

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral
al folio 215 número 65 del libro
correspondiente.

Sevilla, 24 SET. 1990

El Jefe del Negociado de Tesis,

Luisa Soria Sanchez



**DISTRIBUCION TRASPLACENTARIA DE MERCURIO
EN HUMANOS Y ANIMALES DE EXPERIMENTACION**

**M^a Luisa Soria Sanchez
Sevilla, 1990**

UNIVERSIDAD DE SEVILLA - FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA, BROMATOLOGIA Y TOXICOLOGIA

AREA DE TOXICOLOGIA

VºBº

EL DIRECTOR



Fdo.: Dr. M. Repetto

VºBº

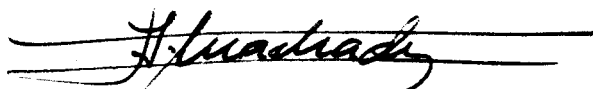
LA CO-DIRECTORA



Fdo.: Dra. P. Sanz

VºBº

EL DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO



Fdo.: Dr. A. Machado

UNIVERSIDAD DE SEVILLA - FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA, BROMATOLOGIA Y TOXICOLOGIA

DISTRIBUCION TRASPLACENTARIA DE MERCURIO
EN HUMANOS Y ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Memoria presentada por
M^º Luisa Soria Sanchez
para optar al grado de
Doctora en Farmacia.

Sevilla, Agosto de 1.990

Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología

CULTAD DE FARMACIA

Prof. García González, s/n.

012-SEVILLA

Don Alberto Machado de la Quintana, Director del Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología de la Universidad de Sevilla, manifiesta que:

La Memoria titulada "Distribución Trasplacentaria de Mercurio en Humanos y Animales de Experimentación" correspondiente a los trabajos de Tesis Doctoral realizados por D^a M^a Luisa Soria Sánchez, efectuada bajo la dirección del Dr. Manuel Repetto Jiménez, Profesor de este Departamento y de la Dra. Pilar Sanz Nicolás, reúne los requisitos necesarios para su presentación, a lo que doy mi conformidad.

En Sevilla, a 27 de Julio de 1.990.



The image shows the official seal of the University of Sevilla, which is circular and contains the text 'UNIVERSIDAD DE SEVILLA' and '1217'. Below the seal, there is a handwritten signature in black ink, which appears to be 'A. Machado'. The signature is written over a horizontal line that is part of a larger, stylized graphic element consisting of several overlapping lines.

Sr. Presidente de la Comisión de Doctorado.

Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología

FACULTAD DE FARMACIA

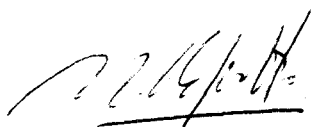
c/. Prof. García González, s/n.

41012 - SEVILLA

DON MANUEL REPETTO JIMENEZ, PROFESOR ASOCIADO DE TOXICOLOGIA DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA, BROMATOLOGIA Y TOXICOLOGIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA, DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA, Y DOÑA PILAR - SANZ NICOLAS, DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, JEFE DE LA SECCION DE BIOLOGIA DEL INSTITUTO NACIONAL DE TOXICOLOGIA, DE SEVILLA, .

CERTIFICAN: Que la presente Tesis Doctoral, titulada: "DISTRIBUCION TRASPLACENTARIA DE MERCURIO EN HUMANOS Y ANIMALES DE EXPERIMENTACION", que presenta la Lda. M^a Luisa Soria Sánchez, ha sido realizada en este Departamento bajo nuestra dirección, y aprovechando instalaciones e instrumentos del Instituto Nacional de Toxicología, de Sevilla. A nuestro juicio, reúne todos los requisitos exigidos por la normativa vigente para la elaboración y -- presentación de memorias de tesis doctorales, y ser defendida ante Tribunal.

Y para que conste, firmamos la presente certificación en Sevilla, a veintitres de julio de mil novecientos noventa.



A Francisco Javier y a nuestro
hijo.

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Don Manuel Repetto, Director del Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla, por la dirección de la presente tesis, ya que realmente su consecución, se debe tanto a su estímulo inicial como el manifestado a lo largo de la misma. Me considero afortunada de haber podido aprovechar sus orientaciones y sus conocimientos.

A la Doctora Doña Pilar Sanz, Jefa de la Sección de Biología del Instituto, co-directora de este trabajo, que me ha enseñado a enfocar e interpretar una investigación. Su constante dedicación ha convertido la elaboración del trabajo en un aprendizaje interesante y bonito.

A mis compañeros del Instituto, en especial al Doctor Don Miguel López-Artiguez, pues a su experiencia profesional debo mis conocimientos en el análisis de los metales. Al Doctor Don Domingo Martínez, su colaboración en las determinaciones cromatográficas me ha permitido profundizar en el conocimiento de esta técnica.

A Don Francisco Repetto por su tenaz ayuda en el laboratorio así como a Doña Josefa Valenzuela.

A Doña Inmaculada Flores y Doña Ana María Eguino a las que debo los programas estadísticos utilizados.

Agradezco las colaboraciones prestadas por el Departamento de Fisiología Animal, y por los equipos del Doctor Don Antonio Grilo, del Hospital Nuestra Señora de Valme, y del Doctor Don Antonio Reina, del Hospital Maternal Virgen del Rocío.

He tenido, además, la suerte de contar con una familia que me ha ayudado día a día y que ha sabido comprender, no sin sacrificio, la situación.

Espero que lo que me ha enseñado el hacer una Tesis Doctoral, pueda utilizarlo en beneficio de los demás. Gracias.

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LA PRESENTE MEMORIA

AMP, AMP, ATP:	5'-Mono, di y tri-fosfato de adenosina.
ARN _t :	Acido ribonucléico transferente.
Asp:	Acido aspártico.
C.:	Cordón umbilical.
CD:	Coefficiente de distribución.
CS:	Casi significativo.
GLP _s :	Good Laboratory Practices. (Prácticas Correctas de Laboratorios).
G-6-P:	Glucosa-6-fosfato.
Hg _T :	Mercurio total.
Hist:	Histidina.
Leu:	Leucina.
Lis:	Lisina.
MeHg:	Metilmercurio.
Met:	Metionina.
ND:	No detectado.
NS:	No significativo.
Tir:	Tirosina.
S.:	Sangre.
SOP _s :	Standard Operating Procedures. (Procedimientos Normalizados de Trabajo).

I N D I C E

INDICE

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	
REFERENCIAS HISTORICAS	5
PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS	9
PRODUCCION Y USOS	14
CONTAMINACION AMBIENTAL	
* Ciclo biogeoquímico del mercurio	20
* Contaminación por vía alimentaria	28
GRUPOS DE RIESGO	
* Población laboral	35
* Población general	37
TOXICOCINETICA	43
TRANSFERENCIA PLACENTARIA	
* Estructura y fisiología de la placenta	54
* Datos actuales sobre transferencia placentaria del mercurio	63
EFECTOS TOXICOS	
* Vapor de mercurio	68
* Mercurio iónico	69
* Metilmercurio	72
* Otros compuestos orgánicos mercuriales	80
VALORES DE REFERENCIA E INDICADORES DE LA EXPOSICION	81
DOSIS-EFECTO DOSIS-RESPUESTA	84
FACTORES QUE MODIFICAN LA TOXICIDAD	91
PARTE EXPERIMENTAL	
HIPOTESIS DE TRABAJO	95
PLAN DE TRABAJO	97
MATERIAL Y METODOS	
MATERIAL	
1.- Muestras de pescado y moluscos	101
2.- Muestras de humanos	101
3.- Muestras de animales	102
4.- Producto utilizado en el tratamiento de los animales	104
5.- Aparatos utilizados	104

6.- Reactivos	105
METODOS	
1.- Toma de muestra	107
2.- Experimentación animal	109
3.- Determinaciones analíticas	115
4.- Estudio estadístico	122
RESULTADOS	
PRECISION Y EXACTITUD	125
PECES Y MOLUSCOS	
* Peces	129
* Coquinas	131
* Comparación estadística entre peces y moluscos	133
HUMANOS	
* Grupo I	134
* Grupo II	137
* Comparación estadística entre los grupos I y II	143
* Comparación estadística entre tejidos. Grupo II	144
* Coeficientes de distribución tisular	148
EXPERIMENTACION ANIMAL	
* Lote I. Ratas preñadas no tratadas	152
* Comparación estadística entre tejidos. Lote I	157
* Coeficientes de distribución tisular	163
* Lote II. Ratas preñadas tratadas	167
* Comparación estadística entre tejidos. Lote II	174
* Coeficientes de distribución tisular	180
* Lote III. Ratas no preñadas no tratadas	184
* Lote IV. Ratas no preñadas tratadas	186
* Lote V. Crías recién nacidas no tratadas	187
* Lote VI. Crías recién nacidas tratadas	187
* Comparación estadística entre lote I y II	188
* Comparación estadística entre humanos y ratas (lote I y II).	191
DISCUSION	192
CONCLUSIONES	212
BIBLIOGRAFIA	216

I N T R O D U C C I O N

El mercurio es un viejo veneno que ha sido sujeto de numerosos estudios desde Aristóteles hasta nuestros días.

Su toxicología es complicada ya que sus distintas especies químicas presentan propiedades tóxicas diferentes.

El mercurio inorgánico existe en tres estados de oxidación, elemental, mercurioso y mercúrico. Además forma compuestos orgánicos, en los que el mercurio se encuentra unido por enlace covalente al último átomo de carbono. Estos compuestos se sintetizaron en 1863, y encontraron aplicaciones sobre todo como fungicidas y medicamentos. Dentro de este grupo también hay diferencias en sus propiedades tóxicas, según sea la naturaleza del radical orgánico (metilo, etilo, fenilo).

Sin embargo el mercurio no se consideró contaminante ambiental hasta que, en los años cincuenta, se produjo la intoxicación masiva en la población de la bahía de Minamata (Japón). Este suceso despertó un gran interés que aumentó cuando Jensen y Jernelöv (1969) encontraron que los microorganismos, presentes en los sedimentos de lagos, ríos y mares, metilan el mercurio inorgánico. El metilmercurio formado llega hasta el hombre por el pescado a través de la cadena trófica.

Aunque este proceso se agrava cuando existe contaminación, también en condiciones habituales, el mercurio (en forma de metilmercurio) se acumula en los organismos marinos sobre todo en las especies predadoras superiores, llegando a los humanos.

Tanto el desastre de Minamata como otros posteriores han permitido conocer en humanos los signos y síntomas de la intoxicación, en paralelo con estudios de experimentación animal, para profundizar en los efectos y mecanismos de acción. Aunque los trabajos son muy numerosos quedan aún puntos sin establecer.

Los gobiernos y organismos internacionales han demostrado su preocupación por el peligro que el mercurio representa para la población general, en especial para dos grupos de alto riesgo: pescadores y mujeres embarazadas (WHO, 1986); el primero por la importancia que el pescado representa en su dieta y el segundo por ser el feto el período de la vida más susceptible al mercurio y sus compuestos (WHO, 1980a). Estos organismos recomiendan estudios de niveles del xenobiótico en peces así como en la población general, sobre todo en los grupos mencionados.

El paso trasplacentario del mercurio (metilmercurio) quedó puesto de manifiesto por los casos de intoxicación en niños cuyas madres estuvieron expuestas durante la gestación; pero aún existen controversias en cuanto a los niveles presentes en placenta, cordón umbilical y tejidos en situaciones de exposición a dosis no tóxicas, o al menos subclínicas que, como hemos apuntado, son habituales en nuestros días.

La mayoría de los estudios se han enfocado hacia los efectos tóxicos producidos en feto mediante la experimentación animal con dosis altas; sin embargo, son escasos los referidos a distribución madre-feto en las condiciones en que la población general está expuesta. Por ello hemos creído interesante conocer la situación de exposición de madres gestantes en nuestro entorno e intentar establecer la distribución trasplacentaria mediante un modelo experimental sometido a distintos niveles de exposición no tóxica.

Fundamentalmente, hemos planteado nuestra hipótesis en el sentido de tratar de responder algunas de las cuestiones aún pendientes sobre la toxicocinética del mercurio y del metilmercurio en situaciones de baja exposición, del orden de las derivadas de la contaminación actual de nuestro medio y alimentos.

A N T E C E D E N T E S
B I B L I O G R A F I C O S

REFERENCIAS HISTORICAS

Los metales nobles como el oro, plata, mercurio, estaño, plomo y cobre, fueron los primeros en ser descubiertos y utilizados por la raza humana (Chang, 1981).

Hay indicaciones del conocimiento del mercurio desde los siglos XV y XVI (a. C.). Sus compuestos fueron utilizados como medicamentos por Hipócrates (400 a. C.) en Grecia y casi de forma simultánea en el tiempo en la India y Persia (King, 1957).

Las minas de Almadén en la provincia de Ciudad Real son explotadas desde el S. IV a C. y aún hoy proporcionan la mitad de la producción mundial.

Aristóteles le llamó Hydrargyrium (Clarkson, 1988) (Plata líquida), expresión que se sigue utilizando en inglés (quicksilver), en alemán (quecksilber) y en otros idiomas.

Fue considerado por los primeros filósofos como una esencia más que como una materia, con la propiedad de cambiar las características de otros materiales por adición o sustracción de mercurio.

Puede decirse que el mercurio es un viejo veneno cuyos efectos tóxicos son conocidos y brevemente referidos por Hipócrates, Plinio, que describe la exposición ocupacional de mineros a vapor de mercurio en las minas de Almadén (Foà, 1985), y Galeno entre otros (Clarkson, 1988).

Las unturas mercuriales fueron introducidas por los árabes (1000 d. C.) para el tratamiento de las enfermedades crónicas de la piel y desde 1495, en que se conoce la sífilis, se adoptan tratamientos intensivos por compuestos de mercurio, práctica continuada hasta el siglo actual en el que el uso fundamental en terapéutica ha sido como diurético en la forma orgánica de relativamente baja toxicidad (Bidstrup, 1964; Chang, 1981). (Ver más adelante).

La primera apreciación de los efectos tóxicos del vapor de mercurio como peligro industrial aparece en el trabajo de Ulrich Ellenberg "Von der Gifftigen Bensen Terupffen von Reüchen der Metal" (1473) (Goldwater, 1936).

A partir de este momento son numerosos los escritos publicados sobre mercurialismo. Paracelso hace una descripción detallada en su "Von der Bergsucht und anderen Beykrankheiten" (1533) donde refiere la clínica del envenenamiento ocupacional por mercurio (Hunter, 1955). Sin embargo una de las mejores descripciones clínicas fue la de Ramazzini en "De morbis artificum diatriba" (1713) (Clarkson, 1988).

Autores como Charr (1936) han recogido que en la dinastía Sung china (1241-1253) se usan antidotos para envenenamientos por aceite de crotón, aconitina, calomelanos, mercurio y hongos.

En 1863 se sintetizan los compuestos orgánicos de mercurio (Frankland y Duppa, 1863). Los dos químicos responsables de la síntesis murieron intoxicados por uno de ellos, el metilmercurio (Clarkson, 1988).

De forma cronológica, podemos decir que antes de 1914 la mayoría de las intoxicaciones crónicas fueron el resultado de la absorción de vapor de mercurio o sales inorgánicas. A partir de 1923, Riehm aprovechando las propiedades fungicidas de las sales orgánicas de mercurio introduce dichos compuestos que han sido responsables de numerosos casos de intoxicación (Chang, 1981).

Sin embargo, las características de las lesiones cerebrales por envenenamiento con metilmercurio, aunque intuitas en 1940, no son

descritas hasta 1954, estudiadas y detalladas en cuatro casos de muerte (Hunter y cols., 1940; Hunter y Russel, 1954).

En los años 50 se produce la intoxicación masiva en la bahía de Minamata (Japón) por metilmercurio y a partir de entonces el mercurio es considerado como un contaminante peligroso.

PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS

El mercurio es un metal blanco plateado, líquido a temperatura ambiente y el único conocido en estado líquido a 0 °C.

Junto con cadmio y cinc, se ubica en el grupo IIB de la tabla periódica. Su estructura cortical externa es $5d^{10}, 6s^2$.

Sus características físico-químicas (Miall, 1961) son las siguientes:

Número atómico	:	80
Peso atómico	:	200.61
Punto de fusión	:	-38.9 °C
Punto de ebullición	:	356.9 °C
Densidad (20 °C)	:	13.5955

La presión de vapor entre 0 °C-150 °C puede calcularse:

$$\lg P = \frac{- 3212.5}{T + 8.025}$$

P = Presión de vapor

T = Temperatura absoluta

Tensión superficial : 480.3 din/cm³ (frente a 75.6 para el agua).
Exhibe un menisco reverso en tubo de vidrio (Stokinger, 1981).

A temperatura ambiente conduce mal la corriente eléctrica, pero se convierte en un excelente conductor en las proximidades del cero absoluto (superconductor). A elevada temperatura, en estado de vapor, conduce la electricidad (lámpara de vapor de mercurio, rica en rayos ultravioleta).

Su coeficiente de dilatación térmica es prácticamente uniforme entre 0 °C y 300 °C por lo que se utiliza en la construcción de termómetros. Por su elevada densidad y baja presión de vapor se usa también en barómetros y bombas de vacío.

Disuelve numerosos metales con formación de amalgamas, sin embargo no lo hace con el hierro por lo que se comercializa y conserva en frascos de este metal (Burriel y cols., 1983).

Su solubilidad en agua es de 0.035 mg/L a 25 °C y su volatilidad desde soluciones acuosas, en relación al agua, es de 15.400. A 20 °C se evapora de las gotas en un rango de 5.8 µg/hora/cm² y el aire saturado contiene 13 mg/m³ (Magos, 1988). Esto supone un nivel de mercurio 360 veces superior a la concentración media permisible de 0.05 mg/m³ recomendada para la exposición ocupacional por los Institutos Nacionales de Seguridad y Salud, E.U.A. (N.I.O.S.H., 1977).

A 40 °C la solubilidad del mercurio en pentano es de 2.7 mg/L, en metanol 0.6 mg/L y en agua 0.02 mg/L (Hughes, 1957).

Químicamente puro es estable a temperatura ordinaria, no reacciona con el aire, oxígeno, dióxido de carbono, dióxido de nitrógeno o amoníaco, pero al contacto con el aire se va oxidando lentamente a HgO que pasa de nuevo a mercurio cuando se calienta a 500 °C (Stokinger, 1981).

El valor del potencial del sistema $\text{Hg}_2^{2+}/2\text{Hg}$ es bastante elevado en medio ácido ($E^0 = 0.79 \text{ V}$) lo que confiere al elemento ciertas características de metal noble. No es atacado por los ácidos no oxidantes excepto por el ácido yodhídrico concentrado en el que se disuelve (Burriel y cols., 1983).

Se combina con el azufre y halógenos, pero es realmente inerte

excepto frente al ácido nítrico que es su mejor disolvente, tanto diluido como concentrado; también es soluble en sulfúrico pero sólo concentrado y en caliente.

Además de su estado elemental, el mercurio existe en los estados de oxidación +1 (mercurio I) y +2 (mercurio II) en los que el átomo de mercurio ha perdido uno y dos electrones, respectivamente.

Los compuestos de mercurio son siempre divalentes, pero la tendencia del mercurio es utilizar electrones de valencia para covalencias, así la unión del mercurio mercúrico (Hg^{2+}) a átomos de mercurio (Hg^0) forma el mercurio mercurioso (Hg_2^{2+}) (Magos, 1988).

Además de las sales inorgánicas, como cloruros, nitratos y sulfatos, el mercurio (II) forma una clase importante de compuestos organometálicos que se caracterizan por el enlace del elemento a uno o dos átomos de carbono para formar compuestos del tipo RHgX y RHgR' donde R y R' representan el componente orgánico. Los compuestos más numerosos son los del tipo RHgX en los que X puede ser cualquier anión.

El enlace C-Hg es químicamente estable. No se rompe en agua ni por acción de ácidos o bases libres. Esta estabilidad no se debe a una gran potencia del enlace (sólo de 15-20 cal/mol) sino a la bajísima afinidad del mercurio por el oxígeno (W.H.O., 1976).

En la tabla I se recogen las características fisicoquímicas del mercurio y algunos de sus compuestos (Stokinger, 1981).

Tabla I.- Propiedades fisico-químicas del mercurio y algunos de sus compuestos

<u>Compuesto</u>	<u>P.atoPm</u>	<u>Densidad</u>	<u>PF (°C)</u>	<u>PE (°C)</u>	<u>Solubilidad</u>
Mercurio (Hg)	200,59	13,5939 (20°C)	-38,87	356,58	Insoluble en agua fría o caliente; ClH, BrH o IH diluido; soluble en NO ₃ H.
Oxido de mercurio (HgO)	216,59	11,14	Dec. 500	—	52 mg/L (25°C), 395 mg/L (100°C), sol. ácidos; insol. alcohol, éter, acetona, alcalis, NH ₃
Sulfuro de mercurio (HgS)	232,65	8,10	Subl.583,5	—	10 ug/L (18°C); sol. Na ₂ S, agua regia; insol. NO ₃ H, alcohol.
Cloruro mercúrico (HgCl ₂)	271,50	5,44 (25°C)	276	302	36 g/L (0°C); 69 g/L (20°C); 480 g/L (100°C); 330 g/L alcohol (25°C); 250 g/L éter; sol. ac. acético piridina.
Sulfato mercurioso (Hg ₂ SO ₄)	497,24	7,56	Dec.	Dec.	600 mg/L (25°C); 900 mg/L (100°C); sol. H ₂ SO ₄ , HNO ₃ .
Sulfato mercúrico (HgSO ₄)	296,65	6,47	Dec.	—	Dec. en agua caliente; sol. ácido, NaCl; insol. alcohol, acetona, NH ₃ .
Acetato mercúrico Hg (C ₂ H ₃ O ₂) ₂	318,16	3,270	Dec.	—	250 g/L (10°C); 1 Kg/L (100°C); sol. alcohol, ac. acético.
Fulminato mercúrico Hg(NCO) ₂	284,62	4,42	Explosivo	—	Poco soluble en agua fría, sol. en caliente; alcohol, NH ₄ CH.
Dimetilmercurio Hg(CH ₃) ₂	230,66	3,069	—	96	Sol. alcohol, éter.
Cloruro de etilmercurio C ₂ H ₅ HgCl	265,10	3,482	193	Subl. 40	Insol. en H ₂ O fría; muy soluble en alcohol caliente; poco soluble en éter.
Acetato de fenilmercurio (C ₆ H ₅ HgO ₂ C ₂ H ₃)	336,75	—	149	—	Poco soluble en agua caliente o fría; sol. en acético glacial, benceno y alcohol.

PRODUCTION - USOS

El mercurio se encuentra en rocas de muchas clases. Aunque su mena principal es el cinabrio (α -HgS) del que se recupera en un 86.2%, otras fuentes son la livingstonita ($\text{HgS} \cdot 2\text{Sb}_2\text{S}_3$), metacinabarita (β -HgS) y corderoita [$(\text{Hg}_2\text{S}_2(\text{Cl}_2)(\text{I}_2))$].

Sus rocas huésped más frecuentes son piedras calizas, arcillas calcáreas, serpentina ($3\text{MgO} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cuarzo pedernal, andesita (feldespato sódico cálcico), basalto y riolita (feldespato alcalino y cuarzo) (Stokinger, 1981), que contienen aproximadamente alrededor de 10-300 ng/g (Magos, 1988).

Su extracción se lleva a cabo por calentamiento en hornos o retortas (estas últimas se utilizan cuando el depósito es pequeño). Durante el calentamiento ha de tenerse en cuenta la temperatura, parámetro conflictivo pues sólo por encima de 300 °C se libera suficiente cantidad del metal, siendo ésta la temperatura límite por debajo de la cual puede calentarse sin peligro de pérdida o envenenamiento de trabajadores.

El proceso químico en los hornos es la combinación del oxígeno con el azufre generando sulfuroso con la separación de mercurio como vapor.

En la retortas, donde hay ausencia de oxígeno, es necesaria la adición de cal, que se combina con el azufre, liberándose mercurio o bien se añade hierro, produciéndose en este caso sulfuro ferroso y mercurio.

El metal obtenido es generalmente puro.

Los países mayores productores son Italia, México, España y Yugoslavia contribuyendo en un 47% a la producción mundial; el resto del porcentaje se reparte entre 17 países (Stokinger, 1981), aunque los depósitos están localizados casi exclusivamente en el cinturón Mediterráneo, Himalaya y Pacífico.

La producción mundial se estima actualmente en 8000 tons/año (Magos, 1988), esta producción ha variado a lo largo de las últimas décadas, así entre 1900 y 1940, se registró un promedio de 4000 toneladas anuales. La tasa media desde 1950 ha sido de cerca de un 2% por año, así en 1968 fué de 8000 toneladas y en 1973 de 10000 toneladas (Korringa y Hagel, 1974).

Estos autores esquematizaron como sigue el consumo medio de los países industrializados:

Plantas de compuestos alcalinos de cloro (cloro-sosa).....	25%
Equipos eléctricos	20%
Pinturas	15%
Sistemas de medición y control (termómetros y esfignógrafos entre otros)	10%
Agricultura	5%
Odontología	3%
Laboratorios	2%
Otros usos	20%

En la actualidad algunos de estos porcentajes han variado sensiblemente, así el uso del fulminato de mercurio en explosivos, incluido en el último grupo ha desaparecido totalmente. Ha disminuido considerablemente la utilización de su acción viscosante en la industria de la pulpa y del papel no empleándose en Suecia ni en Finlandia desde 1968 a raíz de la prohibición aparecida en 1966 (Grupo de Expertos Suecos, 1971).

Otro de los usos que ha disminuido es el de las aleaciones dentales introducidas en Francia en 1820 (Clarkson, 1988). Se considera

insignificante su uso para recuperar el oro y la plata (Nriagu, 1979).

El consumo en la Comunidad Económica Europea en 1982 fué de 1164 toneladas y la distribución en los distintos sectores industriales durante el periodo 1977-78 se estimó en más de un 60% en la industria química (electrodos en fábricas de cloro y sosa, pinturas), 12% en industrias de baterías, un 7% en industria de instrumentos de precisión y el 20% restante en usos misceláneos (Eurostat, 1985).

En general y durante los últimos diez años, se han producido numerosos cambios en los usos del mercurio. Las descargas industriales se han restringido y sus campos de aplicación se han reducido o eliminado. Sin embargo el uso del mercurio en baterías aún sigue aumentando (Luten y cols., 1987).

Sus aplicaciones terapéuticas, muy frecuentes en otras décadas, también han disminuido. Actualmente su forma metálica, como jabón mercurial, se emplea en el tratamiento de la psoriasis. Hasta fecha reciente se ha utilizado el cianuro de mercurio por vía intravenosa en el tratamiento de la sífilis vascular, y como estimulante en la curación de úlceras de cicatrización lenta o tórpida; en nuestros días está presente en colirios. El calomelano (Hg_2Cl_2) se ha aplicado como purgante, antihelmíntico, en colirios y se añadía al polvo de lavar los dientes para niños. El óxido de mercurio amarillo ha sido empleado largamente en colirios, polvos y pomadas para impétigos y otros procesos dermatológicos hasta la llegada de sulfamidas y antibióticos. Igual ocurrió con el timerosal (etilmercurio tiosalicilato) y otros antisépticos similares (Lorenzo Velázquez, 1966), aunque persista la aplicación del sublimado corrosivo ($HgCl_2$), cloromercuripseudobutilfenol etc., y sobre todo el dibromo-hidroximercuri-resorcín-ftaleína sódica o merchromina (Catálogo de Especialidades Farmacéuticas, 1990).

La capacidad diurética y catártica de los mercuriales fué aprovechada por Paracelso (Lorenzo Velázquez, 1966). Aunque el calomelano se usó como diurético en el siglo XVI, han sido los organomercuriales los más empleados como tales. El efecto fué descubierto casualmente durante el tratamiento, con Merbafeno (2-cloro-4[[(5,5-dietil-1,4,5,6-tetrahidro-4,6-dioxo-2-pirimidinil)oxi]mercuri] fenoxiacético sal sódica, de un

paciente sifilítico (Bidstrup, 1964). La acción diurética depende tan sólo del ión mercurio que actúa sobre los túbulos proximales interfiriendo la capacidad de éstos para reabsorber iones Na^+ , y se manifiesta por una intensa natriuresis acompañada de eliminación de cloruros. El mecanismo bioquímico se interpreta por interferencia con enzimas tipo -SH (succínico deshidrogenasa y anhidrasa carbónica entre otros), al igual que el efecto tóxico. Se prefiere la utilización de compuestos orgánicos a los inorgánicos ya que estos últimos se ionizan rápidamente y es pequeño el margen entre la dosis diurética a la tóxica (García Valdecasas, 1978).

Actualmente sólo encontramos en uso la mercurofilina en inyectables con mecanismo inhibidor de la anhidrasa carbónica (Catálogo de Especialidades Farmacéuticas, 1990) ya que están prácticamente desplazados por otros diuréticos, como tiazidas (que inhiben la reabsorción de Na^+ en el segmento cortical del túbulo ascendente e inicio del túbulo contorneado); grupo de la furosemida con el mismo mecanismo que los anteriores en el asa de Henle; o los ahorradores de potasio de acción distal inhibidores de la anhidrasa carbónica, como la espironolactona, etc. (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1987).

Se han utilizado algunos compuestos orgánicos mercuriales por vía tópica para despigmentación de individuos de raza negra.

CONTAMINACION AMBIENTAL

A. Ciclo biogeoquímico del mercurio.

Los estudios más recientes indican una concentración de mercurio casi nula en las capas más altas de la atmósfera, aunque varía según ritmos circadianos y circanuales. En la baja troposfera la concentración media de mercurio es de 1.5 ng/m³ (E.P.A., 1984), de 3.9 ng/m³ en zonas alejadas de centros mineros y de 50 ng/m³ en las próximas a minas y áreas urbanas (Magos, 1988). En el océano abierto la concentración es de 3.0 ng/L y en las riberas entre 5.0 y 10.0 ng/L (Luten y cols., 1987).

Estas contaminaciones provienen de distintas fuentes de mercurio, que podemos agrupar :

- Fuentes naturales
 - Fuentes antropogénicas
- Combustibles fósiles

Actividades industriales

Los procesos de desgasificación natural de la corteza terrestre como erupciones volcánicas y volatilización o solubilización de rocas, suelos y sedimentos constituyen la fuente natural de emisión de mercurio (Wollast y cols., 1975) estimada en 1972 por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, en cifras entre 25000 y 150000 toneladas de mercurio al año.

Las fuentes naturales pueden dar lugar a alta contaminación local;

en fuentes de aguas próximas a yacimientos de mena de mercurio los valores pueden ser de 80 µg/L, en comparación con niveles de 0.1 µg/L en fuentes no contaminadas (Wershaw, 1970).

El mercurio procedente de combustibles fósiles se estimó en 5000 toneladas/año y en 20000 toneladas/año por la descarga antropogénica total en todo el mundo (Hammond, 1971).

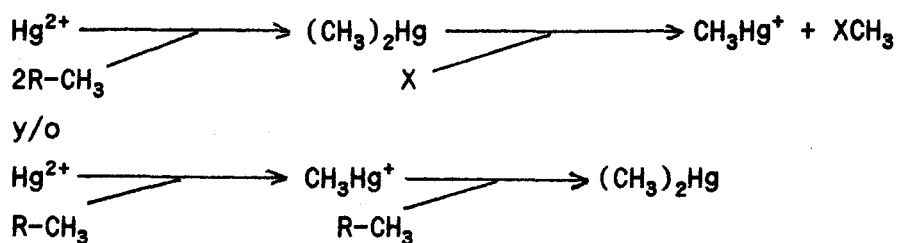
Datos posteriores muestran un aumento del flujo de mercurio atmosférico, debido a la minería y diferentes industrias, de 2500 a 40000 toneladas/año. Este mercurio atmosférico se encuentra en su mayoría (80%) en forma elemental Hg^0 , el cual se mantiene un largo período en la atmósfera, calculado entre 0.5 a 2 años (Slmer y cols., 1985; Linqvist y Rodhe, 1985). El aumento de otras fuentes terrestres se estima entre un 30-45% (Magos, 1988).

A pesar del desarrollo positivo de las actividades antropogénicas, especialmente la emisión industrial, que ha supuesto un depósito de 100000-150000 toneladas de mercurio en la tierra, existe un equilibrio con la cantidad emitida debido al complicado ciclo geológico del mercurio (Klein, 1986). El ciclo general depende de la circulación atmosférica del vapor de mercurio (ciclo global) y de los compuestos volátiles de metilmercurio (ciclo local) (Jensen y Jernelöv, 1972).

Se conoce que aproximadamente 1/3 del flujo atmosférico retorna a la tierra y 2/3 a la superficie de los océanos generalmente por procesos de precipitación; mientras que el movimiento del flujo tierra-océano-sedimentos-tierra es de 1300 toneladas/año, en el ciclo entorno al hombre los valores son de 5000, 3500 y 2500 toneladas/año (Lindberg, 1987; Magos, 1988).

En la tierra, el mercurio se une a los ácidos húmico y fúlvico (Lodenus, 1987). Su liberación de estos ácidos puede realizarse en situaciones anómalas como inundaciones o desagües violentos (Rekolainen y cols., 1986); estos ácidos son los principales transportadores del metal a los ecosistemas acuáticos donde se acumula (Surma-Aho y cols., 1986) y se transforma.

Generalmente la transformación de mercurio inorgánico a mercurio orgánico se realiza de acuerdo con las siguientes reacciones (Klein, 1986):



Estas transformaciones meramente químicas adquieren un especial interés cuando en 1960 investigadores suecos descubren altos niveles de metilmercurio en peces cogidos en áreas donde no se habían usado compuestos de metilmercurio (Clarkson, 1988). Este hallazgo coincide cronológicamente (durante los años 50-60) con una de las mayores tragedias causadas por la contaminación acuática, en la que murieron más de 50 personas y quedaron fatalmente afectadas alrededor de 700, que vivían en la bahía de Minamata, localizada en el mar Yatsushiro (Irukayama, 1966; Takeuchi y Eto, 1975). El mercurio procedía de una planta industrial de compuestos de vinilo y acetaldehído, cuyo reactor contenía un catalizador con un 1% del metal (Takeuchi, 1985). Funcionaba desde 1952 y se estimó que durante unos diez años la cantidad de mercurio depositada y acumulada en los sedimentos del fondo marino pudo ser de 150 toneladas (Kudo y Miyahara, 1988).

Inicialmente se conocía que tanto el mercurio inorgánico como el fenil mercurio estaban presentes y eran liberados por algunas industrias pero posteriormente se supo que el mercurio estaba casi en su totalidad como metil mercurio (CH_3Hg^+) (W.H.O., 1976).

Cuando el metil tiometil mercurio fué aislado de crustáceos de la bahía se sugirió que el mercurio podría haber sido alquilado por plancton y otras formas de vida marinas (Wood y cols., 1968).

Después de experimentos en distintas condiciones (aeróbicas, anaeróbicas, pH), Jensen y Jerneöv (1969) concluyen que "la metilación biológica de los compuestos de mercurio es la explicación de que el CH_3Hg^+ se encuentre en peces y que la formación del dimetil mercurio

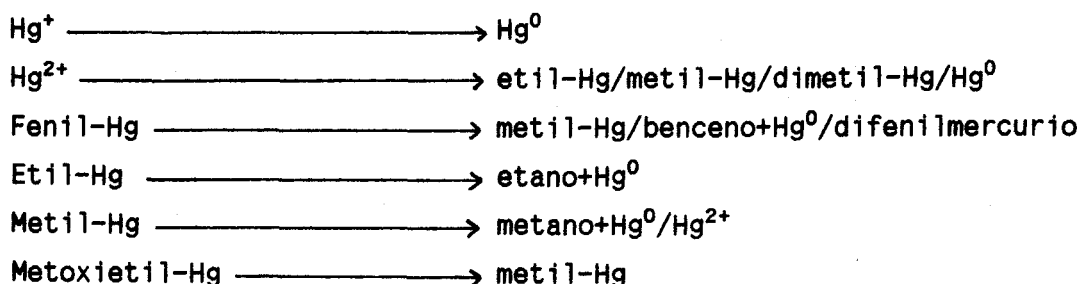
(CH_3HgCH_3) volátil puede ser un factor en la redistribución de mercurio desde los vertidos industriales acuosos. El proceso de metilación es fundamental para conocer el turnover del mercurio y puede ser significativo en la entrada y distribución del mercurio en peces y en su movilización desde depósitos de sedimento del fondo marino al medio general".

La metilación se lleva a cabo con la participación de la metilcobalamina que pasa a vitamina B_{12} con formación de metano (CH_4) (Wood y cols., 1968).

La presencia en el medio de numerosos donadores de metilo resalta la importancia del papel de la biometilación en la contaminación marina y conduce al estudio de los ciclos biogeoquímicos (Alzieu y Thibaud, 1983). Esta metilación ocurre inicialmente en sedimentos, en los que se acumula, lo cual sirve de índice de deposición a lo largo del tiempo mediante el estudio de los distintos estratos (Rada y cols., 1989).

La biometilación depende de las características físicas del sedimento (potencial redox, contenido en azufre) y de la forma química del mercurio (elemental o iónica) (Barlett y Craig, 1987).

Las reacciones de transformación mediadas por microorganismos pueden resumirse como sigue (Klein, 1986):



Estos procesos suceden en los sedimentos, aunque se ha visto que puede existir metilación en columnas de agua (Topping y Davies, 1981). En los últimos trabajos se ha observado un incremento de la actividad de metilación en columnas de agua de lagos canadienses cuando el agua es

acidificada (Xun y cols., 1987).

El traspaso, para los metales en general, desde los ciclos geoquímicos a los biológicos puede esquematizarse como se representa en la figura 1. Para el caso del mercurio prevalece el esquema general aunque sus transformaciones específicas se detallan en la figura 2.

Una vez que el metilmercurio se forma en las capas de sedimento superiores o suspendidos en el agua, se difunde al agua de donde debe pasar y acumularse rápidamente en organismos vivos, debido a su insolubilidad en el medio acuoso (WHO, 1976).

En los organismos marinos el porcentaje de metilmercurio es mucho mayor que en agua de mar, lo que se explica por la participación de una cadena trófica a partir de la mezcla fito-zooplankton en que un 20-50% del mercurio es metilmercurio (Knauer y Martin, 1972), tras ser ingerido por peces superiores en los que se encuentra en ellos entre un 60-80% de metilmercurio, mientras que en sus predadores los porcentajes se establecen entre un 70-90% (Bernhard y George, 1986).

Otros autores estiman que la incorporación de metil mercurio a los peces se realiza por vías diferentes:

- Directamente del agua
- A través de las branquias y piel
- Por el tubo digestivo a partir del alimento
- Mercurio inorgánico que se metila en el propio intestino (Pena y Alberto, 1984).

La metilación es el proceso que regula los niveles de mercurio en peces ya que la mayoría de este se encuentra en forma metilada (Korthals y Winfrey, 1987).

Existen dos procesos concomitantes a la metilación y acumulación que son la desmetilación y la volatilización.

El primer proceso puede realizarse tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas aunque se ha demostrado que las condiciones aeróbicas lo favorecen (Compeau, y Bartha, 1984; Ramlal y cols., 1986), y que

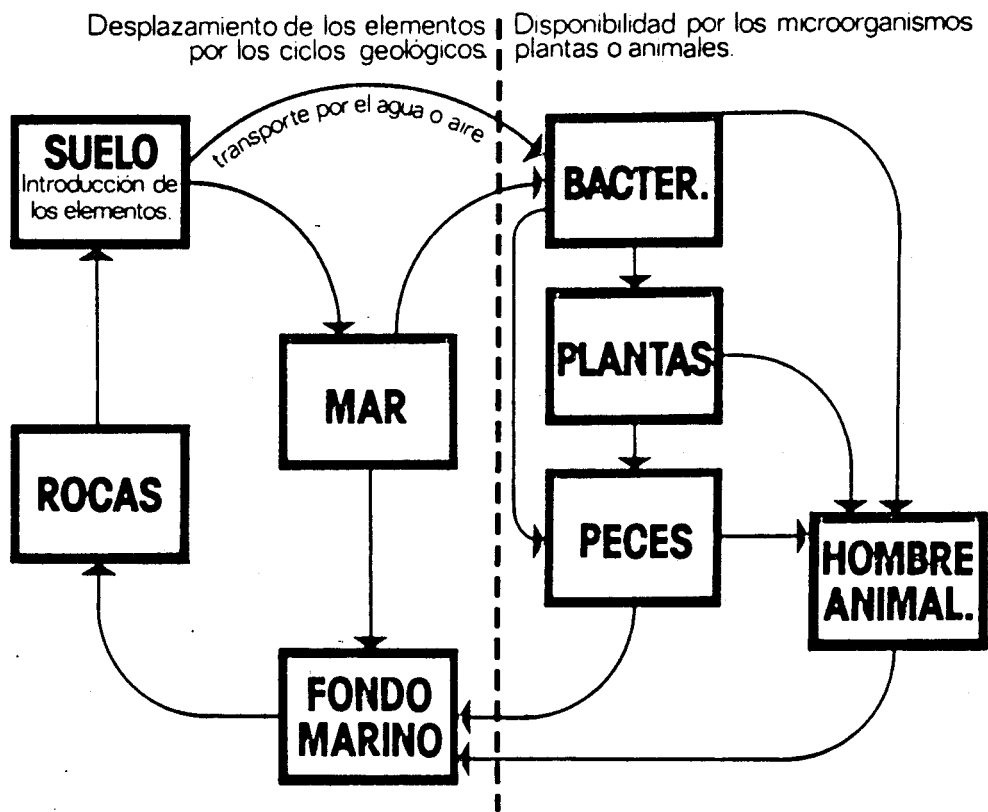


Figura 1.- Traspaso, para los metales, desde los ciclos geoquímicos a los biológicos. (Tomada de Menéndez, M.: Toxicología de los metales.1979)

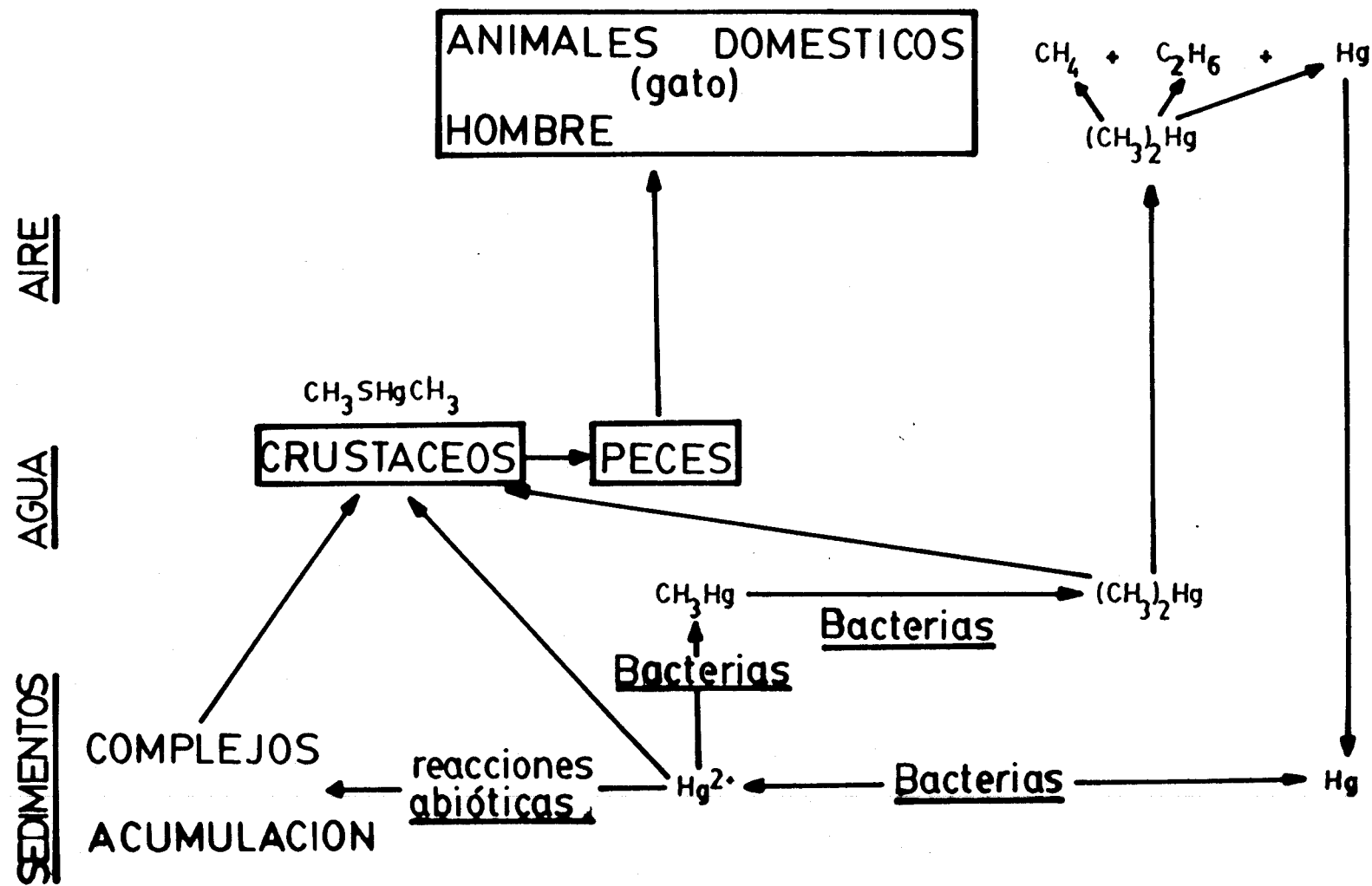


Figura 2.- Transformaciones específicas del mercurio. (Tomada de Butler, G.C.: Principles of Ecotoxicology, 1978).

aunque la influencia del pH es menor que en la metilación, una disminución del mismo disminuye la desmetilación (Ramlal y cols., 1985).

El segundo proceso es llevado a cabo por bacterias que viven en medios contaminados por mercurio y que se hacen resistentes al mismo (Nelson y Colwell, 1975; Nakamura y cols., 1988). Debe existir un equilibrio con la metilación que se correlaciona con la resistencia de los microorganismos a las concentraciones de mercurio inorgánico (Jernelöv, 1973).

La mayoría de los microorganismos reducen por vía enzimática tanto el mercurio orgánico como el inorgánico a mercurio elemental volátil (Olson y cols., 1979; Nakamura y cols., 1986); una de las últimas comprobaciones se ha realizado con el compuesto fluoresceína-acetato mercúrico, desinfectante hospitalario al que numerosas cepas son resistentes (Nakamura, 1989).

La cantidad neta de metilmercurio producido depende de la sucesión o simultaneidad de los procesos citados (Jernelöv y Martín, 1980). Representa un serio problema potencial en el ecosistema acuático por su toxicidad y acumulación en tejidos de peces, puesto que estos pueden presentar concentraciones 1000 a 10000 veces superiores al agua del mar (Klein y Goldreger, 1970).

B. Contaminación por vía alimentaria.

Si analizamos históricamente la importancia de la presencia del mercurio y sus compuestos en los alimentos, tenemos como hechos más significativos, en primer lugar el desastre de Minamata donde se encontró un contenido en metilmercurio anormalmente alto en peces.

En Suecia se detectaron también concentraciones elevadas de mercurio en los peces de agua dulce, así como en los procedentes de áreas costeras marinas, lo que trajo como consecuencia la prohibición gubernamental del uso de los compuestos de metilmercurio y restricción de otros compuestos de mercurio.

La denuncia de científicos canadienses sobre la contaminación mercurial en peces de agua dulce, originó la retirada del comercio de los peces procedentes del lago St. Clair (Zook, y cols., 1976).

En 1956 se produce una intoxicación masiva en Iraq por harina de trigo cuyo grano había sido tratado con el fungicida etil mercurio-p-toluen sulfamida. Se han repetido intoxicaciones de igual etiología al consumirse granos destinados a la siembra adicionados de conservadores. Igualmente en Paquistán se produjeron 34 muertos intoxicados por trigo tratado con etil mercurio y acetato de mercurio (Repetto, 1988).

En los años 1971-1972 se produjeron en Iraq 6148 intoxicaciones, con 452 muertos, como consecuencia de la ingestión de pan, al haber sido tratado el trigo con metilmercurio como fungicida (Al-Mufti y cols., 1976; Repetto, 1988).

Es importante la consideración ya indicada por Ackfors y cols. (1970) de que el contenido en mercurio de los tejidos musculares aumenta con la edad y peso de los ejemplares, y posteriormente demostrada en numerosos estudios como los recogidos en el informe de la O.M.S. del año 1976.

Los realizados por Establier (1972) demuestran un aumento de concentraciones de mercurio con el peso de distintos ejemplares de rabil (Thunnus albacares) y merluza (Merluccius merluccius) aunque en

concentraciones más bajas que los límites generalmente admitidos.

Puede establecerse correlación positiva entre la concentración de mercurio y edad, peso y tamaño en orden decreciente, aunque hay que puntualizar correlaciones negativas entre el mercurio del músculo y el total con el peso y longitud debido a la "dilución por crecimiento" en algunas especies como en arenques de uno o dos años (Braune, 1987).

El sexo es otro factor determinante y se ha observado un contenido mercurial superior en machos que en hembras de un determinado peso corporal debido al parecer al crecimiento más lento de los primeros (W.H.O., 1976).

Por tanto, la cantidad de mercurio que un pez puede acumular está en función de su longevidad y de su tasa de desarrollo (De Freitas, 1977; Phillips, 1980; Luten y cols., 1987) principalmente, así como de su contenido graso.

Las concentraciones de mercurio encontradas en peces indican el grado de contaminación de los medios en que se encuentran, aunque es necesario completar el estudio con determinaciones tanto del agua como del plancton y organismos acuáticos inferiores. Para demostrar esta necesidad se recogen en la tabla II las concentraciones medias de mercurio (en mg/Kg de peso húmedo) registradas en el tejido muscular de diversas especies marinas, según datos modificados en 1981 del Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias (Comisión del Codex Alimentarius, 1987).

Tabla II.- Concentraciones medias de mercurio (mg/Kg de peso húmedo) en tejido muscular de diversas especies marinas.

Especies	Océano/mar			
	Atlántico	Pacífico	Indico	Mediterráneo
Caballa	0.07-0.20	0.16-0.25	0.005	0.335
Sardina	0.03-0.06	0.03	0.006	0.248
Especies varias no predadoras	0.08-0.27	0.07-0.09	0.02-0.16	0.07-0.69
Especies predadoras				
Atún	0.30-0.80	0.30	0.06-0.40	0.26-1.15
Pez espada	0.80-1.30	1.60*	-	1.20-1.80*
Diversas especies de elasmobranquios (Tiburón raya)	1.00	0.70-1.10	0.04-1.50	0.06-2.00

*Basados en datos muy limitados

Se destaca, en todos los casos, concentraciones superiores en los peces del mar Mediterráneo. Estudios realizados en el mismo mar donde también se encuentran concentraciones de mercurio anormalmente altas en tejidos de ciertos peces, no demuestran enriquecimiento de mercurio en estas aguas ni en sedimentos, plancton o pequeñas especies marinas, en comparación con el océano Atlántico Norte o con otras áreas oceánicas y no hay concentraciones altas en sedimentos, plancton o pequeñas especies marinas en comparación con similares (Aston y Fowler, 1985). Aún no se conoce la explicación de esta situación.

Puede afirmarse que "con pocas excepciones, casi todo el mercurio presente en pescado de agua dulce y salada se halla en forma de metilmercurio" (W.H.O., 1976), afirmación que se reitera en el Tema 14(b) del Programa de la Comisión del Codex sobre aditivos alimentarios en su 19ª reunión en La Haya en 1987. En él se indica que, sin olvidar la aportación de mercurio correspondiente al aire y al agua, "la principal

fuente de mercurio para el organismo humano son los alimentos, de los cuales el pescado y los productos pesqueros contienen la mayor parte de metilmercurio que se ingiere".

Promovidos por diferentes organismos se han realizado, y se siguen efectuando amplios estudios sobre niveles de mercurio en la biota marina, que han dado lugar, principalmente a cuatro bases de datos :

- Consejo Internacional para la exploración del mar (CIEM).
- Vigilancia e Investigación de la contaminación en el Mediterráneo (MED POL).
- Grupo de Trabajo Australiano sobre el mercurio en el pescado.
- Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de los Estados Unidos.

Al parecer, en todo el mundo se dispone ya de una gran cantidad de información sobre el mercurio en el pescado. Sin embargo, no son de fácil acceso, pues la mayor parte de los mismos ha aparecido en informes de organismos especializados de gobiernos y no son del conocimiento público; además algunos países son reticentes a publicarlos.

En la tabla III se recoge el contenido total de mercurio ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) en el pescado y los mariscos, según los datos enviados por los puntos de contacto, entre los que están incluidos los de España, a la Comisión del Códex Alimentarius; hemos añadido a la tabla una columna con la información disponible sobre contenido graso de cada especie, lo que puede servir para la interpretación de los datos.

Tabla III.- Contenido total de mercurio ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) en pescados y mariscos.

Media/mediana				
	Intervalo	Valor "típico"	Percentil 90 valores máximos	% grasa (*)
<u>Moluscos</u>				
Abalone	10-100	30		
Almejas	10-450	50	100-170	
Mejillones	5-150	30	50-300	
Pulpo	15-130	50	30-250	
Ostras	10-200	5	10-300	1.2
<u>Crustáceos</u>				
Cangrejo	10-500	100	80-120	
Langosta	50-200	100	60-230	1.9
Camarones	25-200	100	30-250	0.8
<u>Pescado</u>				
Anchoas	10-400	100	30-220	3.6
Bonito	90-400	250	130-700	4.5
Bacalao	20-500	100	50-300	0.5
Platija	20-360	100	120-430	0.5
Merluza	10-300	100	100-810	2.0
Arenque	10-200	50	50-1210	10.0
Caballa	50-300	150	100-500	12.0
Salmonete	10-300	70	40-80	3.2
Perca	50-700	500	100-800	
Salmón	10-400	100	80-400	12.3
Tiburón	100-2500	1000	1600-7000	
Lenguado	20-800	100	20-80	1.5
Pez espada	400-1500	1000	1400-3000	
Trucha	10-300	50	60-4000	2.1
Atún	10-1500	300	50-2000	11.8

(*) Datos tomados de las tablas Geigy.

Como conclusiones globales indicativas puede decirse que:

* El pescado de agua dulce no contaminada contiene concentraciones de mercurio entre 100-200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso húmedo.

* El pescado de agua dulce de zonas contaminadas contiene concentraciones entre 500 - 700 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso húmedo o aún más.

* El pescado oceánico contiene concentraciones de aproximadamente 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

* Las especies carnívoras grandes (pez espada, tiburón, atún) contienen por lo general entre 200 - 1500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Hemos querido recoger los datos del informe referido por la oficialidad de los mismos y porque reflejan de forma más concreta los numerosísimos datos encontrados en la bibliografía consultada.

Desde es punto de viata toxicológico es importante consignar que el umbral de tolerancia del mercurio en los peces es superior al que se registra en la especie humana, y de ahí el peligro que puede representar el consumo frecuente de pescado contaminado (Birke, 1972).

Por último, y aunque no se trate de contaminación por vía alimentaria, queremos citar como curioso episodio de exposición infantil masiva ocurrida en Argentina (Gottelli y cols., 1985), que afectó entre 7000-10000 niños, por absorción percutánea de fenilmercurio añadido como fungicida a los pañales en una industria de lavandería.

GRUPOS DE RIESGO

Se admite que existen dos grupos con posible riesgo de exposición al mercurio y sus compuestos:

- A - Población laboral
- B - Población general.

A. Población laboral

El riesgo ocupacional se presenta en trabajadores de diferentes actividades en que se emplea el mercurio, como mineros, joyeros, dentistas y personal de laboratorio. Este último junto al que interviene en la preparación o uso de fungicidas organomercuriales, son los que presentan mayor riesgo de intoxicación por compuestos orgánicos (Magos, 1988).

Se han descrito pocas intoxicaciones ocupacionales debidas al fenilmercurio. En exposiciones industriales prolongadas, no se ha mostrado evidencia conclusiva de efectos tóxicos (Task Group on Metals Toxicity, 1976). Este mismo grupo indica que tampoco se ha descrito gran número de intoxicaciones profesionales por metoximetilmercurio (sustitutivo del metilmercurio en fungicidas). Los casos aparecidos permitieron el estudio de la toxicología de estos compuestos (Hunter y cols., 1940, 1954).

Puede decirse que las restricciones del uso del metilmercurio hacen

que "sólo el pescado permanezca como fuente de contaminación de éste para humanos" (Clarkson, 1988).

La exposición ocupacional a vapor de mercurio metálico ha dado lugar a los estudios epidemiológicos más importantes sobre el mercurio. En la exposición crónica, el mercurio elemental se absorbe a través de los pulmones y se oxida en la sangre a mercurio divalente (Hg^{2+}) (Hadmond y Beliles, 1980). Antes de que se produzca esta oxidación, el mercurio elemental puede atravesar la barrera hematoencefálica y la placentaria (Cragle y cols., 1984). En este punto hemos de citar los trabajos de Carmona y cols. (1980,1982), en los que comprueban, en trabajadoras de odontología en estado de gestación, niveles de mercurio en sange fetal (sangre de cordón umbilical) prácticamente dobles que en sangre materna.

Igualmente referimos otro caso reciente sobre la afectación del sistema nervioso central de un niño cuya madre, cirujano dental, estuvo expuesta durante la gestación a concentraciones de vapor de mercurio superiores a las permitidas para el ambiente laboral (Gelbiers y cols., 1989) de 0.05 mg/m^3 (N.I.O.S.H., 1977).

El sistema nervioso central, riñon y mucosa de la boca, son las tres áreas del cuerpo que se ven más afectadas por la intoxicación crónica a mercurio (Wood y cols., 1973; Buchet y cols., 1980; Albers y cols., 1982; Tubb y cols., 1982); aunque el sistema nervioso central es el órgano crítico en las intoxicaciones crónicas y el pulmón en las agudas (Lilis y cols., 1985).

En el caso de exposición ocupacional a las sales inorgánicas de mercurio, el órgano diana es el riñón, con daño en el glomérulo y tubulos renales (Berlín, 1976). Este daño, descrito en numerosos trabajos, puede ser detectado por el incremento de la actividad de enzimas en la orina, como la β -hexosaminidasa, localizada en los lisosomas de las células de los tubos proximales (Barregard, 1988).

En la mayoría de los casos, la intoxicación por mercurio inorgánico es reversible una vez eliminada la fuente de intoxicación, sin embargo en afectaciones severas, los signos y síntomas pueden persistir, como se

demuestra con la detección de mercurio en tejidos post-mortem dieciséis años más tarde (Hargreaves y cols., 1988a).

Otros grupos de trabajo estiman, mediante la medida de mercurio en orina, la exposición en trabajadores que cesaron su actividad 20-35 años antes, por alteraciones neurológicas permanentes en ausencia de exposición (Albers y cols., 1988).

B. Población general

La utilización terapéutica de compuestos de mercurio han dado lugar a intoxicaciones fatales entre las que podemos citar las debidas a cloruro mercúrico por su uso como antiséptico y como antiparasitario, en lavados peritoneales (Laundy y cols., 1984) y por la aplicación de mercuriocromo en un onfalocele (Yeh y cols., 1978).

El uso doméstico de instrumentos que contienen mercurio metálico, como termómetros, presentan poco peligro por su escasa capacidad de absorción, pero la ingestión de pilas alcalinas es una frecuente etiología de intoxicación, sobre todo en niños; al ser atacadas por el ácido gástrico se libera mercurio que se oxida (HgO) (Magos, 1988).

La población general se encuentra expuesta de forma prmanente a compuetos de mercurio por dos vías:

B.1.- Amalgamas dentales

B.2.- Ingestión por pescado.

B.1.- Amalgamas dentales

Las amalgamas dentales empleadas en la oclusión de caries son una mezcla de plata (70%), estaño (25%) y pequeñas cantidades de cinc, cobre y mercurio metálico (Enwonwu, 1987). Su preparación en cápsulas ha disminuido sustancialmente la exposición de los profesionales (Skuba, 1984), sin embargo se ha demostrado la presencia de vapor de mercurio tanto en la cavidad bucal como en el aliento de sujetos con amalgamas dentales (Vimy y cols., 1985; Patterson y cols., 1985). También pequeñas

partículas pueden ser embebidas en los tejidos blandos de la boca durante las implantaciones (Cox y Eley, 1986).

Es difícil estimar el mercurio liberado y la absorción por el organismo, como lo demuestran las controversias de los resultados. Distintos grupos de trabajo no encuentran diferencias entre concentraciones de mercurio en sangre de sujetos con amalgamas y sin ellas (Ott y cols., 1984; Kröncke y cols., 1980), mientras que otros autores hallan diferencias notables (Abraham y cols., 1984).

Clarkson y cols. (1988) después de una revisión de publicaciones, estiman la entrada de vapor de mercurio, procedente de amalgamas, en valores entre 2.5-17.5 μg Hg/día. Respecto a la distribución en el organismo, las concentraciones en cerebro resultan ser 10 μg Hg/Kg superiores a las de sujetos sin amalgamas, el incremento en orina es de 2.3 $\mu\text{g}/\text{L}$ y en riñón encuentran valores de 690 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ frente a la media de sujetos controles de 400 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. En estos valores hay una sustancial variación individual.

Otros autores estiman la absorción diaria de mercurio procedente de amalgamas en cantidad inferior a 1.3 $\mu\text{g}/\text{día}$. Mediante estudio de la concentración de mercurio en sangre de pacientes antes y después de extraerlas encuentran, en todos los casos estudiados, una disminución significativa de dicha concentración (Snapp y cols., 1989).

B.2.- Ingestión por pescado

La ingesta de pescado contaminado por mercurio en forma de metilmercurio ha sido la causa de intoxicaciones masivas recogidas de forma detallada en Environmental Health Criteria de la O.M.S. de 1976.

En este documento se señala que una ingesta diaria de mercurio, a largo plazo, que oscile entre 3 y 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corporal puede originar los primeros efectos de la intoxicación en un 5% de la población general (que no sean mujeres embarazadas).

En 1972, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios estableció una Ingesta Semanal Provisional Tolerable (ISTP)

de 0.3 miligramos de mercurio total por persona, de los cuales no debe de haber más de 0.2 miligramos en forma de metilmercurio (expresado en mercurio) y considera que una ingesta en este rango puede dar lugar a una concentración en sangre total de 200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, que es la menor concentración asociada a efectos tóxicos (W.H.O., 1972). Un informe posterior de este comité mantiene estos valores (W.H.O., 1978), a los que se aluden en documentos técnicos sucesivos y trabajos publicados.

Es difícil estimar con precisión la ingesta de mercurio procedente de alimentos y, aunque se parte de que casi la totalidad del metilmercurio ingerido a través de la dieta procede del pescado y productos pesqueros, dependerá de la concentración presente en el pescado y la cantidad consumida de este.

Sin embargo, puede hacerse una evaluación preliminar con la ISTP calculada "según la concentración media de mercurio en pescado ingerido y hábitos de consumo de pescado, suponiendo que la población estudiada no está expuesta a ingerir mercurio a través de la dieta de fuentes distintas de los productos pesqueros y que todo el mercurio en pescado se encuentra como metilmercurio" (Comisión Codex Alimentarius, 1987). (figura 3).

La concentración de mercurio en otros alimentos es inferior a 60 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, frente a las concentraciones medias más bajas en peces oceánicos, de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ que pueden llegar a 1500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en especies predatoras carnívoras, por lo que "la aportación a la ingesta diaria de mercurio por alimentos terrestres, con la excepción de granos tratados con fungicidas mercuriales, es despreciable" (Magos, 1988).

En la mayoría de los países la ingesta diaria de mercurio es inferior a 20 μg (Comisión del Codex Alimentarius, 1987), aunque esta varía según los parámetros advertidos de concentración y cantidad ingerida.

En Inglaterra, donde la contribución de mercurio en pescado es de 2-5 μg de un total de 5-10 μg de todos los alimentos, el consumo es muy variable: 10-225 gramos de pescado/día, lo cual implica una ingesta semanal elevada: 5-620 $\mu\text{g}/\text{semana}$ (0.7-77 $\mu\text{g}/\text{día}$) (Haxton y col., 1979).

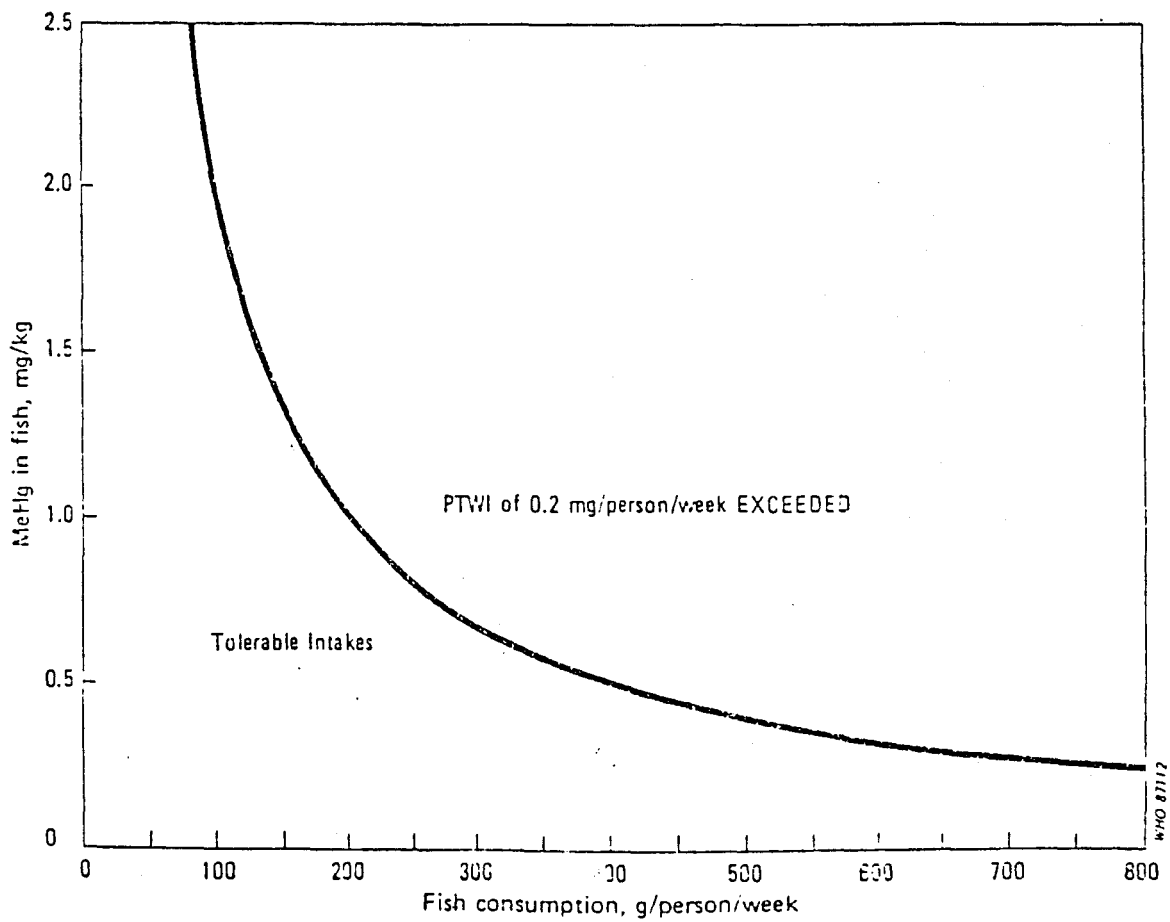


Figura 3.- Evaluación preliminar de la ingesta de mercurio procedente de alimentos. (Tomada del documento de la Comisión del Codex Alimentarius. 1987)

En Suecia, la contribución de mercurio procedente de productos marinos fué estimada en un rango entre 0-800 μg Hg/día (Grupo de Expertos Suecos, 1971), sin embargo actualmente se estima en 0-0.9 μg Hg/Kg de peso/día (0-63 μg Hg/día para un individuo de 70 Kg) (Skerfving, 1988).

En la legislación japonesa se añadió una cláusula según la cual la ingesta semanal no debe superar 170 μg de metilmercurio para individuo adulto de 50 Kg de peso. Recomiendan que las dietas de los niños y mujeres embarazadas se controlen de forma más estricta (Magos, 1988).

En la siguiente tabla se recogen las limitaciones de niveles de mercurio en peces de distintos países (W.H.O., 1986)(tabla IV):

Tabla IV.- Limitaciones de niveles de mercurio en peces.

Argentina	- 0.5 mg de mercurio total o 0.3 mg de metilmercurio por Kg de pescado comestible, moluscos, ranas, etc.
Australia	- 1.0 mg/Kg en peces, crustáceos y moluscos.
Canadá	- 0.5 mg/Kg de peso comestible. El pez de espada es excluido y avisan a los consumidores de la frecuencia máxima de consumo (no más de una vez por semana).
Alemania RF	- 1mg/Kg de la parte comestible para peces y crustáceos.
Hungría	- 0.5 mg/Kg de pescado y productos pesqueros.
Kenia	- 0.5 mg/Kg de productos marinos y de agua dulce.
Mauritania	- 0.5 mg/Kg en peces y productos pesqueros.
Nueva Zelanda	- 0.5 mg/Kg en peces y productos pesqueros.
España	- 1 mg/kg en productos de pesca. (Véase más abajo)
Suecia	- 1.0 mg/Kg en productos de pesca (Recomendaciones sobre el consumo).
Tailandia	- 0.5 mg/Kg en peces de mar.
Yugoslavia	- 1 mg/Kg en peces longevos (atún, crustáceos).
Zambia	- 0.3 mg/Kg en atunes, 0.2 mg/Kg en otros.
Japón	- 0.3 mg/Kg en pescado.

Hemos de señalar que la Resolución de la Dirección General de Sanidad española de 30 de marzo de 1973, por la que se estableció el

control sanitario de la contaminación por mercurio en el pescado y productos pesqueros para España (BOE nº 90 de 14 de Abril de 1973), fué modificada por Decreto 1521/77 de 3 de mayo. Este último aprueba la Reglamentación Técnico Sanitaria de los productos de la pesca y establece el límite máximo de tolerancia en una parte por millón (1 mg/Kg).

Es evidente la preocupación de organismos internacionales por el riesgo que supone la exposición de la población general al consumo de pescado con altos contenidos de mercurio.

Actualmente está funcionando un Programa de la O.M.S., sobre "Evaluación del metilmercurio en la población mediterránea y problemas de salud relacionados" que incluye entre sus objetivos la selección e identificación de grupos en los que la ingesta de metilmercurio excede de la ISTP.

El protocolo de inspección de la dieta se basa en cuatro puntos. El punto d) indica "los efectos biológicos del metilmercurio dependen, para un mismo nivel de ingesta, de características antropométricas (edad, sexo) y fisiológicas (embarazo, condiciones patológicas particulares) del consumidor y de la entrada de otros elementos, con particular énfasis sobre el selenio".

En el anexo 2 del documento se presta especial atención a la estimación de la ingesta de metilmercurio por mujeres embarazadas ya que el feto humano se considera la diana más sensible (W.H.O., 1982).

En informe posterior se reconocen cuatro categorías de grupos consumidores y se confirma la necesidad de estudios dirigidos hacia grupos de mujeres gestantes y en período de lactancia (W.H.O., 1984).

Entre las ordenaciones institucionales para posible extensión de los estudios, y de acuerdo con los resultados obtenidos se reconocen como grupos de alto riesgo pescadores y madres (particularmente pero no necesariamente, si proceden de familias de pescadores) (W.H.O., 1986).

T O X I C O C I N E T I C A

ABSORCION

Del total de mercurio que se absorbe por inhalación, un 60% está en forma de mercurio vapor y el resto se reparte entre mercurio orgánico e inorgánico, sólo un 3% corresponde a la forma particulada (E.P.A, 1984).

Independientemente de la forma química, se asume que un 80% del mercurio inhalado se retiene (Magos, 1988), y se estima que del vapor de mercurio se retiene casi un 100% en el alveolo pulmonar (Hursch y cols., 1976).

Durante los últimos años se ha demostrado que los macrófagos alveolares incrementan la solubilidad de metales poco solubles (Lundborg y cols., 1984; Marafante y cols., 1987), debido al pH de los fagolisosomas (Nilsen y cols., 1988).

Respecto a los compuestos orgánicos, en relación al mercurio vapor, los trabajos son más escasos, aunque se ha demostrado en ratones que la retención del etil y metilmercurio es elevada (Oslund, 1969; Fang y Fallin, 1973); en humanos se estima que es de un 80% (Vercruysse, 1984).

De forma general, se sabe que, la penetración a través de la piel depende de la liposolubilidad de los compuestos (Vercruysse, 1984); la entrada del vapor de mercurio por esta vía se corresponde con el 1% de la absorbida por inhalación (Hursch y cols., 1988). Los compuestos

inorgánicos y el metilmercurio aplicados en solución, se absorben en proporción similar, aunque el mecanismo no está claro si es de forma directa o previa disolución en el sudor. Una proporción considerable permanece en el estrato córneo de la piel (Magos, 1988).

La absorción a través del tracto gastrointestinal es variable dependiendo de la forma química en que se encuentre el mercurio. Para el mercurio elemental se limita a un 0.01% de la dosis administrada (Task Group on Metals Toxicity, 1976), lo que explica la baja toxicidad del mercurio metálico por vía oral.

Los compuestos inorgánicos insolubles experimentan absorción despreciable por esta vía, aunque estudios en ratón sobre ingestión de cinabrio (HgS), presente en un número significativo de medicinas tradicionales chinas, demuestran que se absorbe en un 0.05% de la ingesta (Yeoh y cols., 1989).

Los compuestos inorgánicos solubles presentan rangos de absorción similares entre sí, considerados cuantitativamente entre 2-15% para humanos (media 7%) (Chang, 1981; Task Group on Metals Toxicity, 1976). En otros animales la absorción es de un 2% (Clarkson, 1971).

En contraste, la absorción de los compuestos de metilmercurio se estima en un 95% de la dosis administrada por vía oral (W.H.O., 1976) independientemente de si el radical metilmercurio está unido a proteínas o es administrado como sal en solución acuosa (Task Group on Metals Toxicity, 1976). Este porcentaje se demostró inicialmente en humanos mediante la administración a voluntarios de dosis orales radiactivas de compuestos de metilmercurio (Aberg y cols., 1969; Miettinen, 1973). En ratones la absorción también supera el 90% (Clarkson, 1971; Ansari y cols., 1973).

Es de mencionar el papel de la flora intestinal en la absorción y disposición del metilmercurio, como se demuestra por las concentraciones superiores de mercurio en riñón, pulmón, sangre y músculo de grupos de ratas desprovistas de dicha flora por tratamiento con antibióticos, respecto a ratas normales tratadas con metilmercurio (Rowland y cols., 1980).

TRANSPORTE Y DISTRIBUCION

Una vez absorbido, el transporte se realiza por los distintos constituyentes la sangre. En caso del vapor de mercurio la relación glóbulos rojos-plasma es entre 1.5-2 aproximadamente (Suzuki y cols., 1976), estimándose en 2 en los primeros días de la exposición (Cherian y cols., 1978).

Para las sales inorgánicas de mercurio, esta relación es mucho menor, de 0.4 (W.H.O., 1976). Se unen a los grupos tiol de las proteínas (Vercruysse, 1984), como lo demuestra la alteración de la movilidad electroforética de aminoácidos (cisteína, lisina y arginina) y aumento de la movilidad anódica de la albúmina y hemoglobina (Sharma y cols., 1986).

El cociente hematíes/plasma para el metilmercurio es aproximadamente 10, según los trabajos de Alberg y cols. (1969) y Miettinen (1973). Otros datos indican en humanos una relación 9:1 (Suzuki y cols., 1971) y en ratas del orden de 20:1 (Norseth y Clarkson, 1970).

Penetra la membrana del eritrocito y se une a la hemoglobina (White y Rothstein, 1973). Tanto en humanos como en animales de experimentación (conejo, ratón, rata), el metilmercurio se une al glutatión en el glóbulo rojo; esta unión se identificó mediante cromatografía en capa fina previa filtración por gel (Sephadex G-15), encontrándose en humanos una gran proporción unida al GSH (Naganuma, 1980).

La distribución de los compuestos de mercurio también es diferente según la forma química de que se trate. Es conocido que el vapor de mercurio presenta afinidad por el cerebro (Berlín y cols., 1969). Se oxida rápidamente a Hg^{2+} en los eritrocitos (Halbach y Clarkson, 1978) o después de la difusión en los tejidos, por acción de la catalasa (Magos y cols., 1978), aunque permanece como Hg^0 en la sangre durante un tiempo corto pero suficiente para atravesar la barrera hematoencefálica (Friberg y Mottet, 1989).

El mercurio divalente se deposita en riñón, siendo su principal sitio de acción las células del epitelio proximal tubular (Nolan y

Shaikh, 1987). Concretamente se halla en las fracciones lisosómicas mitocondriales (lisosomas), tanto en hígado como en riñón, unido a la metalotioneína (Planas-Bohne y cols., 1985), aunque previamente se había estimado que la concentración en los lisosomas renales ocurre en intoxicación crónica y no después de una exposición corta (Madsen y Hansen, 1980).

La distribución del metilmercurio es más uniforme. La mayor parte va al cerebro, hígado y riñón (Vercruysse, 1984); se ha detectado también en epitelio del tiroides, células medulares de las glándulas adrenales, espermatozoides, epitelio pancreático y epidermis (Okabe y Takeuchi, 1980).

La distribución pelo/sangre permanece constante en exposiciones crónicas (ingesta de pescado). En el momento de la formación, la concentración total de mercurio en cabello es proporcional a la concentración en sangre entera, con un cociente aproximado de 250 (W.H.O., 1976).

La correlación encontrada por Sherlock y cols., en 1982, es:

$$\text{mercurio en pelo} = 0.367 \times \text{Hg sangre} + 0.694$$

Hg en pelo = mg/Kg

Hg en sangre = $\mu\text{g/Kg}$

El coeficiente de correlación es 0.837

La pendiente de 376 es similar a la encontrada por Hansen y cols., 1983, para la correlación entre concentración en pelo y sangre ($r = 0.9222$) que se representa por la siguiente ecuación:

$$\text{mercurio en pelo} = 289 \times \text{Hg sangre} + 63.4$$

Hg en pelo = $\mu\text{g/Kg}$

Hg en sangre = $\mu\text{g/Kg}$ (Chatt y Katz, 1988).

BIOTRANSFORMACIONES

Pueden resumirse en cuatro clases:

- 1 - Oxidación del vapor de mercurio metálico a mercurio divalente.
- 2 - Reducción del mercurio divalente a mercurio metálico.
- 3 - Metilación del mercurio inorgánico.
- 4 - Conversión del metilmercurio en mercurio inorgánico.

1 - La oxidación, mediada por la hidrógeno peróxido-catalasa en peroxisomas (Clarkson, 1988), disminuye la liposolubilidad del vapor de mercurio. Esto dificulta la difusibilidad a través de la barrera hematoencefálica o placentaria, fácilmente atravesadas por la cantidad remanente de mercurio elemental disuelta en sangre. Si esta transformación sucede en los tejidos, se produce acumulación (W.H.O., 1976). La oxidación se reduce considerablemente por el alcohol (Hursch y cols., 1980).

2 - Se ha demostrado el proceso contrario en animales de experimentación (rata, ratón) y en humanos (Sugata y Clarkson, 1979). Se lleva a cabo por la actividad del sistema xantina oxidasa (Zorn y Smith, 1989) y se incrementa en ratones acatalasémicos (Ogata y Aikoh, 1987).

3 - En 1976 la O.M.S. reconocía que hasta ese momento no había clara evidencia de la posibilidad de metilación in vivo, ya conocida en organismos inferiores.

Aunque hay pocos estudios de biometilación de mercurio inorgánico en mamíferos, actualmente está demostrada la existencia de dicho proceso en el tracto gastrointestinal de ratas. Un 0.05-0.26% del mercurio inorgánico administrado se convierte en metilmercurio (Ludwicki, 1989).

Zorn y Smith (1989) mediante la administración subcutánea de mercurio inorgánico, para eliminar la posibilidad de la participación de la flora intestinal, concluyen que el riñón concentra altas cantidades de las dos formas de mercurio. Las concentraciones de metilmercurio en músculo, cerebro y sangre son bajas, mientras que en hígado, pulmón y corazón las concentraciones de ambas formas son similares. Sin embargo,

el lugar exacto de la metilación permanece desconocido aunque los autores suponen que puede ser en el hígado.

4 - En contraposición, son numerosos los estudios realizados sobre la biotransformación de los compuestos orgánicos, en especial del metilmercurio, desde que Norseth y Clarkson (1970) publican la liberación de mercurio inorgánico a partir de metilmercurio en ratas. Considerando la baja excreción del compuesto orgánico, estudian la posibilidad de la desmetilación in vivo. Sus resultados indican que el hígado es el órgano donde se realiza, aunque no el único, y que puede ser el resultado de la reacción química con grupos tiol de cisteína, glutatión o proteínas. Desde esta publicación se ha prestado gran interés por la posibilidad de relación con la toxicidad del metilmercurio.

Actualmente se conoce el importante papel que desempeña el bazo como lugar principal de la biotransformación mediada por macrófagos (Suda y Takahashi, 1986).

Se ha evidenciado la acumulación de mercurio inorgánico en las cápsulas adrenales de ratas expuestas a metilmercurio, concretamente en lisosomas. La explicación de este hecho, ya apuntada por Norseth y Clarkson, es la redistribución del mercurio inorgánico. Su acumulación en zonas reticulares y fasciculares explican los cambios observados en los parámetros funcionales: testosterona y corticosteroides por interacción del mercurio con enzimas implicados en procesos energéticos (Rasmussen y Thorlacius-Ussing, 1987).

La posible desmetilación en cerebro, recogida en el informe de la O.M.S. (1976), ha sido demostrada en los últimos años en primates (Lind y cols., 1988).

Mediante el estudio de los resultados de los porcentajes de metilmercurio y mercurio inorgánico en cerebro de individuos que murieron como consecuencia del desastre de Minamata (30 casos de autopsias) presentados por Takizawa (1986), los autores Friberg y Mottet (1989) concluyen que existe una diferencia entre los casos agudos y crónicos, puntualizando que la fracción remanente de metilmercurio en cerebro es menor en los casos crónicos que en los agudos.

Sugieren también que hay suficientes datos para confirmar una desmetilación en cerebro de humanos, aunque señalan que los datos japoneses no se presentan con control de calidad.

En su revisión sobre trabajos realizados en animales de experimentación indican que no puede establecerse un modelo general por ausencia de datos de mercurio orgánico e inorgánico en cerebro a diferentes intervalos durante la fase de acumulación y aclaramiento. Es obvia la larga vida media del mercurio inorgánico en cerebro aunque son necesarios estudios de identificación de la forma química del mercurio a corto y largo plazo.

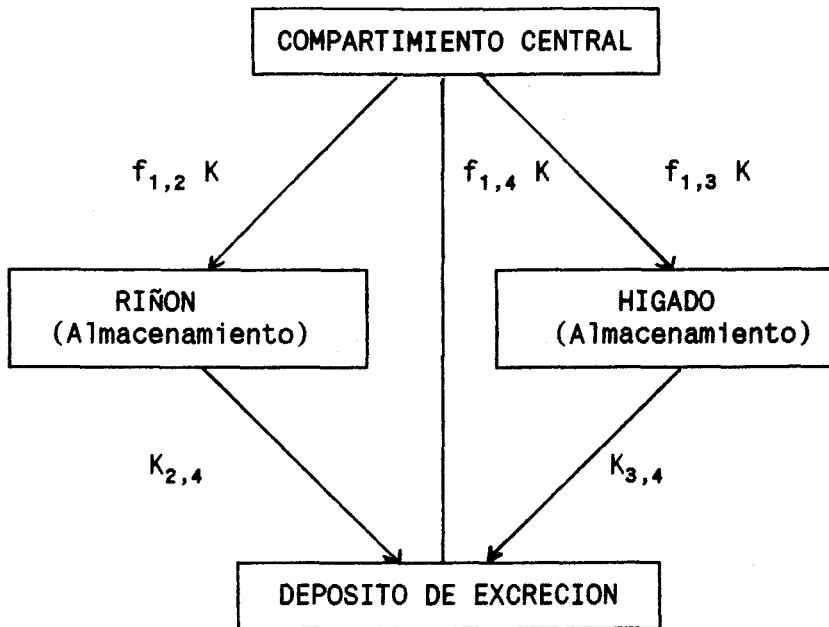
Según Rice (1989) la desmetilación del metilmercurio puede ser significativa en algunos tejidos en condiciones de exposición crónica. En el cerebro se convierte en una forma que se une fuertemente al tejido cerebral después de exposiciones prolongadas a distintas dosis, cuya variación es probablemente la causa de la disparidad de resultados encontrados en la bibliografía.

MODELO TOXICOCINETICO DE ELIMINACION

La orina y heces son las rutas preferentes de eliminación para los compuestos inorgánicos (W.H.O., 1976). La mayor parte del metilmercurio se excreta en heces desde el hígado vía bilis (Norseth y Clarkson, 1970).

El modelo toxicocinético para el mercurio en las fases de acumulación y eliminación, propuesto por Cember (1969) consta de cuatro compartimientos. (figura 4).

El compartimiento central está constituido por todos los órganos y tejidos excepto riñón e hígado. Los periféricos son los riñones, como compartimiento de mayor tiempo de almacenamiento de donde el mercurio es aclarado lentamente, y el hígado donde se acumula a corto plazo; un cuarto compartimiento, "depósito de excreción", donde se acumula el mercurio excretado, integrado principalmente por orina y heces, más pelo y uñas.



$$f_{1,2}=0.45$$

$$K=0.46 \text{ días}^{-1}$$

$$t_{\frac{1}{2}}=1.5 \text{ días}$$

$$f_{1,3}=0.16$$

$$K_{2,4}=0.035 \text{ días}^{-1}$$

$$t_{\frac{1}{2}}=19.8 \text{ días}$$

$$f_{1,4}=0.39$$

$$K_{3,4}=0.31 \text{ días}^{-1}$$

$$t_{\frac{1}{2}}=2.2 \text{ días}$$

f: fracción de mercurio aclarado

K: constante de eliminación.

Figura 4. Modelo toxicocinético de acumulación y eliminación.

Según esto el mercurio abandona el compartimiento central por tres caminos paralelos:

- vía riñón
- vía hígado
- directamente al depósito de excreción.

En el último están incluidos los procesos de filtración, secreción biliar y secreción de la mucosa intestinal.

Autores más recientes siguen este modelo y aunque ciertas consideraciones permanecen desconocidas, puede ser utilizado en la estimación de la retención del mercurio inorgánico en cerebro (Bernard

y Purdue, 1984).

La cinética para el vapor de mercurio presenta dos fases: la primera es dosis dependiente y la segunda, más lenta, parece ser común a distintas dosis. La vida media de excreción urinaria es de 1.3 días para la primera fase y 36.5 días para la segunda (Cember, 1969). Estudios posteriores han confirmado estos datos (Cherian y cols., 1978). En caso de los otros compuestos inorgánicos la vida media para casi todos es de 40 días (W.H.O., 1976).

El modelo toxicocinético para el metilmercurio en humanos corresponde a una cinética lineal, con una vida media de 69 días y una eliminación sanguínea de 70 días (rango: 58-87 días) (González y cols., 1988).

Las referencias de otros grupos de trabajo indican que existe una clara influencia según los tiempos de exposición que repercute directamente en la acumulación y aclaramiento; esto supone que el modelo monocompartimental tradicional no es adecuado para describir el metabolismo del metilmercurio (Friberg y Mottet, 1989).

Después de una dosis oral simple, la cinética en sangre queda descrita mejor por dos compartimientos que por uno, ya que la curva de eliminación incluye dos componentes exponenciales diferentes, uno inicial rápido y uno posterior lento (Rice y cols. 1989).

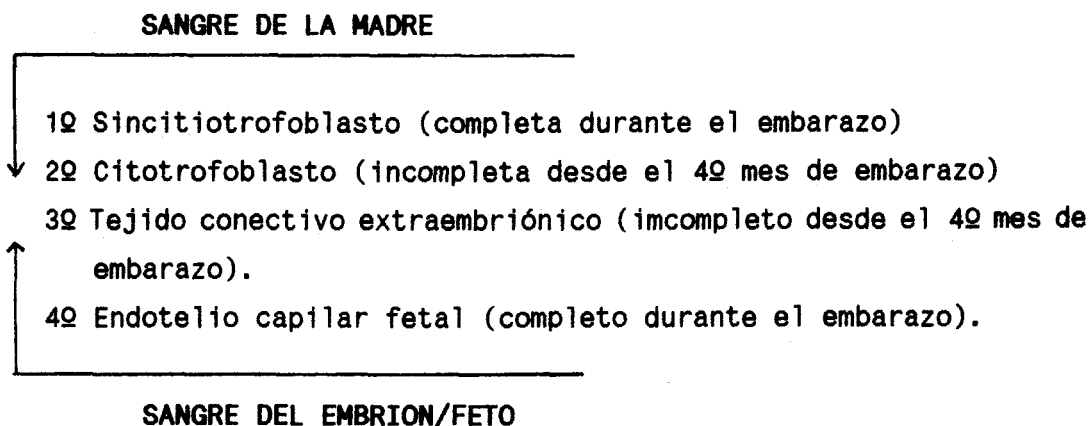
Este grupo demuestra que en exposición prolongada la vida media en cerebro es mucho mayor que en la sangre en contraposición con el informe de la OMS de 1980 (citado por los autores) en el que se indica que no existe evidencia para sugerir que la vida media en cerebro difiera de la total del organismo.

T R A N S F E R E N C I A P L A C E N T A R I A

A. Estructura y fisiología de la placenta

La placenta humana es de tipo hemocorial, y comprende una parte de origen fetal (el trofoblasto) y una parte materna que proviene de una transformación de la mucosa uterina (la caduca basal) (De Tourris y cols., 1980). Al llegar al estado de madurez, forma un disco de 18-20 cm de diámetro, 3 cm de grosor, un peso de 450-600 g y contorno redondeado (Botella y Clavero, 1978).

La barrera placentaria está formada por 2-4 estratos de tejidos distintos. Cuando las sustancias pasan de la madre al feto o viceversa, lo hacen normalmente (Olsen y cols., 1989) a través de las siguientes capas:



Presenta forma lenticular y en ella se distinguen dos caras y un borde:

* Cara materna. En la que se aprecian unos surcos intercotiledóneos, que dividen la placenta en mamelones rojizos y elevados que reciben el nombre de cotiledones, en número de 15-20.

* Cara fetal. Mira hacia el interior de la cavidad amniótica, por cuyo epitelio está tapizada. En su centro se aprecia la inserción del cordón umbilical, constituido por una vena gruesa y dos arterias arrolladas las tres en espiral, y envueltas en un tejido conjuntivo muy laxo de sustancia fundamental mucoide (gelatina de Wharton).

Cada cotiledón placentario es un gran árbol de vellosidades ramificadas dentro de los senos venosos maternos (figura 5) que se forman por la unión de vellosidades coriales (placenta fetal) con la decidua, en cuyo seno se labran dichas lagunas venosas (placenta materna). Cada vellosidad se compone de:

- Estrato celular de Langhans. Está constituido por células cuboideas dotadas, al principio, de gran actividad reproductiva, que van perdiendo a medida que la placenta madura.

- Sincitio. Se origina al ponerse en contacto el trofoblasto primitivo con la sangre materna. Es una masa celular sin membranas separatorias.

- Eje conjuntivo. Constituido por tejido conjuntivo mucoso, mucopolisacáridos y mucha agua de imbibición.

- Vasos fetoplacentarios. Son las ramas de las arterias umbilicales que se reúnen para constituir la vena umbilical.

Tanto en la mujer como en roedores, las diversas capas de la vellosidad se atrofian al final de la gestación, los capilares fetales se acercan a la periferia y sólo están separados de la sangre materna por una delgada capa casi inexistente de sincitio adelgazado. Se origina así por evolución de la placenta hemocorial una variedad de la misma llamada

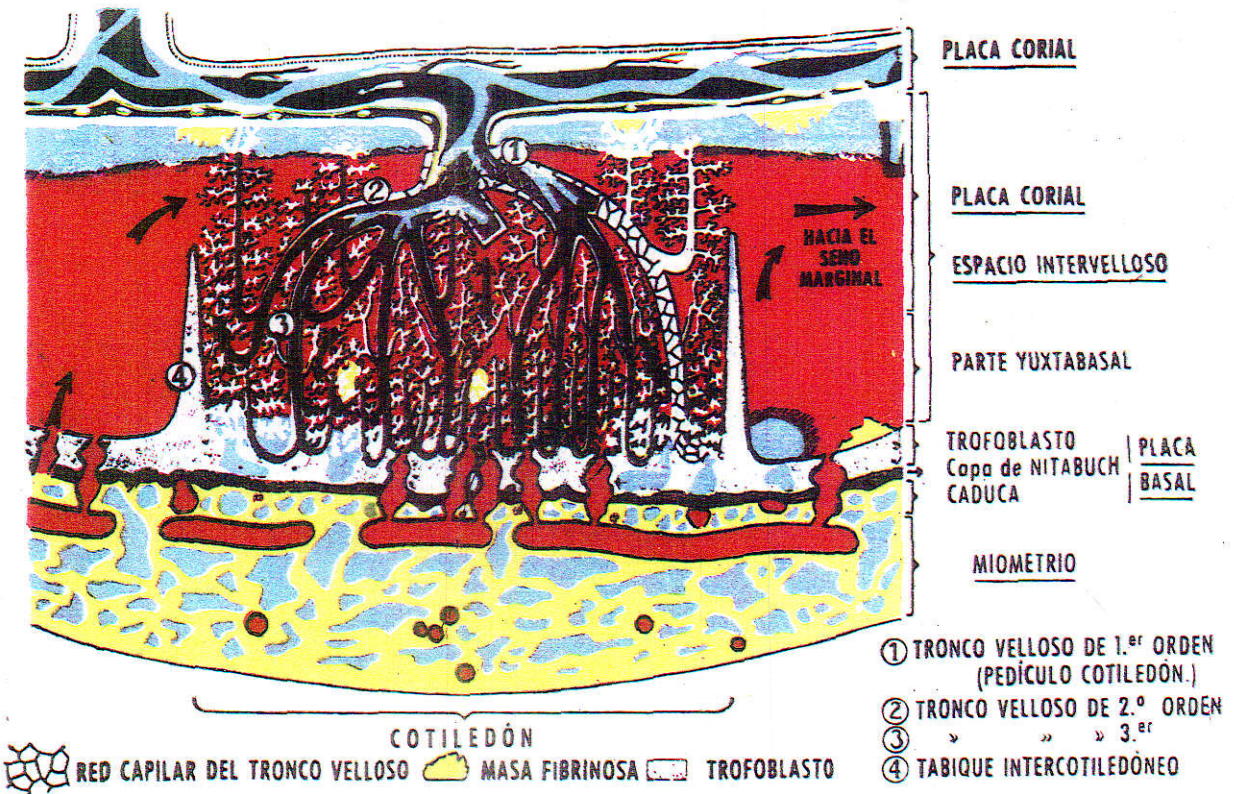


Figura 5.- Cotiledón placentario. (Tomada de Botella, J. y Clavero, J.A.: Tratado de Ginecología. Fisiología Femenina. 1978)

hemoendotelial (Botella y Clavero, 1978).

A.1.- Circulación y hemodinámica placentarias

Dos días después de la implantación (el octavo día) el trofoblasto se divide en una masa de células, el citotrofoblasto y en otra confluyente, el sincitiotrofoblasto en el que se forman sobre el noveno y décimo día las vacuolas o lagunas. Gradualmente las células sincitiales se colocan en el fondo de la pared uterina, los capilares en el endometrio, que es regularmente grueso, y las lagunas se llenan de la sangre de la madre.

En las semanas continuas los capilares se desarrollan en el tejido conectivo extra-embriónico (sistema vascular extraembriónico) que, al comienzo de la fase hemotrófica, entra en contacto directo con el propio sistema vascular del feto.

De esta forma queda establecida la circulación tanto en el lado materno como embriónico de la placenta, impulsada por el corazón materno y por el fetal (Olsen y cols., 1989) (figura 6).

- Circulación fetal. La sangre arterial del embrión va desde la placenta al feto por la vena umbilical, penetra en el interior de su organismo y desde aquí la mayoría de la sangre arterial va a parar a la cava inferior por el ducto venoso de Arancio que desaparece en el adulto.

La vena cava inferior del feto, en lugar de contener sangre venosa, contiene, por esta razón, sangre arterial; pero una pequeña parte de la sangre que llega al feto por la vena umbilical, marcha directamente al hígado por la vena porta. A medida que avanza la gestación, la cantidad de sangre que va primariamente al hígado fetal es cada vez mayor y las sustancias, que al comienzo pasaban directamente a la circulación, progresivamente van pasando en mayor proporción por el hígado, que regula el aporte de nutrientes procedente de la filtración a través de la placenta (Botella y Clavero, 1978) (figura 7).

- Circulación materna. La sangre llega por las ramas de la arteria uterina, se vierte en el interior de los espacios intervelllosos y después

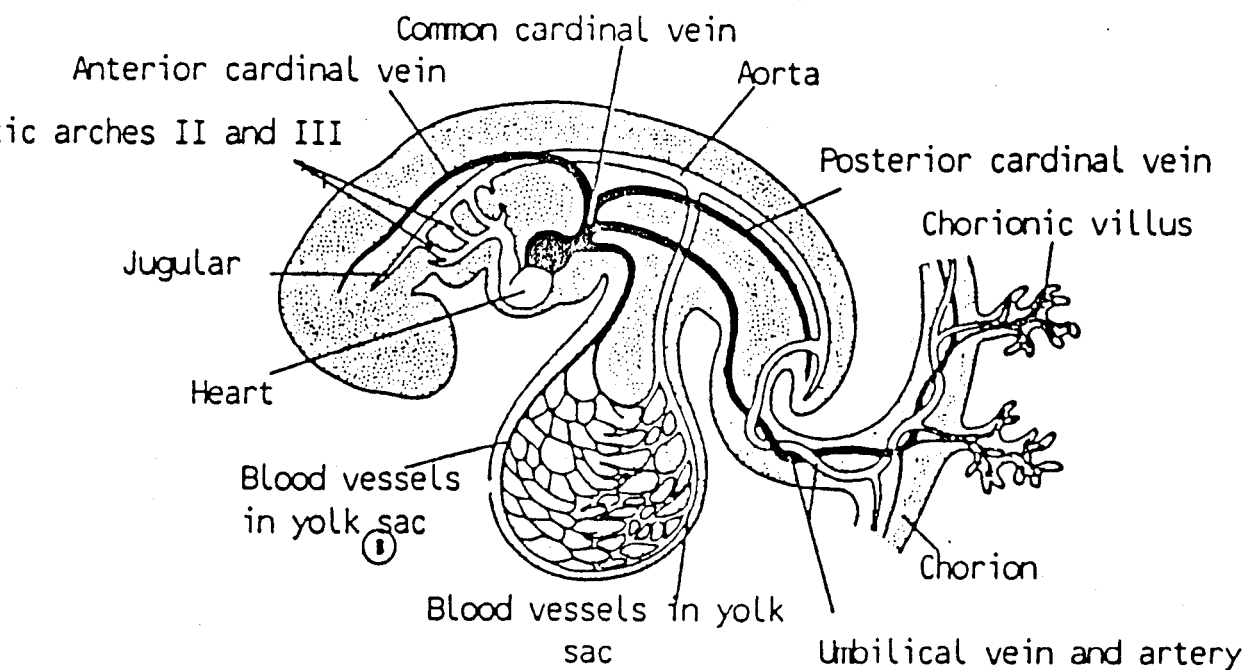


Figura 6.- Circulación feto-materna. (Tomada de Olsen, J. y cols.: Embryo-fetal Damage and Chemical Substances. 1989)

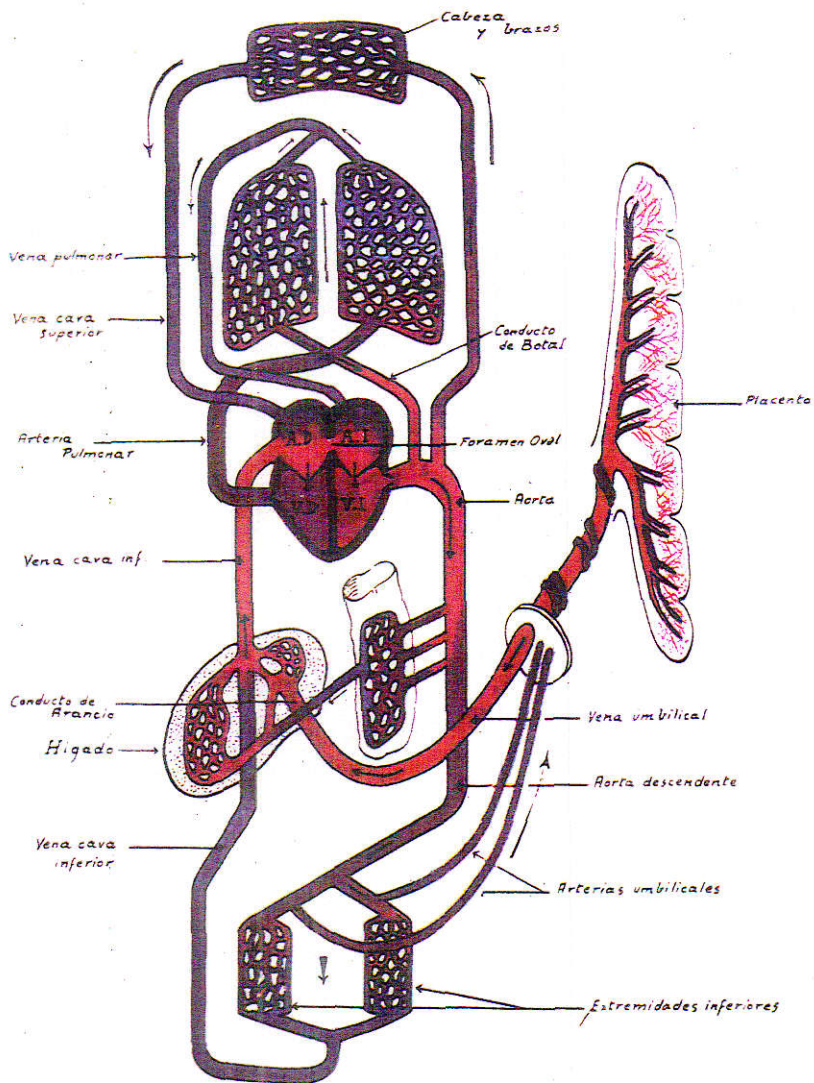


Figura 7.- Circulación fetal. (Tomada de Botella, J. y Clavero, J.A.: Tratado de Ginecología: Fisiología Femenina. 1978)

sale por las ramas de la vena uterina.

- Circulación en el espacio intervelloso. Se debe a diferencias de presión entre las arterias útero-placentarias, el espacio intervelloso y venas útero-placentarias. La sangre arterial desemboca en la placa basal, brota (chorro de Borell) hasta la placa corial circulando entre las vellosidades y vuelve a caer hacia la placa basal donde se abren los orificios venosos (De Tourris y cols., 1980). La sangre arterial pasa sin interposición alguna del sistema capilar a un seno venoso y se establece así un sistema de fístula arteriovenosa placentaria, muy importante en la hemodinámica de la gestación. La sangre arterial al llegar al centro del cotiledón se reparte en todas direcciones, entonces se verifican los intercambios metabólicos fetomaternos, convirtiéndose la sangre arterial en venosa. El despeje de esta sangre "tóxica" para el feto se realiza a través del seno venoso marginal y por las venas que se encuentran en la placa basal (Botella y Clavero, 1978).

La transferencia entre los tres compartimientos involucrados madre-placenta-feto se representa en la figura 8:

La placenta es el órgano en el que se intercambian sustancias de la madre al feto y viceversa. Aunque tradicionalmente se ha considerado como barrera para el paso de sustancias químicas desde la sangre de la madre al feto, puede decirse que, con la excepción de sustancias de alto peso molecular y de compuestos muy electropositivos o electronegativos, la placenta es extremadamente permeable a sustancias químicas (Hass y cols., 1989).

El intercambio puede realizarse por distintos mecanismos:

- Difusión
- Filtro placentario
- Transporte
- Pinocitosis
- A través de los poros membranosos.

Para el caso del mercurio este cambio se realiza por difusión a través de la membrana coriónica (Carmona y cols., 1982).

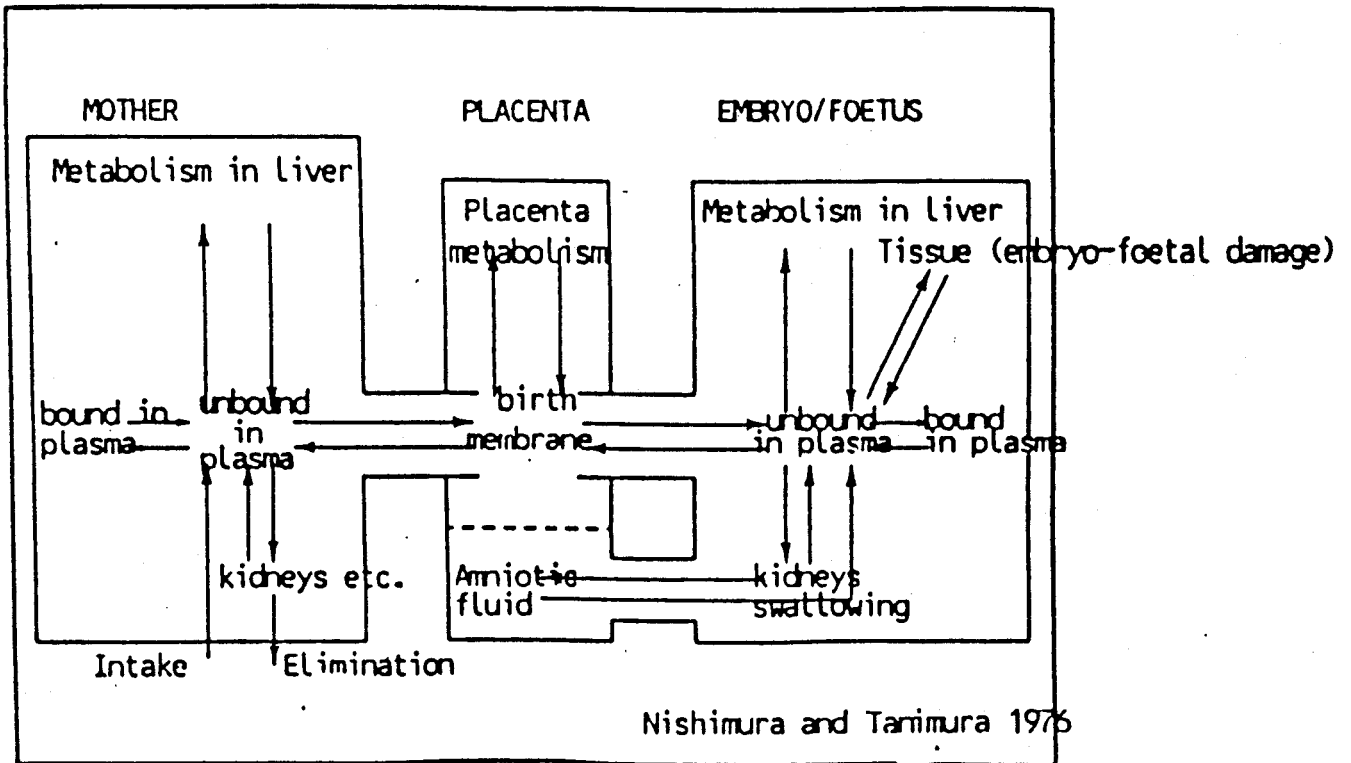


Figura 8.- Transferencia placentaria entre los tres compartimentos madre-placenta-feto. (Tomada de - Hass, U. y cols.: Embryo-Fetal Damage and Chemical Substances. 1989)

La evaluación de la exposición ha de realizarse sobre la base de datos de animales de experimentación, teniendo en cuenta los factores que afectan a la extrapolación de dichos datos. Entre ellos tenemos diferencias en la estructura de la barrera placentaria; en el tiempo de crecimiento del embrión o feto; diferencias fisiológicas y bioquímicas que afectan la entrada, metabolismo y eliminación; distinta sensibilidad de las alteraciones químicas en células, tejidos, órganos y sistemas de órganos; y factores fundamentales en la reproducción del daño.

En el nacimiento hay una gran similitud entre la placenta humana y la de ciertos animales de experimentación. Sin embargo, a lo largo del embarazo hay numerosos cambios por lo que es necesario conocer el estado de la placenta en el preciso momento en que ocurre el daño y el momento de la organogénesis en que sucede.

En la tabla IV se indican las capas celulares que separan la sangre fetal de la materna:

Tabla IV.- Capas celulares que separan la sangre fetal y la materna.

Capa	MADRE		FETO		Especie
	Endotelial	Epitelial	Trofoblasto	Endotelio	
Epitelio corial	+	+	+	+	oveja, cabra, cerdo, vaca.
Endotelio corial	+	-	+	+	gato, perro.
Hemocorial:					
Mono-	-	-	+	+	humanos, cobaya.
di-	-	-	++	+	conejo.
tri-	-	-	+++	+	rata, ratón.

La mayor diferencia entre animales de experimentación y humanos es que en los primeros se presenta una yema central con papel muy significativo durante la organogénesis, mientras que en humanos juega un papel insignificante (Olsen y cols., 1989).

B. Datos actuales sobre transferencia placentaria del mercurio

El vapor de mercurio atraviesa la barrera placentaria fácilmente y se acumula después de su oxidación en el tejido fetal concretamente en el hígado (Yoshida y cols., 1986). En este depósito se encuentra unido en un 50% a la metalotioneína, proteína que juega un importante papel en la defensa de la toxicidad del mercurio y otros metales en el feto (Yoshida y cols., 1987).

Con respecto a la madre, el mercurio metálico se distribuye en el feto en concentraciones superiores en cerebro, pulmón y corazón, similar en hígado e inferiores en riñón (Yoshida y cols., 1989).

En humanos se han estudiado dos casos de exposición accidental al vapor de mercurio en embarazadas. Las concentraciones sanguíneas en los fetos fueron similares a las de las madres respectivas (Clarkson y Klipper, 1978).

El mercurio inorgánico divalente no se distribuye en el feto (Vercruyssen, 1984). Se acumula en placenta (Berlin, 1986), membrana fetal y líquido amniótico (Wannag y Skjaeråsen, 1975). Otros autores consideran que pasa la barrera placentaria aunque en pequeñas proporciones; estudios en ratones sugieren que la proporción del paso es cuatro veces menor que el mercurio vapor (Khayat y Dencker, 1982). Kuhnert y cols. (1982) admiten el paso del mercurio inorgánico a través de la placenta humana mediante medidas en sangre del cordón umbilical.

Hay pocos casos descritos en humanos. Podemos señalar el de un niño negro de tres meses que presentó disfunción renal tubular asociada con cataratas y anemia como consecuencia de exposición pre y postnatal a mercurio inorgánico contenido en polvos faciales que utilizaba su madre (Lauwerys y cols., 1987). Estos cosméticos con sales mercuriales persiguen decoloración de la piel por inhibición de la formación de melanina.

Respecto al metilmercurio, en 1952 se describe en Suecia el primer caso de una señora que había ingerido harina contaminada con metilmercurio durante varios meses de embarazo. No presentó ningún

síntoma, sin embargo su hija manifestó signos de retraso mental severo a los pocos meses de nacer (Engleson y Herner, 1952).

La transferencia placentaria y como consecuencia la teratogenicidad del metilmercurio fué demostrada en el desastre de Minamata. En 1959 Kitamura y cols., detectaron deficiencias neurológicas en niños de madres afectadas en el área. Los efectos en ellos fueron severos y permanentes. Las observaciones clínicas indicaron que la vida prenatal es la etapa del ciclo humano más sensible al metilmercurio (Sager y cols., 1986).

Como consecuencia de la intoxicación masiva en el Iraq, se describieron los efectos sobre la exposición prenatal a metilmercurio (Bakir y cols., 1973). Otros estudios sobre este grupo afectado revelan que la vida prenatal es cuatro veces más sensible al metilmercurio que el estado adulto (Clarkson y cols., 1981).

Dado que los signos del daño prenatal pueden presentarse incluso en ausencia de síntomas en la madre, se ha sugerido que esto es debido bien a que el feto está expuesto a niveles más altos que sus madres o que es más sensible al daño (Koos y Longo, 1976).

Ambas consideraciones son posibles (Kunntz y cols., 1982) teniendo en cuenta que la excreción del metilmercurio en recién nacido es más lenta que en adultos (Amin-Zaki y cols., 1976) y que el sistema nervioso central en desarrollo es particularmente vulnerable a los efectos tóxicos del metilmercurio (Thomas y cols., 1988).

Se ha observado que el nivel de metilmercurio en feto puede ser dos veces superior al encontrado en los tejidos maternos cuando se administran bajos niveles de metilmercurio a ratones en una matriz de atún. En niveles de dosificación más elevados el cociente entre tejidos fetales y maternos se aproxima a la unidad (W.H.O., 1976).

El paso del metilmercurio a través de la placenta se ha demostrado no sólo por los efectos que producen en el feto, línea hacia la que se han dirigido la mayoría de los trabajos, sino también por la detección de dicho tóxico en la sangre del cordón umbilical.

Pero debe destacarse que los resultados obtenidos respecto a la concentración materna son dispares (Kuntz y cols., 1982). Pitkin y cols. (1976) encuentran valores algo más altos en las sangres de cordón umbilical que en la de las madres, aunque sin diferencias significativas.

Las referencias a las concentraciones "normales" indican que en la sangre del cordón umbilical la concentración de metilmercurio es un 20-30% superior a la correspondiente en la sangre materna (Suzuki y cols., 1971). Sin embargo ha de tenerse en cuenta la importancia del medio en que se desenvuelve el grupo estudiado, íntimamente ligado a la ingesta de pescado. Esta puede ser la clave de la disparidad de resultados obtenidos por los diferentes grupos de trabajo.

Truska y cols. (1989) encuentran niveles de mercurio total más altos en la sangre de la madre que en la del cordón umbilical y no establecen diferencias entre grupos de áreas urbanas y rurales. Por el contrario Sikorski y cols. (1989) no encuentran diferencias significativas a ambos lados de la placenta. Ambos grupos concuerdan en la correlación positiva entre el mercurio en la sangre de la madre y en el cordón umbilical.

En contraposición, Tsuchiya y cols. (1984), Suzuki y cols. (1984), Nakamo (1985), encuentran niveles de metilmercurio y mercurio total en la sangre del cordón superiores a los de la sangre materna. Resultados semejantes obtienen Horvat y cols. (1988) sobre grupos mediterráneos expuestos sólo a través del consumo de pescado, y concluyen que:

$$y = 0.27 x + 1.61$$

y = concentración en sangre materna

x = concentración en sangre del cordón.

En la sangre del cordón umbilical el mercurio tiende a acumularse en los glóbulos rojos (Galster, 1976). Datos más recientes indican una buena correlación entre niveles de metilmercurio en eritrocitos de la madre y feto ($r = 0.87$) (Kuhnert y cols., 1981).

El exceso en sange fetal parecía debido a:

- Diferencias en el hematocrito
- Diferencias en las características de la unión con la hemoglobina.

Los últimos autores citados rebaten ambas consideraciones. La primera porque sus valores de mercurio, corregidos con el valor del hematocrito, continúan siendo superiores en sangre fetal que en materna y la segunda basándose en trabajos sobre el número de grupos tioles (sitio de unión del mercurio) de la hemoglobina, que es superior en el adulto que en el feto; en adultos hay seis residuos de cisteína en el tetramero, mientras que en el feto sólo cuatro (Perutz y cols., 1968).

La capacidad de unión de la hemoglobina materna al metilmercurio juega un papel mínimo en la transferencia placentaria y no hay diferencias significativas entre madre y feto en la entrada y liberación del metilmercurio del glóbulo rojo (Doi y cols., 1984).

E F E C T O S T O X I C O S

Por las diferentes características fisicoquímicas y cinéticas de las distintas especies químicas del mercurio, consideraremos los efectos tóxicos según éstas.

A. Vapor de mercurio (Hg^0).

Ya se indicó que el mercurio líquido es muy poco tóxico por vía gastrointestinal al ser escasamente absorbido.

La intoxicación aguda por vapor de mercurio se manifiesta por bronquitis erosiva que puede llegar a insuficiencia respiratoria del paciente. En combinación con los síntomas respiratorios puede aparecer la triada de signos constituida por gingivitis-temblor-eritemas.

Estos signos, raramente encontrados en intoxicaciones agudas, son frecuentes en intoxicaciones crónicas (exposiciones ocupacionales) (Clarkson, 1988).

En estas exposiciones el SNC es el órgano crítico aunque poco se conoce de la patogenia de la disfunción cerebral (Berlín, 1986). La liposolubilidad del vapor de mercurio permite la entrada en cerebro que lo capta 10 veces más que de una dosis equivalente en mercurio iónico (Veracruz, 1984).

En ratas se ha demostrado su presencia en el núcleo motor del

rombencéfalo y en la corteza cerebral. La localización fué generalmente interneuronal aunque está presente en el citoplasma glial y células endociliales (Moller-Madsen y Danscher, 1986).

Los primeros signos de los efectos tóxicos sobre el SNC consisten en temblor fino y manifestaciones neuropsíquicas conocidas como eretismo: pérdida de la memoria, insomnio, irritabilidad, excesiva timidez y susceptibilidad emocional. El temblor afecta inicialmente a las extremidades (Roels y cols., 1989). Con el aumento de la dosis aparece el síndrome llamado clásicamente mercurialismo o síndrome inespecífico asténico-vegetativo (Berlin, 1986).

La exposición aguda o crónica a vapor de mercurio a $100 \mu\text{g Hg/m}^3$ durante el período gestacional no revela incremento de la incidencia de malformaciones congénitas.

Exposiciones agudas a concentraciones superiores de vapor de mercurio $500 \mu\text{g Hg/m}^3$, en ratas Sprague-Dewley, induce malformaciones fetales como encefalo- meningocele y en algún caso configuración craneal en cúpula y fisura palatina (Steffek y cols., 1987).

No se considera frecuente la hipersensibilidad primaria con reacciones alérgicas en la piel (Burrows, 1986). No puede calificarse carcinogénico, aunque Ahlbon y cols.(1986) refieren la aparición de glioblastomas en dentistas, los mismos autores no concluyen que sea debido a la exposición. Los últimos estudios sobre el efecto mutagénico son ambiguos; el incremento aneuploide observado por Verschaeve y Susanne (1979), en exposiciones a bajas concentraciones de mercurio vapor no ha sido repetido.

B. Mercurio iónico

Se asume que el mercurio divalente (mercúrico) producido como consecuencia de la oxidación celular del vapor de mercurio es la especie tóxica inmediata en la intoxicación por éste. También puede ser absorbido en disoluciones acuosas. Debido a su afinidad por los grupos sulfhidrilos, origina inhibiciones enzimáticas a concentraciones que

concuerdan con la necesaria para producir los efectos tóxicos en el SNC (Berlín, 1986).

En las intoxicaciones agudas por ingestión de mercurio divalente el órgano crítico es el tracto intestinal. Si el paciente sobrevive el órgano crítico es el riñón. No son frecuentes las intoxicaciones crónicas.

Estudios en animales sugieren que el daño renal debido al mercurio iónico se debe a un mecanismo inmunitario, sin embargo no hay evidencias definitivas para el mercurio vapor (Clarkson, 1988).

El efecto nefrotóxico del mercurio inorgánico se manifiesta por daño en el glomérulo y en los túbulos renales. El daño sobre los túbulos renales es directo, con destrucción de células y descarga de desechos en la cavidad tubular (Clarkson, 1988).

Origina necrosis en el epitelio renal tubular (Lindh y Johansson, 1987) y paralelamente se acumula en células tubulares renales. El daño implica pérdida de gamma glutamil transferasa y otras enzimas lisosómicas, como la β -hexosaminidasa (Foa y cols., 1976). En el fallo renal agudo los estudios metabólicos revelan disminución del ATP y ADP sin modificación del AMP (Trifillis y cols., 1981).

Se han descrito alteraciones de la respuesta inmune con manifestaciones en la piel cuando se aplica localmente (Berlín, 1986).

En las intoxicaciones por sales de mercurio inorgánico (mercurioso o mercúrico) y de fenilmercurio se presenta el síndrome denominado acrodinia. Se caracteriza por descamación, color rosa de las mejillas y plantas de los pies y manos, prurito, fotofobia, sudoración, irritabilidad e insomnio.

Es una reacción de hipersensibilidad que se manifiesta por las especies que liberan mercurio divalente en tejidos de mamíferos, por lo que es probable que la forma implicada sea el ión Hg^{2+} . Son interesantes las marcadas diferencias en susceptibilidades individuales (Clarkson, 1988). Aunque actualmente la enfermedad ha desaparecido, Mathenson y

cols. (1980) presentan el caso de un paciente con agammaglobulinemia congénita, al que se administró una preparación de gammaglobulina con etilmercuriotiosalicilato sódico en su composición, y desarrolló signos y síntomas de acrodinia.

En los últimos años se ha prestado gran atención a los efectos sobre el sistema inmunitario ya que la inducción de glomerulonefritis autoinmune está caracterizada por depósitos de inmunoglobulinas y complementos (Ig G y C₃) (Román-Franco, 1978). El mecanismo de inducción es aún desconocido aunque las tendencias actuales sugieren que se debe a un aumento de la función de las células T-helper, a la supresión de células T-supresoras, a la modificación de los determinantes clase II (Ia) o a combinación de estos mecanismos (Pelletier y cols., 1987).

Clarkson (1988) indica que si esta interpretación es correcta, es interesante resaltar que el sistema inmunitario es la primera diana que manifiesta efecto sobre el riñón y no es tejido renal.

Por otra parte, inhibe el consumo de oxígeno y el metabolismo de la glucosa en macrófagos alveolares. Afecta el metabolismo oxidativo por lo que puede disminuir la actividad antibacteriana (Castranova y cols., 1980). Altera la migración de dichos macrófagos y su capacidad de fagocitosis (Christensen y cols., 1988).

Su afinidad por los grupos -SH de proteínas es la responsable de la interferencia con la función y estructura de la membrana, aunque también interactúa con grupos fosforilo de la membrana. Debido a esta interacción con los grupos -SH y también con grupos amino y carboxilo, su inhibición enzimática es inespecífica (Vercruyssen, 1984). Inhibe la actividad de la GSH-transferasa aunque el efecto es demasiado pequeño para considerarlo responsable del daño celular (Sieggers y cols., 1987).

Como ya se citó, la capacidad de inhibir las enzimas succínico deshidrogenasa y anhidrasa carbónica en los túbulos proximales se traduce en un efecto diurético (por inhibición de la reabsorción) aprovechado desde antiguo.

Reduce el gradiente iónico que conduce el transporte renal del

ácido p-aminohipúrico e inhibe la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ (Miller, 1981).

Incrementa la peroxidación lipídica en hepatocitos (Stacey y cols., 1982) con aumento de la proteína microsómica total, inducción de la O-desmetilasa y disminución del cit P_{450} (Abbas-Ali, 1980).

Los resultados de Holt y Webb (1986a) sobre la toxicidad y teratogenicidad del mercurio divalente en ratas muestran que administrado por vía intravenosa, las anomalías fetales pueden resultar de la inhibición del transporte de metabolitos esenciales de la madre al feto o de la nefrotoxicidad que causa en la madre. Inhibe el paso trasplacentario de la L-leucina, reduce el paso de timidina y la incorporación al nucleótido en el DNA fetal (Holt y Webb, 1986b).

Las anomalías en riñón están íntimamente relacionadas con el incremento de la actividad de la G6PD y disminución de la actividad de la GP maternas (Karp y cols., 1985).

C. Metilmercurio

Como ha sido referido, hasta los años 50 en que se produce la intoxicación masiva por metilmercurio en la bahía de Minamata, no se le consideró como un peligro ambiental para la salud. La importancia de aquel episodio hace que la intoxicación por metilmercurio sea conocida como "Enfermedad de Minamata" (Chang, 1981).

La mayoría de los efectos se asocian con el SNC y tanto los signos como los síntomas aparecen después de un período latente o silencioso de varias semanas o meses.

El primer síntoma es la parestesia en las extremidades y posteriormente se evidencian signos más serios como ataxia y disartria. En casos de intoxicaciones moderadas o severas se manifiesta reducción del campo visual y de la audición (Clarkson, 1988).

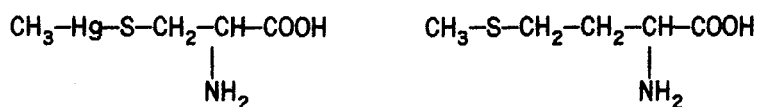
Una reciente publicación de la O.M.S. (W.H.O., 1990) recoge las características del daño en la intoxicación por metilmercurio:

- Período de latencia de varios meses.
- Daño exclusivamente limitado al sistema nervioso, especialmente al SNC.
- Áreas del daño cerebral muy localizadas (focales), por ejemplo corteza visual y capa granular del cerebelo.
- Los efectos en casos severos son irreversibles debido a la destrucción de células neuronales.
- Los primeros efectos no son específicos: parestesia, visión borrosa y malestar.

Los resultados de 28 autopsias de víctimas demuestran una reducción del peso cerebral en un 50-60%, con cambios en el cerebelo y corteza visual y pérdida de células de Purkinje extensiva a la proliferación glial. La corteza visual presentó una pérdida de neuronas de ambos hemisferios responsable de la constricción de la visión. En los casos más severos, la pérdida de neuronas de las áreas visuales primarias fué completa. En otras áreas del cerebro hay pérdidas variables; son significativas las de neuronas corticales en todas las áreas, así como de la materia blanca (Annau y Cuomo 1988).

La vida media en cerebro se estima en un período entre 240-250 días (Takeuchi y cols., 1974), sin embargo puede permanecer por períodos entre 17-18 años en los casos crónicos. Un trabajo reciente de estos autores demuestra alteración en células epiteliales del plexo coroide y en células gliales 26 años después de la exposición a metilmercurio (Takeuchi y cols., 1989).

Poco es conocido sobre los mecanismos de translocación del metilmercurio de la sangre al cerebro. Actualmente se ha demostrado la posibilidad de que no sea una simple difusión por su lipofilia sino que forme la unión metilmercurio-cisteína y que ésta sea transportada por los sistemas transportadores de aminoácidos neutros debido a la similitud con la L-metionina, sustrato de numerosos transportadores (Aschner, 1989).



La fracción que se absorbe y acumula en el SNC varía según la

especie animal. Parece que esta fracción se incrementa filogenéticamente en las especies animales con el avance del desarrollo del cerebro. En rata el 1% de la carga corporal es retenido en cerebro mientras que en humanos es el 10%. El SNC es el órgano crítico en primates mientras que en roedores riñón y nervios periféricos se dañan a dosis menores que las que afectan al cerebro (Berlin, 1986).

En la fase presintomática, la inhibición de la síntesis proteica, se considera el mecanismo de acción primario del efecto sobre el SNC (Yoshino, 1966). Durante esta fase, la administración de dosis de 8 mg/Kg por vía oral durante 6 días (dosis neurotóxica), no afecta el flujo unidireccional de glucosa ni hay diferencias en la fosforilación (Hargreaves y cols., 1988b); sin embargo si hay una inhibición de la síntesis proteica en cerebro de un 32% durante la fase latente. En la sintomática la reducción es de un 15% (Omata y cols., 1980).

Las tendencias actuales proponen la contribución de sistemas oxidativos, con la generación de radicales libres, como mecanismo de toxicidad del metilmercurio (Sarafian y cols., 1989). La intoxicación aguda provoca una fuerte depleción de la actividad de la glutatión peroxidasa hepática originando un reducido consumo de NADPH (Hirota, 1986).

Durante el período sintomático inhibe la fosforilación de proteínas en el sistema nervioso periférico, especialmente en el nervio ciático (Kawamata y cols., 1987).

Afecta la elongación de los péptidos ya que reduce la actividad de las Asp-Leu y Tir-RNA_t sintetasas en cerebro de rata. Aumenta la actividad de la His-RNA_t sintetasa permaneciendo inmodificada las Lis y Met-RNA_t sintetasas. Esta modificación de la aminoacilación del RNA_t puede ser uno de los pasos críticos del mecanismo del metilmercurio sobre la síntesis proteica.

Hasegawa y cols. (1988) estiman que dada la diferencia de afectación de la síntesis de especies proteicas, estas se modificarán según su sucesión de aminoácidos. Aún se desconoce el porqué de esta especial sensibilidad de la síntesis proteica al metilmercurio (W.H.O.,

1990).

Inhibe la acción de la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ concretamente en el paso de desfosforilación ya que origina un cambio conformacional en la enzima; como consecuencia inhibe la bomba de Na^+ (Ahammad Sahib y cols., 1987). Como mecanismos de la acción se ha sugerido la alteración de los estados 3 y 4 de la respiración mitocondrial K^+ -dependientes y desacople de la fosforilación oxidativa (Sarafian y cols., 1989).

Durante la intoxicación por metilmercurio se deprime el sistema colinérgico por su acción inhibitoria de la acetilcolina transferasa (Dewivedi y cols., 1980) tanto en el núcleo estriado como en la corteza cerebral, manifestándose en animales de experimentación por disminución de la actividad motora, disfunción rotatoria e hipertermia (Kobayashi y cols., 1980, 1981). Así mismo se ha demostrado que inhibe los receptores muscarínicos de la acetilcolina en cerebro por bloqueo de los grupos -SH (Abd-Elfattah y Shamo, 1981) y que produce pocos cambios en la acetilcolinesterasa cerebral (Omata y cols., 1982).

Los casos de la intoxicación iraquí indican que inhibe la transmisión de la acetilcolina en las uniones neuromusculares (W.H.O., 1990).

Estimula el potencial de placa en la unión neuromuscular como resultado de la pérdida de iones calcio de las mitocondrias del terminal nervioso (Levesque y Atchinson, 1988).

Impide la entrada de dopamina, serotonina y noradrenalina (por ese orden) en los sinaptosomas estriados, hipotalámicos y corticales respectivamente (Komulainen y cols., 1981). Dosis altas de metilmercurio (15-50 mg/Kg) disminuyen la síntesis de dopamina y no de otras aminas biógenas lo que sugiere la sensibilidad de las rutas dopaminérgicas con interferencia de mecanismos colinérgicos y de neurotransmisores (Sharma y cols., 1982). A dosis menores en tratamiento prolongado inhibe la actividad de la triptófano hidrolasa, monoaminoxidasa, catecol-o-metiltransferasa, colina acetiltransferasa y acetilcolinesterasa, no alterándose la tiroxina hidrolasa, dopamina- β -hidrolasa y glutámico

descarboxilasa (Tsuzuki, 1981).

El metilmercurio induce la liberación de neurotransmisores. El mecanismo de acción no es dependiente de la inhibición de la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ ni de la despolarización que provoca en la membrana. Los resultados actuales indican que el proceso es debido a la alteración de la homeostasis del Ca^{2+} intrasinaptosomal y al incremento de la permeabilidad de la membrana neuronal (Minema y cols., 1989).

Reacciona con un grupo de fosfolípidos propios de las células nerviosas llamados plasmalógenos caracterizados por tener enlaces vinil éter. Como consecuencia de la ruptura e hidrólisis se liberan aldehídos esteáricos y palmíticos, tóxicos a su vez, que contribuyen a alterar la estructura de la membrana y a la lisis celular (Repetto, 1988).

Es conocida su interferencia en la síntesis de macromoléculas (Yoshino y cols., 1966) y de ATP (Sone y cols., 1977); sin embargo la importancia de estos procesos para todas las células del organismo no explica la especial afectación del cerebro, aunque la función neurológica es especialmente dependiente de la generación de ATP.

Se conoce que la reducción de ATP no es per se el mecanismo central del daño (Ally y cols., 1984) y que, aunque la alteración del contenido de ATP y nucleótidos de adenina se produce a bajas concentraciones de metilmercurio, no es suficiente para causar la muerte neuronal selectiva considerada como la base etiológica primaria de la alteración motora asociada.

Origina alteración de la formación de plaquetas, liberación y agregación plaquetaria e inhibe la secreción de prostaglandina E_1 por la adenilato ciclasa en dichas formas hemáticas (Macfarlane, 1981). En eritrocitos disminuye la concentración de cinc y magnesio y en neutrófilos además aumenta el hierro (Johansson y Lindh, 1987).

Disminuye la tolerancia al estrés y la actividad sexual por inhibición de esteroides adrenales y testiculares (Bruton y Meikle, 1980). La alteración funcional e histológica parece ser debida a cambios

en enzimas o en la secreción de la ACTH de la pituitaria anterior como consecuencia de la redistribución del metilmercurio. El mecanismo es complejo y están involucradas células adrenales y pituitarias (Rasmussen y Thorlacius-Ussing, 1987).

No se ha puesto de manifiesto la inducción o promoción de tumores (Berlin, 1986); aunque Wulf y cols. (1986) indican que la exposición prolongada a metilmercurio está asociada a daño cromosómico.

A dosis altas y exposición prolongada es carcinogéno renal (W.H.O., 1990).

En consumidores de pescado contaminado se ha encontrado correlación entre las concentraciones sanguíneas de metilmercurio y frecuencia de aberraciones tipo cromátida y aneuploidismo (Skerfving y cols., 1974); este tipo de aberraciones se han descrito también en trabajadores expuestos (Vershaeve y cols., 1976).

El daño asociado con la exposición prenatal se generaliza en todo el SNC en contraste con el daño focal en la exposición adulta (Aschner y Clarkson, 1988).

La exposición intraútero manifiesta en humanos una sintomatología clínica caracterizada por disfunción motora y retraso mental. El efecto patológico incluye hipoplasia de la corteza cerebral, arquitectura cortical anormal, pobre mielinización y daño neuronal degenerativo.

En los casos menos severos los recién nacidos pueden parecer completamente normales y desarrollar los déficits neurológicos una vez madurado el SNC.

En la experimentación animal los efectos del metilmercurio sobre el cerebro fetal varían dependiendo del periodo de la gestación en que las madres son tratadas. La intoxicación al comienzo de la misma origina migración neuronal anormal en el cerebro fetal mientras que en la última fase manifiesta degeneración focal de las neuronas de la corteza cerebral (Inouye y Kajiwara, 1988).

Los mecanismos de toxicidad en los tejidos en desarrollo se concretan en dos:

- migración anormal e incompleta de células neuronales en cerebro y cerebelo.
- inhibición de la división celular.

Inhibe la migración normal de las neuronas desde el centro de la colonia con degeneración de las neuritas que se fragmentan desde el cuerpo celular (Choi y cols., 1980) y daña los microtúbulos por inhibición de la polimerización de la tubulina (Sager y cols., 1982).

Los primeros cambios como consecuencia de la exposición es la alteración de los astrocitos (células que soportan la migración normal en el desarrollo cerebral). Uno de los trabajos más recientes en cultivos en monocapa de astrocitos de fetos de ratón demuestra un notable cambio en la carga de superficie de membrana lo que implica acciones tóxicas en cascada sobre el desarrollo del cerebro (Peckhan y Choi, 1986).

Sager y cols. (1982) demuestran una reducción del tanto por ciento de figuras mitóticas (anafase/figuras mitóticas) con la pérdida de microtúbulos del huso y reducción consecuente del número de células en la corteza cerebelar. Este mecanismo sobre el desarrollo neonatal del cerebelo se manifiesta en fetos expuestos por el incremento del número de figuras mitóticas tempranas o disminución de células que alcanzan la mitosis (Rodier y cols., 1984). Esta proliferación deteriorada sucede en exposiciones crónicas a bajas concentraciones (12.5 ppm) administradas en el agua de bebida de la madre (Howard y Mottet, 1986). La reducción de las divisiones mitóticas se presenta también en otros tejidos fetales como médula ósea, páncreas, pulmón e hígado junto con la presencia de cromosomas viscosos y aglutinados (Curle y cols., 1983).

Los cambios morfológicos primarios en el cerebelo se caracterizan por hinchazón de células granuladas más pronunciado en los hemisferios cerebelares que en el vermis y flocculus. Las células de Purkinje se presentan con cambios geométricos en el retículo endoplásmico granulado (Syversen y cols., 1981).

Después de un periodo de 10-12 semanas posterior al nacimiento, el

cerebelo de ratones expuestos presenta las hojas cerebelares y ventrículos laterales simplificados, núcleo caudado y putamen reducido (Inouye y cols., 1985,1988).

Los efectos patológicos residuales a la exposición uterina se manifiestan por áreas focales de astrogliosis en la capa molecular, cuerpos residuales y dendritas de gránulo en las neuronas así como por cambios degenerativos de los axones mielinizados (Reuhl y cols., 1981).

La intoxicación con dosis de 6 mg/kg (dosis mínima teratógena) produce hidrocefalia, disminución de la corteza cerebral en la sección parietal y aumento del grosor del hipocampo en la sección occipital; con esas excepciones los cerebros presentan desarrollo normal (Kutscher y cols., 1985). Estudios posteriores han demostrado que una estenosis acueductal es la causa de la hidrocefalia (Choi y cols., 1988).

En la etapa neonatal la exposición a metilmercurio altera el turnover de la dopamina y norepinefrina lo que indica alteración de la dinámica sináptica del desarrollo de neuronas catecolaminérgicas centrales (Bartolomé y cols., 1982).

Sobre el desarrollo de las sinápsis ejerce un espectro dual con efectos promocionales a bajas dosis y acciones inhibitorias a dosis altas. En la ontogenia de la función sináptica los receptores α_1 , α_2 y β para la norepinefrina son más vulnerables en el cerebelo que en corteza y que en cerebro medio (Bartolomé y cols., 1987).

Sobre la ornitina descarboxilasa (enzima propuesto como marcador bioquímico de sucesos teratólogicos) el metilmercurio produce aumento generalizado en los órganos aunque en cerebro provoca reducción de la actividad seguida de aumento y en hígado aumento y ligera reducción del mismo (Bartolomé y cols., 1982; Slotkin y cols., 1985).

Sobre otros metales sus efectos se manifiestan por disminución del hierro y calcio intestinal en ratas preñadas respecto a las no expuestas. En el feto hay una reducción generalizada de ambos metales así como de cobre en cerebro lo que origina una osificación retardada en el desarrollo del esqueleto (Chmielnicka y cols., 1985).

D.- Otros compuestos orgánicos mercuriales.

Su toxicidad deriva de sus características toxicocinéticas consecuentes a su liposolubilidad, tropismo al SNC y al grado de facilidad para ser biotransformados en Hg^{2+} (Vease apartado B).

**VALORES DE REFERENCIA
INDICADORES DE LA EXPOSICION**

Según la O.M.S. (1990) los valores medios para mercurio total en la población no especialmente expuesta son:

Sangre total: 8 µg/L

Pelo: 2 µg/g

Orina: 4 µg/L

Placenta: 10 µg/g

Estudios recientes (Berlin, 1986) sobre individuos expuestos a vapor de mercurio demuestran que la concentración en sangre refleja la exposición reciente y que los valores en orina (expresados por gramo de creatinina) están correlacionadas con las concentraciones en sangre.

La correspondencia establecida para el vapor de mercurio es: 40 µg Hg/m³ aire - 15-20 µg/L sangre.

Elinder y cols.(1988) concluyen que el pelo no es buen indicador de la exposición a mercurio inorgánico por la posible confusión con el metilmercurio procedente de pescado cuando la exposición a mercurio vapor es baja y la determinación es en sangre; este problema se elimina cuando la muestra es orina pues sólo una pequeña fracción del metilmercurio absorbido se excreta por esta vía.

La relación entre la concentración de vapor mercurio en aire y de mercurio iónico en orina es 1:2-2.5 (W.H.O., 1980b); entre la sangre y orina es 1:3 (Roels y cols., 1987).

No existen datos disponibles que relacionen las concentraciones de mercurio en sangre y orina con los datos de exposición y absorción de mercurio mercúrico. Consideraciones teóricas asumen que, como en el caso del mercurio vapor, las concentraciones en sangre y orina se relacionan con la exposición.

La concentración de metilmercurio en sangre es el mejor indicador de la carga corporal (Task Group on Metals Accumulation, 1973); las concentraciones en pelo son proporcionales a las de la sangre ya que, en el momento de la formación del pelo, su concentración es 250 veces superior a la simultánea en sangre (W.H.O., 1990).

D O S I S - E F E C T O D O S I S - R E S P U E S T A

Cuando el agente tóxico es vapor de mercurio, no aparecen síntomas específicos después de una exposición prolongada a $50 \mu\text{g Hg/m}^3$ (W.H.O., 1976); los adultos más sensibles experimentan temblor después de exposición prolongada a $100\text{--}200 \mu\text{g Hg/m}^3$.

Se considera letal la ingestión de 1-4 gramos de mercurio mercúrico (Winek y cols., 1981) aunque hay referencias de muerte con 0.5 gramos por vía oral (Gosselin y cols., 1976).

La prevalencia de la reacción inmunitaria aumenta con la dosis de mercurio mercúrico y con el tiempo de exposición aunque es difícil establecer la cuantificación de la respuesta (inmune, nefritis glomerular) a diferentes dosis o niveles de exposición. Los valores de metilmercurio pueden ser expresados como ingesta, cantidad absorbida (que se refleja en la concentración en sangre o pelo) o bien en términos de concentración en órgano crítico (cerebro) (Berlin, 1986).

Las intoxicaciones masivas han sido la base del conocimiento de la relación dosis-efecto del metilmercurio. Aunque son pocos los datos disponibles, la menor concentración de metilmercurio asociada a intoxicación es de 5 mg/Kg , valor que se corresponde con $800 \mu\text{g/L}$ en sangre y 200 mg/Kg en pelo (según datos japoneses). La concentración de $1\text{--}2 \text{ mg/Kg}$ en cerebro (200 ng/g en sangre) es la menor concentración a la cual se han observado signos neurológicos (Berlin, 1986).

En Environmental Health Criteria de la OMS (1976), quedan recogidos

los estudios de Bakir y cols. (1973) sobre la población intoxicada del Iraq; en ellos se concluye que la relación entre la carga corporal estimada y el porcentaje de frecuencia de la respuesta (signos y síntomas) se representa como se indica en la figura 9.

Según esta representación, el valor límite para el signo parestesia es una carga corporal de 25-40 mg de mercurio, que corresponde a una concentración en sangre entre 250-400 $\mu\text{g/L}$. Los niveles en sangre pueden ser relacionados con la carga corporal por los parámetros de distribución.

Nordberg y Strangert (1976) proponen como curva dosis-respuesta para exposiciones prolongadas de metilmercurio en humanos de 50 Kg de peso, la representada en la figura 10.

La estimación del riesgo del síntoma parestesia en estado estático de ingestión diaria de metilmercurio queda representado como se refleja en la figura 11.

Según esto una ingesta de 50 $\mu\text{g/día}$ en adultos implica un riesgo de 0.3% del síntoma parestesia y para una ingesta de 200 $\mu\text{g/día}$ el riesgo es del 8% (W.H.O., 1990).

Nordberg y Strangert (1976) indican que los primeros efectos pueden ser esperados en un 5% de la población adulta después de largos períodos de ingesta diaria de metilmercurio entre 3-7 μg de mercurio/Kg de peso corporal, lo que origina una concentración de 200 $\mu\text{g/L}$ en sangre y un máximo entre 50-125 de mercurio/g de pelo.

En la exposición prenatal, los efectos neurológicos son dosis dependientes con un rango desde cambios sutiles en la función cerebral (con dosis bajas), a severo síndrome neurológico con pronunciados cambios en la estructura (a niveles de exposición altos). En 1971 el Grupo de Expertos Suecos concluyó que la diferencia de sensibilidad entre el feto y el adulto se encuentra alrededor de 2.

Los valores de exposición son generalmente desconocidos aunque el efecto se relaciona con la concentración de mercurio en pelo de la madre

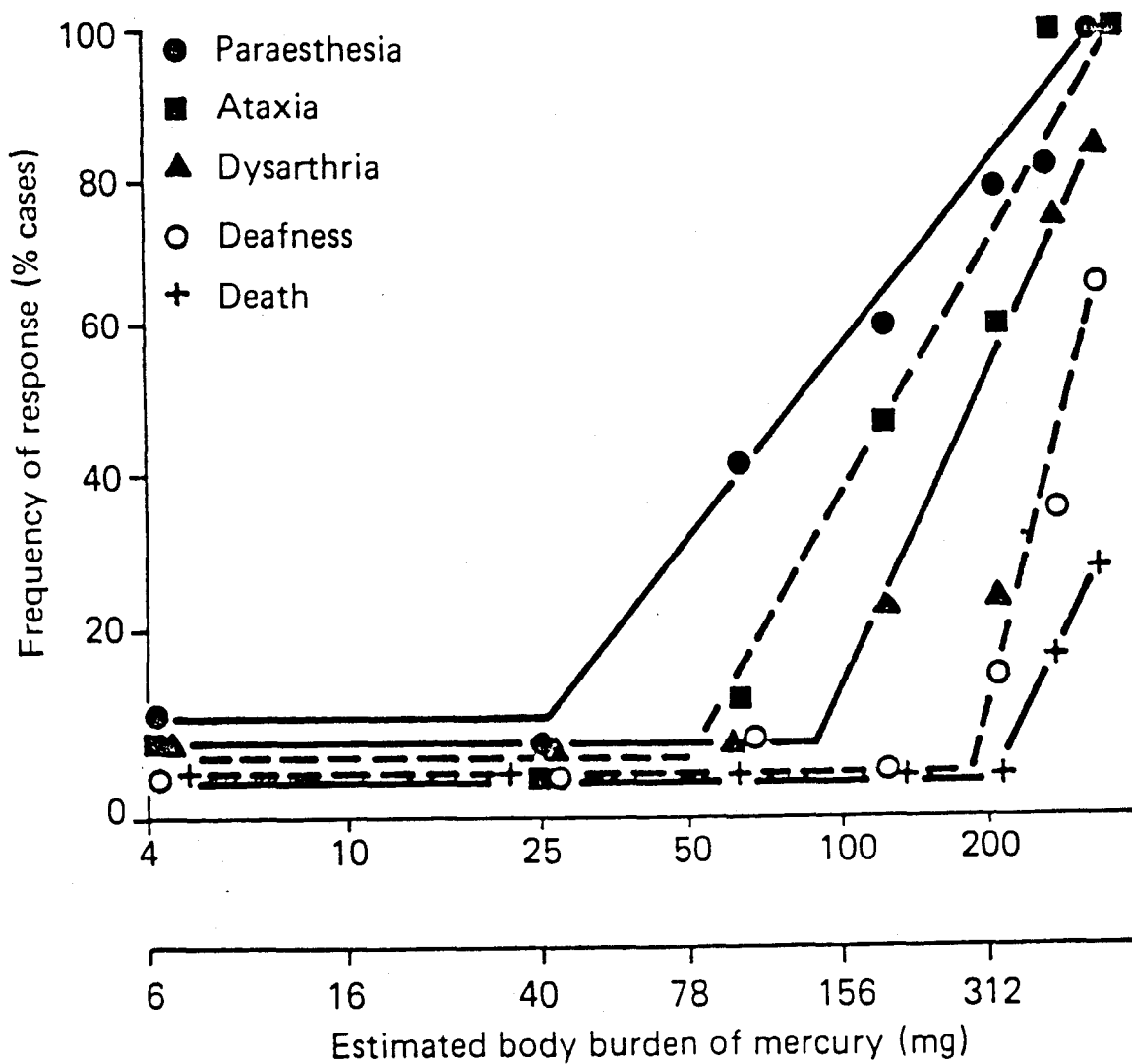
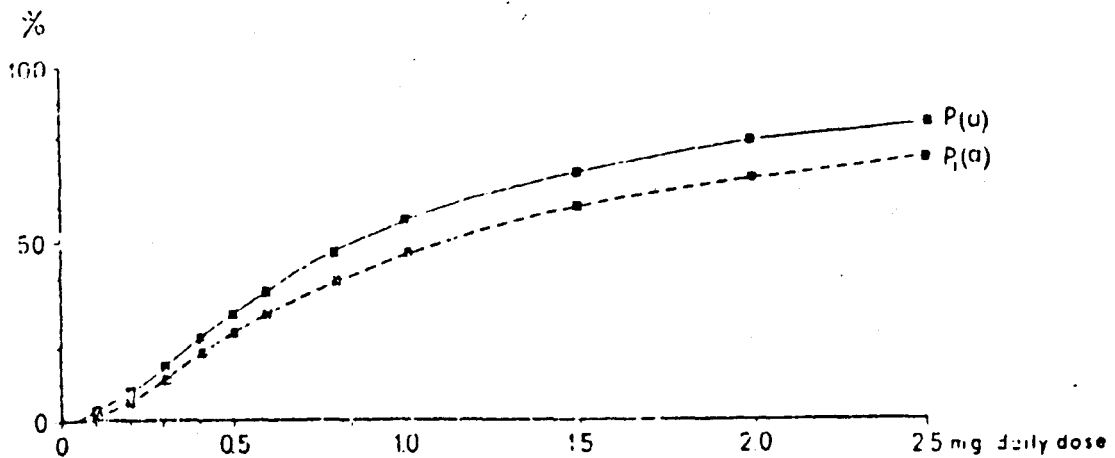


Figura 9.- Relación entre carga corporal estimada y el porcentaje de frecuencia de la respuesta. (Tomada de W.H.O.: Methylmercury. Environmental Health - Criteria 101. 1990)

A Probability of poisoning, P



$P(a)$ - Probabilidad de intoxicación calculada para la población general.

$P_1(a)$ - Probabilidad de intoxicación calculada para parte de la población total con una vida media biológica de 64 días.

Figura 10.- Curva dosis-respuesta para exposiciones prolongadas de metilmercurio en humanos. (Tomada de Nordberg, G. y Strangert, P.: Effects and dose-response relationships. 1976)

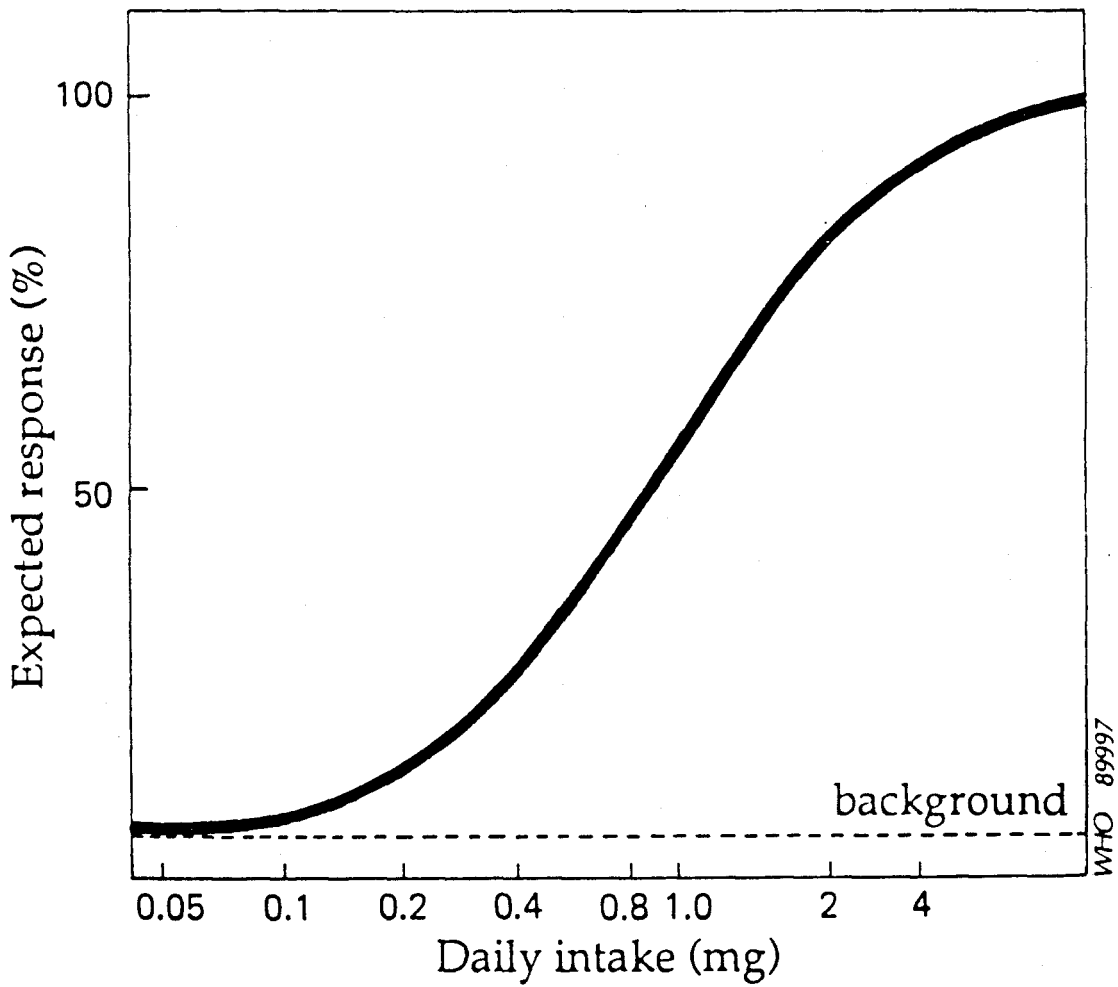


Figura 11.- Estimación del riesgo del síntoma parestesia en estado estático de ingestión diaria de metilmercurio. (Tomada de W.H.O.: Methylmercury. Environmental Health Criteria 101.1990)

y la ingesta diaria calculada. Kjellström y cols., (1986) refieren casos de retraso en el desarrollo de niños cuyas madres presentaron niveles de mercurio en pelo entre 5-10 $\mu\text{g/g}$. Los últimos datos que disponemos muestran que concentraciones de mercurio en pelo materno entre 10-20 $\mu\text{g/g}$ se corresponden con un 5% de riesgo (Cox y cols., 1989) y por encima de 70 $\mu\text{g/g}$ implica grave riesgo (30%) de desórdenes neurológicos en el feto (W.H.O., 1990).

**FACTORES QUE MODIFICAN
LA TOXICIDAD**

Las relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta pueden ser modificadas por distintos factores como edad, sexo, estado nutricional, etc.; según el tipo de compuesto de mercurio de que se trate.

Es de mencionar el papel del selenio en la toxicología del mercurio. Se ha demostrado en animales de experimentación que el selenio afecta la distribución del mercurio mercúrico y disminuye su toxicidad (Parizek y Ostadalova, 1967).

Los puntos a resaltar en la interacción con el mercurio divalente, cuando se administran simultáneamente en dosis equimolares, son una disminución del contenido de mercurio en riñón y aumento en otros tejidos (Eybl y cols., 1969) y formación de HgSe sobre todo en el sistema reticuloendotelial (Bruk y cols., 1974). Una de las consecuencias de la unión es la inhibición del transporte de ambos elementos a través de la placenta (Parizek y cols., 1971).

El efecto protector contra la nefrotoxicidad del mercurio es diferente para los distintos compuestos de selenio. Magos y cols. (1987) han demostrado que el selenio presente en la dieta es menos eficaz que el selenito; este modifica la distribución del mercurio aumentando su contenido en cerebro e hígado, y disminuyéndolo en riñón (Cikrt y Bencko, 1989).

Se ha sugerido que el efecto destoxicador del ión selenio es debido a la formación de selenio-proteínas que reducen la toxicidad del

mercurio por unión a éste (Fang, 1977). Estudios celulares han demostrado un efecto protector del selenio sobre la citotoxicidad inducida por el mercurio concomitante con un incremento de la cantidad de mercurio complejado, no tóxico, en los lisosomas (Christensen y cols., 1989).

La acción protectora del ión selenio en el caso del metilmercurio no implica un aumento en la excreción de mercurio sino que origina una alteración en su distribución con incremento de la concentración de mercurio en cerebro (Stoewsand, 1974).

Su efecto sobre la toxicidad del metilmercurio se basa en la inhibición del daño que éste ejerce sobre la membrana celular (Berlin, 1986). En el mecanismo de acción está implicado el GSH que rompe la unión Hg-Se, reduce el selenio IV a selenio II y favorece la formación del bis-metilmercurio-selenio II (Iwata y cols., 1981). Una vez en los tejidos se descompone acelerándose la desmetilación del metilmercurio (Berlin, 1986).

El selenio presenta también un efecto protector durante el embarazo y aunque los resultados no son concluyentes, puede afirmarse que la deficiencia de selenio aumenta la fetotoxicidad del metilmercurio (Nishikido y cols., 1987).

Otros factores que modifican la toxicidad son la vitamina E y el alcohol.

El efecto protector de la vitamina E se debe a su poder antioxidante (Chang y cols., 1978) y está demostrado que aumenta la tolerancia al metilmercurio (Welsh, 1979).

El etanol modifica el balance redox del mercurio inorgánico en los tejidos ya que inhibe la acción de la catalasa (W.H.O., 1976). Potencia los efectos del metilmercurio (Turner y cols., 1981). Estudios recientes sugieren que aumenta la retención y toxicidad del metilmercurio en el riñón a concentraciones que no modifican su neurotoxicidad (MacNeil y cols., 1988).

P A R T E E X P E R I M E N T A L

HIPOTESIS DE TRABAJO

A la vista de las controversias existentes sobre el transporte trasplacentario de niveles bajos de mercurio y metilmercurio y de acuerdo con las recomendaciones de la OMS de insistir en su estudio, planteamos nuestra hipótesis de trabajo.

El primero de los objetivos es estimar la situación de exposición, en nuestra región, de una de las poblaciones de riesgo, mujeres embarazadas al término de su gestación, cuya única fuente de mercurio es la ingesta de pescado. Para ello valoraremos el contenido en mercurio y metilmercurio en dos tipos de alimentos de origen marino, de consumo frecuente, y los niveles presentes en dicha población.

Para una mejor interpretación del transporte trasplacentario consideraremos placenta perfundida (exangüe) y por separado, sangre venosa y arterial del cordón umbilical.

El segundo objetivo es establecer un modelo experimental para poder estudiar la distribución en el sistema madre-feto a distintos niveles de exposición dentro de condiciones no tóxicas.

Para ello elaboramos el siguiente plan de trabajo:

PLAN DE TRABAJO

I.- Determinación de los niveles de mercurio en alimentos de origen marino.

I.1.- Peces

I.2.- Moluscos

II.- Determinación de los niveles de mercurio en humanos.

II.1.- Determinación en pelo de mujeres embarazadas al término de su gestación

II.2.- Determinación en sistemas madre-feto. Se consideraron los siguientes tejidos:

- Pelo

- Sangre venosa mediana/cubital materna

- Placentas perfundidas

- Sangre venosa del cordón umbilical

- Sangre arterial del cordón umbilical

II.3.- Estudio de la correlación pelo/sangre materna

II.4.- Estudio de distribución en el sistema madre-feto

III.- Experimentación animal.

A.- Niveles de mercurio en los distintos sistemas madre-feto de:

III.A.1.- Ratas preñadas no tratadas

III.A.2.- Ratas preñadas tratadas

III.A.3.- Ratas no preñadas no tratadas

III.A.4.- Ratas no preñadas tratadas

Adicionalmente se consideraron algunos casos de crías recién nacidas.

B.- Estudio de la distribución en los sistemas anteriores.

En todos los grupos se valoran mercurio, metilmercurio y se calcula los porcentajes de forma metilada y coeficientes de distribución.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL

Para llevar a cabo el estudio se ha utilizado el siguiente material:

1.- Muestras de pescados y moluscos

Se ha analizado un total de 50 muestras, 25 de pez espada (Xiphius gladius) y 22 de coquinas (Donax trunculus) adquiridas en distintos mercados de venta al público en el área urbana de Sevilla.

2.- Muestras de humanos

Las muestras fueron recogidas en dos centros hospitalarios sevillanos procedentes de individuos sanos, sin otra exposición reconocida a mercurio o sus compuestos, que la ingesta de pescado.

Para el estudio inicial se tomaron 50 muestras de pelo de mujeres al término de su gestación. En una segunda fase se analizaron 27 sistemas madre-feto de los que se eligieron 5 tipos de muestra: cabello o pelo púbico, sangre venosa periférica de la madre, placenta, sangre arterial del cordón umbilical y sangre venosa del cordón umbilical.

Fueron tomadas en el momento del parto con las condiciones sanitarias requeridas tanto para las madres y sus hijos como para el

investigador.

3.- Muestras de animales

Para su obtención hubo que realizar un programa de experimentación animal.

Los experimentos previos se efectuaron con ratas hembras Wistar cedidas por el Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Farmacia.

Una vez superadas las dificultades de obtención de las muestras que interesaban, se ha utilizado un total de 30 ratas albinas Wistar hembras y 8 machos para los cruces (3 hembras por macho).

Todas eran de raza Wistar, suministradas por IFFA-CREDO Lyon (Francia) y remitidas por vía aérea. Los pesos iniciales de las hembras estaban comprendidos ente 180-200 gramos.

A la recepción, los animales se mantuvieron en sala de cuarentena durante 7 días, al final de la cual se sometieron a controles físicos y sanitarios antes de su utilización; presentaron una flora microbiana normal que garantiza la obtención de respuestas fisiológicas y metabólicas normales.

Durante la experimentación se ha utilizado un bioterio de mantenimiento que cumple las líneas directrices relativas al alojamiento y cuidados de los animales (Directiva 86/609/CEE, 1986) y Real Decreto 223/1988 de 14 de marzo, sobre protección de los animales utilizados para la experimentación y otros fines científicos.

Se han controlado tanto los factores que influyen en el macroambiente (sala en que se mantienen los animales) como en el microambiente (interior de la jaula en que se alojan).

* Factores microbianos: Se ha tenido en cuenta el estado de salud de los animales con análisis bacterianos de rutina realizados

periódicamente; control sanitario de salas, aire, jaulas, accesorios, dieta y agua de bebida.

Se han cumplido las normas de higiene y protección para los propios cuidadores e investigadores, en contacto directo o indirecto con los animales.

* Factores físicos: El sistema de ventilación ha garantizado ciclos de 15-20 renovaciones de aire por hora que alcanza por igual a todas las jaulas. La temperatura, constante en el periodo de experimentación, ha sido de $22 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ y la humedad relativa del $55\% \pm 10$. Se han alternado ciclos de luz oscuridad de 12 horas con lámparas de luz fría de 40W de potencia.

* Factores químicos: Se ha reducido al mínimo el posible contacto de los animales con productos químicos y se han cumplido las normas para la limpieza de material y jaulas con utilización de los detergentes y desinfectantes recomendados.

Se han utilizado jaulas metabólicas individuales de metacrilato (Techniplast tipo 3) con suelo de rejilla de acero inoxidable, recomendadas para estudios de toxicidad, para evitar el polvo y contaminantes procedentes de los lechos. Permiten una buena circulación del aire y evitan condensación de humedad, lo que daría lugar a microclimas en el interior de la jaula, diferentes a las condiciones controladas en la sala correspondiente.

La alimentación, ad libitum, consistió en pienso Sanders, especial para ratas, de la siguiente composición:

- Glúcidos	69%
- Proteínas brutas	18%
- Grasas	3%
- Fibra bruta	5%
- Sustancias minerales	5%

Dada la finalidad del trabajo, se ha controlado el contenido en mercurio total y metilmercurio tanto en el pienso como en el agua de bebida, procedente de la red.

Diariamente se controló el peso de los animales, consumo de agua y alimento.

Los datos de los animales y de los factores ambientales se registraron diariamente y se archivaron las hojas correspondientes cumpliendo así las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio incluido lo referente a SOP (GLP OCDE, 1981; CEE, 1987).

4.- Producto utilizado en el tratamiento de los animales

Cloruro de metilmercurio (CH_3HgCl) de la casa Merck.

Para su administración en el agua de bebida fué necesaria su disolución en el mínimo volumen (5ml) de etanol 98%. Se procedió a su dilución con agua desionizada Milli-Q hasta el volumen necesario para obtener la concentración deseada.

La estabilidad de la solución fué diariamente comprobada tanto en mercurio total como en metilmercurio, durante la experimentación, por las técnicas correspondientes (Espectrofotometría de Absorción Atómica y Cromatografía Gas-Líquido).

5.- Aparatos utilizados

5.1. Mercurio total

5.1.1.- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin-Elmer 2380 equipado con sistema generador de hidruros MSH-10 e impresora PRS-10.

5.1.2.- Estufa P Selecta

5.1.3.- Horno de microondas MDS-81D, CEM.

5.2. Metilmercurio

5.2.1.- Cromatógrafo Gas-Líquido Hewlett Packard 5890 con detector de captura de electrones (DCE), columna de Dietilenglicol-

succinato de 530 μ de diámetro y 15 m de longitud, con inyector automático de muestras 7676 A e integrador 3392 A.

5.3. Aparatos de carácter general

5.3.1.- Balanza granatario provista de cubilete para pesar animales y de un integrador que calcula la media de 10 pesadas (Mettler P.E. 200).

5.3.2.- Balanza analítica Mettler AE 240

5.3.3.- Balanza semianalítica Mettler PJ 3000

5.3.4.- Centrífuga P Selecta S-240

5.3.5.- Centrífuga P Selecta Centronic

5.3.6.- Baño P Selecta Univeba 401

5.3.7.- Congelador IGNIS (-20 \circ C)

5.3.8.- Vortex Reax 2000

5.3.9.- Microscopio óptico

5.3.10.- Ordenador IBM 5170 Enhanced color display.

6.- Reactivos

6.1. Mercurio total

6.1.1.- Material de Referencia estandar 1577 A, de hígado bovino del National Bureau of Standards (NBS), USA, con un contenido certificado de mercurio de 0.004 ± 0.002 μ g/g en peso seco.

6.1.2.- Material de Referencia MA-A-2 (TM) de homogeneizado de pescado del Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, con contenido certificado de mercurio de 0.47 ± 0.02 μ g/g en peso seco.

6.1.3.- Material de Referencia MA-B-3/TM, de homogeneizado de pescado del Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, con contenido certificado de mercurio de 0.51 μ g/g en peso seco con un intervalo de confianza entre 0.47 y 0.61 μ g/g.

6.1.4.- Oxido de mercurio para análisis (Merck).

6.1.5.- Acido nítrico 65% Suprapur^R (Merck).

6.1.6.- Acido clorhídrico 30% Suprapur^R (Merck).

6.1.7.- Hidróxido sódico en lentejas para análisis (Merck).

6.1.8.- Borohidruro de sodio para análisis (Merck).

6.1.9.- Agua desionizada Milli-Q (Millipore)

6.2 Metilmercurio

- 6.2.1.- Cloruro de metilmercurio para síntesis (Merck).
- 6.2.2.- Hidróxido sódico en lentejas para análisis (Merck).
- 6.2.3.- Clorhidrato de L-Cisteína (Sigma).
- 6.2.4.- Cloruro sódico para análisis (Merck).
- 6.2.5.- Urea para análisis (Merck).
- 6.2.6.- Acido sulfúrico 96% Suprapur^R (Merck).
- 6.2.7.- Tiosulfato sódico en solución 0.1 mol/L Tritisol^R (Merck).
- 6.2.8.- Cloruro cúprico dihidratado para análisis (Merck).
- 6.2.9.- Florisil^R (MgO:SiO₂-15:85) para cromatografía en columna (Merck).
- 6.2.10.- Sulfato sódico anhidro para análisis (Merck).
- 6.2.11.- Benceno nanogrado (Mallinckrodt).

Para la eliminación de metales pesados el material de vidrio utilizado, una vez limpio, permanecía una noche con solución de ácido nítrico al 2% v/v; posteriormente se enjuagaba con agua desionizada y se secaba a temperatura ambiente, en el caso del material aforado, o en estufa a 90-100 °C.

METODOS

1.- Toma de muestra

1.1.- Pescado y moluscos

1.1.1.- Pez espada (Xiphius gladius)

El muestreo fué realizado en cinco comercios de venta al público de la zona de Sevilla capital donde se adquirieron cinco filetes de pez espada fresco cada uno de una pieza diferente, en cinco días distintos. Número de muestras, n=25.

Cada uno de ellos se introdujo en un recipiente de polietileno con tapón de rosca, exento de metales pesados. Se congelaron a -20 °C hasta el momento de su análisis.

1.1.2.- Coquinas (Donax trunculus)

El muestreo se realizó en los mismos comercios y de la misma forma que en el caso anterior, adquiriendo 250 gramos en cada compra. Número de muestras, n=22.

Fueron guardados en recipientes similares y congelados a -20 °C hasta el momento de su análisis.

1.2.- Humanos

Se estudiaron sistemas madre-feto integrados por las muestras que se relacionan, aunque en algunos casos no fuera posible conseguir todos los tejidos correspondientes a un sistema.

Pertenecían a mujeres voluntarias que ingresaron con motivo del término de su gestación, en edades comprendidas entre 20-40 años. Ninguna había recibido medicación mercurial ni se trataba con tintes o decolorantes. Se consiguieron muestras de 77 donantes, en series de 50, 12 y 15 respectivamente.

Las muestras utilizadas para el estudio inicial fueron obtenidas del Hospital Nuestra Señora de Valme (Sevilla).

Posteriormente se realizó un segundo muestreo con participación directa del propio doctorando que colaboró en la toma de muestra, en el Hospital Maternal Virgen del Rocío (Sevilla) sobre un total de 15 parturientas, de las que se tomaron idénticos especímenes, a excepción del pelo que no fué de la cabeza sino púbico.

1.2.1.- Pelo

Por tener escasa experiencia personal en el análisis de pelos se realizó un muestreo previo de 50 mujeres, para poner a punto la técnica y conocer los valores basales indicativos de la exposición. El corte se realizó, con tijeras de acero inoxidable, de la región occipital de la cabeza lo más próximo posible a la raíz; en 7 casos fueron pelos púbicos que se obtuvieron por rasurado. La cantidad aproximada fué de 2 gramos en los casos que fué posible (de los pelos púbicos 0.5 gramos, mínimo 0.1 gramo) y con longitudes similares; n=64 muestras.

Las muestras envueltas en papel blanco se introdujeron en bolsas de plástico.

1.2.2.- Sangre venosa periférica de la madre

Se obtuvo por extracción de 5 mililitros de la vena mediana/cubital

en el momento del parto. Se estudió un total de 27 muestras.

1.2.3.- Placenta (5 gramos); n= 27 muestras.

1.2.4.- Sangre arterial del cordón umbilical (3 mililitros); n= 27 muestras.

1.2.5.- Sangre venosa del cordón umbilical (3 mililitros); n= 27 muestras.

Ante la dificultad de extracción de la sangre arterial del cordón umbilical, en algunos casos el volumen obtenido fué menor.

Las muestras de cada sistema madre-feto fueron etiquetadas con el mismo número.

Cada tipo de sangre fué introducido en tubos heparinizados, los cotiledones placentarios fueron perfundidos con solución de cloruro sódico al 0.9% para eliminar la sangre y poder analizar el tejido sin interferencia de ésta; se introdujeron en frascos de polietileno exentos de metales pesados.

Las muestras, a excepción de los pelos, se congelaron a -20 °C hasta su procesado y determinación.

Consecuentemente, se ha trabajado con 27 sistemas madre-feto, y un total de 135 muestras humanas.

2.- Experimentación animal

Se planteó la experimentación utilizando los siguientes lotes de animales:

Lote I.- 15 ratas control preñadas (sin tratamiento).

Lote II.- 7 ratas preñadas y tratadas.

Lote III.- 5 ratas control vírgenes (sin tratamiento).

Lote IV.- 3 ratas vírgenes tratadas.

Finalmente se añadieron los siguientes lotes de crías recién nacidas:

Lote V.- 3 camadas de madres no tratadas.

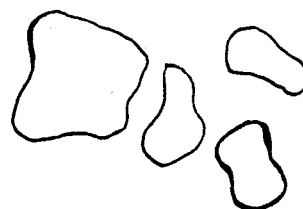
Lote VI.- 1 camada de madre tratada.

2.1.- Control del apareamiento

En primer lugar era necesario conocer en que fase del ciclo ovárico se encontraban los animales: proestro, estro (fase fértil), metaestro o diestro (Bertalanffy y Lau, 1963) (figura 12).



PROESTRO
(Cél. escamosas intermedias)



ESTRO
(Cél. escamosas superficiales)



METAESTRO
(Cél. escamosas y leucocitos)



DIESTRO
(Leucocitos polimorfonucleares)

Figura 12.- Fases del ciclo ovárico de la rata.

Para ello se tomó una muestra vaginal mediante la introducción y extracción de una disolución de cloruro sódico al 0.9% con pipeta Pasteur estéril.

Se hizo un frotis en los respectivos portas que se dejaron secar a temperatura ambiente. Después de tinción con azul de metileno se visualizaron en el microscopio. Según el tipo de célula se establecieron los días de apareamiento.

Estos se realizaron con machos en la proporción 1:3.

La confirmación de la gestación se realizó mediante la detección, en frotis vaginales (tomados de la misma forma), de espermatozoides a la mañana siguiente del apareamiento, determinando de esta forma el día 1 de la gestación, necesario por dos motivos:

- comienzo del tratamiento
- establecer el día aproximado del parto.

2.2.- Tratamiento

Consistió en la administración de cloruro de metilmercurio por vía oral, en el agua de bebida, a los animales de los lotes nº II y IV.

Se eligió esta vía por no ser aconsejable la introducción de sonda intragástrica en el periodo de gestación, además de ser la que menos estrés supone al animal para no modificar los parámetros bioquímicos. Otro motivo es que esta vía se corresponde con la del grupo de humanos cuya exposición es la ingesta de pescado. No se administró en el pienso por ser más difícil la homogeneización y dosificación.

La dosis administrada fue calculada según la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ISTP) establecida por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (1972): 0.3 miligramos de mercurio total/persona/semana, de los cuales no más de 0.2 miligramos debieran de estar presentes como metilmercurio (expresado como mercurio). Teniendo en cuenta el peso de las ratas (180-200 gramos) la dosis calculada se corresponde con 0.101 µg de metilmercurio por rata y día.

Como factor de seguridad en la experimentación se eligió el 100, intermedio entre los usuales en toxicología (Repetto, 1988). Por tanto la dosis escogida fue de 10.1 µg de metilmercurio por rata y día.

Esta dosis es muy inferior a la dosis mínima teratógena por vía oral para rata que es de 6 mg/Kg (N.I.O.S.H., 1989) que supone 960 µg de metilmercurio por rata. Consecuentemente, la dosis elegida es inferior a la tóxica y a la teratógena, efectos que no nos interesaba provocar en nuestros animales, para mantenerlos en las situaciones habituales de la población humana.

La disolución de cloruro de metilmercurio se preparó por pesada de 0.0295 g de producto que se disolvió en 5 mL de etanol absoluto y se llevó a 500 mL con agua desionizada. De ésta se tomó 1 mL que se diluyó a 1 L para obtener una disolución de 0.590 µg/mL en cloruro de metilmercurio. Esta concentración se corresponde con 0.507 µg/mL de metilmercurio. Su estabilidad se comprobó diariamente mediante Cromatografía gaseosa y Espectrofotometría de Absorción Atómica.

El tratamiento se realizó durante el periodo de gestación (21-23 días). Diariamente se controló el peso y bebida de los animales, ya que al estar en jaulas de metabolismo la estimación de este último parámetro es exacto.

2.3.- Sacrificio

El día programado o estimado para el parto, se sacrificaron los animales por anestesia con éter etílico en atmósfera saturada del mismo.

2.4.- Extracción de los órganos

Mediante disección de las ratas, se extrajeron las siguientes muestras:

- Sangre de corazón (5 mililitros)
- Hígado
- Riñón
- Cerebro

Cada muestra fué introducida en su frasco o tubo correspondiente, de las mismas características que los usados para las de humanos.

En sus casos, se procedió posteriormente a la separación de los

fetos, que se encuentran envueltos en sacos embrionarios situados a lo largo del útero bicornuado de la ratona madre (figura 13). Cada saco envuelve un feto, su placenta y su cordón umbilical (figura 14).

Las muestras de sangre del cordón umbilical se obtuvieron mediante pinzamiento del mismo en el extremo del feto, por donde se cortó y separó. Una vez sujeta la placenta se soltó el pinzamiento y se vació la sangre en tubo Eppendorf heparinizado.

Dada la pequeñísima cantidad de muestra disponible, se decidió reunir la sangre de los cordones umbilicales (13-16) de cada sistema madre-feto.

Las placentas se perfundieron por su parte central, aprovechando la salida del cordón umbilical, con solución de cloruro sódico al 0.9% hasta decoloración y se colocaron en recipientes de polietileno.

Las crías fueron diseccionadas una a una y se tomaron muestras de:

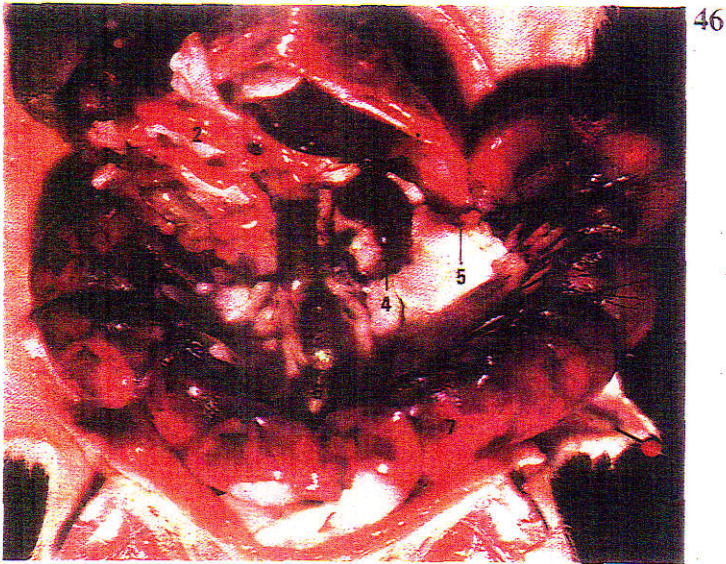
- Hígado
- Riñón
- Cerebro.

Dado el pequeño tamaño y peso de los riñones se reunieron en el mismo tubo. Todas las muestras se congelaron a -20°C .

Como animales de referencia se estudiaron 3 grupos: el lote control n^o I constituido por ratas preñadas y sin tratamiento, el lote control n^o III de ratas no preñadas sin tratar y el grupo n^o IV de ratas no preñadas, tratadas durante un período similar de 22 días. Los animales de los grupos III y IV se sacrificaron de la forma ya referida, pero de los lotes I y II se dejaron parir espontáneamente algunos animales y se sacrificaron después del parto. En estos casos las muestras fueron:

* madre:

- Sangre de corazón (5 mililitros)
- Hígado
- Riñón
- Cerebro

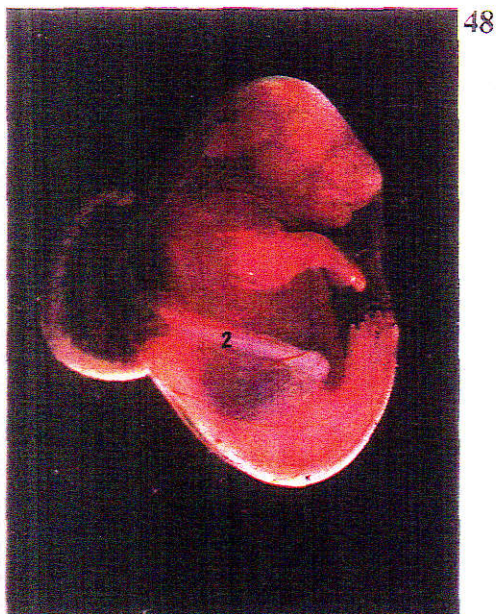


- | | |
|-------------------|----------------------------------|
| 1 caecum | 5 fallopian tube |
| 2 small intestine | 6 rectum |
| 3 liver | 7 uterus containing eleven young |
| 4 kidney | |

Figura 13.- Disposición de los fetos en el útero de la rata madre.

Figura 14.- Feto de rata con su placenta y su cordón umbilical.

- | |
|------------------|
| 1 amniotic sac |
| 2 umbilical cord |
| 3 placenta |



* fetos:

- Hígado
- Riñón
- Cerebro

No obtuvimos muestras de sangre del cordón umbilical ni de placenta pues las madres las ingieren tras el parto.

3.- Determinaciones analíticas

3.1.- Mercurio total

Cuando el mercurio total está en concentraciones del orden de trazas puede determinarse por distintas técnicas instrumentales como la Espectrofotometría ultravioleta-visible formando el ditizonato (AOAC, 1984), Activación neutrónica, Voltametría de redisolución anódica, Espectrofotometría de fluorescencia o Espectrometría de inducción de plasma acoplado. Sin embargo la más utilizada es la de Espectrofotometría de Absorción Atómica con el sistema de vapor frío.

Esta técnica está incluida en los métodos oficiales de análisis de la AOAC (1984) para la determinación de mercurio en alimentos; está recomendada por la UNEP/FAO/IAEA/IOC (1984) para la determinación de mercurio en organismos marinos; es técnica de referencia para mercurio total en muestras de pelo (U.N.E.P., 1987) y en la normativa española es la referida para determinación de mercurio en agua y vertidos industriales (U.N.E., 1983).

En estudios experimentales de deposición del mercurio en tejidos es frecuente utilizar el mercurio marcado (Hg^{203}) cuya detección se realiza por autorradiografía aunque las emulsiones fotográficas son también sensibles a formas de mercurio inorgánico no radiactivas (Rodier y Kates, 1988).

* Fundamento de la EAA, SHM.

Después de la completa mineralización de la muestra por adición de ácido o ácidos fuertes, una alícuota de ésta se pone en contacto con solución de borohidruro de sodio-hidróxido sódico. El hidrógeno producido reduce el mercurio presente a su estado fundamental, que es transportado por una corriente de nitrógeno hasta la celda de cuarzo donde absorbe su propia radiación, proporcionalmente a la concentración. El proceso se realiza a temperatura ambiente.

* Parámetros instrumentales

Se utilizaron los siguientes para el instrumento reseñado en 5.1 del apartado de Material, provisto de lámpara de cátodo hueco de mercurio (Perkin-Elmer) y celda de tubo de cuarzo:

- Longitud de onda: 253.6 nm
- Rendija: 0.7 nm
- Lectura: Altura de pico
- Tiempo de integración: 10"
- Gas purga: Nitrógeno.

* Sensibilidad

Se precisan 4.68 ng de mercurio para obtener un 1% de absorbancia (0.004 unidades de absorbancia).

* Disolución patrón de mercurio (II) (1000 µg/mL)

Disolver 1.080 gramos de óxido de mercurio (II) en el mínimo volumen de ácido clorhídrico (1:1). Llevar a 1 L con agua desionizada.

A partir de esta disolución se prepara por dilución la solución de trabajo de 1 µg/mL.

* Reactivos

- Solución reductora de borohidruro de sodio-hidróxido sódico: se prepara una solución de Na(OH) al 1% y se añade el peso conveniente de

NaBH_4 para que la solución final sea del 3% p/v.

- Solución de ácido clorhídrico al 1.5%: se prepara por dilución del ácido al 30% en agua desionizada.

3.1.1.- Tratamiento de las muestras

* Pretratamiento del pelo.

Aunque algunos autores recomiendan el procesado del pelo tal como es recogido, tanto la IAEA como la OMS proponen proceder al lavado previo del mismo (U.N.E.P., 1987).

Las muestras se trocearon tanto como fué posible y se lavaron sucesivamente con volúmenes de acetona-agua-agua-agua-acetona. Después del último lavado el pelo se secó en corriente de nitrógeno y se protegió en tubos de polietileno hasta someterlo a digestión.

Esta fase es común a ambas determinaciones.

* Digestión ácida.

El método clásico de digestión ácida de muestras para la determinación de residuos de mercurio total es lento y requiere especial atención para evitar la pérdida de mercurio por vaporización.

En nuestro laboratorio, se vienen realizando las digestiones ácidas para volátiles en reactores a presión que permanecían durante una noche a 110 °C en estufa.

La reciente aplicación del calentamiento en horno de microondas permite una rápida descomposición de la muestra con recuperaciones similares a las obtenidas con el método anterior.

Una alícuota de muestra se coloca en el interior del reactor de teflón, se añaden 4 mL de ácido nítrico y se cierra herméticamente.

Con el horno de microondas se ha trabajado con un primer programa al 100% de potencia durante 4' y con un segundo programa al 50%

de potencia durante el mismo tiempo. Una vez enfriado a temperatura ambiente se procede al ajuste de las disoluciones en matraces aforados de 25 mililitros con agua desionizada.

Paralelamente fueron digeridos materiales de referencia con valores certificados de mercurio y un blanco en condiciones similares.

3.1.2. Método analítico

Se ha seguido el método de las adiciones estandar, en razón de la dificultad de preparar disoluciones patrones con matrices semejantes a la de las muestras y materiales de referencia. El procedimiento puede esquematizarse como sigue:

- Blanco: 10 mL de HCl al 1.5% + volumen de blanco.
- Muestra: 10 mL de HCl al 1.5% + volumen de muestra.
- Primera adición: 10 mL de HCl al 1.5% + volumen de muestra + volumen de patrón de 1 µg/mL.
- Segunda adición: 10 mL de HCl al 1.5% + volumen de muestra + volumen de patrón (doble del anterior) de 1 µg/mL.

De cada uno de ellos se realizan 3 determinaciones en las mismas condiciones.

El volumen de muestra está supeditado a la concentración por lo que es necesario realizar pruebas previas. Los volúmenes de patrón adicionados fueron de 50 µL y 100 µL respectivamente.

Los valores de concentración se obtienen mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$C_{Hg} = \frac{C_p L_M V_p}{V_M (L_{M+P} - L_M)}$$

Donde:

- C_p : Concentración del patrón adicionado en µg/mL
- L_M : Lectura de la muestra
- V_p : Volumen de patrón adicionado en µL
- V_M : Volumen de muestra en µL

3.2.- Metilmercurio

El mercurio orgánico puede ser determinado por Espectrofotometría de Absorción Atómica, como diferencia entre las concentraciones obtenidas de mercurio total y mercurio inorgánico (Magos, 1971). Sin embargo el método no es específico para el metilmercurio.

Hemos elegido la cromatografía gas-líquido con detector de captura de electrones (DCE) por ser técnica específica para la determinación de metilmercurio. Es Método de Referencia para el análisis de muestras de pelo (UNEP, 1987) y está incluido en los métodos oficiales de análisis de la AOAC (1984) para la determinación en peces y crustáceos.

Como en el caso de la determinación del mercurio total, son numerosas las publicaciones referentes al análisis del metilmercurio por la técnica elegida; sin embargo en los procedimientos propuestos como modificación del primer trabajo de Westöö (1968), no está demostrada la aplicación a todo tipo de muestras.

Dada la diversidad de muestras analizadas hemos elegido el método de Cappon y cols. (1978) de validéz probada para sangre, grano, heces, pescado, sedimentos, pelo, tejidos blandos, orina y agua.

* Fundamento

La muestra es desintegrada en una disolución de hidróxido sódico y el metilmercurio es extraído con benceno a partir de una alícuota del digerido. Después de la purificación, se inyecta un pequeño volumen en el cromatógrafo (2 μ L).

El metilmercurio es detectado en la mezcla gaseosa con detector de captura de electrones (DCE) y su concentración es calculada por comparación del área del pico con los de estándares apropiados.

* Parámetros instrumentales

Se emplearon los siguientes para el instrumento reseñado en el apartado 5.2 del Material, provisto de detector de captura de electrones

(DCE) y de columna cromatográfica: Dietilenglicolsuccinato (DEGS) de 530 μ de diámetro interno y 15 m de longitud:

- Temperatura del inyector: 180 $^{\circ}$ C
- Temperatura de la columna:

Inicial: 80 $^{\circ}$ C, 2 minutos
Rampa: 5 $^{\circ}$ C por minuto
Final: 150 $^{\circ}$ C, 10 minutos
- Temperatura del detector: 250 $^{\circ}$ C
- Flujo gas portador: Hidrógeno 10 mL/min
- Tiempo de retención absoluto: 4.53 minutos.

* Sensibilidad

0.1 μ g/L partiendo de 1 mL de muestra o de 0.1 μ g/Kg partiendo de 1 g de muestra sólida.

* Disolución patrón de cloruro de metilmercurio (1mg/mL)

Se pesan 10 mg del producto y se lleva a 10 mL con benceno nanogrado. A partir de ésta se preparan disoluciones de trabajo de 10, 20 y 50 ng/mL.

* Disoluciones de reactivos

- Disolución acuosa de Hidróxido sódico al 45%
- Disolución acuosa de Clorhidrato de L-cisteina al 1%
- Disolución acuosa de Cloruro sódico al 1%
- Urea 8M
- Cloruro cúprico 0.5M
- Reactivo de cloro (H_2SO_4 -NaCl). Se mezclan 110 mL de H_2SO_4 concentrado con 100 mL de agua. Se disuelven 259.84 g de NaCl en 700 mL de agua. Ambas disoluciones se combinan y se lleva a 1000 mL con agua desionizada (Longbotton y cols., 1973 modificada).
- Tiosulfato sódico 0.01M
- Mezcla sulfato sódico anhidro-Florisil^R (1:1) (p/p).

3.2.1.- Extracción y purificación del metilmercurio (Cappon y Smith, 1978).

Una alícuota de muestra se somete a digestión alcalina con 2 mL de NaOH al 45% y 1 mL de clorhidrato de L-cisteína al 1%. Se mantiene 30 minutos a 80-90 °C en baño maría en tubo cerrado. Una vez frío, el digerido se lleva a un volumen conocido (10 mL) con solución de NaCl al 1%.

Se toma 1 mL que se coloca en tubo de centrifuga con tapón de rosca, con 2 mL de urea 8M, 1 mL de CuCl_2 0.5M y 3 mL de H_2SO_4 -NaCl, se incuba 10 minutos y se extrae con 10 mL de benceno.

El extracto orgánico se transfiere y se extrae con 1 mL de tiosulfato sódico 0.01M.

Se descarta la capa bencénica y a la capa acuosa se le añade 0.5 mL de solución de CuCl_2 0.5M. Se agita 15 segundos y se extrae con 1-2 mL de benceno.

La capa bencénica se separa y se le añade 0.1 g de la mezcla sulfato sódico anhidro-Florisil. El extracto se coloca en viales convenientemente cerrados. La determinación será lo más rápidamente posible.

3.2.2.- Método analítico

Se ha utilizado el método del estándar externo, previa preparación de la curva de calibrado, en la que se representa la concentración de los distintos patrones 10, 20 y 50 ng/mL, frente a las áreas de pico obtenidas para cada uno de ellos.

La curva de calibrado se preparó diariamente y sus puntos correspondían a la media de dos determinaciones de cada patrón.

Los valores de las áreas de pico de las muestras (dos por cada una de ellas) se interpolan en la curva obtenida.

4.- Estudio estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó con un programa SIGMA en un ordenador personal IBM 5170.

De cada conjunto de datos por separado (peces, moluscos, pelos humanos del primer grupo, cada uno de los tejidos humanos del segundo grupo y animales) se calculó, mediante una estadística básica, la media, la desviación típica, coeficiente de variación y rango y se comprobó su distribución normal. Seguidamente se realizó un contraste bilateral, por comparación de medias estandar, entre los valores de mercurio-metilmercurio y mercurio-porcentaje de forma metilada. Se estableció la ecuación de regresión que liga ambos parámetros, así como la bondad del ajuste entre dicha recta teórica y los datos experimentales, aplicando un análisis de varianza ANOVA de la regresión y una comparación estadística de los coeficientes de correlación respecto a cero.

Las comparaciones entre tejidos de un mismo grupo, o de distintos grupos entre sí, se llevaron a cabo, igualmente, mediante análisis de la varianza, por contrastes bilaterales de los valores de mercurio, metilmercurio y porcentajes de forma metilada. Dada la gran variabilidad en los valores encontrados para algunos grupos, se procedió a una depuración estadística de los datos.

En las comparaciones dentro de un mismo grupo se establecieron, además, las rectas de regresión para cada parámetro que ligan entre sí los distintos tejidos cuando se daban diferencias significativas entre las medias. También se calcularon individuo a individuo los coeficientes de distribución de mercurio y metilmercurio en tejidos, respecto a sangre materna y para los tejidos fetales, también respecto a sangre umbilical. Se les aplicó una estadística básica y un análisis de la varianza por contraste bilateral de medias entre los coeficientes de distribución para un mismo tejido de distintos grupos.

El contraste bilateral utilizado calcula el nivel de significación a partir de una "t" de Student, si las varianzas son homogéneas y de una "F" de Fisher si no lo son. La homogeneidad de las varianzas se comprobó mediante un test de Cochran. Se considera un valor de $p < 0.1$ como casi

significación y significación estadística a partir de $p < 0.05$.

R E S U L T A D O S

PRECISION Y EXACTITUD

En el caso del mercurio total disponemos de tres materiales de referencia con valores certificados de mercurio, uno de la National Bureau of Standards (NBS) de hígado bovino 1577A, y dos homogeneizados de pescado de la International Agency Energy Atomic (IAEA). En la tabla V se presentan las concentraciones en microgramos por gramo de peso seco de estos así como los coeficientes de variación.

Tabla V.- Valores certificados de los materiales de referencia.

	Valor medio	Desv.Típ.
Hígado bovino 1577A (NBS)	0.004	±0.002
MA-A-2 (TM) (IAEA)	0.47	±0.02
MA-B-3/TM (IAEA)	0.51	0.47-0.61

En la tabla VI se muestra la precisión obtenida en las determinaciones de los materiales de referencia. En la siguiente, tabla VII, se recogen los valores de recuperación logrados después de adicionar cantidades conocidas de mercurio a cada estandar, antes de proceder a su

digestión en el horno de microondas y posterior análisis por Espectrofotometría de Absorción Atómica con sistema de vapor frío. Los valores corresponden a 5 determinaciones de cada material con adiciones por duplicado.

Tabla VI.- Precisión

	Rango	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.
Hígado bovino 1557A	0.003-0.005	0.003	±0.0002	10.21
MA-A-2 (TM) (IAEA)	0.045-0.048	0.046	±0.013	3.08
MA-B-3/TM (IAEA)	0.050-0.054	0.052	±0.016	3.53

Tabla VII.- Recuperación

	Concentración (µg/g)			
	Presente	Adicionada	Encontrada	%
Hígado bovino 1557A	0.003	0.050	0.052	96.42
MA-A-2 (TM) (IAEA)	0.046	0.100	0.144	98.61
MA-B-3/TM (IAEA)	0.052	0.100	0.151	97.48

En el caso de las determinaciones de metilmercurio no disponemos de materiales de referencia ni estamos incluidos en programas interlaboratorios de control de calidad, por lo que la recuperación se ha determinado mediante la adición de concentraciones conocidas de metilmercurio a muestras representativas de nuestro estudio: pelo, sangre y tejido. Inicialmente se tomaron cinco alícuotos de una muestra de cada tipo, se extrajeron y analizaron por Cromatografía de gases con detector

de captura de electrones. Los resultados obtenidos se reflejan en la tabla VIII.

Tabla VIII.- Precisión

	Rango	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.
Sangre	0.004-0.007	0.008	0.001	12.00
Pelo	1.335-1.345	1.340	0.020	1.49
Hígado	0.032-0.037	0.034	0.002	5.06

Otras alícuotas de las mismas fueron adicionadas con cantidades conocidas de metilmercurio antes de ser sometidas a digestión alcalina. Se tomaron tres muestras en cada caso y las determinaciones se realizaron por duplicado. Los porcentajes de recuperación se recogen en la tabla XI.

Tabla IX.- Recuperación

	Concentración ($\mu\text{g/g}$)			%
	Presente	Adicionada	Encontrada	
Sangre	0.008	0.050	0.051	87.93
Pelo	1.340	0.100	1.434	99.58
Hígado	0.034	0.100	0.127	94.77

Las tablas de datos y estudio estadístico se han reunido en tres grupos: Peces y Moluscos, Humanos y Experimentación Animal. En cada grupo aparecen tablas donde se recogen los valores de concentración de mercurio total y metilmercurio y porcentajes de forma metilada en mercurio total en las distintas muestras, ya descritas en material y método. Cada una de ellas va seguida del correspondiente estudio estadístico que consiste en estadística básica y ecuaciones de regresión entre los distintos parámetros. No se han hecho constar las ecuaciones de regresión cuando no existe linealidad. Se indican además y en cada caso los coeficientes de correlación significativamente distintos de cero.

Al final de cada grupo aparecen las comparaciones realizadas mediante contrastes bilaterales y siempre que ha sido adecuado también se han establecido las ecuaciones de regresión lineal.

P E C E S Y M O L U S C O S

PECES

Tabla X.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio en pez espada (mg/Kg) y % de metilmercurio en mercurio total (n=25).

	Mercurio total	Metilmercurio	%
1	0.53	0.38	71.70
2	1.81	1.31	72.38
3	0.38	0.24	63.16
4	0.79	0.53	67.09
5	2.93	1.44	49.15
6	1.80	0.97	53.89
7	2.57	1.64	64.57
8	0.52	0.25	48.08
9	1.55	0.86	55.48
10	0.63	0.42	66.67
11	2.57	1.95	75.87
12	5.55	3.17	57.12
13	0.96	0.75	78.13
14	2.65	2.15	81.13
15	11.57	9.54	82.45
16	1.17	0.89	76.07
17	0.63	0.52	82.54
18	1.81	1.60	88.40
19	2.84	2.41	84.86
20	2.25	1.85	82.22
21	1.83	1.45	79.23
22	3.27	2.68	81.96
23	2.25	1.90	84.44
24	0.88	0.65	73.86
25	2.33	1.89	81.12

Tabla XI.- Tratamiento estadístico de los valores de la tabla anterior.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total	1.69	0.90	53.25	0.38-3.27	25
Metilmercurio	1.25	0.73	58.44	0.24-2.68	25
Porcentaje	72.00	11.91	16.53	48.08-88.40	25

ECUACIONES DE REGRESION					
X	Y	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
				F	NS
MeHg	Hg	$1.17x + 0.23$	0.9463*	179.88	p<0.01

*p<0.05

COQUINAS

Tabla XII.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio en coquinas (mg/Kg) y porcentaje de metilmercurio en mercurio total (n=22).

	Mercurio total	Metilmercurio	%
1	0.09	0.04	44.44
2	0.01	0.02	-----
3	0.08	0.07	87.50
4	0.08	0.03	87.50
5	0.04	0.03	75.00
6	1.78	1.62	91.01
7	0.06	0.05	83.33
8	0.09	0.07	77.78
9	0.01	<0.01	-----
10	0.57	0.51	98.47
11	0.14	0.09	64.29
12	0.20	0.16	80.00
13	0.15	0.13	86.67
14	0.09	0.07	77.78
15	0.05	0.04	80.00
16	0.21	0.17	80.95
17	0.02	0.01	50.00
18	0.01	<0.01	-----
19	0.06	0.05	83.33
20	0.05	0.04	80.00
21	0.15	0.13	86.67
22	0.19	0.16	84.21

Tabla XIII.- Tratamiento estadístico de los valores de la tabla anterior.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total	0.10	0.06	57.44	0.02-0.21	22
Metilmercurio	0.08	0.05	61.88	0.01-0.17	20
Porcentaje	78.42	12.59	16.05	44.44-91.01	19

ECUACIONES DE REGRESION					
X	Y	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
				F	NS
MeHg	Hg	$1.150x + 0.01$	0.9771*	315.94	p<0.01

*p<0.05

COMPARACION ESTADISTICA ENTRE PECES Y MOLUSCOS

Tabla XIV.- Comparación estadística del contenido de mercurio total metilmercurio y porcentaje entre peces y moluscos.

CONTRASTE BILATERAL					
	F	t	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total	232.54		23	17	p<0.001
Metilmercurio	211.18		23	17	p<0.001
Porcentaje		-1.71	25	19	No

HUMANOS

HUMANOS GRUPO I. ESTUDIO DE LOS NIVELES DE MERCURIO Y METILMERCURIO EN MUESTRAS DE PELO.

Tabla XV.- Concentración de mercurio total y metilmercurio en pelos de madres al término de su gestación (mg/Kg) y porcentaje de metilmercurio en mercurio total (n=50).

	Mercurio total	Metilmercurio	%
1	0.21	0.07	32.85
2	0.77	0.54	70.12
3	1.34	0.62	47.69
4	1.35	0.78	57.67
5	3.37	1.57	46.58
6	3.00	0.69	23.00
7	0.54	0.58	>100.00
8	1.09	1.54	>100.00
9	4.55	1.03	22.63
10	0.71	0.42	59.15
11	7.76	7.29	92.78
12	2.51	1.45	57.76
13	0.46	0.28	60.87
14	0.15	0.08	53.33
15	0.96	0.33	34.37
16	2.16	1.37	63.42
17	2.01	2.27	>100.00
18	0.90	0.37	41.11
19	0.92	0.52	56.52
20	3.91	1.08	27.62
21	0.78	0.42	57.69
22	2.42	2.22	91.73
23	1.84	1.24	67.39

.../...

.... /

24	4.94	0.50	10.12
25	1.75	0.56	32.00
26	0.75	2.01	37.31
27	20.02	9.85	49.20
28	2.78	0.37	13.30
29	2.46	1.82	73.98
30	1.32	0.95	71.97
31	1.12	0.73	65.18
32	0.63	0.62	98.41
33	2.36	1.55	65.67
34	0.80	0.71	88.75
35	1.24	0.08	6.45
36	0.19	0.14	73.68
37	0.70	0.69	98.57
38	0.83	0.71	85.54
39	5.81	2.25	38.72
40	3.52	2.09	59.37
41	8.04	5.57	69.27
42	9.99	3.98	39.83
43	4.87	2.81	57.70
44	1.14	1.04	91.23
45	7.12	2.22	31.18
46	2.81	1.31	46.62
47	6.86	4.21	61.37
48	3.71	1.33	35.84
49	0.90	1.02	>100.00
50	0.69	0.38	55.07

Tabla XVI.- Tratamiento estadístico de los valores de la tabla anterior.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total	2.85	3.38	118.59	0.15-20.02	50
Metilmercurio	1.49	1.84	123.48	0.07-9.85	50
Porcentaje	58.41	25.56	43.76	6.45-100.00	50

ECUACIONES DE REGRESION					
X	Y	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
				F	NS
M _e Hg	Hg	1.66x + 0.36	0.8999*	204.55	p<0.01

*p<0.05

HUMANOS GRUPO II. ESTUDIO DE LOS NIVELES DE MERCURIO EN SISTEMAS MADRE-FETO.

Tabla XVI-a.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio en sistemas madre-feto (mg/Kg o µg/L) y su relación en % (n=27).

	M A D R E S					
	Pelos			Sangre		
	Hg _T	MeHg	%	Hg _T	MeHg	%
1	----	----	----	8.60	7.95	92.44
2	1.83*	----	----	6.61	6.21	94.09
3	----	----	----	5.73	5.27	92.46
4	----	----	----	7.10	6.83	96.19
5	----	----	----	6.03	5.65	94.16
6	----	ND	----	7.13	6.64	93.52
7	1.61*	1.54*	95.65	4.72	4.31	91.70
8	1.01*	0.95*	94.05	3.71	3.50	94.59
9	1.07*	----	----	5.84	5.48	94.48
10	----	----	----	2.62	2.37	91.15
11	----	----	----	6.65	6.17	93.48
12	0.90*	0.75*	83.33	5.72	5.25	92.10
13	0.47*	0.41*	87.23	2.40	2.10	87.50
14	0.67*	0.69*	102.98	4.91	4.64	94.69
16	0.30	0.25	83.33	ND	----	----
17	1.25	0.98	78.40	9.10	----	----
18	1.05	0.96	91.42	7.00	----	----
19	1.51	1.30	86.09	7.00	3.00	42.85
20	1.30	1.27	97.69	8.30	5.95	71.68
21	2.16	1.95	90.27	9.00	7.54	83.77
22	1.31	1.20	91.60	4.71	----	----
						.../...

.../...

23	1.49	1.35	90.60	6.00	----	----
24	0.41	0.39	95.12	ND	----	----
25	0.39	0.35	89.74	ND	----	----
26	2.15	1.90	88.37	9.10	----	----
27	1.47	1.27	86.39	5.50	4.48	81.45

* Datos de pelos públicos

Tabla XVII-b.- Concentraciones de mercurio total, metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) y su relación en %, en placenta de los sistemas de la tabla anterior.

Placenta			
	Mercurio total	Metilmercurio	Porcentaje
1	5.01	3.95	79.00
2	3.09	2.65	86.04
3	3.17	2.84	89.87
4	2.57	2.39	92.99
5	3.77	3.46	92.02
6	4.65	4.31	92.69
7	3.52	3.34	94.88
8	4.32	4.13	95.82
9	4.29	4.02	93.92
10	5.55	5.15	92.96
11	4.70	4.38	93.19
12	6.22	5.93	95.34
13	4.63	4.38	94.60
14	5.02	4.75	94.62
15	4.79	4.51	94.15
16	8.64	-----	-----
17	14.31	-----	-----
18	14.16	-----	-----
19	8.51	7.85	92.24
20	3.81	3.81	100.00
21	7.35	7.24	98.50
22	9.00	-----	-----
23	2.51	-----	-----
24	3.16	-----	-----
25	2.31	2.59	>100.00
26	4.50	-----	-----
27	3.16	2.68	84.81

Tabla XVII-c.-Concentraciones de mercurio total, metilmercurio ($\mu\text{g/L}$) y su relación en % en sangre umbilical de los sistemas madre-feto anteriores.

	Cordón umbilical					
	Arteria			Vena		
	Hg _T	MeHg	%	Hg _T	MeHg	%
1	12.50	11.32	90.56	5.07	4.79	94.48
2	4.81	4.55	94.79	6.30	6.03	95.71
3	7.70	7.18	93.24	5.70	5.38	94.38
4	7.30	6.90	94.52	9.10	8.66	95.16
5	7.00	6.54	93.43	15.10	14.21	94.10
6	6.31	5.77	91.59	7.40	6.95	93.92
7	4.91	4.35	88.17	3.38	3.15	93.19
8	7.60	-----	-----	8.41	7.85	93.45
9	7.00	6.53	93.28	5.21	4.89	94.04
10	4.41	3.95	89.77	3.82	3.21	84.47
11	6.72	6.34	94.63	5.00	4.71	94.20
12	6.13	5.64	92.46	4.32	4.07	94.65
13	3.10	2.90	93.55	2.00	1.98	99.00
14	-----	5.13	-----	6.63	6.27	95.00
16	4.10	-----	-----	8.50	-----	-----
17	12.70	-----	-----	6.30	-----	-----
18	11.00	-----	-----	5.10	-----	-----
19	7.00	2.31	33.00	4.00	3.31	82.75
20	11.60	6.15	53.01	10.10	4.58	45.34
21	7.20	5.98	83.05	5.00	4.51	90.20
22	6.80	-----	-----	5.00	-----	-----
23	6.80	-----	-----	11.40	-----	-----
24	2.10	-----	-----	2.20	-----	-----
25	2.50	1.92	76.80	2.70	1.74	64.44
26	10.10	-----	-----	12.10	-----	-----
27	3.20	2.84	88.75	4.50	3.51	78.00

Tabla XVIII.- Tratamiento estadístico de los valores de las tabla XVII a,b y c.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Pelo					
Hg	1.18	0.56	47.45	0.30-2.16	19
MeHg	1.03	0.51	49.51	0.25-1.95	17
%	90.13	5.96	6.61	78.40-102.98	17
Sangre materna					
Hg	6.23	1.89	30.33	2.40-9.10	23
MeHg	4.97	1.87	7.62	1.15-7.95	19
%	87.90	12.42	14.13	42.85-96.19	18
Placenta					
Hg	5.43	3.13	57.64	2.31-14.31	27
MeHg	4.14	1.47	35.50	2.39-7.85	21
%	93.49	6.27	6.71	84.81-100.00	20
Cordón S.Arterial					
Hg	6.82	2.95	43.25	2.10-12.70	25
MeHg	5.35	2.21	41.30	1.92-11.32	18
%	85.01	16.34	19.22	53.01-94.79	17
Cordón S.Venosa					
Hg	6.43	3.61	56.14	2.00-15.10	24
MeHg	5.25	2.83	53.90	1.74-14.21	17
%	88.23	12.83	14.54	45.34-99.00	19

.../...

.../...

ECUACIONES DE REGRESION - X = MeHg, Y = Hg				
	Ec. Regresión lineal	r*	ANOVA	
			F	NS
Pelo	1.10x + 0.01	0.9928	1030.095	p<0.01
Sangre materna	0.95x + 1.05	0.8540	43.126	p<0.01
Placenta	0.97x + 0.48	0.9579	211.956	p<0.01
Cordón S.Arteria	0.95x + 1.30	0.8181	30.350	p<0.01
Cordón S.Vena	0.99x + 0.75	0.9214	95.605	p<0.01

*p<0.05

COMPARACION ESTADISTICA DE LOS NIVELES DE MERCURIO Y METILMERCURIO EN PELO ENTRE LOS GRUPOS I Y II.

Tabla XIX.- Comparación estadística del contenido de mercurio total, metilmercurio y su porcentaje en pelo entre los dos grupos estudiados.

CONTRASTE BILATERAL				
	F	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total	35.9186	19	50	p<0.01
Metilmercurio	12.6807	17	50	No
Porcentaje	23.4805	17	49	p<0.001

COMPARACION ESTADISTICA DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL, METILMERCURIO Y SU PORCENTAJE ENTRE LOS DISTINTOS TEJIDOS ESTUDIADOS EN EL SISTEMA MADRE-FETO HUMANO.

Tabla XX.- Comparación estadística del contenido de mercurio total, metilmercurio y su porcentaje entre los distintos tejidos estudiados en el sistema madre-feto (Datos tabla XVII).

CONTRASTE BILATERAL					
	F	t	n ₁	n ₂	NS
Mercurio					
Pelo-Sangre	88509.228		19	23	p<0.001
Pelo-Placenta	32546.655		19	27	p<0.001
Pelo-C. Arteria	36461.531		19	25	p<0.001
Pelo-C. Vena	24414.029		19	24	p<0.001
Sangre-Placenta	2.719		23	27	No
Sangre-C. Arteria	2.427		23	25	No
Sangre-C. Vena	3.625		23	24	No
Placenta-C. Arteria		-1.640	27	25	No
Placenta-C. Vena		-1.057	27	24	No
C. Arteria-C. Vena		0.413	25	24	No

.../...

.../...

Metilmercurio

Pelo-Sangre	76015.577		17	19	p<0.001
Pelo-Placenta	122499.869		17	21	p<0.001
Pelo-C. Arteria	54189.718		17	18	p<0.001
Pelo-C. Vena	33098.732		17	19	p<0.001
Sangre-Placenta		1.572	19	21	No
Sangre-C. Arteria		-0.560	19	18	No
Sangre-C. Vena	2.297		19	19	No
Placenta-C. Arteria	2.261		21	18	CS
Placenta-C. Vena	3.701		21	19	No
C. Arteria-C. Vena		0.116	18	19	No

Porcentaje

Pelo-Sangre	4.594		17	18	No
Pelo-Placenta		-1.634	17	20	No
Pelo-C. Arteria	7.974		17	17	No
Pelo-C. Vena	4.887		17	19	No
Sangre-Placenta	3.966		18	20	No
Sangre-C. Arteria		0.574	18	17	No
Sangre-C. Vena		-0.077	18	19	No
Placenta-C. Arteria	6.885		20	17	CS
Placenta-C. Vena	4.220		20	19	No
C. Arteria-C. Vena		-0.643	17	19	No

Tabla XXI.- Comparación estadística del contenido en mercurio total, metilmercurio y su porcentaje entre los distintos tejidos del sistema madre-feto (Datos tabla XVII).

ECUACIONES DE REGRESION					
Y	X	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
				F	NS
Mercurio total					
Pelo	Sangre	$0.16x + 0.34$	0.6589*	10.739	p<0.01
Pelo	Placenta	No			
Pelo	C. Arteria	$0.08x + 0.69$	0.4311	3.656	CS
Pelo	C. Vena	No			
Sangre	Placenta	No			
Sangre	C. Arteria	$0.51x + 2.53$	0.7226*	21.848	p<0.01
Sangre	C. Vena	$0.20x + 4.87$	0.3680	3.132	CS
Placenta	C. Arteria	$0.51x + 2.00$	0.4631	6.280	p<0.05
Placenta	C. Vena	No			
C. Arteria	C. Vena	$0.47x + 3.94$	0.5680*	10.004	p<0.01
Metilmercurio					
Pelo	Sangre	$0.20x + 0.21$	0.7348*	9.393	p<0.05
Pelo	Placenta	$0.04x + 0.92$	0.1505	0.208	No
Pelo	C. Arteria	$0.13x + 0.50$	0.4171	1.475	No
Pelo	C. Vena	$0.05x + 0.84$	0.1799	0.267	No
Sangre	Placenta	No			
Sangre	C. Arteria	$0.69x + 1.35$	0.8114*	30.843	p<0.01
Sangre	C. Vena	$0.28x + 3.47$	0.4313	3.884	CS
Placenta	C. Arteria	No			
Placenta	C. Vena	No			
C. Arteria	C. Vena	$0.34x + 3.63$	0.4319	3.669	CS
.../...					

.../...

Porcentaje

Pelo	Sangre	$0.12x + 81.72$	0.3040	0.713	No
Pelo	Placenta	$0.15x + 77.23$	0.1637	0.220	No
Pelo	C. Arteria	$-0.04x + 92.72$	0.1841	0.211	No
Pelo	C. Vena	$-0.05x + 95.81$	-0.1478	0.179	No
Sangre	Placenta	$-0.04x + 96.36$	-0.1157	0.217	No
Sangre	C. Arteria	$0.74x + 23.69$	0.9570*	153.676	p<0.01
Sangre	C. Vena	$0.55x + 38.01$	0.5318	6.312	p<0.05
Placenta	C. Arteria	$-0.11x + 102.90$	-0.2754	1.231	No
Placenta	C. Vena	$-0.24x + 114.47$	-0.4766	4.999	p<0.05
C. Arteria	C. Vena	$0.77x + 17.02$	0.6365*	10.217	p<0.01

*p<0.05

COEFICIENTES DE DISTRIBUCION TISULAR DEL MERCURIO Y METILMERCURIO EN EL SISTEMA MADRE-FETO HUMANO.

Tabla XXII.- Coefficientes de distribución de mercurio total en los distintos tejidos de los sistemas madre-feto, respecto al contenido en sangre materna.

	Pelo	Placenta	Sangre Cordón	
			Arteria	Vena
1	---	0.58	1.45	0.59
2	277	0.47	0.73	0.95
3	---	0.57	1.35	1.00
4	---	0.36	1.03	1.28
5	---	0.63	1.16	2.50
6	---	0.65	0.89	1.04
7	342	0.75	1.04	0.71
8	273	1.16	2.02	2.27
9	184	0.74	1.20	0.89
10	---	2.13	1.69	1.46
11	---	0.71	1.01	0.75
12	158	1.09	1.07	0.75
13	196	1.93	1.29	0.83
14	137	1.06	----	1.34
17	137	1.57	1.39	0.69
18	150	2.02	1.57	0.73
19	216	1.21	1.00	0.57
20	157	0.46	1.39	1.21
21	240	0.82	0.80	0.55
22	279	1.91	1.45	1.06
23	248	0.42	1.13	1.90
26	236	0.49	1.10	1.32
27	267	0.57	0.58	0.80

Tabla XXIII.- Coefficientes de distribución de metilmercurio en los distintos tejidos de los sistemas madre-feto respecto al contenido en sangre materna.

	Pelo	Placenta	Sangre Cordón	
			Arteria	Vena
1	---	0.47	1.42	0.60
2	---	0.42	0.73	0.97
3	---	0.54	1.36	1.02
4	---	0.35	1.01	1.27
5	---	0.61	1.16	2.50
6	---	0.65	0.87	1.05
7	357	0.77	1.00	0.73
8	271	1.18	----	2.24
9	---	0.73	1.19	0.89
10	---	2.17	1.66	1.35
11	---	0.71	1.03	0.76
12	143	1.13	1.07	0.77
13	195	2.08	1.32	0.94
14	149	1.02	1.10	1.35
19	433	2.62	0.77	1.10
20	213	0.64	1.03	0.77
21	258	0.96	0.79	0.60
25	304	2.25	1.67	1.51
27	283	0.60	0.63	0.78

Tabla XXIV.- Tratamiento estadístico de los valores de las tablas anteriores.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio Total					
Pelo	218	61	28	137-342	16
Placenta	0.97	0.55	57.03	0.36-2.13	23
C. Arteria	1.20	0.33	27.59	0.58-2.02	22
C. Vena	1.09	0.52	48.06	0.57-2.50	23
Metilmercurio					
Pelo	260	91	35	143-433	10
Placenta	1.05	0.70	66.43	0.35-2.62	19
C. Arteria	1.10	0.23	27.15	0.63-1.67	18
C. Vena	1.11	0.51	46.45	0.60-2.50	19

EXPERIMENTACION ANIMAL

Las ratas que sirvieron de control, preñadas no tratadas, recibieron como único aporte de mercurio el contenido en el pienso. La concentración media fué de 0.094 $\mu\text{g/g}$ para mercurio total y 0.082 para metilmercurio, lo que representa una dosis por debajo de la ingesta diaria máxima admisible para humanos.

No se detectó mercurio ni metilmercurio en el agua de bebida procedente de la red.

En las tablas siguientes se relacionan los valores obtenidos y su tratamiento estadístico para los distintos lotes de animales estudiados.

LOTE I. RATAS PREÑADAS NO TRATADAS.

Tabla XXV-a.- Concentraciones de mercurio total, metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$) y su relación en porcentaje en tejidos de ratas preñadas no tratadas (n=12).

	MADRE								
	Sangre			Hígado			Riñón		
	Hg _T	MeHg	%	Hg _T	MeHg	%	Hg _T	MeHg	%
1	0.001	ND	--	0.054	0.039	72.22	0.079	0.063	78.79
2	0.011	----	--	0.013	--	--	0.061	--	--
3	0.048	0.031	64.58	0.107	0.063	63.00	0.042	0.032	82.56
4	0.007	ND	--	0.107	0.077	77.00	0.053	0.039	73.58
5	0.039	0.030	76.92	0.051	0.040	80.00	0.057	0.041	71.93
6	0.010	0.004	40.00	0.120	0.079	65.83	0.127	0.118	92.91
7	0.036	----	--	0.080	--	--	0.049	--	--
8	0.007	ND	--	0.059	0.039	65.00	0.067	0.048	71.64
9	0.095	0.062	65.26	0.037	0.018	48.65	0.221	0.165	75.00
10	0.185	0.097	53.89	0.152	0.098	65.33	0.130	0.119	91.54
11	0.050	0.042	84.00	0.032	0.022	68.75	0.312	0.276	87.10
12	0.043	----	--	0.110	--	--	0.064	--	--

Se han analizado muestras de cerebro, tanto en las madres como en las crías, en ningún caso se ha detectado la presencia de mercurio total ni de metilmercurio.

Tabla XXV-b.- Concentraciones de mercurio total, metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{ml}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$) y su relación en porcentaje en placenta y sangre umbilical de ratas preñadas no tratadas (n= 12).

	Placenta			Sangre umbilical*
	Hg _T	MeHg	%	Hg _T
1	0.009	0.006	66.67	0.014
2	0.059	--	-	0.021
3	0.041	0.025	60.97	0.037
4	0.039	0.023	58.97	0.037
5	0.057	0.040	70.17	0.050
6	0.040	0.018	45.00	0.042
7	0.073	--	-	0.017
8	0.047	0.021	44.68	0.040
9	0.063	0.049	77.78	0.029
10	0.523	0.413	79.42	0.090
11	0.144	0.087	62.14	0.059
12	0.190	--	-	-

* Muestra insuficiente para la determinación de metilmercurio.

Tabla XXV-c.- Concentraciones de mercurio total, metilmercurio ($\mu\text{g/g}$) y su relación porcentual en tejidos de fetos de ratas no tratadas (n=12).

	Hígado			Riñón*
	Hg _T	MeHg	%	Hg _T
1	0.071	0.061	85.91	0.049
2	0.021	--	-	0.039
3	0.086	0.071	82.56	0.042
4	0.033	--	-	0.034
5	0.090	--	-	0.065
6	0.120	0.098	81.67	1.070
7	0.039	--	-	0.040
8	0.090	0.074	82.22	0.061
9	0.048	0.036	75.00	0.029
10	1.280	0.915	71.21	0.048
11	1.375	1.123	81.97	0.470
12	0.024	--	-	0.610

*Muestra insuficiente para la determinación de metilmercurio.

Tabla XXVI.- Tratamiento estadístico de los valores de la tabla XXV a,b y c.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Des.Típ.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total					
Sangre madre	0.049	0.050	102.46	0.001-0.185	12
Hígado madre	0.076	0.042	55.57	0.013-0.152	12
Riñón madre	0.105	0.082	78.78	0.042-0.312	12
Placenta	0.107	0.140	130.92	0.009-0.523	12
Sangre cordón	0.039	0.021	55.40	0.014-0.090	11
Hígado feto	0.273	0.493	180.90	0.021-1.375	12
Riñón feto	0.213	0.332	155.87	0.029-1.070	12
Metilmercurio					
Sangre madre	0.044	0.032	72.59	0.004-0.097	6
Hígado madre	0.052	0.027	53.20	0.018-0.098	9
Riñón madre	0.100	0.080	80.45	0.032-0.276	9
Placenta	0.076	0.128	169.28	0.006-0.087	9
Hígado feto	0.339	0.468	138.05	0.036-1.123	7
Porcentaje					
Sangre madre	60.13	13.89	23.10	40.00-84.00	6
Hígado madre	67.13	9.69	14.43	48.65-77.00	9
Riñón madre	79.84	8.42	10.54	71.64-92.91	9
Placenta	62.87	12.42	19.75	45.00-79.42	9
Hígado feto	80.08	5.09	6.35	71.21-85.91	7

 ECUACIONES DE REGRESION - X = MeHg, Y = Hg

	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
			F	NS
Sangre madre	$1.90x - 0.013$	0.9781*	88.670	p<0.01
Hígado madre	$1.50x$	0.9841*	214.647	p<0.01
Riñón madre	$0.99x + 0.033$	0.9260*	42.144	p<0.01
Placenta	$1.24x + 0.012$	0.9977*	1563.036	p<0.01
Hígado feto	$1.29x - 0.001$	0.9965*	711.317	p<0.01

 *p<0.05

COMPARACION ESTADISTICA DE LOS NIVELES DE MERCURIO Y METILMERCURIO EN TEJIDOS DEL SISTEMA MADRE-FETO DE RATAS NO TRATADAS.

Tabla XXVII.-Comparación estadística del contenido de mercurio total, metilmercurio y su porcentaje entre los distintos tejidos del sistema madre-feto de ratas no tratadas (Datos tabla XXV).

CONTRASTE BILATERAL						
		F	t	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total						
<u>Madre</u>	<u>Madre</u>					
Sangre	Hígado		-4.373	10	8	p<0.001
Sangre	Riñón		-4.114	10	10	p<0.001
Hígado	Riñón	3.836		12	12	No
<u>Feto</u>	<u>Feto</u>					
Sangre c	Hígado	8.312		8	10	CS
Sangre c	Riñón		-1.019	8	9	No
Hígado	Riñón		-0.349	12	12	No
<u>Madre</u>	<u>Feto</u>					
Sangre	Sangre c		-1.802	10	8	CS
Hígado	Hígado		0.887	8	10	No
Riñón	Riñón	6.823		10	9	p<0.05
<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>					
Placenta	Sangre	7.109		11	10	p<0.05
Placenta	Hígado		-0.309	11	8	No
Placenta	Riñón		-0.191	11	10	No
						.../...

.../...

<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	19.773	11	8	CS
Placenta	Hígado		11	10	No
Placenta	Riñón	19.277	11	9	No

Metilmercurio

<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	-1.303	4	6	No
Sangre	Riñón	0.904	4	6	No
Hígado	Riñón	9.473	9	9	No

Feto Feto Tamaño de muestra pequeño

<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Sangre	Sangre c	Tamaño de muestra pequeño			
Hígado	Hígado	-0.942	6	5	No
Riñón	Riñón	Tamaño de muestra pequeño			

<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>				
Placenta	Sangre	-0.549	8	4	No
Placenta	Hígado	-1.817	8	6	CS
Placenta	Riñón	-1.526	8	6	No

<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	Tamaño de muestra pequeño			
Placenta	Hígado	-2.481	8	5	p<0.05
Placenta	Riñón	Tamaño de muestra pequeño			

.../...

.../...

Porcentajes

<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	0.501	6	9	No
Sangre	Riñón	-0.588	6	9	No
Hígado	Riñón	0.6846	9	9	No
<u>Feto</u>	<u>Feto</u>	Tamaño de muestra pequeño			
<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Sangre	Sangre c	Tamaño de muestra pequeño			
Hígado	Hígado	-3.321	9	7	p<0.01
Riñón	Riñón	Tamaño de muestra pequeño			
<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>				
Placenta	Sangre	0.170	9	6	No
Placenta	Hígado	-0.866	9	9	No
Placenta	Riñón	3.657	9	9	No
<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	Tamaño de muestra pequeño			
Placenta	Hígado	5.957	9	7	p<0.01
Placenta	Riñón	Tamaño de muestra pequeño			

Tabla XXVIII.-Comparación estadística del contenido de mercurio total, metilmercurio y su porcentaje entre los distintos tejidos del sistema madre-feto de ratas no tratadas (Datos tabla XXV)

ECUACIONES DE REGRESION					
Mercurio					
Y	X	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
				F	NS
<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	$0.49x + 0.007$	0.4011	1.922	No
Sangre	Riñón	$0.21x + 0.021$	0.3463	1.364	No
Hígado	Riñón	$-0.14x + 0.091$	-0.2799	0.850	No
<u>Feto</u>	<u>Feto</u>				
Sangre c	Hígado	$0.03x + 0.037$	0.5060	3.438	CS
Sangre c	Riñón	$0.03x + 0.038$	0.3572	1.458	No
<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Sangre	Sangre c	$1.07x - 0.003$	0.5532	4.406	CS
Hígado	Hígado	$0.02x + 0.073$	0.1555	0.245	No
Riñón	Riñón	$0.07x + 0.090$	0.2811	0.857	No
<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>				
Placenta	Sangre	$2.36x + 0.002$	0.8730	32.063	$p < 0.01$
Placenta	Hígado	$1.77x - 0.029$	0.5344	3.983	CS
Placenta	Riñón	$0.36x + 0.069$	0.2124	0.470	No

.../...

.../...

<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	3.91x - 0.067	0.7483	12.704	p<0.01
Placenta	Hígado	0.20x + 0.051	0.7205	10.751	p<0.01
Placenta	Riñón	0.01x + 0.108	-0.0101	0.001	No

Metilmercurio

<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	0.16x + 0.036	0.1611	0.107	No
Sangre	Riñón	0.14x + 0.029	0.4364	0.941	No

<u>Feto</u>	<u>Feto</u>	Tamaño de muestra pequeño			
-------------	-------------	---------------------------	--	--	--

<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Sangre	Sangre c	Tamaño de muestra pequeño			
Hígado	Hígado	0.01x + 0.048	0.1303	0.085	No
Riñón	Riñón	Tamaño de muestra pequeño			

<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>				
Placenta	Sangre	4.07x - 0.075	0.8521	10.629	p<0.05
Placenta	Hígado	2.40x - 0.050	0.5160	2.542	No
Placenta	Riñón	0.45x + 0.036	0.2962	0.673	No

<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	Tamaño de muestra pequeño			
Placenta	Hígado	0.21x + 0.018	0.6665	3.989	No
Placenta	Riñón	Tamaño pequeño de muestra			

.../...

.../...

Porcentaje

<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	$0.44x + 0.03$	0.2802	0.340	No
Sangre	Riñón	$0.36x + 0.04$	0.6821*	3.480	No
Hígado	Riñón	$0.01x + 0.06$	0.0287	0.005	No

Feto Feto Tamaño de muestra pequeño

<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Sangre	Sangre c				
Hígado	Hígado	$0.81x$	0.5527	2.199	No
Riñón	Riñón				

Placenta Madre

Placenta	Sangre	$0.28x + 0.04$	0.3536	0.571	No
Placenta	Hígado	$-0.24x + 0.08$	-0.1795	0.233	No
Placenta	Riñón	$0.33x + 0.04$	0.6284*	4.568	CS

Placenta Feto

Placenta	Hígado	$-1.76x + 0.20$	0.6442*	3.547	No
Placenta	Riñón				

*p<0.05

COEFICIENTES DE DISTRIBUCION TISULAR EN EL SISTEMA MADRE-FETO DE RATAS NO TRATADAS.

Tabla XXIX-a.- Coefficientes de distribución de mercurio total en los distintos tejidos del sistema madre-feto, respecto a sangre materna.

	MADRE				FETO	
	Hígado	Riñón	Placenta	S. Cordón	Hígado	Riñón
2	1.18	5.54	5.36	1.90	1.91	3.54
3	2.08	0.87	0.85	0.77	1.79	0.87
5	1.31	1.46	1.46	1.28	2.30	1.67
7	2.22	1.36	2.02	0.47	1.08	1.11
9	0.39	2.33	0.66	0.30	0.50	0.30
10	0.82	0.70	2.83	0.48	6.92	0.26
11	0.64	0.89	2.88	1.18	--	0.94
12	2.56	1.49	4.42	--	0.56	--

Tabla XXIX-b.- Coefficientes de distribución de metilmercurio en tejidos del sistema madre-feto, respecto a la sangre materna.

	MADRE			FETO
	Hígado	Riñón	Placenta	Hígado
3	2.03	1.03	0.81	2.29
5	1.33	1.36	1.33	--
9	0.29	2.66	0.79	0.58
10	1.01	1.23	4.25	9.40
11	0.52	6.57	2.07	--

Tabla XXIX-c.-Tratamiento estadístico de los valores de las tablas anteriores.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Des.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio					
Hígado madre	1.37	0.75	54.79	0.39-2.56	8
Riñón madre	1.83	1.58	86.33	0.70-5.54	8
Placenta	2.56	1.67	65.23	0.66-5.36	8
Sangre cordón	0.91	0.57	62.80	0.30-1.90	7
Hígado feto	2.15	2.21	102.88	0.50-6.92	7
Riñón feto	1.24	1.12	90.54	0.26-3.54	7
Metilmercurio					
Hígado madre	1.03	0.69	66.87	0.29-2.03	5
Riñón madre	2.57	2.32	90.50	1.03-6.57	5
Placenta	1.85	1.44	77.78	0.79-4.25	5
Hígado feto	4.09	4.67	114.36	0.58-9.40	3

Tablas XXX-a.- Coefficientes de distribución de mercurio en tejidos fetales, respecto a la sangre umbilical.

	Hígado	Riñón
1	5.07	3.50
2	1.00	1.86
3	2.32	1.13
4	0.89	0.92
5	1.80	1.30
6	2.86	----
7	2.29	2.35
8	2.25	1.52
9	1.65	1.00
10	----	0.53

Tabla XXX-b.- Tratamiento estadístico de los valores de la tabla anterior.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Hígado	2.23	1.24	55.61	0.89-5.07	9
Riñón	1.57	0.96	61.44	0.61-3.50	9

COMPARACION ESTADISTICA DE LOS COEFICIENTES DE DISTRIBUCION EN TEJIDOS FETALES DE RATAS NO TRATADAS.

Tabla XXXI.- Comparación estadística entre los coeficientes de distribución del mercurio en tejidos fetales respecto a sangre materna y sangre umbilical.

CONTRASTE BILATERAL				
	t	n ₁	n ₂	NS
Hígado	0.554	9	10	No
Riñón	-0.139	8	10	No

LOTE II- RATAS PREÑADAS TRATADAS.

Una vez establecida la estabilidad de la disolución de cloruro de metilmercurio (tabla XXXII) se procedió a la administración de las ratas del lote correspondiente. Del volumen de agua consumido se deduce la dosis recibida por día, tanto para las ratas preñadas (tabla XXXIII) como para las no preñadas (tabla XXXIV).

Tabla XXXII.- Estabilidad de la disolución de cloruro de metilmercurio ($\mu\text{g/mL}$) (n=24).

Mercurio total	Recuperación	Metilmercurio	Recuperación
0.46 \pm 0.03	97.00	0.049 \pm 0.05	98.00

Tabla XXXIII.- Volúmenes de agua consumidos por cada animal tratado en el grupo de ratas preñadas y dosis de metilmercurio recibida.

Animal	mL/día	$\mu\text{g/Kg/día}$
1	42.0	21.3
2	42.8	21.7
3	41.3	20.9
4	44.6	22.6
5	38.5	19.5
6	35.4	17.9
7 (parto espontáneo)	23.5	11.9
Media \pm Desv. Tip.	38.3 \pm 7.18	19.4 \pm 3.64

Tabla XXXIV.- Volúmenes de agua consumidos por cada animal tratado en el grupo de ratas no preñadas y dosis de metilmercurio recibida.

Animal	mL/día	µg/Kg/día
1	31.9	16.1
2	40.1	20.3
3	38.0	19.2
Media±Desv.Típ.	36.6±4.25	18.5±2.17

A continuación se exponen los resultados obtenidos para los niveles de mercurio total y metilmercurio en los distintos tejidos y lotes de animales así como su estudio estadístico.

Tabla XXXV-a 1.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$) en tejidos de ratas preñadas tratadas (n=6).

MADRE								
	Sangre		Hígado		Riñón		Cerebro	
	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg
1	4.70	3.58	1.69	1.42	5.92	4.69	0.50	0.40
2	1.86	1.51	1.24	0.99	3.79	2.98	0.38	0.29
3	2.74	2.53	1.11	0.98	2.11	2.05	0.15	0.13
4	3.72	2.87	2.67	0.99	3.81	3.15	0.30	0.24
5	3.94	3.23	1.71	1.41	5.72	4.59	0.23	----
6	3.73	2.52	1.19	0.97	7.52	5.75	0.40	0.33

Tabla XXXV-a 2.- Porcentaje de metilmercurio respecto a mercurio total en tejidos de ratas preñadas tratadas (n=6).

	Sangre	Hígado	Riñón	Cerebro
1	76.17	84.02	79.31	80.60
2	81.18	80.08	78.63	74.36
3	93.78	88.56	97.16	86.67
4	77.73	37.33	82.68	80.00
5	82.11	82.69	80.24	--
6	67.56	81.60	77.50	82.50

Tabla XXXV-b.- Concentraciones de mercurio, metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$) y su relación en porcentaje en placenta y sangre umbilical de ratas preñadas tratadas (n=6).

	Placenta			Sangre Cordón		
	Hg _T	MeHg	%	Hg _T	MeHg	%
1	0.56	0.40	71.07	1.38	1.11	80.43
2	1.03	0.83	80.39	0.40	0.34	85.00
3	0.45	0.38	84.67	0.51	0.41	81.37
4	0.89	0.72	82.87	1.30	--	--
5	2.15	1.69	78.70	0.85	0.68	80.23
6	1.03	0.80	77.47	1.70	1.30	76.18

Tabla XXXV-c.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{g}$) y su relación en porcentaje en tejidos fetales de ratas tratadas (n=6).

	Hígado			Riñón			Cerebro		
	Hg _T	MeHg	%	Hg _T	MeHg	%	Hg _T	MeHg	%
1	2.17	1.69	77.88	1.78	1.51	84.83	0.61	0.49	81.15
2	0.67	0.51	76.12	0.64	0.52	81.25	0.70	0.66	94.71
3	1.12	0.97	86.61	0.58	0.47	81.03	0.42	0.39	93.81
4	1.92	1.63	84.89	0.72	-----	-----	0.61	0.42	70.83
5	1.82	1.41	78.33	0.47	0.23	48.94	0.46	0.34	74.57
6	2.50	1.97	78.50	0.54	-----	-----	0.40	0.32	81.25

Tabla XXVI.- Tratamiento estadístico de los valores de la tabla XXXV a,b y c.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total					
Sangre madre	3.45	0.99	28.89	1.88-4.70	6
Hígado madre	1.60	0.58	36.31	1.11-2.67	6
Riñón madre	4.81	1.93	40.18	2.11-7.52	6
Cerebro madre	0.32	0.13	39.13	0.15-0.50	6
Placenta	1.02	0.60	59.23	0.45-2.15	6
Sangre cordón	1.02	0.52	50.44	0.40-1.70	6
Hígado feto	1.70	0.68	40.12	0.67-2.50	6
Riñón feto	0.79	0.49	62.47	0.47-1.78	6
Cerebro feto	0.53	0.12	22.87	0.40-0.70	6
Metilmercurio					
Sangre madre	2.71	0.72	26.43	1.51-3.58	6
Hígado madre	1.13	2.23	19.79	0.97-1.42	6
Riñón madre	3.87	1.37	35.32	2.05-5.75	6
Cerebro madre	0.28	0.10	26.25	0.13-0.40	5
Placenta	0.80	0.48	59.41	0.38-1.69	6
Sangre cordón	0.77	0.42	54.85	0.34-1.29	5
Hígado feto	1.36	0.53	39.09	0.51-1.97	6
Riñón feto	0.68	0.57	82.80	0.23-1.51	4
Cerebro feto	0.44	0.12	28.35	0.32-0.66	6

.../...

.../...

Porcentaje

Sangre madre	79.75	8.60	10.78	67.56-93.78	6
Hígado madre	75.71	19.02	25.13	37.33-88.56	6
Riñón madre	82.42	7.50	9.10	77.50-97.16	6
Cerebro madre	80.83	4.46	5.51	74.36-86.67	5
Placenta	79.09	4.69	5.93	71.07-84.67	6
Sangre cordón	80.64	3.15	3.90	76.18-85.00	5
Hígado feto	80.44	4.25	5.28	76.12-86.61	6
Riñón feto	74.01	16.81	22.71	48.94-84.83	4
Cerebro feto	82.72	9.79	11.83	70.83-94.71	6

 ECUACIONES DE REGRESION - X = MeHg, Y = Hg

	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
			F	NS
Sangre madre	$1.31x - 0.10$	0.9422*	31.655	p<0.01
Hígado madre	$0.39x + 1.16$	0.1497	0.091	No
Riñón madre	$1.41x - 0.65$	0.9976*	831.518	p<0.01
Placenta	$1.26x + 0.04$	0.9984*	1240.506	p<0.01
Hígado feto	$1.27x - 0.03$	0.9935*	303.938	p<0.01
Cerebro feto	$0.87x + 0.15$	0.8884*	14.983	p<0.05

*p<0.05

 ECUACIONES DE REGRESION - X = %, Y = Hg

Hígado madre	$-0.03x + 3.68$	-0.8973*	16.537	p<0.05
Riñón madre	$-0.20x + 21.61$	-0.7729*	5.938	CS

*p<0.05

COMPARACION ESTADISTICA ENTRE LOS NIVELES DE MERCURIO Y METILMERCURIO EN TEJIDOS DEL SISTEMA MADRE-FETO DE RATAS TRATADAS.

Tabla XXXVII.- Comparación estadística del contenido de mercurio total, metilmercurio y su porcentaje entre los distintos tejidos del sistema madre-feto de ratas tratadas (Datos tabla XXXV).

		CONTRASTE BILATERAL				
		F	t	n ¹	n ₂	NS
Mercurio						
<u>Madre</u>	<u>Madre</u>					
Sangre	Hígado		3.919	6	6	p<0.01
Sangre	Riñón		-1.535	6	6	No
Sangre	Cerebro	59.818		6	6	p<0.001
Hígado	Riñón	11.051		6	6	p<0.01
Hígado	Cerebro	20.392		6	6	p<0.01
Riñón	Cerebro	225.363		6	6	p<0.01
<u>Feto</u>	<u>Feto</u>					
Sangre c	Hígado		-1.932	6	6	CS
Sangre c	Riñón		0.802	6	6	No
Sangre c	Cerebro	17.903		6	6	CS
Hígado	Riñón		-2.645	6	6	p<0.05
Hígado	Cerebro	31.166		6	6	p<0.01
Riñón	Cerebro	16.347		6	6	No
<u>Madre</u>	<u>Feto</u>					
Sangre	Sangre c		5.287	6	6	p<0.001
Hígado	Hígado		-0.269	6	6	No
Riñón	Riñón	15.315		6	6	p<0.01
Cerebro	Cerebro		-2.829	6	6	p<0.05
						.../...

.../...

<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>					
Placenta	Sangre		-5.107	6	6	p<0.001
Placenta	Hígado		-1.703	6	6	No
Placenta	Riñón	10.265		6	6	p<0.01
Placenta	Cerebro	21.954		6	6	p<0.05

<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>					
Placenta	Sangre c		-0.019	6	6	No
Placenta	Hígado		-1.833	6	6	CS
Placenta	Riñón		0.716	6	6	No
Placenta	Cerebro	24.388		6	6	No

Metilmercurio

<u>Madre</u>	<u>Madre</u>					
Sangre	Hígado	10.272		6	6	p<0.01
Sangre	Riñón		-1.843	6	6	No
Sangre	Cerebro	49.723		6	5	p<0.001
Hígado	Riñón	37.429		6	6	p<0.01
Hígado	Cerebro		-7.796	6	5	p<0.001
Riñón	Cerebro	181.182		6	5	p<0.001

<u>Feto</u>	<u>Feto</u>					
Sangre c	Hígado		-2.022	5	6	CS
Sangre c	Riñón		0.257	5	4	No
Sangre c	Cerebro	11.418		5	6	No
Hígado	Riñón		-1.930	6	4	CS
Hígado	Cerebro	18.284		6	6	p<0.01
Riñón	Cerebro	20.628		4	6	No

.../...

.../...

<u>Madre</u>	<u>Feto</u>					
Sangre	Sangre c		5.313	6	5	p<0.001
Hígado	Hígado	5.700		6	6	No
Riñón	Riñón		4.348	6	4	p<0.01
Cerebro	Cerebro		-2.296	5	6	p<0.05
<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>					
Placenta	Sangre		-5.425	6	6	p<0.001
Placenta	Hígado		-1.513	6	6	No
Placenta	Riñón	8.205		6	6	p<0.001
Placenta	Cerebro	22.081		6	5	p<0.05
<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>					
Placenta	Sangre c		0.126	6	5	No
Placenta	Hígado		-1.922	6	6	CS
Placenta	Riñón		0.359	6	4	No
Placenta	Cerebro	14.632		6	6	No

El contraste bilateral entre las medias de los porcentajes no mostró diferencias significativas en ninguna de las comparaciones realizadas.

Tabla XXXVIII.- Comparación estadística del contenido de mercurio total, metilmercurio y su porcentaje entre los distintos tejidos del sistema madre-feto de ratas tratadas (Datos tabla XXXV).

ECUACIONES DE REGRESION					
Y	X	Ec. Regresión lineal	r	ANOVA	
				F	NS
Mercurio total					
<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	$0.74x + 2.26$	0.4321	0.918	No
Sangre	Riñón	$0.31x + 1.95$	0.6060	2.322	No
Sangre	Cerebro	$2.63x + 2.58$	0.3403	0.524	No
<u>Feto</u>	<u>Feto</u>				
Sangre c	Hígado	$0.72x - 0.20$	0.9565*	43.036	p<0.01
Sangre c	Riñón	$0.34x + 0.75$	0.3300	0.489	No
Sangre c	Cerebro	$-0.96x + 1.54$	-0.2280	0.219	No
<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Sangre	Sangre c	$1.47x + 1.94$	0.7657*	5.670	CS
Hígado	Hígado	$0.27x + 1.15$	0.3120	0.431	No
Riñón	Riñón	$0.74x + 4.22$	0.1902	0.150	No
Cerebro	Cerebro	$0.54x + 0.04$	0.5105	1.410	No
<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>				
Placenta	Sangre	$0.07x + 0.79$	0.1092	0.048	No
Placenta	Hígado	$0.12x + 0.82$	0.1205	0.059	No
Placenta	Riñón	$0.12x + 0.46$	0.3741	0.651	No
Placenta	Cerebro	$-1.09x + 1.38$	-0.2326	0.229	No

.../...

.../...

<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	$-0.08x + 1.10$	-0.0704	0.019	No
Placenta	Hígado	$0.09x + 0.87$	0.1004	0.040	No
Placenta	Riñón	$-0.56x + 1.47$	-0.4619	1.085	No
Placenta	Cerebro	$-0.88x + 1.49$	-0.1793	0.133	No

Metilmercurio

<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	$2.40x - 5.34$	0.7503*	5.152	CS
Sangre	Riñón	$0.21x + 1.88$	0.4099	0.808	No
Sangre	Cerebro	Tamaño de muestra pequeño			

<u>Feto</u>	<u>Feto</u>				
		Tamaño de muestra pequeño			

<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Sangre	Sangre c	Tamaño de muestra pequeño			
Hígado	Hígado	$0.10x + 0.98$	0.2504	0.267	No
Riñón	Riñón	Tamaño de muestra pequeño			
Cerebro	Cerebro	Tamaño de muestra pequeño			

<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>				
Placenta	Sangre	$0.06x + 0.65$	0.0855	0.029	No
Placenta	Hígado	$0.82x - 0.12$	0.3840	0.692	No
Placenta	Riñón	$0.12x + 0.35$	0.3363	0.510	No
Placenta	Cerebro	Tamaño de muestra pequeño			

<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	$-1.05x + 1.26$	-0.2734	0.323	No
Placenta	Hígado	$0.02x + 0.77$	0.0237	0.002	No
Placenta	Riñón	Tamaño de muestra pequeño			
Placenta	Cerebro	$-1.05x + 1.26$	-0.2734	0.323	No

.../...

.../...

Porcentaje

<u>Madre</u>	<u>Madre</u>				
Sangre	Hígado	$0.10x + 72.27$	0.2187	0.201	No
Sangre	Riñón	$0.98x - 1.80$	0.8439*	9.903	p<0.05
<u>Madre</u>	<u>Feto</u>				
Hígado	Hígado	$-1.72x + 241.82$	-0.3861	0.701	No
<u>Placenta</u>	<u>Madre</u>				
Placenta	Sangre	$0.33x + 52.95$	0.6010	2.262	No
Placenta	Hígado	$-0.07x + 84.26$	-0.2770	0.332	No
Placenta	Riñón	$0.41x + 44.87$	0.6490*	2.911	No
<u>Placenta</u>	<u>Feto</u>				
Placenta	Sangre c	$0.12x + 69.11$	0.2517	0.270	No
Placenta	Hígado	$0.74x + 19.38$	0.6721	3.296	No

*p<0.05

COEFICIENTES DE DISTRIBUCION DEL MERCURIO Y METILMERCURIO EN TEJIDOS DEL SISTEMA MADRE-FETO DE RATAS TRATADAS.

Tabla XXXIX-a.- Coeficientes de distribución de mercurio total en los distintos tejidos del sistema madre-feto, respecto a la sangre materna.

	MADRE					FETO		
	Hígado	Riñón	Cerebro	Placenta	S.Cordón	Hígado	Riñón	Cerebro
1	0.36	1.26	0.11	0.12	0.29	0.46	0.48	0.13
2	0.67	2.04	0.21	0.55	0.21	0.36	0.34	0.38
3	0.42	0.77	0.05	0.16	0.19	0.41	0.21	0.15
4	0.74	1.02	0.08	0.24	0.35	0.52	0.19	0.16
5	0.43	1.45	0.06	0.55	0.22	0.46	0.12	0.12
6	0.32	2.02	0.11	0.28	0.46	0.67	0.14	0.11

Tabla XXXIX-b.- Coeficientes de distribución de metilmercurio en tejidos del sistema madre-feto, respecto a la sangre materna.

	MADRE					FETO		
	Hígado	Riñón	Cerebro	Placenta	S.Cordón	Hígado	Riñón	Cerebro
1	0.39	1.31	0.11	0.11	0.31	0.47	0.42	0.14
2	0.65	1.97	0.19	0.55	0.22	0.34	0.34	0.45
3	0.39	0.81	0.05	0.15	0.16	0.38	0.19	0.15
4	0.34	1.09	0.08	0.25	--	0.56	--	0.15
5	0.44	1.41	--	0.52	0.21	0.43	0.07	0.11
6	0.38	2.28	0.13	0.32	0.51	0.78	--	0.13

Tabla XXXIX-c.- Tratamiento estadístico de los valores de las tablas anteriores.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total					
Hígado madre	0.49	0.17	34.97	0.32-0.74	6
Riñón madre	1.43	0.52	36.00	0.77-2.04	6
Cerebro madre	0.10	0.05	50.00	0.06-0.21	6
Placenta	0.32	0.19	59.18	0.12-0.55	6
S. Cordón	0.29	0.10	35.75	0.19-0.46	6
Hígado feto	0.48	0.11	23.00	0.36-0.67	6
Riñón feto	0.23	0.11	46.00	0.12-0.38	6
Cerebro feto	0.17	0.10	59.00	0.11-0.38	6
Metilmercurio					
Hígado madre	0.43	0.11	26.14	0.34-0.65	6
Riñón madre	1.48	0.55	37.17	0.81-2.28	6
Cerebro madre	0.11	0.05	47.99	0.05-0.19	5
Placenta	0.32	0.18	57.60	0.11-0.55	6
S. Cordón	0.28	0.14	49.47	0.16-0.51	5
Hígado feto	0.49	0.16	32.63	0.34-0.78	6
Riñón feto	0.25	0.15	62.78	0.07-0.42	4
Cerebro feto	0.18	0.12	69.36	0.11-0.45	6

Tabla XL-a.- Coefficientes de distribución de mercurio y metilmercurio en tejidos fetales, respecto a sangre umbilical.

	Hígado		Riñón		Cerebro	
	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg
1	1.57	1.52	1.28	1.36	0.44	0.44
2	1.67	1.51	1.60	1.54	1.75	1.95
3	2.19	2.34	1.14	1.13	0.82	0.95
4	1.48	----	0.55	----	0.47	----
5	2.14	2.07	0.55	0.34	0.54	0.50
6	1.47	1.52	0.32	--	0.23	0.25

Tabla XL-b.- Tratamiento estadístico de los valores de la tabla anterior.

ESTADISTICA BASICA					
	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total					
Hígado feto	1.75	0.33	19.00	1.47-2.19	6
Riñón feto	0.91	0.50	55.54	0.32-1.60	6
Cerebro feto	0.71	0.54	76.71	0.23-1.75	6
Metilmercurio					
Hígado feto	1.79	0.39	21.78	1.51-2.34	5
Riñón feto	1.09	0.53	48.56	1.13-1.36	4
Cerebro feto	0.81	0.68	84.15	0.25-1.95	5

COMPARACION ESTADISTICA DE LOS COEFICIENTES DE DISTRIBUCION DE TEJIDOS FETALES DE RATAS TRATADAS.

Tabla XLI.- Comparación estadística entre los coeficientes de distribución de tejidos fetales, respecto a sangre materna y a sangre umbilical.

CONTRASTE BILATERAL				
	F	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total				
Hígado	9.268	6	6	p<0.001
Riñón	22.414	6	6	p<0.05
Cerebro	27.714	6	6	CS
Metilmercurio				
Hígado	7.930	6	5	p<0.001
Riñón	11.515	4	4	p<0.05
Cerebro	27.999	6	5	CS

LOTE III. RATAS NO PREÑADAS NO TRATADAS

Tabla XLII.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$ en ratas no preñadas y no tratadas ($n=5$)). Tratamiento estadístico básico.

	Sangre		Hígado		Riñón	
	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg
1	0.011	ND	0.067	0.049	0.081	0.062
2	0.047	0.035	0.075	0.067	0.080	0.071
3	0.031	0.022	0.070	0.059	0.072	0.067
4	0.028	0.015	0.093	0.079	0.070	0.061
5	0.030	0.020	0.073	0.068	0.061	0.051

ESTADISTICA BASICA

	Media	Desv.Tip.	Coef.Var.	Rango	n
Mercurio total					
Sangre	0.030	0.013	43.46	0.011-0.047	5
Hígado	0.076	0.010	13.48	0.067-0.093	5
Riñón	0.073	0.008	11.22	0.061-0.081	5
Metilmercurio					
Sangre	0.023	0.008	37.06	0.015-0.035	4
Hígado	0.064	0.011	17.35	0.049-0.079	5
Riñón	0.063	0.076	11.97	0.051-0.071	5

Tabla XLIII.- Comparación estadística entre contenido en mercurio y metilmercurio de los tejidos de ratas no preñadas, no tratadas (Datos tabla XLII).

CONTRASTE BILATERAL				
	t	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total				
Sangre-Hígado	-6.321	5	5	p<0.001
Sangre-Riñón	-6.399	5	5	p<0.001
Metilmercurio				
Sangre-Hígado	-6.097	4	5	p<0.001
Sangre-Riñón	-7.501	4	5	p<0.001

LOTE IV. RATAS TRATADAS NO PREÑADAS.

Tabla XLV.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$) en ratas no preñadas tratadas (n=3).

	Sangre		Hígado		Riñón		Cerebro	
	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg	Hg _T	MeHg
1	5.85	4.61	1.66	1.30	6.02	5.15	0.49	0.36
2	6.52	5.25	0.96	0.77	9.24	6.39	0.62	0.50
3	8.48	6.81	2.40	1.93	7.58	6.21	0.51	0.40
Media	6.95	5.56	1.67	1.33	7.61	5.92	0.54	0.42
D.Típ.	1.37	1.13	0.71	0.58	1.60	0.66	0.67	0.74

LOTE V. CRIAS RECIEN NACIDAS NO TRATADAS.

Tabla XLIV.- Concentración de mercurio total ($\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$) en sangre materna y tejidos de crías recién nacidas (n=3).

	Sangre materna	CRIAS	
		Hígado	Riñón
1	0.042	0.043	0.082
2	0.059	0.121	0.154
3	0.023	0.013	0.034
Media	0.041	0.059	0.090
Desv.Tip.	0.018	0.055	0.060

LOTE VI. CRIAS RECIEN NACIDAS DE UNA MADRE TRATADA.

Tabla XLVI.- Concentraciones de mercurio total y metilmercurio ($\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{g}$) en sistema madre-crias de una rata tratada.

	Mercurio total	Metilmercurio
Madre		
Sangre	2.38	1.95
Hígado	0.81	0.63
Riñón	3.63	2.75
Cerebro	0.17	0.13
Crías*		
Hígado	1.53	1.23
Riñón	0.99	--
Cerebro	2.95	2.41

* Resultados de una muestra media de 13 crías para cada tejido.

COMPARACIONES ESTADISTICAS ENTRE RATAS PREÑADAS TRATADAS Y NO TRATADAS.

Tabla XLVII.- Comparación estadística del contenido en mercurio, metilmercurio, porcentaje y coeficientes de distribución entre ratas preñadas tratadas y no tratadas.

CONTRASTE BILATERAL					
	F	t	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total					
Sangre madre	2599.517		10	6	p<0.001
Hígado madre	394.353		8	6	p<0.001
Riñón madre	3892.142		10	6	p<0.001
Placenta	134.198		11	6	p<0.01
Sangre cordón	1947.949		8	6	p<0.01
Hígado feto	407.951		10	6	p<0.01
Riñón feto	1734.018		9	6	p<0.05
Metilmercurio					
Sangre madre	2322.617		4	6	p<0.001
Hígado madre	134.799		6	6	p<0.001
Riñón madre	1809.572		6	6	p<0.001
Placenta	356.047		8	6	p<0.01
Sangre cordón	Tamaño de muestra pequeño				
Hígado feto	564.397		5	6	p<0.01
Riñón feto	Tamaño de muestra pequeño				

.../...

.../...

Porcentaje

Sangre madre	-2.131	6	6	CS
Hígado madre	4.391	9	6	No
Riñón madre	10.437	9	6	No
Placenta	7.006	9	6	p<0.01
Sangre cordón	Tamaño de muestra pequeño			
Hígado feto	-0.137	7	6	No
Riñón feto	Tamaño de muestra pequeño			

Coefficientes de distribución de mercurio total

Hígado madre	21.404	8	6	p<0.05
Riñón madre	9.239	8	6	No
Placenta	77.710	8	6	p<0.01
Sangre cordón	30.398	7	6	p<0.05
Hígado feto	423.271	7	6	p<0.01
Riñón feto	66.246	7	6	CS
Hígado feto/ Sangre c	14.354	9	6	No
Riñón feto/ Sangre c	1.620	12	6	No

Coefficientes de distribución de Metilmercurio

Hígado madre	38.090	5	6	No
Riñón madre	17.856	5	6	No
Placenta	60.650	5	6	CS
Sangre cordón	Tamaño de muestra pequeño			
Hígado feto	Tamaño de muestra pequeño			
Riñón feto	Tamaño de muestra pequeño			

Tabla XLVIII.- Comparación estadística entre contenido de mercurio total y metilmercurio en tejidos de ratas no tratadas preñadas y no preñadas.

CONTRASTE BILATERAL					
	F	t	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total					
Sangre		-0.432	10	5	No
Hígado	8.274		8	5	No
Riñón	14.417		10	5	No
Metilmercurio					
Sangre		2.130	4	4	No
Hígado		-0.841	6	5	No
Riñón	18.063		6	5	No

COMPARACION ESTADISTICA ENTRE HUMANOS Y RATAS TRATADAS Y RATAS NO TRATADAS.

Tabla XLVIX.- Comparación estadística entre los coeficientes de distribución placentaria entre humanos y ratas preñadas tratadas y no tratadas.

CONTRASTE BILATERAL				
	F	n ₁	n ₂	NS
Mercurio total				
Humano-Rata no tratada	8.727	23	8	p<0.05
Humano-Rata tratada	8.726	23	6	p<0.001
Metilmercurio				
Humano-Rata no tratada	4.257	19	5	No
Humano-Rata tratada	14.205	19	6	p<0.001

D I S C U S S I O N

Una vez ajustadas las condiciones de nuestros métodos analíticos, respecto a la precisión de los resultados podemos decir que, para ambas determinaciones, los coeficientes de variación están dentro de los intervalos permisibles para los rangos de concentración. Podemos considerar que los porcentajes de recuperación en mercurio y metilmercurio son altos y concretamente los del metilmercurio son superiores a los obtenidos por Cappon y Smith (1978).

Con el estudio de mercurio total y metilmercurio en dos tipos de organismos marinos, reconocidos como fuentes de exposición para la población general, hemos intentado conocer los niveles de esta exposición en el momento de nuestro estudio. No se ha pretendido un estudio epidemiológico, sino una aproximación orientadora.

En el grupo de peces se ha elegido el pez espada (Xiphias gladius) como especie carnívora acumuladora de metilmercurio, y que es considerada de forma especial en las distintas legislaciones. Recordemos que países como Canadá recomiendan su ingesta sólo una vez por semana.

Otro motivo de su elección ha sido que en nuestra región es una especie apreciada de consumo relativamente frecuente.

En el muestreo realizado el valor medio de mercurio total obtenido fué de 1.69 ± 0.90 mg/Kg, que se encuentra por encima del valor máximo en

peces permitido por la legislación española (1 mg/Kg), valor que coincide con el considerado típico por la Comisión del Codex Alimentarius (1987).

El rango de concentración osciló entre 0.38-3.28 mg/kg, que se encuentra dentro de los máximos referidos en este último documento (1.40-3.00 mg/Kg) aunque está por encima del intervalo medio (0.40-1.50 mg/Kg).

El valor medio de metilmercurio encontrado en estos peces ha sido de 1.25 ± 0.73 mg/Kg, lo que representa un porcentaje medio respecto al mercurio total de 72.06 ± 11.91 . Este porcentaje coincide con el límite inferior en peces predadores citado por otros autores (70-90%) (Pena y Alberto, 1984; Bernhard y George, 1986).

La consideración estadística de nuestros resultados puso de manifiesto una relación lineal entre contenido en mercurio y metilmercurio. La bondad del ajuste entre la ecuación teórica y los valores experimentales tiene un nivel de significación de $p < 0.001$. No existe correlación entre concentración de mercurio y la proporción de forma metilada.

En el grupo de moluscos hemos estudiado la coquina (Dónax trunculus) como especie de alto consumo en la región y que además en 1987 provocó una situación de alarma por haberse detectado concentraciones 10 veces superiores a los permitidos, que dió lugar a actuaciones de la Agencia del Medio Ambiente.

Los resultados de nuestro estudio, para el mercurio total, han sido de 0.10 ± 0.06 mg/Kg. Estos valores están de acuerdo con los encontrados por Establier (1972) en moluscos de la misma zona geográfica. En el Codex (1987) no figura la especie elegida, pero el rango 0.02-0.21 mg Hg/Kg obtenido, es similar al recogido para otras especies de bivalvos.

El contenido en metilmercurio ha sido de 0.08 ± 0.05 mg/Kg con un intervalo que oscila entre 0.01-0.17 mg/Kg, lo que supone un porcentaje de 78.42 ± 12.59 . En la bibliografía consultada no hemos encontrado datos de metilmercurio para este tipo de molusco.

Como ocurre en el pez espada, las concentraciones de mercurio y metilmercurio están relacionadas linealmente, con el mismo nivel de significación. Tampoco existe correlación entre nivel de mercurio y proporción de forma metilada.

El estudio estadístico comparativo del mercurio total, metilmercurio y porcentaje entre pez espada y coquinas muestra que, aunque existen diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre los valores medios de las dos formas de mercurio (los correspondientes a pez espada son 16 veces superiores a los de coquinas), el porcentaje de la forma metilada es similar en ambas especies.

Consecuentemente nuestro estudio demuestra que, en el momento del muestreo de las especies consideradas, los niveles mercuriales en coquinas se ajustan a los requisitos legales; no así los de pez espada, aunque sean los frecuentemente encontrados en especies marinas carnívoras. Por ello opinamos que debería seguirse la recomendación de limitar la ingesta de este pescado a una vez por semana.

Aunque la población general está expuesta a intoxicación por mercurio y sus compuestos a través de la ingesta de pescado, existen dos grupos de alto riesgo oficialmente admitidos por la OMS (1986): el de pescadores, por su hábito alimentario y el de mujeres embarazadas por el especial riesgo para el feto.

Nuestro estudio considera el de mujeres embarazadas, al término de su gestación. Hemos pretendido conocer, en primer lugar, la situación de este grupo en nuestra población; para ello analizamos en 50 individuos, el contenido de mercurio en pelo. Este órgano es considerado como acumulador (WHO, 1990) y además indicador de la concentración en sangre (WHO, 1976; Sherlock, 1982; Chatt y Katz, 1988). La concentración media de mercurio total fué 2.85 ± 3.38 mg/Kg y de 1.49 ± 1.84 mg/Kg para metilmercurio, y los valores se distribuyeron de forma similar a lo que ocurre en otras poblaciones mediterráneas como Italia, Grecia y Yugoslavia (López Artiguez y cols., 1989), incluidas en el Programa de la OMS sobre "Evaluación del metilmercurio en la población mediterránea y problemas

de salud relacionados".

Es de destacar la gran variabilidad interindividual que apareció en este grupo, con coeficientes de variación de 118.59% y 123.48% para mercurio total y metilmercurio respectivamente. Siete muestras de pelo sobrepasaron los 5 mg/Kg en mercurio total, considerados, según Kjellström y cols. (1986) como nivel mínimo de mercurio en pelo materno a partir del cual puede existir riesgo para el feto. Tres individuos presentaron valores próximos a este límite; todo ello indica la presencia en este grupo de un 20% de individuos con elevado contenido y por tanto con posibilidad de riesgo para el feto. Además, Cox y cols. (1989) estiman que valores comprendidos entre 10-20 mg/Kg de mercurio en pelo materno suponen ya un riesgo de 5% de alteraciones fetales y en nuestro grupo hemos encontrado una mujer con 9.99 y otra con 20.00 mg/Kg.

El porcentaje de metilmercurio respecto al mercurio total en pelo fué de 58.41 ± 25.56 , oscilando entre un mínimo de 6.45 y máximos de 100%. En comparación con el estudio de Horvat y cols. (1990) que en 34 mujeres gestantes encuentran un porcentaje medio de 72 ± 17 con un rango entre 40-100%, nuestros resultados presentan una media inferior y un intervalo más amplio, explicable este último por la variabilidad de los mismos.

Existe una buena correlación entre contenido en mercurio y metilmercurio en pelo ($r=0.89997$) y no existe relación lineal entre contenido en mercurio total y porcentaje de forma metilada. Los porcentajes más altos de metilmercurio solían coincidir con valores muy bajos de mercurio y los porcentajes bajos con valores medios; para las concentraciones de mercurio altas, fué muy variable el porcentaje de metilmercurio.

Se abordó a continuación un estudio más completo del sistema madre-feto en el que se valoró, además del contenido en pelo, el correspondiente a sangre venosa materna, para investigar en nuestra población la correlación pelo/sangre. Así mismo se determinaron las concentraciones en muestras de placenta y sangre del cordón umbilical para estimar la exposición del feto. A diferencia de otros autores no

hemos considerado la sangre del cordón como muestra global representativa de la circulación materno-fetal, sino que hemos estudiado por separado la sangre arterial y la venosa del cordón umbilical, con el fin de conocer el transporte bidireccional madre-feto.

En este segundo grupo (27 mujeres) el valor medio hallado en pelo fué de 1.18 ± 0.56 mg/Kg para mercurio y de 1.03 ± 0.51 mg/Kg para metilmercurio con unos rangos de 0.30-2.16 y 0.25-1.95 respectivamente. Se observa que estos valores son significativamente más bajos ($p < 0.01$) que los encontrados en nuestro grupo anterior para mercurio total aunque no para metilmercurio. También se observaron diferencias significativas ($p < 0.001$) en los porcentajes de metilmercurio, más altos en este grupo, confirmándose la coincidencia de porcentaje alto-valor bajo de mercurio, aunque sigue sin existir correlación entre ambos.

Ninguna de las mujeres del segundo grupo presentó valores superiores ni cercanos a 5 mg/Kg de mercurio en pelo, lo que puede explicar la diferencia entre las medias de ambos grupos. No sabemos si estas diferencias son producto del azar o si pueden estar relacionadas con el tipo y cantidad de pescado ingerido. Otra causa puede ser una distinta contaminación del pescado consumido, ya que se sabe que hay variaciones estacionales en el contenido de los peces (Korthals y Winfrey, 1987); casualmente, nuestro primer grupo de mujeres se estudió en invierno y el segundo en verano.

Estimamos que estas apreciaciones deben ser profundizadas en trabajos posteriores pues su enfoque (epidemiológico y cronotoxicológico) no corresponde a los objetivos del presente estudio.

En sangre venosa-cubital materna se encontró una concentración media de mercurio total de 6.23 ± 1.89 $\mu\text{g/L}$ con valores extremos entre 2.40-9.10 y de 4.97 ± 1.87 $\mu\text{g/L}$ para metilmercurio con rango entre 1.15-7.95. La OMS (1990) considera como valor medio para mercurio total en la población general no especialmente expuesta, 8 $\mu\text{g/L}$, por lo que la media obtenida en nuestro estudio puede considerarse aceptable. No está establecido el nivel de normalidad en madres gestantes.

Distintos autores se han preocupado por el tema aunque algunos realizan el estudio diferenciando contenido en plasma y eritrocitos y otros en sangre total, por lo que contamos con pocos elementos de comparación. Respecto a los autores que trabajan con muestras similares a las nuestras, sangre total, (Pitktin y cols. (1976) en Chicago, y Kuntz y cols. (1982) en Texas), nuestros valores son superiores. Son comparables, sin embargo, a los de Suecia (Kuntz y cols., 1982) y Yugoslavia (Horvat y cols., 1990) en cuanto a rango 1.2-9.6 $\mu\text{g/L}$, aunque la media en este país es algo más baja $3.7 \pm 1.9 \mu\text{g/L}$. De igual forma nuestra media en metilmercurio es superior a la encontrada por estos autores $3.1 \pm 2.0 \mu\text{g/L}$, aunque el rango es similar (0.3-7.9).

El coeficiente de correlación entre ambos parámetros es $r=0.84404$, el porcentaje de forma metilada es 87.9024 ± 12.42 y no existe correlación entre los porcentajes y la concentración de mercurio total. Este porcentaje es ligeramente superior al encontrado por Horvat y cols. (1990).

Si comparamos los valores medios de mercurio total y metilmercurio en la sangre venosa de la madre con los obtenidos en pelo hay una diferencia altamente significativa ($p < 0.001$), con valores en pelos unas 200-300 veces superiores a las de sangre total de la madre.

Los valores de mercurio en pelo y sangre presentaron una correlación positiva de $r=0.65886$ (significativamente distinta de cero), factor muy similar al admitido por Horvat y cols. (1990), de 0.62, para considerar el pelo como indicador de la exposición, ya aceptado por la OMS. Parte de las muestras fueron de pelos púbicos y, al igual que otros autores (Horvat y cols., 1990), los valores son similares en vello púbico y cabello.

A pesar de que el pelo sea indicador de la concentración de mercurio en sangre, dado que el factor de correlación es relativamente bajo, estimamos necesario profundizar, en una población más extensa, el estudio de la correlación entre pelos de distintas áreas corporales, y cada una de las mismas con la sangre, así como los factores que puedan

modificar esta correlación. También sería conveniente establecer estas condiciones para el metilmercurio.

Nuestros valores de mercurio total en placenta ($5.43 \pm 3.13 \mu\text{g/Kg}$) son inferiores a los de Capelli y cols. (1986) y los de Horvat y cols. (1990), que son del orden de $12.00 \mu\text{g/Kg}$, y también están por debajo del valor medio de referencia para población no especialmente expuesta de $10 \mu\text{g/Kg}$ (WHO, 1990). Los porcentajes de forma metilada son superiores y con menor variabilidad que los de los autores anteriormente citados.

Estimamos que esta diferencia se debe a que nosotros hemos perfundido la placenta por lo que hemos medido únicamente el mercurio fijado en el tejido y hemos eliminado el mercurio correspondiente a la fracción hemática abundante en dicho órgano, ya que en el trabajo de Kuhnert y cols. (1981), que también perfunden las placentas, obtienen valores comparables a los nuestros.

No se observan diferencias significativas entre niveles en placenta y sangre tanto para mercurio total como para metilmercurio, confirmado por los coeficientes de distribución cercanos a la unidad. Tampoco existen diferencias en cuanto a relación porcentual mercurio-metilmercurio. Todo ello indica que, para los niveles estudiados, no se manifiesta acumulación placentaria. Tampoco existe relación lineal en estos parámetros entre placenta y sangre por lo que no podemos inferir si se mantendría el mismo comportamiento, respecto a la distribución, cuando los niveles corporales de mercurio aumentasen.

La mayoría de los autores que se interesan por la exposición fetal humana al mercurio enfocan el trabajo hacia los múltiples aspectos involucrados en su toxicidad, fundamentalmente en casos de accidentes, entre los que destacan los de Minamata e Iraq. Sólo una pequeña proporción ha realizado la prospección del mercurio en situaciones de no exposición. Todos ellos consideran la sangre umbilical frente a la sangre materna y algunos valoran además placenta, pelo o leche.

En las muestras de sangre de cordón, unos autores realizan las

determinaciones de mercurio en sangre total, y otros investigan la distribución fracción plasmática-eritrocitaria.

En este trabajo se presenta la particularidad de haber diferenciado entre sangre venosa y arterial, con el fin de detectar si existen o no diferencias entre la entrada al feto y su salida, para valorar, de forma más precisa, la situación fetal. En casos de partos espontáneos el estudio de sangre umbilical, es la única posibilidad de información, aunque sea indirecta, de la exposición del feto a término. En casos de abortos se podría disponer de vísceras, pero ya no sería un feto a término normal.

Como ocurre en pelo y sangre, tanto en placenta como en la sangre venosa y arterial del cordón umbilical, se mantiene la relación lineal de mercurio-metilmercurio, con factores de correlación superiores a 0.8, y la ausencia de correlación entre porcentaje de forma metilada y mercurio total.

Del contraste estadístico de medias en los valores de mercurio y metilmercurio en los distintos tejidos analizados, deducimos que sólo hay diferencias significativas entre los contenidos en pelos y todos los demás, con $p < 0.001$ en todos los casos; no existen diferencias significativas en las restantes comparaciones realizadas: sangre madre/placenta; sangre madre/sangre arterial del cordón; sangre madre/sangre venosa del cordón; placenta/sangre arterial umbilical; placenta/sangre venosa umbilical y sangre arterial del cordón/sangre venosa del cordón.

De la consideración de las ecuaciones de regresión para mercurio, metilmercurio y porcentaje entre los distintos tejidos se observa que hay correlación positiva entre sangre materna y umbilical (vena y arteria) por lo que existe equilibrio entre niveles maternos y fetales, de acuerdo con lo observado por Pitkin (1976).

Entre arteria y vena umbilicales también existe correlación lineal en los niveles tanto de mercurio como de metilmercurio, aunque el nivel de significación es superior para el primer parámetro.

Se aprecian diferencias en el comportamiento del mercurio y metilmercurio al considerar la correlación entre placenta y circulación umbilical. Así existe relación lineal positiva entre placenta y arteria umbilical para mercurio total y no para metilmercurio y su porcentaje; sin embargo no existe correlación entre los contenidos de placenta y vena y aparece entre ellas una correlación negativa para los porcentajes de metilmercurio.

Todo ello indica que ya a niveles bajos se aprecia una tendencia hacia comportamiento selectivo de la placenta en cuanto a acumulación de las formas de mercurio, de acuerdo con lo señalado por Verduyck (1984) y Berlin (1986) con dosis tóxicas. Pero al no haber, con niveles tan bajos de carga corporal, diferencias significativas entre valores medios, no podemos deducir cual de las formas de mercurio tiende a acumularse más.

En conclusión, a los niveles considerados, se puede decir que sólo el pelo es lugar de acumulación para ambas formas de mercurio y no hemos encontrado la acumulación, citada por otros autores (Suzuki y cols. 1984; Horvat y cols. 1990), en placenta, pero parecen existir en ésta diferencias entre la del mercurio y metilmercurio. Resaltamos de nuevo que nuestros datos se han obtenido de placentas perfundidas, porque nos interesaba conocer si se produce acumulación en el tejido placentario, o si sólo se retiene en su gran fracción hemática (lagos venosos, etc.).

De una forma más directa, los coeficientes de distribución respecto a la sangre de la madre, confirman la no acumulación de mercurio en placenta en las condiciones de no exposición de la población estudiada.

De todo ello podemos concluir que, a pesar de ser la nuestra una zona en que el consumo de pescado es alto (tres veces la media nacional), y que este puede proceder de costas con problemas de contaminación por mercurio, no parece que constituya un riesgo serio para la descendencia; sin embargo queda por confirmar la posible variación estacional detectada.

Aún sabiendo que la rata no es el animal idóneo para la extrapolación de datos al hombre en los estudios de toxicidad, debido a que el metilmercurio es para ella más nefrotóxico que neurotóxico, hemos considerado de interés hacer una aproximación experimental con esta especie. Nuestra intención ha sido valorar posibles diferencias en la distribución materno-fetal de mercurio y metilmercurio en respuesta a variaciones de la ingesta dentro de los límites considerados admisibles, sin alcanzar en ningún momento niveles tóxicos. Sobre la validez de las ratas gestantes como modelo para este tipo de estudio, no hemos encontrado referencias en la bibliografía.

De los grupos considerados, dos son los más importantes: uno control, con práctica ausencia de ingesta de mercurio, constituido por ratas gestantes no tratadas, en las que el aporte de mercurio fué sólo el presente en el pienso; ello sería equivalente a lo que ingeriría un humano adulto con dieta normal, comparable con el grupo estudiado por nosotros.

En el grupo tratado se administró una dosificación subfetotóxica calculada a partir de la ingesta semanal tolerable provisional, admitida por el Comité Mixto FAO/OMS (1972), con un factor de seguridad de 100.

Los resultados del grupo control de ratas preñadas no tratadas muestran una gran variabilidad que dificulta la interpretación de los mismos. Esta variabilidad suele presentarse siempre en los lotes sin tratamiento, pero además, en nuestro caso se ve incrementada por la pequeña cantidad de muestra disponible en algunos de los tejidos, factor especialmente limitante con niveles tan bajos de mercurio y metilmercurio en los mismos.

Como en el caso de los humanos, la estadística básica muestra una buena correlación entre mercurio total y metilmercurio y no existe correlación entre el mercurio total y el porcentaje de forma metilada.

De las comparaciones estadísticas realizadas dentro de este grupo, entre el contenido en mercurio total de los distintos órganos respecto

a la sangre materna, se puede deducir que en las madres se produce acumulación en hígado y riñón ($p < 0.001$) y en placenta ($p < 0.05$). Debido a la gran variabilidad que presentaron los datos, no existen diferencias significativas en el contenido medio entre estos tres órganos, aunque se detecta una pequeña tendencia a que la acumulación sea mayor en placenta seguido de riñón e hígado, confirmado por los coeficientes de distribución. Para el metilmercurio, aunque las diferencias entre los contenidos no llegan a ser estadísticamente significativos, la distribución parece seguir un patrón diferente, siendo la acumulación superior en riñón seguido de placenta e hígado.

Los coeficientes de distribución muestran, por tanto, una preferencia de acumulación de metilmercurio (2.57), respecto a mercurio total (1.83) en riñón; en placenta ocurre lo contrario (mercurio total: 2.56, metilmercurio: 1.85), lo que pudiera explicarse porque el metilmercurio atraviese más fácilmente la placenta o bien se desmetile, fijándose como mercurio iónico.

En cuanto a las crías de este lote, no se evidencian diferencias significativas entre los tejidos estudiados (hígado y riñón) y la placenta. Una vez depurados los datos, los coeficientes de distribución apoyan esta observación, aunque la acumulación parece menor en riñón (1.24) que en hígado (2.15). Esta acumulación de mercurio total en hígado fetal se repite si los coeficientes de distribución se calculan respecto a la sangre de cordón umbilical (2.23 para hígado y 1.57 para riñón).

Aunque disponemos de escaso número de valores de metilmercurio en hígado fetal y el pequeño tamaño de la muestra no permitió su determinación en riñón, parece que la distribución en el feto puede ser semejante a la del mercurio total, con coeficiente aún mayor (4.09).

El contraste bilateral tejido-tejido entre madre y feto muestra que tanto para el mercurio como para el metilmercurio no hay diferencias significativas en hígado y sí en riñón, siendo superior el contenido en feto, al menos para mercurio.

En los dos esquemas siguientes se resumen las distribuciones de mercurio y metilmercurio, respectivamente, en ratas preñadas no tratadas expresado como coeficiente de distribución.

El grupo de ratas gestantes tratadas se comportó de forma menos heterogénea, ya que, aunque las dificultades de cantidad de muestra seguían siendo las mismas, los niveles de mercurio eran superiores.

No se manifestó la acumulación de mercurio total, observada en el grupo de ratas no tratadas, en el hígado y la placenta con respecto a la sangre, siendo los niveles en riñón ligeramente superiores a los de la sangre, aunque sin significación estadística. El contenido en cerebro es inferior al de los restantes tejidos ($p < 0.01$). Lo mismo ocurre con el metilmercurio. Los coeficientes de distribución calculados apoyan estas observaciones.

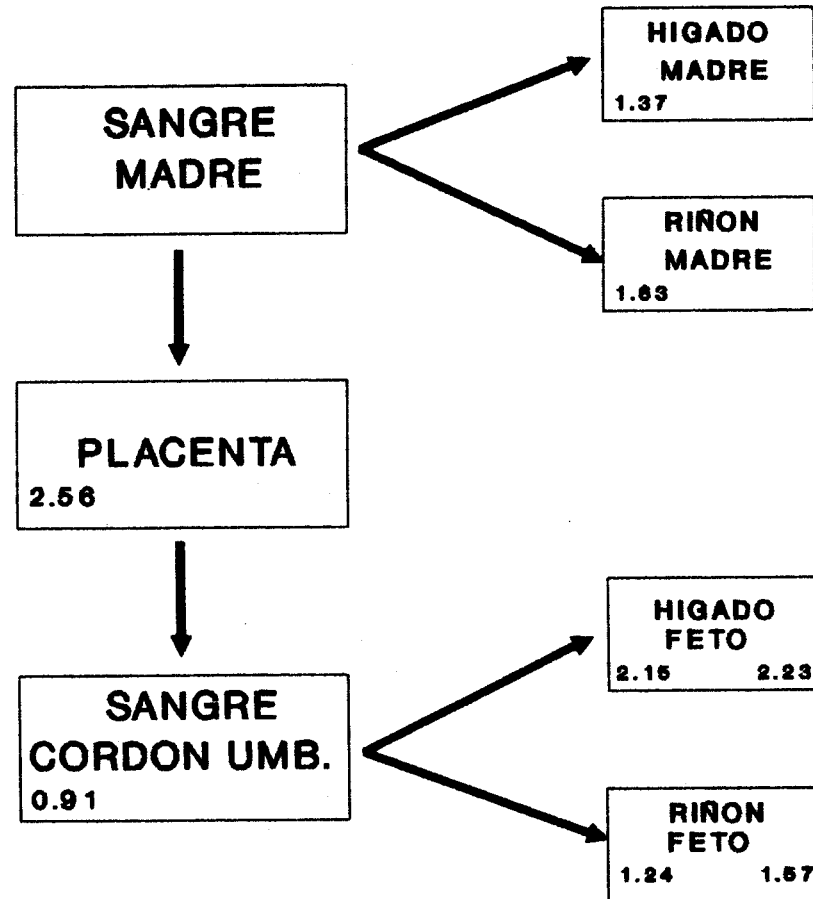
Entre estos tejidos sigue existiendo la relación lineal positiva entre mercurio y metilmercurio, y aparece una relación negativa, con coeficientes de correlación entre 0.75 y 0.90, entre porcentaje de metilmercurio y mercurio total. Esta correlación negativa se había manifestado parcialmente en los contenidos de pelo humano.

La gradación de concentraciones que en orden decreciente es riñón > hígado > cerebro coincide con la conocida (Berlin, 1986) para dosis superiores. El contenido en placenta es similar al del hígado.

En cuanto a las crías de este lote no se detectan diferencias significativas en los niveles tanto de mercurio como de metilmercurio, entre la sangre de cordón y los de placenta. De acuerdo con los resultados, en valores absolutos y de coeficientes de distribución, no hay acumulación en los tejidos fetales, respecto a la sangre materna. Sin embargo sí la hay respecto a la sangre del cordón umbilical.

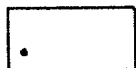
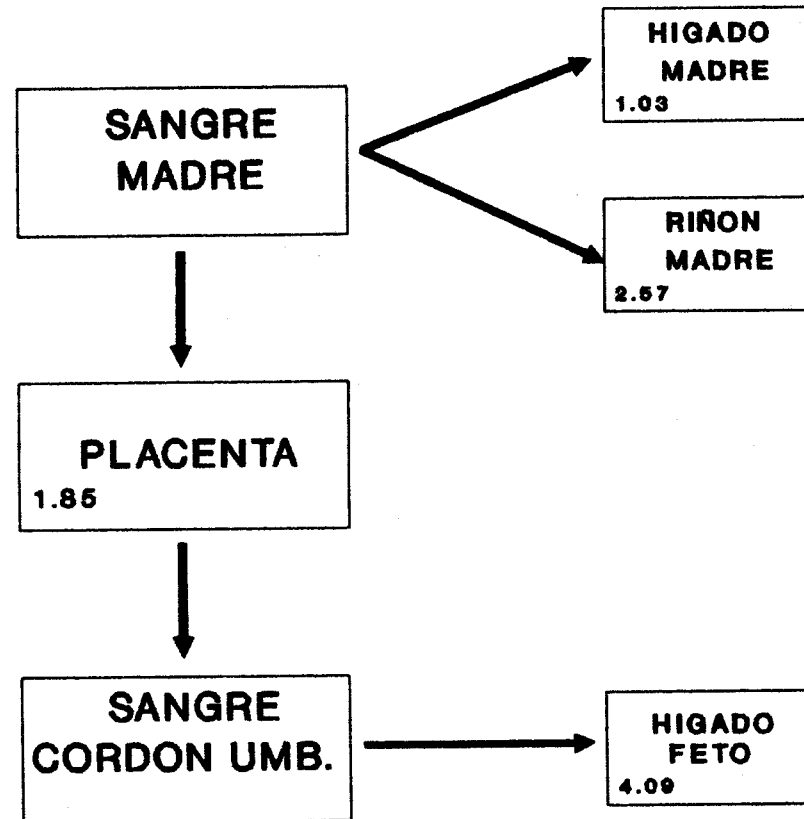
Con respecto a la madre, no hay diferencias significativas entre los contenidos de mercurio total y metilmercurio en hígado, son inferiores en riñón ($p < 0.01$) y ligeramente superior los de cerebro

Distribución de mercurio total en ratas preñadas no tratadas .



• Coeficiente de distribución respecto a sangre materna
 •• Coeficiente de distribución respecto a sangre de cordon

Distribución de metilmercurio en ratas preñadas no tratadas.



• Coeficiente de distribución respecto a sangre materna

($p < 0.05$).

Entre los tejidos fetales si parece existir una ligera acumulación en hígado respecto a riñón y cerebro. La gradación de concentraciones en feto es hígado>riñón>cerebro. Por tanto, mientras que en la rata adulta el riñón es el órgano principal acumulador de mercurio y metilmercurio, en feto es el hígado.

A estas dosis (grupo tratado) no se observan las diferencias de comportamiento en la distribución de mercurio y metilmercurio, detectadas a dosis más bajas.

De las ecuaciones de regresión establecidas para los contenidos de mercurio, metilmercurio y porcentaje, observamos que para el mercurio los mejores coeficientes de correlación se dan entre sangre y riñón en la madre ($r=0.6060$) y sangre de cordón e hígado en el feto ($r=0.9565$), coincidiendo con las características de acumulación. También existe una buena correlación ($r=0.7657$) entre sangre de la madre y sangre del cordón.

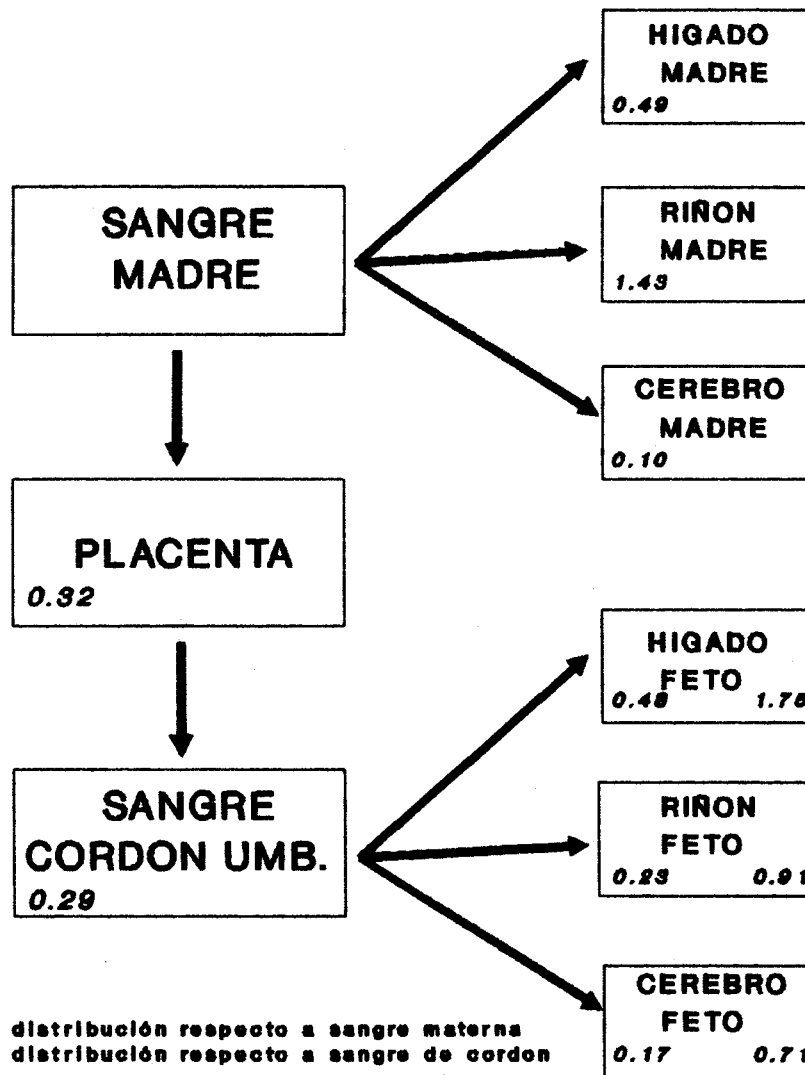
En los siguientes esquemas se resumen las distribuciones de mercurio y metilmercurio en ratas preñadas tratadas expresados como coeficientes de distribución.

En el grupo de ratas no preñadas y no tratadas se observa acumulación igual en hígado y riñón, respecto a su sangre. Cabe pensar por tanto que la situación de gestación moviliza preferentemente el mercurio contenido en hígado.

En ratas tratadas y no preñadas, aunque el lote fué sólo de tres animales y los resultados carecen de rigor estadístico, los contenidos más altos de mercurio total y metilmercurio se presentan en riñón, sin modificación respecto a las preñadas.

El contraste bilateral, entre ratas preñadas tratadas y no

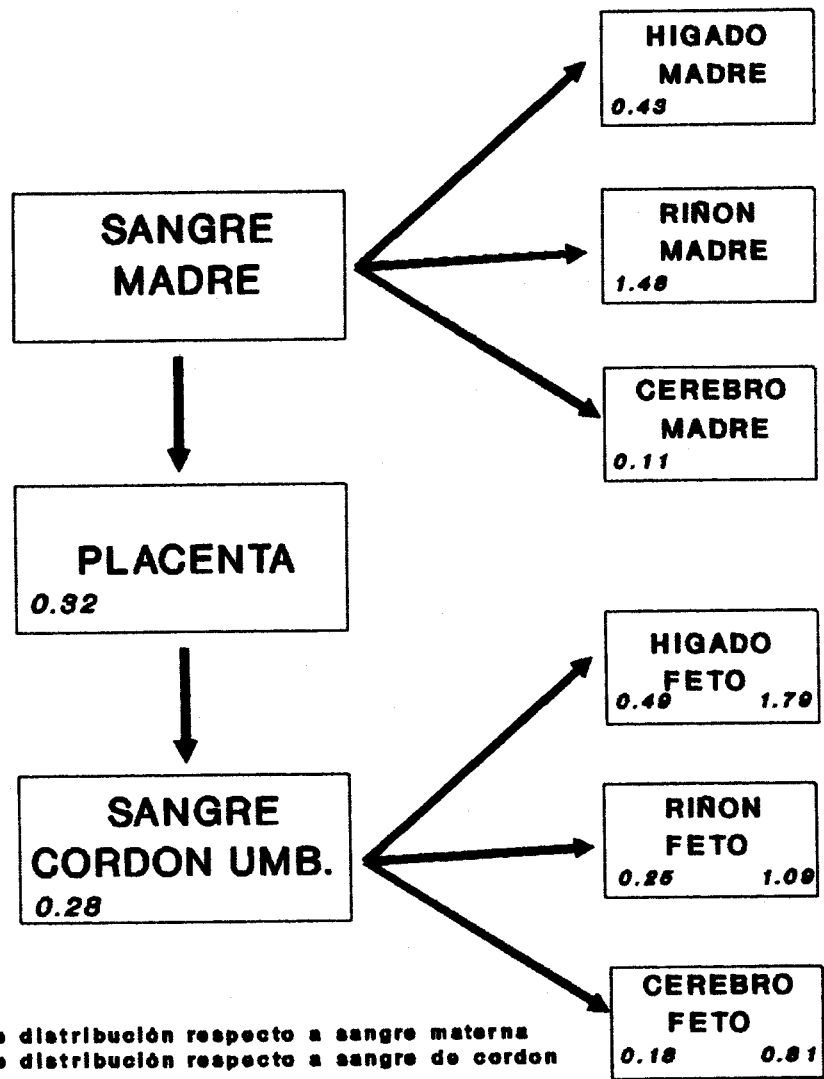
Distribución de mercurio total en ratas preñadas tratadas.



• ••

• Coeficiente de distribución respecto a sangre materna
 •• Coeficiente de distribución respecto a sangre de cordón

Distribución de metilmercurio en ratas preñadas tratadas.



• Coeficiente de distribución respecto a sangre materna
 •• Coeficiente de distribución respecto a sangre de cordón

tratadas, confirma las diferencias toxicocinéticas dosis dependiente señaladas antes: distinto comportamiento de retención de mercurio y metilmercurio en placenta a dosis bajas, no observado con dosis más altas, ya que los porcentajes de metilmercurio y coeficientes de distribución de mercurio en placenta, entre rata tratada y no tratada, son estadísticamente diferentes ($p < 0.01$); desaparición de la acumulación hepática al aumentar la dosis, manteniéndose la renal, al existir diferencias significativas en el contenido de mercurio total en hígado ($p < 0.05$) y no en riñón. El hecho de que aparezcan diferencias significativas en el contenido en mercurio en hígado de feto y no en el de metilmercurio apoya la diferente retención en placenta.

En crías lactantes de varios días, aunque tampoco contamos con base estadística, observamos un incremento del contenido de mercurio en tejidos con respecto a la sangre de la madre, tanto en animales tratados como no tratados. Esta observación debería ser confirmada ya que sugiere que el aporte a través de la leche, citado en humanos (Pitkin, 1976; Skerfving, 1988), se da también en ratas a niveles de mercurio muy bajos.

Globalmente encontramos un doble comportamiento toxicocinético del mercurio dependiente de la dosis. A concentraciones tan bajas, como las correspondientes a una dieta habitual (ratas control) se aprecia ligera acumulación de mercurio en órganos con respecto a la sangre; cuando se aumentan ligeramente las dosis en un tratamiento crónico, manteniéndonos en las subtóxicas (lote tratado), la concentración en sangre se hace igual o superior a la de los tejidos, probablemente debido a la persistencia de la fase de absorción sin haberse saturado los mecanismos homeostáticos.

La única comparación posible entre humanos y ratas es la de los coeficientes de distribución placentarios. De ella podemos deducir que no existen diferencias significativas entre los coeficientes de distribución de metilmercurio, aunque sí en los de mercurio, entre humanos y ratas no tratadas, a las que se suponía, a priori, un mismo nivel de exposición. Al aumentar la dosis, la distribución placentaria en ratas parece seguir, al menos cuantitativamente, pautas diferentes,

igual que ocurría en la comparación rata-rata.

De los resultados obtenidos podemos concluir que el modelo experimental se ha comportado de acuerdo con los conocimientos actuales para dosis altas en ratas, en cuanto a secuencia de acumulación relativa en los distintos tejidos, y en líneas generales también con lo que teóricamente era previsible. Puede ser admisible, en principio, como modelo de la distribución placentaria de metilmercurio en humanos. Para una mayor extrapolación, no obstante, presenta el inconveniente de la pequeña cantidad de muestra que puede obtenerse de algunos tejidos (cordón, riñón de feto), que obliga a trabajar con muestras medias y dificulta las determinaciones de niveles muy bajos si se quieren simultanear las de mercurio y metilmercurio. Por ello recomendamos para un futuro el realizar los ensayos con especies de mayor tamaño, al menos cuando se trabaje con dosis subtóxicas.

C O N C L U S I O N E S

CONCLUSIONES

PRIMERA.- En el momento de nuestro estudio, los niveles mercuriales en coquinas se ajustan a los requisitos legales, no así los de pez espada, por lo que estimamos recomendable limitar la ingesta del mismo a una vez por semana.

SEGUNDA.- De acuerdo con las concentraciones encontradas en muestras de pelo de dos grupos de mujeres embarazadas, parecen existir variaciones estacionales para el contenido de mercurio aunque no para metilmercurio, lo que sería necesario confirmar mediante un estudio de intención cronotoxicológica.

TERCERA.- Según los datos obtenidos, la situación de exposición de nuestra población al mercurio, pese al elevado consumo de pescado, es comparable con la de otras poblaciones europeas, sin que parezca existir riesgo para la descendencia por esta causa.

CUARTA.- Se confirma en nuestra población la correlación entre el contenido de mercurio en pelo y en sangre, con un factor de correlación $r=0.6588$, semejante al de otras poblaciones europeas.

QUINTA.- Con los niveles de exposición considerados, no hemos observado acumulación de mercurio ni de metilmercurio en tejido placentario libre

de fracción hemática. Por ello entendemos que la retención señalada por otros autores podría deberse a la sangre que irriga este órgano (lagunas venosas).

SEXTA.- A niveles bajos de exposición, existe equilibrio entre las concentraciones sanguíneas maternas y umbilicales de mercurio y metilmercurio, linealmente relacionadas.

SEPTIMA.- En estas situaciones de baja exposición, el análisis de la correlación estadística pone de manifiesto una tendencia hacia un comportamiento selectivo de la placenta humana en cuanto a la transferencia al feto de las dos formas de mercurio.

OCTAVA.- En ratas preñadas no tratadas, cuyo único aporte de mercurio es el contenido en el pienso, se manifiesta una preferente acumulación en riñón, de metilmercurio respecto a mercurio total, mientras que en placenta ocurre lo contrario. Ello confirma el comportamiento selectivo de la placenta respecto a las dos formas de mercurio, a que se refieren para humanos, la conclusión anterior.

NOVENA.- Por el contrario, en las ratas no preñadas y no tratadas se aprecia similar acumulación en hígado y riñón, de mercurio y de metilmercurio, frente a su sangre. Ello sugiere una movilización del mercurio desde el hígado, en el estado de gestación.

DECIMA.- Al aumentar moderadamente la exposición (ratas preñadas tratadas durante el período de gestación) no se manifiesta acumulación en tejidos ni de mercurio total ni de metilmercurio, permaneciendo ligeramente altas las concentraciones en riñón.

DECIMO PRIMERA.- Pensamos por tanto que, al menos en ratas, existe un comportamiento toxicocinético bimodal del mercurio, en relación con la dosis a bajos niveles: Con la exposición debida a la dieta habitual se manifiesta acumulación en tejidos frente a la sangre ($CD > 1$), además hay diferente retención para mercurio total y metilmercurio. Con dosis crónicas subtóxicas no se evidencia esta acumulación y las dos formas de

mercurio se comportan por igual.

DECIMO SEGUNDA.- En los fetos de los lotes de ratas tanto tratadas (con dosis subtóxicas) como sin tratar, no se aprecia un coeficiente de distribución superior a 1 (acumulación tisular) del mercurio frente a sangre materna, pero sí con respecto a la sangre del cordón umbilical.

En ambos lotes, aparece preferentemente acumulación en hígado.

DECIMO TERCERA.- En todos los grupos estudiados, tanto humanos como animales, se demuestra una relación lineal entre el contenido de mercurio y de metilmercurio en tejidos. En la mayoría no existe correlación entre mercurio total y el porcentaje de forma metilada.

En ratas, al aumentar la exposición se confirma estadísticamente una correlación lineal negativa entre ambos parámetros, ya detectada en pelo humano.

DECIMO CUARTA.- Por último, y de conformidad con todo lo anteriormente expuesto, estimamos que el modelo experimental utilizado puede ser válido para el estudio de la distribución placentaria de metilmercurio en humanos.

B I B L I O G R A F I A

A.O.A.C. (1984) Official Methods of Analysis 14th Ed., AOAC, Arlington V.A., sec. 25.

ABBAS-ALI, B. (1980) Effect of mercuric chloride on microsomal enzyme system in mouse liver. *Pharmacology*, 21 (1): 59-63.

ABD-ELEFATTAH, A.S.A. y SHAMOO, A.E. (1981) Regeneration of a functionally active rat brain muscarinic receptor by D-penicillamine after inhibition with methylmercury and mercuric chloride. Evidence for essential sulphidryl groups in muscarine receptor binding sites. *Mol. Pharmacol.* 20 (3): 492-497.

ABERG, B.; EKMAN, L.; FALK, R.; GREITZ, U.; PERSSON, G. y SNIHS, J. (1969) Metabolism of methylmercury (^{203}Hg) compounds in man. *Arch. Environ. Health*, 19: 478-484.

ABRAHAN, J.E.; SVARE, C.W. y FRANK, C.W. (1984) The effects of amalgam dental restorations on blood mercury levels. *J. Dent. Res.*, 63: 71-73.

ACKEFORS, H.; LOFRONTH, G. y ROSENG, G. (1970) A survey of the mercury pollution problem in Sweden with special reference fish. *Oceanogr. Mar. biol. Ann. Rer.*, 8: 203-224.

AHAMMAD-SAHIB, K.I.; MOORTHY, K.S. y DESAIAH, D. (1987) Effects of methylmercury and cadmium on the kinetics of substrate activation of (K⁺)-Paranitrophenil phosphatase. *J. Appl. Toxicol.* 7 (3): 221-226.

AHLBOM, A.; NORELL, S.; NYLANDER, M. y RODVALL, Y. (1986) Dentists, dental, nurses, and brain tumours. *Br. Med. J.*, 292: 662.

AL-MUFTI, A.W.; COPPLESTONE, J.F.; KAZANTZIS, G.; MAHMOND, R.M. y MAJID, M.A. (1976) Epidemiology of organomercury poisoning in Iraq. I. Incidence in a defined area and relationship to the eating of contaminated bread. *Bull. World Health Organ.*, 53 (Suppl): 23-36.

ALBERS, J.W.; CAVENDER, G.D.; LEVINE, S.P. y LANGOLF, G.D. (1982) Assymtomatic sensorimotor polyneuropaty in workers exposed to elemental mercury. *Neurology*, 32: 1168-1174.

ALBERS, J.W.; KALLENBACH, L.R.; FINE, L.J.; LANGOLF, G.; WOLFE, R.A.; DONOFRIO, P.D.; ALESSI, A.G.; STOLP-SMITH, K.A.; BROMBERG, M.B. y The Mercury Workers Study Group (1988) Neurological abnormalities associated with remote occupational elemental mercury exposure. *Annals of Neurology*, 24: 651-659.

ALLY, A.; PHIPPS, J. y MILLER, D.R. (1984) Interaction of methylmercury chloride with cellular energetics and related processes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 76: 207-218.

ALZIEU, C. y THIBAUD, Y. (1983) Pollution marine par les organométalliques: cas des dérivés du mercure, du plomb et de l'étain. *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 167 (5): 473-482.

AMIN-ZAKI, L.; ELHASSANI, S.; MAJEED, M.A.; CLARKSON, T.W.; DOHERTY, R.A.; GREENWOOD, M. y GIOVANOLI-JAKUBCZAK, T. (1976) Perinatal methylmercury poisoning in Iraq. *Am. J. dis. Child.*, 130: 1070-1076.

ANNAU, Z. y CUOMO, V. (1988) Encephalopathies caused by heavy metals: Methylmercury. En: Nappi G. (ed.) *Neurodegenerative Disorders: The role*

played by endotoxins and xenobiotics. Raven Press. New York, 66.

ANSARI, M.S.; MILLER, W.J.; GENTRY, R.P.; NEATHERY, M.W. y STAKE, P.E. (1973) Tissue ^{203}Hg distribution in young Holstein calves after single tracer oral doses in organic and inorganic forms. *J. Anim. Sci.*, 36: 415-419.

ASCHNER, H. y CLARKSON, T.W. (1988) Distribution of mercury 203 in pregnant rats and their fetuses following systemic infusions with thiol-containing amino acids and glutathione during late gestation. *Teratology*, 38: 145-155.

ASCHNER, M. (1989) Brain, kidney and liver ^{203}Hg -methylmercury uptake in the rat: Relationship to the neutral amino acid carrier. *Pharmacology and Toxicology*, 65: 17-20.

ASTON, S.R. Y FOWLER, S.W. (1985) Mercury in the open Mediterranean: evidence of contamination?. *The Science of the total Environment*, 43: 13-26.

BAKIR, F.; DAMLUJI, S.F.; AMIN-ZAKI, L.; MURTHADA, M.; KHALIDI, A.; AL-RAWI, N.Y.; AL-TIKRITI, S.; DHAHIR, H.I.; CLARKSON, T.W.; SMITH, J.C. y DOHERTY, R.A. (1973) Methylmercury poisoning in Iraq. *Science*, 181: 230-241.

BARLETT, P.D. y CRAIG, P.J. (1987) Total mercury and methylmercury levels in British estuarine sediments II. *Water Res.*, 15: 37.

BARREGARD, L.; HULTBERG, B.; SCHUTZ, A. y SALLSTEN, G. (1988) Enzymuria in workers exposed to inorganic mercury. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 61: 65-69.

BARTOLOME, J.; TREPANIER, P. y CHAIT, E.A. (1982) Neonatal methylmercury poisoning in the rat. Effect on development of central catecholamine neurotransmitter systems. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 65: 92-99.

BARTOLOME, J.; CHAIT, E.A. y TREPANIER, P. (1982) Organ specificity of neonatal methylmercury hidroxide poisoning in the rat: Effects on ornithine descarboxilase activity in developing tissues. *Toxicol. Lett.*, 13: 267-276.

BARTOLOME, J.V.; KAVLOC, R.J. y COWDERY, T. (1987) Development of adrenergic receptor binding sites in brain regions of the neonatal rat: Effects of prenatal or postnatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicology*, 8: 1-14.

BERLIN, M.; FAZACKERLEY, J. y NORDBERG, G. (1969) The uptake of mercury in the brains of mammals exposed to mercury vapor and mercuric salts. *Arch. Environ. Health*, 18: 719-729.

BERLIN, M. (1976) Dose-response relations and diagnostic indices of mercury concentrations in critical organs upon exposure to mercury and mercurials. En: Nordberg, G.F. (ed.), *Effects and dose response relationships of toxic metals*. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam.

BERLIN, M. (1986) Mercury. En Friberg, L.; Nordberg, G.F. y Voux, V.B. (eds.). *Handbook on the toxicology of metals*. Ed. Elsevier Science Publishers. Amsterdam. II, 16: 387- 445.

BERNARD, S.R. y PURDUE, P. (1984) Metabolic models for methyl and inorganic mercury. *Health. Phys.*, 46: 695-699.

BERNHARD, M. y GEORGE, S.G. (1986) Importance of chemical species in uptake, loss, and toxicity of elements for marine organisms. En: Bernhard, M.; Brinckman, F.E. y Sadler, P.J. (eds.) *The importance of chemical "speciation" in environmental proceses*. Ed. Springer-Verlag. Heidelberg, Berlin, 385-422.

BERTALANFFY, F.D. y LAU, C. (1963) Mitotic-rates, renewal times, and cytodynamics of de female genital tract epithelia in the rat. *Acta. anat.*, 54: 39-81.

BIDSTRUP, P.L. (1964) Toxicity of mercury and its compounds. Ed. Elsevier Publishing Company, London.

BOTELLA LLUSIA, J. y CLAVERO NUÑEZ, J.A. (1978) Tratado de Ginecología: Fisiología femenina. Ed. Científico-Médica, 12ª ed. Barcelona, 12: 209-221.

BIRKE, G. (1972) Studies on humans exposed to methylmercury through fish consumption. Arch. Environ. Health., 25: 77-91.

BRAUNE, B.M. (1987) Mercury accumulation in relation to size and age of Atlantic herring (Clupea harengus harengus) from the southwestern bay of Fundy, Canada. Arch. Environ. cotam. Toxicol., 16: 311-320.

BRUTON, G.V. y MEIKLE, A.W. (1980) Acute and chronic methyl-mercury poisoning impairs rat adrenal and testicular function. J. Toxicology Environ. Health, 6: 597-606.

BUCHET, J.P.; ROEL, H.; BERNARD, A. y LAUWERYS, R.R. (1980) Assessment of renal function of workers exposed to inorganic lead cadmium or mercury vapor. J. Occup. Med. 22: 741-750.

BURK, R.F.; FOOSTER, K.A.; GREENFIELD, P.M. y KIKER, K.W. (1974) Binding of simultaneously administered inorganic selenium and mercury to a rat plasma protein. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 45: 782-785.

BURRIEL MARTI, F.; LUCENA CONDE, F.; ARRIBAS JIMENO, S. y HERNANDEZ MENDEZ, J. (1983) Química analítica cualitativa. Ed. Paraninfo. 11ª ed. ampliada y actualizada. Madrid, 10: 436.

BURROWS, D. (1986) Hipersensivity to mercury, nickel and chromium in relation to dental materials. Int. dent. J., 36: 30-34.

BUTLER, G.C. (1978) Principles of ecotoxicology. Ed. Wiley and sons, Toronto.

CAPELLI, R.; MINGANTI, U.; SEMINO, G. y BERTARINI, W. (1986) The presence of mercury (total and organic) and selenium in human placental. *Sci. Total Environ.*, 48: 69-79.

CAPPON, C.J. y SMITH, J.C. (1978) A simple and rapid procedure for the gas-chromatographic determination of methylmercury in biological samples. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19: 600-607.

CARMONA DE LA ROSA, G.; ROMANO, C.; FERNANDEZ, I.; ALVARADO, M.; FLORES, D.; GRANELLA, D.; JOHNSON, E.L. y ZAMBRANO, W. (1980) Estudio sobre la concentración de metilmercurio sanguíneo en madres y sus recién nacidos en habitantes del Distrito Puerto Cabello y Distrito Valencia. Valencia (Venezuela).

CARMONA, G.; MONACO, M. y ROMANO, C. (1982) Implicaciones toxicológicas del mercurio en la odontología. Universidad de Carabobo-Barbula, Valencia (Venezuela).

CASTRANOVA, V.; BOWMAN, I.; REASOR, M.J. y MILES, P.R. (1980) Effects of heavy metals ions on selected oxidative metabolic processes in rat alveolar macrophages. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 53: 14-23.

Catálogo de Especialidades Farmacéuticas (1990). Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos.

CEMBER, H.A. (1969) A model for the kinetics of mercury elimination. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 30: 367.

CHANG, L.W.; GILBERT, M. y SPRECHLER, J. (1978) Modification of methylmercury neurotoxicity by vitamin E. *Environ. Res.*, 17: 356-366.

CHANG, L.W. (1981) Mercury. En: Spencer, P. and Schaumburg, H.H. (eds.). *Experimental and Clinical Neurotoxicology*. Ed. Waverly and Sons. Inc. Baltimore (U.S.A.), 35: 508-519.

CHARR, R. (1936) Ancient chinese medicine. *Ann. Med. Hist.*, 8: 242.

CHATT, A. y KATZ, S.A. (1988) Hair Analysis. Applications in the Biomedical and Environmental Sciences. VCH Publishers. USA.

CHERIAN, M.G.; HURSCH, J.B.; CLARKSON, T.W. y ALLEN, J. (1978) Radioactive mercury distribution in biological fluids and excretion in human subjects after inhalation of mercury vapor. Arch. Environ. Health, 33: 109-114.

CHMIELNICKA, J.; BRZEZNICKA, B.; BARANSKI, B. y SITAREK, K. (1985) The effect of methylmercury on prenatal development and trace metal distribution in pregnant and fetal rats. Biol. Trace. Elem. Res., 8: 191-201.

CHOI, B.H.; CHO, K.H. y LAPHAM, L.W. (1980) Effects of methylmercury on DNA synthesis of human fetal astrocytes: a radioautographic study. Brain Res., 202: 238-242.

CHOI, B.H.; KIM, R.C. y PECKHAM, N.H. (1988) Hydrocephalus following prenatal methylmercury poisoning. Acta Neuropathol., 75: 325-330.

CHRISTENSEN, M.; MONGENSEN, S.C. y RUNGBY, J. (1988) Toxicity and structural localization of mercuric chloride in cultured murine macrophages. Arch. Toxicol., 62: 440-446.

CHRISTENSEN, M.; RUNGBY, J. y MOGENSEN, C. (1989) Effects of selenium on toxicity and ultrastructural localization of mercury in cultured murine macrophages. Toxicology Letters, 47: 259-270.

CIKRT, M. Y BENCKO, U. (1989) Mercury-selenium interaction: distribution and excretion of $^{203}\text{Hg}^{2+}$ in rats after simultaneous administration of selenite or selenate. Toxicology Letters, 48: 159-164.

CLARKSON, T.W. (1971) Epidemiological and experimental aspects of lead and mercury contamination of food. Food Cosmet. Toxicol., 9: 229-243.

CLARKSON, T.W. y KLIPPER, R.W. (1978) The metabolism of inhaled vapor in animals and man. En: Clarkson, T.W. (ed.), Heavy metals as environmental hazards to man. Environmental Health Sciences Center Program Project. Rochester, New York, 449A-449B.

CLARKSON, T.W.; COX, C.; MARCH, D.O.; MYERS, G.J.; AL-TIKRITI, S.K.; AMIN-ZAKI, L. y DABBAJH, A.R. (1981) Dose-response relationships for adults and prenatal exposure to methylmercury. En: Berg, G.G. y Maillie, H.D. (eds.), Measurements of risks. Ed. Plenum Press, New York, 111-129.

CLARKSON, T.W.; FRIBERG, L.; HURSH, J.B. y NYLANDER, M. (1988) The prediction of intake of mercury vapor from amalgams. En: Clarkson, T.W.; Friberg, L.; Nordberg, G.F. y Sager, P. (eds.). Biological monitoring of metals. Ed. Plenum Press. New York, 247-264.

CLARKSON, T.W. (1988) Mercury toxicity. En: Prasad A.S. (ed). Current Topics in Nutrition and Disease. Essential and toxic trace elements in human health and disease. Ed. Alan R. Liss. Inc. New York, XVIII, 18: 631-643.

COMISION DEL CODEX ALIMENTARIUS (1987) Mercurio en el pescado y los productos pesqueros. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios, 19ª reunión, La Haya.

COMPEAU, G. y BARTHA R. (1984) Methylation and demethylation of mercury under controlled redox, pH, and salinity conditions. Appl. Environ. Microbiol., 48: 1203-1207.

COX, S.W. y ELEY, B.M. (1986) The release tissue distribution and excretion of mercury from experimental tattoos. Br. J. Exp. Path., 67: 925-935.

COX, C.; CLARKSON, T.W.; MARSCH, D.O.; AMIN-ZAKI, L.; AL-TIKRITI, S. y MYERS, G.G. (1989) Dose-response analysis of infants prenatally exposed to methylmercury: An application of a single compartment model to single-strand hair analysis. Environmental Research, 49: 318-332.

- CRAGLE, D. L.; HOLLIS, D.R.; QUALTERS, J.R.; TANKERSLEY, W.G. y FRY, S.A. (1984) A mortality study of men exposed to elemental mercury. *Journal of Occupational Medicine*, 26: 817-821.
- CURLE, D.C.; RAY, M. y PERSAND, T.V.N. (1983) Methylmercury toxicity: In vivo evaluation of teratogenesis and cytogenetic changes. *Can. Anat. Anz.*, 153: 69-82.
- DE FREITAS, A.S.W. (1977) Origins and fate of mercury compounds in fish. *Spec. Rep. Ottawa University*, 2.
- DE TOURRIS, H.; HENRION, R. y DELECOUR, M. (1979) Manual ilustrado de Ginecología y Obstetricia. Ed. Toray-Masson. 2ª ed. Barcelona, 265-268.
- DEWIVEDI, C.; RAGHUNATAN, R.; YOSHI, B.C. y FOSTER, H.W. JR. (1980) Effect of mercury compounds on cholineacetyl transferasa. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 30 (2): 381-384.
- DOI, R.; KASAMO, M; ISHIKAWA, M. y SHIMIZU, T. (1984) Factors influencing placental transfer of methylmercury in man. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 33: 69-77.
- E.P.A. (1984) Mercury Health Effects Update U.S. Environmental Protection Agency. Washington. D.C. 20460 E.P.A.- 600/8-84 019F.
- ELINDER, G.G.; GERHARDSSON, L. y OBERDOERSTER, G. (1988) Biological monitoring of metals. En: Clarkson, T.W.; Friberg, L.; Nordberg, G.F. y Sager, P. (eds.). *Biological monitoring of metals*. Ed, Plenum Press. New York, 1-71.
- ENGLESON, G. y HERNER, T. (1952) Alkyl mercury poisoning. *Acta Paediatr. Scand.*, 41: 289-294.
- ENWONWU, C.O. (1987) Potential health hazard of use of mercury in dentistry: Critical review of the literature. *Environ. Res.*, 42: 251-274.

ESTABLIER, R. (1972) Concentración de mercurio en los tejidos de algunos peces, moluscos y crustáceos del golfo de Cádiz y caladeros del noroeste africano. *Inv. Pesq.* 36 (2): 355-364.

EUROSTAT (1985) EC raw materials balance sheets 1979-1982. Office for official publications of the European Communities, Luxembourg, 180.

EYBL, V.; SYKOVA, J. y MERTL, P. (1969) Einflub von natriumselenit, natriumtellurit und natrium sulfit auf retention und verteilung von Quecksilber bei Mäusen. *Arch. Toxicol.*, 25: 296-305.

FANG, S.C. y FALLIN, E. (1973) Uptake, distribution and metabolism of inhaled ethylmercuric chloride in the rat. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1347.

FANG, S.C. (1977) Interaction of selenium and mercury in the rat. *Chem. Biol. Interact.*, 40: 17-25.

FOA, V.; CAIMI, L.; AMANTE, L.; ANTONINI, C.; GATTINONI, A.; TETTAMANTI, G.; LOMBARDO, A. y GIULIANI, A. (1976) Patterns of some lysosomal enzymes in the plasma and of proteins in urine of workers exposed to inorganic mercury. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 37: 115-124.

FOA, V. (1985) Neurotoxicity of elemental mercury: Occupational aspects. En: Blum, K. y Manzo, L. (eds.). *Neurotoxicology*. Ed. Dekker M. Inc. New York, 15: 323.

FRANKLAND, E. y DUPPA, B.F. (1863) On a new method of producing the mercury compound of the alcohol radicals. *J. Chem. Soc.* 1: 415.

FRIBERG, L. y MOTTET, N.K. (1989) Accumulation of methylmercury and inorganic mercury in the brain. *Biological Trace Element Research*, 21: 201-206.

GALSTER, W.A. (1976) Mercury in Alaskan eskimo mothers and infants. *Environ. Health Perspect.*, 15: 130-140.

- GARCIA VALDECASAS, F. (1978) Farmacología. Ed. Espaxs. 7ª ed. Barcelona, 10: 345-347.
- GEIGY, J.R. (1965) Documenta Geigy. Tablas científicas. Ed. Geigy J.R., S.A. 6ª ed. Basilea, Suiza.
- GELBIER, S. y INGRAM, I. (1989) Posibles efectos fetotóxicos del mercurio vapor, un caso report. Public. Health., 103: 35-40.
- GOLDWATER, L.J. (1936) From Hippocrates to Ramazzini: Early history of industrial medicine. Ann. Med. Hist., 8: 27.
- GONZALEZ, E.; UGARTE, M.C. y TEJEDOR, J.N. (1988) Toxicocinética aplicada a la higiene industrial. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 1ª ed. Madrid.
- GOSELIN, R.E.; HODGE, H.C.; SMITH, R.P. y GLEASON, M.N. (1976) Clinical toxicology of comercial products. Ed. Williams y Wilkins. Baltimore, USA.
- GOTELLI, C.; ASTOLFI, E.; COX, C.; CERNICHIARI, E.; CLARKSON, T.W. (1985) Early biochemical effects of an organic mercury fungicide on infants: "Dose makes the poison". Science, 227: 638-640.
- GRUPO DE EXPERTOS SUECOS (1971) Methylmercury in Fish. Nord. Hyg. Tidskrift, 4 (suppl.).
- HADMMOND, P.B. y BELILES, R.P. (1980) Metals. En: Doull, J.; Klaassen, C.D. y Amdur, M.O. (eds.) Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons. Ed. MacMillan Publishing Co. Inc. 2ª ed. New York, 17: 421-428.
- HALBACH, S. y CLARKSON, T.W. (1978) Enzymatic oxidation of mercury vapors by Erithocytes. Biochem. Biophys. Acta, 522-531.
- HAMMOND, N.I. (1971) Mercury in the environment. Natural and human factors. Science, 171: 788-78.

HARGREAVES, R.J.; EVANS, J.G.; JANOTA, I.; MAGOS, L. y CAVANAGH, J.B. (1988a) Persistent mercury in nerve cells 16 years after metallic mercury poisoning. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 14: 443-452.

HARGREAVES, R.J.; ELEY, B.P.; MOORHOUSE, S.R. y PELING, D. (1988b) Regional cerebral glucose metabolism and blood flow during the silent phase of methylmercury neurotoxicity in rats. *J. Neurochem.*, 51 (5): 1350-1355.

HASEGAWA, K.; OMATA, S. y SUGANO, H. (1988) In vivo effects of methylmercury on the activities of aminoacyl-tRNA synthetases in rat brain. *Arch. Toxicol.* 62: 470-472.

HASS, U.; HANSEN, E.V. y OLSEN, J.H. (1989) Toxicokinetics and toxicodynamics. En: *Embryo-fetal Damage and Chemical Substances. Working Party Report*, 6: 70-77.

HAXTON, J.; LINDSAY, D.G.; HISLOP, J.S.; SALMON, L.; DIXON, E.J.; EVANS, W.H.; REID, J.R.; HEWITT, C.J. y JEFFRIES, D.F. (1979) Duplicate diet study on fishing communities in the United Kingdom: Mercury exposure in a "Critical Group". *Environmental Research*, 18: 351-368.

HIROTA, Y. (1986) Effect of methylmercury on the activity of glutathione peroxidase in rat liver. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 47 (8): 556-558.

HOLT, D. y WEBB, M. (1986a) The toxicity and teratogenicity of mercuric mercury in the pregnant rat. *Arch. Toxicol.*, 58: 243-248.

HOLT, D. y WEBB, M. (1986b) Comparison of some biochemical effects of teratogenic doses of mercuric mercury and cadmium in the pregnant rat. *Arch. Toxicol.*, 58: 249-254.

HORVAT, M.; STEGNAR, A.; BYRNE, A.R.; DERMLJ, M. y BRANICA, A. (1988) A study of trace elements in human placenta, blood and hair from the Yugoslav central Adriatic. En: Braetter, P y Schramel, P. (eds.). *Trace Elements-analytical chemistry in medicine and biology*. Ed. W. de Gruyter

& Co. Berlin, V: 243-250.

HORVAT, M.; BEGIC, I.; PROSENC, A.; SMRKE, J.; KONDA, D.; BYRNE, A.R. y STEGNAR, P. (1990) A study of some trace elements in human hair and the foeto-placental system in women from the Central Slovenian region. International Symposium on Trace Elements in Health and Disease. Espoo, Finland.

HOWARD, J.D. y MOTTET, N.K. (1986) Effects of methylmercury on the morphogenesis of the rat cerebellum. *Teratology*, 34: 89-95.

HUGHES, W.L. (1957) A physico-chemical rationale for the biological activity of mercury and its compounds. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 65: 454.

HUNTER, D.; BOMFORD, R.R. y RUSSELL, D.S. (1940) Poisoning by methylmercury compounds. *Quarterly Journal of Medicine.* 9: 193.

HUNTER, D. y RUSSELL, D.S. (1954) Focal cerebellar atrophy in human subject due to organic mercury compounds. *Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry.* 17: 235.

HUNTER, D. (1955) *The diseases of occupations.* Ed. English Universities Press. 1ª ed. London, 29.

HURSH, J.B.; CLARKSON, T. W.; CHERIAM, M.G.; VOSTAL, J.V. y MALLIE, R.V. (1976) Clearance of mercury (Hg^{197} , Hg^{203}) vapor inhaled by human subjects. *Arch. Environ. Health.*, 31: 302-309.

HURSH, J.B.; GREENWOOD, M.R.; CLARKSON, T.W.; ALLEN, J. y DEMUTHS, S. (1980) The effect of ethanol on the fate of mercury vapor inhaled by man. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 214: 520.

HURSH, J.B.; CLARKSON, T.W.; MILES, E. y GOLDSMITH, L.A. (1988) Percutaneous absorption of mercury vapour by man. *Arch. Environ. Health* (in press).

INOUE, M.; HURAO, K. y KAJIWARA, Y. (1985) Behavioral and neurophatological effects of prenatal methylmercury exposure in mince. Neurobehav. Toxicol. Teratol, 7: 227-232.

INOUE, M. y KAJIWARA, Y. (1988) Developmental disturbances of the fetal brain in guinea pigs caused by methylmercury. Arch. Toxicol., 62: 15-21.

IRUKAYAMMA, K. (1966) The pollution of Minamata Bay and Minamata disease. Proceedings of 3rd IAWPR Conference, Munich. Pergamon Press England, III: 153-165.

IWATA, H.; MASUKAWA, T.; KITO, H. y HAYASHI, M. (1981) Involvement of tissue sulfhydryls in the formation of a complex of methylmercury with selenium. Biochem. Pharmacol., 30: 3159-3163.

JENSEN, S. y JERNELOV, A. (1969) Biological methylation of mercury in acuatic organisms. Nature, 223: 753-754.

JENSEN, S. y JERNELOV, A. (1972) Behaviour of mercury in the environment. En: I.A.E.A. Serie de Informes Técnicos 137. Mercury Contamination in Man and his Environment. Viena, 43.

JERNELOV, A. (1973) A new biochemical pathway for the methylation of mercury and some ecological considerations. En: Miller, M.W. y Clarkson, T.W. (eds.). Mercury, Mercurials and Mercaptans. Ed. C.C. Thomas. Springfield, Illinois, 315.

JERNELOV, A. y MARTIN, L. (1980) Mercury in freshwater systems. Publicacion B550. Swedishwater an air pollution research institute. Stockholm.

JOHANSSON, E, y LINDH, V. (1987) Mercury in blood cells—altered elemental profiles: Toxic events in human exposure. Biol. Trace Elem. Res., 21 (1-4): 309-322.

- KARP, W.B.; GALE, T.F.; SUBRAMANYAM, S.B. y DU RANT, R.H. (1985) The effect of mercuric acetate on selected enzymes of maternal and fetal hamsters at different gestational ages. *Environ. Res.*, 36: 351-358.
- KAWAMATA, O.; KASAMA, H.; OMATA, S. y SUGANO, H. (1987) Decrease in protein phosphorylation in central and peripheral nervous tissues of methylmercury-treated rat. *Arch. Toxicol.*, 59: 346-352.
- KHAYAT, A. y DENCKER, L. (1982) Fetal uptake and distribution of metallic mercury vapor in the mouse: Influence of ethanol and aminotriazole. *Biol. Res. Preg.*, 3: 38-46.
- KING, C.V. (1957) Mercury: Its scientific history and its role in physical chemistry and electrochemistry. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 65: 360.
- KITAMURA, S.; HIRANO, Y.; NOGUCHI, Y.; KOJIMA, T.; KAKITA, T. Y KUWAKI, H. (1959) The epidemiological survey on Minamata disease (nº 2). *J. Kumamoto Med. Soc.*, 33 (suppl. 3): 569-571.
- KJELLSTROM, T. y KENNEDY, P.; WALLIS y MANTELL, C. (1986) Physical and mental development of children with prenatal exposure to mercury from fish. Stage 1 Preliminary tests at age 4, Solna, National Swedish Environmental Board, 96.
- KLEIN, D.H. y GOLDRERG, E.D. (1970) Mercury in marine environment. *Environmental Science and Technology*, 4 (9): 763-767.
- KLEIN, S. (1986) Transformation reactions of selected heavy metals, (Hg y Sn). *New Trace Elements*: 1099-1110.
- KNAUER, G.A. y MARTIN, J.H. (1972) Mercury in a marine pelagics food chain. *Limnol. Oceanog.*, 17: 868-876.
- KOBAYASHI, H.; YUYAMA, A. y MATSUSAKA, N. (1980) Effect of methylmercury on brain acetylcholine concentration and turnover in mince. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 54 (1): 1-8.

KOBAYASHI, H.; YUYAMA, A. y MATSUSAKA, N. (1981) Neuropharmacological effect of methylmercury in mince with special reference to the central cholinergic system. *Jpn. J. Pharmacol.*, 31 (5): 711-718.

KOMULAINEN, H. y TOUMISTO, J. (1981) Interference of methylmercury with monoamine uptake and release in rat brain synaptosomas. *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, 48 (3): 214-222.

KOOS, B.J. y LONGO, L.D. (1976) Mercury toxicity in the pregnant woman, fetus and newborn infant. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 126: 390.

KORRINGA, P. y HAGEL, P. (1974) En: *Environmental Health Criteria 1. Mercury*. World Health Organization. Geneva (1976), 43.

KORTHALS, E.T. y WINFREY, M.R. (1987) Seasonal and spatial variations in mercury methylation and demethylation in an oligotrophic lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 2397-2404.

KRONCKE, A.; OTT, K.; PETSCHERT, A.; SCHALLER, K.H.; SZECSEI, M. y VALENTIN, H. (1980) Uber die quecksilberkonzentrationen in blut and urin von personen mit und ohne amalgamtellungen. *Dtsh. Zaharzil. Z.*, 35: 803-808.

KUDO, A. y MIYAHARA, S. (1988) Effect of decontamination projet at Minamata Bay, Japan. Dramatic decrease of mercury dispersed into Yatsushiro Sea. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 15: 339-343.

KUHNERT, P.M.; KUNHERT, B.B. y EHRARD, P. (1981) Comparison of mercury levels in maternal blood, fetal cord blood and placental tissues. *American Journal of Obstetrics and Ginecology*, 139: 289-213.

KUNTZ, D.; PITKIN, R.M.; BOSTROM, A.W. y HUGHES, M.S. (1982) Maternal and cord blood backpound mercury levels: A longitudinal surveillance. *An. J. Obstet. Gynecol.*, 143: 440.

KUTSCHER, C.L.; SEMBRAT, M.; KUTSCHER, C.S. y KUTSCHER, N.L. (1985) Effects of the high methylmercury dose used in the Colaborative Behavioral Teratology Study on brain anatomy. *Neurobehav. Toxicol. Teratol*, 7: 755-777.

LAUNDY, T.; ADAM, A.; KERSHAW, J.B. y RAINFORD, D.J. (1984) Deaths after peritoneal lavage with mercury chloride solution: Case report and review of literature. *Br. Med. J.* 289: 96-98.

LAUWERYS, R.; BONNIER, C.; EVRARD, P.; GENNART, J. y BERNARD, A. (1987) Prenatal and early posnatal intoxication by inorganic mercury resulting from the maternal use of mercury containing soap. *Human Toxicol.*, 6: 253-256.

LEVESQUE, P. y ATCHISON, W. (1988) Effect of alteration of nerve terminal Ca^{2+} regulation on increased spontaneous quantal release of acetylcholine by methylmercury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 94: 55-65.

LILIS, R.; MILLER, A. y LERMAN, Y. (1985) Acute mercury poisoning with severe chronic pulmonary manifestations. *Chest.*, 88: 306-309.

LIND, B.; FRIBERG, L. y NYLANDER, M. (1988) Preliminary studies on methylmercury biotransformation and clearance in the brain of primates: II. Demethylation of mercury in brain. *J. Trace. Elem. Exp. Med.*, 1: 49-56.

LINDBERG, S.E. (1987) Emission and deposition of atmospheric mercury vapor. En: Hutchinson, T.C. y Meema, K.M. (eds.). *Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment*. Ed. John Wiley and Sons. New York, 89-106.

LINDH, V. y JOHANSSON, E. (1987) Protective effects of selenium against mercury toxicity as studied in the rat liver and kidney by nuclear analytical techniques. *Biol. Trace Elem. Res.*, 12: 109-120.

- LINQVIST, O. y RODHE, H. (1985) Atmospheric mercury—a review. *Tellus* 37B: 136-159.
- LODENIUS, M.; SEPPANEN, A. y AUTIO, S. (1987) Sorption of Mercury in soils with different humus content. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 39: 593-600.
- LONGBOTTOM, J.E.; DRESSMAN, R.C. y LICHTENBERG, J.J. (1973) Gas chromatographic determination of methylmercury in fish, sediment, and water. *Journal de la AOAC*, 56: 1297-1303.
- LOPEZ-ARTIGUEZ, M.; GARRIDO, R.; MARTINEZ, D.; SORIA, M.L.; CRESPO, N.; MORENO, E.; GRILO, A. y REPETTO, M. (1989) Correlación entre mercurio total y metilmercurio en pelo humano. Comunicación presentada al Congreso Nacional de Toxicología. Madrid.
- LORENZO VELAZQUEZ, B. (1966). *Terapéutica con sus fundamentos de Farmacología Experimental*. Ed. Científico Médica. 10ª ed. I y II.
- LUDWICKI, J.K. (1989) Studies on the role of gastrointestinal tract contents in the methylation of inorganic mercury compounds. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 47: 283-288.
- LUNDBORG, M.; LIND, B. y CAMNER, P. (1984) Ability of rabbit alveolar macrophages to dissolve metals. *Exp. Lung. Res.*, 7: 11-12.
- LUTEN, J.B.; BOUQUET, W.; RIEKWEL-BOUY, G.; RAUCHBAAR, A.B. y SCHOLTE, M.W.M. (1987) Mercury in flounder, *Platichthys flesus*, cod, *Gadus morhua*, and perch, *Perca fluviatilis*, in relation to their length and environment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 38: 318-323.
- MACFARLANE, D.E. (1987) The effects of methylmercury on platelets. Induction of aggregation and release via activation of the prostaglandin synthesis pathway. *Mol. Pharmacol.*, 19: 470-476.

MADSEN, K.M. y HANSEN, J.C. (1980) Subcellular distribution of mercury in the rat kidney cortex after exposure to mercuric chloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 54: 443-453.

MAGOS, L. (1971) Selective atomic-absorption determination of inorganic mercury and methylmercury in undigested biological samples. *Analyst.*, 96: 847-853.

MAGOS, L.; HALBACH, S. y CLARKSON, T.W. (1978) Role of catalase in the oxidation of mercury vapor. *Biochem. Pharmacol.*, 27: 1373-1377.

MAGOS, L.; CLARKSON, T.W.; SPAROW, S. y HUDSON, A. (1987) Comparison of the protection given by selenite, seleno-methionine and biological selenium against the reotoxicity of mercury. *Arch. Toxicol.*, 60: 422-426.

MAGOS, L. (1988) Mercury. En: Seiler, H.G. y Sigel, H. (eds.). *Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 35: 420.

MARAFANTE, E.; LUNDBORG, M.; VAHTER, M. y CAMNER, P. (1987) Dissolution of two arsenic compounds by rabbit alveolar macrophages in vitro. *Fundan. Appl. Toxicol.*, 8: 382-388.

MATHENSON, D.S.; CLARKSON, T.W. y GELFAND, E.W. (1980) Mercury toxicity (acrodynia) induced by long-term injection of gammaglobulin. *Can. J. Pediatr.*, 97: 153-155.

MCNEIL, S.I.; BHATNAGAR, M.K. y TURNER, C.J. (1988) Combined toxicity of ethanol and methylmercury in rat. *Toxicology*, 53: 345-363.

MENENDEZ, M. (1979) *Toxicologia de los metales*. II Simposium de Higiene Industrial. Ed. Mapfre S.A. Madrid, 79.

MIALL, L.M. (1961) *A new dictionary of chemistry*. Ed. Logmans Green. 3ª ed. Aberdeen, 342.

MIETTINEN, J.K. (1973) Absorption and elimination of dietary mercury (Hg^{++}) and methylmercury in man. En: Miller, M.M. y Clarkson, T.W. (eds.) Mercury, Mercurials and Mercaptans. Ed. C.C. Thomas, Springfield, Illinois, 233.

MILLER, D.S. (1981) Heavy metal inhibition of p-amino hipurate transport in flounder renal tissue: Sites of $HgCl_2$ action. J. Pharmacol. Exp. Ther., 219: 428-434.

Ministerio de Sanidad y Consumo (1987) Guía farmacológica para la asistencia primaria. Madrid, 3: 69.

MINNEMA, D.J.; COOPER, G.P. y GREENLAND, R.D. (1989) Effects of methylmercury on neurotransmitter release from rat brain synaptosomes. Toxicology and Applied Pharmacology, 99: 510-521.

MOLLER-MADSEN, B. y DANSCHER, G. (1986) Localization of mercury in CNS of the rat. Environ. Res., 41: 29-43.

N.I.O.S.H. (1977) National Institute for Occupational Safety and Health. Occupational Diseases. A guide to their recognition. DHEW (NIOSH) Publication nº 77-181. Revised Edition, 371.

N.I.O.S.H. (1989) Microfiche Edition. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. Quarterly Issue.

NAGANUMA, A.; KOYAMA, Y. y IMURA, N. (1980) Behavior of methylmercury in mamalian erythrocytes. Toxicol. Appl. Pharmacol., 54: 405-410.

NAKAMO, A. (1985) A study on the placental transfer of mercury in pregnant women. Japn. J. Hyg., 40: 685-694.

NAKAMURA, K.; FUJISAKI, T. y TAMASHIRO, H. (1986) Characteristic of Hg-resistant bacteria isolated from Minamata bay sediment. Environ. Res., 40: 58-67.

NAKAMURA, K.; FUJISAKI, T. y SHIBATA, Y. (1988) Mercury-resistant bacteria in the sediment of Minamata Bay. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 54: 1359-1363.

NAKAMURA, K. (1989) Volatilization of fluorescein mercuric acetate by marine bacteria from Minamata bay. *Bull. Environ. Contam. toxicol.*, 42: 785-790.

NELSON, J.D. y COLWELL, R.R. (1975) The ecology of mercury-resistant bacteria in Chesapeake Bay. *Microbiol. Ecol.*, 1: 191-218.

NILSEN, A.; NYBERG, K. y CAMNER, P. (1988) Intraphagosomal pH in alveolar macrophages after phagocytosis in vivo and in vitro of fluorescein-labeled yeast particles. *Exp. Lung. Res.*, 13: 197-207.

NRIAGU, J.O. (1979) *The Biogeochemistry of Mercury in the Environment*. Ed. Elsevier/North-Holland. Biomedical Press. Amsterdam, 23.

NISHIKIDO, N.; FURUYASHIKI, K.; NAGANUMA, A.; SUZUKI, T. y IMURA, M. (1987) Maternal selenium deficiency enhances the fetolethal toxicity of methylmercury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 88: 322-328.

NOLAN, C.V. y SHAIKH, Z.A. (1987) Induction of metallothionein in rat tissues following subchronic exposure to mercury shown by radioimmunoassay. *Biological Trace Element Research*, 12: 419-427.

NORDBERG, G.F. y STRANGERT, P. (1976) Estimations of a dose-response curve for a long-term exposure to methylmercury compounds in human beings taking into account variability of critical organ concentrations and biological half-times. En: Nordberg, G.F. (ed.). *Effects and dose-response relationships*, Amsterdam. Ed. Elsevier Science Publishers. Oxford, New York, 279.

NORSETH, T. y CLARKSON, T.W. (1970) Studies on the biotransformation of ²⁰³Hg-labelled methylmercury chloride in rats. *Arch. Environ. Health*, 21: 717-727.

- OGATA, M. y AIKOH, H. (1987) Ratio of organs to blood mercury during its uptake by normal and acatalasemic mince. *Environ. Res.*, 42: 421-424.
- OKABE, M. y TAKEUCHI, T. (1980) Distribution and fate of mercury in tissues of human organs in Minamata disease. *Neurotoxicology*, 1: 607-624.
- OLDS, R.J. y OLDS, J.R. (1979) A colour atlas of the rat, dissection guide. Ed. Wolfe Medical Publications LTD. London.
- OLSEN, J.H., HANSEN, E.V. y HASS, U. (1989) The human reproductive cycle and comparisons between human beings and the common types of experimental animal. En: *Embryo-fetal Damage and Chemical Substances. Working Party Report*, 5: 61-69.
- OLSON, B.H.; BARKAY, T. y COLWELL, R.R. (1979) Role of plasmic in mercury transformation by bacteria isolate from the aquatic environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 28: 478-485.
- OMATA, S.; HORIGOME, T. y MOMOSE, Y. (1980) Effect of methylmercury chloride in the in vivo rate of protein synthesis in the brain of the rat: Examination with the injection of a large quantity of (¹⁴C) valine. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 56 (2): 207-215.
- OMATA, S.; HIRAKAWA, E. y DAIMON, Y. (1982) Methylmercury-induced changes in the activities of neurotransmitter enzymes in nervous tissues of the rat. *Arch. Toxicol.*, 51 (4): 285-294.
- OSTLUND, K. (1969) Studies on the metabolism of methylmercury and dimethylmercury in mince. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 27:1.
- OTT, K.H.R.; LOH, F.; KRONCKE, A.; SCHALLER, K.H.; VALENTIN, H. y WELTLE, D. (1984) Zur quecksilberbelastun durch amalgamfüllungen. *Dtsch. Zahnarztl. Z.*, 39: 199-205.

PARIZEK, J. y OSTADALOVA, I. (1967) The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication. *Experientia*, 23: 142-145.

PARIZEK, J.; OSTADALOVA, I.; KALOUSKOVA, J.; BABICKY, A.; PAOLIK, L. y BIBR, B. (1971) Effect of mercuric compounds on the maternal transmission of selenium in the pregnant and lactating rat. *J. Reprod. Fert.*, 25: 157-170.

PATTERSON, J.E.; WEISSBERG, B.G. y DENNISON P.J. (1985) Mercury in human breath from dental amalgams. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 34: 450-468.

PECKHAN, N.H. y CHOI, B.H. (1986) Surface changes alterations in mouse fetal astrocytes due to methyl-mercury: An ultrastructural study with cationized ferritin. *Mol. Pathol.*, 44: 230-234.

PELLETIER, L.; PASQUIER, R.; VIAL, M.C.; MANDET, C.; MOUTIER, R.; SALOMON, J.C. y DRUET, P. (1987) Mercury-induced autoimmune glomerulonephritis: Requirement for T-cells. *Nephrol. dial. Transplant.*, 1: 211-218.

PENA, J.G. y ALBERTO, L.J. (1984) Distribución del mercurio en peces lagunares del Delta del Ebro. *Revista de Toxicología*. 1, 2: 103-116.

PERUTZ, M.F.; MUIRHEAD, M.; COX, J.M. y GOAMAN, C.G. (1968) Three dimensional Fourier synthesis of horse oxyhaemoglobin at 2.8 Å resolution: The atomic model. *Nature* 219: 131-139.

PHILLIPS, G.R. (1980) Relation between trophic position and mercury accumulation among fishes from the Tongue river reservoir, Montana. *Environmental Res.*, 22: 73-80.

PITKIN, R.M.; BAHNS, J.A.; FILER, L.J. JR. y REYNOLS, W.A. (1976) Mercury in human maternal and cord blood, placenta, and milk. *Proceeding of the society of experimental biology and medicine*, 151: 565-567.

PLANAS-BOHNE, F.; TAYLOR, D.M. y WALSER, R. (1985) The influence of administered mass on the subcellular distribution and binding of mercury in rat liver and kidney. *Arch. Toxicol.*, 56: 242-246.

RADA, R.G.; WIENER, J.G.; WINFREY, M.R. y POWELL, D.E. (1989) Recent increases in atmospheric deposition of mercury to North-Central Wisconsin lakes inferred from sediment analyses. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18: 175-181.

RAMLAL, P.S.; RUDD, J.W.M.; FURUTANI, A. y XUN, L. (1985) The effect of pH on methylmercury production and decomposition in lake sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 685-692.

RAMLAL, P.S.; RUDD, J.W.M. y HECKY, R.E. (1986) Methods for measuring specific rates of mercury methylation and degradation and their use in determining factors controlling net rates of mercury methylation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51: 110-114.

RASMUSSEN, B.L. y THORLACIUS-USSING, O. (1987) Ultrastructural localization of mercury in adrenals from rats exposed to methylmercury. *Virchows Arch. [Cell Pathol]*, 52: 529-538.

REKOLAINEN, S.; VERTA, M. y LIEHU, A. (1986) The effect of airborne mercury contents in some finnish forest lakes. *Publ. Water Inst. Nat. Bd. Waters, Finland*, 65: 11-20.

REPETTO, M. (1988) *Toxicologia fundamental*. Ed. Científico Médica. 2ª ed. Barcelona, 6: 180.

REUHL, K.R.; CHANG, L.W. y TOWNSEND, J.W. (1981) Pathological effects of in utero methylmercury exposure on the cerebellum of the golden hamster II. Residual effects on the adult cerebellum. *Environ. Res.*, 26: 307-327.

RICE, D. (1989) Brain and tissue levels of mercury after chronic methylmercury exposure in the monkey. *Journal of Toxicology and*

Environmental Health, 27: 189-198.

RICE, D.; KREWSKI, D.; COLLINS, B.T. y WILLES, R.F. (1989) Pharmacokinetics of methylmercury in the blood of monkeys (Macaca fascicularis). Fundamental and Applied Toxicology, 12: 23-33.

RODIER, P.M.; ASCHNER, M. y SAGER, P.R. (1984) Mitotic arrest in the developing CNS after prenatal exposure to methylmercury. Neurobehav. Toxicol. Teratol., 6: 379-385.

RODIER, P.M. y KATES, B. (1988) Histological localization of methylmercury in mouse brain and kidney by emulsion autoradiography ^{203}Hg . Toxicol. Appl. Pharmacol., 92: 224-234.

ROELS, H.; ABDELADIM, S.; CEULEMANS, E. y LAUWERYS, R. (1987) Relationships between the concentrations of mercury in air and in blood or urine in workers exposed to mercury vapor. Ann. Occup. Hyg., 31: 135-145.

ROELS, H.; ABDELADIM, S.; BRAUN, M.; MALCHAIRE, J. y LAUWERYS, R. (1989) Detection of hand tremor in workers exposed to mercury vapor: A comparative study of three methods. Environ. Res., 49: 152-165.

ROMAN-FRANCO, A.A.; TURIELLO, M.; ALBINI, B.; OSSI, E.; MILGRON, M. y ANDRES, G.A. (1978) Anti-basement membrane antibodies and antigen-antibody complexes in rabbit injected with mercuric chloride. Clin. Immunol. Immunopathol., 9: 464-481.

ROWLAND, I.R.; DAVIES, M.J. y EVANS, J.G. (1980) Tissue content of mercury in rats given methylmercury chloride orally: Influence of intestinal flora. Arch. Environ. Health, 35: 155-160.

SAGER, P.R.; DOHERTY, R.A. y RODIER, P.M. (1982) Effects of methylmercury on developing mouse cerebellar cortex. Exp. Neurol., 77: 179-193.

SAGER, P.R.; CLARKSON, T.W. y NORDBERG, G.F. (1986) Reproductive and developmental toxicity of metals. En: Friberg, L.; Nordberg, G.F. y Vouk, V.B. (eds.). Handbook on the toxicology of metals. Ed. Elsevier Science Publishers. 2ª ed. I, Amsterdam.

SARAFIAN, T.; JEREMIAH, H.; VARTAVARIAN, L. y VERITITY, M. (1989) Rapid cell death induced by methylmercury in suspension of cerebellar granule neurons. *J. Neuropathology and Experimental Neurology*, 48: 1-10.

SHARMA, R.P.; ALDORES, C.N. y FARR, C.H. (1982) Methylmercury induced alterations in brain amine synthesis in rats. *Toxicol. Lett.*, 13: 195-201.

SHARMA, P.K.; SHARMA, D.C. y SINGH, P.P. (1986) Detection of mercury poisoning by altered electrophoretic mobility of blood proteins. *Clinical Chemistry*, 32 (8): 1595-1596.

SHERLOCK, J.C.; LINDSAY, D.G.; HISLOP, J.E.; EVANS, W.H. y COLLIER, T.R. (1982) Duplication diet study on mercury intake by fish consumers in the United Kingdom. *Archives of Environmental Health*, 37 (5): 271-278.

SIEGERS, C.P.; SCHENKE, M. y JOUNES, M. (1987) Influence of cadmium chloride, mercuric chloride and sodium vanadate on the glutathione-conjugating enzyme system in liver, kidney and brain of mince. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 22: 141-148.

SIKORSKI, R.; PASZKOWSKI, T.; SLAWINSKI, P.; SZKODA, J.; ZMIDZKI, J. y SKAWINSKI, S. (1989) The intrapartum content of toxic metals in maternal blood and umbilical cord blood. *Ginekol. Pol.*, 60 (3): 151-155.

SKERFVING, S.; HANSSON, K. y MANG, S.C. (1974) Methylmercury induced chromosome damage in man. *Environ. Res.*, 7: 83-98.

SKERFVING, S. (1988) Mercury in women exposed to methylmercury through fish consumption, and their newborn babies and breast milk. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41: 475-482.

SKUBA, A.R.N. (1984) Survey for mercury vapour in Manitoba dental offices summer. *Can. Dent. Assoc. J.*, 7: 517-522.

SLMER, F.; SCHUSTER, G. y SEILER, W. (1985) Distribution, speciation and budget of atmospheric mercury. *J. Atmos. Chem.* 3: 407-434.

SLOTKIN, T.A.; PACHMAN, S.; KAVLOCK, R.J. y BARTOLOME, J. (1985) Early biochemical detection of adverse effects of a neurobehavioral teratogen: Influence of prenatal methyl-mercury exposure on ornithine decarboxylase in brain and other tissues of fetal and neuronal rat. *Teratology*, 32: 195-202.

SNAPP, K.R.; BOYER, D.B.; PETERSON, L.C. y SVARE, C.W. (1989) The contribution of dental amalgam to mercury in blood. *J. Dent. Res.* 68 (5): 780-785.

SONE, N.; LARSSTUVOLD, M.K. y KAGAWA, Y. (1977) Effect of methylmercury on phosphorylation transport and oxidation in mamalian mitochondria. *J. Biochem.* 82: 859-864.

STACEY, N.H. y KAPPUS, H. (1982) Cellular toxicity and lipid peroxidation in response to mercury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 63: 29-35.

STEFFEK, A.J.; CLAYTON, R.; SIEW, C. y VERRUSIO, A.C. (1987) Effects of elemental mercury vapor exposure on pregnant Sprague-Dawley rats. *J. dent. Res.*, 66: 239.

STOEWESAND, G.S.; BACHE, C.A. y LISK, D.J. (1974) Dietary selenium protection of methylmercury intoxicacion of japanese quail. *Bull. Environ. Cotam. toxicol.*, 11: 152-156.

STOKINGER H.E. (1981) The metals. 22. Mercury, Hg. En: Clayton G. D. and Clayton F. E. (eds.). *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*. 3ª ed. revisada. vol. 2A: Toxicology. Ed. Wiley J. and Sons, Inc. New York, 1769-1789.

- SUDA, I. y TAKAHASHI, H. (1986) Enhanced and inhibited biotransformation of methylmercury in the rats spleen. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **82**: 45-52.
- SUGATA, Y. y CLARKSON, T.W. (1979) Exhalation of mercury—further evidence an oxidation-reduction cycle in mamalian tissues. *Biochem. Pharmacol.*, **28**: 3474-3476.
- SURMA-AHO, K.; PAASIVIRTA, J.; REKOLAINEN, S. y VERTA, M. (1986) Organic and inorganic mercury in the food chain of some lakes and reservoirs in Finland. *Publ. Water Inst. Nat. Bd. Waters, Finland*, **65**: 59-71.
- SUZUKI, T.; MIYAMA, T. y KATSUNUMA, H. (1971) Comparison of mecury contents in maternal blood, umbilical cord blood and placental tissue. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **5**: 502-508.
- SUZUKI, T.; SHISHIDO, S. y HISHIHARA, N. (1976) Interaction of inorganic to organic mercury in their metabolism in human body. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **38**: 103-113.
- SUZUKI, T.; YONEMOTO, J.; SATOH, H.; NAGANUMA, A.; IMURA, N. y KIGAWA, T. (1984) Normal organic and inorganic mercury levels in the human fetoplacental system. *J. Appl. Toxicol.*, **4** (5): 249-252.
- SYVERSEN, T.L.M.; TOTLAND, G. y FLOOD, P.R. (1981) Early morphological changes in rat cerebellum caused by a single dose of methylmercury. *Arch. Toxicol.*, **47**: 101-111.
- TAKEUCHI, T.; ETO, K.; SAKAI, K. y KOJIMA, H. (1974) Accumulation of mercury in human body and its variations. *J. Kumamoto Med. Soc.*, **48**: 199-209.
- TAKEUCHI, T. y ETO, K. (1975) En: Tsubaki T. (ed.). *Minamata disease; Chronic Ocurrence from Pathological Viewpoints in Interim Report on Minamata Disease*. Japanese Association of Public Health, 93-106.

TAKEUCHI, T. (1985) Human Effects of Methylmercury as an Environmental Neurotoxicant. En: Blum, K. and Manzo, L. (eds.). Neurotoxicology. Ed. Dekker M., Inc. New York. 16: 345.

TAKEUCHI, T.; ETO, K. y TOKUNAYA, H. (1989) Mercury level and histochemical distribution in a human brain with minamata disease following a long-term clinical course of twenty-six years. Neurotoxicology, 10: 651-658.

Task Group on Metal Toxicity (1976): Effects. En: Nordberg, G. (ed.). Effects and dose-response relationships of toxic metals. Ed. Elsevier Scientific. Publishing Company. Amsterdam, 4: 59.

Task Group on Metal Accumulation (1973) Accumulation of toxic metals with special reference to their absorption, excretion, and biological half-times. Environ. Physiol. Biochem., 3: 65-107.

THOMAS, D.J.; FISHER, H.L.; SUMLER, M.R.; HALL, L. y MUSHAK, P. (1988) Distribution and retention of organic and inorganic mercury in methylmercury treated neonatal rats. Environmental Research, 47 59-71.

TOPPING, G. y DAVIES, I.M. (1981) Methylmercury production in the marine water column. Nature, 290: 243.

TRIFILLIS, A.L.; KAHNG, M.W. y TRUMP, B.F. (1981) Metabolic studies of HgCl₂-induced acute renal failure in the rat. Exp. Mol. Pathol., 35: 14-24.

TRUSKA, P.; ROSIVAL, L. BALAZOVA, G.; HINST, J.; RIPPEL, A.; PALUSOVA, O. y GRUNT, J. (1989) Blood and placental concentrations of cadmium lead and mercury in mothers and their newborns. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., 33: 141-147.

TSUCHIYA, H.; MITANI, K.; KODAMA, K. y NAKATA, T. (1984) Placental transfer of heavy metals in normal pregnant japanese women. Arch. Environ. Health, 89 (1): 11-17.

TSUZUKI, Y, (1981) Effect of chronic methylmercury exposure on activities of neurotransmitter enzymes in rat cerebellum. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **60** (2): 379-381.

TUBB, R.R.; GEPHARDT, G. y McMAHON, J.T. (1982) Membranous glomerulonephritis associated with industrial exposure. *Am. J. Clin. Path.*, **77**: 409-413.

TURNER, C.J.; BHATNAGER, M.C. y YAMASHIRO, S. (1981) Ethanol potentiation of methylmercury toxicity: a preliminary report. *J. Toxicol. Environ. Health*, **7**: 665-668.

U.N.E. (1983) Métodos de análisis de agua en vertidos industriales. determinación de mercurio. Método del vapor frío. Ed. Iranor. Norma española, UNE 77-057-83.

U.N.E.P. (1987) The determination of methylmercury, total mercury and total selenium in human hair. Reference methods for marine pollution studies. N^o 46 (draft). Prepared in co-operation with WHO, IAEA.

UNEP/FAO/IAEA/IOC (1984) Determination of total mercury in selected marine organisms by flameless atomic spectrophotometry. Reference methods for marine pollution studies n^o 8, Rev. 1. UNEP. Geneva.

VERCRUYSSSE, A. (1984) Metals in human toxicology. En: Vercruyssse, A. (ed.) Hazardous Metals in Human Toxicology part. B. Ed. Elsevier Science Publishers, B.V. Amsterdam, 1.

VERSHAEVE L.; KIRSCH-VOLDERS, M.; SUSANNE, C.; GROETENBRIEL, C.; HANSTERMANS, R.; LECOMTE, A. y ROOSSELS, D. (1976) Genetic damage induced by occupationally low mercury exposure. *Environ. Res.*, **12**: 303-316.

VERSCHEAVE, L. y SUSANNE, C. (1979) Genetic hazard of mercury exposure in dental surgery. *Mutat. Res.*, **64**: 149.

VIMY, M.J. y LORSCHIEDER, F.L. (1985) Serial measurements of intra-oral air mercury: Estimation of daily dose from dental amalgam. J. Dent. Res. 64: 1072-1075.

W. H. O. (1972) Evaluation of certain food additives and the contaminants mercury, lead and cadmium. Sixteenth report of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives. Technical Reports Series n^o 505. Geneva.

W.H.O. (1976) Environmental Health Criteria 1: Mercury. World Health Organization, Geneva.

W. H. O. (1978) Evaluation of certain food additives and the contaminants mercury, lead and cadmium. Twenty-second report of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series n^o 632. Geneva.

W. H. O. (1980a) Consultation to re-examine the W.H.O. Environmental Health Criteria for Mercury. EHE/EHC/80, 22.

W.H.O. (1980b) Recommended Health-Based Limits in Occupational Exposure to Heavy Metals. World Health Organization. Technical Report Series N^o 647.

W. H. O. (1982) Evaluation of methylmercury in mediterranean populations and related health hazards. En: Long-term Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean Sea (MED POL Phase II). Report on a Consultation Meeting, Athens (1982). World Health Organization. Regional Office for Europe, Copenhagen.

W. H. O. (1984) Biological monitoring of methylmercury in mediterranean populations. En: Long-term Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean Sea (MED POL Phase II). Report on a joint WHO/FAO/UNEP meeting, Zagreb (1984). World Health Organization. Regional Office for Europe. Copenhagen.

W. H. O. (1986) Mercury in fish; a special study prepared by the joint FAO/WHO. Food Contamination Monitoring Programme for the Codex Committee

on Food Additives. World Health Organization.

W. H. O. (1986) Health effects of methylmercury in the mediterranean area. En: Long-term Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean Sea (MED POL Phase II). Report on a joint WHO/FAO/UNEP meeting, Athens (1986). World Health Organization. Regional Office for Europe. Copenhagen.

W. H. O. (1990) Methylmercury. Environmental Health Criteria 101. World Health Organization. Geneva.

WANANG, A. y SKJAERASEN, J. (1975) Mercury accumulation in placenta and foetal membranes. A study of dental workers and their babies. Environ. Physiol. Biochem., 5: 348-352.

WELSH, S.O. (1979) The protective effect of vitamine E and N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD) against methylmercury toxicity in the rat. J. Nutr., 109: 1673-1681.

WERSHAW, R.L. (1970) Sources and behavior of mercury in surface waters. En: U.S. Geological Survey. Mercury in the environment. Washington, D.C., US Government Printing Office, Profesional Paper N^o 713.

WESTOO, G. (1968) Determination of methylmercury salts in various kinds of biological material. Acta Chem. Scand., 22: 2277-2280.

WHITE, J.F. y ROTHSTEIN, A. (1973) The interation of methylmercury with erythrocytes. Toxicology and Applied Pharmacology, 26: 37.

WINEK, C.L; FOCHTMAN, F.W.; BRICKER, J.D. y WECHT, C.H. (1981) Fatal mercuric chloride ingestion. Cinical Toxicology, 18 (3): 261-266.

WOLLAST, R.; BILLEN, G. y MACKENZIE, F.T. (1975) Ecological Toxicology Researsch. Ed. Plenum. New York, 145.

WOOD, J.M.; SCOTT KENNEDY, F. y ROSEN, C.G. (1968) Synthesis of methylmercury compounds by extracts of a methanogenic bacterium. *Nature*, 220: 173-174.

WOOD, R.W.; WEISS, A.B. y WEISS, B. (1973) Hand tremor induced by industrial exposure to inorganic mercury. *Arch. Environ. Health*. 26: 249-252.

WULF, H.C.; KROMANN, N.; KOUSGAARD, N.; HANSEN, J.C.; NIEBUHR, E. y ALBOGE, K. (1986) Sister chromatid exchange (SCE) in greenlandic eskimos dose-response relationship between SCE and seal diet, smoking and blood cadmium and mercury concentrations. *Sci. Total Environ.*, 48: 81-94.

XUN, L.; CAMPBELL, N.E.R. y RUDD, J.W.M. (1987) Measurements of specific rates of net methylmercury production in the water column and surface sediments of acidified and circumneutral lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44: 750-757.

YEH, T.F.; PILDES, R.S. y FIROR, R.S. (1978) Mercury poisoning for mercurochrome therapy of infected omphalocele. *Lancet*, 1: 210.

YEOH, T.S.; LEE, H.S. y LEE, A.S. (1989) Gastrointestinal absorption of mercury following oral administration of cinnabar in a traditional chinese medicine. *Asia Pacific Journal of Pharmacology*, 4: 69-73.

YOSHIDA, M.; YAMAMURA, Y y SATOH, H. (1986) Distribution of mercury in guinea pig offspring after in utero exposure to mercury vapor during late gestation. *Arch. Toxicol.*, 58: 225-228.

YOSHIDA, M.; AOYAMA, H.; SATOH, H. y YAMAMURA, Y. (1987) Binding of mercury to metallothionein-like protein in fetal liver of the guinea pig following in utero exposure to mercury vapor. *Toxicology Letters*, 37: 1-6.

YOSHIDA, M.; SATOH, H.; AOYAMA, H.; KOJIMA, S. y YAMAMURA, Y. (1989) Distribution of mercury in neonatal guinea pigs after exposure to mercury

vapor. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 43: 697-704.

YOSHINO, Y.; MOZAI, T. y NAKAO, K. (1966) Biochemical changes in the brain in rats poisoned with a alkil-mercury compound, with special reference to the inhibition of protein synthesis in brain cortex slices. J. Neurochem., 13: 1223-1230.

ZOOK, E.G.; POWELL, J.J.; HACKLEY, B.M.; EMERSON, J.A.; BROOKER, J.R. y KNOBL, G.M.Jr. (1976) National marine fisheries service preliminary survey of selected seafoods for mercury lead, cadmium, chromium and arsenic content. J. Agric. Food Chem. XXIV, 1: 47-53.

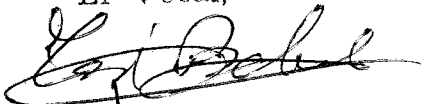
ZORN, N.E. y SMITH, J.T. (1989) In vivo methylation of inorganic mercury in guinea pigs. Biochem. Arch., 5: 141-146.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

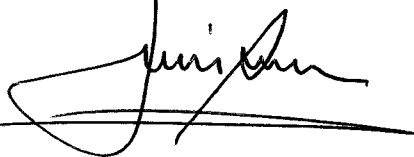
Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de D.^a María Luisa SORIA SANCHEZ titulada Distribución transplacentaria de mercurio en humanos y animales de experimentación acordó otorgarle la calificación de APTO CUM LAUDE.

Sevilla, 28 de Septiembre 1970.

El Vocal,



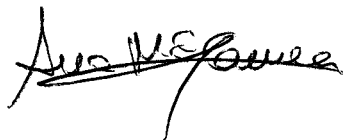
El Presidente



El Vocal,



El Secretario,



El Vocal,



El Doctorado,

