

# ESTUDIOS IN VIVO E IN VITRO DEL METABOLISMO DEL MANGANESO. MANGANISMO CRONICO EXPERIMENTAL Y CATECOLAMINAS

Ernesto Bonilla \*

## RESUMEN

1.— Las glándulas submaxilares de rata incorporan el  $Mn^{54}$ , inyectado por vía parenteral, y la radioactividad (cpm x mg de tejido) permanece constante en ellas durante varios días, en tanto que en el hígado disminuye progresivamente, hasta niveles insignificantes. Esto es debido probablemente al desplazamiento del isótopo, producido por el manganeso estable de la dieta, el cual llega en mayor cuantía al hígado, una vez que se establece la circulación enterohepática del metal.

Las glándulas submaxilares no parecen excretar el manganeso en cantidades significativas porque ni aún en los casos de bloqueo de la ruta biliar, se observan diferencias entre el contenido de manganeso de las glándulas de las ratas controles y de los animales con el colédoco obstruído. En las ratas sobrecargadas con manganeso estable la incorporación del  $Mn^{54}$  en las glándulas submaxilares no difiere de la de las ratas normales. Los resultados obtenidos parecen indicar que el manganeso llega a las glándulas submaxilares y se une a las estructuras membranosas,

---

\* Instituto de Investigación Clínica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

La presente tesis incluye observaciones inéditas y otras publicadas con los siguientes títulos:

1. Bonilla E. y Diez-Ewald M: Role of Submaxillary Glands in Radiomanganese Metabolism. *Experientia* 28: 1152 - 1153, 1972.
2. Bonilla E. y Diez-Ewald M. Effect of L-Dopa on brain concentration of Dopamine and Homovanillic Acid in rats after chronic manganese chloride administration. *J. Neurochem* 22:297-299, 1974.
3. Bonilla E, Diez-Ewald M. y Finol Medrano J: Effect of L-Dopa in  $Mn^{54}$  incorporation by tissues. *J. Pharm Pharmac* 26:261-264, 1974.

Este Trabajo ha sido parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (Proyecto N° D.F. SI - 0123) y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia.

especialmente a las fracciones mitocondrial y microsomal, formando, posiblemente, complejos de recambio lento, metal-fosfolípido o metal-proteína.

2.— En las ratas alimentadas crónicamente por vía oral, con elevadas concentraciones de  $MnCl_2$ , se observa un descenso en las concentraciones cerebrales de Dopamina y Acido Homovanílico. Las cifras regresan a la normalidad después de la inyección de L-Dopa. Los hallazgos sugieren un disturbio en el metabolismo de las catecolaminas, en los animales sobrecargados con manganeso. Se discute la posibilidad de que las anomalías bioquímicas sean debidas a un bloqueo de la Hidroxilasa de la Tirosina.

3.— Se estudió la incorporación tisular del  $Mn^{54}$  en ratas sobrecargadas con manganeso y en sus controles. Se determinó el efecto de la administración intraperitoneal de L-Dopa en animales de cada grupo. La captación hepática fue mayor en las ratas normales inyectadas con L-Dopa. Los animales sobrecargados incorporaron menos  $Mn^{54}$  que los controles. No se observó ninguna diferencia en la incorporación de  $Mn^{54}$ , en las glándulas submaxilares de todos los grupos estudiados. En el cerebro, 2 horas después de la inyección de L-Dopa, la captación de  $Mn^{54}$  fue semejante en los animales normales y los sobrecargados, pero significativamente mayor que en las ratas que no fueron inyectadas con la amina. Efectos contrarios se detectaron en el suero ya que, los animales tratados con L-Dopa presentaron una radioactividad mas baja que los controles, lo que parece sugerir un mayor desplazamiento del radioisótopo hacia los tejidos. Se discuten los mecanismos capaces de explicar el aumento producido por L-Dopa, en la incorporación tisular del  $Mn^{54}$ . Nuestros estudios *in vitro* apoyan el concepto de que la L-Dopa forma quelatos con el manganeso y es probable que este sea el mecanismo mediante el cual se incrementa la incorporación tisular de  $Mn^{54}$ , después de la administración de L-Dopa.

4.— Los homogeneizados de hígado de ratón albino suizo incorporan  $Mn^{54}$  mediante un proceso activo, dependiente de la temperatura e inhibido por protones. Esta captación es activada por varios cationes, cuya efectividad desciende en el siguiente orden:  $Fe^{3+} > Ba^{2+} > Mg^{2+} > Sn^{2+} \geq Ca^{2+}$ . Por el contrario, el  $Zn^{2+}$  inhibió la captación del  $Mn^{54}$ . Concentraciones mayores de calcio y de hierro ( $10 \times 10^{-3} M$  y  $100 \times 10^{-3} M$ ) también disminuyen la unión del manganeso. Ninguno de los cationes monovalentes analizados ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Cu^+$ ,  $Cs^+$ ,  $NH_4^+$ ) afectaron la incorporación del  $Mn^{54}$ . Estos resultados parecen indicar que los sitios aniónicos donde se fija el  $Mn^{2+}$  son diferentes a los de los cationes monovalentes o, que éstos últimos tienen una menor afinidad por esos sitios.

# INTRODUCCION

## PARTE 1. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO.

### 1.1— Química del manganeso y sus compuestos representativos.

El manganeso, elemento aislado inicialmente por Gahn en 1774, a partir de la reducción del  $MnO_2$  <sup>(81)</sup>, es un miembro de la primera serie de los Elementos de Transición, junto con Sc, Ti, V, Cr, Fe, Co, Ni, Cu y Zn (46). También forma parte del grupo VIIa, del Sistema Periódico de Mendeleeff. Este grupo está constituido por lo que se ha denominado la "familia del manganeso" formada por Mn, Tc y Re <sup>(126, 142)</sup>. El manganeso 55 y el renio 186 son los únicos isótopos estables de ese grupo. El Re corresponde al dvi-manganeso y el Tc al eKa-manganeso de Mendeleeff (los prefijos dvi y eKa derivan del sánscrito y significan segundo y primero, respectivamente) <sup>(53)</sup>. El Tc no se encuentra en la naturaleza y sólo tiene isótopos radioactivos.

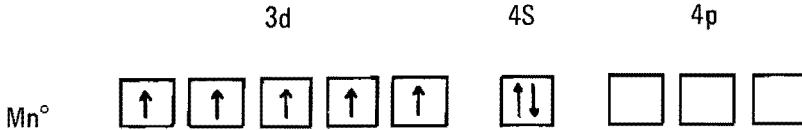
En la tabla 1 pueden observarse algunas de las propiedades físicas del manganeso.

TABLA 1

ALGUNAS PROPIEDADES DEL MANGANESO	
1- NUMERO ATOMICO	25
2- PESO ATOMICO	54.93
3- PUNTO DE FUSION (°C)	1260
4- PUNTO DE EBULLICION (°C)	1900
5- ELECTRONEGATIVIDAD	1.5
6- DENSIDAD (g/cm <sup>3</sup> )	7.2
7- PRIMERA ENERGIA DE IONIZACION (Kcal/mol)	171
8- RADIO DEL ION + 2 (Å)	0.80
RADIO DEL ION + 3 (Å)	0.66
RADIO DEL ION + 4 (Å)	0.54
RADIO DEL ION + 7 (Å)	0.46
9- E° (VOLT)	
$Mn \rightarrow Mn^{2+} + 2e^{-}$	1.18
$Mn^{2+} \rightarrow Mn^{3+} + e^{-}$	1.51
10- CONDUCTIVIDAD a 0°C, (Ohm Cm) <sup>-1</sup>	1.1x10 <sup>4</sup>

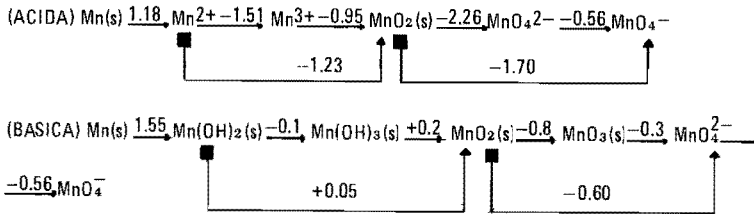
Se han preparado varios isótopos radioactivos de este elemento:  $\text{Mn}^{50}$ ,  $\text{Mn}^{51}$ ,  $\text{Mn}^{52}$ ,  $\text{Mn}^{53}$ ,  $\text{Mn}^{54}$ ,  $\text{Mn}^{56}$ ,  $\text{Mn}^{57}$  y  $\text{Mn}^{58}$ . El más utilizado, en Biología, es el  $\text{Mn}^{54}$ . En la figura 1 se señalan las características más resaltantes de los isótopos mencionados incluyendo su vida media y sus tipos de emisión.

Al estudiar la configuración electrónica del manganeso ( $1\text{S}^2 2\text{S}^2 2\text{p}^6 3\text{S}^2 3\text{p}^6 3\text{d}^5 4\text{S}^2$ ), se constata que este elemento posee 2 electrones "4S" y 5 electrones "3d" los cuales pueden ser donados o compartidos con otros átomos. En su nivel de valencia, por lo tanto, se observa la siguiente distribución.



La ocupación parcial del nivel de energía "d" le confiere al manganeso las siguientes características: a) propiedades espectrales y magnéticas; b) tendencia a formar iones complejos; c) estados de oxidación variables (Tabla 2) (154).

Según Sienko et al (154) los potenciales de óxido-reducción para el manganeso, y las especies solubles que se forman en soluciones ácidas y alcalinas, son:



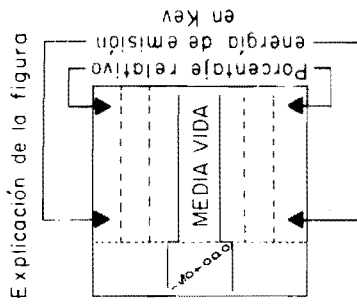
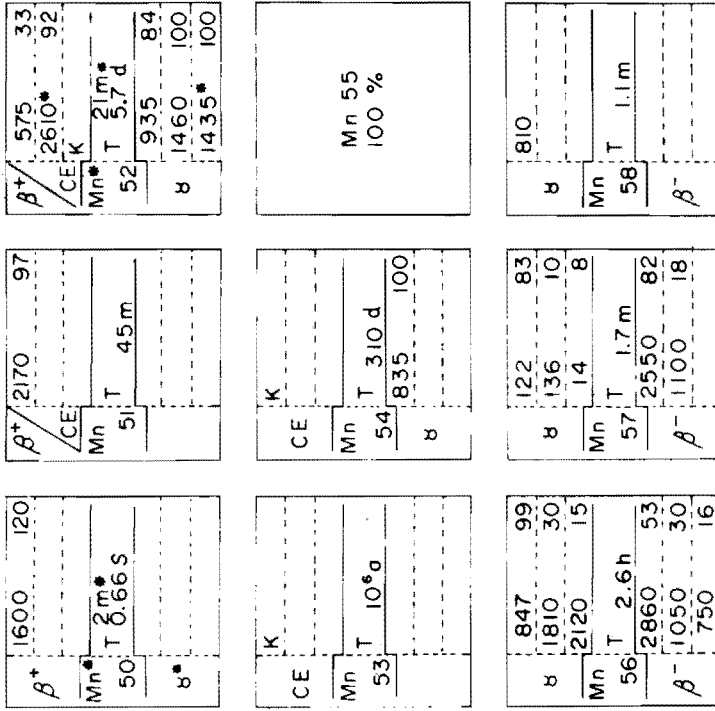
Los estados de oxidación intermedios se estabilizan formando compuestos sólidos ( $\text{K}_2\text{MnCl}_5$ ). El complejo de cianuro y  $\text{Mn(II)}$ ,  $\text{Mn(CN)}_6^{4-}$  puede ser reducido electrolíticamente, o con amalgama de sodio, a  $\text{Mn(CN)}_6^{5-}$ . Con amoníaco, es posible una reducción adicional, que conduzca a la formación de manganeso en estado de oxidación cero ( $\text{K}_6\text{Mn(CN)}_6$ ).

### 1.1.1.— Manganeso metálico.

Es un metal gris argentino de tinte rosáceo y químicamente activo, que desplaza al hidrógeno del agua, (126). Puede obtenerse por reducción del dióxido de manganeso con carbono ( $\text{MnO}_2 + 2\text{C} \rightarrow \text{Mn} + 2\text{CO} \uparrow$ ) o

**El Manganeso y sus Isótopos.**

MANGANESO Mn  
25



\* Referente a los estados excitados

CE : Captura electrónica

Fig.1

**TABLA 2**  
**ESTADOS DE OXIDACION DEL MANGANESO Y SUS COMPUESTOS**  
**REPRESENTATIVOS**

NUMERO DE OXIDACION	COMPUESTO REPRESENTATIVO
+7	$Mn^{7+}$ $HMnO_4$ (ACIDO PERMANGANICO) $KMnO_4$ (PERMANGANATO DE POTASIO) $Mn_2O_7$ (HEPTOXIDO DE MANGANESO)
+6	$Mn^{6+}$ $H_2MnO_4$ (ACIDO MANGANICO) $K_2MnO_4$ (MANGANATO DE POTASIO) $MnO_3$ (TRIOXIDO DE MANGANESO)
+4	$Mn^{4+}$ $MnO_2$ (DIOXIDO DE MANGANESO O PIROLUSITA) $MnS_2$ (SULFURO DE MANGANESO) $CaMnO_3$ (MANGANITO DE CALCIO)
+3	$Mn^{3+}$ $Mn_2O_3$ (TRIOXIDO MANGANICO O BRAUNITA) $MnCl_3$ (CLORURO MANGANICO) $MnF_3$ (FLUORURO MANGANICO) $MnO(OH)$ (HIDROXIDO MANGANICO HIDRATADO O MANGANITA) $Mn(OH)_3$ (HIDROXIDO MANGANICO) $Mn_2(SO_4)_3$ (SULFATO MANGANICO)
+2	$Mn^{2+}$ $MnO$ (OXIDO MANGANOSO) $Mn(OH)_2$ (HIDROXIDO MANGANOSO) $MnCl_2$ (CLORURO MANGANOSO) $MnCO_3$ (CARBONATO MANGANOSO O RODOCROSITA) $MnSO_4$ (SULFATO MANGANOSO) $Mn(NO_3)_2$ (NITRATO MANGANOSO)

mediante el proceso Goldschmidt o de la termita ( $3\text{MnO}_2 + 4\text{Al} \longrightarrow 2\text{Al}_2\text{O}_3 + 3\text{Mn}$ ).

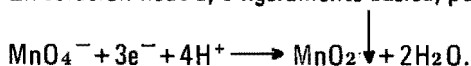
### 1.1.2.— Manganatos y Permanganatos.

El manganato potásico se obtiene a partir del  $\text{MnO}_2$  ( $2\text{MnO}_2 + 4\text{KOH} + \text{O}_2 \longrightarrow 2\text{K}_2\text{MnO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ ). El ion manganato puede ser oxidado a permanganato mediante la reacción electrónica siguiente:  $\text{MnO}_4^{2-} \longrightarrow \text{MnO}_4^- + e^-$ . En la práctica, esta reacción se realiza empleando cloro:

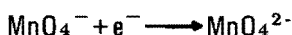


En solución ácida, el permanganato puede aceptar  $5e^-$  para formar el ion manganeso:  $\text{MnO}_4^- + 5e^- + 8\text{H}^+ \longrightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$ .

En solución neutra, o ligeramente básica, puede aceptar  $3e^-$ :



En solución fuertemente básica se reduce a manganato:



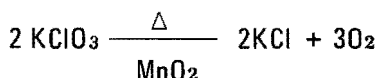
Los iones permanganato tienen un color tan intenso que, en los análisis cuantitativos, el punto final de una titulación es fácilmente observable, en virtud del color que aparece con sólo un pequeño exceso de permanganato.

### 1.1.3.— Dióxido de manganeso.

Tiene muchas aplicaciones como agente oxidante (con variaciones de  $\text{Mn}^{4+}$  a  $\text{Mn}^{2+}$ ) o como agente reductor (con variaciones de  $\text{Mn}^{4+}$  a  $\text{Mn}^{6+}$  ó a  $\text{Mn}^{7+}$ ). El  $\text{MnO}_2$  es relativamente insoluble en agua y se comporta como una sustancia anfotérica <sup>(142)</sup>. En medio ácido es un agente oxidante fuerte:  $\text{MnO}_2(\text{s}) + 4\text{H}^+(\text{ac}) + 2e^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+}(\text{ac}) + 2\text{H}_2\text{O}$ . Este tipo de reacción puede ser empleada en la producción de cloro:



El  $\text{MnO}_2$  es usado como catalizador en la reacción de transformación del clorato potásico en cloruro potásico y oxígeno.

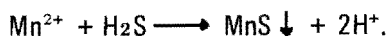


#### 1.1.4.— Manganeso trivalente.

El  $Mn^{3+}$  es un fuerte agente oxidante, pero sus sales son de muy escasa importancia. Sólo se conocen 3 haluros del manganeso tripositivo:  $MnF_3$ ,  $MnCl_3$  y el ion  $(MnCl_5 \cdot 5H_2O)^{2-}$ . No se han identificado haluros superiores <sup>(126)</sup>. En general, las sales de manganeso tripositivo son inestables y se hidrolizan con facilidad.

#### 1.1.5.— Manganeso divalente.

El ion manganoso,  $Mn^{2+}$  ó  $Mn(H_2O)_6^{2+}$  es la forma catiónica estable del manganeso. Con  $H_2S$  precipita formando sulfuro manganoso:



Al añadir una base soluble, a una solución de una sal manganosa, se forma un precipitado blanco de hidróxido manganoso. El hidróxido manganoso, y las sales manganosas de los ácidos débiles, al ser expuestos al aire se oscurecen y oxidan para formar óxido mangánico hidratado:  $MnO(OH)$ .

Los cristales de rodocrosita ( $MnCO_3$ ) son de forma semejante a los de calcita ( $CaCO_3$ ). Por eso se dice que ambos son isomorfos. Los cristales de sulfato manganoso heptahidratado,  $MnSO_4 \cdot 7H_2O$  y los de la correspondiente sal ferrosa  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , se parecen mucho en los ángulos que forman sus caras cristalinas.

El cloruro manganoso es la sal que mas frecuentemente se usa en los estudios metabólicos que requieren la utilización del isótopo radioactivo  $Mn^{54}$ .

#### 1.1.6.— Cristales de manganeso metálico.

El manganeso metálico forma tres tipos diferentes de cristales, ninguno de los cuales está constituido exclusivamente por átomos con el tamaño esperado para la valencia metálica 6, que es la valencia metálica normal del manganeso. Los manganesos alfa y beta tienen estructura cúbica mientras que el manganeso gamma es de estructura tetragonal. En el manganeso alfa (58 átomos de Mn) existen 4 clases cristalográficas: una con 24 átomos correspondientes a la valencia 6 y las otras tres con 34 átomos, correspondientes a la valencia 4. En el manganeso beta (20 átomos de Mn) existen dos clases cristalográficas de átomos: 8 átomos corresponden a la valencia 6, y 12 a la valencia 4 <sup>(127)</sup>.



En resumen, se ha hecho evidente que el elemento manganeso ilustra la regla general referente a las propiedades ácidas y básicas de los óxidos e hidróxidos metálicos. Esta regla establece que: a) Los óxidos de un elemento en sus estados superiores de oxidación tienden a formar ácidos; b) Los óxidos inferiores tienden a formar bases; y c) Los óxidos intermedios pueden ser anfotéricos. En efecto, los dos estados superiores de oxidación  $Mn^{7+}$  y  $Mn^{6+}$  están representados por los aniones  $MnO_4^-$  y  $MnO_4^{2-}$ ; los dos estados inferiores por los cationes  $Mn^{2+}$  y  $Mn^{3+}$ ; en tanto que, el estado intermedio  $Mn^{4+}$  es inestable (excepto en el  $MnO_2$ ) y débilmente anfotérico (81).

### 1.2.— Geoquímica.

La concentración promedio de manganeso, en la corteza terrestre, es de 1000 p.p.m. Al compararla con la del resto de los elementos, ocupa el 15° lugar. En el agua de mar su concentración oscila entre 1 y 4 p.p.b. y ocupa el 19° lugar, por su abundancia. El agua de los ríos transporta alrededor de 5-180 p.p.b. y el agua potable puede tener hasta 1000 p.p.b. de manganeso, en su forma bivalente (151). Las lluvias arrastran manganeso soluble de la corteza terrestre, y los ríos lo transportan al mar, donde es oxidado a una forma insoluble, y precipitado en el fondo de los océanos. Se establece así la siguiente secuencia de eventos: 1) reducción del  $Mn^{4+}$  y  $Mn^{3+}$  de la tierra a  $Mn^{2+}$ , que es muy soluble en agua; 2) oxidación de  $Mn^{2+}$  a  $Mn^{4+}$  en el agua de mar y 3) precipitación del  $Mn^{4+}$  insoluble. Se sabe que las bacterias terrestres pueden oxidar y reducir el manganeso, mientras que las marinas (*Leptothrix*, *Crenothrix*) principalmente lo oxidan (151). La repetición continua de este proceso, se traduce en una disminución progresiva del manganeso de la corteza terrestre, el cual, por presentarse principalmente bajo la forma  $Mn^{2+}$  (soluble), es arrastrado sistemáticamente por los ríos y las lluvias.

### 1.3.— Usos industriales.

El manganeso metálico tiene una gran tendencia a formar sólidos con otros metales. De allí su valor como elemento de aleación (81). Las aleaciones del manganeso con el hierro más usadas en metalurgia, son principalmente tres: 1) El Ferromanganeso bajo en carbono (80-85% Mn, 15-20% Fe, menos del 1% C); 2) el Ferromanganeso standard (78-82% Mn, 10-16% Fe, 6-8% C); y 3) el Hierro Especular (*Spiegeleisen*) (15-30% Mn, 65-85% Fe, 4-5% C) (81, 85).

Al agregar pequeñas cantidades de manganeso metálico, durante el proceso de formación del acero, se remueven trazas de oxígeno y azufre bajo la forma de óxidos y sulfuros (142). De esta manera, se evita que el

gas forme burbujas cuando el hierro se solidifica, evitándose así la aparición de agujeros en el acero terminado.

El alambre hecho con la aleación llamada Manganina (84% cobre, 12% manganeso y 4% níquel) se emplea en instrumentos que se usan para la medición de electricidad, ya que, por su resistencia, la manganina no se altera con cambios moderados de temperatura (85).

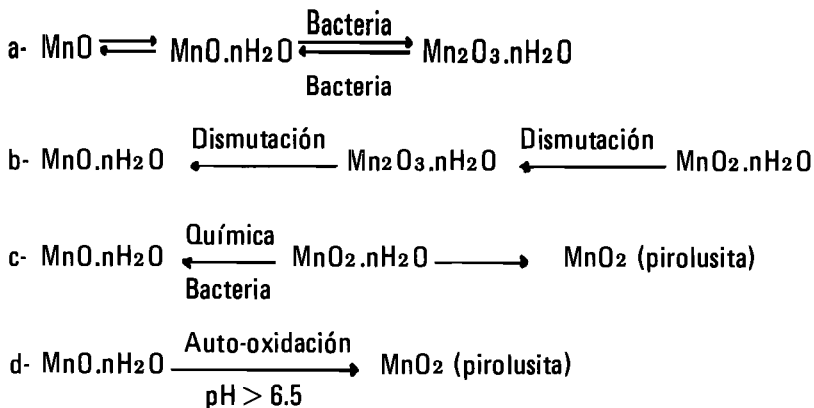
El compuesto más común del manganeso es la pirolusita ( $MnO_2$ ) la cual se explota, en escala industrial, en Gana, Rusia, India, Chile, Brasil, Marruecos, Africa del Sur y en menor cuantía, en otros países (165). Cuando se agrega pirolusita ( $MnO_2$ ), el ion  $Fe^{2+}$  presente en los vidrios (comunicándole su color verde) se oxida a  $Fe^{3+}$  que es casi incoloro. Debido a esta propiedad, el  $MnO_2$  se usa para decolorar al vidrio.

#### 1.4.— El manganeso en el agua, el suelo y las plantas.

En el agua de mar, el manganeso y el hierro se acumulan en nódulos, constituídos éstos por capas concéntricas colocadas alrededor de un núcleo, probablemente formado por plancton. Se estima que en el Océano Pacífico hay 1.5 trillones de toneladas de nódulos que contienen de un 16-50% de manganeso y 10-125 p.p.m. de telurio (86,108). Nódulos de manganeso que contienen hasta 22% de  $MnO$  han sido encontrados en el Lago Michigan (E.U.A.) y su composición es semejante a la de los nódulos marinos (141). Si se pudiera extraer económicamente, sólo 10% del Mn, Co, Ni, Ga, V y otros elementos presentes en los nódulos, habría suficiente mineral para 150.000 a 400.000 años, a la presente tasa de consumo (108). Por otra parte los metales que contienen esos nódulos se forman anualmente en cantidades dos a ocho veces mayores que su consumo mundial.

Los árboles que poseen raíces profundas, extraen manganeso divalente del subsuelo y lo concentran en sus hojas; cuando éstas caen, enriquecen la superficie del suelo con el metal (170). En regiones secas, de alto potencial de oxidación, escasa vegetación y abundante luz solar, el manganeso se oxida a la forma tetravalente insoluble. La oxidación del manganeso se produce en suelos relativamente alcalinos, pH 6-8, y la reducción, en suelos ácidos, pH < 6. Por lo tanto, este elemento es pobremente asimilado por las plantas, en los suelos neutrales o alcalinos, dando lugar a la producción de clorosis, en las hojas. Además, a esos valores de pH, el manganeso arrastra a otros metales (hierro, cobalto) e impide su utilización (170).

Las reacciones del ciclo del manganeso pueden ser resumidas así (151):



Se cree que las raíces de las plantas pueden reducir el  $\text{MnO}_2$  a una forma soluble, que luego es incorporada por ellas <sup>(125)</sup>.

En las plantas, el manganeso se utiliza en la formación de clorofila y en el control del estado de oxidación de varios sistemas de óxido-reducción. Además, en las hojas, impide el depósito de  $\text{Fe}^{3+}$  y actúa como factor de crecimiento, y es necesario para la esporulación <sup>(151)</sup>. En virtud de su habilidad para ser oxidado por la luz del sol, tiene un papel directo en la fotosíntesis cualesquiera que sean los niveles de clorofila.

Existe una gran cantidad de manganeso en las hojas verdes; por ello, los animales herbívoros e insectos ingieren cantidades mayores de manganeso que los seres humanos. En las plantas se han encontrado cantidades de manganeso varias veces mayores que las de hierro y que las de otros 17 elementos <sup>(151)</sup>. Todos los vegetales concentran el manganeso a niveles mayores que los encontrados en el suelo.

La cantidad de calcio, presente en el suelo, influencia notablemente la captación de manganeso por parte de las plantas. Estudios de Lounamaa <sup>(93)</sup> han demostrado que la concentración promedio de manganeso es menor en plantas que crecen en suelos ricos en calcio que en las que lo hacen en suelos pobres en ese metal. Además, todas las plantas, con excepción del líquen y del musgo acumulan manganeso en contra del gradiente de concentración del medio.

### 1.5.— El manganeso en la alimentación.

En general, el consumo humano varía entre 2.4 y 8.8 mg diarios <sup>(151)</sup>.

En la tabla 3 se transcriben las concentraciones de manganeso en los alimentos comunes <sup>(151)</sup>. Como se puede constatar, las carnes, los

**TABLA 3**  
**MANGANESO EN LOS ALIMENTOS (151)**

ALIMENTOS	CONCENTRACION DE MANGANESO ug/gr (peso humedo)	ALIMENTOS	CONCENTRACION DE MANGANESO ug/gr (peso humedo)
<b>A-GRANOS Y CEREALES</b>		<b>D-FRUTAS</b>	
SEMILLA DE TRIGO	11.32	NARANJA	0.35
MARINA DE TRIGO	5.20	DURAZNO	1.02
PAN BLANCO	1.78	PERA	0.55
PAN INTEGRAL	1.43	MANZANA	0.51
ARROZ CON CASCARA	2.09	UYA PASA	4.55
ARROZ SIN CASCARA	1.55	MELOCOTON	0.20
SEMILLA DE MAIZ	1.51	COCO	0.59
CENTENO	13.29	MANI	6.51
		ALMENDRA	24.68
<b>B-DERIVADOS DE ANIMALES</b>		<b>E-VEGETALES</b>	
LECHE	0.19	FRIJOLES VERDES ENLATADOS	0.24
MANTEQUILLA	0.96	QUISANTES	12.74
QUESO SUIZO	1.32	ZANAHORIA ENLATADA	1.56
HUEVOS	0.53	REMOLACHA ENLATADA	0.41
		ESPARRAGO	0.32
<b>C-CARNES Y VISCERAS</b>		TOMATE ENLATADO	
CARNE DE VACA	0.05	ESPINACA	7.77
HIGADO DE VACA	0.16		
RIÑON DE VACA	0.00	<b>F-CONDIMENTOS Y BEBIDAS</b>	
HIGADO DE PUERCO	0.09	SAL DE MESA	0.00
RIÑON DE PUERCO	0.75	PIMIENTA NEGRA	47.48
CARNE DE POLLO	0.21	CLAVITOS DE OLOP	262.66
		AJO	0.55
<b>CM-PESCADOS Y MARISCOS</b>		VINAGRE	2.54
OSTRAS	0.06	CAFE MOLIDO	20.65
CAMARONES	0.02	CAFE, INFUSION	0.65
SARDINAS ENLATADAS	0.00	HOJAS DE TE	275.56
ANCHOAS ENLATADAS	0.10	TE, INFUSION	6.90
		<b>G-GRASAS Y ACEITES</b>	
		ACEITE DE HIGADO DE BACALAO	4.95
		ACEITE DE MAIZ	1.00
		ACEITE DE MANI	1.00

pescados y mariscos tienen un bajo contenido de manganeso, mientras que los granos y ciertos frutos secos (nueces, maní, etc) son especialmente ricos en este elemento. Concentraciones muy grandes se encuentran en las hojas de té y en el clavo de olor. Desde el punto de vista calórico los granos, vegetales, cereales y algunos frutos contienen las mayores cantidades.

### 1.6.— Requerimientos de manganeso.

Las necesidades de manganeso para varias especies de animales, se señalan en la tabla 4. El hombre necesita consumir de 3 a 9 p.p.m., diariamente. Las necesidades del niño se han estimado en 0.2-0.3 mg/kg peso/día<sup>(30)</sup>. Es necesario recordar que los requerimientos dependen, en gran parte, de los niveles de calcio en la dieta. Según Underwood (167) una

TABLA 4

REQUERIMIENTOS DE MANGANESO ( p.p.m.) (151)

ANIMAL	DIETA DEFICIENTE	DIETA ADECUADA
RATON	0.2 - 0.3	6 - 20
RATA	0.2 - 0.3	6 - 20
CONEJO	0.2 - 0.3	20 - 80
PUERCO	0.5	40
VACA	1.0 - 7.0	30 - 600

ingesta de manganeso suficiente para el crecimiento, puede causar deficiencias en un órgano o sistema; es decir, las necesidades para la preservación de la salud, son mayores que los requerimientos para el crecimiento.

Se ha comprobado que los niveles de manganeso están, positiva y significativamente, correlacionados con las concentraciones de cobre, en 17 tejidos diferentes; con las de magnesio y fósforo, en 14; con las de hierro y cromo, en 11; con las de zinc, en 8; con las de bario, en 15 y con las de plomo, en 9. En el hígado, está relacionado con Co, Cr, Mg y P; en el cerebro, con Cu, Fe, Mg y P y en riñón, con Cr, Cu, Mg y Zn (151).

**1.7.- Concentración del manganeso en los tejidos animales.**

Los alimentos comerciales, para ratas de laboratorio, contienen 6.0-20.7 ug de manganeso por gramo. Si esta dieta fuese consumida por el hombre, proveería de 21-72 mg de manganeso por día, ó sea, 7-24 veces su ingesta normal (151). Sin embargo, las concentraciones tisulares de manganeso en la rata, no difieren mucho de las del hombre, lo que indica que esos animales tienen un excelente sistema homeostático para el manganeso. Mecanismos similares existen para otros mamíferos, especialmente los herbívoros, los cuales consumen grandes cantidades del elemento.

TABLA 5

EL MANGANESO EN LOS TEJIDOS DE DIFERENTES MAMIFEROS (151)

ANIMAL	CONCENTRACION DE MANGANESO (ug/g peso húmedo)
RATON ALBINO	
hígado	1.14
diafragma	0.27
RATAS (LONG-EVANS)	
hígado	0.78
riñón	1.00-1.06
corazón	0.36-0.88
pulmones	0.54
bazo	0.53-0.77
RATON SILVESTRE	
hígado	1.81
riñón	0.75
corazón	0.69
pulmones	2.39
VENADO	
riñón	1.44
cerebro	0.66
grasa	1.55
MURCIELAGO (Completo)	1.44
PERRO	
hígado	4.29
riñón	3.20
ZORRO ROJO	
hígado	9.43
CONEJO	
hígado	1.69
diafragma	0.19

El contenido de manganeso en diferentes tejidos animales se señala en la tabla 5 (151). No se conoce la razón de la alta concentración observada en el hígado del zorro rojo. La distribución del manganeso en el S.N.C. ha sido estudiada recientemente y se ha comprobado una alta concentración de este elemento en hipotálamo, glándula pineal, bulbo olfatorio, en la sustancia gris del cerebelo, etc. (Tabla 6).

Según Vinogradov "la cantidad de manganeso es muy pequeña en los peces" (170). Los animales marinos que poseen hígado, hepatopáncreas o su equivalente, concentran un poco más el manganeso. Las especies de agua dulce contienen más manganeso que las marinas (la concentración de manganeso en las aguas dulces es también mayor que la del agua del mar). Vinogradov cree que la función del hepatopáncreas de los moluscos es excretar el manganeso, impidiendo su depósito en otros tejidos (170). Su hipótesis coincide con la de Cotzias y Papavasiliou quienes demostraron esta ruta de excreción en mamíferos, y discutieron su antigüedad y su desarrollo, antes de que el riñón se hiciera necesario en la era post-Cambriana (33).

En suma, el manganeso cumple con todos los requisitos necesarios para ser definido como un oligoelemento, ya que sus concentraciones tisulares son menores de 100 p.p.m. (160).

### 1.8.— Concentración de manganeso en los tejidos humanos.

Sin excepción, todos los tejidos humanos contienen manganeso, y su concentración se mantiene constante durante toda la vida; vale decir, no hay tendencia a la producción de descensos o acúmulos de manganeso, con el transcurso de la vida. Los recién nacidos, hasta las 6 semanas de edad, tienen relativamente más manganeso que los niños mayores, pero luego alcanzan rápidamente los niveles que han de permanecer constantes toda la vida. El ser humano tiene, aproximadamente, 20 mg de manganeso corporal. El isótopo presente en los tejidos es la forma estable ( $Mn^{55}$ ) aunque, en 1965 se demostró la existencia de  $Mn^{54}$  en hígado humano, posiblemente como consecuencia de los ensayos nucleares (146). Las mayores concentraciones de manganeso (68-180 p.p.m. de cenizas) se encuentran en dos órganos que tienen varias actividades metabólicas especializadas, incluyendo la excreción de este metal: páncreas e hígado. También existen grandes concentraciones en los órganos relacionados con el transporte a través de membrana: riñón e intestinos. Las menores concentraciones (< 25 p. p. m.) corresponden a órganos y tejidos con menor actividad metabólica: aorta, corazón, diafragma, músculo, vejiga, esófago, laringe, tráquea, etc. (Tabla 7) (151).

TABLA 6  
 CONCENTRACION DEL MANGANESO EN DIFERENTES  
 REGIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.  
 (promedios en ug/g peso seco).

REGION	TERNERO (175)	VACA (175)	PUERCO (175)	RATA (109)	RATA (52)	
1- GLANDULA PINEAL	2.9	2.2	4.2	-	-	
2- PROTUBERANCIA	1.3	0.7	0.7	-	-	
3- TALAMO	1.6	1.0	0.8	-	-	
4- BULBO RAQUIDEO	1.2	0.9	1.0	-	1.71	
5- CEREBRO MEDIO	1.2	1.2	1.2	-	2.42	
6- MEDULA ESPINAL	1.1	-	-	-	-	
7- HIPOCAMPO	1.7	1.4	1.5	-	2.13	
8- CEREBELO	{ Sust. Gris	2.9	-	-	-	-
	{ Sust. Blanca	1.2	-	-	-	-
	{ Completo	-	-	-	0.60	2.35
9- CORTEZA CEREBRAL	{ Sust. Gris	1.3	-	-	-	-
	{ Sust. Blanca	0.7	0.6	-	-	-
	{ Completa	-	-	-	1.3	1.80
10- NUCLEO CAUDADO	-	-	-	1.3	-	
11- CUERPO ESTRIADO	-	-	-	-	1.92	
12- HIPOTALAMO	-	-	-	-	5.88	
13- BULBO OLFATORIO	-	-	-	-	3.44	



TABLA 7  
 CONCENTRACION DE MANGANESO EN LOS  
 TEJIDOS HUMANOS (151)  
 (valores en p.p.m. de cenizas)

TEJIDO	N° DE CASOS	CONCENTRACION (media $\pm$ D.S.)
Hígado	148	130 $\pm$ 7.0
Páncreas	138	110 $\pm$ 4.9
Riñón	143	91 $\pm$ 4.0
Esófago	66	17 $\pm$ 1.5
Estómago	129	47 $\pm$ 2.5
Duodeno	67	70 $\pm$ 10.0
Yeyuno	101	68 $\pm$ 3.9
Ileon	84	110 $\pm$ 11.0
Ciego	31	180 $\pm$ 31.0
Colon sigmoideo	107	76 $\pm$ 9.7
Recto	42	82 $\pm$ 19.0
Aorta	95	11 $\pm$ 1.2
Corazón	139	23 $\pm$ 0.9
Cerebro	127	20 $\pm$ 0.7
Diafragma	91	17 $\pm$ 1.2
Músculo	133	6 $\pm$ 0.4
Vejiga urinaria	109	18 $\pm$ 1.7
Laringe	35	8 $\pm$ 1.1
Tráquea	54	14 $\pm$ 1.0
Pulmón	141	24 $\pm$ 2.0
Bazo	143	11 $\pm$ 0.8
Tiroides	21	19 $\pm$ 2.3
Piel	22	22 $\pm$ 10.0
Hueso	91	2 $\pm$ 0.0
Grasa	28	37 $\pm$ 4.4
Ovario	16	18 $\pm$ 2.2
Utero	31	12 $\pm$ 1.3
Testículo	72	14 $\pm$ 0.6

Se han encontrado grandes concentraciones de manganeso en los melanocitos, en los cuales parece participar en la autooxidación final de los gránulos de melanina (32).

### 1.9.— Concentraciones de manganeso en sangre y orina humanas.

En la sangre humana se han encontrado cantidades variables de manganeso, según el método de análisis utilizado (Tabla 8). El análisis por activación neutrónica parece proveer los resultados más acordes con la realidad (122). Parte del manganeso es transportado en el plasma por la transmanganina, una B<sub>1</sub>-globulina que fija Mn<sup>3+</sup> (61) y parte en los glóbulos rojos, en forma de manganoporfirina o, quelatado al hem (19). Aunque algunos autores no han reportado eliminación de manganeso por la orina (123), otros citan cifras variables (117, 131, 151), las cuales oscilan entre 0 y 980 ug/l (Tabla 9).

### 1.10.— El manganeso como co-factor de múltiples reacciones enzimáticas.

El manganeso es relativamente ineficaz para formar uniones hidrógeno, aunque si lo hace con el oxígeno, acetileno, metano y monóxido de carbono (17). Tiene una gran tendencia a formar compuestos de coordinación con las sustancias orgánicas, especialmente con los donadores de oxígeno.

El ion manganoso actúa como co-factor de un gran número de reacciones enzimáticas, de allí su importancia en Enzimología (Tabla 10).

### 1.11.— Métodos de determinación del manganeso.

Como se ha hecho evidente, las concentraciones de manganeso varían considerablemente tanto en los tejidos como en los fluídos biológicos. Estas variaciones pueden explicarse por las dificultades asociadas al análisis de cantidades tan pequeñas del elemento. Por ello es necesario cumplir con algunos requisitos generales para el análisis de este oligoelemento: 1) alta sensibilidad del método, con mínima interferencia por parte de otras sustancias; 2) manipulación y procesamiento mínimos; y 3) técnica meticulosa para evitar contaminaciones (97).

Los métodos químicos, basados en la oxidación catalítica de reactivos orgánicos (63, 66), producen coloraciones inestables o son interferidos considerablemente por otros iones. Los métodos más confiables son los basados en la extracción del manganeso y su separación de tales iones interferentes, antes del análisis por activación neutrónica (20, 34) o por

técnicas espectrográficas (47) o de espectrofotometría de absorción atómica (3).

TABLA 8  
CONCENTRACION DE MANGANESO EN SANGRE HUMANA

MUESTRA	METODO	PROMEDIO ( $\mu\text{g/l}$ )	RANGO ( $\mu\text{g/l}$ )	AUTOR
Sangre	Espectrográfico	29 $\pm$ 2	25 - 34	Butt y col (26)
Sangre	Activación neutrónica	30	—	Fore y Morton (63)
Sangre	Activación neutrónica	2.4 $\pm$ 0.8	—	Bowen (20)
Sangre	Activación neutrónica	11.60	9.01 - 14.50	Cotzias y Papavasiliou (34)
Plasma	Activación neutrónica	2.69	2.10 - 3.02	Cotzias y Papavasiliou (34)
Suero	Activación neutrónica	2.50	2.05 - 2.97	Cotzias y Papavasiliou (34)
Suero	Activación neutrónica	19 $\pm$ 3	—	Haven y col (72)
Suero	Espectrográfico	13 $\pm$ 1	—	Butt y col (26)
Suero	Químico	39	—	Sparkman y Moreland (157)
Suero	Rayos X	—	0 - 70	Gofman y col (67)
Suero	Espectrofotometría de absorción atómica	24 $\pm$ 7	12 - 38	Mahoney y col (97)

TABLA 9  
CONCENTRACION DE MANGANESO EN ORINA HUMANA

MUESTRA	METODO	PROMEDIO (ug/l)	RANGO (ug/l)	AUTOR
2 hombres (18-21 años)	Químico	200	150-250	Schroeder y col (151)
4 mujeres (18-23 años)	Químico	395	150-590	Schroeder y col (151)
1 mujer (74 años)	Químico	980	—	Schroeder y col (151)
9 jóvenes universitarias	Químico	—	0-340	North y col (117)
24 americanos adultos	Espectrográfico	27	10- 70	Perry y Perry (131)
—	Espectrofotometría de absorción atómica	—	1- 10	Ajemian y Whitman (3)
—	Espectrográfico	2.75	1- 7.8	Cholak y Hubbard (47)

TABLA 10  
LISTA PARCIAL DE ENZIMAS ACTIVADAS  
POR MANGANESO, IN VITRO.

ENZIMA	REFERENCIA
1- ARGINASA HEPATICA	GREENBERG (69)
2- TRANSFOSFORILASA	SCHROEDER y col. (151)
3- PEROXIDASA	COTZIAS (31)
4- ENOLASA	BUCHER (24)
5- GLICOSIL-TRANSFERASA	LEACH (89)
6- DEHIDRATASA DEL ACIDO $\delta$ -AMINO LEVULINICO	SHEMINS (152)
7- SINTETASA DE LA ASPARAGINA	RAVEL y col. (136)
8- CARBAMATO-QUINASA	MARSHALL y COHEN (98)
9- SINTETASA DE LA GLUTAMINA	BRUCE ROWE y col. (23)
10- HIDROLASA DE LA PROTEINA TRANSPORTADORA DE GRUPOS ACILOS	VAGELOS y LARRABEE (168)
11- FORMIMINOHIDROLASA DEL ACIDO N-FORMIMINO-L- GLUTAMICO	MAGASANIK y col. (95)
12- ACETIL CoA CARBOXILASA HEPATICA	GREGOLIN y col. (70)
13- ADENILATOCICLASAS ERITRO- CITARIA Y CEREBRAL	ROSEN y col. (140) y ROBISON y col. (138)
14- MEVALONATO-QUINASA	POPJAK y col. (134)
15- FRUCTOQUINASA	HERS (73)
16- DEHIDROGENASA ISOCITRICA	OCHOA (118)
17- ENZIMA MALICA	OCHOA (119)
18- FRUCTOSA-1,6 DIFOSFATASA	PONTREMOLI (133)
19- FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA	LANE y col. (87)
20- CARBOXILASA PIRUVICA	SCRUTTON y col. (148)

### 1.11.1.- Espectrografía de emisión.

Cuando los elementos son excitados con suficiente energía, responden emitiendo luz de un espectro característico para cada uno de ellos. La emisión se debe al regreso de los electrones de su estado excitado a estados de menor energía. Cuando la luz emitida pasa a través de un espectrógrafo, y se difracta adecuadamente, se separa en especies electromagnéticas, de longitud de onda típica para el elemento dado. Si esos componentes se dirigen a una placa fotográfica, originan un conjunto de líneas cuya posición geométrica está determinada por la longitud de onda del elemento; y su intensidad es función de la concentración de dicho

elemento. Este método permite medir muchos metales simultáneamente, a diferencia de la espectrofotometría de absorción atómica. Con el método espectrográfico se pueden detectar hasta  $10^{-9}$  g/l, de algunos elementos (169), y su reproductibilidad es excelente. Sin embargo, tiene las siguientes desventajas: a) Se necesita un tiempo largo para la preparación de la muestra; b) el personal técnico debe ser altamente capacitado.

### 1.11.2.— Activación neutrónica.

El  $Mn^{55}$  es el único isótopo del manganeso presente en los tejidos. Al ser bombardeado con neutrones, el  $Mn^{55}$  se transforma en  $Mn^{56}$ , cuya vida media es de 2.58 horas. El  $Mn^{56}$  emite rayos beta y gamma y, si las condiciones de activación son constantes, es producido en cantidades proporcionales a las del  $Mn^{55}$ . Su actividad es determinada en un Espectrómetro para rayos gamma (122).

El K, Na, Cl y Br, presentes en el material examinado, se transforman en elementos altamente radioactivos y pueden enmascarar el  $Mn^{56}$ , por lo que este último debe ser preparado químicamente de la mezcla de los isótopos señalados. La separación se facilita mediante el agregado de un "transportador" del manganeso.

A pesar de que la producción de  $Mn^{56}$  durante el bombardeo neutrónico del material biológico, se sucede mediante la reacción,  $Mn^{55}(n,g)Mn^{56}$ , otras reacciones adicionales pueden presentarse, a saber,  $Fe^{56}(n,p)Mn^{56}$  y  $Co^{59}(n,\alpha)Mn^{56}$  (122). Se puede y debe calcular la contribución de esos elementos a la producción de  $Mn^{56}$ . En la sangre, de un 4 al 5% del  $Mn^{56}$  formado, proviene de las reacciones señaladas para Fe y Co.

Por razones obvias, la activación neutrónica, no puede utilizarse en cualquier tipo de laboratorio a pesar de ser un método altamente sensitivo para la determinación del manganeso.

### 1.11.3.— Espectrofotometría de Absorción Atómica.

El método se basa en el hecho de que un átomo puede absorber energía a la misma longitud de onda a la cual produce su espectro de emisión característico. La absorción de la luz emitida, a la longitud de onda definida y característica para cada elemento, puede ser medida por un aparato fotoeléctrico y es una función de la concentración del elemento (92).

La espectrofotometría de absorción atómica satisface los requisitos señalados anteriormente, puesto que proporciona una alta sensibilidad en

el análisis y no amerita grandes manipulaciones. Además, el instrumento es de costo razonable, y puede ser utilizado por un técnico, después de un entrenamiento muy corto. Este método es el más utilizado en los laboratorios dedicados a la investigación del metabolismo de los oligoelementos.

## 1.12.— Relaciones metabólicas del manganeso con otros minerales.

### 1.12.1.— Manganeso y magnesio.

El manganeso (elemento de transición) puede ser sustituido por el magnesio (tierra alcalina) en un gran número de sistemas *in vitro*.

Las enzimas deoxirribonucleasa, exopeptidasas, acetyl CoA carboxilasa, enolasa, etc., pueden ser activadas, *in vitro*, tanto por  $Mg^{2+}$  como por  $Mn^{2+}$ . Sin embargo, la arginasa de hígado bovino es activada por  $Mn^{2+}$  pero no por el  $Mg^{2+}$  (18). El magnesio y el manganeso tienden a preservar la integridad estructural de las mitocondrias hepáticas aisladas experimentalmente (60). Ambos iones pueden proteger a ciertas bacterias de la acción de algunos antibióticos (5).

A pesar de esa escasa especificidad de los sistemas *in vitro* señalados, el organismo intacto de los mamíferos discrimina nítidamente entre ambos iones (30). Las evidencias acumuladas son las siguientes: a) Mientras que el cuerpo humano adulto contiene alrededor de 40 mg de magnesio por 100 gr de tejido libre de grasa, la cantidad de manganeso es de unos 16  $\mu$ g por 100 gr de tejido. Es decir, la concentración de magnesio es unas 2000 veces mayor que la del manganeso (31); b) Thiers y Vallee (161) han demostrado que la distribución intracelular del magnesio difiere notablemente de la del manganeso; c) la ingesta diaria de un adulto normal es de alrededor de 222 mg de magnesio y unos 5 mg de manganeso (30); o sea, menos del 1% del contenido corporal de magnesio es provisto por la dieta, en tanto que la ingestión diaria de manganeso representa casi el 50% del contenido corporal; ch) el manganeso es excretado casi exclusivamente en el tracto gastrointestinal, principalmente a través del colédoco (29), mientras que la excreción del magnesio es fundamentalmente renal (4); d) las deficiencias y las intoxicaciones con estos metales producen manifestaciones clínicas diferentes; e) la inyección de magnesio, a ratones previamente inyectados con  $Mn^{54}$ , no afecta la velocidad normal de eliminación del radiomanganeso, la cual si es acelerada con la administración de manganeso estable (29).

La dicotomía existente entre los dos niveles de investigación (*in vitro* e *in vivo*) puede ser reconciliada en base a que el manganeso es capaz de asumir valencias mayores de 2 mientras que el magnesio es incapaz de

hacerlo <sup>(31)</sup>. Además, existen diferencias obvias en los sitios plasmáticos de fijación del  $Mg^{2+}$  (albúmina, globulina alfa 2) y del  $Mn^{3+}$  (globulina beta 1) <sup>(61)</sup>. El magnesio plasmático es esencialmente divalente, mientras que el manganeso plasmático es trivalente. Los responsables más probables de esa especificidad, observada *in vivo*, son los sistemas de óxido-reducción, que conducen a la formación y fijación plasmática del manganeso trivalente.

### 1.12.2.— Manganeso y hierro.—

Se ha sugerido una amplia relación entre el metabolismo del hierro y el del manganeso. Borg y Cotzias, en 1958, demostraron la incorporación del manganeso a la molécula de porfirina de los glóbulos rojos <sup>(19)</sup>. Este hallazgo fue corroborado posteriormente por Norris y Klein <sup>(116)</sup>. En la deficiencia de hierro se produce un incremento en la absorción gastrointestinal del manganeso <sup>(105,132)</sup>. Thiers y Válee <sup>(161)</sup> han demostrado que las fracciones hepáticas intracelulares con mayor contenido de hierro, son las más deficientes de manganeso. Cuando se administran altas dosis de manganeso por vía oral, durante varias semanas, se produce un descenso marcado en los depósitos de hierro hepático, con un incremento de la absorción gastrointestinal del hierro, debido posiblemente a las pérdidas sanguíneas provocadas por irritación de la mucosa gastrointestinal <sup>(51)</sup>. En ese estudio se demostró que cuando aumenta la absorción gastrointestinal de hierro, en los casos de deficiencia de este metal, también aumenta la absorción de manganeso. Por otro lado, el descenso en la absorción de hierro, en animales sobrecargados con este metal, se asocia a un descenso en la absorción de manganeso. El organismo compensa estos cambios en la absorción de manganeso, aumentando su excreción, en la deficiencia de hierro o disminuyéndola, en casos de sobrecarga de hierro. Esos autores demostraron también un incremento en la incorporación de  $Mn^{5+4}$  al anillo porfirínico de la hemoglobina, en eritrocitos de ratas deficientes de hierro.

En contraste con estos resultados, se ha observado que en animales anémicos (conejos, puercos y carneros) la ingestión de altas dosis de manganeso (2000 p.p.m.) produce un retardo en la regeneración de hemoglobina el cual puede ser evitado mediante la administración de hierro <sup>(99)</sup>.

### 1.12.3.— Manganeso y otros metales.

La administración de sales de varios elementos (V, Cr, Fe, Co, Ni, Zn, K y Re) no afectan la tasa normal de eliminación del  $Mn^{5+4}$  previamente inyectado a ratones albinos suizos <sup>(29)</sup>.

El calcio ejerce un efecto activante de la captación de manganeso por mitocondrias aisladas <sup>(42)</sup>.



## 1.13.— Metabolismo del manganeso.

### 1.13.1.— Absorción.

El manganeso de la dieta, presente en forma de ion divalente o quelatado, probablemente permanece inalterado en el medio ácido del estómago. Las condiciones alcalinas del intestino delgado son favorables a la oxidación de ese elemento a  $Mn^{3+}$  forma bajo la cual se absorbe en el duodeno, primera porción del yeyuno, y, en menor cuantía, en el resto del intestino delgado. En el ser humano normal la absorción es del 3% del manganeso ingerido (104).

El pasaje del hierro, cobalto y manganeso de la luz intestinal al resto del organismo, es mediado por un sistema de transporte en el cual operan simultáneamente 2 procesos cinéticos: El primer proceso es de difusión y está limitado por la concentración disponible del metal. El segundo depende de la actividad de un mecanismo que es susceptible de inhibición competitiva (149, 162, 163). Este segundo mecanismo predomina en la deficiencia de hierro y conduce a un incremento en la absorción de cobalto y manganeso. Estudios de Thompson y Valberg (164) sugieren que en los animales deficientes de hierro existen sitios de unión en la mucosa intestinal que intervienen en la captación de cobalto, hierro y manganeso.

Cuando se administra un exceso de manganeso por vía oral, el metal se absorbe en proporción directa a la cantidad administrada, pero se produce un incremento grande en la tasa de excreción; por lo tanto, el metabolismo de este oligoelemento parece ser regulado mediante su excreción (22).

Una vez absorbido, el manganeso trivalente se une a una globulina beta llamada inicialmente transmanganina, por considerarse diferente de la transferrina (61). Sin embargo, los estudios de Panic (121) han demostrado que el manganeso se une a la transferrina tanto in vivo como in vitro. Estos hallazgos han sido confirmados por Keefer y col (84) mediante estudios realizados en sueros de ratas normales y deficientes de colina.

In vitro, la unión del manganeso con la globulina beta se realiza lentamente e incrementa con el uso de agentes oxidantes ( $Mn^{2+} \longrightarrow Mn^{3+}$ ). El complejo puede disociarse con agentes reductores que transforman el  $Mn^{3+}$  a  $Mn^{2+}$  (31). En el medio ligeramente alcalino de los fluidos biológicos, se favorece la persistencia del manganeso en el estado trivalente.

### 1.13.2.— Distribución.

Si se inyecta manganeso radioactivo, éste desaparece rápidamente de la

sangre, y se acumula principalmente en hígado y páncreas (25, 68) . El resto es excretado por la ruta biliar. Si luego se administra manganeso estable, aumenta notablemente la excreción del radiomanganeso (29) .

Britton y Cotzias (22) confirmaron estos hallazgos, y observaron que 2 horas después de la inyección de  $Mn^{54}$ , la radioactividad se localiza principalmente en los órganos parenquimatosos pero, a medida que pasa el tiempo, el resto del cuerpo acumula proporciones cada vez más elevadas del radioisótopo. Este intercambio se acelera cuando se agrega sulfato de manganeso a la dieta; tales hallazgos hacen pensar que las vísceras contienen manganeso más rápidamente intercambiable y excretable, que el resto del organismo.

Las concentraciones tisulares del manganeso tienden a permanecer estables, principalmente por vía de la excreción del exceso del metal (76) . La mayor parte del manganeso administrado se localiza en las mitocondrias (75, 91, 100, 161, 176)

En general, casi todo el manganeso corporal se encuentra en forma lábil, libremente intercambiable, a velocidades diferentes según el órgano considerado. La piel, los huesos y los glóbulos rojos tienen una velocidad lenta de recambio. El radiomanganeso se intercambia lentamente con el manganeso eritrocitario incorporado al complejo porfirínico (19) .

La estimulación de la corteza suprarrenal, con ACTH, produce una migración del  $Mn^{54}$  desde el hígado al resto del cuerpo (76) pero se desconoce la importancia de este fenómeno en el control del metabolismo de este oligoelemento.

Después de la inyección intraperitoneal de  $Mn^{54}$ , el Sistema Nervioso Central de ratas, retiene una alta proporción del manganeso que le llega, y aumenta progresivamente la captación, hasta el día 23º, saturándose desde ese momento, hasta el 34º después de inyección. Para estos autores tales hallazgos demuestran una incapacidad del cerebro para eliminar el manganeso. Esto explicaría la vulnerabilidad del SNC a la exposición crónica con este metal (48). Los mismos autores demostraron, en monos, que después de la administración de 200 uCi de  $Mn^{54}$ -maleato, todos los componentes encefálicos incrementaban la retención del oligoelemento, siendo más evidente en el núcleo lenticular y en el cerebelo (49).

Mena y col (107) confirmaron esos hallazgos y demostraron que el  $Mn^{54}$  inyectado a ratas, se distribuye uniformemente en las diversas zonas encefálicas. Por otra parte, observaron que en las anemias ferroprivas disminuye la capacidad de rechazo de la barrera hematoencefálica.

### 1.13.3.— Excreción.

En 1860, gracias a los trabajos de Wichert se detectó el manganeso en la bilis de gatos. Kobert en 1883 y Cahon en 1884, (citados por Greenberg y col)<sup>(68)</sup>, observaron que cuando inyectaban grandes dosis de sales de manganeso, éstas eran excretadas por las heces mientras que en la orina sólo aparecían trazas. Greenberg y col <sup>(68)</sup> recuperaron en las heces, alrededor del 91% del manganeso que habían inyectado a una rata por vía intraperitoneal. Los análisis más detallados demostraron que la bilis es el vehículo más importante para el transporte del manganeso hacia el intestino <sup>(68)</sup>. Los riñones juegan un papel menor y, a lo sumo, pueden eliminar una pequeña fracción de la dosis total, aún en condiciones de sobrecarga con el metal <sup>(123)</sup>.

Cuando se administra  $Mn^{54}$ , este es excretado además, a lo largo del intestino delgado, principalmente en duodeno y yeyuno. El manganeso también es excretado por el páncreas <sup>(25)</sup> y se ha detectado en la leche <sup>(68)</sup>.

La excreción biliar se diferencia de la intestinal porque la primera se realiza en dos ondas sucesivas. La primera onda refleja la depuración plasmática; es decir, el pasaje directo del trazador hacia la bilis. La segunda onda corresponde a la aceleración de la circulación enterohepática de este elemento <sup>(123)</sup>, la cual participa en la regulación de su excreción.

La obstrucción del colédoco disminuye la excreción del manganeso, pero no la elimina <sup>(123)</sup>. En este caso, el páncreas <sup>(151)</sup> y el tracto gastrointestinal, quedan como órganos de excreción. Como ya se ha señalado, el mecanismo de excreción hepatopancreático es común a todos los animales que poseen esos órganos los cuales, desde el punto de vista evolutivo, preceden a la ruta renal <sup>(33)</sup>.

En el ser humano, la desaparición del radiomanganeso inyectado, dibuja una curva con 2 componentes exponenciales. Aproximadamente, el 70% del material inyectado se elimina por la vía "lenta" que tiene una duración promedio de 39 días, mientras que el componente "rápido" dura unos 4 días <sup>(96)</sup>.

### 1.14.— Deficiencia de manganeso.

#### 1.14.1.— Deficiencia de manganeso en animales de experimentación.

En ratas, dietas inferiores a 5 ug diarios producen una deficiencia de manganeso que puede ser agravada con dietas altas en calcio y bajas en

fósforo. Las deficiencias de manganeso, producidas experimentalmente, ocasionan profundos efectos en los huesos, en la reproducción y en el cerebro (8,9).

#### 1.14.1.1.— Efectos óseos.

La perosis y la condrodistrofia son las deformidades predominantes en los pollos (173) y ambas se asocian a descensos de la actividad de las fosfatasas alcalinas sérica y ósea. En ratas, la misma deficiencia produce anomalías en el esqueleto, tales como curvaturas del radio, escoliosis, xifosis, osteoporosis, condrodistrofias y desarrollo anormal de la epífisis proximal de la tibia (77). Los huesos se acortan y aumentan en grosor y en fragilidad (155). Estas anomalías esqueléticas parece que son ocasionadas por alteraciones en la formación de la matriz ósea, la cual sufre una severa reducción de mucopolisacáridos (88); sin afectación del metabolismo del calcio (79).

Hurley (78) ha demostrado la existencia de una estrecha relación entre el manganeso y una enfermedad genética, observable en ratones de la raza "pálida", caracterizada por defectos en el desarrollo de los otolitos del laberinto. Estos animales, por consiguiente, son incapaces de orientación postural cuando se les obstruye la visión o se les coloca en un recipiente con agua. Si estos ratones son alimentados durante la preñez, con altas concentraciones de manganeso, los trastornos señalados no se presentan en la camada (57). Cotzias y col (38) han comprobado que el gen pálido produce una disminución en el transporte tisular de manganeso, L-Dopa y L-Triptófano. Las mitocondrias de los ratones deficientes de manganeso tienen disminuída su capacidad de captación de oxígeno y presentan anomalías ultraestructurales de las crestas; los de la raza pálida, por el contrario, son completamente normales desde esos puntos de vista (80).

Cuando la deficiencia de manganeso se produce durante la preñez, aparecen defectos congénitos en la calcificación de los otolitos (78) y en el desarrollo del laberinto (8).

#### 1.14.1.2.— Efectos en la reproducción.

La deficiencia de manganeso, en las ratas, puede ocasionar abortos, muertes tempranas de los recién nacidos y esterilidad. La producción de huevos disminuye en los pájaros, y sobreviven muy pocos embriones. En vacas deficientes, se producen retardos del estro y de la concepción (151).

Los machos de las diferentes especies sufren de esterilidad, ausencia de la líbido y degeneración de los túbulos seminíferos.

### 1.14.1.3.— Efectos neurológicos.

Las manifestaciones neurológicas más llamativas son: ataxia (observable en pollos, ratones, ratas y cobayos), incremento en la excitabilidad cerebral, y tendencia a presentar convulsiones (ratas).

La inyección de altas dosis de hidralazinas produce convulsiones y un descenso acentuando de la concentración del manganeso tisular; tales convulsiones desaparecen cuando se inyecta manganeso en grandes cantidades. Este efecto parece ser debido a la acción quelatante de la hidralazina (151).

### 1.14.1.4.— Otros efectos.

Se ha demostrado que la inyección endovenosa de sulfato de manganeso, produce un aumento brusco de los niveles de glucosa sérica (124). Sin embargo, Rubenstein y col (143) han reportado un efecto hipoglucémico del manganeso, en un enfermo diabético, aunque ese hallazgo no ha sido comprobado en otros pacientes de la misma enfermedad.

Rudra ha observado un incremento en el apetito de los animales deficientes y a este fenómeno lo denominó "hambre de manganeso" (144). Por otro lado, Evans y col (58) han demostrado que la deficiencia de colina agrava las manifestaciones de la deficiencia de manganeso (12, 31).

### 1.14.2.— Deficiencia de manganeso en el ser humano.

No se han descrito casos humanos de deficiencia de manganeso, aunque esta posibilidad debería investigarse en todas aquellas circunstancias que se acompañan de un aumento de su consumo, o de una disminución de su ingestión, por ejemplo: embarazo, crecimiento, desnutrición, etc.

Si extrapolamos los resultados obtenidos en animales, los desórdenes humanos que deben estudiarse, para descartar una deficiencia de manganeso, son los siguientes: la toxemia del embarazo, los desórdenes en el crecimiento óseo y cartilaginoso de los niños, y ciertos tipos de esterilidad.

Se ha dicho que el Lupus Eritematoso Diseminado puede ser debido a una deficiencia de este elemento. Esta hipótesis se basa en los efectos producidos por la hidralazina, así como en la reversión parcial del fenómeno LE, que se observa en perros alimentados con citrato de manganeso. Sin embargo, la administración de altas dosis de manganeso no mejora a los pacientes y además, no se han reportado casos de Lupus Eritematoso, en enfermos tratados por largos períodos con fenotiazinas, a pesar de que estos compuestos quelatan el manganeso (151).

## 1.15.— Exceso de manganeso.

La existencia de errores ingénitos de la homeostasis de dos oligoelementos (hierro y cobre), sugiere la posibilidad de que un defecto similar pudiera encontrarse en relación con el manganeso. Un fracaso en el rechazo de excesos de hierro en la dieta, conduce a su acumulación y a la producción de hemocromatosis. Si no se rechazan, los excesos de cobre pueden acumularse y causar la degeneración hepatolenticular. Dadas las enormes ingestiones de manganeso, en relación a su contenido corporal, es posible que, en ciertas condiciones, se produzca su acumulación tisular asociada a manifestaciones clínicas evidentes (132, 151) .

En general, los animales toleran bien las altas ingestiones de manganeso. Sin embargo, estas cantidades masivas, por vía oral, pueden interferir con la absorción intestinal de otros minerales.

Se ha observado que la inyección endovenosa de sulfato de manganeso (10-20 mg/100 g peso corporal) a ratas, produce un desarrollo, rápido y regular, de anormalidades hepáticas, incluyendo finalmente, una necrosis hepatocelular. El análisis ultraestructural revela alteraciones en el transporte biliar y en el aparato secretorio de los hepatocitos, así como una colestasis severa. Dados estos cambios morfológicos y fisiológicos, la sobrecarga aguda, con dosis masivas de manganeso por vía endovenosa, puede ser utilizada como modelo experimental para el estudio del mecanismo de producción de la colestasis intrahepática (174).

### 1.15.1.— Manganismo crónico.

Las manifestaciones clínicas que aparecen en mineros que trabajan con manganeso, se conocen desde hace más de 100 años, cuando Couper (39) describió la encefalopatía mangánica, en 5 trabajadores que inhalaban grandes cantidades de dióxido de manganeso, y describió su similitud clínica con el parkinsonismo. A partir de ese momento se reportaron otros casos (82, 150), pero fue en 1919 cuando se estableció la relación epidemiológica, clínica y patológica en la encefalopatía mangánica (54) y sus efectos graves en el Sistema Nervioso Central. Desde entonces, se han reportado numerosos casos de manganismo crónico (1, 2, 7, 10, 27, 101, 103, 114, 139, 147, 172) . Tales estudios han comprobado que esta afección se caracteriza, fundamentalmente, por un compromiso irreversible del sistema extrapiramidal y que sus manifestaciones neurológicas son similares a las de las enfermedades de Parkinson y de Wilson. Se presenta en el 1-4% de los mineros expuestos a polvos de manganeso, después de tiempos muy variados de exposición (64). Esta baja incidencia, frente al número de sujetos igualmente expuestos, ha hecho pensar en un problema de susceptibilidad individual (105) .

El metal inhalado abandona rápidamente las vías respiratorias y entra finalmente al organismo a través del intestino (104).

Clínicamente, el manganismo crónico comienza con cefaleas, anorexia, astenia, insomnio y comportamiento psicótico (locura mangánica). Después aparecen las manifestaciones extrapiramidales (rigidez, distonía, temblor, etc.) (40). El exceso de metal, adquirido mientras se trabaja en las minas, se elimina lentamente al alejarse de ellas, mientras que los síntomas neurológicos persisten, por lo que es inoperante el uso de agentes quelatantes. Parece ser que los polvos más neurotóxicos contienen manganeso de valencia mayor de 2 y se ha observado que mineros "sanos", en proporción significativa, presentan el fenómeno de la "rueda dentada" (103). Además de presentarse en los mineros, el manganismo crónico puede observarse en cualquier individuo expuesto a excesos del metal.

Desde el punto de vista anatomopatológico, las manifestaciones dominantes son: atrofia de las cortezas cerebral y cerebelosa, con dilatación de los ventrículos laterales, y atrofia de los ganglios basales, especialmente del globus pallidus, con degeneración neuronal, satelitosis y gliosis (27). En el manganismo producido experimentalmente en ratas, se observa degeneración neuronal, en la corteza cerebral y en el cerebelo (43). En monos rhesus, las alteraciones más características son las del núcleo subtalámico y las del globus pallidus, y comprenden una gran proliferación de células gliales, degeneración neuronal y alteraciones difusas, en el cerebro, tallo cerebral y cerebelo. Estas últimas consisten fundamentalmente en una gliosis acentuada (128).

En la enfermedad de Parkinson (13, 55) y en el manganismo crónico (74, 111, 115) se produce una deficiencia de Dopamina. De seis pacientes con la forma hipocinética del manganismo crónico, tratados por Mena y col (106) con dosis de L-Dopa hasta de 8 gr diarios, 5 mostraron reducción o desaparición de la rigidez y de la hipocinesia, con mejoría de los reflejos posturales y restitución del balance. En el sexto paciente las preexistentes hipotonía, debilidad e hipocinesia empeoraron con L-Dopa, pero mejoraron con 5-hidroxitriptofano (3 gr diarios), por lo que en este caso, probablemente existía un predominio de los receptores dopaminérgicos sobre los serotoninérgicos, lo cual sugiere, que el balance entre estos receptores puede ser importante para el control extrapiramidal del tono y del movimiento. A pesar de que los Parkinsonianos tratados con L-Dopa, presentan con frecuencia, movimientos coreoatetoides, éstos no se observaron en ninguno de los casos estudiados de manganismo crónico. A partir de este ensayo pionero, se ha venido utilizando la L-Dopa, con relativo éxito en el tratamiento del manganismo crónico.

#### 1.16.— Manganeso y otras enfermedades.

1.16.1.— Los individuos fallecidos a causa de hemocromatosis tienen una concentración de manganeso hepático significativamente mayor que otras personas fallecidas por cirrosis hepática debida a otras causas.

1.16.2.— Los infartos del miocardio producidos en perros, por ligadura de la rama descendente anterior de la coronaria izquierda, se acompañan de aumentos del manganeso sérico. En humanos, este incremento es inconsistente y no exclusivo de esta afección (157).

1.16.3.— El contenido de manganeso en el sarcoma osteogénico es mayor que en el hueso normal (83). Este hallazgo es importante, en virtud de la hipótesis según la cual, algunos metales pueden causar cáncer, por modificación de la actividad anabólica y catabólica de las células (65).

## PARTE 2.— BREVE EXPOSICION DE LOS PROBLEMAS A RESOLVER.

2.1.— La vía biliar es la principal ruta excretora del manganeso, pero existen otras vías menos importantes, a saber: páncreas, mucosa intestinal, glándulas mamarias, etc. Las células serosas de la parótida, y las de las glándulas submaxilares, presentan similitud estructural con las de la porción exocrina del páncreas (15). Por ello, nos propusimos estudiar el papel de las glándulas submaxilares en el metabolismo del metal. Ellas, a diferencia de las parótidas, son relativamente grandes en las ratas (0,3-0,6 g) y muy fáciles de identificar.

2.2.— La enfermedad de Parkinson (13, 55) y el manganismo crónico experimental (111, 115) se caracterizan por una deficiencia de Dopamina; los síntomas de ambas entidades clínicas son mejorados sensiblemente, con la administración de L-Dopa (37). Sin embargo, no se conoce el efecto de la L-Dopa en los niveles de Dopamina cerebral, en el manganismo experimental. Esto nos condujo a determinar las concentraciones de Dopamina y de su principal metabolito (Acido Homovanílico), en el cerebro de ratas tratadas crónicamente con cloruro de manganeso, y a estudiar los efectos de la L-Dopa en estos animales.

2.3.— A pesar de que Mena y col (106) han demostrado el valor de la L-Dopa en el tratamiento del manganismo crónico, no se conocían reportes de los cambios metabólicos, que se suceden en estos pacientes. Los datos experimentales que se han publicado, se refieren al uso de la L-Dopa en animales normales, pero se ignora si la droga afecta a éstos, y a los intoxicados con manganeso, en forma similar. Papavasiliou y col (124) demostraron que la L-Dopa disminuye la excreción del  $Mn^{54}$ , administrado por vía endovenosa, y consideraron que esos hallazgos eran