</sup>	Hidratos Cd <sub>2</sub> <sup>+</sup>		Cd-compuesto orgánico
Mercurio		HgCl <sub>2</sub>		CH <sub>3</sub> Hg <sup>+</sup>
Plomo		PbCl <sup>+</sup>	PbCO <sub>3</sub>	

**Tabla 5.** BCF en peces, plantas e invertebrados del cadmio, mercurio y plomo (Chongprasith y col., 1999; Deocadiz y col., 1999; Wong y Tan, 1999).

	Cadmio	Mercurio inorgánico	Mercurio orgánico	Plomo
Peces	22-2213	1800-7000	36000-100000	5.1-300
Plantas	1000	853-10920	100000	725
Invertebrados	22-3160	129-12600	70700	17.5-2570

Ritter y col., 2002). Los niveles de metales en los sedimentos pueden ser utilizados en las valoraciones de zonas contaminadas y su estudio a una determinada profundidad puede informarnos acerca de la historia de ese proceso (Chou y cols, 2002; Ouyang y cols, 2002; de Mora y cols, 2004). Su depósito en sedimentos debe considerarse un hecho relevante ya que permite la ingestión por los organismos de fondo (fundamentalmente invertebrados) que constituyen la base alimenticia de otros organismos. Por ello, los moluscos bivalvos constituyen, por regla general, buenos indicadores de contaminación en ambientes marinos (Elder y cols, 1991; Han y cols, 1997; Szefer y cols, 2002). El carácter lipofílico del contaminante favorecerá decisivamente su concentración (Tabla 4) y acumulación en los tejidos grasos de las especies, y de esta manera algunos metales se pueden biomagnificar (ejemplo del mercurio) (Deocadiz y col., 1999) a lo largo de la cadena trófica (Figura 1) aunque no es una característica común a todos ellos (caso del plomo) (Wong y Tan,

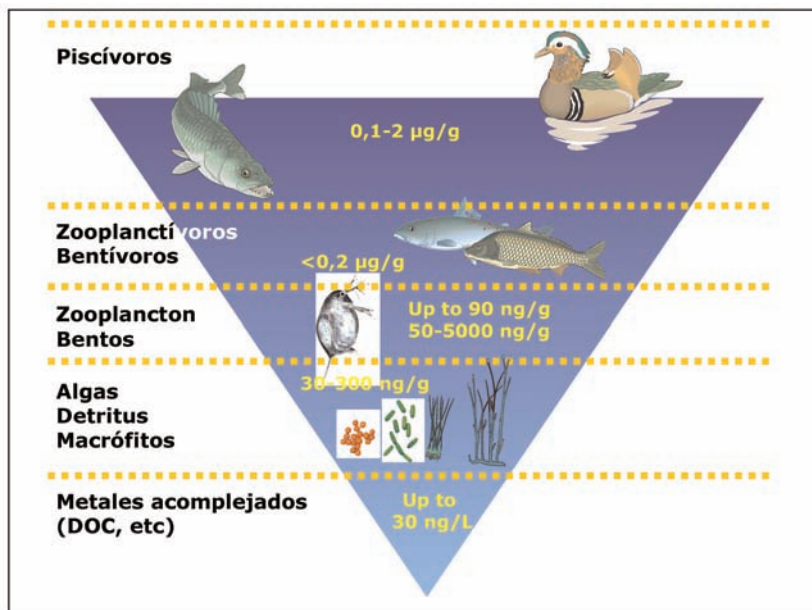
1999). Debido a este proceso de biomagnificación a lo largo de la cadena trófica, debemos considerar la vía del alimento como la ruta de exposición más importante para muchos animales acuáticos, como es el caso de los cetáceos y en particular, los odontocetos, animales superpredadores que

se sitúan en la cúspide de la cadena alimenticia, frente a otro tipo de exposición debido a las bajas concentraciones que suelen detectarse en agua por el potente efecto de dilución del océano (CSTEE, 2002). Finalmente, los cetáceos son animales que tienen un período de vida largo (entre 20 y 80 años) por lo que hay que considerar de forma muy especial el daño provocado por las exposiciones crónicas. Además, los cetáceos poseen un alto contenido en tejido graso donde los compuestos lipofílicos tienden a acumularse (O’Shea y col., 1999). En todo caso, existe una relación dosis-respuesta o concentración-efecto que marca el daño potencial de un contaminante en una determinada exposición (SMTA, 1980).

Durante su exposición, la forma en la que esté presente el metal (especiación, derivados orgánicos o sales inorgánicas) determinará su vía y tasa de absorción y eliminación, los tejidos diana y de acumulación, la capacidad de atravesar barreras orgánicas y su acción tóxica y gravedad de la misma (Soria y col., 1995).

En la mayoría de los casos, los organismos sufren exposiciones crónicas, estando expuestos a pequeñas concentraciones durante periodos de

**Figura 1.** Biomagnificación del metilmercurio en la cadena trófica acuática (Chongprasith y col., 1999; Deocadiz y col., 1999; Wong y Tan, 1999).



tiempo más o menos prolongados. Estas exposiciones junto con una capacidad de eliminación lenta, producen acumulaciones en los tejidos de los organismos expuestos. El significado de esta acumulación debe ser tomado con precaución ya que solo reflejará una exposición pero no un efecto. Entre los efectos caben destacar las alteraciones bioquímicas incluyendo las que competen al sistema inmune (Repetto, 1997).

### **3. Inmunotoxicidad de metales**

Dosis de metales inferiores a aquellas consideradas como tóxicas pueden afectar a los diferentes constituyentes del sistema inmunitario. Existe suficiente bibliografía actual sobre la capacidad inmunosupresora de los derivados orgánicos o sales inorgánicas de Pb, Cd y Hg en animales expuestos a estos tóxicos y que posteriormente sufren infecciones. Aparte de que actualmente se sabe que ciertos metales como Zn, Cu, Se, etc., son importantes en la modulación inmunitaria, la forma de presentación de un metal es decisiva en su actividad inmunitaria. Así, la hidrosolubilidad de muchas sales (Pb, Cd, Hg) permite reaccionar con las proteínas séricas de formación de antígenos y como consecuencia se puede modificar la inmunidad humoral. En contraste, la liposolubilidad de los compuestos orgánicos permite su transporte a través de las membranas y su acumulación en timo y linfocitos, por lo que se ve afectada la inmunidad mediada por células. Aparte de esto, ciertos metales como el níquel, el cobalto o el plomo, son conocidos alergizantes.

En general, los metales pesados pueden producir una variedad de efectos inmunomoduladores que, en última instancia van a dar lugar a un aumento de la susceptibilidad a infecciones o al desarrollo de tumores. Por otro lado, se ha postulado que la toxicidad de los metales, al menos en parte, puede ser debida a reacciones de autoinmunidad, ya que los principales órganos diana afecta-

dos presentan alteración autoinmune. Un ejemplo de esto es la glomerulonefritis inducida por el cadmio o el mercurio.

Además de producir efectos a nivel sistémico, pueden inducir alteraciones de diferentes componentes del sistema inmune, como una disminución de anticuerpos o alteración de la funcionalidad de linfocitos T y B, macrófagos y NK.

La acción de los MP en el sistema inmune depende de varios factores como la dosis. Se ha observado que los metales pueden producir inmunestimulación a niveles inferiores que los que se han asociado con inmunosupresión.

Los mecanismos que dan lugar a estos efectos inmunomoduladores de los metales no están completamente aclarados. Pero se piensa que las metalotioneínas tienen un papel importante. Éstas son unas proteínas que se unen a los metales pesados y que intervienen en su regulación homeostática y probablemente en su detoxificación.

### **4. Mercurio**

#### **1) Características generales del mercurio**

El mercurio es el único metal que se biomagnifica en la cadena trófica (Magos, 1990). El mercurio procedente de la atmósfera, alcanza los ambientes marinos, y debido a su afinidad por la materia particulada en suspensión, se deposita en los sedimentos donde se metila al compuesto metilmercurio, altamente tóxico, por la acción de las condiciones de pH, oxígeno y actividad del ion sulfuro, pero principalmente por la acción bacteriana (Jernelov y col., 1975; Magos, 1990; Keckes y Mietinnen, 1972). El monometilmercurio es la forma química que queda retenida en la solución y que puede ser acumulada por la biota y biomagnificarse debido a su afinidad por las grasas. El potencial de bioacumulación más elevado lo presenta el metilmercurio

(40.000) (USEPA, 1985a).

The U.S. Environmental Protection Agency determinó que los peces contaminados por mercurio constituyen la principal ruta de exposición para el ser humano. Este hecho debe de tomarse en cuenta cuando consideramos a los cetáceos odontocetos.

#### **2) Metabolismo y mecanismo de acción del mercurio**

El mercurio puede ser absorbido a través de membranas, ya sea la piel, las vías respiratorias o el intestino. Una vez absorbido, el metal se distribuye por todo el organismo y se deposita principalmente en hígado y riñones. Se elimina muy lentamente, por lo que cantidades considerables se retienen indefinidamente en los tejidos (Garner, 1970).

El riesgo mayor frente al mercurio lo presentan los embriones, recién nacidos y juveniles, donde el sistema nervioso está aún en pleno desarrollo, siendo cuatro veces más sensibles que los adultos. Los principales daños ocurren antes del nacimiento o durante la infancia. En peces, aves y mamíferos se han descrito numerosos efectos adversos que abarcan desde la muerte de los individuos hasta efectos relacionados con la disminución de la reproducción y la alteración en el crecimiento, desarrollo y comportamiento (Chongprasith y col., 1999). Los daños más importantes son los neurológicos.

A nivel celular/molecular, el mercurio puede alterar cualquier proceso hormonal, enzimático o inmune en los que estén implicados grupos tioles. El mercurio inhibe la síntesis del glutatión, que interviene en su detoxificación pero también en la función del sistema inmune. Las células del sistema inmune son extremadamente sensibles a la acción del mercurio.

#### **3) Inmunotoxicidad del mercurio**

El mercurio es uno de los contaminantes inmunotóxicos que más se ha estudiado. Se sabe que modula las



respuestas inmunes, produciendo desde inmunosupresión hasta enfermedades autoinmunes, si bien los mecanismos responsables de dichos efectos no son bien conocidos (Kim y col., 2003, Moszczynsky, 1997).

Se ha observado que el mercurio, al igual que otros agentes inmunotóxicos, puede tener un efecto sistémico sobre el sistema inmune y también efectos selectivos sobre células diana (linfocitos B, linfocitos T, macrófagos) (Kacmar y col., 1999).

Entre las acciones sistémicas inmunosupresoras que se han observado, destaca el aumento de la mortalidad frente a agentes infecciosos, de animales expuestos a mercurio tanto en su forma orgánica (Koller, 1975) como en la inorgánica (Gainer, 1977b). Otro efecto sistémico descrito es la alteración morfológica y del peso de órganos linfoides, como el timo y el bazo (Dieter y col., 1983; Kim y col., 2003).

Además de estos efectos más inespecíficos sobre el sistema inmune, parece ser que el mercurio afecta tanto a la respuesta inmune humoral como a la celular. Diversos autores han observado que la exposición a mercurio disminuye la inmunidad humoral en distintas especies (Bridger and Thaxton, 1983; Dieter y col., 1983; Koller, 1973, Petruccioli y col., 1990), disminuyendo los niveles de anticuerpos frente a agentes infecciosos (Koller, 1979).

La inmunidad de tipo celular también puede verse afectada por el mercurio. Tanto la forma orgánica como la inorgánica de este metal afectan a los linfocitos de animales (Dieter y col., 1983) y humanos (Shenker y col., 1998). Se han descrito procesos de muerte celular e inhibición de la mayoría de sus funciones, incluyendo la proliferación (Shenker y col., 1998), la producción de citoquinas (Moszczynsky, 1997) y la síntesis de inmunoglobulinas (Shenker y col., 1998). El metilmercurio puede afectar también a los monocitos y neutrófilos provocando su muerte celular o reduciendo su

actividad fagocítica (Shenker y col., 1998). Otro tipo de células importantes en la función inmune cuya actividad también se ha visto reducida por la acción del mercurio en distintas especies animales, son las células NK (De Guise y col., 2000; Ilbäck, 1991; Ilbäck y col., 1991).

Además de estas alteraciones supresoras del sistema inmune, el mercurio puede inducir enfermedades autoinmunes (Aten y col., 1988). Las investigaciones *in vivo* (Moszczynsky, 1997) han demostrado que la administración de mercurio en varias especies de laboratorio puede dar lugar a una respuesta autoinmune, y nefropatía membranosa como resultado del depósito de los inmunocomplejos sobre la membrana basal glomerular (Henry y col., 1988).

En distintos experimentos *in vivo* se ha mostrado que según la especie e incluso la estirpe, el mercurio puede producir autoinmunidad o por el contrario inmunosupresión (Moszczynsky, 1997). Este hecho pone de manifiesto la importancia de la realización de estudios de inmunotoxicidad en diferentes especies para este metal, ya que existen variaciones específicas importantes en cuanto a sus repercusiones patológicas.

#### 4) Mercurio en cetáceos

Al igual que en el resto de los mamíferos, el mercurio es uno de los contaminantes más estudiados en cetáceos. Los niveles hallados se consideran semejantes, e incluso superiores a aquellos capaces de producir efectos en otros mamíferos (Law y col., 1991). Cabe destacar que la principal forma de mercurio hallada en los tejidos estudiados de los cetáceos varados es la orgánica debido, probablemente, a su bioacumulación a lo largo de la cadena trófica (Law, 1996). La principal fuente de contaminación en cetáceos, como hemos mencionado anteriormente, es mediante la ingestión de presas contaminadas (Law, 1996; Meador y col., 1999). Varios estudios sugieren

que los cefalópodos presentan los mayores niveles de mercurio de entre todas las presas (Frodello y col., 2000), siendo los cachalotes y los calderones los principales consumidores. Adicionalmente, algunos autores sostienen la hipótesis de que la condición de anoxia presente en los ecosistemas marinos favorece la conversión del mercurio inorgánico en metilmercurio (Colborn y Smolen, 2003).

Wagemann y Muir (1984) han descrito el rango de concentraciones hepáticas para el mercurio en cetáceos (100-400 mg/g de peso fresco), a partir de las cuales se pueden producir lesiones compatibles con intoxicación por dicho metal, como la presencia de lipofuscina en hígado (Rawson y col., 1993). Sin embargo, algunos autores han hallado niveles similares o superiores sin la presencia de lesiones compatibles (Siebert y col., 1999).

Un factor relevante a la hora de evaluar la toxicidad del mercurio en cetáceos es la presencia de elevados niveles de selenio, que forma con el anterior elemento complejos insolubles en el organismo (O'Hara y col., 2003). Los niveles hallados de ambos elementos en cetáceos suelen estar presentes en una relación molar de 1:1, lo que sugiere que gran parte del mercurio pueda estar inactivado (Itano y col., 1984; Meador y col., 1993). Dicho efecto protector del selenio frente al mercurio se ha demostrado en exposiciones *in vitro* en células renales de delfín manchado del Atlántico (*Stenella plagiodon*), en las que se observa una reducción de la apoptosis e inhibición de la proliferación celular (Wang y col., 2001).

A pesar del efecto protector del selenio frente al mercurio, los altos niveles de este metal hallados en cetáceos podrían estar relacionados con alteraciones en el sistema inmune. Siebert y col. (1999) hallaron en un estudio de varamientos en los mares Báltico y del Norte, significación estadística entre el nivel de mercurio

y los hallazgos patológicos, como la presencia de parásitos y neumonía; si bien, otros factores como la edad también podrían estar implicados.

En cuanto a los estudios inmunotoxicológicos realizados en cetáceos, tan sólo cabe mencionar los realizados por De Guise y col. (1996), en el que demostraron que el mercurio disminuía la proliferación de linfocitos de ballenas beluga (*Delphinapterus leucas*), confirmando la inmunotoxicidad de este compuesto. Debido a la gran magnificación del mercurio en los mamíferos marinos, en los que alcanzan concentraciones de 10 a 100 veces las halladas en atunes, especies que comparten el mismo eslabón en la cadena alimenticia (Baldi, 1986), los estudios relacionados con sus niveles tisulares y la función inmune *in vivo* se pueden considerar imprescindibles a la hora de conocer con más exactitud los procesos patológicos que tienen lugar en el medio ambiente.

## 5. Cadmio

### 1) Características generales del cadmio

El cadmio es uno de los metales pesados más tóxicos (López-Artíguez y Repetto, 1995). Su descubrimiento se puede considerar bastante reciente, siendo empleado en la industria de forma minoritaria desde hace medio siglo (Goyer, 1996). Sin embargo, su importancia radica en su capacidad tóxica, su alta biodisponibilidad en el medio y su larga vida media en los tejidos (Chongprasith y col., 1999).

Su entrada al medio marino se produce a través de la deposición atmosférica y de los aportes de los ríos. El cadmio se acumula rápidamente en todos los organismos vivos a través del agua y del alimento, pudiendo llegar a alcanzar concentraciones cientos o miles de veces superiores a las detectadas en las aguas (Callahan y col., 1979). El mayor potencial de bioacumulación lo pose-

en los invertebrados (y en especial los cefalópodos), con un BCF de hasta 3.160 y una vida media en el organismo muy elevada (USEPA, 1985b).

### 2) Metabolismo y mecanismo de acción del cadmio

Existe muy poca información sobre la toxicocinética del cadmio, pero parece que su distribución en el organismo varía dependiendo de si entra en forma libre (vía inhalación) o unido a proteínas (vía oral). En este último caso, el más representativo para los mamíferos marinos, el cadmio es transportado directamente al riñón unido a distintos tipos de proteínas, siendo el grupo más importante el de las metalotioneínas (Bartik y Piskac, 1981). Estas proteínas son importantes por su capacidad para modular la inmunotoxicidad de varios metales pesados, entre ellos el cadmio, el cinc y el cobre. Además pueden modular importantes funciones inmunes (Pillet y col., 2002). El cadmio se puede eliminar por vía renal o intestinal, pero la tasa de eliminación es muy baja (0.01% al día del total) pudiendo permanecer en el organismo una media de 30 años (para la especie humana) (López-Artíguez y Repetto, 1995). Así, se acumula de forma progresiva con la edad, pudiendo llegar a alcanzar concentraciones tóxicas para el organismo a largo plazo.

El cadmio se comporta como una toxina produciendo proteinuria y efectos hematológicos. Entre los trastornos crónicos que ocasiona se incluyen el daño renal, la disminución del nivel de calcio en el hueso, efectos de disrupción endocrina y neuroendocrina y, alteraciones en el sistema inmunológico (Chongprasith y col., 1999). Entre ellos, el efecto más importante es su poder cancerígeno. Debido al conjunto de todas estas evidencias, los grupos de expertos de la FAO y de la OMS advierten que el límite actual de cadmio en alimentación humana puede estar infra-

valorado, aunque consideran que aún se necesitarían mayores evidencias científicas de mayor peso que avalen esta decisión (FAO, 2003).

### 3) Inmunotoxicidad del cadmio

El cadmio puede producir una variedad de manifestaciones clínicas, afectando a sistemas como el renal, el hepático, el respiratorio y el vascular (Axelsson y col., 1966; Perry y col., 1976; Stowe y col., 1972). También existen estudios que indican que el sistema inmune es muy vulnerable a los efectos tóxicos del cadmio (Blakley, 1985), aunque este efecto ha sido muy discutido (López-Artíguez y Repetto, 1995). El tipo de respuesta que el cadmio puede provocar en la función inmune se puede ver afectada por diferentes factores como la dosis (Blackley, 1985) y el tiempo de exposición, la vía de administración y las especies animales utilizadas en los estudios (Koller, 1979).

Así, algunos autores han observado que el cadmio produce un efecto inmunosupresor (Blackley, 1985; Koller, 1979) mientras que otros autores han detectado cierta estimulación de las defensas del organismo frente a agentes patógenos (Bernier y col., 1995) cuando los animales están expuestos a cadmio. No obstante, la mayoría de los estudios llevados a cabo para valorar el efecto del cadmio sobre la susceptibilidad frente a infecciones por virus (Gainer, 1977b, Koller, 1973), bacterias (Koller y col., 1976) o protozoos (Exon y col., 1975) han mostrado que ésta se ve incrementada respecto a los individuos no expuestos al metal.

Al igual que con otros metales con capacidad inmunotóxica potencial, se han desarrollado estudios que han puesto de manifiesto que el cadmio puede inducir alteraciones de la inmunidad humoral y celular (Koller, 1979, López-Artíguez y Repetto, 1995).

En el estudio de la inmunidad humoral se ha visto que el cadmio puede alterar los títulos de anticuerpos

(Koller, 1979) Aunque las variaciones observadas eran distintas dependiendo de las dosis (Blackley 1985), la vía de administración (Koller y cols, 1976) y el tiempo de exposición (Koller, 1973). Así, varios estudios han mostrado una disminución del nivel de anticuerpos cuando las dosis de exposición a cadmio eran bajas (Koller, 1973; Koller y col., 1975), pero en otros casos se ha visto que son las dosis altas de cadmio las que hace disminuir el título de anticuerpos (López-Artíguez y Repetto, 1995). Por otro lado, se ha observado que el cadmio puede disminuir la formación de anticuerpos si se administra oralmente, pero no cuando se administra por vía intraperitoneal (Koller y col., 1976). En cuanto al tiempo de exposición, se ha constatado que cuando la exposición es crónica, el título de anticuerpos disminuye (Koller, 1973).

El estudio de la respuesta inmune de tipo celular también ha revelado algunas diferencias en los resultados (López-Artíguez y Repetto, 1995). Se han realizado estudios sobre el efecto del cadmio en distintos tipos de células inmunes y tanto los linfocitos T como los linfocitos B pueden verse afectados por este metal (Koller, 1979), inhibiéndose la actividad mitótica de los primeros y potenciándose la transformación de los linfocitos B (Koller, 1997; Blackley, 1985); aunque también se puede producir una marcada proliferación de las células germinales del tejido linfoide (Powell y col., 1979).

Las funciones de los macrófagos, incluyendo la fagocitosis (López-Artíguez y Repetto, 1995; Auffret y col., 2002), la actividad citolítica frente a células tumorales (Nelson y col., 1982) y la actividad enzimática (Nelson y col., 1982) pueden reducirse significativamente con el cadmio. También se ha observado que el cadmio reduce la actividad de las células NK (López-Artíguez y Repetto, 1995; Chowdhury y Chandra, 1989) y la del interferón (Gainer, 1977a).

Por último, algunos autores sugieren la hipótesis de que el cadmio pueda estar implicado en posibles procesos autoinmunes o alérgicos en individuos expuestos (Krocova y col., 2000); siendo los mecanismos de acción propuestos similares a los del mercurio (López-Artíguez y Repetto, 1995).

#### 4) Cadmio en cetáceos

En cuanto a los mamíferos marinos, se han observado niveles renales de cadmio en foca ocelada (*Phoca hispida hispida*) en el Ártico (Dietz, y col., 1998) muy superiores a los descritos por la OMS como tóxicos para la especie humana (WHO, 1992), y sin embargo no se ha hallado ninguna evidencia de toxicidad en la especie marina. Este hecho podría sugerir una mayor eficiencia de detoxificación del cadmio en mamíferos marinos (Dietz, y col., 1998). No obstante, estudios recientes basados en histopatología y microscopía electrónica con rayos X de energía dispersa, mostraban en delfines de flancos blancos (*Lagenorhynchus acutus*) varados en las Islas Feroe, que tenían niveles inferiores a los descritos en el estudio anterior, la presencia de glomerulonefritis membranoproliferativa, y concreciones de cadmio en la membrana basal del glomerulo (Gallien y col., 2001).

Lamentablemente, no existen suficientes estudios en mamíferos marinos que relacionen los niveles de cadmio con procesos patológicos en el sistema inmune. De Guise y cols. (1996) relacionaron exposiciones altas de cadmio en cultivos primarios de linfocitos de beluga (*Delphinapterus leucas*) con una reducción de la proliferación de linfocitos con respecto a las células control. Los niveles de cadmio empleados para la exposición fueron similares a los hallados en las belugas del Ártico, sugiriendo con ello una alta probabilidad de que en el medio natural se estén produciendo fenómenos inmunotóxicos similares a los obtenidos *in vitro* (De Guise y col., 2003).

## 2. Plomo

### 1) Características generales del plomo

El plomo es el metal tóxico más ubicuo en el medio ambiente (Goyer, 1996). Además, está considerado como uno de los principales contaminantes ambientales (National Research Council, 1972), y el metal pesado que más causas de intoxicación individual produce en muchos de los países desarrollados (Humphreys, 1990).

En el medio se encuentra en forma orgánica e inorgánica, siendo esta última la menos estable (Wong and Tan, 1999). En aguas marinas posee una vida media muy corta, pero se adsorbe a óxidos férricos y manganésicos, favoreciéndose su resolución en condiciones anóxicas (Nriagu, 1978b). Se bioacumula en organismos vivos a través de su ingestión vía agua y alimento (USEPA, 1985c).

### 2) Metabolismo y mecanismo de acción del plomo

Las dos principales vías de acceso de los compuestos de plomo al organismo son el tracto gastrointestinal y el respiratorio. Puede distribuirse por el organismo a través de la sangre. Inicialmente, el plomo libre se deposita en los riñones y en hígado. En este último se transforma a plomo inorgánico y trietilo, un potente tóxico para el sistema nervioso. Con posterioridad se redistribuye para ir a depositarse en los huesos en forma de fosfato terciario (95%) donde puede perdurar durante 30 años. Afortunadamente, una vez en el hueso deja de ser tóxico, protegiendo al resto de los órganos blandos. Otras áreas donde se deposita con predilección son los dientes, las uñas y el cabello. Únicamente se depositan pequeñas cantidades en el cerebro, específicamente en la sustancia gris y en los ganglios basales. El plomo puede pasar al feto a través de la placenta y

al recién nacido por la leche materna. Puede distribuirse por el organismo a través de la sangre y atravesar barreras biológicas como la hematoencefálica y la mamaria (Moreira y Moreira, 2004).

El plomo se combina con las proteínas inhibiendo muchas funciones enzimáticas y procesos metabólicos normales, entre ellos y con especial relevancia destaca la interacción del plomo con las mitocondrias celulares donde interfiere la síntesis de la energía de la célula del organismo. En humanos, el plomo afecta fundamentalmente al sistema nervioso central, riñones y sangre, aunque estudios actuales indican también un posible efecto a nivel conductual y de comportamiento (Bellinguer, 2004).

En la médula ósea el plomo interfiere en la formación del hierro con los eritrocitos, resultando en anemia y glóbulos rojos de vida corta. Inhibe la biosíntesis del grupo hemo ya que se une al grupo sulfidrilo de la enzima ALAD (ácido d-aminolevulinico dehidratasa), clave en la formación del grupo hemo. También inhibe la hemo sintetasa implicada en la incorporación del  $Fe^{++}$  en la molécula de la protoporfirina, que produce una porfirina libre de metal. Por otro lado, es capaz de producir la constricción de la musculatura de los vasos sanguíneos, y la pérdida de la envoltura miélinica de los nervios con lesiones encefálicas (Repetto, 1997).

### 3) Inmunotoxicidad del plomo

El plomo fue uno de los primeros contaminantes estudiados a finales de los años 60 por su posible efecto tóxico sobre el sistema inmune (Koller, 2001). Ha sido descrito como un agente inmunosupresor tanto en animales como en humanos (Lutz y col., 1999). Uno de los principales efectos inmunotóxicos evidenciados tras la exposición a plomo es la disminución de la resistencia de los individuos frente a infecciones bacterianas (Hemphill y col., 1971), víricas (Gainer, 1977b) y/o parasita-

rias (Agrawal y col 1989), así como un aumento de la susceptibilidad frente a tumores y endotoxinas (Lutz y col, 1999; Koller, 2001). Este efecto se ha observado incluso a niveles muy por debajo de los reconocidos como productores de signos clínicos descritos por intoxicación por este metal (Koller, 1979; Lutz y col., 1999).

Inicialmente se llegó a considerar como hipótesis más probable de la susceptibilidad frente a agentes víricos, la alteración de la síntesis del interferón. Sin embargo, estudios posteriores han demostrado que dicho metal no afectaba a su producción (Gainer, 1977a).

Se han estudiado también distintos componentes de la inmunidad celular y la inmunidad de tipo humoral para comprobar si el plomo tiene algún efecto sobre ellos.

La evaluación de la función celular del sistema inmune ha permitido llegar a la conclusión de que las células T son una de las células diana del plomo (Sata y col., 1998). Uno de los efectos que produce sobre este tipo de células es la alteración del equilibrio inmunomodulador entre las células Th1 y Th2. Estas células controlan distintas funciones inmunes mediante la producción de citoquinas. Las acciones relacionadas con las células Th2 son la secreción de las citoquinas IL-4 y en menor medida IL-5, IL-10 e IL-13, así como la promoción de la inmunidad de tipo humoral. Las respuestas de las células Th1 se caracterizan por la secreción de IL-2 e IFN-gamma y la promoción de la inmunidad celular citotóxica (Shen y col., 2001). Se ha podido observar en estudios *in vitro* que el plomo favorece la proliferación y las actividades reguladoras de las células Th2 (Heo y col., 1996; McCabe y Lawrence, 1991; McCabe y col., 2001), y perjudica la proliferación y/o actividades de las células Th1 (Heo y col., 1996, 1997; McCabe y col., 2001). Como resultado, aumentarían las citoquinas derivadas de las células Th2 y disminu-

rían las de Th1 (Heo y col., 1997). Además, la activación de las células Th2 unida a la inhibición de las células Th1 podría producir un aumento de la susceptibilidad frente a infecciones por virus y bacterias intracelulares ya que la inmunidad citotóxica estaría reducida. Así mismo, el predominio de la respuesta de tipo Th2 podría aumentar la producción de autoanticuerpos y favorecer las respuestas autoinmunes (Shen y col., 2001).

Sobre los macrófagos se ha observado que el plomo puede tener distintos efectos. Estudios con animales de laboratorio han demostrado que la exposición crónica a este metal activaba la acción de los macrófagos (Koller y Roan, 1977). Sin embargo, los estudios *in vitro* han señalado que el plomo puede afectar a estas células produciendo desde estimulación hasta supresión de su actividad dependiendo de la dosis de exposición (Krocova y col., 2000).

También el plomo puede afectar a la actividad citotóxica de las células NK del bazo (Talcott y col., 1985).

La evaluación de la inmunidad humoral también ha mostrado variaciones secundarias a la exposición al plomo (Lutz y col., 1999). En ensayos *in vitro* se ha observado que este metal aumenta la inmunidad humoral; lo que puede explicarse por los efectos que el plomo ejerce activando las células Th2, ya que las citoquinas que producen estas células promueven la diferenciación de linfocitos B (McCabe y col., 2001). Sin embargo, otros estudios han constatado una disminución de la proliferación de los linfocitos B tras la exposición a plomo (Lawrence, 1981b; Burchiel y col., 1987).

Una exposición crónica al plomo puede producir una disminución de los niveles totales de anticuerpos en suero en distintos animales (Koller, 1973; Lutz y col, 1999), ya que el plomo afecta a la síntesis de inmunoglobulinas (Koller, 2001). Se ha observado una reducción del número de células del bazo productoras de



IgM y una disminución más marcada del número de células productoras de IgG en ratones expuestos a distintas concentraciones de plomo, (Koller y Kovacic, 1974). Todos estos estudios ponen de manifiesto que la exposición crónica al plomo puede afectar la inmunidad humoral y, particularmente, la respuesta inmune secundaria de los animales expuestos a plomo (Koller, 1979).

#### 4) Plomo en cetáceos

Los niveles máximos de plomo hallados en la bibliografía referente a mamíferos marinos (Law y col., 1991; Parsons y Chan, 2001) se encuentran alejados de las dosis tóxicas descritas en otras especies (Garner y Papworth, 1967). Sin embargo, si tenemos en cuenta que los efectos inmunotóxicos se pueden producir a dosis subclínicas, no se puede descartar una alteración del sistema inmune en cetáceos. No obstante, no existen hasta la fecha estudios inmunotoxicológicos en mamíferos marinos relacionados con los niveles de plomo hallados en animales varados.

### 7. Inmunotoxicología de otros metales

No todos los metales suprimen el sistema inmune. El selenio, por ejemplo, puede aumentar la respuesta inmune, incrementando el número de células productoras de anticuerpos (Spallholz y col., 1973a). De hecho, se ha comprobado que el selenio es necesario para el mantenimiento óptimo del sistema inmune (Koller y col., 1986). También se ha observado que puede contrarrestar la inmunosupresión producida por el mercurio (Koller, 1979) (ver Mercurio). Hay estudios que indican que el déficit de selenio puede producir inmunosupresión; sin embargo, son menos conocidos los efectos que podría producir su exceso en la función inmune (Koller y col., 1986).

Otros contaminantes metálicos que se han hallado en el medio ambiente son los compuestos arsenicales (Koller, 1979). Están considerados como potentes tóxicos y los efectos adversos que causan han sido estudiados sobre todo en humanos (Harrison y McCoy, 2001). Se ha

visto que la exposición crónica a este metal puede producir, además de otros signos de toxicidad, inmunosupresión y cáncer (Harrison y McCoy, 2001). El arsénico está considerado como un inmunotóxico que puede afectar tanto a la inmunidad humoral como a la celular (Gonsebatt y col., 1992; Vega y col., 1999). Existen varios mecanismos por los que puede producir inmunosupresión: mediante la inducción de la apoptosis en las células expuestas (Harrison y McCoy, 2001; Styblo y col., 1997); y mediante la interacción con enzimas relacionadas con el sistema inmune como las catepsinas, que tienen un papel importante en el procesamiento de antígenos, mecanismo esencial para el desarrollo de la función inmune (Harrison y McCoy, 2001). Se ha observado que los compuestos derivados del arsénico aumentan la susceptibilidad de los animales de experimentación a diferentes agentes infecciosos (Gainer y Pry, 1972). Adicionalmente, se ha comprobado que el arsénico inhibe la acción del interferón (Gainer y Pry, 1972; Koller, 1979). En mamíferos marinos se ha demostrado que los compuestos

**Tabla 6.** Aspecto diferencial de la toxicidad del Mercurio, Cadmio y el Plomo (Soria y col., 1995).

METAL	FORMA	FUENTE	ABSORCIÓN	DISTRIBUCIÓN	BIOTRANSFORMACIÓN	ELIMINACIÓN	VIDA MEDIA	EFFECTOS TÓXICOS
<b>Cd</b>	Cd Cl <sub>2</sub>	Galvanizado, pinturas, plásticos, fertilizantes	Inhalatoria 25-50% Oral. 6% No existen mecanismos homeostáticos	Se une a hemoglobina, metalotioneínas y albúmina. Atraviesa muy poco la barrera hematoencefálica (BHE). Acumula en corteza renal	No, pero induce a la síntesis de metalotioneínas, formando complejos	Gastrointestinal, renal, pero sólo 0.01% al día	10-30 a.	Enfisema pulmonar, alteraciones renales, anemia, reacciones inmunes, alteraciones neurológicas y reproductivas, osteoporosis (enfermedad de Itai-itai). Teratogénesis, y sospecha de carcinogénesis
	Hg (Elemental)		Inhalatoria 80% Oral muy pobre	Se une a eritrocitos, atraviesa y altera BHE. Se acumula en riñón, cerebro, sistema nervioso periférico, testículos	Oxidación mediante catalasa	Renal, de forma mercúrica	60 d.	Insuficiencia respiratoria, vómitos y alteración del sistema nervioso, de forma aguda. Formas crónicas alteraciones en SNC y SNP, alteraciones renales
<b>Hg</b>	Hg Cl <sub>2</sub>	Minería, lámparas, fungicidas, fármacos	Inhalatorio no cuantificada Oral 2% Dérmica 8%	Eritrocitos (50%) y plasma. No atraviesa BHE. Acumula en riñón, hígado, mucosa, piel, testículo, feto	De mercurioso a mercúrico	Renal, biliar, sudor, lágrima, leche y saliva	5 d, 1 m, 3 m	Forma aguda: corrosión gástrica, necrosis tubular. Forma crónica: nefropatía glomerular autoinmune
	Hg CH <sub>3</sub> Cl (Cloruro de metilmercurio)		Inhalatoria 80% Oral buena Dérmica importante	Se une a proteínas, atraviesa BHE. Almacena en cerebro y 90% en eritrocitos	Desalquilación: desmetilación en riñón, hígado, bazo y heces. Desetilación en riñón, hígado, cerebro	Biliar, renal, leche y pelo	70 d.	Potente neurotóxico. Alteraciones renales. Teratogénesis
<b>Pb</b>	Pb (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Minería, pinturas, fundiciones	Inhalatoria 30% Oral 10% buena Dérmica sólo formas organometálicas	Unido a membrana y hemoglobina eritrocitaria. Atraviesa barreras. Acumula en hueso, riñón, hígado, músculo, cerebro	Forma cuerpos de inclusión intranucleares por acúmulos con proteínas, en células renales	Renal 76% Gastrointestinal, pelos, uñas, leche	5 a.	Forma aguda: vómitos, anorexia, alteraciones neurológicas. Foma crónica: neurotoxicidad, anemia, alteraciones renales, hepáticas, inmunitarias, gametotoxicidad y embriotoxicidad

orgánicos arsenicales tienen efectos inmunotóxicos sobre macrófagos y linfocitos (Sakurai y col., 1996).

El cobre está considerado como el segundo metal más importante en cuanto a la contaminación del medio acuático (Lawrence, 1981b). Sus efectos inmunotóxicos se han observado a lo largo de la escala evolutiva, desde invertebrados como los anélidos (Nuseti y col., 1998; Sauv e y col., 2002) o los moluscos bivalvos (Oubella, 1997), hasta los vertebrados, como peces (Khangarot y Rathore, 1999) o mamíferos (Pocino y col., 1990; Elgerwi y col., 1999). No existe, sin embargo, evidencia de altos niveles tisulares de cobre en mamíferos marinos, considerándose las diferencias halladas en las distintas áreas geográficas, más como deficiencias en la dieta que como exposiciones a fuentes contaminadas (Meador y col., 1999).

El níquel es un metal esencial para los animales. Contribuye a la acción de algunas enzimas, en la activación de hormonas y en el metabolismo en general (Soria y col., 1995). Pero se ha encontrado, a nivel experimental, que altas dosis de níquel aumentaban la infectividad del EMCV en ratones (Koller, 1979). Otros estudios describen que el acetato de níquel puede reducir el título de anticuerpos circulantes (Rigoni y Treagan, 1975, Koller, 1979) e inhibir la respuesta del interferón de las células expuestas al metal (Koller, 1979). El níquel (Graham y col., 1975) y el cinc (Karl y col., 1973) también han mostrado la capacidad de inhibir la actividad fagocítica y

**Tabla 7.** Niveles hepáticos de metales pesados descritos en cetáceos (<sup>a</sup> expresado en µg/g de peso seco; <sup>b</sup> expresado en µg/g de peso fresco). Para establecer comparaciones entre peso fresco y seco, recomendamos multiplicar a este último por 0,3, factor de conversión basado en el contenido de humedad del tejido, descrito por Yang y Miyazaki (2003).

Especie	Localidad	Cd	Pb	Hg	Referencia
T. truncatus	Honk Kong	0.87-2.35 <sup>a</sup>	<0.9-5.48 <sup>a</sup>	<0.8-299 <sup>a</sup>	Parsons et al., 2001
P. macrocephalus	Mar del Norte	52-175 <sup>a</sup>	<1-2.2 <sup>a</sup>	8,7-132 <sup>a</sup>	Holsbeek et al., 1999
D. delphis	Portugal	<0,07-2,5 <sup>b</sup>		n.d.-51,9 <sup>b</sup>	Zhou et al., 2001
S. coerulealaba	Italia	0.11-3.27 <sup>b</sup>	0.44-2.19 <sup>b</sup>	156.23-216.70 <sup>b</sup>	Cardellicchio et al., 2000

otras propiedades de los macrófagos. Son necesarias más investigaciones para llegar a comprender qué función realizan estos metales en la respuesta inmune.

Se ha documentado el efecto inmunosupresor en animales de experimentación por acción de otros metales (Koller, 1979). Así por ejemplo, se ha constatado que el cobalto aumenta la susceptibilidad frente al virus EMC en ratones (Gainer, 1972); que el cromo disminuye el título de anticuerpos en ratas (Rigoni y Treagan); y que el dióxido de silicio disminuye la síntesis de anticuerpos en ratones (Miller y Zarkower, 1974).

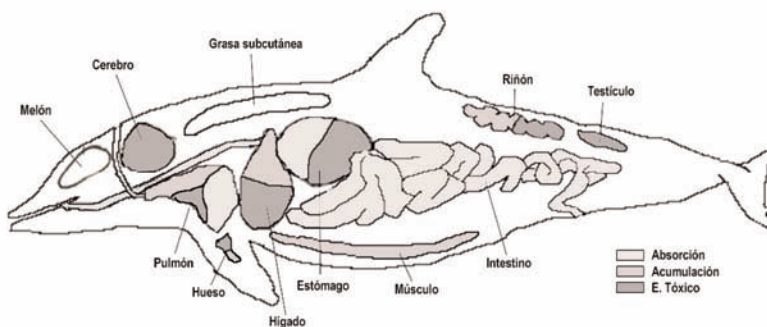
Mención aparte merecen los efectos causados en el sistema inmune por la exposición a mezclas de metales, situación directamente relacionada con poblaciones animales residentes en áreas próximas a zonas costeras que sufren la influencia de vertidos en el medio marino, como algunas poblaciones de cetáceos. Sin embargo, al igual que ocurre con otros efectos, la exposición a mezclas comple-

jas (como se han denominado a los vertidos) sobre el sistema inmune, no est  siendo considerada actualmente.

**Bibliografía**

- Aten, J., Bosman, CB., Rozing, J., Stijnen, T., Hoedemaeker, PJ., Weening, JJ. (1988): Mercuric chloride induced autoimmunity in the brown Norway rat: cellular kinetics and major histocompatibility complex antigen expression. *American Journal of Pathology* 133: 127-138.
- Auffret, M., Mujkzic, N., Corporeau, C., Moraga, D. (2002): Xenobiotic-induced immunomodulation in the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Marine Environmental Research* 54, 585-589.
- Axelsson, B. Piscator, M. (1966): Renal damage after prolonged exposure to cadmium: an experimental study. *Arch. Environ. Health* 12: 360-373.
- Baldi, F. (1986): The biogeochemical cycle of mercury in the Tyrrhenian Sea. 325 *FAO*.
- Bartik, M., Piskac, A. (1981). *En: Veterinary Toxicology*. Ed. Elsevier
- Bellinguer, D.C. 2004. Lead. *Pediatrics* 113(4):1016-22.
- Bernier, J; Brousseau, P; Krzysztyniak, K; Tryphonas, H; Fournier, M. (1995): Immunotoxicity of heavy metals in relation to Great Lakes. *Environmental*

**Figura 2.** Patogenia del mercurio, cadmio y plomo.



- Health Perspective* 103 (Suppl. 9): 23-34.
- 8.- Blakley, BR. (1985): The effect of cadmium chloride on the immune response in mice. *Can. J. Comp. Med* 49:104-108.
  - 9.- Bridger, MA., Thaxton, JP. (1983): Humoral immunity in chicken as affected by mercury. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 12: 45-49.
  - 10.- Burchiel, SW., Hadley, WM., Cameron, CL., Fincher, RH., Lim, TW., Elias, L., Stewart, CC. (1987): Analysis of heavy metal immunotoxicity by multiparameter flow cytometry: correlation of flow cytometry and immune function data in B6CF1 mice. *International Journal of Immunopharmacology* 9: 597-610.
  - 11.- Callahan, M.A. 1979. Water-related Environmental fate of 129 priority pollutants. Volume I. U.S. Environmental Protection Agency, EPA-440/4-79-C29a. National Technical Information Service, Springfield, Virginia.
  - 12.- Cardellicchio, N., Giandomenico, S., Ragone, P. & Di Leo, A. 2000. Tissue distribution of metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Apulian coasts, Southern Italy. *Marine Environmental Research* 49, 55-66
  - 13.- CCE, Comision de las Comunidades Europeas, 2003. Propuesta de reglamento del parlamento europeo y del consejo relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos y se modifican la Directiva 1999/48/CE y el Reglamento (CE) sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes. COM (2003) 644 final. Bruselas, 29.10.2003. 114 pp.
  - 14.- Chongprasith, P., Utoomprurkorn, W., y Rattikhansukha, C. 1999. Asean marine water quality criteria for cadmium. Marine Environment Division, Water Quality Management Bureau, Pollution Control Department. ASEAN CANADA CPMS-II. Cooperative Programme on Marine Science.
  - 15.- Chou CL, Haya K, Paon LA, Burridge L, Moffatt JD. Aquaculture-related trace metals in sediments and lobsters and relevance to environmental monitoring program ratings for near-field effects. *Mar Pollut Bull.* 2002 Nov; 44 (11):1259-68.
  - 16.- Chowdhury, BA., Chandra, RK. (1989): Effect of zinc administration on cadmium-induced suppression of natural killer cell activity in mice. *Immunology Letters* 22: 287-291.
  - 17.- Colborn, T., Smolen, MJ. (2003): Cetaceans and contaminants. En: Vos, JG.; Bossart, GD.; Fournier, M; O'Shea, TJ. *Toxicology of Marine Mammals. New perspectives: Toxicology and the Environment.* Taylor and Francis, 2003.
  - 18.- CSTEE, Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, 2002. Draft Revision version on: Part 3/B -Environmental Risk Assessment-Marine Part. Brussels, C2/JCD/esteeop/TGD-EnvRisAss-Marine25012002/D(02). 8 pp.
  - 19.- De Guise, S., Beckmen, KB., Holladay, S.çD. (2003): Contaminants and marine mammal immunotoxicology and pathology. En: Vos, JG., Bossart, GD., Fournier, M., O'Shea, TJ. *Toxicology of marine mammals. New perspectives: Toxicology and the environment.* Taylor and Francis.
  - 20.- De Guise, S., Bernier, J., Lapierre, P., Dufresne, M., Dubreuil, P., Fournier, M. (2000): Immune function of bovine leukocytes after exposure to selected heavy metals. *AJVR*, 61: 339-344.
  - 21.- De Guise, S., Bernier, J., Martineau, D., Béland, P., Fournier, M. (1996). *In vitro* exposure of beluga whale lymphocytes to selected heavy metals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15: 1357-1364.
  - 22.- De Mora S, Sheikholeslami MR, Wyse E, Azemard S, Cassi R. An assessment of metal contamination in coastal sediments of the Caspian Sea. *Mar Pollut Bull.* 2004 Jan;48(1-2): 61-77.
  - 23.- Decision 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council of 20 November 2001, establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC. *Official Journal L331 of 15.12.2001.*
  - 24.- Deocadiz, E.S., Diaz, V.R., y Otico, P.F.J. 1999. Asean marine water quality criteria for Mercury. Marine Environment Division, Water Quality Management Bureau, Pollution Control Department. ASEAN CANADA CPMS-II. Cooperative Programme on Marine Science.
  - 25.- Dieter, MP., Luster, MI., Boorman, GA, Jameson, CW., Dean, JH., Cox, JW. (1983): Immunological and biochemical responses in mice treated with mercuric chloride. *Toxicol. App. Pharmacol.* 68: 218-228.
  - 26.- Dietz, R., NØrgaard, J., Hansen, JC. (1998): Have arctic mammals adapted to high cadmium levels? *Marine Pollution Bulletin* 36 (6): 490-492.
  - 27.- ECB, European Chemical Bureau, 1996. Technical Guidance Documents in supporting of the Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and the Commission Regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances. European Chemical Bureau, Ispra. Italy. 76 pp.

- 28.- Elder JF, Collins JJ. Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface-water systems. *Rev Environ Contam Toxicol.* 1991; 122: 37-79. Review.
- 29.- Elgerwi, A., Pistl J., Bires, J., Klikova, K. (1999): The influence of industrial intoxication with copper on selected parameters of cellular immunity in sheep. *Veterinarni Medicina* 44 (6):171-176.
- 30.- Erickson, R.J.; Benoit, D.A.; Matts, V.R.; Nelson, H.P.; y Leonard, E.N. 1996. The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 181-193.
- 31.- Exon, JH., Patton, NM., Koller, LD. (1975): Hexamitiasis in cadmium-exposed mice. *Arch. Environ. Health.* 31: 463-464.
- 32.- FAO, Food and Agriculture Organization, 2003. Un comité de las Naciones Unidas recomienda nuevos límites de ingesta alimentaria de mercurio. <<http://www.fao.org/spanish/newsroom/news/2003/19783-es.html>> (Último acceso: 19 diciembre 2003).
- 33.- Frodello, JP., Roméo, M., Viale, D. (2000): Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environ. Poll.* 108, 447-4522.
- 34.- Gainer, JH. (1972): Increased mortality in encephalomyocarditis virus-infected mice consuming cobalt sulfate: tissue concentrations of cobalt. *Am. J. Vet. Res.* 33: 2067-2073.
- 35.- Gainer, JH. (1977a): Effects of interferon of heavy metal excess and Zinc deficiency. *Am. J. Vet. Res.* 38 (6): 863-867.
- 36.- Gainer, JH. (1977b): Effects of heavy metals and of deficiency of zinc on mortality rates in mice infected with encephalomyocarditis virus. *Am J Vet Res* 38: 869-872.
- 37.- Gainer, JH., Pry, TW. (1972): Effects of arsenicals on viral infections in mice. *Am. J. Vet. Res.* 33: 2299-2307.
- 38.- Gallien, I, Caurant, F., Bordes, M., Bustamante, P., Miramand, P., Fernandez, B., Quellard, N., Babin, P. (2001): Cadmium-containing granules in kidney tissue of the Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*) off the Faroe Islands. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C.* 130: 389-395.
- 39.- Garner, R.J., Papworth, D.S (1967): Garner's Veterinary Toxicology. 3<sup>rd</sup> ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md.
- 40.- Garner, RJ. (1970) *En: Toxicología Veterinaria.* Acribia Ed. D. L.: Z-107-70. 45-137.
- 41.- Gonsebatt, ME., Vega, L., Herrera, LA., Montero, R., Rojas, E., Cebrian, ME., Ostrosky-Wegman P. (1992): Inorganic arsenic effects on human lymphocyte stimulation and proliferation. *Mutat Res.* 283: 91-95
- 42.- Goyer, R.A. (1996). Toxic effects of metals. *En: Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of poisons.* Fifth Edition. Ed. McGraw-Hill, Health Professions Division.
- 43.- Graham, JA., Gardner, DE., Waters, MD., Coffin, DL. (1975): Effect of trace metals on phagocytosis by alveolar macrophages. *Infect. Immun.* 11: 1278-1283.
- 44.- Han BC, Jeng WL, Jeng MS, Kao LT, Meng PJ, Huang YL. Rock-shells (*Thais clavigera*) as an indicator of As, Cu, and Zn contamination on the Putai Coast of the black-foot disease area in Taiwan. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1997 May; 32(4):456-61.
- 45.- Hanson, SO., Rudén, C., Sandin, P. (2002): The role of precaution in marine risk assessment. *Background paper for the News Policy Forum:* 10-14.
- 46.- Harrison, MT., McCoy, KL. (2001): Immunosuppression by arsenic: a comparison of cathepsin L inhibition and apoptosis. *International Immunopharmacology* 1: 647-656.
- 47.- Hemphill, F., Kaeberle, M., Buck, W. (1971): Lead suppression of mouse resistance to *Salmonella typhimurium*. *Science* 172: 1031-1032.
- 48.- Henry, GA., Jarnot, BM., Stenhoff, MM., Bigazzi, PE. (1988): Mercury-induced renal autoimmunity in the MAXX rat. *Clin. Immun. Immunopathol.* 49: 187-203.
- 49.- Heo, Y., Parsons, PJ., Lawrence, DA. (1996): Lead differentially modifies cytokine production *in vitro* and *in vivo*. *Toxicology and Applied Pharmacology* 138 (1): 149-157.
- 50.- Heo, Y.; Lee, W. T.; Lawrence, D. A. (1997): *In Vivo* the Environmental Pollutants Lead and Mercury Induce Oligoclonal T Cell Responses Skewed toward Type-2 Reactivities. *Cellular Immunology* 179 (2): 185-195.
- 51.- Holsbeek L., Joiris R., Debacker V., Ali I., Roose P., Nellissen J., Bouquegneau J.M. & Bossicart, M. 1999. Heavy metals, organochlorines and polycyclic aromatic hydrocarbons in sperm whales stranded in the southern North Sea during 1994/1995 winter. *Marine Pollution Bulletin* 38, 304-313.
- 52.- Humphreys D.J. (1990). *En: Humphreys Toxicología Veterinaria.* 3<sup>a</sup> ed. Mc Graw-Hill-Interamericana de España. Madrid.
- 53.- Ilbäck NG. (1991): Effects of methyl mercury exposure on spleen and blood natural killer (NK) cell activity in the mouse. *Toxicology* 67: 117-124.
- 54.- Ilbäck, NG., Sundberg, J., Oskarsson, A. (1991): Methylmercury exposure via placenta and milk impairs natural killer



- (NK) cell function in newborn rats. *Toxicology Letters* 58: 149-158.
- 55.- Itano, K., Kawai, S., Miyazake, N., Tatsukawa, R., Fujiyama, T. (1984). Body burdens and distribution of mercury and selenium in stripped dolphin. *Agri Biol Chem* 48:1117-1121.
- 56.- Jerne, A. 1975. Swedish perspectives on mercury pollution. *J. Water. Pollut. Cont. Fed.* 47:810.
- 57.- Kacmar, P, Pistl, J, Mikula, I. (1999): Immunotoxicology and veterinary medicine. *Acta Vet. Brno* 68: 57-59.
- 58.- Karl, L., Chvapil, M., Zukoski, CF. (1973): Effect of zinc on the viability and phagocytic capacity of peritoneal macrophages. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142: 1123-1127.
- 59.- Keckes, S. y Miettinen, J.K. 1972. Mercury as a marine pollutant. P. 276-288: In: Ruivo, M (ed.) *Marine Pollution and Sea Life*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Fishing News (Books) Ltd., London, England.
- 60.- Khangarot, BS., Rathore, RS. (1999). Copper exposure reduced the resistance of the catfish *Saccobranchus fossilis* to *Aeromonas hydrophila* infection. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1999, 62: 4, 490-495.
- 61.- Kim, SH., Johnson, VJ., Sharma, RP. (2003): Oral exposure to inorganic mercury alters T lymphocyte phenotypes and cytokine expression in BALB/c mice. *Arch Toxicol* 77: 613-620.
- 62.- Koller, LD. (1973): Immunosuppression produced by lead, cadmium, and mercury. *Am J Vet Res* 34 (11): 1457-1458.
- 63.- Koller, LD. (1975): Methylmercury: effect on oncogenic and nononcogenic viruses in mice. *Am J Vet Res* 36: 1501-1504.
- 64.- Koller, LD. (1979): Effects of environmental contaminants on the immune system. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 23: 267-295. [2]
- 65.- Koller, LD. (2001): A perspective on the progression of immunotoxicology. *Toxicology* 160: 105-110.
- 66.- Koller, LD., Exon, JH.; Talcott, PA.; Osborne, CA., Henningsen, GM. (1986): Immune responses in rats supplemented with selenium. *Clinical and experimental immunology* 63 (3): 570-576.
- 67.- Koller, LD., Exon, JH; Roan, JG (1976): Humoral antibody response in mice after single dose exposure to lead or cadmium. *Proc Soc Exp Biol Med* 151: 339-342.
- 68.- Koller, LD., Exon; JH, Roan, JG. (1975): Antibody suppression by cadmium. *Archives of environmental Health* 30 (12): 598-601.
- 69.- Koller, LD., Kovacic, S. (1974): Decreased antibody formation in mice exposed to lead. *Nature* 250: 148-150.
- 70.- Koller, LD., Roan, JG. (1977): Effects of lead and cadmium on mouse peritoneal macrophages. *Res J Reticuloendothel. Soc* 21:7-12.
- 71.- Krocova, Z, Macela, A, Kroca, M, Hernychova, L. (2000): The immunomodulatory effect(s) of lead and cadmium on the cells of immune system in vitro. *Toxicology in Vitro* 14, 33-40.
- 72.- Law, R.J. (1996). Metals in marine mammals. En: *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*, ed. W.N. Beyer, G.H. Heinz and A.W. Redmon-Norwood.
- 73.- Law, R.J., Bennett M.E., Blake S.J., Allchin C.R., Jones B.R., Spurrier C.J. (2001). Metals and organochlorines in pelagic cetaceans stranded on the coasts of England and Wales. *Mar. Poll. Bul.* 42(6), 522-526.
- 74.- Law, R.J., Fileman CF., Hopkins, AD., Baker, JR., Harwood, J., Jackson, DB., Kennedy, S., Martin, AR., Morris, R.J. (1991). Concentrations of Trace Metals in the Livers of Marine Mammals (Seals, Porpoises and Dolphins) from Waters Around the British Isles. *Mar Poll Bull* 22 (4), 183-191.
- 75.- Lawrence, D.A. (1981b): Heavy metal modulation of lymphocyte activities. I: In vitro effects of heavy metals on primary humoral immune response. *Toxicology and Applied Pharmacology* 57:439-451.
- 76.- Lawrence, DA. (1981a): *In vivo* and *in vitro* effects of lead on humoral and cell-mediated immunity. *Infection and Immunity* 31:136-143.
- 77.- Lawrence, DA., McCabe, MJ, Jr. (2002): Immunomodulation by metals. *International Immunopharmacology* 2: 293-302.
- 78.- López-Artiguez, M., Repetto, M. (1995): Estado actual de la toxicología del cadmio. En: *Toxicología avanzada*. Ed. M. Repetto: 393-423.
- 79.- Lutz, PM., Wilson, TJ., Ireland, J., Jones, AL., Gorman, JS., Gale, NL., Johnson, JC., Hewett, JE. (1999): Elevated immunoglobulin E (IgE) levels in children with exposure to environmental lead. *Toxicology* 134 (1): 63-78.
- 80.- Ma, Huizhong; Don Kim, S.; Allen, H.E.; y Cha, D.D. 2002. Effect of copper binding by suspended particulate matter on toxicity. *Environ. Toxicol. Chem.* 21(4): 710-714.
- 81.- Magos, L. 1990. Marine health hazards of anthropogenic and natural origin. P. 447-507. In: UNEP: Technical annexes to the report on the state of the marine environment. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 114/2.

- 82.- McCabe, MJ. Jr., Lawrence, DA. (1991): Lead, a major environmental pollutant, is immuno-nomodulatory by its differential effects on CD4+ T cells subsets. *Toxicol Appl Pharmacol* 111 (1): 13-23.
- 83.- McCabe, MJ. Jr., Singh, KP., Reiners, JJ. Jr. (2001): Low level lead exposure *in vitro* stimulates the proliferation and expansion of alloantigen-reactive CD4 high T cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* 177: 219-231.
- 84.- Meador JP., Ernest D., Hohn AA., Tilbury, K. (1999): Comparison of elements in bottlenose dolphins stranded on the beaches of Texas and Florida in the Gulf of Mexico over one-year period. *Archives of Environmental Contamination Toxicology* 36, 87-98.
- 85.- Meador, JP., Varanasi, U., Robisch, PA., Chan, S-L. (1993): Toxic metals in pilot whale (*Globicephala melaena*) from strandings in 1986 on Cape Cod, Massachusetts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50:2698-2706.
- 86.- Miller, SD., Zarkower, A. (1974): Alterations of murine immunologic responses after silica dust inhalation. *J. Immunol.* 113: 1533-1543.
- 87.- Moreira, F.R. y Moreira, J.C. 2004. Effects of lead exposure on the human body and health implications. *Rev Panam Salud Publica*, 15(2):119-29.
- 88.- Moszczynski, P. (1997): Mercury compounds and the immune system: a review. *Int J Occup Med Environ Health* 10 (3): 247-258.
- 89.- National Research Council. (1972): Lead: Airborne lead in perspective. National Academy of Sciences, Washington, D. C.
- 90.- Nelson, DJ., Kiremidjian-Schumacher, L., Stotzky, G. (1982): Effects of cadmium, lead and zinc on macrophage-mediated cytotoxicity toward tumor cells. *Environ Res* 28: 154-163.
- 91.- Nriagu, J.O. 1978. Lead in soils, sediments and major rock types. Pp. 15-72. In: *The Biogeochemistry of Lead in the Environment. Part A. Ecological Cycles.* Elsevier/North-Holland, Amsterdam.
- 92.- Nusetti, O., SalazarLugo, R., RodriguezGrau, J., Vilas, J. (1998): Immune and biochemical responses of the polychaete *Eurythoe complanata* exposed to sublethal concentration of copper. *Comparative Biochemistry and Physiology C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 119 (2):177-183.
- 93.- O'Shea, T.J.; Reeves, R.R.; Long, A.K. 1999. Marine mammals and persistent ocean contaminants: Proceedings of the marine mammals commission workshop, Keystone, Colorado 12-15 October 1998.
- 94.- O'Hara, TM., Becker, PR. (2003): Persistent organic contaminants in Arctic marine mammals. En: Vos, JG., Bossart, GD., Fournier, M., O'Shea, TJ. *Toxicology of marine mammals. New perspectives: Toxicology and the environment.* Taylor and Francis.
- 95.- Oubella, R. (1997): Immunomodulation in populations of bivalve molluscs from the Bay of Brest. *Annales De L Institut Oceanographique*, 73 (1): 77-87.
- 96.- Ouyang Y, Higman J, Thompson J, O'Toole T, Campbell D. Characterization and spatial distribution of heavy metals in sediment from Cedar and Ortega rivers subbasin. *J Contam Hydrol.* 2002 Jan; 54 (1-2): 19-35.
- 97.- Parsons ECM., Chan HM. (2001): Organochlorine and trace element contamination in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the South China Sea. *Mar Poll Bull*; 42: 9, 780-785.
- 98.- Parsons, E.C.M. & Chan H.M. 2001. Organochlorine and trace element contamination in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the South China Sea. *Marine Pollution Bulletin* 42:9, 780-785.
- 99.- Patrick, GW., Anderson, WJ. (2000): Dendritic Alterations of Cerebellar Purkinje Neurons in Postnatally Lead-Exposed Kittens. *Developmental Neuroscience* 22, 320-328.
- 100.- Perry, HM., Thind, GS., Perry, EF. (1976): The biology of cadmium. *Med. Clin. N. Am* 60: 759-769.
101. Petruccioli, L., Turillazzi, P. (1990): Serum immunoglobulin levels in monkeys treated with methylmercury. *Drug Chem Toxicol* 13: 297-307.
102. Pillet, S., Fournier, M., Measures, LN., Bouqueneau, JM., Cyr, DG. (2002): Presence and regulation of metallothioneins in peripheral blood leukocytes of Grey seals. *Toxicology and Applied Pharmacology* 185: 207-217.
- 103.- Pocino, M., Malave, I., Baute, L. (1990): Zinc administration restores the impaired immune response observed in mice receiving excess copper by oral route. *Immunopharmacol-Immunotoxicol.*; 12(4): 697-713.
- 104.- Powell, L., Joshi, B., Dwivedi, C., Green, L. (1979): Immunopathological changes in cadmium-treated rats. *Vet Pathol* 16: 116-118.
- 105.- Rawson, AJ., Patton, GW., Hofmann, S., Pietra, GG., Johns, L. (1993): Liver abnormalities associated with chronic mercury accumulation in stranded bottlenose dolphin. *Ecotox and Environ Safety* 245:41-47.
- 106.- Repetto, M. 1997. *Toxicología Fundamental.* 3ª ed. Díaz de Santos.

- 107.- Richter-Reichhelm, HB., Stahlmann, R., Smith, E., van Loveren, H., Althoff, J., Bass, R., Corsini, E., Dayan, A., Dean, JH., Descotes, J., Emmendorffer, A., Eppler, R., Hall, AJ., Herrman, JL., Lovik, M., Luster, MI., Miller, FW., Riecke, K., Schöning, G., Schulte, A., Smialowicz, RJ., Ulrich, P., Vohr, HW., Vos, JG., White, KL., Jr. (2001): Approaches to risk assessment of immunotoxic effects of chemicals. Meeting report. *Toxicology* 161: 213-228.
- 108.- Rigoni, RA., Treagan, L. (1975): Inhibitory effect of nickel and chromium upon antibody response of rats to immunization with T-1 phage. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 11(2): 335-338.
- 109.- Ritter, L.; Solomon, K.; Sibley, P.; Hall, K.; Keen, P.; Mattu, G.; y Beth Linton. 2002. Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the walkerton inquiry. *J.Toxicol. Environ. Health. Part A*, 65: 1-142.
- 110.- Sakurai, T; Kaise, T. Matsubara, C. (1996): Immunotoxicity of organic arsenic compounds in marine animals. *Applied Organometallic Chemistry* 10 (9): 727-732.
- 111.- Sata, F., Araki, S., Tanigawa, T., Morita, Y., Sakurai, S., Nakata, A., Katsuno, N. (1998): Changes in T cell subpopulations in lead workers. *Environmental Research, section A* 76: 61-64.
- 112.- Sauv e, S., Hendawi, M., Brousseau, P., Fournier, M. (2002). Phagocytic response of terrestrial and aquatic invertebrates following *in vitro* exposure to trace elements. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 52, 21-29.
- 113.- Schwarz, K., Spallholz, JE. (1978): Growth effects of small cadmium supplements in rats maintained under trace-elements controlled conditions. En: *Cadmium 77- Edited Proceedings. First International Cadmium Conference, San Francisco. Met. Bull. London:* 105.
- 114.- Shen, X., Lee, K., König, R. (2001): Effects of heavy metal ions on resting and antigen-activated CD4+ T cells. *Toxicology* 169: 67-80.
- 115.- Shenker, BJ., Guo, TL., Shapiro, IM. (1998): Low-level methylmercury exposure causes human T-cells to undergo apoptosis: Evidence of mitochondrial dysfunction. *Environmental Research, Section A* 77: 149-159.
- 116.- Siebert, U., Joiris, C., Holsbeek, L., Benke, H., Failing, K., Frese , K., Petzinger, E. (1999): Potential relation between mercury concentrations and necropsy findings in cetaceans from German waters of the North and Baltic Seas. *Marine Pollution Bulletin* 38:4, 285-295.
- 117.- SMTA. Subcommittee on Mineral Toxicity in Animals (SMTA). (1980). En *Mineral tolerance of domestic animals*. National Academic Press, Washington: 1-2.
- 118.- Soria, ML., Repetto, G., Repetto, M. (1995): Revisi n general de la toxicolog a de los metales. En: *Toxicología avanzada*. Ed.: M. Repetto: 293-358.
- 119.- Spallholz, JE., Martin, JL., Gerlach, MC., Heinzerling, RH. (1973<sup>a</sup>): Immunologic responses of mice fed diets supplemented with selenite selenium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med* 143: 685-689.
- 120.- Stowe, HD., Wilson, M., Goyer, RA. (1972): Clinical and morphologic effects of oral cadmium toxicity in rabbits. *Arch Pathol.* 94: 389-405.
- 121.- Styblo, M., Serves, SV., Cullen, WR., Thomas, DJ. (1997): Comparative inhibition of yeast glutathione reductase by arsenicals and arsenothiols. *Chem. Res. Toxicol.* 10: 27-33.
- 122.- Szefer P, Frelek K, Szefer K, Lee ChB, Kim BS, Warzocha J, Zdrojewska I, Ciesielski T. Distribution and relationships of trace metals in soft tissue, byssus and shells of *Mytilus edulis* trossulus from the southern Baltic. *Environ Pollut.* 2002; 120(2): 423-44.
- 123.- Talcott, PA., Koller, LD., Exon, JH. (1985): The effect of lead and polychlorinated biphenyl exposure on rat natural killer cell cytotoxicity. *Int. J. Immunopharmacol.* 7 (2): 255-261.
- 124.- U.S.EPA (U.S. Environmental Protection Agency). 1985a. Ambient quality water criteria for mercury-1984. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington, D.C. EPA 440/5-84-026. 136 pp.
- 125.- U.S.EPA (U.S.Environmental Protection Agency). 1985b. Ambient quality water criteria for cadmium-1984. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington, D.C. Enero 1985.
- 126.- U.S.EPA (U.S.Environmental Protection Agency). 1985c. Ambient water quality criteria for lead-1984. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington, D.C. EPA 440/5-84-027. 81 pp.
- 127.- Vasconcelos, M.T.S.,D.; Azenha, M.A.O.; and Cabral, J.P.S. 1997. Comparison of availability of Koper (II) complexes with organic ligand to bacterial cells and to chitin. *Environ. Toxicol. Chem.* 16(10): 2029-2039.

- 128.- Vega, L., Ostrosky-Wegman, P., Fortoul, T.I., Diaz, C., Madrid, V., Saavedra, R. (1999): Sodium arsenite reduces proliferation of human activated T-cells by inhibition of the secretion of interleukin-2. *Immuno-pharmacol Immunotoxicol.* 21: 203-220.
- 129.- Wagemann, R., Muir, D.C.G. (1984) Concentrations of heavy metals and organochlorines in marine mammals of Northern waters. Overview and evaluation. Canadian Technical Report on Fishery Aquatic Science 1279:1-97.
- 130.- Wang, A., Barber, D., Pfeiffer, C.J. (2001). Protective effects of selenium against mercury toxicity in cultured Atlantic spotted dolphin (*Stenella plagiodon*) renal cells. *Arch Environ Contam Toxicol*, 41, 403-409.
- 131.- WHO, World Health Organization, 2002. Global assessment of the state of the science of endocrine disruptors. International Programme on Chemical Safety. an assessment prepared by an expert group on behalf of the world health organization, the international labour organization, and the united nations environment programme. Ed.: Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., Van der Kraak, G.
- 132.- WHO. (1992). Cadmium. Environmental health criteria, 134. World Health Organization, Geneva.
- 133.- Wong, M.K. y Tan, W.L. 1999. Asean marine water quality criteria for lead. Marine Environment Division, Water Quality Management Bureau, Pollution Control Department. ASEAN CANADA CPMS-II. Cooperative Programme on Marine Science.
- 134.- Yang, J. & Miyazaki, N. 2003. Moisture content in Dall's porpoise (*Phocoenoides dalli*) tissues: a reference base for conversion factors between dry and wet weight trace element concentrations in cetaceans. *Environmental Pollution* 121, 345-347.
- Agrawal, R., Shouhary, S., Johri, B. (1989): Effects of lead on the retention of parasitic burden and certain hematological changes in the Swiss albino mice *Mus musculus albinus*. *Proc Natl Acad Sci India* 59: 33-37.
- 135.- Zhou, J. L., Salvador, S.M., Liu, Y.P. & Sequeira, M. 2001. Heavy metals in the tissues of common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded on the Portuguese coast. *Science of the Total Environment* 273, 61-76.