

Significación Biológica de los Diferentes Estados de Oxidación del Cromo

Marcela RIZZOTTO y Luis F. Sala *

Area Inorgánica, Especialidad Bioinorgánica, Departamento de Ciencias Exactas, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario Suipacha 531, (2000) Rosario

RESUMEN. El cromo, al estado trivalente, es un elemento ultra-traza esencial, mientras que, por otro lado, la mutagenicidad y carcinogenicidad está bien establecida en sistemas biológicos para estados de oxidación superiores. El metabolismo del cromato involucra la generación del cromo(V), especie que se uniría con constituyentes celulares, dañando así sus funciones. Se ha detectado Cr(V) durante más de quince días por RPE, al producirse la interacción de Cr(VI) con distintas sustancias biológicas, intra y extracelulares. Siendo el dicromato de potasio un producto extensamente usado, el aumento del nivel de Cr(VI) en suelos y plantas debido a desechos industriales podría originar compuestos carcinogénicos que podrían entrar en los ciclos biológicos de otros organismos.

SUMMARY. "Biological Significance of the Different Oxidation States of Chromium". Chromium, at the trivalent state, is considered an essential ultratrace element; on the other hand mutagenicity and carcinogenicity have been established in biological systems for higher oxidation states. The chromate metabolism involves the production of Cr(V), a species which could bind to cellular constituents, damaging their functions. Cr(V) has been detected by EPR as far as fifteen days when Cr(VI) interacts with different intra and extra-cellular biological substances. As potassium dichromate is extensively employed by their industry, the increment of Cr(VI) level on soils and plants due to industrial waste could produce carcinogenetic compounds which are able to go into biological cycles.

El cromo no sólo es un elemento ultra-traza esencial sino también un potente carcinogénico. Muchos otros elementos traza esenciales son también tóxicos en exceso, pero el cromo es único en el hecho de que su esencialidad está limitada a un estado de valencia y su toxicidad a otro, y que la transformación del estado de valencia esencial (número de oxidación: III) al tóxico (número de oxidación: V y/o VI) no ocurre en organismos vivos ¹.

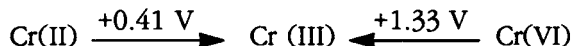
PALABRAS CLAVE: Carcinogenicidad; Constituyentes celulares, Cromo(V)

KEY WORDS: Carcinogenicity; Cellular constituents; Chromium(V)

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia.

Han sido preparados compuestos de cromo con estados de oxidación desde -2 a $+6$, pero sólo los números de oxidación 0 , $+2$, $+3$ y $+6$ son lo suficientemente estables como para tener importancia química y biológica.

La forma divalente tiene alto poder reductor y, en el aire, es oxidada a la forma trivalente, estable. Recíprocamente, los compuestos de cromo hexavalente son fuertemente oxidantes y, en presencia de un adecuado donador de electrones (los que pueden ser sustancias orgánicas relativamente inertes), son reducidos a la forma trivalente estable.



El principal mineral de cromo es la cromita ($\text{Cr}_2\text{O}_3 \cdot \text{FeO}$), siendo también de interés la crocoíta (PbCrO_4)². En general, con algunas posibles excepciones, los compuestos de Cr(VI) y los problemas asociados a su toxicidad son obra del hombre. *In vivo*, la reducción del estado hexavalente al trivalente estable es prácticamente irreversible, encontrándose muchos sitios posibles de reducción de Cr(VI) a Cr(III) en la célula. En general, sólo ascorbatos y aminoácidos conteniendo grupos sulfhidrilos son capaces de reducir fácilmente al cromato a pH fisiológico; por ello, en el citoplasma, el glutatión, la cisteína y el ascorbato reducirían al cromato. Mientras que la mayoría de las proteínas son inactivas frente al cromato, ciertas proteínas redox son activas en la reducción de Cr(VI) : por ejemplo, las hemoproteínas hemoglobina y citocromo P 450 poseen actividad cromato-reductasa, mientras que el citocromo c y la mioglobina son inactivas. Las flavoenzimas NADPH dependientes, la glutatión reductasa y el citocromo P 450-reductasa también poseen actividad cromato-reductasa, pero sin embargo las enzimas NAD(P)H isocitratodeshidrogenasa, glutamato-deshidrogenasa y malato-deshidrogenasa no reducen al cromato. Tanto los microsomas como las mitocondrias (ambas estructuras subcelulares) presentan actividad cromato-reductasa, siendo debida en microsomas al sistema NADPH citocromo P 450-reductasa/citocromo P 450³.

La reducción intracelular del cromato, según se puede apreciar por lo antedicho, no es al azar, sino que sólo ciertas moléculas pequeñas y algunas enzimas serían capaces de reducir al cromato a velocidad significativa en condiciones fisiológicas, lo cual le da selectividad al proceso.

En solución acuosa el Cr(VI) puede existir como dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), especie predominante a pH menor que 7 en concentración mayor que 1×10^{-2} M, como cromato ácido (HCrO_4^-), predominante a pH menor que 6 y en concentración menor a 1×10^{-2} M, y como cromato (CrO_4^{2-}), que es predominante a pH > 6 a bajas concentraciones y a pH > 7 a altas concentraciones⁴. En soluciones muy ácidas, el espectro Raman muestra la evidencia de policromatos⁵.



Bajo condiciones fisiológicas se da el equilibrio:



Aún un pequeño porcentaje de cromato ácido se puede considerar significativo, ya que sus átomos de oxígeno son más lábiles a la sustitución que los del ión cromato.

Los complejos de Cr(III) son cinéticamente inertes a la sustitución, mientras que los de Cr(V) y Cr(VI) son lábiles. El Cr(III) tiene gran tendencia a formar compuestos de coordinación y quelatos, con alta afinidad hacia el oxígeno (y también hacia otros donores de electrones) de compuestos orgánicos. La disponibilidad del cromo para absorción y actividad biológica depende mayormente de la naturaleza de sus ligandos.

La actividad biológica del Cr(III) no involucra reacciones de transferencia de carga sino que es apropiado como puente manteniendo relaciones estructurales entre sus ligandos. Está demostrada la interacción del Cr(III) con ácidos nucleicos (estabilizaría la estructura terciaria) y con el funcionamiento de la glándula tiroidea¹.

La deficiencia de cromo en el hombre y en animales superiores causa un deterioro en la prueba de tolerancia a la glucosa y síntomas de diabetes e hiperlipidemia⁶. La participación del Cr(III) en estas funciones bioquímicas no ha sido totalmente aclarado, pero parecería involucrar el factor de tolerancia a la glucosa (FTG)^{7,8}. El FTG podría potenciar la acción de la insulina como facilitadora del transporte de glucosa a través de las membranas plasmáticas de células musculares y adiposas. El FTG presente en levadura de cerveza demostró ser un complejo de Cr(III) donde los ligandos parecen ser ácido nicotínico y glutatión (o sus aminoácidos constituyentes: ácido glutámico, cisteína y glicina). Un producto sintetizado en base a estos datos, de notable actividad biológica, presentó un espectro de IR muy similar al del FTG aislado de levadura de cerveza⁹.

La mutagenicidad y carcinogenicidad de ciertos compuestos de cromo ha sido bien establecida en sistemas biológicos, desde los componentes celulares aislados *in vitro* hasta en los seres humanos laboralmente expuestos. La inactividad del Cr(III) en sistemas celulares en períodos cortos probablemente sea debida a que las membranas celulares son muy poco permeables a la mayoría de los complejos de Cr(III). Los estados de oxidación de compuestos de cromo mutagénicos aumentan con el grado de aislamiento y purificación del sistema. Por ejemplo, en cultivos celulares o bacterianos, o en componentes celulares aislados, los cromatos son mutagénicos, mientras que los compuestos de Cr(III) no. Cuando las membranas celulares se rompen y el efecto del cromo es evaluado en el núcleo aislado, se observa que los compuestos de Cr(III) también presentan acción mutagénica. El metabolismo del cromato involucra la generación de intermediarios reactivos que a la postre se unen con constituyentes celulares dañando sus funciones en la célula^{3,10}.

Debido a que la clave de la carcinogenicidad del Cr(VI) sería su reducción intracelular a Cr(III), Connett y Wetterhahn¹¹, en 1985, estudiaron *in vitro* la reacción de Cr(VI) con tioles y ácidos carboxílicos celulares. Hallaron que el glutatión (el tiol intracelular más abundante), forma rápidamente un tioéster con el Cr(VI), seguido de una lenta reducción, prolongándose así la vida media del Cr(VI) en la célula, lo cual promovería su interacción con macromoléculas intracelulares.

En estudios posteriores, Goodgame *et al.*¹² detectaron por RPE varias especies de Cr(V), de vidas relativamente largas, al interactuar dicromato de potasio con glutatión en solución acuosa a pH entre 6 y 8, con relaciones glutatión / Cr(VI) desde 1/1 ($g = 1.985$) a 10/1 ($g = 1.995$), a temperatura ambiente y con una concentración inicial de Cr(VI) de 3.2×10^{-2} M.

La oxidación del glutatión también fue estudiada por O'Brien *et al.*¹³, quienes pudieron aislar complejos de Cr(V) al estado sólido, muy estables.

Los estudios de Branca *et al.*¹⁴ sobre la reducción de iones cromato por glutatión en presencia de azúcares como ligandos indicarían que la mayoría de los sitios de coordinación involucrados en las uniones con cromo en los sistemas naturales pueden ser hidroxilos (por ejemplo en los ácidos nucleicos) y tioles (en péptidos y proteínas).

En 1991 Brauer y Wetterhahn¹⁵ informaron sobre la formación de un complejo 1:1 de Cr(VI) con glutatión, estable aproximadamente 60 minutos a 4 °C. Estudios de RMN (¹H, ¹³C y ¹⁷O) indicaron que la unión con Cr(VI) sería a través del grupo cisteiniltiolato.

Jones *et al.*¹⁶, también en 1991, hallaron evidencias de generación de radicales hidroxilo a partir de un complejo intermediario aislado de la reacción entre glutatión y cromato. Estos resultados ayudan a explicar la capacidad de soluciones conteniendo cromato y glutatión para causar roturas en las cadenas de ADN.

Bayko y Goodgame¹⁷ y Goodgame *et al.*¹⁸ encontraron, respectivamente, que los ácidos fúlvicos y los ácidos húmicos derivados del suelo reaccionan con Cr(VI), produciéndose especies de Cr(V) que pudieron ser detectados por RPE durante varios días.

La información acerca de la interacción de iones metálicos con sustancias húmicas es importante para comprender la retención, transporte y biodisponibilidad de iones metálicos peligrosos para la vida. Los ácidos fúlvicos se encuentran ampliamente distribuidos en forma soluble en agua en cañerías, ríos, estuarios, etc., como así también en forma sólida en suelos.

La formación de especies de Cr(V) por oxidación de los ácidos fúlvicos con Cr(VI), de vida relativamente larga y solubles en agua en un rango amplio de pH, debe ser tenida en cuenta al considerar las consecuencias que se pueden acarrear al disponer de los desechos industriales que contengan Cr(VI).

En 1987, Goodgame y Joy¹⁹, motivados por un estudio que daba cuenta de un alto contenido de cromo en leche y de una alta mortalidad en el ganado que pastaba en un campo contaminado con desechos industriales de cromo, investigaron la interacción de Cr(VI) con la lactosa. Detectaron una banda en el espectro de RPE con $g = 1.980$ —característico de Cr(V)— que perduró un tiempo prolongado (18 días), con el consiguiente riesgo para el consumidor.

En 1988, Micera y Dessi²⁰ investigaron la absorción de Cr(III) y de Cr(VI) por plantas de ajo usando espectroscopía RPE. Demostraron que el Cr(VI) absorbido tiende a ser reducido por la planta ya desde las raíces. Sin embargo, notaron que la capacidad reductora de la planta, ante una concentración anormal de Cr(VI), se veía muy limitada, generándose especies de Cr(V) persistentes hasta 15 días, las cuales se distribuían también en tallos y hojas. Esta acumulación podría producir

efectos deletéreos en los organismos vivos, al relacionarse el Cr(V) con las propiedades carcinogénicas y mutagénicas del elemento. De este modo, en ausencia de mecanismos alternativos de detoxificación, el incremento del nivel de Cr(VI) en suelos y plantas podría originar compuestos carcinogénicos, los que podrían entrar en los ciclos biológicos de otros organismos.

Dado que los compuestos de Cr(VI) son ampliamente empleados tanto en laboratorios como en industrias, y dada su peligrosidad, Lunn y Sansone ²¹ propusieron un método práctico para reducir el Cr(VI), tóxico, de los desechos, a Cr(III) relativamente inerte. Básicamente, el proceso involucra la reducción de Cr(VI) a Cr(III) por agregado de metabisulfito de sodio acuoso, seguido de neutralización con hidróxido de magnesio, que permite obtener un precipitado de hidróxido de cromo (III), más filtrable que si se emplean los hidróxidos de sodio o de potasio. Cuando se trabaja en gran escala todas las adiciones de reactivos deben ser lentas y cautelosas, realizadas bajo campana, pues son reacciones exotérmicas. El procedimiento puede ser realizado en el mismo lugar de disposición de los desechos de Cr(VI), eliminándose así los peligros de contaminación y los costos de transporte.

Agradecimientos. Los autores agradecen al CONICET y a la UNR por el constante y permanente apoyo a su labor. Marcela Rizzotto agradece a su vez la ayuda recibida por el CIUNR.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Mertz, W. (1983) *Chem. Scripta* **21**: 145-50
2. Cotton, A. y G. Wilkinson (1981) "*Química inorgánica Avanzada*" LIMUSA, México, págs. 851-2
3. Connert, P. y K. Wetterhahn (1983) *Struct. and Bonding* **54**: 93-124
4. Kalbus, L., R. Petrucci y G. Forman (1991) *J. Chem. Ed.* **68**: 677-8
5. Cieslak-Golonka, M. (1991) *Coord. Chem. Rev.* **109**: 223-49
6. Barrett, J. y P. O'Brien (1985) *Polyhedron* **4**: 1-14
7. Toeffler, E., W. Mertz, M. Polansky, E. Roginski y W. Wolf (1977) *J. Agric. Food Chem.* **25**: 162-6
8. Mertz, W., E. Toeffler, E. Roginski y M. Polansky (1974) *Federation Proceedings* **33**: 2275-80
9. Baran, E.J. (1989) *Acta Farm. Bonaerense* **8**: 43-8
10. Standeven, A. y K. Wetterhahn (1989) *J. Amer. Coll. Toxicol.* **8**: 1275-82
11. Connert, P. y K. Wetterhahn (1985) *J. Amer. Chem. Soc.* **107**: 4282-4288
12. Goodgame, D. y A. Martin Joy (1986) *J. Inorg. Biochem.* **26**: 219-24
13. O'Brien, P., J. Barrett y F. Swanson (1985) *Inorg. Chim. Acta* **108**: L19-L20
14. Branca, M., A. Dessi, H. Kozlowski, G. Micera y G. Swiatec (1990) *J. of Inorg. Biochem.* **39**: 217-26

15. Brauer, S. y K. Wetterhahn (1991) *J. Am. Chem. Soc.* **113**: 3001-7
16. Jones, P., A. Kortenkamp, P. O'Brien, G. Wang y G. Yang (1991) *Arch. Biochem. Biophys.* **286**: 652-5
17. Bayko, S y D. Goodgame (1986) *Inorg. Chim. Acta* **123**: 189-91
18. Goodgame, D., P. Hayman y D. Hathury (1984) *Inorg. Chim. Acta* **91**: 113-5
19. Goodgame, D. y A. Martin Joy (1987) *Inorg. Chim. Acta* **135**: L5-L7
20. Micera, G., y A. Dessi (1988) *J. Inorg. Biochem.* **34**: 157-66
21. Lunn, G. y E. Sansone (1989) *J. Chem. Ed.* **66**: 443-5