

CAPÍTULO 3

Penetración de los tóxicos

3.1 INTRODUCCIÓN

A lo largo de la evolución existe en el ser vivo una tendencia generalizada a aumentar la independencia de su medio interno respecto a las variaciones producidas en el medio externo. Los mecanismos de aislamiento y regulación que se han desarrollado para lograr el necesario intercambio de sustancias y energía entre el ser vivo y el medio que le rodea son complejos y específicos, puesto que deben permitir mantener las constantes físico-químicas del medio interno. El mantenimiento de las características fisiológicas propias del medio interno constituye el fenómeno de la homeostasis, mecanismo que evita la desestabilización de unas constantes seleccionadas como óptimas a lo largo del proceso evolutivo.

En un organismo pluricelular y pluricompartimental como el hombre las funciones de relación están encomendadas a conjuntos de células con esa única misión. Cabría distinguir dos tipos de agrupaciones celulares:

- a) barreras celulares predominantemente aislantes del entorno (piel)
- b) barreras celulares con función específica de intercambio (epitelio pulmonar, mucosa intestinal).

Unas y otras barreras están especializadas en la regulación del paso de sustancias nutritivas y del oxígeno; sin embargo su selectividad no les permite discriminar a las sustancias tóxicas, las cuales ingresan en el organismo por las mismas vías que las no tóxicas, es decir, por vía cutánea, vía pulmonar y vía gástrica y por idénticos mecanismos.

Si excluimos a aquellas sustancias tóxicas cuyo efecto se ejerce directamente sobre la zona de contacto con el organismo (cáusticos, irritantes, sensibilizantes) y cuyo estudio suele excluirse de la Toxicología propiamente dicha, el efecto tóxico requiere que la sustancia extraña (o xenobiótico) entre en

contacto con el sitio de acción en el que se va a manifestar el efecto. El paso de una cierta cantidad de tóxico desde el exterior del organismo hasta el órgano crítico, o primer lugar en el que se manifiesta la acción tóxica, se efectúa generalmente a través de una serie de equilibrios bioquímicos que pueden resumirse en:

La *absorción* o paso desde el exterior hasta la sangre y la *distribución* o paso desde la sangre hasta los distintos tejidos, incluyéndose en esta etapa la llegada al órgano crítico y la fijación a tejidos químicamente afines a la estructura del tóxico.

La superación, pues, en mayor o menor medida de las barreras biológicas que el tóxico encuentre a su paso hasta el lugar de acción, es decir, la permeabilidad al tóxico, determina el efecto tóxico, ya que éste depende a su vez de la cantidad de tóxico que alcance a las células u órganos diana. Por lo tanto, todo factor potenciador de la absorción y de la distribución aumentará el efecto tóxico. Del mismo modo, los factores que propicien una rápida fijación, metabolismo y excreción tenderán a minimizar el efecto. El conjunto de complejas reacciones y equilibrios bioquímicos que gobiernan los procesos de absorción, distribución, metabolismos y eliminación, y cuyo estudio constituye la toxicocinética, requiere un nexo de unión entre las partes (compartimentos) del organismo en las que se desarrollan dichas reacciones, papel que desempeña la circulación sanguínea. En la sangre termina el fenómeno de la absorción y empieza el de la distribución; actúa también en unión entre los procesos de metabolismo y eliminación. En definitiva, aparte de la función de fijación de ciertos tóxicos a proteínas plasmáticas, la sangre como compartimento único es la principal responsable de la distribución del tóxico por las células de los distintos tejidos.

Una vez alcanzado cualquier tejido por un determinado tóxico, hay que tener en cuenta, que aquéllos están formados por células, las unidades fundamentales del ser vivo. Como tales están rodeadas por una membrana celular, que actúa en barrera biológica entre éstas y su entorno, sea éste otra célula o el medio externo. La función de dicha membrana es, como en el resto de barreras biológicas, la de mantener una estructura interior al mismo tiempo que permita un cierto intercambio con el exterior, así como obtener una determinada coherencia entre células similares. Traspasada la membrana citoplasmática, los tóxicos pueden actuar sobre distintos orgánulos celulares, uniéndose a las estructuras químicas más afines. Así por ejemplo, algunos de ellos se fijan a los ácidos nucleicos contenidos en el núcleo celular (aminas aromáticas), otros actúan sobre las estructuras membranales ricas en ácidos grasos desnaturalizados, componentes de los fosfolípidos de microsomas, mitocondrias y lisosomas (radicales libres), otros bloquean la cadena respiratoria mitocondrial (grupos CN^-). Cada uno de estos orgánulos celulares se en-

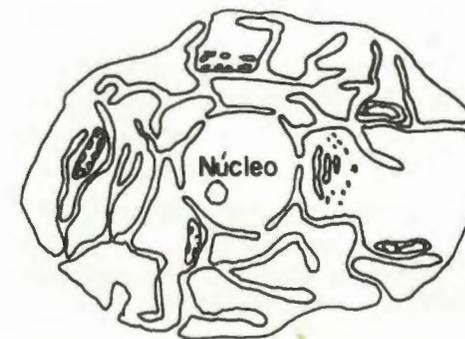


FIGURA 3.1. Interconexiones membranales

cuentra a su vez rodeado de una membrana de naturaleza similar a la citoplasmática, la cual tiene ciertas conexiones con las membranas vecinas (Fig. 3.1.).

Toda esta compleja red tiene que ser franqueada por las sustancias extrañas al organismo para que éstas desarrollen su efecto tóxico. En una primera fase, la sustancia tóxica necesita incorporarse a la sangre desde el medio externo, es decir, ser absorbida, y en una segunda fase incorporarse desde ella al sitio de acción (distribución). El mecanismo de traspaso de membranas (Fig. 3.2.), es por tanto la cuestión central en el estudio de la absorción y distribución.

Desde las barreras pluriestratificadas (piel) hasta las más tenues en el límite de las vías respiratorias, todas ellas tienen como elemento básico la membrana citoplasmática. Las permeabilidades, y por tanto las estructuras químicas de las membranas pertenecientes a tejidos distintos, varían al variar también su función, pero todas ellas presentan unas características comunes en cuanto al comportamiento de barrera, siendo, por ejemplo, más permeables a pequeños iones y a pequeñas moléculas apolares lipofílicas, que a macromoléculas o a sustancias muy polares.

El estudio de la estructura de la membrana-tipo y de los mecanismos generales de paso constituyen generalidades fundamentales en la absorción, por lo que a continuación se expondrán una y otros.

3.2 ESTRUCTURA DE LAS BARRERAS BIOLÓGICAS

Entre las membranas con un papel importante en los procesos de absorción cabe distinguir:



FIGURA 3.2. Equilibrios dinámicos entre los espacios limitados por membranas biológicas.

- Membranas citoplasmáticas, que regulan el paso entre la célula y el medio.
- Membranas de orgánulos, que separan estructuras intracelulares.
- Membranas epiteliales de alta resistencia, que separan grupos celulares entre sí y/o del medio. Un caso muy especial de este tipo de membranas lo constituye la piel.

3.2.1 Membrana citoplasmática

Es la que determina los límites espaciales de la célula, y cumple además de esta función meramente estructural otra serie de funciones trascendentes:

- Control del intercambio célula-entorno.
- Mantenimiento de las constantes celulares entre unos límites más o menos estrechos, generalmente distintos a los extracelulares (diferencias de concentración y potencial eléctrico difícilmente explicables por procesos normales de transporte).
- Unión estructural e intercambio con células adyacentes mediante formaciones superficiales especializadas.
- Modulación de la actividad celular mediante las moléculas receptoras de órdenes extracelulares, que desencadenan la activación o inactivación de los procesos metabólicos.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La membrana está compuesta, por una parte, de lípidos, tal como lo hacía suponer su mayor permeabilidad a sustancias liposolubles. Son en su mayoría, fosfolípidos, y en menor proporción colesterol y otros esteroides. Los fosfolípidos son moléculas anfipáticas, es decir, que una parte de la molécula es hidrófila, mientras que el otro extremo es hidrófobo. Ello explica la baja tensión superficial de la membrana.

Por otra parte, la membrana tiene un alto contenido proteico de naturaleza varia, responsable de la especificidad de la membrana para multitud de procesos. Se ha reconocido un pequeño número de estas proteínas.

Junto con lípidos y proteínas se encuentran habitualmente polisacáridos de cadena corta, unidos generalmente a unos y otras, presumiblemente en el lado extracelular de la membrana.

Esta composición química ha resultado universal, incluyendo las membranas que limitan los orgánulos citoplasmáticos (lisosomas, retículo endoplasmático, mitocondrias, etc.), las diferencias entre ellas suelen estribar en las proporciones y tipos de proteínas que contienen, así como en la presencia de algún tipo especial de lípidos (por ejemplo, cerebrósidos y esfingolípidos, parecidos a los fosfolípidos).

Entre las proteínas de la membrana cabe distinguir tres tipos atendiendo a la función:

- Proteínas de sostén, de tipo fibroso, especialmente la espectrina.
- Proteínas enzimáticas, es decir, aquéllas con función de catálisis bioquímica, que frecuentemente actúan también de transportadoras de sustancias a uno y otro lado de la membrana (por ejemplo, enzimas con actividad ATP-ásica).
- Proteínas antigénicas, generalmente glucoproteínas, que en pequeñas cantidades en membranas de origen intracelular originan reacciones aglutinantes frente a agentes externos.

ESTRUCTURA

De la combinación de técnicas posibles a partir del invento del microscopio electrónico ha resultado lo siguiente:

- La base estructural de la membrana es una doble capa de fosfolípidos, como ya postularon Davson y Danielli.
- Las proteínas se distribuyen en dos zonas:
 - En la periferia (las hidrófilas) denominadas proteínas extrínsecas. Incluidas parcial o totalmente en la doble capa lipídica (las hidrófobas) o proteínas intrínsecas.
- Los polisacáridos en forma de glicolípidos o glicopéptidos se encuentran en la cara externa, únicamente en membranas celulares.

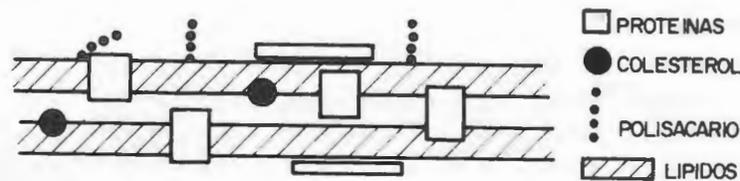


FIGURA 3.3. Composición química de la membrana

Esta distribución de constituyentes (Fig. 3.3.) no es fija, sino con una movilidad superficial bastante alta. Al parecer, los movimientos de los fosfolípidos se realizan al azar, mientras que las proteínas presentan un comportamiento irregular, produciéndose agrupaciones en ciertas zonas en momentos determinados de la actividad celular. Ello hace pensar en una posible participación de microfilamentos de miosina y actina, proteínas contráctiles presentes en la mayoría de tipos celulares.

Este modelo propuesto por Singer en 1971 y bautizado por él como «mosaico fluido», es el que se mantiene actualmente y está representado en la Figura 3.4. La movilidad de los elementos constituyentes de la membrana es nula únicamente en las zonas de unión y relación entre células adyacentes.

3.2.2 La piel

La piel es una cubierta de espesor variable, que envuelve al organismo. Su función no es exclusivamente protectora, sino también metabólica, siendo capaz de segregar sustancias que protegen de agentes químicos y microbianos. Los tóxicos, que ingresan en el organismo por vía cutánea, deben atravesar una serie de «capas» hasta llegar a las terminaciones capilares y poder ser absorbidos. El estudio de la disposición y naturaleza de dichas capas es, por tanto, fundamental para la comprensión de la cinética a seguir por el tóxico.

DESCRIPCIÓN

La superficie media de la piel representa 1,8 m² con un peso medio de 3,6 Kg sin tener en cuenta la grasa y hasta 9 Kg incluyendo a esta última. Se distinguen tres zonas muy diferenciadas entre sí: La epidermis, la dermis y la hipodermis.

En la *epidermis* (Fig. 3.5.) y en el estrato inferior, se encuentra la membrana basal, capa celular regenerativa del resto de la epidermis, que se encuentra protegida, en mayor o menor medida según la adaptación climática de cada etnia, de la radiación solar mediante un pigmento (melanina). Desde esta zona

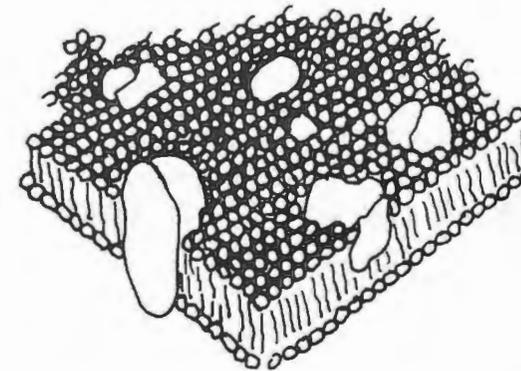


FIGURA 3.4. Estructura tridimensional de la membrana.

más activa de la epidermis hasta la capa más externa o estrato córneo se suceden una serie de estratos con células progresivamente más degeneradas, dependiendo también de la presión mecánica de la zona que se trate. Finalmente en el estrato córneo las células son ya muertas y muy queratinizadas (unas 10 capas celulares) y están recubiertas de una emulsión ácida con función bactericida.

La *dermis* constituye la parte activa de la piel, puesto que en ella se alojan los capilares sanguíneos y linfáticos, las terminaciones nerviosas y los anexos cutáneos. Está formada por tejido conjuntivo, muy elástico gracias a determinadas fibras proteicas.

La *hipodermis* varía mucho según el individuo y la zona corporal; está constituida por tejido conjuntivo laxo, conteniendo tejido adiposo, que actúa como aislante térmico.

Estos datos se resumen en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Características de la piel

Estrato	Función	Espesor (mm.)	Vascularización	% hidrat.	pH
Epidermis	Barrera	0,2	nula	10-25	4,2-6,5
Dermis	Soporte	3-5	abundante	70	7,1-7,3
Hipodermis	Aislamiento térmico	variable	escasa	—	—

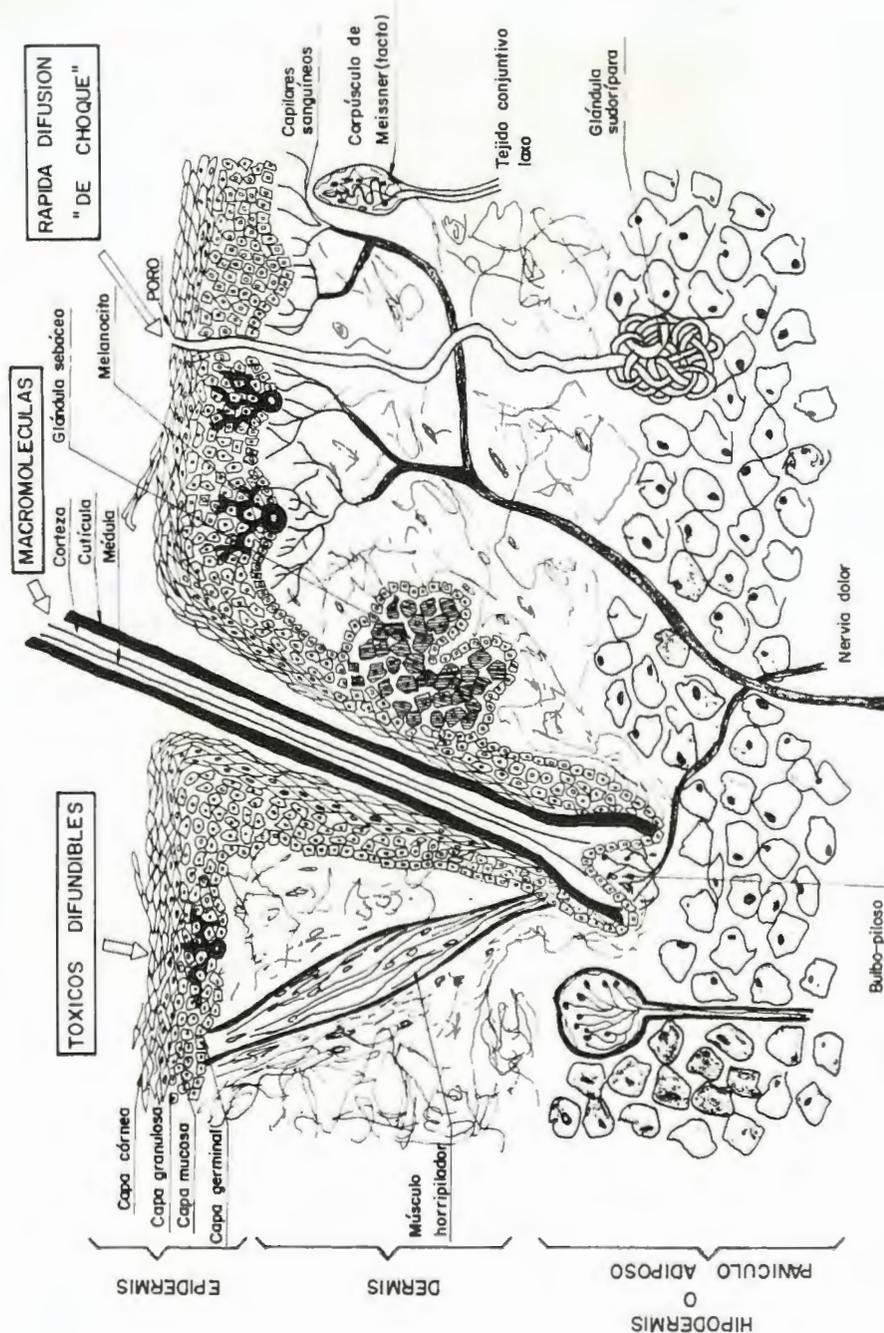


FIGURA 3.5. Estructura de la piel

ANEXOS CUTÁNEOS

Glándulas sebáceas: Segregan la grasa que confiere flexibilidad y resistencia al tejido a lo largo de un conducto excretor, que acaba en la vaina de un pelo.

Glándulas sudoríparas ecrinas: Son más profundas que las anteriores y desembocan en el estrato córneo mediante un conducto estrecho. Se distribuyen por todas las zonas corporales, especialmente por las palmas de las manos y plantas de los pies. Segregan sudor hipotónico, mediante el que eliminan sustancias residuales de la sangre.

Glándulas sudoríparas apocrinas: Situadas en la hipodermis, desembocan en las vainas de los pelos de zonas determinadas (axilas, ingles, pezones, etc.) y segregan un líquido oloroso y espeso ligado a las etapas de la vida sexual.

Pelos: Distribuidos por todo el cuerpo menos en las palmas de las manos y en las plantas de los pies. La parte interna activa (bulbo piloso) está irrigada, mientras que el folículo piloso que se alarga después de recubrir a la raíz, es inerte.

3.2.3 El Tracto respiratorio

De todos es conocido que el aire inspirado contiene ciertas cantidades de polvos atmosféricos e industriales, partículas radioactivas, corpúsculos infecciosos, humo de tabaco, etc. Teniendo en cuenta que un adulto respira entre 10.000 y 20.000 litros diarios de aire, podemos deducir que los gases y partículas que penetren en el organismo con este volumen de aire son potencialmente peligrosos. La vía de entrada más importante para las sustancias tóxicas en el mundo laboral es precisamente la respiratoria y son causa de numerosas enfermedades pulmonares así como del agravamiento de enfermedades de base. Por esta vía respiratoria, estamos expuestos a virus, rickettsias, bacterias, micoplasmas, hongos, protozoos y otros gérmenes, humos, polvos, vapores, gases y aerosoles contaminantes. Todas estas exposiciones pueden ser toleradas por el receptor normal, pero cuando son excesivas, como sucede en algunas situaciones laborales, o bien si las defensas del receptor están disminuidas por otros factores previos, las partículas inhaladas pueden provocar graves molestias, incapacidad e incluso la muerte.

Es muy importante, en qué lugar del tracto respiratorio se realiza el depósito de partículas aerosolizadas, ya que en ocasiones, este depósito pudiera considerarse como un mecanismo defensivo como por ejemplo el que tiene lugar en las fosas nasales ya que impedirán la penetración hasta vías aéreas y alveolos, pero también este depósito puede considerarse como un peligro tóxico para estructuras pulmonares más vulnerables como puede ser el depósito alveolar. El depósito es el proceso que determina la proporción de partículas que

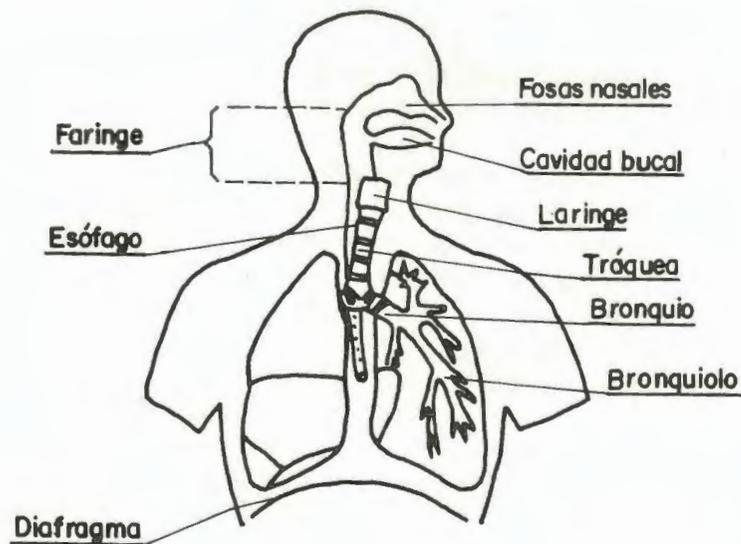


FIGURA 3.6. Vías respiratorias

quedan atrapadas en el tracto respiratorio, por lo que no salen de él con el aire espirado, y todas las partículas que tocan una superficie pueden depositarse, correspondiendo el lugar de contacto al del depósito inicial. Para las partículas suspendidas en el aire inspirado, existen diferentes mecanismos físicos que harán que se desplacen hacia la superficie del tracto respiratorio para su depósito, los más importantes son los ya conocidos de inercia, sedimentación, difusión browniana, la intercepción y las fuerzas electroestáticas. La eficacia de estos mecanismos de deposición, dependerá de:

- la anatomía del tracto respiratorio.
- el diámetro aerodinámico de las partículas, y
- el patrón de la respiración.

Todos estos factores determinarán la fracción de partículas inhaladas que se depositan, así como el lugar donde se produce el depósito.

ANATOMÍA DEL TRACTO RESPIRATORIO

Efecto de la anatomía: La anatomía (Fig. 3.6.) del tracto respiratorio es importante, ya que el depósito depende del diámetro de las vías aéreas, el ángulo de sus ramificaciones y la distancia media hasta las paredes alveolares y esta

disposición anatómica junto con la tasa del flujo inspirado, determina la velocidad lineal local de la corriente de aire haciendo que el flujo sea laminar o turbulento. La distribución, de las partículas inspiradas vendrá influenciada por la existencia o no de enfermedad respiratoria. La obstrucción de las vías aéreas origina una dispersión del flujo hacia los conductos obstruidos, así como al progresar esta enfermedad los alveolos y vías aéreas sanas pueden verse expuestas a una fracción cada vez mayor de las partículas y gases irritantes inspirados; este estrechamiento de las vías aéreas puede aumentar la velocidad lineal del flujo de aire, lo que favorece el depósito por inercia y hace que la deposición ocurra en zonas más centrales; las fosas nasales son un órgano respiratorio de defensa de primera magnitud. Cuando se respira por la boca, por el motivo que sea, se produce un cambio muy significativo en la anatomía eficaz del tracto respiratorio: la nariz posee una rica vascularización bien diseñada para calentar o enfriar el aire que es templado y humidificado antes de llegar al área subglótica. Asimismo, existe un intercambio rápido de las sustancias disueltas entre la mucosa y los vasos sanguíneos. La combinación de una sección transversal pequeña para el flujo de aire, curvas bruscas y la presencia de pelos en fosas nasales, ayuda a elevar al máximo la velocidad y favorece la impactación de las partículas; cuando se respira por la boca, no sólo aparece una sequedad de las vías aéreas, sino que se facilita la llegada a los conductos distales y a los alveolos de las partículas grandes y los gases hidrosolubles.

TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS

Efecto del tamaño de las partículas: El diámetro aerodinámico efectivo depende del tamaño, la forma y la densidad de las partículas, y modifica la magnitud de las fuerzas que actúan sobre ellas. Así, mientras que los efectos de la gravedad y la inercia aumentan con el tamaño de las partículas, la difusión produce mayores desplazamientos en las partículas pequeñas, pudiendo estar alterado este tamaño por las propiedades higroscópicas tanto dentro como fuera del tracto respiratorio.

PATRÓN RESPIRATORIO

Otro factor que afecta al depósito, es el patrón respiratorio. El volumen por minuto, define la velocidad media de flujo de aire en el pulmón y el número total de partículas que penetran en el órgano.

La frecuencia respiratoria y los volúmenes circulante y pulmonar afectan al tiempo de permanencia de los aerosoles en el pulmón y, por tanto, la probabilidad de depósitos bajo el efecto de las fuerzas de gravitación y difusión. Los cambios del volumen pulmonar también alteran las dimensiones de las vías aéreas y del parénquima.

Si se conociesen con precisión todos los parámetros que describen la anatomía del tracto respiratorio, las propiedades aerodinámicas de las partículas y el patrón de la respiración, sería posible predecir la fracción de partículas depositadas y el lugar donde lo hacen. Aunque no con exactitud, estas interrelaciones han sido demostradas experimentalmente y es posible hacer ciertas predicciones por el depósito de polvo, tanto en términos cualitativos como cuantitativos. Estas predicciones indican que el cambio en el tamaño de las partículas afecta a la fracción depositada, y altera su depósito en las distintas regiones del pulmón. Lógicamente este tipo de estimaciones no sólo están influidas por el nivel de ventilación, sino que también son sensibles a las diferencias individuales y a los cambios provocados por envejecimiento y la enfermedad.

Hemos estado hablando del depósito, pero hay que tener en cuenta que cuando se evalúa el riesgo hay que considerar conjuntamente el depósito y el aclaramiento. El aclaramiento es el proceso dinámico que expulsa físicamente las partículas del tracto respiratorio; consiste en la eliminación de las partículas previamente depositadas. La cantidad real de la sustancia presente en el tracto respiratorio en un determinado momento, se conoce como retención. Cuando la exposición es continua la concentración estabilizada que se consigue al establecerse un equilibrio entre las tasas de depósito y de aclaramiento es igual a la retención, la distribución de los tamaños de las partículas contribuye a determinar el punto de depósito por lo que afecta las tasas de aclaramiento, ya que los mecanismos de autolimpieza son mucho más eficaces en unas zonas del pulmón que en otras, lo que conllevará retenciones considerablemente distintas.

Una vez que se han «retenido» una serie de tóxicos en el pulmón, éste comienza diferentes mecanismos de defensa íntimamente relacionados tanto desde el punto de vista inespecífico de la inflamación como de mecanismos inmunológicos específicos según la naturaleza del tóxico. El reconocimiento específico actúa en conjunto con defensas más generales, como la fagocitosis. Los mecanismos inmunológicos locales y sistémicos actúan conjuntamente para proteger el huésped así como en la patogenia de algunos trastornos respiratorios (vgr. asma bronquial y alveolitis alérgica). La lisozima, el interferon y el complemento, representan una pequeña muestra de los múltiples factores inespecíficos, pero de importancia capital en la defensa celular, así como los factores que regulan la producción y degradación de la sustancia tensoactiva alveolar que pueden afectar no sólo a la mecánica pulmonar sino también a la capacidad de los macrófagos para desarrollar sus funciones en la superficie alveolar. En resumen, podemos decir que las defensas pulmonares deben considerarse como un sistema integrado y superpuesto que actúa con gran potencia.

3.3 MECANISMOS DEFENSIVOS

Desde el punto de vista anatómico, sabemos que gran parte de la superficie del tracto respiratorio desde la nariz hasta los bronquiolos terminales, está cubierta por una membrana mucosa compuesta por un epitelio columnar ciliado y pseudoestratificado, el término pseudoestratificado, indica la aparente presencia de varias capas de células epiteliales, a juzgar por los núcleos que se encuentran a distintos niveles, sin embargo los cortes seriados demuestran que todas las células tocan la membrana basal; el principal tipo de célula es el columnar ciliado, con numerosos cilios que se extienden desde su superficie libre hacia la luz del conducto. Cada célula columnar tiene unos 270 cilios lo que supondría la existencia de mil ochocientos millones de cilios por centímetro de superficie mucosa. Otro tipo de células son las caliciformes, secretoras de moco, que aumentan su número ante irritaciones crónicas de la mucosa traqueal o bronquial. Por lo que respecta a la masa de secreciones, son de gran importancia las glándulas submucosas, las cuales, a diferencia de las células caliciformes, están muy influidas por el sistema nervioso parasimpático. Las secreciones combinadas de las células caliciformes, de las glándulas submucosas y de otros elementos celulares, forman una capa fluida localizada alrededor por encima de los cilios, que es desplazada por éstos hacia la boca. El fluido también contiene células, detritus, líquido del tapizado alveolar, secreciones de las células de las vías aéreas y sustancias trasudadas a lo largo del epitelio bronquial.

Las partículas depositadas sobre la capa mucosa que cubre las vías aéreas, son desplazadas hacia la faringe por los cilios que se agitan con una frecuencia aproximada de 1.000 por segundo, las células y partículas que han sido transportadas desde los alveolos hasta las vías aéreas ciliadas, también son arrastradas con la capa de moco en movimiento. De modo similar, las partículas depositadas sobre la mucosa ciliada de la nariz, son impulsadas hacia la faringe. Todo esto es mezclado con las secreciones salivares para pasar al tracto gastrointestinal por deglución. Debido a que el desplazamiento medio de las partículas dura desde minutos a horas, no hay tiempo suficiente para la solubilización de los materiales que se disuelven con lentitud, en cambio las partículas depositadas sobre las superficies alveolares, al permanecer durante más tiempo, las pequeñas diferencias de solubilidad «in situ», pueden adquirir gran importancia.

Existen diversos factores que pueden afectar la velocidad del flujo mucoso, dividiéndoles de forma general en dos categorías: Los que afectan a los cilios, y los que modifican las propiedades del moco. En cuanto a la acción ciliar, habría que tener en cuenta el número de oscilaciones por minuto, la amplitud de cada oscilación, la cronología y forma de cada oscilación, la coordinación

entre los distintos cilios, la longitud de éstos y la relación entre áreas ciliadas y no ciliadas; todos estos aspectos de la acción ciliar, pueden ser modificados por agentes tanto intrínsecos como extrínsecos. El tapizado mucoso se divide en dos capas distintas, la exterior relativamente viscosa, sólo entra en contacto con los cilios durante su agitación activa, existiendo por debajo de ésta otra capa más fluida, el fluido periciliar, que rodea a los cilios y proporciona un medio en el que pueden moverse con una fricción relativamente escasa. Consecuentemente la cantidad y calidad de estas dos capas pueden influir en gran manera en las de la acción ciliar, hay tendencia en la bibliografía a pensar que los cambios funcionales del transporte mucociliar, se deben ante todo a alteraciones en el carácter de las secreciones mucosas, y no a lesión directa de los cilios, apuntando sobre todo a que la secreción de moco, es un proceso más vulnerable a la agresión por tóxicos que la actividad ciliar.

3.3.1 Mecanismos inespecíficos. Macrófagos pulmonares

Macrófagos alveolares: Se encuentran en la superficie de los alveolos, descansando sobre el tapizado alveolar compuesto por neumocitos tipo 1 y neumocitos tipo 2; al igual que otros fagocitos, los macrófagos alveolares son ricos en lisosomas, que se adhieren a la membrana del fagosoma que rodea al agente patógeno ingerido, fundiéndose a continuación sus membranas con lo que las enzimas líticas destruyen y digieren una bacteria. Esta capacidad fagocitaria y lítica de los macrófagos alveolares proporciona la mayor parte de las propiedades bactericidas conocidas del pulmón. Cuando los macrófagos se mantienen en estado de activación crónica, su acción digestiva se puede ejercer contra el propio tejido pulmonar, la liberación de enzimas lisosómicos puede deberse a muerte de las células, lesiones celulares, o exocitosis; el depósito exagerado de partículas inertes o infecciosas, provoca el reclutamiento de más macrófagos con lo cual puede reforzarse el efecto lesivo. Los macrófagos ingieren también partículas insolubles de polvo y detritus inertes, impidiendo su penetración a través del epitelio alveolar, la endocitosis rápida de las partículas insolubles, lo cual facilita el transporte alveolo-bronquiolar, previniendo de esta manera la entrada de partículas en los tejidos fijos del pulmón; está demostrado que es más fácil que las partículas libres puedan atravesar la pared alveolar aunque hay un porcentaje de macrófagos cargados de partículas que pueden penetrarla. Una vez que las partículas dejan la superficie alveolar y penetran en los tejidos subyacentes a la interfase aire-líquido (células tipo I y II, tejidos intersticiales y linfáticos) su eliminación es más lenta y puede oscilar entre unos cuantos días y varios años. Por el contrario, las partículas que permanecen sobre la superficie son aclaradas con una vida media de aproximadamente 24 horas en el ser humano. Por lo tanto, la probabilidad de penetración de las partículas es de gran importancia de cara a su aclaramiento, ya que la proba-

bilidad de penetración hacia un tejido fino, donde la vida media biológica de las partículas es larga, disminuye si son fagocitadas por una célula libre.

Macrófagos de las vías aéreas: Estos macrófagos de las vías aéreas, pueden provenir del transporte alveolo-bronquial de los alveolares, o bien pueden emigrar directamente a través del epitelio bronquial, aunque muchas veces aparecen como «transeúntes» sobre la capa mucosa, o debajo del tapizado mucoso, en apariencia adheridos al epitelio bronquial. Estos macrófagos alveolares pueden quedar sometidos al mecanismo de transporte bronquio-alveolar, pasar a la circulación, o no abandonar la superficie alveolar donde persiste en largos períodos de tiempo hasta morir y ser digeridos por células más jóvenes.

Ya sabemos que la mayoría de las partículas depositadas en los alveolos son ingeridas por los macrófagos alveolares entre los cuales un porcentaje de ellos, llegan a los bronquiolos, desde donde son transportados hacia la faringe por la acción ciliar. Otros emigran a través de los poros alveolares adyacentes; el mecanismo de emigración se debe a un fenómeno de quimiotaxis y desplazamiento del fluido que tapiza la región alveolar hacia otras regiones llegando posteriormente hacia la boca.

Otro mecanismo es la entrada directa de los macrófagos alveolares en las vías linfáticas y el tejido conectivo. Asimismo, partículas no ingeridas siguen los canales linfáticos y vasculares desde los alveolos hasta las adventicias peribronquial, perivascular o subpleural, y penetran así en el tejido conectivo del pulmón para ser ingeridas después por los macrófagos residentes. Es decir, tanto los macrófagos como las partículas libres inhaladas, pueden penetrar hacia los compartimentos del tejido conectivo, siendo una vía importante por la que los antígenos situados dentro o alrededor de los macrófagos alveolares establecen un contacto con los linfocitos sensibilizados del tejido conectivo. Aunque los macrófagos pulmonares son esenciales para la defensa del huésped, su actividad y movimiento, pueden ser en ocasiones perjudiciales. Las partículas tóxicas inhaladas, sensibilizantes, radioactivas o carcinogénicas, se concentran dentro de los macrófagos que las fagocitan con avidez. Lo que en un principio constituía una exposición difusa y relativamente uniforme, se vuelve muy localizada y desigual, pudiéndose originar «puntos calientes» y si el efecto perjudicial requiere que se sobrepase un determinado umbral de concentración, estos «puntos calientes» pueden favorecer el desarrollo de lesiones.

De modo similar, la adherencia de algunos macrófagos al epitelio de las vías aéreas, puede aumentar la exposición de esos conductos, a los materiales tóxicos inhalados y, lo que quizá sea más importante, esta estrecha asociación con el epitelio bronquial puede favorecer el transporte transbronquial de las partículas inhaladas con reingestión consecuente por los macrófagos del tejido conectivo subepitelial. Tales células como sus congéneres de los comparti-

mientos alveolar y bronquial segregan, y quizá metabolizan, las partículas carcinogénicas y tóxicas.

Macrófagos intersticiales: Éstos se encuentran en los diversos compartimentos del tejido conectivo, entre ellos las paredes alveolares, los senos de los ganglios y nódulos linfáticos y los espacios peribronquiales y perivasculares; todos los macrófagos pulmonares, pertenecen a la misma estirpe celular que los observados en otras regiones del organismo, cuya extensa familia incluye las células hepáticas Kupffer, los macrófagos libres y fijos del bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea, los peritoneales y los osteoclastos del hueso.

3.3.2 Papel del Sistema Linfático

Tradicionalmente se considera a los linfáticos como los «barrenderos» del pulmón y esta vía de aclaramiento, es francamente importante, aunque quizá se ha exagerado esta importancia, hasta que se ha conocido bien el mecanismo de transporte mucociliar. La verdadera importancia del aclaramiento linfático es que esta vía actúa con lentitud y esas partículas, adquieren gran significado en la patogenia de muchas enfermedades pulmonares y hay que tener en cuenta además que el tejido conectivo puede constituir el principal depósito de partículas retenidas transcurridos meses e incluso años desde la época de exposición en la que fueron inhaladas.

3.3.3 Mecanismos específicos de defensa del pulmón

La mayoría de las partículas cuyo diámetro es inferior a 5μ , alcanzan las vías aéreas distales, donde ya hemos visto que son ingeridas por los macrófagos alveolares, teniendo desde aquí diferentes destinos: 1) degradación completa dentro del fagosoma del macrófago; 2) transporte sin degradación por los macrófagos alveolares, que ascienden por los conductos aéreos hasta el sistema mucociliar donde normalmente son eliminados al cabo de unos días; y 3) una tercera vía en la que interviene el transporte sin degradación por los macrófagos alveolares, o bien el movimiento de partículas libres hacia los linfáticos intersticiales y peribronquiales. Las partículas transportadas hacia el intersticio por la última vía, suelen permanecer dentro del huésped durante meses o años e interaccionan con las acumulaciones de células linfoides, debajo de la mucosa bronquial y en los ganglios traqueobronquiales de drenaje, cualquiera que sea la ruta por la que las sustancias entren en contacto con el tejido linfoide pulmonar organizado, el desarrollo de una respuesta inmune a elementos reconocidos como antígenos, requiere una estrecha colaboración entre fagocitos y linfocitos. El macrófago asume un papel importante en el reconocimiento y distribución del antígeno y la presentación óptima de este antígeno

a las células inmunocompetentes, estimulando así la producción de anticuerpos y/o células sensibilizadas. Según el tipo de antígeno, su presentación por el macrófago a los linfocitos de los ganglios linfáticos y el bazo, provoca una respuesta inmune predominantemente celular o humoral. El hecho de que un determinado antígeno induzca inmunidad celular o humoral, depende de varios factores tales como el tamaño, la vía de entrada y las propiedades biológicas del tóxico. Inmunológicamente hablando, las respuestas celulares (hipersensibilidad tardía), se encuentran bajo el control de linfocitos derivados del timo o células T, la división de estas células T, produce familias de células de las cuales unas son células de memoria que responden al antígeno original y células efectoras o «asesinas», que destruyen las células extrañas y son capaces de producir unas moléculas llamadas linfocinas, que son segregadas tanto por las células T, como por las B, en respuesta a ciertos estímulos antigénicos y provocan aumento de la permeabilidad capilar e influyen en el movimiento y la actividad de los fagocitos en general. Estas linfocinas, juegan un papel importante en la generación de las respuestas inflamatorias sobre todo en las relacionadas con la inmunidad celular. La respuesta de anticuerpos, se debe a la interacción del antígeno con el sistema derivado de la médula ósea o equivalente de la «bursa» (células B); los linfocitos B, son los precursores de las células productoras de anticuerpos (plasmocitos). No existe una separación estricta entre los sistemas de células B y T, aunque la producción de anticuerpos se encuentra bajo el control de las células B, esta función es regulada como mínimo por dos subpoblaciones de células T: Un subgrupo cooperador, que es necesario para la respuesta óptima frente a la mayoría de los antígenos y otro subgrupo supresor que inhibe o regula las respuestas humorales una vez iniciadas. Por otra parte la producción de linfocinas no es exclusiva de las células T, ya que las B, pueden producir cantidades comparables de esas sustancias como por ejemplo, factor inhibidor de los macrófagos (MIF) bajo estímulos apropiados. El macrófago interactúa con los productos de los sistemas T y B, presentando un receptor para los componentes activados del complemento, lo que facilitará fagocitosis y muerte de elementos extraños. Los factores inhibidor, quimiotáctico y activador de los macrófagos, son tres ejemplos de moléculas de linfocinas producidas por los sistemas de las células T y B, que sirven para atraer a los monocitos o macrófagos al lugar de la inflamación o estimulación antigénica mantenerlos allí y activarlos para que faciliten y destruyan bacterias y tóxicos.

Podemos considerar tres compartimentos estrictamente diferenciados todos los cuales contienen células inmunocompetentes (linfocitos y macrófagos): 1) Los espacios aéreos bronco-alveolares. 2) El sistema submucoso o secretor de anticuerpos, situado debajo de la lámina propia del árbol traqueobronquial. Y 3) la red de vasos y ganglios linfáticos que tapizan los conductos bronquiales. En cada uno de estos compartimentos existe el potencial para la interacción

de linfocito-macrófago, encaminada al reconocimiento y eliminación del antígeno.

Espacios aéreos bronco-alveolares: Dentro de estos espacios aéreos bronco-alveolares, se producen interacciones linfocitos y los macrófagos que responden a los antígenos introducidos en el tracto respiratorio produciendo anticuerpos y linfocinas. Además los linfocitos pulmonares pueden mostrar una respuesta anamnésica a los antígenos transportados por el aire y según el tipo y dosis de antígeno exhiben una capacidad de respuesta independiente del tejido linfoide sistémico. La función de estos macrófagos alveolares consiste por una parte en ingerir y eliminar las partículas y por otra, transportarlas hacia los ganglios traqueo-bronquiales y submucosos para que reaccionen con las acumulaciones de macrófagos tisulares y linfocitos, requiriendo en ocasiones la ayuda de anticuerpos específicos de las regiones bronquiales en el caso de otro tipo de antígenos que presenten resistencia a la fagocitosis no siendo suficiente los mecanismos de limpieza inespecífica. No obstante la puesta en marcha de una respuesta inmune a base de anticuerpos, o bien de células, exige que el antígeno penetre de alguna forma a través de la barrera de la mucosa y estimule las células linfoides submucosa. Cabe destacar que inicialmente sólo es necesaria una pequeña fracción de la carga antigénica inhalada para estimular el tejido linfoide submucoso, siendo lógico que a mayor toxicidad de la sustancia inhalada o a mayor virulencia, el abrir un camino de entrada lesionando o rompiendo la continuidad del epitelio respiratorio es mucho más fácil.

3.3.4 El sistema secretor

El sistema inmuno-secretor se compone de los linfocitos y células plasmáticas que tapizan el árbol traqueo-bronquial. Estas células segregan moléculas de anticuerpos que son transportadas por las epiteliales hacia la luz bronquial, durante el paso a través de la célula epitelial, la inmunoglobulina IgA, segregada adquiere una molécula glucoproteínica llamada pieza secretora que va a permitir que los dímeros IgA, resistan la digestión proteolítica por los enzimas presentes, tanto en las secreciones bronquiales, como en las gastrointestinales. Las células secretoras de anticuerpos IgA, proceden de las acumulaciones de elementos linfoides subepiteliales del pulmón (bronquial associates lymphoid tissue o BALT, tejido linfoide relacionado con los bronquios) similares en aspecto y función a las placas de Peyer del intestino. Esta IgA, presente en las secreciones bronquiales, ejerce efectos protectores en el pulmón: 1) inhibición de los virus, impidiendo que infecten las células epiteliales; 2) favorecen el agrupamiento de ciertas bacterias y disminuyen su adherencia a las superficies mucosas; y 3) en combinación con la lisocima y el complemento de las secreciones bronquiales, favorecen la fagocitosis de las partículas

y bacterias inhaladas recubiertas de IgA; los macrófagos interactúan con las inmunoglobulinas de las afecciones bronquiales, la IgA, predomina en las secreciones respiratorias superiores y nasales mientras que la principal inmunoglobulina del tracto respiratorio inferior es la IgG. Según esto, debido a que el macrófago alveolar posee un receptor para la IgG, pero no para la IgA, los macrófagos alveolares fagocitan con más eficacia sobre todo a las bacterias cuando están tapizadas u opsonizadas con IgG que con IgA. La IgE constituye una tercera clase de inmunoglobulina secretora de importancia en el ser humano: además de los efectos que siguen la sensibilización de los mastocitos y basófilos por moléculas de IgE en individuos atópicos, sabemos que coopera con la IgA en el papel defensivo de estas inmunoglobulinas de las secreciones bronquiales.

Ganglios y vasos linfáticos: El parénquima pulmonar, está drenado por una extensa red de canales linfáticos que comunica con los agregados linfoides submucosos y con los ganglios traqueobronquiales. Algunos de estos canales se originan en los bronquiolos respiratorios, las acumulaciones de linfocitos y las células epiteliales especializadas que las recubren constituyen una especie de «sumideros» para atrapar y eliminar las partículas inhaladas. Estos agregados linfoepiteliales y los linfáticos con ellos relacionados constituyen otra vía al tejido linfoide organizado.

3.3.5 Destino de los antígenos inhalados

Ya hemos visto que las partículas antigénicas pueden penetrar a través de la submucosa bronquial y tener acceso al tejido linfoide pulmonar. Existen lugares especializados a lo largo del árbol traqueobronquial donde los antígenos son transportados a través del epitelio hasta el tejido linfoide submucoso. Entre estos lugares existen áreas de un epitelio especializado que cubre el tejido linfoide relacionado con los bronquios (BALT) en las vías aéreas proximales y los agregados linfoides menos definidos en las distales. El epitelio superpuesto al BALT, tiene una función de pinocitosis y es capaz de transportar los antígenos tanto solubles como particulados, debemos señalar que el BALT, se localiza de modo preferente en las bifurcaciones del árbol traqueo-bronquial aumentando la probabilidad del impacto por inercia de las partículas inhaladas contra estas zonas; además proporciona los precursores de las células plasmáticas productoras de IgA debajo de la lámina propia.

En las vías aéreas más distales, unas células epiteliales similares cubre otras acumulaciones de agregados linfoides («sumideros» pulmonares), estas células linfoepiteliales especializadas, son capaces de transportar los antígenos por un mecanismo de pinocitosis a través de la barrera mucosa. De estos agregados, se originan linfáticos que establecen conexiones con las estructuras linfoides de las vías más proximales como el BALT y las acumulaciones de

células plasmáticas existentes debajo de la lámina propia.

3.3.6 Interacción entre las partículas inhaladas y el sistema inmune pulmonar

En términos generales la inhalación de humos, gases, vapores, etc. sabemos que afecta a los macrófagos alterando la capacidad para adherirse y fagocitar a las bacterias, deprimiendo las respuestas mediadas por anticuerpos y células T, tanto en el pulmón como en el bazo. La exposición crónica a polvos inorgánicos, puede afectar los sistemas inmunes locales y sistémicos, provocando fibrosis pulmonar a menudo como en el caso de la sílice asociada a anomalías del sistema inmunológico; estas anomalías, se manifiestan por mayor susceptibilidad a la tuberculosis y aumento en la incidencia de trastornos autoinmunes como la artritis reumatoide y la esclerosis sistémica progresiva; las formas cristalinas, son especialmente tóxicas para los macrófagos. Además de trastornar la fagocitosis producen lisis de los macrófagos por lesión de la membrana del fagosoma que no sólo provoca una fuga de enzimas hidrolíticos y proteolíticos sino también la liberación de factores que favorecen la proliferación de fibroblastos y el depósito de colágeno, presentando además, alteraciones de las respuestas a los mitógenos de las células B y T así como una disminución de la capacidad para generar células formadoras de anticuerpos en los ganglios mediastínicos y en el bazo, lo que supone una depresión de la función linfocitaria.

Se han demostrado anomalías funcionales en los linfocitos de sangre periférica de pacientes con exposición crónica a la sílice. En conjunto estos datos indican que la inhalación de partículas tóxicas, puede afectar las defensas del pulmón como mínimo de dos formas, 1) por lesión pulmonar por toxicidad directa, y 2) alteraciones de las defensas inmunes locales y sistémicas con aumento de la susceptibilidad de los pulmones ante otras enfermedades (por ejemplo las infecciones).

3.4 MECANISMOS DE PASO A TRAVÉS DE MEMBRANAS

Los mecanismos por los cuales una sustancia puede atravesar las membranas biológicas pueden resumirse en los siguientes: filtración, difusión simple y transporte específico (Fig.3.7.).

3.4.1 Filtración

La *filtración* a través de poros de la membrana, debido a una presión hidroestática u osmótica, sólo la pueden llevar a cabo moléculas pequeñas, de-

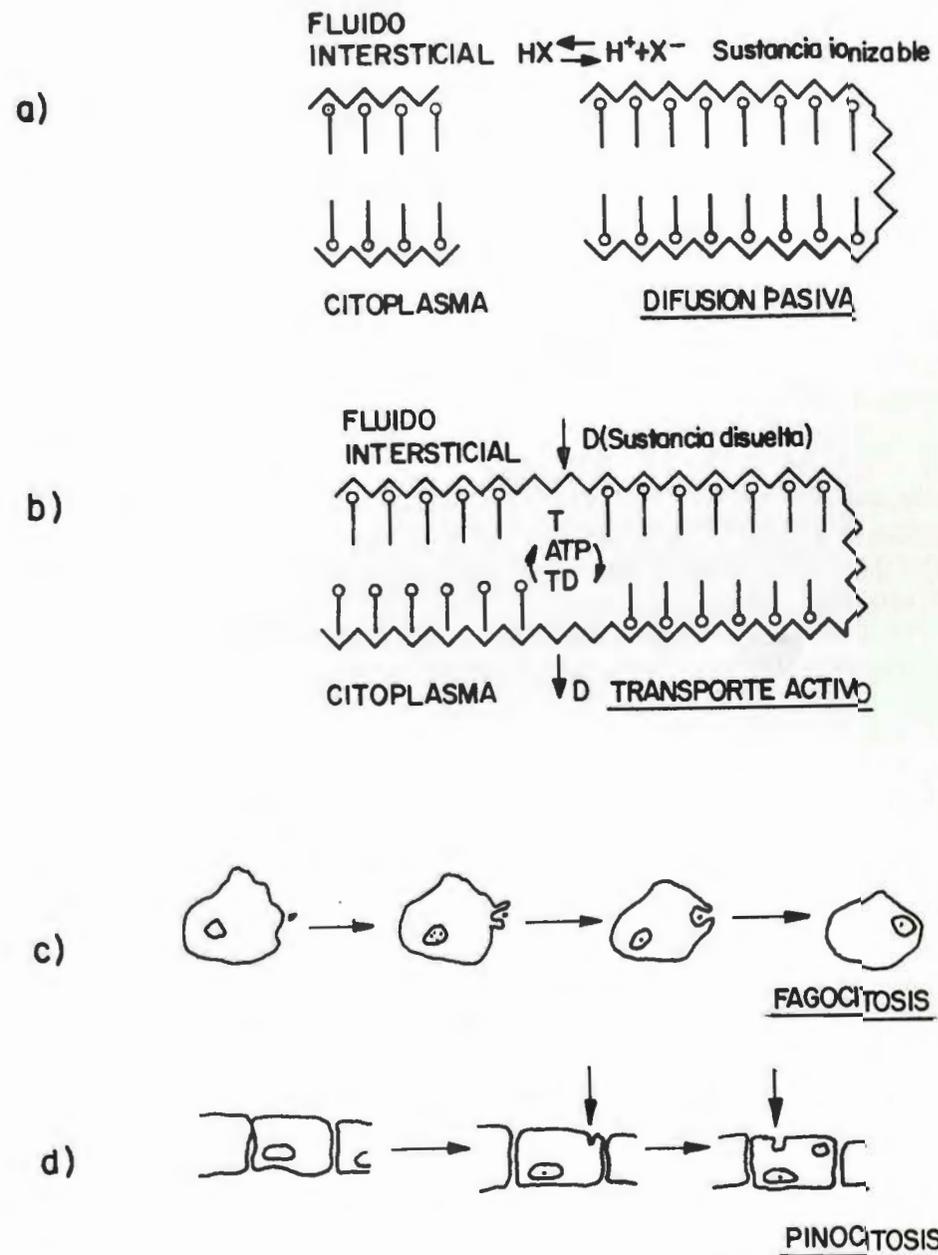


FIGURA 3.7. Mecanismos de paso de membranas

pendiendo del tipo de tejido que se trate. Así, por ejemplo, mientras en el glomérulo renal y en los capilares los poros tienen diámetros de 40 Å para dejar pasar a moléculas de peso molecular inferior al de la albúmina, en la mayoría de estos tejidos estos poros de la membrana celular miden 4 Å y dejan pasar solamente a compuestos de peso molecular inferior a 200, hidrófilos y no ionizados.

3.4.2 Difusión

La difusión simple a través de la estructura lipoproteica de la membrana la pueden realizar moléculas dotadas de cierta liposolubilidad en su forma no disociada. Se realiza en razón de un gradiente de concentración, siendo la velocidad de transporte función directa del gradiente, es decir, siguiendo una cinética lineal. Las moléculas que utilizan este mecanismo pueden llegar a tener un peso molecular de 500. Hay que tener en cuenta que las sustancias inso- lubles son biológicamente inertes, que las fuertemente disociadas a pH orgánicos no pueden difundir y que se necesita una cierta hidrosolubilidad para poder disolverse la sustancia en el líquido intersticial y unirse así a la membrana a atravesar.

Por lo tanto, no sólo importa la ionización, sino la tendencia a ionizarse en una solución acuosa a un determinado pH de los grupos ácidos o/y básicos de la sustancia tóxica. Esta tendencia depende de la constante de disociación pKa, que es el logaritmo negativo de la constante de disociación de los ácidos e indica el pH al cual se encuentra disociada el 50 % de la sustancia. Viene dado por la ecuación de Henderson-Hasselbach, que se expresa:

$$\text{Para ácidos: } pK_a - pH = \log \frac{|\text{no ioniz.}|}{|\text{ionizado}|}$$

$$\text{Para bases: } pK_a - pH = \log \frac{|\text{ionizado}|}{|\text{no ioniz.}|}$$

Dado que solamente el porcentaje liposoluble indisociado de los electrolitos débiles difunde a través de la membrana biológica, los ácidos en medio ácido pueden difundir mejor, puesto que el pH impide su ionización. El mismo razonamiento es válido para las bases.

3.4.3 Transporte especializado

Se trata de mecanismos que requieren de alguna molécula o formación especial, que actúa de medio para la absorción de aquellas moléculas demasiado voluminosas para atravesar los poros (4 Å) o demasiado insolubles en

Tabla 3.2. Mecanismos de paso de diferentes compuestos a través de las membranas

<i>Difusión pasiva:</i>	Gases y vapores a través membrana lipóide.
<i>Filtración a través poros acuosos:</i>	Moléculas iónicas bajo P.M.
<i>Difusión facilit. por mec. transporte:</i>	Moléculas iónicas alto P.M.
<i>Transp. activo con demanda energética:</i>	Moléculas de alto P.M.
<i>Pinocitosis:</i>	Sust. proteicas en estado líquido
<i>Endocitosis (fagocitosis):</i>	Sólidos poco solubles.

los lípidos para atravesar la estructura lipoproteica de la membrana.

Se pueden distinguir dentro de esta categoría dos tipos: la difusión facilitada y el transporte activo. La primera se realiza mediante moléculas portadoras, por lo cual es muy específico y es saturable, siendo la saturación un factor limitante para la velocidad de paso (cinética no lineal). Este mecanismo se realiza únicamente a favor de gradiente y suele ser utilizado por sustancias nutritivas.

El segundo mecanismo, también mediante moléculas portadoras, y por tanto, también saturable, se realiza en cambio contra gradiente, es decir, con consumo energético. Este tipo es utilizado por los distintos tejidos para eliminar determinados tipos de tóxicos específicamente nocivos: por ejemplo, en el SNC y en el riñón para ácidos y bases orgánicas, y en el hígado existen además otros especiales para los metales pesados y los compuestos orgánicos neutros.

Estos procesos pueden ser bloqueados por inhibidores metabólicos, puesto que la cinética del «carrier» o molécula transportadora depende directamente del metabolismo.

Finalmente, entre las formaciones a tener en cuenta se encuentra la pinocitosis, invaginación producida por la membrana celular, que engloba gotas de líquido extracelular y que junto con la fagocitosis tienen un papel importante en toxicología al proceder a la absorción de macromoléculas y partículas no disueltas (por ejemplo, de los alveolos pulmonares mediante fagocitos alveolares) y a su eliminación (por ejemplo, de la sangre mediante el sistema del retículo endotelial del hígado y el bazo).

Estos mecanismos se resumen en la Tabla 3.2.