



Estudio post mórtem de metales pesados y elementos traza en pulmón y su relación con cambios debidos a la exposición crónica al tabaco

Autor: Rosa Martínez González

Institución: Universidad de Murcia

Otros autores: María Dolores Pérez Carceles (Universidad de Murcia); Miguel Motas (Universidad de Murcia); Agustín Sibón Olano (Instituto de Medicina Legal y Forense de Cádiz); Silvia Jeréz Rodríguez (Universidad de Murcia); Francisco José Pallares Martínez (Universidad de Murcia); Aurelio Luna Maldonado (Universidad de Murcia)

Resumen

Entre los componentes del tabaco destacan como principales los metales pesados. Éstos han demostrado ser cancerígenos en seres humanos. Su mecanismo de acción principal es ser comutagénicos, por ejemplo, interfiriendo en los procesos de reparación del ADN. El objetivo de este estudio ha sido determinar las concentraciones de elementos traza en los pulmones de los sujetos fallecidos, analizando su relación con los cambios histopatológicos presentes, debidos a la exposición crónica al tabaco. Se han estudiado 62 muestras de lóbulos medios del pulmón derecho de cada uno de los sujetos, los cuales presentaban una media de edad de 56 años. Han sido determinadas las concentraciones de los siguientes elementos traza Ni, Sr, Br, Cd, Pb, Cr, Zn, As, Se. Se prepararon disoluciones de pulmones para la digestión ácida asistida por microondas, mediante el empleo de HNO₃ y H₂O₂, siendo analizadas por ICP-MS. Las muestras de los pulmones fueron examinadas por microscopía óptica, lo cual permitió observar la severidad de los cambios histopatológicos. La inflamación peribronquial fue acusada, especialmente la presencia de agregados. A su vez, los sujetos presentaron destrucción alveolar, cambios enfisematosos, proliferación epitelial e incremento de los macrófagos alveolares; a diferencia del grupo control. El engrosamiento de la pared vascular, la inflamación perivascular rica en leucocitos y las inflamaciones intersticiales, fueron de moderada severidad en sujetos expuestos al humo del tabaco. Se encontraron altos niveles estadísticamente significativos de cadmio, bromo, níquel, arsénico, cromo y estroncio en pulmones con cambios histopatológicos debidos a la exposición crónica al tabaco.

Palabras claves: Elementos traza; pulmón; histología; tabaco

INTRODUCCIÓN

Consideramos al tabaco, entre los cinco principales factores de riesgo de mortalidad, morbilidad e invalidez (González-Alonso *et al.*, 2003), la causa de muerte más prevenible. El 11% de las muertes por cardiopatía isquémica, la principal causa mundial de muerte, son atribuibles al consumo de tabaco; así como más del 70% de las muertes por cáncer de pulmón, bronquios y tráquea. Si se mantienen las tendencias actuales, el consumo de tabaco matará a más de 8 millones de personas al año en 2030.

Son numerosos los estudios que se han realizado a lo largo de los años sobre los efectos nocivos que pueden tener para la salud sustancias como el monóxido de carbono, la nicotina, el alquitrán, sustancias irritantes y otros gases nocivos derivados del humo del tabaco (Gutiérrez Maydata, 2003), que pueden ser los responsables de la mayoría de los daños funcionales y morfológicos que acompañan el hábito de fumar (Pitillo, 2000).

Entre las más de 3.600 sustancias químicas diferentes que se encuentran en la hoja del tabaco y en el humo, los metales pesados son, en algunos casos, más perjudiciales para la salud que los compuestos anteriormente nombrados. Sin embargo no se ha prestado suficiente atención a la presencia de estos metales y otros elementos tóxicos que tienen un tiempo de vida medio largo, lo que puede originar efectos adversos crónicos sobre la salud humana, pudiendo mostrarse años más tarde como resultado de la absorción prolongada de tales elementos tóxicos, algunos de los cuales son potentes cancerígenos (Chiba *et al.*, 1992).

La contaminación del aire ambiental debido al tabaco no sólo consiste en el humo exhalado por el fumador, sino también por la corriente secundaria de humo emitido por el cigarrillo encendido. Esta corriente lateral la inhalan los no fumadores o fumadores pasivos, y tiene por lo general concentraciones relativamente altas de muchas sustancias nocivas, entre las que se incluyen los metales pesados (Chiba *et al.*, 1992). El tamaño de partícula de los metales es menor en la corriente secundaria que en la principal, por lo que su deposición en el tejido pulmonar de los fumadores pasivos alcanza más profundamente los espacios de la cresta alveolar (Martín *et al.*, 2004).

1. Objetivos

En el contexto anteriormente descrito, los objetivos del presente estudio son:

1. Determinar la concentración de metales tóxicos en pulmón humano.
2. Determinar la relación entre la lesión tabáquica, concentración de elementos inorgánicos y el género del sujeto.
3. Estudiar la relación entre la presencia de lesión macroscópica, las concentraciones de los elementos inorgánicos y la edad de los sujetos.
4. Determinar las correlaciones de las concentraciones de los distintos metales entre sí.
5. Estudiar la influencia del hábito tabáquico en la presencia de lesiones macroscópicas en pulmón, y estudiar una posible relación con la presencia metales tóxicos.

6. Estudiar la relación entre las lesiones microscópicas observadas en pulmón con el hábito tabáquico del sujeto.
7. Analizar la relación entre la causa de muerte de los sujetos y la concentración de metales en pulmón.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. TABACO: Historia y características

La planta del tabaco, usada desde hace siglos, la encontraron los españoles a su llegada a América, donde se fumaba con fines religiosos, ceremoniales o medicinales, en las Antillas, México, Brasil, la Florida y Virginia. En la planta de tabaco, la concentración de los elementos varía a lo largo del tallo, siendo esta concentración mayor en las hojas viejas que en las jóvenes (Chiba *et al.*, 1992).

Su consumo se puso de moda entre las clases acomodadas, debido a la atribución de propiedades curativas, convertirse en un producto de distinción social que ofrecía grandes beneficios económicos. El consumo del tabaco se propagó con un mayor ímpetu a partir de la 1ª Guerra Mundial (1914-1918). Desde la 2ª Guerra Mundial, a raíz de las transformaciones sociales que la siguen, se evidencia la incorporación de la mujer a su consumo hasta llegar a nuestros días (López Nóvoa *et al.*, 2002).

La planta de tabaco madura mide de 1 a 3 metros de altura y produce entre 10 y 20 hojas grandes. Éstas se secan, curan y utilizan para fabricar cigarrillos, puros y tabaco de pipa y de mascar. Esta planta perteneciente al género *Nicotiana* es el principal componente del tabaco. La especie *Nicotiana tabacum* con la que se elabora el tabaco se puede clasificar a su vez en cuatro variedades: havanesis, brasiliensis, virginica y pupúrea, que son el origen de las distintas variedades usadas en la comercialización (Martín *et al.*, 2004).

1.1. Toxicocinética del tabaco

La combustión del tabaco origina dos corrientes (Martín *et al.*, 2004):

- Una corriente principal mediante maniobra de aspiración que el fumador dirige hacia su propio aparato respiratorio, pasando de la cavidad oral directamente a los pulmones.
- Una corriente secundaria o lateral que se produce al consumirse espontáneamente el cigarrillo, que es la que inhala el fumador pasivo.

El humo de la corriente lateral tiene mayores concentraciones de algunas sustancias tóxicas y carcinogénicas (Bello *et al.*, 2005), aunque la dilución provocada por el aire ambiental reduce marcadamente las concentraciones inhaladas posteriormente por el fumador pasivo en comparación con las inhaladas por el fumador activo.

La absorción de los componentes va a depender del pH y de la solubilidad, así los elementos más solubles se absorberán en vías aéreas superiores y los de baja solubilidad se absorberán a nivel alveolar (Martín *et al.*, 2004).

1.2. Hábito tabáquico

En las poblaciones de los países de ingreso medio y bajo se está produciendo un incremento del consumo de cigarrillos que comenzó aproximadamente en el decenio de 1970. Datos de la OMS revelan cómo se están estrechando las distancias que separaban el consumo de tabaco en los países desarrollados y en los del Sur. A comienzos de los años 70 el consumo en los primeros era 3,25 veces mayor que en el Sur. En los ochenta pasó a ser del 2,38 y en los noventa sólo un 1,75 veces mayor que en el Tercer Mundo.

En España, según datos de la Encuesta Nacional de Salud de 2006, fuma el 29,5% de los adultos mayores de 16 años, siendo mayor el consumo en los hombres (35,3%) con respecto a las mujeres (23,8%). El porcentaje de fumadores varía según la edad, observándose que la menor proporción de fumadores se encuentra entre los mayores de 65 años, mientras que los jóvenes de 25-34 años son los que más fuman. Entre los jóvenes de 16 a 24 años, fuman casi por igual hombres y mujeres (31,1% hombres y 32,7% mujeres), mientras que a medida que aumenta la edad se hace mayor la diferencia de consumo de tabaco entre hombres y mujeres, predominando el consumo en hombres (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2012).

2. COMPONENTES QUÍMICOS DEL HUMO DEL TABACO

Las sustancias químicas contenidas en las hojas del tabaco son las precursoras de las más de 4000 sustancias que aparecerán posteriormente en el humo de combustión.

2.1. Nicotina

La nicotina es la responsable de la adicción al tabaco. La mayoría de los cigarrillos del mercado contienen 10 mg o más de nicotina, de la cual se inhala entre 1 – 2 mg/cigarrillo (Leshner, 2001).

En el humo de los cigarrillos, la nicotina está principalmente en forma de sales ácidas por lo que su absorción bucal es mínima; de ahí la necesidad del fumador de hacer inhalaciones profundas para absorber la nicotina a nivel pulmonar, arrastrando consigo todas las sustancias tóxicas presentes en el humo. Del pulmón, a través de la circulación pulmonar, pasa a circulación arterial, por lo que accede al cerebro muy rápidamente, en un plazo de 9-10 segundos. Posteriormente se distribuye vía sanguínea por otros tejidos, como pulmón o hígado. El 90% de la nicotina presente en circulación sistémica está libre en el plasma, lo que facilita el transporte hacia el interior de las células y su unión a receptores específicos (Martín *et al.*, 2004).

Inmediatamente después de la absorción, la nicotina va a producir una activación de las glándulas adrenales y una descarga de adrenalina que produce estimulación corporal y descarga súbita de glucosa, aumento de la presión arterial, la respiración y el ritmo cardíaco. Además, su potencial adictivo también se debe a que produce liberación de dopamina en las regiones del cerebro que controlan las sensaciones de placer y bienestar; hay que tener en cuenta que la nicotina crea tolerancia (Martín *et al.*, 2004).

2.2. Monóxido de carbono

El CO representa en los cigarrillos entre el 1,9 y el 6,3% del humo, y en el humo de los puros está entre el 9,7 y el 12,7% (Gallardo *et al.*, 2004).

Su mecanismo de acción se basa en su extraordinaria afinidad por la hemoglobina, que es hasta 270 veces superior a la del O₂, por lo que lo desplaza, formando carboxihemoglobina (COHb), que bloquea el transporte de oxígeno a los tejidos e impide la función respiratoria (Martín *et al.*, 2004). En un fumador de 20 cigarrillos/día la concentración aproximada de COHb es de un 5% (Zaragoza *et al.*, 1980).

Los efectos tóxicos producidos por el CO principalmente se deben a la hipoxia celular y a la lesión directa del propio gas. La toxicidad puede verse incrementada por numerosos factores, como disminución de la presión barométrica, incremento de la ventilación alveolar, la preexistencia de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, anemia, hipovolemia, un incremento de la producción de CO, etc. (Ellenhorn *et al.*, 1997).

2.3. Gases irritantes y sustancias cancerígenas

Estas sustancias detienen el movimiento ciliar en las células de la mucosa bronquial, lo que impide que actúe el mecanismo de defensa del aparato respiratorio, por lo que junto a estos gases irritantes van a entrar todas las partículas extrañas que arrastren, depositándose en los alvéolos pulmonares (Zaragoza *et al.*, 1980). Los principales son: formaldehído, NO₂, acroleína, ácido cianhídrico y acetaldehído (Martín *et al.*, 2004).

Entre los carcinógenos más potentes aislados del humo, están los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y las nitrosaminas. Más del 90% de los HAP inhalados en el humo del tabaco son retenidos en el tracto respiratorio, actuando fundamentalmente como carcinógenos de contacto (Solano Reina *et al.*, 2002). Las N-nitrosaminas se forman durante la elaboración del tabaco, son también procarcinógenos y necesitan activación metabólica (Gallardo *et al.*, 2004).

El estudio de la toxicidad del tabaco es complejo, porque no sólo se estudian los carcinógenos presentes en este humo, sino que además en el organismo se forman metabolitos que también van a ejercer su toxicidad (Upadhyaya *et al.*, 2003).

2.4. Radicales libres y oxidantes

En el humo del tabaco hay presentes importantes cantidades de radicales libres que se generan en la combustión, como el NO (100 mg/L). Al entrar en contacto el humo del cigarro con los alvéolos pulmonares, se van a activar los macrófagos alveolares, lo que va a dar lugar a la formación de más radicales libres de oxígeno, que contribuyen a la inflamación. La presencia de radicales libres en las vías aéreas provoca broncoconstricción o hiperreactividad de estas vías. Los más tóxicos son el anión superóxido, el H₂O₂ y el radical hidroxilo (Martín *et al.*, 2004).

En los fumadores el equilibrio oxidante-antioxidante se rompe por las siguientes razones (Gallardo *et al.*, 2004):

- o Macrófagos alveolares producen mayor cantidad de superóxido y H_2O_2 .
- o Mayor grado de activación de los macrófagos productores de radicales libres.
- o Aumentos de algunas enzimas antioxidantes.
- o Aumento del contenido de ácido ascórbico en los macrófagos.
- o Disminución del sistema antioxidante extracelular.

2.5. Metales y elementos inorgánicos

Diversos autores sugieren que la toxicidad de los lixiviados del tabaco se debe en gran medida a los metales pesados y elementos traza (Micevka *et al.*, 2006). La aparición de estos metales en los cigarrillos se puede atribuir al cultivo y crecimiento de la planta del tabaco (*Nicotiana tabacum*), pues se sabe que estos metales se acumulan fácilmente en el suelo (Moerman *et al.*, 2011).

No obstante, los metales pesados en el tabaco no se introducen sólo en la fase de cultivo, sino también durante la fabricación de los cigarrillos mediante la adición de materiales a la carcasa de revestimiento (Baker *et al.*, 2004) y el uso de elementos brillantes en la envoltura (Owens, 1978).

De acuerdo con la bibliografía disponible al respecto, las concentraciones de los elementos objeto de nuestro estudio encontradas en el tabaco son las siguientes:

- El arsénico puede estar presente en tabaco, aunque la concentración es relativamente baja, siendo por lo general inferior a los límites detectables (Chiba *et al.*, 1992)
- Respecto al cadmio, cada cigarrillo contiene alrededor de 0,5 – 1,5 μg de cadmio (Halpin, 2004). Parte de éste se elimina con la combustión, pero se inhalan de 0,1 - 0,2 μg por cigarrillo, lo que puede causar la acumulación de 15 mg de cadmio en el organismo al cabo de 20 años de haber fumado 20 cigarrillos diarios (Galvão *et al.*, 1987).
- En referencia al cromo, los cigarrillos contienen en la corriente principal entre 0,0002 – 0,5 mg de cromo (Smith, *et al.*, 1997). Como consecuencia del hábito tabáquico, la concentración de cromo en ambientes cerrados puede ser de 10 a 400 veces más alta que al aire libre (ATSDR, 2008).
- La cantidad de níquel que presenta la planta del tabaco, oscila entre 0,64 y 1,15 mg/g; mientras que en los cigarrillos varía entre 0,078 y 5mg/g (Bernhard *et al.*, 2005).
- Respecto al plomo, encontramos que el contenido del mismo en un cigarrillo es de alrededor de 1,2 mg, pasando aproximadamente el 6 % a la corriente principal, el cual es inhalado por los fumadores (Bernhard *et al.*, 2005).

3. PULMÓN

El pulmón es un órgano par que constituye uno de los órganos más grandes del cuerpo humano. Localizado en el tórax (Latarjet *et al.*, 2008), su función esencial es la distribución de oxígeno y el intercambio gaseoso, que la comparte con el sistema circulatorio (Donato, 2007).

Una persona en reposo respira alrededor de 6 litros de aire por minuto (Guía de NIOSH, 2007). Habitualmente se cree que la piel, con su área de superficie de 1,9 m², representa la mayor exposición al aire que cualquier otra parte del cuerpo. Sin embargo, son en realidad los pulmones quienes tienen la máxima exposición, con un área de superficie expuesta al aire de 28 m² durante la fase de reposo, y de hasta 93 m² durante una respiración profunda. Los pulmones son de color rosa claro en personas no fumadoras que viven en ambientes no contaminados; y suelen ser oscuros y moteados en la mayoría de los adultos que fuman o incluso en las que viven en áreas urbanas, como consecuencia de la acumulación de carbón y partículas de polvo presentes en el aire e irritantes provenientes de fuentes como el tabaco que inhalan (Moore *et al.*, 2007).

La acción irritante del humo del tabaco y la reducción de la llegada de sangre a los pulmones para alimentar los tejidos en contacto con el humo, son los principales responsables de la bronquitis crónica del fumador con tos productiva y también de las frecuentes faringitis, laringitis, falta de aire y disminución de la elasticidad de los pulmones (enfisema), con la consecuente dificultad para oxigenar adecuadamente la sangre (González, 1995).

3.1. Lesiones microscópicas pulmonares

El tabaco puede contribuir a las enfermedades pulmonares de varias maneras: debido a la irritación que produce en las vías aéreas, se altera, en primer lugar, el mecanismo de defensa natural del pulmón y la actividad de los macrófagos y del escalador mucociliar (Guía de NIOSH, 2007). El hábito de fumar es, en sí mismo, la principal causa de enfermedades pulmonares y cardíacas graves y ciertos tipos de cáncer, pudiendo aumentar el riesgo de éste en un 15%.

Un estudio realizado por Dogan *et al.* (2011), en el que un grupo de ratas fueron expuestas a un humo similar a 5 cigarrillos una hora al día durante 6 meses, al transcurrir la mitad del tiempo total de estudio, comenzaron a aparecer lesiones pulmonares similares a enfisemas. Además, al comparar los resultados obtenidos con un grupo control, se observó que el expuesto al tabaco presentaba diferencias significativas en todos los parámetros histopatológicos estudiados, excepto en la trombosis vascular intraparenquimatosas. El espesor de la pared vascular, la inflamación perivascular rica en leucocitos y la inflamación intersticial era moderada en los sujetos expuestos. La inflamación peribronquial era prominente, especialmente en la presencia de agregados; además los sujetos de este grupo exhibieron al cabo de doce meses de la exposición, pérdidas funcionales, destrucción alveolar, cambios en enfisema, proliferación epitelial y aumento de macrófagos alveolares; al contrario que el grupo control.

Avti *et al.* (2006) evaluaron los efectos a largo plazo del uso de tabaco sin humo, debido al gran auge actual de este tipo de tabaco en Oriente, Europa y Estados Unidos, con el estado de defensa antioxidante y cambios histopatológicos en hígado pulmón y riñón en ratas. Se les administraba por vía oral un extracto acuoso de tabaco sin humo a baja dosis (96 mg/Kg de peso corporal por día) durante 2 y 32 semanas y a alta dosis (960 mg/Kg de peso corporal por día) durante 2 semanas. Bajo estas condiciones, al cabo de 2 semanas de exposición a bajas dosis se observó que los niveles de glutathion reducido (GSH) no se alteraron ni las actividades de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutathion peroxidasa (GPx) y peroxidación lipídica (LPx) en hígado, pulmones ni riñón. Sin embargo, la administración a bajas dosis durante 32 semanas redujo el GSH a nivel pulmonar, y la actividad de SOD, CAT, GPx en un 43%, 28,5%, 37% y 40%, respectivamente. Por otro lado la administración de altas dosis de AEST durante 2 semanas no causó ningún cambio en las actividades antioxidante las enzimas y

la peroxidación lipídica en el pulmón y el riñón, pero disminuyó significativamente el GSH hepático niveles y la actividad GPx, y aumentó la peroxidación lipídica en un 17%, 19%, y 20%, respectivamente.

Un estudio sobre el riesgo de cáncer de pulmón y la nicotina realizado por Muscat *et al.* (2011) concluye que la posibilidad de desarrollar cáncer de pulmón está afectada no sólo por el hábito tabáquico sino también por los agentes genéticos propios de cada persona, los factores ambientales e incluso por la dependencia psicológica; por lo que el riesgo de cáncer no está sujeto únicamente al consumo de tabaco.

4. RELACIÓN ENTRE METALES PESADOS Y HÁBITO TABÁQUICO

Se evidencia una escasez de estudios previos realizados sobre la relación entre la presencia de metales pesados y otros elementos inorgánicos tóxicos presentes en pulmón y su relación con el hábito tabáquico del individuo; sin embargo, existen multitud de trabajos que relacionan el cáncer de pulmón y el tabaco, los cuales están ampliamente relacionados con determinados objetivos del presente trabajo.

Sí se ha estudiado, sin embargo, la posible relación entre el cáncer de cabeza y cuello como consecuencia de la exposición a metales pesados a través del consumo de tabaco (Khlifi *et al.*, 2010). Este estudio concluye que es inequívoco que ciertos metales pesados, como níquel, cromo y cadmio, son cancerígenos, y por tanto su exposición en humanos induce a la transformación de las células, pudiendo originar diversos cánceres.

Gul Kazi *et al.* (2010) observaron que la ingesta de elementos esenciales como zinc y la inhalación de cadmio, a través del consumo de alcohol, fumar o masticar tabaco, puede incrementar el riesgo de padecer cáncer de boca y otros desórdenes relacionados.

En un estudio realizado por Olsson *et al.* (2002), comparando niveles de Cd en sangre y orina en un grupo de población, se observó que los ex fumadores que habían dejado de fumar desde hacía más de 5 años, presentaban niveles más altos de cadmio que los que nunca habían fumado.

Ueno *et al.* (2011) realizaron un estudio en el que expusieron a ratones, de 12 - 13 semanas de vida, al humo directo de cigarrillos y a la fase gaseosa de éste. Analizaron el daño que sufría el ADN y la concentración de metales en pulmón mediante análisis en ICP-MS. Se observó que se producía daño en el ADN del pulmón en los primeros 15 minutos tras la exposición al humo directo del cigarrillo; mientras que la exposición a la fase gaseosa de dicho humo no inducía lesiones en el mismo, al menos durante esos primeros 15 minutos. Estos resultados indican que el hábito tabáquico genera una gran cantidad de fragmentos finos de ADN en el pulmón inmediatamente después de la inhalación; sin embargo, algunos de estos fragmentos pueden ser reparados rápidamente.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. CASOS FORENSES

Se estudiaron muestras de 62 cadáveres (45 hombres y 17 mujeres) procedentes de las autopsias médico-legales realizadas en el Instituto de Ciencias Forenses de Medicina, situado en Cádiz. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Medicina Forense. Se comprobó a través de la consulta de la historia clínica si los sujetos habían sido fumadores o no, coincidiendo en el 100% de los casos el hábito de consumo de tabaco con la presencia de lesiones macroscópicas pulmonares descritas en la autopsia. Se realizó un estudio a doble ciego, en el cual se desconocía la presencia de lesiones macroscópicas en el pulmón.

La edad media de los sujetos es de 56,25 años (SD: 16,52; rango 24 - 83 años). Los cuerpos fueron congelados para su correcta conservación a una temperatura de -70 °C. Los casos se clasificaron en diferentes grupos de acuerdo a las lesiones macroscópicas de cada individuo, de la siguiente forma: (a) Sin lesiones (n=20), (b) Con pocas lesiones (n=26), (c) Lesiones moderadas (n=10), (d) Numerosas lesiones (n=6).

2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS

Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente en el laboratorio del Área de Toxicología de la Universidad de Murcia, para posteriormente proceder a su análisis.

2.1. Digestión

Las muestras se digirieron para la extracción de los metales contenidos en las mismas, mediante el método de la digestión húmeda ácida bajo presión asistida por microondas. Al tratarse de tejidos blandos, se cogía una cantidad suficiente de muestra, alrededor de 0,5 g, que se cortaba en pequeños trozos con la ayuda de pinzas y tijeras para facilitar la digestión.

Las digestiones se realizaron en el interior de vasos de teflón, cerrados de manera hermética mediante un sistema de rosca, impidiendo así posibles pérdidas. Las muestras fueron pesadas en una balanza de precisión SARTORIUS. En cada vaso de teflón se colocaba una muestra y a continuación se le añadían los reactivos siguientes: 3 ml de ácido nítrico + 2 ml de peróxido de hidrógeno + 5 ml de agua Milli-Q.

Después, se realizaba la digestión en el microondas, llegando a alcanzar temperaturas de hasta 210 °C. El programa de digestión empleado fue el "*Organic up to 0,4*" para muestras biológicas, bajo condiciones de presión controladas por una sonda.

Una vez finalizado el programa de digestión, se recogía el material digerido en matraces aforados, enrasando con agua Milli-Q hasta 25 ml y transvasándolos a un frasco estéril que se mantendría en refrigeración hasta su análisis.

3. ANÁLISIS DE ELEMENTOS INORGÁNICOS

El análisis de elementos inorgánicos se llevó a cabo mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).

3.1. Elementos seleccionados

Se analizaron 5 elementos inorgánicos en las muestras estudiadas, seleccionados tras realizar la revisión bibliográfica por tratarse de los elementos más relevantes en el humo del tabaco: arsénico, cadmio, cromo, níquel y plomo.

3.2. Límites de detección

Los límites de detección de los metales a analizar, se calcularon para el equipo durante el periodo de realización de los análisis, siendo los siguientes, Ay y Cr: 0,0002 ppb, Cd: 0,0001 ppb, Ni: 0,0004 ppb, y Pb: 0,0008 ppb.

4. CONTROL DE CALIDAD

En cada proceso de digestión se introducía un blanco con el objetivo de controlar posibles contaminaciones en el proceso.

4.1. Uso de material de referencia certificado

Se prepararon muestras con el material de referencia certificado SRM 1577b, DORM-2, DOLT-2, siguiendo los mismos procedimientos de digestión y análisis que para el resto de muestras.

4.2. Empleo de estándar interno

El estándar interno es un elemento que se añade a cada muestra al introducirla al ICP-MS y que no interfiere con la muestra. En este caso, los estándares internos usados fueron que son Galio y Rhodio.

5. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Para el estudio histopatológico se tomaron muestras de pulmón que fueron fijadas en formol al 10%, incluidas en parafina y cortadas en secciones de 4 μ m de grosor mediante un micrótopo Leica 2155 (Leica Microsystems GmbH, Alemania). Cortes adyacentes se tiñeron con hematoxilina-eosina para el estudio de las lesiones y con tricrómico de Masson para la diferenciación de fibras de colágeno.

6. LESIÓN MACROSCÓPICA

La lesión macroscópica se clasificó gradualmente en función de la superficie pulmonar afectada, observando principalmente acúmulos negruzcos de alquitrán.

Clasificación del grado de lesión macroscópica	
Grado de lesión	Clasificación
0	Sin lesión
1	Lesión levemente extensa
2	Lesión moderadamente extensa
3	Lesión severamente extensa

7. REACTIVOS EMPLEADOS

- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) suprapur (Merck).
- Ácido nítrico (HNO₃) suprapur (Merck).
- Agua bidestilada y desionizada (Milli-Q System).
- Formol al 10 % de pureza.
- Parafina.
- Hematoxilina-eosina.
- Tricrómico de Masson.
- Alcoholes
- Xilol

8. APARATOS Y MATERIAL DE LABORATORIO UTILIZADOS

Aparatos

- Balanza de precisión SARTORIUS
- Equipo de ultrasonidos BRANSON modelo 5510
- Purificador de agua MILLIPORE modelo Milli-Q Plus
- Microondas Milestone modelo ETHOS SEL
- Equipo ICP-MS Agilent modelo 7500ce.
- Micrótopo Leica 2155 (Leica Microsystems GMBH, Alemania)
- Microscopio óptico Zeiss Axioskop 40

Material

- Material empleado para el manejo de las muestras: pinzas, tijeras, matraces aforados (25 ml), micropipetas, papel absorbente, pipetas Pasteur y vasos de precipitado.
- Material empleado en la tinción de las muestras: porta, cubre, batería de tinciones.
- Material empleado en la conservación de las muestras: recipientes herméticos de plástico (duquesas).
- Material empleado para la limpieza del material: agua bidestilada desionizada (Milli-Q), ácido nítrico diluido, estropajo, jabón, frascos lavadores, papel de secado de doble capa.
- Material para la protección del usuario: campana extractora de gases, guantes desechables y batas.

9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa informático SPSS 15.0. Se llevó a cabo un análisis descriptivo de los datos, en el que se incluye la media, desviación estándar y rango; y se realizó la correlación (Correlación de Spearman) entre las diferentes variables calculadas, realizándose un análisis discriminario. Además se emplearon diversos test como el test de Kruskal-Wallis, el test de Wilcoxon y la prueba T de Student.

Un nivel de probabilidad de $P \leq 0.05$ fue considerado significativo. Los valores de las concentraciones de los elementos inorgánicos se expresan en $\mu\text{g/g}$ de peso húmedo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla siguiente recogemos las características de los sujetos objeto de estudio que nos permitirán realizar una comparación con la concentración de metales.

Información sobre las muestras

Nº muestra	Fecha de muerte	Causa de muerte	Edad	Sexo	Lesión tabáquica
1	30/08/2011	3	57	1	3
2	01/10/2011	3	48	1	2
3	04/07/2011	3	30	1	0
4	30/08/2011	3	57	1	3
5	07/07/2011	3	54	1	1
6	04/08/2011	3	24	1	1
7	09/08/2011	3	80	1	1
8	09/08/2011	3	80	1	1
9	01/10/2011	1	77	1	1
10	09/08/2011	3	46	1	3
11	01/10/2011	1	77	1	1
12	04/07/2011	3	30	1	0
13	03/08/2011	1	24	1	1
14	07/07/2011	3	54	1	1
15	23/08/2011	1	39	1	0
16	05/08/2011	2	71	1	1
17	28/08/2011	2	66	1	1

18	28/08/2011	2	66	1	1
19	24/08/2011	2	60	1	3
20	22/07/2011	3	83	1	0
21	26/07/2011	3	66	2	0
22	25/07/2011	3	66	2	0
23	25/07/2011	3	66	1	1
24	26/07/2011	3	78	2	0
25	25/07/2011	3	66	1	1
26	25/07/2011	3	66	2	0
27	25/07/2011	3	66	2	0
28	22/07/2011	3	83	1	0
29	25/07/2011	3	66	2	0
30	01/08/2011	3	49	1	1
31	21/08/2011	1	72	2	1
32	29/04/2011	1	52	2	0
33	24/08/2011	2	60	1	3
34	07/07/2011	2	56	1	1
35	05/08/2011	2	71	1	1
36	29/07/2011	1	37	1	0
37	29/06/2011	3	48	1	2
38	12/08/2011	1	75	2	1
39	29/06/2011	2	54	1	2
40	01/08/2011	3	49	1	1
41	04/07/2011	3	30	1	0
42	01/10/2011	3	48	1	2
43	09/08/2011	3	46	1	3
44	20/07/2011	3	71	1	1
45	12/08/2011	1	75	2	1
46	29/06/2011	3	54	1	2

47	04/08/2011	3	24	1	1
48	03/08/2011	1	48	2	1
49	29/06/2011	2	54	1	2
50	23/08/2011	1	39	1	0
51	29/07/2011	1	37	1	0
52	29/04/2011	1	52	2	0
53	04/07/2011	3	30	1	0
54	21/08/2011	1	72	2	1
55	07/07/2011	2	56	1	1
56	20/07/2011	3	71	1	1
57	16/05/2011	3	54	1	1
58	18/05/2011	1	38	1	1
59	18/05/2011	2	64	1	1
60	16/05/2011	3	54	1	1
61	18/05/2011	1	38	1	1
62	18/05/2011	2	64	1	1

Causa de muerte: 1 Sumersión, 2 Asfixia, 3 Otra causa. / Sexo: Hombre 1, Mujer 2. / Lesión tabáquica: 0 Sin lesión, 1, 2, 3 Lesión en grado ascendente

Se realizaron determinaciones de los distintos elementos traza en el lóbulo superior y medio del pulmón derecho para ver si existían diferencias estadísticamente significativas en 20 casos, y al no encontrar dichas diferencias decidimos utilizar sólo el lóbulo medio del pulmón derecho.

En la tabla se recoge la concentración de elementos inorgánicos en µg/g sobre peso húmedo encontrada en cada una de las muestras.

Concentración de los diferentes elementos traza en cada muestra

	As	Cd	Cr	Ni	Pb
Nº muestra	Conc. [µg/g]	Conc. [µg/g]	Conc. [µg/g]	Conc. [µg/g]	Conc. [µg/g]
1	0,0145	0,3346	0,6349	0,1945	0,1023
2	0,0154	0,1419	1,2528	0,0598	0,2478
3	0,0123	0,0557	0,1727	0,0000	0,1078
4	0,0130	0,3582	0,2211	0,1461	0,1592
5	0,0125	0,1530	0,1662	0,0000	0,0940
6	0,0148	0,2353	0,2263	0,0102	0,4953
7	0,0203	0,0156	0,0778	0,0054	0,1009
8	0,0278	0,0167	0,0402	0,0057	0,1767
9	0,0186	0,0398	0,0772	0,0097	0,0522
10	0,0084	0,1354	0,0837	0,0300	0,1667
11	0,0083	0,0595	0,0459	0,0176	0,1769
12	0,0069	0,0453	0,0330	0,0054	0,4418
13	0,0070	0,0720	0,0525	0,0000	0,0503
14	0,0051	0,4130	0,0227	0,0069	0,0488
15	0,0000	0,0430	0,0167	0,0000	0,0543
16	0,0069	0,0875	0,0278	0,0321	0,1237
17	0,0219	0,0308	0,0183	0,0000	0,0522
18	0,0247	0,0747	0,1407	0,0186	0,0817
19	0,0078	0,8489	0,0099	0,0064	0,0512
20	0,0106	0,0835	0,0565	0,0000	0,1432
21	0,0328	0,0184	0,0481	0,0000	0,0478
22	0,0000	0,0055	0,0326	0,0064	0,0119
23	0,0056	0,2150	0,0289	0,0224	0,1328
24	0,0187	0,0043	0,1274	0,0000	0,0445
25	0,0058	0,1567	0,0371	0,0224	0,0666
26	0,0174	0,0284	0,1870	0,0103	0,1019

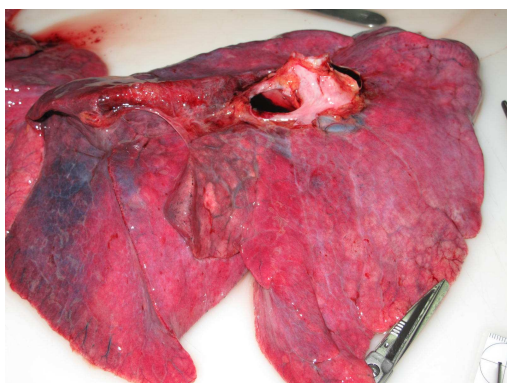
27	0,0096	0,0120	0,0399	0,0152	3,3110
28	0,0147	0,0312	0,0407	0,0138	0,1365
29	0,0158	0,0134	0,0068	0,0000	0,0087
30	0,0275	0,0724	0,1485	0,0196	0,0815
31	0,0066	0,0223	0,0799	0,0000	0,0048
32	0,0296	< LD	0,0307	0,0000	< LD
33	0,0000	0,6458	0,0224	0,0082	0,0103
34	0,0055	0,0887	0,0255	0,0087	0,0352
35	0,0095	0,0772	0,0417	0,0393	0,1188
36	0,0057	0,0127	0,0660	0,0139	< LD
37	0,0203	0,0922	0,0321	0,0239	0,0479
38	0,0000	< LD	0,0041	0,0205	0,0079
39	0,0080	0,0114	0,0469	0,0167	3,2463
40	0,0144	0,2492	0,0626	0,0403	0,0810
41	0,0122	0,0116	0,0057	0,0000	0,0071
42	0,0082	0,4643	0,0717	0,1159	0,0796
43	0,0116	0,2603	0,0698	0,0878	0,0572
44	0,0000	0,0534	0,0171	0,0068	0,0490
45	0,0059	< LD	0,0077	0,0000	0,0005
46	0,0212	0,1079	0,0479	0,0178	0,1373
47	0,0077	0,2391	0,0288	0,0155	0,0644
48	0,0092	0,1427	0,0128	0,0125	< LD
49	0,0000	0,3468	0,0926	0,0118	0,0378
50	0,0000	0,0525	0,0365	0,0176	0,0032
51	0,0000	0,0145	0,0215	0,0073	< LD
52	1,2931	< LD	0,0039	0,0167	< LD
53	0,0165	0,0056	0,0181	0,0177	0,0063
54	0,0113	0,0284	0,0098	0,0054	< LD
55	0,0098	0,0927	0,0219	0,0111	0,0222

56	0,0059	0,0525	0,0228	0,0058	0,0135
57	0,0265	0,2012	0,0450	0,0165	0,0985
58	0,1027	0,1182	0,0689	0,0035	0,2654
59	0,0336	0,0256	0,2259	0,0325	0,0332
60	0,0695	0,4121	0,5866	0,0633	0,0624
61	0,2001	0,0984	0,8554	0,0148	0,1257
62	0,0523	0,0224	0,0280	0,0051	0,0768

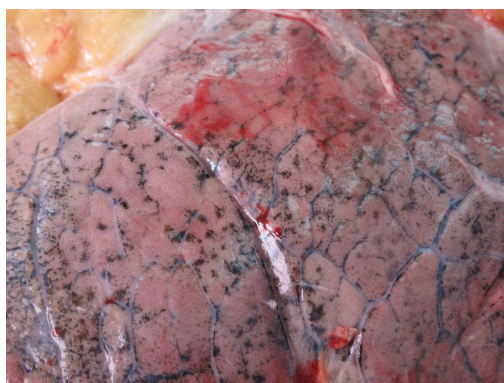
< LD: Bajo límite de detección

1. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO

La ausencia de lesión macroscópica coincide en el 100 % de los casos estudiados con sujetos no fumadores, mientras que la presencia de dicha lesión coincide con muestras procedentes de sujetos fumadores. Por ello, al realizar el análisis de los resultados los grupos de individuos fumadores/no fumadores coinciden con los grupos presencia/ausencia de lesión, respectivamente.



Pulmón sin lesión macroscópica



Pulmón con lesión macroscópica

Las lesiones pulmonares macroscópicas se clasificaron gradualmente en función de la superficie pulmonar afectada:

Clasificación del grado de lesión macroscópica

Grado de lesión	Clasificación	Superficie pulmonar afectada (Hannah, 1982)
1 (+)	Lesión levemente extendida	1 – 5 %
2 (++)	Lesión moderadamente extendida	6 – 10 %
3 (+++)	Lesión severamente extendida	> 11 %

Estas lesiones corresponden principalmente a acúmulos negruzcos de alquitrán, como se observa en la imagen de pulmón con lesión macroscópica. Coincidiendo con lo afirmado por Moore *et al.* (2007) sobre la coloración de los pulmones, ya que éstos son de color rosa claro en personas no fumadoras que viven en ambientes no contaminados; y suelen ser oscuros y moteados en la mayoría de los adultos que fuman o incluso en los que viven en áreas urbanas, como consecuencia de la acumulación de carbón y partículas de polvo presentes en el aire.

A continuación se muestra la frecuencia de ausencia/presencia de lesión macroscópica en el total de los sujetos estudiados.

Ausencia/presencia de lesión macroscópica tabáquica.

	Frecuencia	Porcentaje
Ausencia de lesión	18	32,3
Presencia de lesión	38	67,7

Observamos que la frecuencia de sujetos fumadores duplica a la frecuencia de no fumadores.

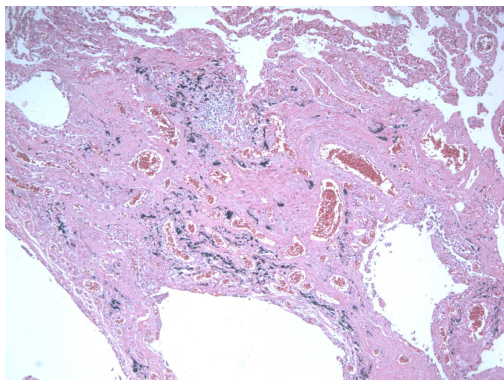
Se recoge en la siguiente tabla, la frecuencia de lesiones macroscópicas en sus distintos grados encontrada en las muestras de estudio.

Frecuencia de los distintos grados de lesión macroscópica

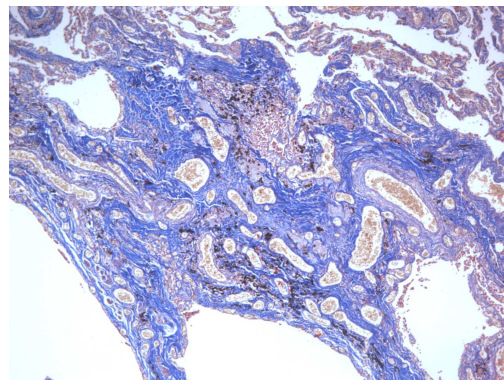
	Frecuencia	Porcentaje
1 (+)	26	41,9
2 (++)	6	16,1
3 (+++)	6	9,7

Podemos observar como son más frecuentes las lesiones leves que cualquier otro tipo de lesión, incluso más que la ausencia de lesión (frecuencia = 18).

La lesión tabáquica encontrada en los sujetos fumadores se examinó también mediante microscopía óptica. Estas lesiones se caracterizaron por engrosamiento de paredes alveolares con fibrosis, infiltrados inflamatorios de células mononucleares (formando a veces agregados nodulares) y depósitos de alquitrán de color negro, infiltrados inflamatorios de células mononucleares perivasculares y peribronquiolares, engrosamiento de las paredes vasculares, enfisema y congestión (Figuras a continuación).



Engrosamiento de paredes alveolares con fibrosis, infiltrado inflamatorio nodular de células mononucleares, depósitos de alquitrán de color negro y congestión (H-E, 5x).



Corte adyacente donde se pone de manifiesto la proliferación de fibras de colágeno en los tabiques alveolares (Tricrómico de Masson, 5x).

Estos resultados coinciden con lo encontrado por otros investigadores como Dogan *et al.* (2011) en su estudio sobre la toxicidad pulmonar de la exposición crónica al tabaco y al humo de biomasa en ratas, en el que observaron un aumento del espesor de la pared vascular, inflamación perivascular rica en leucocitos e inflamación peribronquial, especialmente en la presencia de agregados.

2. RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS INORGÁNICOS Y PRESENCIA DE LESIONES MACROSCÓPICAS CON RESPECTO AL GÉNERO

El género de las víctimas y la lesión tabáquica asociada se muestran en la tabla siguiente.

Relación entre frecuencia del género de sujetos con presencia de lesiones macroscópicas

	Frecuencia	Presencia de lesión tabáquica (%)
Hombre	45	72,6
Mujer	17	27,4

El porcentaje total de lesiones macroscópicas es mayor en hombres; sin embargo esto puede estar influido por el hecho de que la frecuencia de hombres sea mayor que la de mujeres. Según un estudio de Prescott *et al.* (1997), se podría afirmar que los hombres a pesar de fumar más de manera global que las mujeres, también inhalan con más frecuencia. Este hecho podría explicar, al menos en parte, los resultados observados. Por otra parte en las mujeres el humo se distribuye en vías respiratorias generalmente de menor tamaño que las de los hombres, por lo que la dosis efectiva es más grande por cm² de tejido pulmonar.

En la siguiente tabla aparecen representadas las diferencias en la concentración de cada metal según el género del sujeto.

Valores medios (µg/g peso húmedo) obtenidos para cada metal según el género del sujeto.

Género	Arsénico		Cadmio		Cromo		Níquel		Plomo	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
Media	0,0159	0,3461	0,1466	0,0351	0,4067	0,5132	0,0335	0,1560	0,1934	0,2985

Los valores medios obtenidos en la concentración de metales en función del género, nos permite observar que la concentración de todos los metales, excepto el cadmio, es mayor en la mujer que en el hombre. Esto coincide con un estudio realizado en Japón por Sumino *et al.* (1975), en el que se ha comprobado que en pulmón y en otros órganos, la mujer presenta mayores concentraciones de metales que el hombre, como consecuencia de diferencias hormonales.

Nivel de significación

	Arsénico (µg/g peso húmedo)	Cadmio (µg/g peso húmedo)	Cromo (µg/g peso húmedo)	Plomo (µg/g peso húmedo)	Níquel (µg/g peso húmedo)
Sig. Asintót. (bilateral)	0,045	0,000	0,005	0,032	0,102

No se han encontrado estudios que relacionen el sexo directamente con la presencia de metales en pulmón.

En orina se ha estudiado que el consumo de tabaco aumenta los niveles de cadmio tanto en hombres como en mujeres; sin embargo éstas suelen presentar mayor concentración de cadmio que los hombres debido a una disminución en los valores de hierro (Zubero *et al.*, 2008). Este resultado no coincide con lo encontrado en nuestro estudio, pues obtenemos mayores valores de cadmio para hombre que para mujer.

3. RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIONES DE ELEMENTOS INORGÁNICOS Y PRESENCIA DE LESIONES MACROSCÓPICAS CON RESPECTO A LA EDAD

En este apartado se analiza en primer lugar si la edad condiciona o favorece la concentración de metales en el pulmón, independientemente del hábito tabáquico. En la Tabla se muestran las correlaciones de los distintos metales con la edad.

Correlaciones entre la edad y los elementos

Rho de Spearman		Edad
Arsénico	Coeficiente de correlación	0,006
	Sig. (Bilateral)	0,964
Cadmio	Coeficiente de correlación	0,113
	Sig. (Bilateral)	0,382
Cromo	Coeficiente de correlación	0,164
	Sig. (Bilateral)	0,207
Níquel	Coeficiente de correlación	0,202
	Sig. (Bilateral)	0,115
Plomo	Coeficiente de correlación	0,000
	Sig. (Bilateral)	0,998

Podemos observar en la tabla anterior que no encontramos ninguna relación significativa entre la edad de los sujetos y la concentración de metales que se encuentran en el pulmón.

Un estudio similar realizado en México sobre metales en tejido pulmonar (Imelda *et al.*, 1996) corrobora la ausencia de asociación entre la edad y la presencia de metales en el pulmón. Tan sólo el plomo, según afirman en el estudio, parece estar asociado con la edad, aunque nosotros no obtenemos este resultado, probablemente debido al menor tamaño muestral.

A continuación se estudia la posible relación entre la edad de los sujetos y la presencia de lesiones macroscópicas encontradas en pulmón, para lo cual se realiza un estudio de las medias de edad de los sujetos con presencia de lesión y con ausencia de la misma, quedando recogida en la tabla siguiente.

Estadísticos de grupos (media y desviación típica) de la edad en función de la presencia de lesión macroscópica

		N	Media	Desviación típica
Edad	No lesión	20	52,70	18,198
	Presencia lesión	42	57,67	15,209

Los valores de las medias son analizados mediante la Prueba T de Student, que permite comparar los valores de medias, obteniendo que no existen diferencias estadísticamente significativa en función de la edad ($p > 0,05$), lo que implica que la media de la edad de las personas con lesión no difiere significativamente de la media de la edad de las personas sin lesión.

4. RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS INORGÁNICOS Y CAUSA DE MUERTE

Analizamos la relación entre la concentración de los diferentes metales y la causa de muerte.

Relación entre la concentración de metales y la causa de muerte

		Arsénico ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Cadmio ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Cromo ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Plomo ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Níquel ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)
Sumersión	Media	0,1155	0,0267	0,5405	0,1486	0,0385
	Desv. típ.	0,3059	0,0376	1,2482	0,2575	0,0699
Otra asfixia	Media	0,0094	0,2219	0,2485	0,3587	0,0166
	Desv. típ.	0,0078	0,2778	0,1566	0,9588	0,0122
Otra causa	Media	0,1338	0,1295	0,4421	0,2168	0,0271
	Desv. típ.	0,4871	0,1287	0,7740	0,5671	0,0451

A la vista de los resultados anteriores y de la aplicación del test de Mann-Whitney, no hallamos diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de los elementos traza y la causa de muerte ($p > 0,05$).

Algunos elementos traza sí han mostrado utilidad como marcadores diagnósticos para la identificación de algunas causas de muerte, como es el caso del estroncio descrito como marcador fiable de diagnóstico de sumersión (Pérez-Cárceles *et al.*, 2008; 2012), si bien este metal no ha sido objeto de estudio en el presente trabajo.

5. RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIONES DE ELEMENTOS INORGÁNICOS EN PULMÓN EN FUMADORES Y NO FUMADORES

Procedemos a establecer la relación entre la presencia/ausencia de lesión tabáquica macroscópica para cada uno de los metales. En la Tabla siguiente se muestran los resultados en relación a su concentración.

Relación entre presencia o ausencia de lesión tabáquica macroscópica con la concentración de cada elemento

		Arsénico (µg/g peso húmedo)	Cadmio (µg/g peso húmedo)	Cromo (µg/g peso húmedo)	Níquel (µg/g peso húmedo)	Plomo (µg/g peso húmedo)
Ausencia de lesión	Media	0,0966	0,0216	0,4446	0,0141	0,2706
	SD	0,2914	0,0232	1,1679	0,0327	0,7373
Presencia de lesión	Media	0,1111	0,1610	0,4301	0,0355	0,1991
	SD	0,4333	0,1798	0,7047	0,0555	0,5065

Se realiza el Test de Mann-Whitney para comprobar la influencia de la concentración de los metales en la presencia o ausencia de lesión macroscópica, cuyos resultados se muestran a continuación.

Rangos de los metales en función de la presencia/ausencia de lesión

	Presencia de lesión macroscópica	Rango promedio
Arsénico	Ausencia de lesión	33,63
	Presencia de lesión	30,49
Cadmio	Ausencia de lesión	17,23
	Presencia de lesión	38,30
Cromo	Ausencia de lesión	26,34
	Presencia de lesión	33,11
Níquel	Ausencia de lesión	22,88
	Presencia de lesión	35,61
Plomo	Ausencia de lesión	27,33
	Presencia de lesión	33,49

Nivel de significación

	Arsénico (µg/g peso húmedo)	Cadmio (µg/g peso húmedo)	Cromo (µg/g peso húmedo)	Plomo (µg/g peso húmedo)	Níquel (µg/g peso húmedo)
Sig. asintót. (bilateral)	0,521	0,000	0,168	0,009	0,209

Los valores medios de arsénico y cromo son muy similares al estudiar casos con presencia y ausencia de lesión, por lo que no parecen estar relacionados con la lesión macroscópica tabáquica. Cadmio y níquel sí presentan valores relativamente superiores en los casos en los que aparece lesión macroscópica frente a la ausencia de la misma, por lo que podrían estar implicados en su aparición. Por el contrario, los valores de plomo obtenidos en muestras con ausencia de lesión son mayores que en muestras con presencia de lesión, del orden de 0,1 µg/g. Estos resultados contrarios a los que cabría esperar, pueden deberse al carácter multifactorial de la exposición a plomo pues lo encontramos en todas las fases del ambiente proviniendo de gran cantidad de fuentes a los que nos exponemos diariamente, como combustibles, plásticos, etc.

Wolfspurger *et al.* (1994) estudiaron la concentración de diferentes metales pesados en muestras de pelo de sujetos fumadores y no fumadores de Austria e Italia. De este estudio se desprende que la concentración de todos los metales determinados en pelo es mayor en el caso de fumadores que en no fumadores. En nuestro estudio, sólo cadmio y plomo presentan valores estadísticamente significativos, relacionándose la presencia de lesión macroscópica tabáquica con los individuos que presentaron los mayores niveles de dichos metales.

En el caso del cadmio, además del estudio anterior, otro estudio realizado por Pääkkö *et al.* (1989), afirma que la concentración de cadmio en pelo de personas que no fuman es de 0,4 µg/g, en ex-fumadores es de 1,1 µg/g, mientras que en fumadores la concentración es de 3,0 µg/g. En nuestro estudio obtenemos para no fumadores una concentración menor (0,0216 µg/g) en pulmón que la encontrada en el estudio anterior en pelo, debido probablemente a la importancia ambiental de este metal en las actividades industriales; mientras que en fumadores la concentración que hallamos en pulmón sí que es mayor (0,1610 µg/g) a la encontrada en pelo, lo que apoya la idea de que una de las principales fuentes de cadmio en el organismo se debe al consumo de tabaco.

En cuanto al níquel, tanto la concentración obtenida para fumadores (0,0355 µg/g) como para no fumadores (0,0141 µg/g) en pulmón, es inferior a la concentración obtenida en pelo en el estudio de Wolfspurger *et al.*, por lo que fuentes de exposición diferentes al tabaco, como son las refinerías y las industrias de aleaciones y compuestos de metal, pueden tener también una influencia relevante en la presencia de este metal en el organismo.

6. RELACIÓN ENTRE EL GRADO DE LESIÓN TABÁQUICA PRESENTE EN FUMADORES Y LA CONCENTRACIÓN DE LOS ELEMENTOS DETERMINADOS

Siguiendo la clasificación gradual de las lesiones macroscópicas, estudiaremos si ésta se relaciona de alguna manera con la mayor o menor concentración de metales.

Relación entre el grado de lesión y la concentración de metales ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)

Grado de lesión		Arsénico	Cadmio	Cromo	Níquel	Plomo
+	Media	0,0966	0,1033	0,2088	0,0130	0,0813
	SD	0,0077	0,0983	0,1299	0,0114	0,0990
++	Media	0,0113	0,1493	0,9363	0,6814	0,5703
	SD	0,8397	0,1520	1,2886	0,0801	0,9687
+++	Media	0,0092	0,4305	0,5455	0,0787	0,0910
	SD	0,0051	0,2654	0,4650	0,0781	0,0629

Nivel de significación

	Arsénico ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Cadmio ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Cromo ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Plomo ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)	Níquel ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)
Sig. Asintót.	0,067	0,006	0,021	0,015	0,019

Observamos que para cromo, níquel y plomo sí existen diferencias significativas en la concentración de estos metales en función del grado de lesión observada. Estos resultados indican por tanto que, en individuos fumadores, existe una relación entre la mayor concentración de estos metales y su afección en el tejido pulmonar humano; sin embargo no siempre se observan diferencias en las concentraciones con respecto a todos los grados de lesión.

Las concentraciones analizadas de todos elementos no siempre mantienen una relación lineal con el mayor grado de lesión como cabría esperar; esto puede ser debido al reducido tamaño muestral y la importancia de fuentes de exposición distintas al tabaco para estos elementos.

7. CORRELACIONES ENTRE LOS DISTINTOS ELEMENTOS

En este apartado se analiza si la presencia de un determinado metal condiciona la presencia de otro y viceversa.

Correlación de los distintos metales entre sí (µg/g).

		Arsénico	Cadmio	Cromo	Níquel	Plomo
Arsénico	Coeficiente de correlación	1,000				
Cadmio	Coeficiente de correlación	-0,228	1,000			
Cromo	Coeficiente de correlación	0,317(*)	0,225	1,000		
Níquel	Coeficiente de correlación	0,103	0,249	0,472(**)	1,000	
Plomo	Coeficiente de correlación	0,376(**)	0,155	0,528(**)	0,369(**)	1,000

(**) La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

(*) La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Las correlaciones positivas estadísticamente significativas entre arsénico y cromo, arsénico y plomo, cromo y níquel, cromo y plomo, níquel y plomo, pueden sugerir una captación común, vías de almacenamiento o regulación similar y procesos de desintoxicación. En nuestro estudio implica que pueden estar relacionadas con la presencia en el humo de tabaco, por lo que dichos elementos se transportan hasta los pulmones de manera conjunta en individuos fumadores sin presentar una relación antagonista.

BIBLIOGRAFÍA

- Abrous, D. J., Adriani, W., Montaron, M. F., Aurousseau, C., Rougon, G., Le Moal, M., Piazza, P.V. Nicotine self-administration impairs hippocampal plasticity. *The Journal of Neuroscience*. 2002. 22: 3656–3662.
- Avti, P. K., Kumar, S., Pathak, C. M., Vaiphei, K., Khandujal, K. L. Smokeless tobacco impairs the antioxidant defense in liver, lung and kidney of rats. *Toxicological Sciences*. 2006. 89: 547-553.
- Baker, R. R., Pereira da Silva, J. R., Smith, G. The effect of tobacco ingredients on smoke chemistry. Part I: Flavourings and additives. *Food and Chemical Toxicology*. 2004. 42: 3-37.
- Ballatori, N. Transport of toxic metals by molecular mimicry. *Environmental Health Perspectives*. 2002. 110: 689-694.
- Barba, C. Estudio de la paloma común como bioindicador de la contaminación por metales pesados en el municipio de Murcia. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. 2007.
- Bello, S., Michalland, S., Soto, M., Contreras, C., Salinas, J. Efectos de la exposición al humo de tabaco ambiental en no fumadores. *Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias*. 2005. 21: 179-192.
- Bernhard, D., Rossmann, A., Wick, G. Metals in cigarette smoke. *Life*. 2005. 57: 805-809.
- Bianco, E. La adicción al consumo del tabaco. [Internet] 2003 [Consultado el 25 de marzo de 2012] Disponible en <http://www.fac.org.ar/fic/simp03/llave/c03/bianco.htm>
- Biblioteca de investigaciones [Internet] [Consultado el 10 de Mayo de 2012] Disponible en <http://bibliotecadeinvestigaciones.wordpress.com/biologia/sistemas-y-aparatos-del-cuerpo-humano/sistema-respiratorio/>
- Caicoya, M., Mirón, J. A., Cáncer de pulmón y tabaco en Asturias. Un estudio de casos y controles. *Gaceta Sanitaria*. 2003. 17: 226-230.
- Castella, A. Bronquios y segmentos pulmonares. *Anales de Medicina y Cirugía*. 1954. 34: 297-315.
- Cetarsa. Reducción de metales pesados en el consumo de tabaco. *Agricultura Revista Agropecuaria*. 2004. 858: 34-36.
- Chiba, M., Marisoni, R. Toxic and trace elements in tobacco and tobacco smoke. *Bulletin of the World Health Organization*. 1992. 70: 269-275.
- Ciencias biológicas y educación para la salud [Internet] [Consultado el 10 de Mayo de 2012] Disponible en <http://hnnbiol.blogspot.com.es/2008/12/sistema-respiratorio.html>

- Counts, M. E., Hsu, F. S., Laffoon, S. W., Dwyer, R. W., Cox, R. H. Mainstream smoke constituent yields and predicting relationship from a worldwide market sample of cigarette brands: ISO smoking conditions. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2004. 39: 111-134.
- Dogan, O. T., Elagoz, S., Ozsahin, S. F., Epozturk, K., Tuncer, E., Akkurt, I. Pulmonary toxicity of chronic exposure to tobacco and biomass smoke in rats. *Clinics*. 2011. 66: 1081-1087.
- Donato, A. [Internet] Los pulmones. 2005. [Consultado el 15 de mayo de 2012] Disponible en <http://www.salud.bioetica.org/pulmones.htm>
- Eisler, R. Lead hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service. Biological Report 85 (1.14).
- El asombroso sistema armonizado [Internet] 2009 [Consultado el 10 de Mayo de 2012] Disponible en http://elasombrososistemaarmonizado.blogspot.com.es/2009_03_01_archive.html
- Ellenhorn, M. J., Schonwald, S., Ordog, G., Schonwald, S. & Wasserberger, J. Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning, Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. Respiratory Toxicology; p.1448-1531.
- Energía Eléctrica Explicada [Internet] 2010 [Consultado el 10 de Mayo de 2012] Disponible en <http://ingenieriaelectricaexplicada.blogspot.com.es/2010/08/desarrollan-nuevo-sensor-que-cambia-de.html>
- Fowler, J. S., Logan, J. Wang, G. J., Volkow, N. D. Monoamine oxidase and cigarette smoking. *Neurotoxicology*. 2003. 38: 137-146.
- Frank, R., Braun, H.E., Holdrinet, M., Stonefield, K.I., Elliot, J.M., Zilkey, B., Vickery, L., Cheng, H.H. Metal contents and insecticide residues in tobacco solis and cured tobacco leaves collected in southern Ontario. *Tobacco Science*. 1987. 21: 40-45.
- Gallardo, J., Sánchez, I., Almonacid, C. Planta del tabaco. Composición físico-química del humo del tabaco. Patología asociada a su consumo. Segunda edición. Madrid: Solano, S., Jiménez, C. A.; 2004. Capítulo 2, Tabaquismo; p. 27-40.
- Galvão, L., Corey, G. Cadmio. Metepec, México: Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud; 1987. Serie Vigilancia 4.
- González, C., Herrero, E., Suquia, M. B., García, J. L., Bastos, J. A., Navajo, J. M. Aspectos fisiopatológicos y clínicos del níquel. *Química Clínica*. 1994. 13: 6-10.
- González, R. Como liberarse de los hábitos tóxicos. Guía para conocer y vencer los hábitos provocados por el café, el tabaco y el alcohol. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 1995.
- González-Alonso, J., Salvador, T., Villalbí, J. El reto del control del tabaquismo en el lugar de trabajo. *Revista Española de Salud Pública*. 2003. 77: 1-2.

- Gul Kazi, T., Kumar Wadhwa, S., Imran Afridi, H., Kazi, N., Abbas Kandhro, G., Ahmed Baig, J., Qadir Shar, A., Fatima Kolachi, N., Khan, S. Evaluation of cadmium and zinc in biological samples of tobacco and alcohol user male mouth cancer patients. *Human and Experimental Toxicology*. 2010. 29: 221-230.
- Gutiérrez Maydata, A. Oxidantes en el humo del cigarro y enfermedades cardiopulmonares. *Revista Cubana de Medicina*. 2003. 45.
- Halpin, D. NICE guidance for COPD. *Thorax*. 2004. 59: 181-182.
- Hartwig, A., Schewerdtle, T. Interactions by carcinogenic metal compounds with DNA repair processes: toxicological implications. *Toxicology Letters*. 2002. 127: 47-54.
- Higgins, M. Risk factors associated with chronic obstructive lung disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1991. 624: 7-17.
- Ibarra, J. A., Santos, H. Tratado Enfermería Cuidados Críticos Pediátricos y Neonatales. Sección V. Capítulo 67: Anatomía, fisiología y patología respiratoria. [Internet] 2007 [Consultado el 10 de Marzo de 2012] Disponible en <http://www.eccpn.aibarra.org/temario/seccion5/capitulo67/capitulo67.htm>
- Imelda, T., Saldívar, L., Tovar, A., Salazar, D., Castilla, M. E., Olaiz-Fernández, G. Metals in lung tissue from autopsy cases in Mexico city residents: Comparison of cases from the 1950s and the 1980s. *Environmental Health Perspectives*. 1996. 104:630-632.
- Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional. Guía de NIOSH sobre entrenamiento en espirometría. Unidad 1: Revisión de la anatomía y fisiología pulmonar. [Internet] 2007 [Consultado el 19 de Marzo de 2012] Disponible en http://www.cdc.gov/spanish/niosh/docs/2004-154c_sp/pdfs/2004-154c-ch1.pdf
- Iskander, F. Y., Bauer, T. L., Klein, D. E. Determination of 28 elements in American cigarette tobacco by neutron-activation analysis. *Analyst*. 1986. 111: 107-109.
- Jiménez-Ruiz, C. A., Solano Reina, S., González de Vega, J. M., Ruiz Pardo, M., Flórez Martín, S., Ramos Pinedo, A., Barrueco Ferrero, M., Carrión Valero, F. Normativa para el tratamiento del tabaquismo. *Archivos de Bronconeumología*. 1999. 35: 499-506.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. Trace Elements In Soils And Plants. Tercera edición. Boca Ratón, Florida: CRC Press; 2001.
- Khelifi, R., Hamza-Chaffai, A. Head and neck cancer due to heavy metal exposure via tobacco smoking and professional exposure: A review. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010. 248: 71-88.
- Latarjet, M., Ruiz Liard, A. Anatomía Humana. Cuarta edición. Buenos Aires: Médica panamericana; 2008. Capítulo 94, Pulmones; p. 1148-1154.
- Leshner, A. I. What is nicotine? Primera edición. National Institute on Drug Abuse; 2001. Capítulo 1, Research Report Series: Nicotina Addiction.

- Lippmann, M. Aparato respiratorio: Estructura y función. Primera edición. Ginebra: Mager Stellman, J. Organización Internacional del Trabajo; 1998. Capítulo 10, Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo.
- López Nóvoa, M., Pereira Domínguez, MC. Valoraciones educativas sobre el tabaco y la publicidad: La necesaria intervención pedagógica. *Revista Galega do Ensino*. 2002. 35: 149-176.
- Martín Ruiz, A., Rodríguez Gómez, I., Rubio, C., Hardisson, A. Efectos tóxicos del tabaco. *Revista de Toxicología*. 2004. 21: 64-71.
- Martin, R. B. Bioinorganic Chemistry of toxicity. SEILER, H.G. Handbook on metals in clinical and analytical chemistry. Marcel Dekker, Inc. New York. 1994.
- Martínez, C., Quero, A., Isidro, I., Rego, G. Enfermedades pulmonares profesionales por inhalación de polvos inorgánicos. *Medicina y Humanidades*. 2001. 61: 34-39.
- Masgrau, N. El placer de dejar de fumar. Barcelona. Editorial Quaderns Vius. 2004.
- Mason, C. F. Biology Of Freshwater Pollution. Segunda edición. Essex, Reino Unido: Longman Group; 1991.
- Mateu, J. Toxicología médica, Barcelona: Ediciones Doyma; 1994. Gases tóxicos; p. 147-155.
- Micevka, T., Warne, M. Pablo, F., Patra, R. Variation in, and causes of, toxicity of cigarette butts to a cladoceran and microtox. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2006. 50: 205-212.
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Tabaco. [Internet] 2012 [Consultado el 23 de Febrero de 2012] Disponible en <http://www.msps.es/ciudadanos/proteccionSalud/tabaco/home.htm>
- Moerman, J.W., Potes, G.E. Análisis of metals leached from smoked cigarette litter. *Tobacco control*. 2011. 20: 30-35.
- Moore, K., Dalley II, A. Anatomía con orientación clínica. Quinta edición. Buenos Aires: Médica panamericana; 2007. Variaciones en los lóbulos pulmonares; p. 123-125.
- Muscat, J. E., Ahn, K., Richie Jr, J. P., Stellman, S. D. Nicotine dependence phenotype and lung cancer risk. *Wiley Online Library*. 2011. 117: 5370-5376.
- Nolla, J., Nogué, S., Marruecos, L. Intoxicación por gases. *Toxicología Clínica*. 1993. 1: 197-217.
- Nordberg, G. F., Kjellström, T., Nordberg, M. Kinetics and metabolism. Friberg, L. Elinder, C. G., Kjellström, T., et al. Cadmium and health: A toxicological and epidemiological appraisal. Volumen I. Exposure, dose, and metabolism. 1985. Boca Ratón, Florida. CRC Press, 103-178.

- Olsson, I. M., Bensryd, I., Lundh, T., Ottosson, H., Skerfving, S., Oskarsson, A. Cadmium in blood and urine – impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking – association of renal effects. *Environ Health Perspect.* 2002. 110: 1185-1190.
- Organización Mundial de la Salud. [Internet] [Consultado el 23 de Febrero de 2012] Disponible en http://www.who.int/tobacco/health_priority/es/index.html
- Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la salud en el mundo 2003: Forjemos el futuro. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud, 2003.
- Organización Panamericana de la Salud. Tendencias del consumo de tabaco en el mundo. Primera edición. Washington D. C.: Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud; 2000. Capítulo 1, La Epidemia De Tabaquismo; p.15-22.
- Owens, W.F. Effect on cigarette paper on smoke yield and composition. *Recent Advances in Tobacco Science.* 1978. 4: 3-24.
- Pääkkö, P., Kokkonen, P., Anttila, S., Kallimonäki, P. Cadmium and chromium as markers of smoking in human lung tissue. *Environmental Research.* 1989. 49: 197-207.
- Pérez-Cárceles, M. D., Del Pozo, S., Sibón, A., Noguera, J. A., Osuna, E., Vizcaya, M. A., Luna, A. Serum biochemical markers in drowning: Diagnostic efficacy of Strontium and other trace elements. *Forensic Science International.* 2012. 214: 159-166.
- Pérez-Cárceles, M. D., Sibón, A., Vizcaya, M. A., Osuna, E., Gómez-Zapata, M., Luna, A., Martínez-Díaz, F. Histological findings and immunohistochemical surfactant protein A (SP-A) expression in asphyxia: Its application in the diagnosis of drowning. *Histology and Histopathology.* 2008. 23: 1061-1068.
- Pernas, M., Arencibia, L. Efectos sobre la salud de la exposición crónica al humo del tabaco en fumadores y no fumadores. *Revista Cubana de Medicina General Integral.* 1998. 14: 180-184.
- Pitillo, M. R. Cigarette smoking, endothelial injury and cardiovascular disease. *International Journal of Experimental Pathology.* 2000. 81: 219-230.
- Plantas y Hongos [Internet] [Consultado el 10 de Mayo de 2012] Disponible en <http://www.plantasyhongos.es/herbarium/index.htm>
- Prescott, E., Bjerg, A. M., Andersen, P. K., Lange, P., Vestbo, J. Gender difference in smoking effects on lung function and risk of hospitalization for COPD: results from a Danish longitudinal population study. *European Respiratory Journal.* 1997. 10: 822-827.
- Prior, W. A., Stone, K. Oxidants in cigarette smoke: radicals hydrogen peroxides peroxyxynitrate and peroxyxynitrite. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1993. 686: 12-28.

- Raithel, H. J., Scheller K. H. Normal values for chromium and nickel in human lung tissue. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 1990. 338: 534-537.
- Salud Ocupacional de los Andes. Programa de Vigilancia Epidemiológica de Conservación Respiratoria, Bogotá D. C. 2011.
- Smith, C. J., Perfetti, T. A., Morton, M. J., Rodgman, A. Garg, R. Selassie, C. D., Hansch, C. The relative toxicity of substituted phenols reported in cigarette mainstream smoke. *Toxicological Science*. 2002. 69: 265-278.
- Solano Reina, S. Jiménez, C. A. Manual de Tabaquismo. Segunda edición. Barcelona: Masson; 2002; p. 193.
- Sumino, K., Hayakawa, K., Shibata, T., Kitamura, S. Heavy metals in normal Japanese tissues. Amount of 15 heavy metals in 50 subjects. *Archives of Environmental Health*. 1975. 30: 487-494.
- To i Figueras, J. Tabaco y cáncer: de la asociación epidemiológica a la evidencia molecular. *Medicina Clínica*. 1999. 112: 584.
- Ueno, S., Kashimoto, T., Susa, N., Ishikawa, M., Kawagoe, T., Mizuka, K., Nishimura, M., Homma-Takeda, S., Temma, K. Smoking induces bimodal DNA damage in mouse lung. *Toxicological Sciences*. 2011. 120: 322-330.
- Upadhyaya, P., Sturla, S. J., Tretyakova, N., Ziegel, R., Villalta, P. W., Wang, M., Hecht, S. S. Identification of adducts produced by the reaction of 4-(acetoxymethylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol with deoxyguanosine and DNA. *Chemical Research in Toxicology*. 2003. 16: 180-190.
- Weruaga, E., Aijón, J., Alonso, J. R. Neurobiología de la nicotina y el óxido nítrico: Una revisión. *Prevención del Tabaquismo*. 2002. 4: 95-103.
- West, R., McNeill, A., Raw, M. Smoking cessation guidelines for health professionals: an update. *Thorax*. 2000. 55: 987-999.
- Wolfspurger, M., Hauser, G., Gößler, W., Schlagenhafen, C. Heavy metals in human hair samples from Austria and Italy: influence of sex and smoking habits. *Science of The Total Environment*. 1994. 156: 235-242.
- Zaragoza, J. R., Llanos, M. Tabaco y salud, Madrid: Editorial AC; 1980. Colección Alfa/Temas; p.182.
- Zubero, M. B., Aurrekoetxea, J. J., Ibarluzea, J. M., Arenaza, M. J., Basterretxea, M., Rodríguez, C., Sáenz, J. R. Metales pesados (Pb, Cd, Cr y Hg) en población general adulta próxima a una planta de tratamiento de residuos urbanos de Bizkaia. *Revista Española de Salud Pública*. 2008. 82: 481-492.