

# PLATA COLOIDAL: XENOBIÓTICO, ANTÍGENO Y DISRUPTOR HORMONAL\*

**Elda María del Rocío Coutiño Rodríguez**

Instituto de Salud Pública y Facultad de Biología Universidad Veracruzana  
Correo E: coutinoe@gmail.com

## RESUMEN

En este trabajo se hace una reflexión sobre las particularidades concordantes y discordantes que presentan los iones en estado coloidal, como el caso de la plata coloidal, que es responsable de dichas particularidades debido a su efecto oxidativo. Este compuesto es ampliamente utilizado como bactericida de frutas y legumbres, por lo que resulta pertinente analizar sus posibles implicaciones para la salud, con base en su actuación como xenobiótico, antígeno y disruptor hormonal. Las características estructurales de algunos coloides (compuestos de proteínas y metales) no naturales, como a plata coloidal, son propias de compuestos que pueden tener un comportamiento tanto de xenobióticos (Xbs) como de antígenos (An). En ambos casos, son moléculas extrañas capaces de estimular los mecanismos de defensa química e inmunológica, y se distinguen por la inducción en la síntesis de proteínas del complejo enzimático del citocromo P450 (CYP) o de las inmunoglobulinas IgG, respectivamente, con la finalidad de responder a ellos eliminándolos, neutralizándolos o tolerándolos. La dualidad de funciones de la plata coloidal como xenobiótico o antígeno se analiza considerándola un disruptor hormonal o xenohormonas, bajo la perspectiva de los receptores nucleares, particularmente los estrogénicos o esteroideos, los cuales presentan un dominio rico en cisteínas. Debido a la afinidad natural que tienen los metales con las regiones ricas en grupos sulfhidrilos (tioles), grupo activo de la cisteína, éstos podrían ser de manera inespecífica los centros de actividad de los coloides para regular ambas funciones.

## ABSTRACT

In this paper, the author reflects on the concordant and discordant peculiarities of colloidal ions such as colloidal silver, responsible of those particularities because of its oxidative effect. This compound is widely used as a bactericide for fruit and vegetables, therefore, analyzing the possible health implications related to its performance as a xenobiotic, antigen and hormone disruptor is appropriate. The structural characteristics of some unnatural colloids, like colloidal silver (protein compounds and metals), are typical of compounds able to act as xenobiotics (Xbs) and/or antigens, (An). In both cases, they are foreign molecules capable of stimulating chemical and immunological defense mechanisms, and they can be recognized because of the induction of protein synthesis, the enzymatic complex of cytochrome P450 (CYP) or IgG immunoglobulins, respectively, in order to respond by eliminating, neutralizing or tolerating them. The dual role of colloidal silver, xenobiotic or antigen is analyzed considering it as a hormonal or xenohormones disruptor, from the perspective of nuclear receptors, particularly estrogen or steroids, which have a domain rich in cysteines. Due to the natural affinity of metal rich regions for sulfhydryl groups (thiols), an active group of cysteine, these could nonspecifically be the activity centers of the colloids to regulate both functions.

## PALABRAS

### CLAVE:

Plata coloidal, xenobiótico, antígeno, disruptor hormonal y receptores nucleares.

## KEY WORDS:

Colloidal silver, xenobiotic, antigen, hormone disruptor and nuclear receptors.

## INTRODUCCIÓN

La plata coloidal (Pc) se compone de partículas de plata muy pequeñas cargadas eléctricamente, que varían de 1 a 10 nm de diámetro y están suspendidas en agua destilada. La estabilización de las cargas en presentaciones comerciales se ha hecho con albúmina y grenetina vegetal; actualmente, se utilizan otros compuestos para estabilizar el coloide, la carga y el tamaño, conocidas como nanopartículas de plata (AgNPs).

Uno de los usos de los coloides de plata es el combate contra las bacterias. Se introdujeron al mercado hace más de tres décadas para sustituir las sales de plata, que tenían fines terapéuticos y múltiples propiedades farmacológicas. No obstante sus efectos benéficos, la acumulación y la afinidad de este compuesto con proteínas ricas en grupos tioles producen una coloración grisácea de la piel conocida como argiria; cuando ocurre en otros órganos (ojos, hígado, etcétera) se le llama argiriosis.

En México, la plata coloidal se usa como bactericida a partir del brote de cólera en 1993. Existen varias presentaciones comerciales de Pc (Biopur, Microdyn, Silverdin y Cromin) y se emplean principalmente como desinfectantes de agua, frutas y verduras. El éxito en su aceptación por parte de la población se debe a sus propiedades organolépticas, ya que no presenta sabor, color ni olor, además de su fácil manejo.

Si bien la Pc controló el brote de cólera en México en virtud de su potente acción contra enterobacterias, su uso desmedido y sin control podría ser responsable de efectos adversos a la salud (1-3), asociados principalmente con la defensa inmune y química. En este trabajo, se pone a consideración del lector algunas implicaciones de dicho uso basadas en las características de la Pc como coloide, es decir, la interacción de iones de plata y proteínas tipo albúmina y grenetina. Aunque se introduzca únicamente como plata ionizada ( $\text{Ag}^+$ ) o metálica ( $\text{Ag}^0$ ), en un momento ambas, bajo ciertas condiciones fisiológicas, forman coloides ya que interactúan con proteínas séricas, principalmente albúmina. Ésta es una proteína de PM de 68 kDa presente mayoritariamente en suero, la cual se encarga de transportar muchas moléculas, entre ellas la Ag, y se metaboliza en el hígado. Participa activamente en la movilización de metales, iones, así como moléculas hidrosolubles y liposolubles derivadas o no del metabolismo endógeno y del exógeno (metabolismo de xenobióticos); la información genética para su síntesis se localiza en el cromosoma 4 y su metabolismo se regula por los receptores glucocorticoides (4-6).

Por su parte, la grenetina tiene un peso molecular por arriba de los 100 kDa, es uno de los componentes del colágeno, se localiza en la matriz extracelular y se metaboliza en el riñón. Aunque la presentación del coloide de plata se estabiliza con grenetina vegetal o albúmina, lo más factible es que ciertos iones se desprendan y formen coloides con otras proteínas afines. Cualquiera que sea el caso, la interacción proteína-metal permite que estos coloides se comporten como moléculas extrañas, es decir, como antígenos (An) o como xenobióticos (Xbs), los cuales inducen los mecanismos de defensa inmune y química en los que se genera de nuevo la síntesis de proteínas, como los anticuerpos o inmunoglobulinas y las enzimas de la gran familia del sistema metabolizante del citocromo P450 (CYP450), respectivamente.

La Pc no es un componente natural, es decir, se trata de una molécula extraña que dependiendo de la vía de exposición (oral, inhalatoria o cutánea) puede ingresar a los organismos. En el caso particular de la Pc usada como bactericida de agua y legumbres, la exposición es oral y si se absorbe puede comportarse como un An y un Xbs ambiental, estimulando la defensa química o la inmune (3, 7). Los mecanismos de defensas en procesos que los seres vivos han desarrollado y evolucionado para responder a distintos ataques biológicos, químicos y físicos provenientes de la presión ambiental, los estilos de vida y la dieta, de manera que, ante éstos, los organismos pueden reaccionar, adaptarse, tolerar o perecer.

Existen reportes que consideran a las AgNPs y a la plata coloidal como inmunomoduladores o como un segundo mecanismo de defensa inmune, atribuyéndoles una amplia actividad terapéutica (2) precisamente por sus efectos inmunes, entre ellos los antiinflamatorios (8), pero se desconocen sus implicaciones en lo referente a la inmunotoxicidad y la autoinmunidad; por tal motivo, el interés de este breve ensayo en analizar las características generales de los Xbs y los An en forma de coloides que conducen a la activación de los mecanismos de defensa química e inmune y que actúan como disruptores hormonales, bajo la perspectiva de su afinidad con los receptores nucleares, particularmente los estrogénicos o esteroideos. Además, se sabe que los Xbs ambientales, entre ellos los metales como la plata coloidal, que estimulan la defensa química, en su mayoría son inmunotóxicos y también actúan como disruptores hormonales o xenohormonas. En función de lo anterior, aquí se considera que la relación de los Xbs ambientales, en ambos sistemas de defensa, estaría regulada por receptores nucleares, particularmente los esteroideos (9), mediante la

modificación del vínculo entre los grupos tioles y las uniones disulfuro, dada la afinidad de los metales con éstos.

De tal forma, se justifica el análisis del papel fundamental de la defensa química en la regulación del sistema endocrino e inmunológico y sus repercusiones en la salud.

Desde la década de los 70, existen reportes que demuestran que muchos de los Xbs ambientales presentan inmunotoxicidad; además, la mayoría de ellos tiene características de xenohormonas, conocidos también como compuestos disruptores endocrinos (EDCs) por sus siglas en inglés (9, 10), que alteran la homeostasis hormonal. Igualmente, se conoce de la relación entre ambas defensas, ya que los procesos inflamatorios inhiben la expresión de algunos CYP450, alteran la regulación de los mismos y, por tanto, modifican la defensa química (3, 4). También se sabe que los compuestos inmunosupresores suprimen o inhiben la expresión de algunos CYP450; por esto, no es raro que la defensa inmune y la química actúen de manera coordinada, a través de los receptores nucleares, principalmente los estrogénicos, que presentan un dominio rico en cisteínas, debido a la afinidad natural que tienen los metales con estas regiones ricas en grupos sulfhidrilos (tioles) de la cisteína. Por esta razón, actuarían también indirectamente como disruptores hormonales. Asimismo, con base en el papel reductor que tiene la mayoría de los metales, causan la ruptura de las uniones disulfuro apoyando la plasticidad y actividad de las proteínas.

## **CARACTERÍSTICAS DE LOS XENOBIÓTICOS (Xbs) Y LA INDUCCIÓN DE LA DEFENSA QUÍMICA**

Los Xbs son moléculas generalmente de naturaleza liposoluble, insolubles en agua y de muy bajo peso molecular –menor a 1 kD–, con poca complejidad estructural, generalmente planos, aromáticos, algunos no planares. Se trata de aminas y amidas heterocíclicas, además de hidrocarburos poliaromáticos y en el caso de los fármacos, son ácidos o bases débiles. Algunos ejemplos son los compuestos químicos naturales o sintéticos, plaguicidas, insecticidas, hidrocarburos policíclicos, aditivos alimentarios y fármacos, etcétera.

Así, un Xbs es todo compuesto extraño químico sintetizado en la industria química, industrial, agroquímica, farmacéutica y alimentaria, capaz de activar los mecanismos de la “defensa química” para su biotransformación y eliminación.

La defensa química es el mecanismo utilizado por las células para eliminar compuestos extraños o Xbs que ingresan en los organismos, mediante un

complejo enzimático del CYP450 oxidorreductasa que participa en su biotransformación. En ésta, se modifica la polaridad de las moléculas para que sean eliminadas en los fluidos corporales (orina, saliva o sudor).

El metabolismo o la biotransformación de Xbs ocurre principalmente en el hígado, órgano transformador, por excelencia, de las sustancias extrañas que entran en el organismo, a través de la inducción del CYP450; sin embargo, la inducción también ocurre en otras células como las linfocitarias, de pulmón, riñón, glándulas suprarrenales, intestino, páncreas, cerebro, etcétera. El complejo enzimático del CYP450 comprende más de 18 familias y 44 subfamilias en el hombre (4, 5).

El complejo enzimático del CYP450 está formado por una hemoproteína tipo tiolasa de aproximadamente 35 a 45 kDa y por el grupo prostético hemo, donde se llevan a cabo las oxidaciones catalizadas por enzimas de tipo monooxigenasas, dependientes del dinucleótido de nicotina y adenina reducido (NADPH) y el oxígeno molecular. Los organismos también usan este mecanismo para el metabolismo endógeno de moléculas liposolubles o esteroideogénicas vitales; sin embargo, el complejo enzimático del CYP450 para el metabolismo de Xbs se localiza en el retículo endoplásmico (RER), mientras que el metabolismo endógeno esteroideo principalmente está en la mitocondria (11, 12). Resulta interesante el hecho de que la mayoría de las enzimas inducibles del CYP450 por Xbs forman parte del RER y se regulan vía receptores nucleares, en tanto que las del metabolismo endógeno están localizadas en la mitocondria y su deficiencia es incompatible con la vida o con enfermedades genéticas.

Como ya se mencionó, esta familia de enzimas se encarga del metabolismo de las moléculas endógenas de naturaleza liposoluble, como los mediadores hormonales, entre ellos las hormonas esteroideas y tiroideas, que participan en el metabolismo y la regulación celular, y algunos Xbs, tales como fármacos y contaminantes ambientales, que actúan como EDCs porque compiten con la regulación del metabolismo endógeno, alterando los mecanismos de la respuesta endocrina y, consecuentemente, modificando también la respuesta inmunológica y química (3, 4, 9, 13).

Los CYP450 encargados del metabolismo de Xbs pertenecen a tres familias, a saber: CYP450 1, 2 y 3, y a varias subfamilias para el CYP 450 1, con dos subfamilias, A y B, así como 13 subfamilias para el CYP450 2 (A, B, C, D, E, F, G, J, R, S, U, W), mientras que para el CYP450 3 hay una subfamilia (A). La familia de CYP450 2 y 3 con más subfamilias participa también en el metabolismo de esteroides, por tanto, éstos son blancos idóneos de los

EDCs, particularmente el 2D6 que es uno de los más estudiados porque se encarga del metabolismo de fármacos neurolépticos y antidepresivos y se inhabilita por inhibidores de prostaglandinas e inmunosupresores (5, 14).

Las familias de CYP450 que contribuyen más en el metabolismo de fármacos son el CYP4503A 4/5 con el 30.2 %, el 2D6 con el 20%, el 2C9 con el 12.8%, el 1A2 con el 8.9%, el 2B6 con el 7.2%, el 2C19 con el 6.8%, el 2C8 con el 4.7%, el 2A6 con el 3.4%, el 2J2 con el 3% y el 2E1 con el 3% (4).

En el ser humano, este complejo enzimático comprende 57 genes funcionales y 58 pseudogenes distribuidos en distintos cromosomas autosómicos, por ejemplo, los genes del CYP450 2C se localizan en el cromosoma 10; los CYP450 1A1 y 1A2, en el cromosoma 15; el CYP450 2B6, en el cromosoma 19; mientras que los CYP4502D y 2A1 están en el cromosoma 22; etcétera (4, 5). Entre ellos existe suficiente homología respecto de la secuencia de aminoácidos.

El complejo enzimático de CYP450 localizado en la mitocondria comprende a las familias 4, 5, 7, 17, 19, 21 y 27, con excepción de la familia 4, encargada del metabolismo de ácidos, entre los que se encuentran los biliares. Las demás pertenecen a las enzimas involucradas en el metabolismo de esteroides, que se relacionan con enfermedades; por ejemplo, CYP45011B1 se asocia con la enfermedad de Addison, el hiper aldosteronismo familiar, la hiperplasia adrenal congénita y la esclerosis múltiple, mientras que CYP45021A2 se vincula con la enfermedad de pérdida de sal (*salt wasting*), por la deficiencia de la 21 hidroxilasa y la aldosterona sintasa, respectivamente (14).

La consecuencia de la variabilidad genética de los CYP450 es la respuesta farmacocinética en el hombre, así las distintas respuestas ante los fármacos (metabolizadores nulos, lentos, rápidos y ultrarápidos) se asocian a polimorfismos genéticos multialélicos como los CYP450 2D6, 2C19, 2C8, 2C9, 2B6, 3A5 y 2A6, que se encuentran fuertemente relacionados con la etnicidad; en cambio, otras familias como CYP450 2A2, 2E1, 2A4 y 2A5 son tanto polimórficas como inducibles (4, 5, 14).

Además de los polimorfismos genéticos, distintos mecanismos multifactoriales influyen en la expresión de cada CYP450, incluyendo la inducción por Xbs, regulación por citocinas, hormonas, estados patológicos (diabetes, cirrosis, hígado graso alcohólico y no alcohólico, obesidad, fibrosis hepática, etcétera), sexo y edad (los menores de cinco años, al igual que los adultos mayores, tienen disminuido el mecanismo de defensa para algunos Xbs por la expresión diferencial de los CYP450) (15). En

el caso del sexo se ha reportado una respuesta diferencial de algunos CYP450, como los 2E1 y 1A2, que se expresan más en hombres, y los 2B6 y 2A6 en mujeres, así como los hábitos dietarios y estilos de vida, como el alto consumo de grasa, alcohol, cocaína, marihuana, y el abuso de medicamentos o la automedicación. Con ello, se afecta la efectividad de los tratamientos terapéuticos y se ocasionan complicaciones en la respuesta inmune.

El caso de CYP450 3A4, además de las variantes predictivas en el gen, presenta algunas otras en genes regulatorios o en el NADPH del complejo citocromo oxidoreductasa, encargado de las óxido-reducciones de este sistema enzimático. Al respecto de dicha enzima, una análoga es la NADPH oxidasa, involucrada en el estallido respiratorio, mecanismo utilizado por ciertas células del sistema inmune (macrófagos, linfocitos) (16) para matar microbios y exponer los An. Así, en ambos mecanismos de defensa, el químico y el inmune (respuesta innata), participan mecanismos de óxido-reducción mediada por la NADPH oxidoreductasa y la NADPH oxidasa, respectivamente, produciéndose, en ambos, especies reactivas de oxígeno (ROS) y estrés oxidativo, responsables quizás de la respuesta inmunocitotóxica de algunos Xbs ambientales persistentes –un inmunotóxico es cualquier sustancia química que tiene efectos sobre el sistema inmune de manera directa o indirecta por la acción del producto del metabolismo del Xbs, o una respuesta inmunológica del huésped a los Xbs y/o sus metabolitos, o bien, una alteración de los antígenos del huésped por los Xbs o sus metabolitos (5, 10, 17). La inmunotoxicidad comprende la inmunosupresión, la inmunoestimulación inespecífica, la hipersensibilidad y la autoinmunidad (18).

Por otra parte, ya desde la década de los 70 se conocía el efecto en la inhibición de la expresión de CYP450 por efecto de los inmunosupresores, lo que conduce a un punto más de coincidencia en la relación y coordinación de ambos sistemas de defensa; además, se tiene conocimiento del efecto de los mediadores de inflamación, respuesta inmune innata, en la disminución de la expresión de la superfamilia de los CYP450 regulada por receptores nucleares, con excepción del 2E1, CYP450 que no se regula a través de ellos (3, 4, 19).

Evidencias recientes sobre la regulación de la expresión del CYP450 3A4 demuestran una *down-regulation* en hepatocitos humanos en respuesta a las interleucinas (IL), particularmente la IL-6 y el interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). También se sabe que durante la inflamación y el cáncer circulan citocinas inflamatorias como la IL-1 $\beta$ , factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y la IL-6, las cuales actúan como moléculas señalizadoras que llevan a cambios

marcados en los perfiles de la expresión de genes, entre otros, la de los CYP450, conduciendo a una *down-regulation* de las enzimas que participan en el metabolismo de muchos Xbs, alterando tanto la defensa química como la inmune y, con esto, la respuesta terapéutica (4, 14).

Algunos de los Xbs ambientales y los metabolitos de bajo peso molecular, productos del sistema CYP450 como los metales, pueden unirse a proteínas (formar un coloide) y actuar como haptenos, de esta manera estimulan y alteran la defensa inmune produciendo una desregulación de los linfocitos, es decir, cambian la proporción de los linfocitos T citotóxicos (TCD8) o cooperadores (T CD4) relacionada con la inmunotoxicidad (autoinmunidad) (17).

La gran mayoría de Xbs ambientales que persisten en el ambiente son inmunotóxicos y dadas sus características fisicoquímicas y su carácter liposoluble, actúan como xenohormonas o EDCs capaces de modificar la respuesta hormonal; por tanto, tendrán repercusiones tanto en el nivel hormonal como en los mecanismos de defensa química e inmune (4, 9, 20, 21).

### **CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTÍGENOS (An) Y LA INDUCCIÓN DE LA DEFENSA INMUNE**

La respuesta inmune, al igual que la química, se desencadena ante la presencia de moléculas extrañas que actúan como An, ya sea solubles (toxinas) o particuladas, presentes en las membranas de los microorganismos. Con ello, participa principalmente en la defensa contra la exposición a agentes infecciosos.

Sin embargo, los An rara vez son de naturaleza liposoluble, como los Xbs; es más, poseen un volumen significativo y un peso molecular bastante alto, cercano a los 10 kD (con excepción de la insulina y el glucagón). Tienen una complejidad estructural que depende del estado globular o de agregación, y presentan cierta rigidez para inducir la respuesta inmune. Además, la carga que tenga el An también es importante, debido que el anticuerpo (Ac) inducido tendrá carga opuesta al An para atraerse.

La naturaleza química de los An, en el orden de prioridad, es: proteínas, carbohidratos, glicoproteínas, lipoproteínas y hasta el final, lípidos y ácidos nucleicos, que son los menos antigénicos. En algunos casos, los lípidos unidos a polisacáridos de los componentes membranales de superficie de los microorganismos, como los lipopolisacáridos (LPS) de las bacterias, son altamente antigénicos y juegan un papel muy importante en la patogenia de los microorganismos, así como en los proce-

sos inflamatorios (22-24). También, como ya se mencionó, los Xbs ambientales y sus metabolitos, como los metales, pueden actuar a manera de haptenos y estimular no sólo la defensa química sino la inmune.

En ambos mecanismos de defensa se induce la síntesis de proteínas. En el caso de la defensa inmune, se trata de las inmunoglobulinas (Igs) o Ac y de algunos mediadores inmunológicos, citocinas, interleucinas (IL), entre otros. Tienen como propósito llevar a cabo la neutralización o eliminación y el desecho de los An, con la finalidad de inhibir o contrarrestar un proceso infeccioso (23, 25, 26).

La defensa inmune se caracteriza por alcanzar una especificidad más defensiva e intensa ante la exposición a agentes infecciosos o agresores a través de la producción de anticuerpos (Ac) que le permite generar inmunidad, es decir, resistencia a dichos agentes, con la participación de las células mononucleares del sistema retículo-endotelial, entre ellas los linfocitos o células B y T. Las primeras están involucradas en la inmunidad humoral y la producción de Ac, mientras que las segundas tienen que ver con la inmunidad celular citotóxica y colaboran con la respuesta humoral. Las células T se dividen en cooperadoras (T-CD4) y citotóxicas (T-CD8). Las T-CD4 colaboran con la activación de otras células tales como las *natural killers* (NK), las T-CD8, los linfocitos B y los macrófagos; a su vez, las T-CD8, tras su activación, ejercen su función citotóxica.

En la producción de anticuerpos específicos participan los linfocitos o células B, en cooperación con las células T-CD4 o *helper* (TH, por sus siglas en inglés), las cuales igualmente se diferencian en dos grupos, TH1 y TH2. Las primeras están involucradas en el aspecto citotóxico e inflamatorio de la respuesta inmune celular. Liberan citocinas como la IL-2, así como factores de inflamación TNF- $\alpha$  y IFN- $\gamma$ , y su principal función es formar parte de la defensa mediada por fagocitosis.

Mientras tanto, las TH2 son las responsables de la defensa contra helmintos, artrópodos y reacciones alérgicas; promueven la respuesta inmune humoral y producen otras ILs: 4, 5, 6, 10 y 13. La IL5 y la IL6 son de interés por su participación en la inflamación, la proliferación y la diferenciación de la célula B a la célula plasmática encargada de secretar los Ac (24, 27). Así, las células T y B se relacionan estrechamente con la respuesta inmune humoral que dependerá del tipo de An que las estimule.

La clasificación de los An se basa en el criterio de si la producción del Ac es dependiente o independiente del timo (T) o de las células T; por eso, se dividen en An T-dependientes y An T-

independientes. Los primeros requieren la ayuda de las células TH1 para producir Ac. En cambio, los segundos estimulan directamente a los linfocitos B para la generación de Ac, sin requerir células T.

En la respuesta del An T-dependiente, tanto las células B como las T deben tener la misma especificidad debido al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), MHC clase II. En esta respuesta el An, que generalmente es de naturaleza proteica, interactúa con la mIgM en la superficie de la célula B; inmediatamente, se interioriza y procesa; los fragmentos del antígeno regresan a la superficie de la célula B acoplados a moléculas de la MHC clase II (actuando como célula presentadora de antígeno); éstas interactúan con el receptor sobre las células TH, las cuales producen citocinas que inducen o estimulan la proliferación de las células B y contribuyen a su diferenciación a células plasmáticas. Algunos de los linfocitos o células B cambian el isotipo de Ig que producen y secretan IgG, mientras que otros no cambian de isotipo y secretan IgM; otros más permanecen como células de memoria y, en un segundo estímulo, inducen una respuesta secundaria con la producción de anticuerpos de mayor afinidad, como las IgG, que son altamente específicas contra el An que las sensibilizó (22-24).

En el caso de los An T-independientes se han descrito dos tipos, TI-1 y TI-2. Ambos se caracterizan porque el An interactúa directamente con las células B, las cuales llevan en su superficie las moléculas mIgM y mIgD que constituyen el receptor BCR (receptor blanco de las células) específico para este An; la célula B se activa, empieza a proliferar y se diferencia hasta células plasmáticas, produciendo y secretando IgM, anticuerpo con menor especificidad. En este caso, el linfocito o célula nunca cambia de isotipo de Ig, siempre será IgM, inclusive ante una respuesta secundaria. Los antígenos del tipo TI-1 corresponden a polímeros macromoleculares como los polisacáridos de las paredes o cápsulas bacterianas, mientras que los TI-2 pertenecen a unidades repetitivas de azúcares (22-24).

De tal manera, las proteínas participan en la respuesta T-dependiente con alta especificidad y los polisacáridos generalmente forman parte de la respuesta inmune T-independiente de tipo TI-1 con baja especificidad (22-24). De aquí la importancia en la inmunotoxicidad de aquellos Xbs ambientales, como de sus metabolitos y metales que se unen a proteínas plasmáticas o tisulares, o directamente a proteínas presentes en las membranas de los linfocitos, estarían actuando como T-dependientes.

En la defensa inmune humoral específica, la producción de la IgG por parte de los An T-depen-

dientes es la de mayor interés, debido a la alta especificidad que presenta ante el An y que puede estar comprometida con enfermedades como las autoinmunes, entre otras.

La IgG tiene un peso molecular de 150 kD y consta de dos polipéptidos, uno de ellos forma la cadena gruesa, con un peso molecular de 50 a 70 kD, y se localiza en el cromosoma 6; en tanto, el otro constituye la cadena ligera, la cual puede estar integrada por cadenas *kappa* o una *lambda*, la primera conformada por un polipéptido de alrededor de 25 a 28 kD y la segunda, por un polipéptido de 18 a 22 kD. Los genes de las cadenas  $\lambda$  y  $\kappa$  se localizan en el cromosoma 2 y 22, respectivamente (3, 22, 23, 24). Las cadenas ligeras y pesadas se mantienen unidas por uniones disulfuro. Existen patologías inmunológicas donde hay una desregulación en la producción de estos dos tipos de cadenas; particularmente, las ligeras se secretan y pueden detectarse en las muestras biológicas (suero, orina, plasma). Generalmente, la cadena *lambda* está presente como un dímero con un PM de 45 kD; en cambio, *kappa* se encuentra como un monómero de alrededor de 22 a 23 kD de peso molecular. Este tamaño de diferencia resulta en el riñón una tasa diferencial de la filtración glomerular de *kappa/lambda* de alrededor de 1/1.6. El aumento en estos niveles se asocia con discrasias malignas de plasma, trastornos inmunoproliferativos e inmunorrelacionados (enfermedades autoinmunes e inflamatorias) y con padecimientos renales (28).

## EFFECTOS INMUNOTÓXICOS ADVERSOS DE LOS Xbs

La mayoría de los Xbs son inmunotóxicos, los efectos incluyen daño a los órganos del sistema inmune, como la necrosis; efectos múltiples histopatológicos del timo y de la médula ósea; nódulos linfáticos; patologías celulares inducidas por químicos, incluyendo proliferación anormal de las células madre de la médula ósea; maduración alterada de las células inmunocompetentes; cambio en las subpoblaciones de las células B y T; variaciones en la inmunidad humoral mediada por células B e inmunoglobulinas (IgA, IgB, IgE, IgM, IgD) y la inmunidad celular mediada por células T y citocinas; entre otros. Estas alteraciones estructurales y funcionales del sistema inmune están asociadas en la inmunosupresión, la inmuoestimulación inespecífica, la hipersensibilidad y la autoinmunidad (17); pueden modificar los mecanismos de defensa del huésped contra infecciones (bacterias virales) y el cáncer, así como generar problemas alérgicos y autoinmunidad.

La exposición a algunos Xbs ambientales inmunotóxicos lleva a la deficiencia en la defensa inmune, y con ello a la sensibilidad a procesos infecciosos y enfermedades autoinmunes, hipersensibilidad, así como una serie de enfermedades crónicas degenerativas, donde la inflamación está involucrada (9, 18, 21).

Los Xbs ambientales inmunotóxicos son principalmente aquellos que por su liposolubilidad tienen una gran persistencia en el ambiente, como el 2,3,7,8 tetraclorodibenzo-p-dioxina, el 2,3,4,7,8 tetracloro dibenzofurano, los bifenilos policlorados, los insecticidas organoclorados, los agentes alquilantes, los cannabinoides, el óxido de etileno, el benceno, el 1,1,1 tetracloro etano, etcétera. Igualmente, los metales pesados son persistentes y tienen un efecto inmunosupresivo; en orden de actividad se encuentran el mercurio, cobre, manganeso, cobalto, cadmio y cromo. Esto es especialmente verdadero en exposiciones sistémicas a metales pesados (arsénico, cadmio, plomo, mercurio, níquel), los cuales también alteran la respuesta inmune disminuyendo en el huésped la resistencia a los agentes infecciosos, al cáncer y a las enfermedades renales, por autoinmunidad renal, entre otras (29).

Por otro lado, los fármacos del tipo citostático utilizados en trasplantes, como la ciclofosfamida, ciclosporina A, azatioprina y prednisona, incrementan de igual forma la susceptibilidad a infecciones en pacientes trasplantados de órganos. Además, algunas de estas drogas se asocian también con la aparición de varios tipos de cáncer (10, 17).

Asimismo, la gran mayoría de Xbs ambientales y metales inmunotóxicos, dadas sus características fisicoquímicas y su naturaleza liposoluble, actúan como xenohormonas o EDCs, modificando la homeostasis hormonal.

*En el caso de la  $Ag^+$  iónica, si bien no es un metal pesado ni divalente, bajo ciertas condiciones fisiológicas en las que forma óxido de plata, puede tener carga divalente como el arsénico, el cadmio y el mercurio (30); del mismo modo, al unirse a proteínas actúa como hapteno y estimular la defensa inmune. Además, podría alterar procesos biológicos por competencia con iones de interés, al igual que el transporte de electrones, y los procesos de óxido-reducción necesarios en la defensa inmune y química; también es factible que actúe como EDCs, por su afinidad con los grupos sulfhidrilos de los receptores nucleares, y que modifique la expresión genética.*

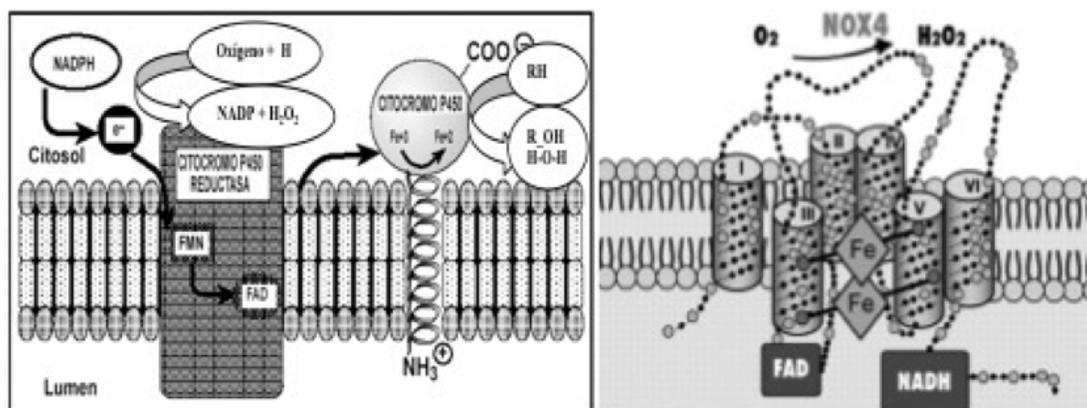
## **LA INDUCCIÓN EN LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE NOVO POR PARTE DE LOS Xbs Y An**

Los propios Xbs inducen la expresión de la enzima encargada de la biotransformación perteneciente a la supe familia del CYP450, y se regula principalmente a través de los receptores nucleares asociados a la expresión de los genes o por mecanismos de señalización, mediante la acción de los factores de transcripción.

Como ocurre con los receptores de esteroides (ER) y cannabinoides (CR), en la defensa química los receptores de los Xbs, por ser de naturaleza liposoluble, se localizan en el citoplasma y se trasladan al núcleo, donde actúan indirectamente como factores de transcripción o interactúan directamente con el receptor nuclear estimulando la síntesis de transcritos de ácido ribonucleico mensajero (mRNA) y, por consiguiente, la síntesis de proteínas, entre ellas las hemoproteínas del complejo enzimático de CYP450 (4, 5). Los coloides como la plata coloidal, debido al carácter liposoluble o permisible de la albúmina, podrían actuar como Xbs activando la expresión de genes del CYP450. Al igual que en su forma libre de metal  $Ag^0$  o ion  $Ag^+$ , puede activar receptores nucleares o elementos de respuesta vinculados con la inducción de los distintos CYP450, por ejemplo, el receptor constitutivo del androstano (CAR) relacionado con la inducción de CYP450 2C9; el receptor del ácido retinoico (RXR), con el CYP450 2B; el receptor del pregnano (PXR), con el CYP450 2B; el receptor de proliferación de peroxisomas (PPAR), con el CYP450 3A, y el de hidrocarburos policíclicos (AhR), con los CYP450 1A y 1B. Asimismo, otras moléculas de tipo esteroide como los glucocorticoides regulan y modulan la respuesta inmune y química.

Todos ellos, particularmente los de la familia 2 y 3, participan en el metabolismo de moléculas de naturaleza esteroidea y de hormonas permisivas, así como de Xbs ambientales de tipo EDCs (4, 5, 9).

Como ya mencionamos, existen Xbs que actúan como EDCs; por su parecido estructural a las hormonas, compiten por los receptores estrogénicos o esteroideos (SR), funcionando como antagonistas o agonistas. En este contexto, al receptor asociado al metabolismo de esteroides y Xbs se le conoce como receptor de xenobióticos esteroideos o SXR, por sus siglas en inglés. Éstos están involucrados en el metabolismo de progesterona, testosterona y  $17\beta$  estradiol, y relacionados con la familia CYP450 3A (31). De igual forma, existen coactivación e interacciones entre ellos; por ejemplo, los glucocorticoides activan las familias de CYP450 3A y 2C a través



**Figura 1. Defensa Química**, mecanismo de hidroxilación del complejo enzimático del CYP450, en el metabolismo del RH (xenobiótico) al R-OH (xenobiótico hidroxilado) y agua (H<sub>2</sub>O); participan el NADPH y el oxígeno molecular que dan NAD y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), las flavoproteínas (FMN-FAD) y el CYP450 reductasa, NADP oxidorreductasa (5). B.- **Defensa Inmune**. Participación de la NOX 2 en la respuesta fagocítica, existen 7 isoformas que difieren en su localización, el modo de activación, las proteínas accesorias y el tipo de ROS producidas; en general, todas poseen 3 dominios funcionales: 1) similar al citocromo b558; 2) regulatorio, y 3) similar a la ferredoxin reductasa. En ambos mecanismos, los Ag<sup>+</sup> de la plata coloidal pueden desacoplar la cadena de electrones e incrementar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

del receptor PXR, también inducen la síntesis de CAR, que es un receptor constitutivo, y PXR con un efecto mayor. Igualmente, el receptor PXR se considera el receptor SR/SXR (32). La inducción de todos los CYP450 involucrados en la regulación hormonal se relaciona con receptores nucleares y con la homeostasis celular y fisiológica.

Por otro lado, estudios más actuales muestran la participación de algunos otros receptores nucleares, considerados huérfanos para proteínas del hígado como las HNF1 y HNF4 $\alpha$ , los cuales median a través de factores de transcripción la regulación de algunos CYP450 2E1 y 2D6, respectivamente, y participan en la coactivación de otros genes; por ejemplo, HNF4 $\alpha$  forma parte de la activación transcripcional de CYP2A4, mediado por CAR y PXR, y también regula la expresión basal de enzimas del metabolismo de Xbs de la fase 2 como las sulfotransferasas, así como la unión de receptores nucleares, entre otros, GR (receptor glucocorticoide), y factores de transcripción como NR2F1, que de igual modo regulan los genes involucrados en el metabolismo de Xbs (33). La expresión del HNF4 $\alpha$  está regulada por factores dietarios, particularmente la grasa y los azúcares. Así, dichos factores, por medio de la expresión HNF4 $\alpha$ , modifican los patrones de expresión de los genes en los CYP450 y en los de la fase II.

En el caso de la defensa inmune, igualmente el An es el responsable de la estimulación en la producción de los Ac y dependerá de varios factores: si los An son T-dependientes o T-independientes, si

son solubles o particulados y si están presentes en la superficie de microorganismos. No obstante, en general, es a través de mecanismos de señalización de receptores localizados en la superficie de la membrana de las células involucradas, y mediante procesos complicados, que se va a activar una serie de moléculas de señalización interna, donde probablemente, por una vía común de las tirosinas quinasas (PTK) o proteínas quinasas de mitosis (MAPK), se estimulen factores de transcripción como el nuclear (NF- $\kappa$ B) y el NR2F1, los cuales convergen en el núcleo de las células B para inducir la diferenciación de éstas a células plasmáticas y, con ello, la síntesis de proteínas como las inmunoglobulinas IgG o Ac en respuesta al An.

El factor de transcripción NF- $\kappa$ B participa en la respuesta inmune de tipo inflamatorio en la inducción para la síntesis de la cadena ligera *kappa* de la IgG (22); del mismo modo, controla la expresión de genes que codifican citocinas pro-inflamatorias (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , etcétera), que están involucradas en la expresión de CYP450, quimiocinas (como IL-8 y MIP-1 *alfa*), moléculas de adhesión (especialmente ICAM, VCAM y E-selectina), enzimas inducibles (COX-2 e iNOS), receptores inmunológicos, así como proteínas implicadas en la progresión del ciclo celular, en la apoptosis y en la carcinogénesis. El NF- $\kappa$ B se induce por estrés oxidativo, donde los complejos flavocitocrómicos NADPH oxidasa y NADPH oxidorreductasa están involucrados en la producción de ROS.

## LA INDUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO POR Xbs Y An A TRAVÉS DE LOS COMPLEJOS FLAVOCITOCRÓMICOS NADPH OXIDASA Y NADPH OXIDORREDUCTASA

En ambas defensas (Fig. 1) participa un complejo de citocromos, el CYP450 y el complejo flavocitocrómico b558, NADPH oxidorreductasa y oxidasa, además del NADH para la transferencia de electrones, la generación de ROS y el estrés oxidativo, el cual participa en la inducción de otras proteínas, generalmente hemoproteínas antioxidantes, como sería el caso de la inducción de la superóxido dismutasa, la catalasa, la HO-1 y la glutatión peroxidasa (GPO); dependiendo del radical o la especie reactiva de oxígeno que se formó, las células responden a éste para contrarrestar el efecto del estrés.

La inducción en la síntesis de algunas enzimas antioxidantes está involucrada con los SR/PXR. Por ejemplo, la región promotora del gen inducible de la enzima óxido nítrico sintetasa (iNOS) tiene elementos del receptor constitutivo del androstano (CAR) y el pregnano (PXR) (31).

En la defensa química, dentro del retículo endoplasmático participa un complejo flavocitocrómico del CYP450, NADH y la NADPH oxidorreductasa, necesarios para las reacciones de óxido-reducción en la biotransformación, y se producen especies reactivas de oxígeno (ROS), principalmente superóxido y peróxido de hidrógeno (Fig. 1).

Mientras tanto, en la defensa inmune, particularmente en la defensa inmune inespecífica o innata, la función fagocítica conocida como estallido respiratorio es la causante de la producción de ROS por acción de la NADPH oxidasa (NOX), del complejo flavocitocrómico b558, localizada en las membranas de las células fagocitarias (macrófagos, monocitos, neutrófilos) y de los linfocitos que también fagocitan, donde el electrón del NADPH es transferido al oxígeno para formar el ion superóxido y éste es rápidamente convertido a peróxido de hidrógeno con los equivalentes reductores (H).

Con ello, en ambas defensas las enzimas inducidas, por efecto del estrés oxidativo, serían la superóxido dismutasa y la catalasa, en ese orden, además de la hemo-oxigenasa 1 (HO-1) (16).

Estudios hechos en plantas han demostrado también la participación del estrés oxidativo en el crecimiento y la síntesis de proteínas de las raíces, asociado a la actividad en la membrana de la NADPH oxidasa (NOX) (34, 35).

Existen siete isoformas conocidas de la enzima NOX, 1, 2, 3, 4, 5 y DOUX1 y 2, que están implicadas en la producción de ROS y en el estrés oxidativo, generalmente superóxido y peróxido de hidrógeno. Las NOX 1, 2, 3 y 5 se localizan en la mitocondria,

se activan por proteínas citosólicas y generan la elaboración de superóxido; NOX 2, especialmente, participa en la respuesta fagocítica de la inmunidad primaria (16), mientras NOX4, así como DOUX 1 y 2, localizadas en el RER, ocasionan la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sin embargo, NOX4 es constitutiva y las otras dos se activan por calcio, al igual que NOX 5 (Fig. 2) (Annual Meeting SFRMB, in San Antonio Texas 2013).

Se ha reportado el efecto de la plata coloidal en la inducción de lipoperoxidación (36), el estrés oxidativo y, a la vez, la inducción de la actividad de la catalasa y la HO-1 en respuesta a la producción de H<sub>2</sub>O (37). Es igualmente de interés que las enzimas antioxidantes inducibles se localizan en el RER y las constitutivas, en la mitocondria, como es el caso de la HO-1 y 2, respectivamente (38).

Algunos estudios demuestran que los metales como la plata y el estrés oxidativo son capaces de inducir la HO-1, mediante los factores de transcripción NR2F1 y NF-κβ, lo cual sugiere que podría provocar indirectamente la respuesta inmune con la inducción de ROS (38, 39).

## Xbs COMO DISRUPTORES HORMONALES (EDCs) Y LOS RECEPTORES NUCLEARES

Finalmente, se analizará la inducción de ambas defensas desde la perspectiva de la disrupción endocrina, problema emergente de salud medioambiental que ha cuestionado algunos de los paradigmas en que se fundamentan el control y la reglamentación del uso de los compuestos químicos, y que anticipa el impacto sobre la salud humana del efecto combinado de los Xbs ambientales, altamente liposolubles, de gran persistencia y resistencia, que se comportan como hormonas porque compiten con los receptores nucleares entre ellos los esteroideos (SR). Éstos participan en la síntesis y regulación de las hormonas femeninas (esteroides) y masculinas (andrógenos). Existen estrógenos derivados de productos naturales como los fitoestrógenos, la quercetina, la genisteína, el resveratrol, el cumestrol y uno más potente, el dietilestilbestrol (DES); la mayoría deriva de la familia de los flavonoides, cumestanos y lignanos (9).

El efecto que tienen los EDCs en la salud no es un tema nuevo, sin embargo es un asunto muy preocupante para la salud pública y el medio ambiente. A comienzos de los años 60 Raquel Carson, en su libro *Primavera silenciosa*, advirtió el peligro de ciertos compuestos químicos sintetizados empleados en el control de plagas agrícolas, que estaban difundidos en todo el planeta y afectaban tanto la fertilidad como la conducta sexual de las aves. Igualmente, en 1979 el Instituto Nacional de Salud y Medio Ambiente Americano (NIEHS) celebró la conferencia

“Estrógenos en el ambiente”, donde se constató la presencia en el entorno de compuestos químicos con propiedades hormonales, no se analizó su impacto en la salud ni en la diversidad del ambiente.

Las xenohormonas o EDCs compiten por el SR/SXR/PXR, entre otros receptores nucleares, y alteran el balance de estrógenos y andrógenos, es decir, generan una pérdida de homeostasis del equilibrio hormonal. En la actualidad, en vez de un control como el que se ha hecho con el DDT (que aún persiste en el ambiente), nuevos compuestos sintetizados de estas moléculas se siguen utilizando en productos infantiles (biberones, cremas solares). Dichos compuestos son, por ejemplo, los bisfenoles provenientes de las resinas epoxi, el policarbonato, las dioxinas, las benzoflavonas, los ftalatos de los ablandadores y aditivos de plástico, empleados en los biberones o chupones, y el tributil estaño contenido en las pinturas, que afectan a los niños quienes son los más expuestos y sensibles a éstos, debido a la expresión diferencial de los CYP450 (40).

Actualmente, existen más de 500 Xbs considerados como EDCs; entre los más estudiados están los plaguicidas, lignanos, dioxinas, ftalatos, benzoflavonas, bisfenoles y metales. El efecto que producen podría deberse específicamente a que compiten por los receptores esteroideos o, inespecíficamente, a su afinidad con los grupos tioles y la reducción de las uniones disulfuro presentes en los receptores nucleares, particularmente el que aquí se aborda, SR/SXR/PXR. Cabe mencionar que los receptores esteroideos se localizan ampliamente en todas las células, principalmente en el cerebro; en consecuencia, los EDCs tendrán una afectación mayor en el nivel del sistema nervioso y no sólo en los dimorfismos sexuales. Aunque el efecto también podría darse en el nivel de otros receptores nucleares involucrados en el metabolismo basal y la regulación hormonal, como el PPARs, RXR y el receptor de tiroxina.

### **INDUCCIÓN DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA DESDE LA PERSPECTIVA DE LOS RECEPTORES ESTEROIDEOS**

El mecanismo de defensa química consta de dos fases que están relacionadas y acopladas. En la primera o fase I participa el complejo enzimático CYP450; aquí, en muchas ocasiones, los sustratos se preparan para ser conjugados por enzimas de la segunda etapa o fase II, en particular el CYP450 2D9 y el 2D6, los cuales forman parte también del metabolismo de moléculas de tipo esteroideo y se encuentran articulados con la actividad de las sulfotransferasas y sulfatasas (3). En este sentido, se sabe que EDCs como los bifenilos halogenados generan metabolitos activos (22 dibromobifenilo

y 4,4 dibromofenil) y alteran el equilibrio de los estrógenos; de igual manera, se ha visto que sus metabolitos inhiben a las sulfotransferasas y sulfatasas (41, 42).

Es la fase II en la que, mediante enzimas como las transferasas, se introducen moléculas polares en el metabolito que se produjo o lo hacen directamente en el Xbs confiriéndole más solubilidad. Esta molécula introducida podría ser el ácido glucurónico por la UDP-glucuroniltransferasa (UGTs), el glutatión por la glutatión transferasas (GSTs) o el radical sulfato por las sulfotransferasas (SULTs). En el caso del sulfato, se requiere también en el metabolismo tanto de estrógenos y de los ácidos biliares como de los EDCs, donde participan las sulfotransferasas y sulfatasas (41, 42). Así, la actividad de estas enzimas involucradas en el metabolismo de esteroideos y ácidos biliares podría verse afectada en su proporción por efecto de los EDCs, que competirían por ellas para su metabolismo y, por tanto, alterarían no sólo la homeostasis hormonal y el metabolismo sino también la citotoxicidad celular, ya que las sulfatasas, sobre todo las ácidas, están involucradas en procesos necróticos asociados a procesos inflamatorios de la respuesta inmune.

Se sabe que en las alergias la actividad de las sulfatasas está disminuida; en cambio, en la inflamación y el asma se encuentra elevada. Además, las sulfatasas juegan un papel muy importante en el metabolismo tanto de hormonas como de muchos Xbs. Posiblemente, en los efectos tan discordantes intervenga además de la estructura molecular del Xbs, el mecanismo de entrada.

Los Xbs altamente liposolubles, como los EDCs, de acuerdo con su liposolubilidad y peso molecular, entrarían por difusión o por vesículas de caveolina y no alcanzarían directamente a los lisosomas, pero afectarían las membranas de otros organelos como las mitocondrias y el núcleo, participando en la disrupción hormonal y/o en la apoptosis; asimismo, aquellos más polares y con mayor peso, si se asocian a un receptor membranal, entrarían por endocitosis mediada por un receptor o por pinocitosis; involucrando directamente a los lisosomas y liberando las sulfatasas, lo que aumentaría su actividad y, por tanto, causaría la necrosis implicada en la citotoxicidad, en la inflamación y quizás, en la autoinmunidad.

Los EDCs, según el peso molecular, entrarían por difusión pasiva; al competir por el metabolismo de esteroideos, disminuyen la actividad de las sulfatasas, con consecuencias en el metabolismo de las hormonas, y los ácidos biliares que conducen a alergias. Tal vez también se afecte la absorción de grasas y la autoinmunidad.

En el caso de la plata metálica entraría por di-

fusión simple mientras que la plata iónica utilizaría un transportador de membrana y ambas al igual que la forma coloidal entrarían por pinocitosis fluida (2).

En el caso de la plata coloidal, en su calidad de coloide, combinada con la albúmina podría comportarse como un Xbs de tipo hormona permisible y así actuar como un disruptor endógeno (41). Existe la posibilidad de que induzca la síntesis de CYP450, en particular el 2D6 o 9, directamente o a través de la inducción de receptores SR/SXR/PXR, ya que según se sabe, el metabolismo de la albúmina se regula por los receptores nucleares, en especial los GR, y, por ello, podría normar la defensa química e inmune, o bien, de forma inespecífica, unirse a los dominios de grupos tioles presentes en la mayoría de los receptores nucleares, como los SXR/SR/PXR, donde los glucocorticoides participan en la síntesis de los receptores CAR y PXR, así como en la activación de las familias de CYP450 2C y 3A, vía receptor PXR.

Por otra parte, en el caso del CYP450 2D6, al igual que el 2E1, no está claro cómo es su inducción, pues el antibiótico rifampicina y la dexametasona lo inducen, pero este estímulo no se ha asociado a ninguno de los receptores nucleares convencionales (CAR, SXR/SR/PXR, RXR, PPAR, ArR). En dicha inducción participa un factor de transcripción de un receptor nuclear huérfano descrito en hepatocitos para una proteína hepática, HNF4 $\alpha$ , altamente conservado y que juega un papel muy importante en la regulación de la gran familia de CYP450 (33).

Toda la orquestación de la respuesta inmune, al igual que la química, se modula a través de factores de transcripción ya sea directamente sobre los receptores nucleares (CAR, SXR/SR/PXR, RXR, PPAR, ArR) (43) o indirectamente por medio de los receptores nucleares huérfanos (HNF4 $\alpha$ , NR2F1) (33) o factores de transcripción inducidos mediante vías de señalización, entre ellas la del estrés oxidativo.

### **ACTUACIÓN DE LA PLATA COLOIDAL COMO Xbs Y Ag**

Ya hemos mencionado que las moléculas muy pequeñas como los metales y los iones<sup>+</sup> (con carga neta), tal es el caso de los Ag<sup>+</sup>, no inducen ni la defensa inmune ni la química, sin embargo –como reiteradamente hemos indicado– la plata (al igual que los metales pesados), en su calidad de coloide (unidos a proteínas), puede actuar como un An o como un Xbs pues donde el ion o el metal operarían como hapteno, al igual los Xbs o radicales libres de bajo peso molecular generados durante los procesos de metabolización de los Xbs, también al

unirse con las proteínas, estarían actuando como AnT-dependientes y, con ello, inducirían la defensa inmune y la inmunotoxicidad.

La formación de los coloides le permite a los iones, como a muchas moléculas que interactúan con proteínas, transportarse a través de los fluidos y mantener cierta biodisponibilidad de manera natural, como en el caso del hierro con la hemoglobina.

La unión de los iones con las proteínas se debe a su afinidad con los grupos funcionales de proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos como carboxilos, aminos, imidas, etcétera; pero principalmente con los grupos sulfhidrilos o tioles, que tienen un pKa de alrededor de 8.5, cercano al pH fisiológico de 7.4. Además, alrededor del 10% estaría en forma de radical o ionizado; sólo así, la Ag<sup>+</sup> se unirá a proteínas y únicamente como coloide será capaz de estimular tanto la defensa inmune como la química. Las proteínas utilizadas para formar la plata coloidal comercial son la albúmina y la gnetina; la primera tiene un peso molecular de 68 kDa y en su estructura posee 16 puentes disulfuro, que probablemente le permitan formar el coloide y transportar más iones. La unión podría darse porque las uniones disulfuro se disociaron por el pH o por el poder reductor de la misma Ag, capaz de romperlas; sin embargo, también es posible que los iones Ag<sup>+</sup> o metálicos Ag<sup>0</sup> establezcan interacciones de Van Der Waals con las uniones disulfuro de la albúmina y sólo alcancen a contener un número limitado de iones, lo que conduciría a romper el estado coloidal y tal vez la misma estructura de la proteína.

También el poder reductor de los iones divalentes como calcio, mercurio, cadmio, arsénico y la misma plata, seguramente, es capaz de romper las interacciones disulfuro alterando el contenido de tioles libres y uniones disulfuro de las proteínas, los cuales juegan un papel muy importante en la regulación celular. Posiblemente, el poder reductor de los iones mencionados y del hierro de forma natural, entre otros, modifique la estructura molecular de las proteínas al romper las uniones disulfuro y haga que se reorganicen las proteínas, con lo cual se entendería mejor el fundamento epigenético – porque muchas proteínas no están codificadas en el DNA– y la homología de las proteínas no codificadas con las codificadas y la presencia de pseudogenes.

El hecho de que la Pc actúe como Xbs podría también deberse a que, al igual que estos últimos, la albúmina se metaboliza en hígado y riñones, y por su estructura molecular, entraría a la célula por difusión de manera permisible como las hormonas de naturaleza liposoluble (25), utilizando un receptor citoplasmático de modo semejante a las moléculas liposolubles (esteroides y cannabinoides),

interactuando con receptores nucleares e induciendo la síntesis del CYP450 y de las IgG (25, 44, 45). Es decir, actúa como factor de transcripción de los receptores nucleares (CAR, PXR, RXR, GR, SR/SXR, tiroxina) o a través de factores de transcripción de vías de señalización.

Sin embargo, debido a su alto peso molecular, lo más probable es que se requiera de un receptor para su transporte en el nivel celular, esto es, estaría entrando por endocitosis o simplemente por pinocitosis fluida. En ambos casos, de entrada, las vesículas formadas alcanzarían los lisosomas y ahí la albúmina o la glicoproteína del coloide podrían metabolizarse y liberarse la  $Ag^+$ , que alteraría el transporte de protones del lisosoma dañándolo y, por tanto, liberando parte de su contenido al citoplasma. Se sabe que el metabolismo de la albúmina produce la formación de péptidos de tipo amiloideo de alrededor de 12 a 14 kD (6, 25, 44), que tienen que ver con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. Existe también la posibilidad de que la  $Ag^0$  entre directamente por difusión pasiva, mientras que los iones  $Ag^+$  compitan por los transportadores de protones o, durante la pinocitosis, se liberen los  $Ag^+$  del coloide y estimulen la expresión del CYP450 o de la IgG a través de los elementos de respuesta a los metales, o bien, quizás la producción de  $H_2O_2$  active factores de transcripción comunes y éstos sean los responsables de la expresión de genes involucrados. Este último mecanismo es uno de los más estudiados entorno a la expresión de genes.

De la misma forma, es posible que se una inespecíficamente a receptores membranales externos ricos en grupos tioles y, mediante vías de señalización interna (MAPK), estimule también la expresión de proteínas que operen como factores de transcripción, NF- $\kappa\beta$  y/o NR2f1, entre otras.

Por último, en respuesta a sus efectos, paralelamente podría activar genes mediante los elementos de respuesta –que son sitios de unión al DNA y sirven para impulsar la expresión de los genes– en diferentes niveles de acuerdo con el efecto. 1) Por la producción de estrés oxidativo, probablemente haga funcionar elementos de respuesta a éste (ERE); 2) En su calidad de metal, igualmente puede activar elementos de respuesta a metales (MRE); 3) Si actuara como xenohormona, la albúmina pondría en marcha los elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE) y esteroideos SXR/SR; 4) Finalmente, si la plata coloidal tuviera un efecto reductor sobre las uniones disulfuro y las estuviera rompiendo, se liberaría calor, el cual activaría los elementos de respuesta de choques térmicos (HSE). Por tanto, de una manera específica o inespecífica, la Pc podría inducir la expresión de genes, que dependerán de los mecanismos de entrada.

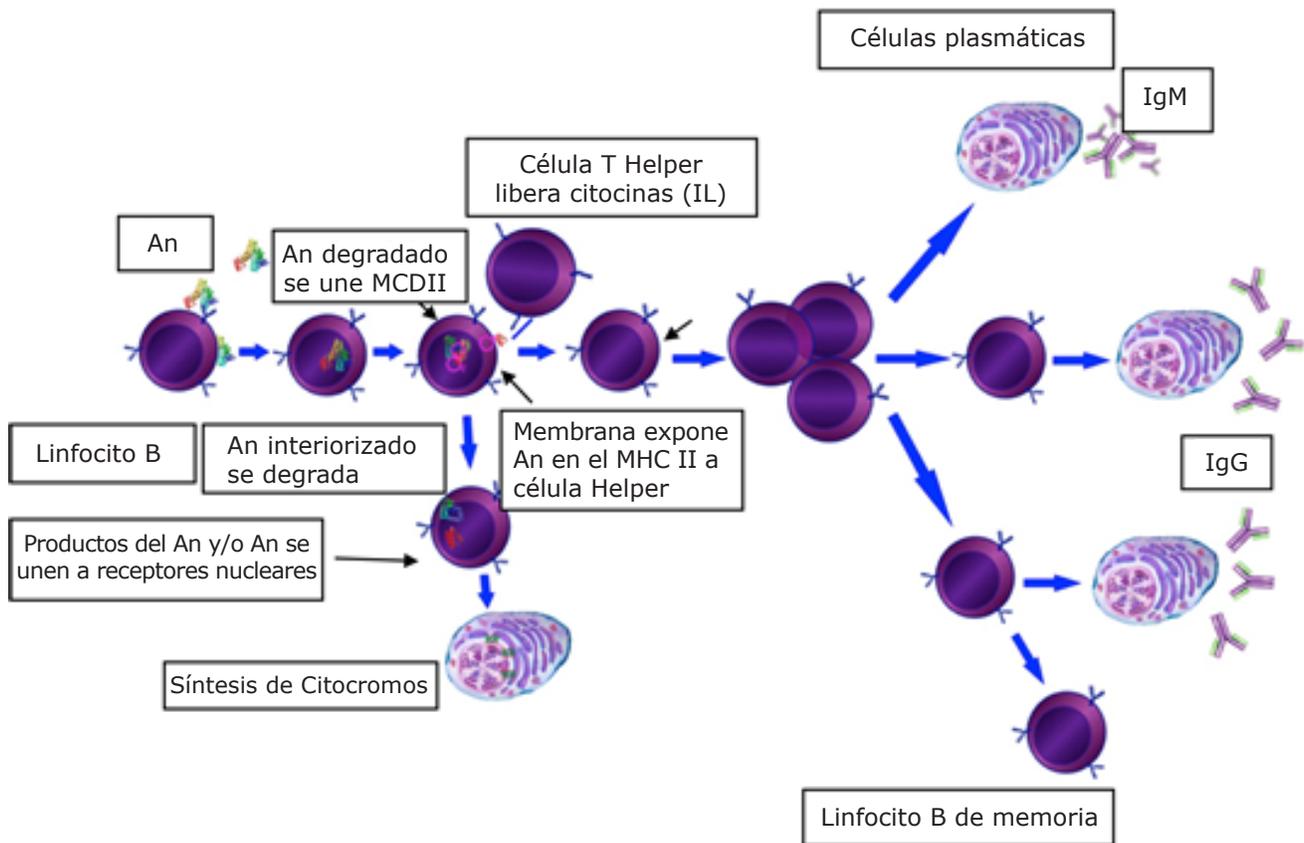
No obstante, *la inducción de ambas respuestas se debería al hecho de que (Fig. 2) la plata coloidal entra por pinocitosis o endocitosis y, durante la fusión con el lisosoma, se afecte la membrana lisosomal y se liberen: los iones plata, el propio coloide de plata y derivados del metabolismo del coloide, los cuales se unirían a los elementos del complejo mayor de histocompatibilidad (MCH II) por medio vesícula exocítica, que durante la exocitosis el o los An se expondrían por la membrana del linfocito B y así ser reconocidos por las células TH las cuales liberan citocinas para que se induzca la proliferación y diferenciación del linfocito B a célula plasmática, para la producción de IgG y así estimular la defensa inmune; a su vez, los  $Ag^+$  y/o el coloide o derivados de la albúmina liberados, podrían interactuar con los receptores nucleares, e inducir directamente la síntesis de proteínas, entre ellos las de los citocromos P450, dependiendo del receptor al que se unan, y así estimular la defensa química, además la unión a los receptores nucleares desacoplaría la respuesta hormonal y por tanto actuar como EDCs.*

## **EL EFECTO DE LA PLATA COLOIDAL EN LA EXPRESIÓN DE GENES DE LA DEFENSA QUÍMICA Y LA INMUNE Y LA INMUNOTOXICIDAD**

Los metales pesados y la propia plata coloidal pueden actuar como An o Xbs, particularmente EDCs, por su afinidad con las proteínas nucleares ricas en uniones disulfuro.

Continuamente hemos mencionado que el blanco perfecto de los efectos de los metales y los iones como la plata son los grupos tioles y las uniones disulfuro (5); con ello podría explicarse cualquiera de los mecanismos anteriores y la inmunotoxicidad. Esto se debe a que mediante la modificación de la relación disulfuro-tioles podrían activarse o inhibirse genes, pues–como reiteradamente lo hemos dicho–tanto los receptores membranales y nucleares como los factores de transcripción (dedos de zinc) presentan dominios ricos en uniones disulfuro. A través de la unión a éstos y su desestabilización, podrían ponerse a funcionar o alterar genes asociados a la expresión de proteínas de ambas defensas, de tal manera que de una forma no específica, esta interacción modificará la expresión de genes específicos y tempranos asociados con receptores nucleares.

Incluso, también, una gran mayoría de proteínas, como las IgG, el CYP450 y los receptores membranales entre ellos los MCH I y II que poseen uniones disulfuro, podrían ser blanco de los metales, dado que la plata, al igual que otros iones reductores, puede tener efectos proteolíticos al romper las

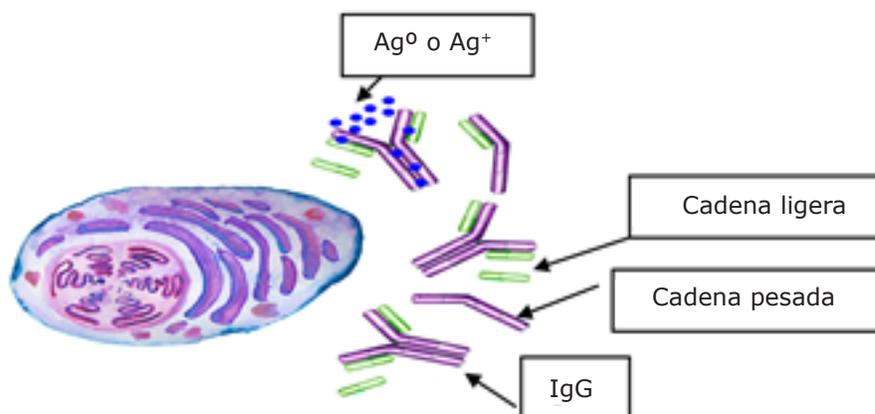


**Figura 2.** El antígeno (Plata coloidal u otro complejo proteico) se une a receptor del linfocito B o se interioriza por pinocitosis o endocitosis mediada por receptor en el interior se une a endosoma lisosomal donde se degrada, en la **defensa inmune**, el material degradado se une al complejo mayor de histocompatibilidad II (MCHII) mediante una vesícula exocítica al liberarse al exterior, éstos son expuestos en la membrana plasmática por el linfocito, así las células Helper al reconocer cambios MCHII liberan citocinas al linfocito B para inducirlo a proliferar y diferenciarse en distintas clonas de células plasmática de acuerdo al estímulo, éstas puede permanecer de isotipo y liberar IgM, cambiar de isotipo y liberar IgG que es una respuesta más específica tras una segunda exposición, o quedar como linfocito de memoria (22). En el caso de la **defensa química** el material interiorizado al degradarse por el lisosoma, este se puede romper y liberar el contenido (metabolitos del An, PC o Ag<sup>+</sup>) el cual interactúa directamente con los receptores nucleares, o también la vesícula lisosomal, directamente puede liberar su contenido al núcleo y éste interactuar con los receptores nucleares, desacoplando la regulación hormonal, e induciendo la síntesis de proteínas entre ellas la de los citocromos (CYP450), por tanto actuar como **disruptor hormonal**.

uniones disulfuro de las proteínas alterando su estructura y actividad, incrementando la reactividad de los tioles libres. En el caso de las IgG, posiblemente cambie la proporción de las cadenas pesadas y ligeras, lo que comprometería la defensa inmune generando la inmunotoxicidad, como en el caso de la inmunosupresión, ya que estas IgG alteradas perderían su capacidad para reconocer el An o atraer los otros elementos involucrados en la defensa inmune, inhibiendo o exacerbando la inflamación. Además, el contenido de cadenas ligeras y pesadas podría tener consecuencias en el aclaramiento de las proteínas, en la filtración que realizan los riñones, conduciendo a daños como la insuficiencia renal.

Además, también la ruptura de receptores de la familia de receptores MCH 1 perteneciente a la superfamilia de las Ig, podría ser la causa del aumento en la  $\beta_2$ -microglobulina marcador de exposición a metales, y enfermedades inmunoproliferativas e inmunoreactivas (46).

Al igual, la relación entre los dos mecanismos de defensa podría estar dada por la ruptura de las uniones disulfuro, ya que se ha identificado que la cadena ligera *kappa* de la IgG tiene un 100% de homología con el CYP450 2D6 (3). Lo anterior implicaría que las IgG se abrieran y, gracias a esto, se registrara una disminución en la actividad de las IgG (inmunotoxicidad) y un aumento en la cadena ligera *kappa*, la cual pudiera tener actividad de CYP450 2D6 y



**Figura 3.** Un esquema de cómo los iones plata o el propio coloide podrían desestabilizar las uniones disulfuro de la IgG generando distintos tipos de: cadenas ligeras libres, cadenas pesadas, cadena ligera con una cadena pesada, IgG sin una de las cadenas ligeras etc. y que podrían reasociarse y generar nuevas estructuras proteicas.

éste, actividad de sulfatasa, puesto que tienen un dominio de aminoácidos compartidos –el 2D6 hasta el momento se ha asociado con la acción de hidroxilasa y de metilasa y en la Fase II con las enzimas sulfotransferasas–. Si el CYP450 2D6 se relaciona con la cadena *kappa* o viceversa, esto explicaría su polimorfismo, pues es uno de los CYP450 que más polimorfismos y pseudogenes posee.

También sería factible entender el efecto de los Xbs ambientales persistentes del tipo EDCs en la respuesta inmune y hormonal, porque al momento de entrar, despolarizan la membrana movilizando el calcio; su incremento sería el responsable de romper las uniones, mientras que en lo relativo a los metales pesados, éstos serían directamente los encargados de romper las uniones disulfuro las cadenas de las IgG y de otras moléculas vitales donde su estabilidad y funcionamiento depende de éstas. Además, se sabe que muchos receptores de membrana y nucleares tienen dominios de Ig, abriendo la posibilidad de generar varias formas de proteínas y actividades de acuerdo con la ruptura y el nuevo arreglo de las uniones disulfuro que se da entre los grupos tioles libres de éstas, lo que llevaría a entender mejor los aspectos dados en la relación y homología entre proteínas codificantes o no codificantes tan diferentes, y a tener otras herramientas para comprender el aspecto epigenético. De acuerdo con éste, en las células, de manera natural, el calcio y el fierro, entre otros, son iones abundantes y de modo controlado participarían en este remodelamiento de proteínas.

La desregulación de los iones vitales como los externos sería la causa de alteraciones fisiológicas anormales; esto nos permitirá desentrañar cómo compuestos ambientales con propiedades químicas tan disímiles tienen efectos similares y pleiotrópicos en la respuesta inmune, química, hormonal y neuronal, como consecuencia de su afinidad a distintos blancos comunes que presenten uniones disulfuro y grupos tioles, pues como ya se mencionó éstos participan activamente en la actividad de proteínas asociadas con la regulación celular y la expresión genética.

Finalmente, la aparición de las patologías actuales que aquejan a la población, como diabetes, obesidad, mal funcionamiento de la tiroides, alteraciones del aparato reproductor, disfunciones sexuales, el aumento de enfermedades relacionadas con neurotoxicidad y la baja de defensas involucradas en las infecciones y el cáncer, además de la autoinmunidad, alergias e hipersensibilidad, está asociada a la respuesta de la defensa química, inmune y factores endocrinos como consecuencia de la exposición crónica a los Xbs ambientales del tipo EDCs presentes en la vida cotidiana y, en particular, al constante contacto con metales (plomo, mercurio, arsénico, cromo, cadmio) y en particular la plata coloidal, que es un contaminante, de baja toxicidad, al que todos estamos expuestos y del cual desconocemos las vías de exposición, por lo que las instancias de salud y la población en general deben tomar medidas ante el uso de productos que contengan metales como de productos que contengan compuestos químicos con propiedades de EDCs.



## REFERENCIAS

1. Coutiño-Rodríguez EMdR, Pérez Gutiérrez RA (2007) Plata y sus compuestos. *Altepepaktli* 3 (5):29-39.
2. Coutiño Rodríguez EMdR, Pérez Gutiérrez RA, García Román R, Hebert Doctor LA (2010) Plata coloidal y la salud. *Universalud (antes Altepel kli)*. 6(12).
3. Coutiño-Rodríguez EMdR (2011) Defensa Química y CYP450: relación con la defensa inmune. *Revista de Investigación Médica de la Uv*. 11(2):53-63.
4. Ulrich M, Zanger, Matthias Schwab (2013) Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation gene, expresion, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*. 138:103-141.
5. Coutiño-Rodríguez EMdR, Purata A, Hernández Cruz P (2010) Citocromo P450 Biomarcador de exposición, terapéutico, toxicológico y carcinogénico. *Revista de Educación en Bioquímica*. 29(2):39-52.
6. Lefèvre P, Badetti C (1996) Métabolisme de l'albumine. *Ann Fr Anesth Réanim*. 15:464-469.
7. Coutiño- Rodríguez EMdR (2012) Colloidal Silver: activity as Xenobiotic or inmunogen Free Radicals *Biology and Medicine*. 52(2 supplement):S28.
8. Wong KK, Cheung SO, Huang LM, Niu J, Tao C, Ho CM, Che CM, Tam PK (2009) Further evidence of the antiinflammatory effects of silver nanoparticles. *Chem Med Chem*. 4:1129-1135.
9. Shanle KE, Xu W (2011) Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling: Identification and mechanism of action. *Chem Res Toxicol*. 24(1):6-19.
10. Veraldini A, Costantini AS, Bolejack V, Miligi L, Vineis P, Van Loveren H (2006) Inmunotoxic Effects of Chemicals: A matrix for Occupational and Environmental Epidemiological Studies. *American Journal of Industrial Medicine*. 49:1046-1055.
11. Quinones L, Lee K, Varela F N, Escala M, Garcia K, Godoy L, Castro A, Soto J, Saavedra I, Caceres D (2006) Cancer pharmacogenetics: study of genetically determined variations on cancer susceptibility due to xenobiotic exposure. *Rev Med Chil*. 134(4):499-515.
12. Galli E, Feijó L (2002) Citocromo P450 y su importancia clínica *Revista de Neuropsiquiatría*. 65:187-202.
13. Barrio ICV (2013) La exposición a determinados compuestos químicos pueden provocar desequilibrios hormonales. En 55 Congreso de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición. Granada España.
14. Bandres F. Aspectos Fundamentales del CYP450, C.D.U. Madrid, Editor.
15. Molina Ortiz D, Camacho Carranza R, Domínguez Ramírez AM, Vences Mejía A (2012) Modulación de la expresión de enzimas del CYP450 hepáticas durante las etapas fetales pediátricas. *Revista de Educación en Bioquímica*. 31(2):60-71.
16. Angosto MC. Estallido respiratorio. Disponible en: [http://api.ning.com/files/J4x8JQHvavQFFeIZPZM68J0TaXV35EeVKNyDeM-5Xf\\*4Pi75Z9fKWJF7NLWCKnSqyUwvt-2RC0ySfQXRZnf\\*SOoC44PXUNJ0/estallido.pdf](http://api.ning.com/files/J4x8JQHvavQFFeIZPZM68J0TaXV35EeVKNyDeM-5Xf*4Pi75Z9fKWJF7NLWCKnSqyUwvt-2RC0ySfQXRZnf*SOoC44PXUNJ0/estallido.pdf).
17. Krzystyniak K, Tryphonas H, Founier M (1995) Approaches to the evaluation of chemical-induced immunotoxicity. *Environmental Health Perspectives*. 103(ssuplement 9):19-22.
18. Vega-López A, Domínguez-López ML, Jiménez-Zamudio L, García-Latorre E (2009) Setenta y cinco años de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas in Inmunotoxicidad, protocolos, para su estudio: revisión bibliográfica I.P. Nacional, Editor. Jorge Ortiz Reyes, Jacinto Elías, Sedeño Días Eugenia López López México.
19. González FJ, Jaiswal AK, Nebert DW (1986) ed. *Genes: Evolution, Regulation and Relationship to human Cancer and Pharmacogenetics*. ed. C.S.H.S.o.Q. Biology. Vol. LI., Cold Spring Harbor Laboratory: New York. 879-890.
20. Tharanath Rao BR (1999) Environmentalty induced autoimmune disease: Potencial mechanism. *Environmental Health Perspectives*. 107(supplement 5 ):737-742.
21. Ahmed SA, Hissong BD, Verthelyi D, Donner K, Becker K, Karpusoglu-Sahin E (1999) Gender and risk of autoimmune disease: Posible role of estrogenic compounds. *Environmental Health Perspectives*. 107(supplement 5):681-686.
22. Roderick N (2005) Inmunología, in *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick and Adelberg J.S.B.* Geo F Brooks, and Stephan A morse, Editor Manual Moderno: México.
23. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (2008) ed. *Celular and Molecular Immunology*. 7 edition ed. Elseveir.

24. Sánchez Vega TJ (2011) Inmunología, en Microbiología y Parasitología Médicas. Mendez Editores: México D.F.
25. Lehninger A (2000) ed. Bioquímica: Barcelona. 513.
26. Díaz-Zagoya JC, Hicks JJ (1988) ed. Bioquímica e Inmunología. 1era Ed ed. Fac. de Medicina UNAM: México.
27. Shin SH, Ye MK, Kim HS, Kang HS (2007) The effects of nano-silver on the proliferation and cytokine expression by peripheral blood mononuclear cells. *International Immunopharmacology*. 7:1813- 1818.
28. Viedma Contreras JA (2005) Aspectos clínicos y de laboratorio de las proteínas Bence Jones. *Cont Lab Clin*. 8:27-32.
29. Bigazzi PE (1999) Metals and Kidney Autoimmunity. *Environmental Health Perspectives*. 107(supplement 5):753-764.
30. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA. ATSDR (1990b) Toxicological Profile for Silver Atlanta, GA; US Department of Health Service, Public Services, P. Services, Editor. Atlanta GA. p. 145.
31. Guillete LJ (2006) Endocrine disrupting contaminants-beyond the dogma. *Environmental Health Perspectives*. 114(suplment 1):9-12.
32. Pascussi JM, Gerbal-Chaloin S, Fabre JM, Maurel P, Vilarem MJ (2000) Dexamethasone Enhances Constitutive androstane receptor expression in human hepatocytes: Consequences on Cytochrome 450 Gene Regulation. *Molecular Pharmacology*. 58(6):1441-1450.
33. Hwang-Verslues WW, Sladek FM (2010) HNF4 $\alpha$ -Role in drug metabolism and potentially drug target. *Current opinion in Pharmacology*. 10:698-705.
34. Foreman J, Demidchik V, Bothwell JH, Mylona P, Miedema H, Torres MA, Linstead P, Costa S, Brownlee C, Jonesk JDG, Davies JM, Dolan L (2003) Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant growth *Nature*. 422(6930):442-446.
35. Ekstrom G, Ingelman-Sudberg M (1989) Rat liver microsomal NADH-supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanol-inducible cytochrome P450. *Biochem Pharmacol*. 38:1313-1319.
36. Marín Llera JC, García Román R, Arroyo Helguera O, Coutiño Rodríguez EMdR (2012) Efecto de la Plata Coloidal en la lipoperoxidación de linfocitos humanos. *UniverSalud (antes Altepel kli)*. 8(16):26-31.
37. Avila Lagunes L, Coutiño Rodríguez EMdR (2013) Coloidal Silver: Induction of heme oxygenase 1 and its association with 8 isoprostanes. in 20th Annual Meeting of the Society for Free Radicals Biology and Medicine. Grand Hilton in San Antonio Texas USA: SFRM.
38. Avila Lagunes L, Arroyo Helguera O, Coutiño Rodríguez EMdR (2013) Hemoxigenasa 1: Su importancia en los mecanismos de oxidación y su relación con enfermedades no infecciosas. *UniverSalud (antes Altepel kli)*. 9(17):56- 61.
39. Orozco- Ibarra M, Pedraza-Chaverrí J (2010) Hemooxigenasa: aspectos básico y su importancia en el sistema nervioso central. *Arch Neurocién (Mex)*. 15(1):47-5555.
40. Rioja Zuazu J, Bandres EE, Rosell CD, Ricón MA, Zudaire Bergera J, Gil Sainz M, Rioja Sainz LA, Garcia Foncillas J, Berrián PJ (2007) Expresión del receptor de esteroides y xenobióticos (SXR) y el gene multiresistencia a drogas (MDRI) y de los polimorfismos de las enzimas GSTs, SULTs y CYP en tumores vesicales profundos. *Actas Urol. Esp*. 31(19):1107-1116.
41. Jaramillo Juárez F, Rincón Sánchez A, Rico Martínez R (Coord) ed. Contaminación Ambiental. 1era ed. 2008, Universidad de Aguascalientes y Universidad de Guadalajara: México.
42. Nussbaumer P, Billich A (2004) Steroid sulfatase inhibitors. *Medical Research*. 24(4):429-576.
43. Baier G, Hermann-Kleiter N (2014) Orphan nuclear receptor NRF6 acts as an essential gatekeeper of Th17 CD4<sup>+</sup> T cell effector functions. *Cell communication & Signaling*. 12(1):38-50.
44. Brunskill NJ, Stuart J, Tobin AB, Walls J, Nahorski S (1998) Receptor mediated endocytosis of albumin by kidney proximal renal cells is regulated by phosphatidyl inositide. *J Clin*. 101(10).
45. Ramos Atance JA, Fernández Ruíz J (2000) Sistema cannabinoide endógeno, ligandos y receptores acoplados a mecanismos de transducción de señales. *Sistema cannabinoide endógeno*. 12(suplemento 2):59-81.
46. Larregina AE, Tentoni J, Bermúdez PM, Larregina A, Polini NN (2009) Intervalos de referencia para la  $\beta$ -2 microglobulina sérica empleando dos enzimoimmunoensayos. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 43(1):27-30.