

R. 11904

T 933, 1

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARÍA CENTRAL

Grado de Ciencias Exactas y Naturales
al 35
comprova 2 del libro
Sevilla. 22 JUL 1996
El Director de Tesas

Claudia Herce Pagliai

**ESTIMACIÓN TOXICOLÓGICA DEL ARSÉNICO Y
SUS ESPECIES EN AGUAS Y BEBIDAS DE
CONSUMO EN ANDALUCÍA.**

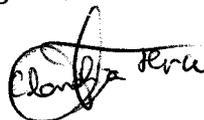
CLAUDIA HERCE PAGLIAI
Sevilla, 1996.

LOS 796816

UNIVERSIDAD DE SEVILLA-FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA.
Área de Toxicología.

**ESTIMACIÓN TOXICOLÓGICA DEL ARSÉNICO Y
SUS ESPECIES EN AGUAS Y BEBIDAS DE
CONSUMO EN ANDALUCÍA.**

**Memoria presentada por la Lda.
Claudia Herce Pagliai para optar
al grado de Doctor en Farmacia.**

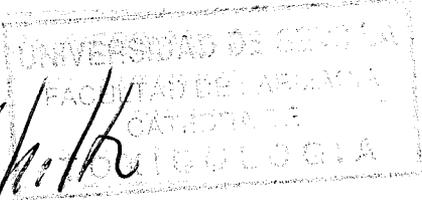
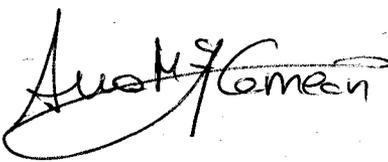


Sevilla, Julio de 1996.

D^a. ANA M^a CAMEÁN FERNÁNDEZ, PROFESORA TITULAR DE TOXICOLOGÍA, Y D. MANUEL REPETTO JIMÉNEZ, PROFESOR TITULAR DE TOXICOLOGÍA Y DIRECTOR DEL INSTITUTO NACIONAL DE TOXICOLOGÍA DE SEVILLA,

CERTIFICAN: Que la presente Tesis Doctoral, titulada "Estimación toxicológica del arsénico y sus especies en aguas y bebidas de consumo en Andalucía", que presenta la Lda. Claudia Herce Pagliai, ha sido realizada en este Departamento bajo nuestra dirección. A nuestro juicio, reúne los requisitos exigidos por la normativa vigente para ser defendida ante el Tribunal.

Y para que conste, firmamos la presente certificación en Sevilla, a 12 de Julio de 1996.

INTRODUCCION

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

- 1.- Referencias históricas.
- 2.- Propiedades físico-químicas.
- 3.- Producción industrial y usos.
- 4.- Presencia del arsénico en el medio ambiente. Ciclo biogeoquímico.
 - 4.1. Ciclo biogeoquímico del arsénico.
 - 4.2. Transformaciones del arsénico en el medioambiente.
 - 4.3. Niveles naturales de arsénico en muestras ambientales.
 - 4.4. Niveles de arsénico elevados en el medio ambientales por causas antropogénicas.
- 5.- Presencia de arsénico en muestras biológicas humanas.
- 6.- Toxicocinética:
 - 6.1. Absorción.
 - 6.2. Distribución.
 - 6.3. Biotransformación.
 - 6.4. Eliminación.
- 7.- Efectos Tóxicos:
 - 7.1. Efectos agudos:
 - 7.1.1. En animales de experimentación.
 - 7.1.2. En humanos.

7.2. Efectos crónicos:

7.2.1. En animales de experimentación.

7.2.2. En humanos:

7.2.2.a. Aspectos generales.

7.2.2.b. Piel.

7.2.2.c. Mucosas.

7.2.2.d. Sistema cardiovascular.

7.2.2.e. Sistema hematopoyético.

7.2.2.f. Sistema nervioso.

7.2.2.g. Hígado.

7.2.2.h. Sistema respiratorio.

7.2.2.i. Sistema inmunitario.

7.3. Carcinogénesis:

7.3.1. Animales de experimentación.

7.3.2. Humanos.

7.4. Mutagenicidad.

7.5. Teratogenicidad.

8.- Interacciones.

9.- Mecanismos de toxicidad.

10.- Esencialidad:

10.1. Efectos de la deficiencia de arsénico en animales de experimentación.

10.2. Factores que afectan los requerimientos de arsénico.

10.3. Requerimientos nutricionales de arsénico.

11.- Tratamiento.

12.- Determinación de arsénico y sus especies:

12.1. Determinación de arsénico total.

- 12.2. Determinación de las diferentes especies arsenicales:
Especiación.

PARTE EXPERIMENTAL

13.- HIPÓTESIS DE TRABAJO.

14.- PLAN DE TRABAJO.

15.- DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL POR HG-EAA:

15.1.- MATERIAL:

15.1.1.- Muestras a analizar.

15.1.2.- Aparatos.

15.1.3.- Reactivos.

15.2.- MÉTODO:

15.2.1.- Fundamento.

15.2.2.- Parámetros instrumentales.

15.2.3.- Procedimiento:

15.2.3.1.- Aguas.

15.2.3.2.- Otras muestras.

16.- ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO:

16.1.- MATERIAL.

16.1.1.- Muestras analizadas.

16.1.2.- Aparatos.

16.1.3.- Reactivos.

16.2.- MÉTODO:

16.2.1.- Fundamento.

16.2.2.- Puesta a punto del método:

16.2.2.1.- Preparación de las columnas.

16.2.2.2.- Obtención de perfiles
cromatográficos.

16.2.3.- Procedimiento.

16.2.4.- Calibración general del método.

RESULTADOS

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

El **Arsénico** es un elemento tóxico que aunque ha sido usado desde muy antiguo, siempre rodeado de un halo de misterio y mito, sigue atrayendo la atención de científicos de campos muy diversos, como toxicólogos, químicos analíticos, biólogos, bioquímicos, médicos forenses, farmacólogos, homeópatas etc. En los últimos 30 años han aparecido cerca de 2000 publicaciones sobre aspectos multidisciplinarios del elemento y sus compuestos.

Su ubicuidad en el ambiente y organismos vivos, y el hecho de que la toxicidad de sus compuestos varía extraordinariamente dependiendo de su forma química y estado de oxidación (ya estudiado por Ehrlich), hacen que sea uno de los contaminantes ambientales más estudiados.

El arsénico en la naturaleza se encuentra en los estados de oxidación: -3, 0, +3 y +5, aunque rara vez se presenta como elemento libre. Es capaz de combinarse con varios metales y de formar enlaces covalentes con carbono, hidrógeno, oxígeno y azufre.

Desde un punto de vista biológico y toxicológico, los compuestos de As pueden clasificarse en 3 grupos principales: compuestos inorgánicos de As, compuestos orgánicos de As y gas arsina (arseniuro de hidrógeno).

Los compuestos inorgánicos de As son mucho más tóxicos que las formas metiladas, como ácido monometilarsónico (MMAA) y ácido dimetilarsínico (DMAA), y éstas a su vez más tóxicas que arsenobetaina, arsenocolina y arsenoazúcares.

Uno de los compuestos de As más usados es el óxido de As(III), el cual constituye la materia prima más importante para el uso comercial del As y es el principal reactivo para la síntesis de otros compuestos arsenicales. Se obtiene principalmente de la fundición de minerales, por lo que la exposición de trabajadores de

la fundición ha constituido uno de los mayores incentivos para la introducción de leyes restrictivas sobre la exposición a As inorgánico.

Los derivados inorgánicos de As se han venido utilizando principalmente en la agricultura como plaguicidas en general y como protectores de la madera, aunque en la actualidad se ha desplazado el uso de éstos por otros derivados orgánicos introducidos a finales de los años 40 (Zíngaro, 1993; Liñan, 1996).

Otros usos actuales de As se dan en la ganadería como aditivos anabolizantes en el pienso y la prevención de enfermedades; en la industria metalúrgica y electrónica, como es su aplicación para la producción de arseniuro de galio, el cual está constituyendo un importante material en la fabricación de circuitos integrados para ordenadores, impresoras laser, discos compactos, etc; además permanecen algunos usos tradicionales en la fabricación del vidrio, pirotecnia, pinturas, tintes, industria farmacéutica, etc. (Ishiguro, 1992).

Los niveles de As encontrados en los alimentos y bebidas son un reflejo de la acumulación de éste en el medio ambiente, ya sea por causas naturales o antropogénicas. Sólo una pequeña parte de la exposición humana está bajo nuestro control, ya que los alimentos y bebidas constituyen la principal fuente de exposición al elemento, considerándose inevitable una ingesta aproximada de 45 $\mu\text{g}/\text{día}$ y 10 $\mu\text{g}/\text{día}$ a través de alimentos y agua, respectivamente.

Existen zonas de arsenicismo crónico (Taiwan, Argentina, Chile, India) a causa de la presencia de altas concentraciones del elemento en el agua de consumo. En estos casos, se han producido lesiones dérmicas, vasculares, neurológicas y hepáticas en la población y un exceso de mortalidad por cáncer.

Los estudios epidemiológicos indican claramente que en humanos la exposición a las formas inorgánicas por vía inhalatoria, concretamente a los compuestos de As(III), produce cáncer de pulmón, y la ingestión produce cáncer de piel, así como de otros órganos internos (pulmón, vejiga, riñón e hígado). Por ello la IARC (1987, 1993) ha clasificado al As y sus compuestos en el Grupo 1 de sustancias con suficiente evidencia de ser carcinógenas para el hombre.

Otros autores (Uthus, 1992) presentan datos persuasivos que sugieren que el As es un micronutriente esencial.

La evaluación del riesgo por la exposición al As presenta serios problemas a causa de que no existe un buen modelo animal en que estudiar su efecto carcinógeno; tampoco se conocen aún en su totalidad los mecanismos y relaciones cuantitativas de la destoxicación del As a través de la metilación.

Por ello, la Organización Mundial de la Salud, estableció 50 $\mu\text{g/L}$, como límite máximo de As permitido en aguas de consumo público. Sin embargo, en la evaluación del riesgo realizada por la Agencia de Protección Ambiental de EEUU (Environmental Protection Agency, EPA) se concluye que existe un alto riesgo estimado de aparición de cáncer por el consumo de aguas que contengan este nivel de concentración, fundamentalmente a causa de la presencia de As inorgánico. Por ello, diversos países, así como la UE, están considerando disminuir este nivel a 10 $\mu\text{g/L}$.

Esto hace que se requieran nuevos métodos que permitan la determinación simple y rápida de As total y As inorgánico (forma en que el As se encuentra preferentemente en el agua de bebida) para la monitorización de las aguas de consumo .

De igual forma, se preve que los límites máximos establecidos para la presencia del elemento en los alimentos puedan disminuirse, e incluso se fijen nuevos límites para la fracción de As inorgánico. De hecho, en 1983 el Comité de Expertos FAO/WHO sobre Aditivos Alimentarios estableció una ingesta diaria tolerable (TDI) de As de 50 $\mu\text{g/Kg}$ peso corporal/día, y posteriormente, en 1989, se especificó que la ingesta de As inorgánico no debe sobrepasar los 2 μg de arsénico inorgánico/Kg peso corporal/día. Por tanto, la especiación de arsénico en nuestras ambientales, biológicas, alimentos y bebidas, es una materia de importancia actual.

La **especiación** consiste en identificar y cuantificar todas las formas o especies químicas que conforman la concentración total de un elemento traza en un medio.

Las aplicaciones fundamentales de los estudios de especiación son las siguientes:

a) Conocer la participación de cada una de las diferentes especies químicas en las manifestaciones tóxicas que se derivan de la exposición global a distintas formas de un elemento.

b) Especiación en el medio ambiente, para conocer el transporte, distribución y acumulación de las diferentes especies del elemento en los sistemas aire, suelo y agua, y llegar a la comprensión total del ciclo geobiológico, así como para la evaluación de la exposición a estas sustancias. Ello es extensible al ambiente laboral.

c) Especiación en alimentos, bebidas y dietas en general, a fin de evaluar el riesgo tóxico real a que está expuesta la población en general, por constituir la vía alimentaria la principal fuente de exposición al As.

d) Especiación en muestras biológicas de animales de experimentación y humanos.

Pretende incrementar el conocimiento toxicocinético del As y sus compuestos en las distintas fases (absorción, distribución, biotransformación y eliminación), así como profundizar en los mecanismos de toxicidad de aquellos.

Hemos planteado nuestra hipótesis de trabajo para tratar de responder a algunas cuestiones pendientes, en especial, la falta de datos sobre la exposición al arsénico total, a través del consumo de aguas y bebidas en nuestra población y el desconocimiento de los estados de oxidación del elemento predominantes en este tipo de muestras.

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

REFERENCIAS HISTÓRICAS

ARSÉNICO

La palabra "arsénico" parece derivar del vocablo griego "arsenikon", que significa potente.

El arsénico ha poseído a lo largo de los años gran notoriedad debido principalmente a su uso como veneno, destacando en gran medida sobre otras sustancias tóxicas. La mera mención de la palabra arsénico evoca la respuesta **veneno**. Ha sido uno de los tóxicos más utilizados con fines criminales, quizás debido a la facilidad con que era posible conseguirlo, su elevada toxicidad y sus propiedades organolépticas. Así, el As_2O_3 es insípido e inodoro y se le ha conocido como "rey de los venenos". De hecho, en novelas, películas y dramas de televisión, el homicidio por el uso de arsénico ha sido, y continúa siendo, el tema preferido.

Algunos compuestos arsenicales como son oropimente (As_2O_3) y rejalgar (As_4S_4) se conocen desde tiempos muy antiguos. Se denominaban de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas, como color, olor, etc. En los libros Vedas (1500 a.C.) , especialmente en la parte del Ayurveda denominada *Surusta*, se citan entre los venenos minerales al arsénico (Repetto, 1988). En el Siglo IV a.C., Aristóteles llama *sandarach* a un mineral de sulfuro de arsénico, probablemente rejalgar, nombre que proviene de la raíz *sand-*, que significa rojo. Teofrasto, pupilo de Aristóteles, lo llamó *arsenikon*, y Dioscórides, a principios de nuestra era, *arsenicum*, refiriéndose probablemente al oropimente.

Los compuestos de As fueron también apreciados por la cultura hindú, en la época de Buda, y la gran variedad de nombres del arsénico en sánscrito, sugiere un uso extensivo de tales compuestos. Los principales alquimistas egipcios y árabes estudiaron y probaron las recetas ya descritas por los filósofos griegos. Y es que el As también jugó un importante papel en las operaciones alquimistas, por su propiedad de blanquear el óxido de cobre rojo, que adquiere la blancura de la plata, lo cual llevó a la creencia de la posibilidad de transmutación del cobre en plata.

Los antiguos creyeron que el oropimente (amarillo) contenía oro, de ahí el nombre de *auripigmentum*, y ya Plinio describió los intentos del emperador Calígula en extraer oro a partir de este compuesto.

El descubrimiento del As elemental se atribuye generalmente a Alberto Magno, en su obra *De Rebus Metallicis*, aunque no existe un consenso al respecto. De acuerdo con Berthelot (1893), el As metálico fué mencionado por primera vez por Zosimus (S. III-IV), refiriéndose a él como un tipo de mercurio que se quemaba hasta óxido blanco.

Entre la abundante literatura sobre la difusión de envenamientos criminales en la Italia del siglo XV, destacan diversas preparaciones en las que parece intervenir el arsénico, como era el *acqua toffana* y *acquetta de Peruzzia*.

En 1641, Schroeder, en su farmacopea, divulgó un procedimiento para la obtención de As elemental a través de la reducción de óxido arsenioso con carbón. En 1651, Basil Valentine lo describió como un "metal bastardo", análogo al Sb. En 1675, Lemery obtuvo arsénico metal por calentamiento del óxido arsenioso con jabón y potasa. Brand, en 1733, llevó a cabo uno de los primeros experimentos sobre la naturaleza química del As, y demostró que el arsénico blanco era el óxido del elemento. En 1755, Scheele descubrió el ácido arsénico y el gas arsina. Berzelius investigó las relaciones estequiométricas del arsénico y sus numerosos sulfuros.

En 1830 Marsh desarrolla un método para evidenciar arsénico en vísceras y alimentos, que contribuyó a disminuir en parte los envenenamientos mediante este elemento. En realidad, es a partir de la mitad del siglo XVIII, cuando muchos mitos alrededor del elemento desaparecen; posteriormente, se descubren nuevos compuestos, aumentándose los conocimientos químicos e incrementándose sus usos y aplicaciones, hasta nuestros días.

En cuanto a los usos históricos de los compuestos de arsénico, se sugiere que la intoxicación arsenical es de las primeras enfermedades ocupacionales reconocidas (Charles, 1980).

Rejalgar y oropimente se utilizaban como ingredientes en pinturas, con fines ornamentales o cosméticos desde épocas muy antiguas, como en murales, tumbas egipcias; en la Edad Media, oropimente se utilizaba para escribir, en la imitación del oro.

Los egipcios lo empleaban, junto con cobre y estaño en la fabricación de espejos metálicos y en la manufactura del vidrio.

En 1600, la Enciclopedia China de Medicina menciona las propiedades tóxicas del arsénico y recomienda su uso como insecticida para el arroz.

Pero los principales usos de los compuestos de arsénico en la antigüedad fueron farmacéuticos y medicinales. Plinio describe diversas preparaciones de rejalgar y oropimente, por sus propiedades caústicas, blanqueadoras, como depilatorios, como remedios para asma y tos, etc.

Hipócrates (460-377 a.C.), por ejemplo, recomendó una pasta de sulfuro del elemento para el tratamiento de las úlceras, recomendación repetida posteriormente por Galeno (138-201 d.C.); no fué sino hasta fechas posteriores, cuando se apreciaron realmente los efectos tóxicos del elemento, debido al uso extenso de algunos de sus compuestos por los envenenadores profesionales de la Edad Media (Buchanan, 1962).

Estimación toxicológica del As y sus especies

A principios del S. XVI, Paracelso designó al As, junto al opio, Hg, Pb, y sulfato de cobre, como partes de la farmacopea moderna. Por esta época se ascriben muchas propiedades terapéuticas a los derivados arsenicales: remedio contra la tos crónica, propiedades antiasmáticas, cauterizantes, etc. En el S. XVIII se descubre la solución de Fowler (arsenito potásico 1%), ampliamente usada; la solución de Donovan (ioduro de arsénico) y la solución de Valagin (tricloruro de arsénico) que se recomiendan para el tratamiento de reumatismo, artritis, asma, malaria, infecciones por tripanosomas, tuberculosis y diabetes. El descubrimiento de Salvarsan, en 1909, constituye el mejor remedio contra la sífilis hasta la aparición de los antibióticos.

El hecho de que el As estimule la producción de hemoglobina e influya en el metabolismo de arginina, zinc y manganeso (Leonard, 1991) explica por qué las medicaciones con As se usaron durante mucho tiempo para controlar la anemia.

En el S. XIX, el As fue un constituyente esencial en muchos agentes colorantes, orgánicos e inorgánicos; se han registrado varios casos de intoxicaciones derivadas de este uso de los pigmentos de As en colorantes artificiales de flores, juguetes, papel, etc. Sobre 1880, un comité de la Sociedad Médica de Londres, preocupado por la profusión de usos de los compuestos arsenicales, lista una serie de artículos en cuya fabricación participan los pigmentos arsenicales, haciendo hincapié en que algunas aplicaciones, como agentes colorantes, no son necesarias y deberían prohibirse. Esta conclusión es de gran importancia histórica, porque es la primera sugerencia hecha sobre que deben controlarse los peligros tóxicos en el ambiente, prescribiéndose niveles máximos permisibles (Lenihan, 1988).

Lógicamente, con el paso del tiempo se han encontrado otros usos del arsénico, de los que hablaremos más detalladamente en otro capítulo (3).

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

El arsénico (As) es un elemento ubicuo, ampliamente distribuido en la naturaleza. Está presente de forma natural en suelos, aguas (ríos, lagos y océanos), aire y seres vivos (plantas, animales y organismos marinos). Su química es compleja, existiendo muy diferentes compuestos, orgánicos e inorgánicos.

En la naturaleza se encuentra primariamente en los estados de oxidación -3, 0, +3 y +5, aunque rara vez está presente como elemento libre. Dichos estados de oxidación y estructura electrónica son similares a los del fósforo; precisamente esta similitud y la posibilidad de formar enlaces covalentes con azufre, grupos sulfuro, son dos razones que explican la toxicidad del arsénico.

Algunas de sus propiedades físico-químicas elementales son:

Metaloide situado en el grupo VA (grupo 13) del Sistema Periódico de elementos, siendo su configuración electrónica: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^3$. Capaz de combinarse con varios metales, y formar enlaces covalentes con carbono, hidrógeno, oxígeno y azufre. Número atómico 33; Peso atómico 74,9 (Tamaki y Frankenberger, 1992; Ferguson y Gavis, 1972).

Formas Alotrópicas: **Arsénico gris cristalino** (Hexagonal-rómbico); estable; densidad 5,727 (25°C / 4°C); Punto de fusión 818°C (36 atm); Punto de ebullición 615°C; presión de vapor 1mgHg (372°C). **Arsénico amarillo** (metaestable); densidad 1,97; Punto de fusión 815°C (bajo presión adicional) y **Arsénico negro**. Cuando el arsénico elemental se calienta a presión atmosférica sin oxígeno, sublima y forma un gas amarillo. Al calentar el elemento en presencia de aire se forman humos blancos de trióxido de arsénico.

Desde un punto de vista biológico y toxicológico, los compuestos de arsénico pueden clasificarse en tres grupos principales:

- 1) Compuestos de arsénico inorgánicos.
- 2) Compuestos de arsénico orgánicos.
- 3) Gas arsina, con propiedades toxicológicas especiales.

Compuestos inorgánicos

Los dos estados de oxidación predominantes del arsénico son +3 y +5, de los que existen numerosos compuestos inorgánicos, algunos de los cuales son: óxido de arsénico (III) (As_2O_3), óxido de arsénico (V) (As_2O_5), ácido arsenioso (H_3AsO_3 o HAsO_2), ácido arsénico (H_3AsO_4), sulfuro de arsénico(III) (As_2S_3), cloruro de arsénico (III) (AsCl_3), arseniato cálcico, arseniato magnésico, arseniato de plomo y arsenitos metálicos de fórmulas, MH_2AsO_3 , M_2HAsO_3 . En la Tabla 1 se resumen los compuestos inorgánicos de As más comunes.

En disolución acuosa, el As está usualmente como arseniato o arsenito. Los valores de pKa de los ácidos arsenioso y arsénico, importantes en la especiación del elemento son: HAsO_2 , $\text{pKa}=9,23$; H_3AsO_4 , $\text{pKa}_1=2,20$, $\text{pKa}_2=6,97$, $\text{pKa}_3=11,53$.

El compuesto comercial más importante es óxido de arsénico (III), llamado clásicamente "arsénico". Se trata de un polvo blanco cuya solubilidad en agua es baja, resultando una disolución ligeramente ácida, que contiene fundamentalmente ácido arsenioso. Su solubilidad en álcali es mayor formando soluciones de arsenito, AsO_2^- . Estas soluciones de arsenito reaccionan con haluros de alquenos de menor basicidad para formar enlaces carbono-As dando alquilarsonatos de fórmula $\text{RAs}(\text{O}_2)^-$, reacción que se conoce con el nombre de reacción de Meyer.

TABLA 1.- Compuestos inorgánicos de arsénico.

NOMBRE	SINONIMOS	FORMULA
As(III)		
Oxido de As(III)	Trióxido de As Oxido arsenioso Arsénico blanco	As ₂ O ₃
Arsina	---	H ₃ As
Ac. arsenoso	---	H ₃ AsO ₃
Ac. arsenioso	Ac. arsenenoso	HAsO ₂
Cloruro de As(III)	Tricloruro de As	AsCl ₃
Sulfuro de As(III)	Trisulfuro de As oropimente	As ₂ S ₃
Arsenitos	---	H ₂ AsO ₃ ⁻ , HAsO ₃ ⁻² , AsO ₃ ⁻³
As(V)		
Oxido de As(V)	Pentóxido de As	As ₂ O ₅
Ac. arsénico	Ac. ortoarsénico	H ₃ AsO ₄
Ac. arsenénico	Ac. metarsénico	HAsO ₃
Arseniatos	---	H ₂ AsO ₄ ⁻ , HAsO ₄ ⁻² , AsO ₄ ⁻³

As_2O_3 se forma durante el tratamiento de los minerales, de cobre principalmente, que contienen arsénico. El tener un punto de fusión relativamente bajo, 315°C , supone que a las temperaturas a las que se someten estos minerales tendrá una alta presión de vapor. Consecuentemente, el vapor condensa en la paredes de los conductos, de las cuales se recoge para su tratamiento y posterior uso comercial (Zingaro, 1993).

Otros compuestos inorgánicos comunes son arsenito sódico y tricloruro de arsénico. El primero se forma por disolución de óxido de arsénico (III) (o trióxido de arsénico) en hidróxido sódico, siendo muy soluble en agua. Tricloruro de arsénico, formado por disolución de óxido de arsénico (III) en HCl concentrado, es fácilmente hidrolizable en agua, y alquilable por agentes orgánicos alquilantes como son los reactivos de Grignard (WHO, 1981).

Otra sal derivada del ácido arsenioso es el arsenito potásico, que fué ampliamente utilizado en terapéutica formando parte de una formulación llamada solución de Fowler, empleada para el tratamiento de la leucemia, psoriasis y asma.

El óxido de arsénico (V) (As_2O_5), se forma cuando el trióxido de As se disuelve en ácido nítrico concentrado y posterior evaporación.

Los metales alcalinotérreos se combinan con As(V) para formar sales que sólo son ligeramente solubles; consecuentemente tiende a formar precipitados frecuentemente asociado con fosfatos.

Los arseniatos y ácido arsénico son fuertes oxidantes, que pueden oxidar ión I^- a I_3^- .

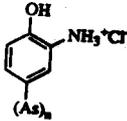
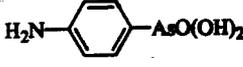
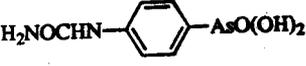
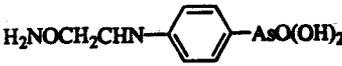
Otros compuestos presentes en pescados son tetrametilarsonio y el óxido de trimetilarsina. Se ha demostrado la presencia de azúcares que contienen arsénico en algas, conocidos como arsenoazúcares (Kaise y cols. 1992; Cullen y Reimer, 1989).

Arsina

La arsina, H_3As , es un gas tóxico debido principalmente a su potente acción reductora. Se trata de un gas incoloro, inflamable con un ligero olor, aliáceo, que se genera cuando se libera hidrógeno nascente sobre materiales que contengan arsénico. Soluble en cloroformo, benceno y agua (Lemmo y cols, 1983). Ya que el As está presente como impureza en muchos minerales metálicos, la arsina puede formarse en diversas industrias, como en la manufactura de sales de zinc, recuperación de cadmio, galvanizado, procesado de bencidina y otros intermedios, de forma accidental. También puede liberarse por formación de ión hidrógeno por fenómenos de hidrólisis, como en la manufactura de acero de silicio, refinado de estaño, etc. (Buchanan, 1962), y en cultivos microbianos (hongos).

Los derivados metilados de la arsina (metilarsina, dimetilarsina y trimetilarsina) son de interés por producirse en el metabolismo del arsénico en organismos vivos que incluyen desde bacterias a mamíferos.

Tabla 2- Compuestos orgánicos de arsénico.

NOMBRE	SINONIMOS	FORMULA
Ac. metilarsónico	Ac. metanoarsónico	$\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$
Ac. dimetilarsínico	Ac. cacodílico	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{H})$
Metilarsina	---	CH_3AsH_2
Dimetilarsina	---	$(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$
Trimetilarsina	---	$(\text{CH}_3)_3\text{As}$
Oxido de trimetilarsina	---	$(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$
Arsenobetaina	---	$(\text{CH}_3)_3\text{As} + \text{CH}_2\text{COOH}$
Arsenocolina	---	$(\text{CH}_3)_3\text{As} + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
Melarsoprol	---	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{AsN}_6\text{OS}_2$
Arsfenamina	---	
Ac. arsanílico	Ac. p-aminobencenoarsónico	
Carbarsona	Ac. [4-(aminocarbonil-amino)fenil] arsónico	
Triparsamida	Ac. 4-[(2-amino-2-oxoetil)amino]fenil] arsónico	
Dialquilcloroarsina	---	R_2AsCl
Alquildicloroarsina	---	RAsCl_2

PRODUCCION INDUSTRIAL Y USOS

Con el paso del tiempo, el hombre ha encontrado propiedades beneficiosas del arsénico, lo cual ha incrementado sus usos en los últimos 150 años.

Uno de los compuestos más usados es el óxido de arsénico (III) (arsénico blanco). Se obtiene principalmente de la fundición de minerales, cobre, plata, oro, plomo y zinc, y en la combustión de carbón. Este constituye la materia prima más importante para el uso comercial del arsénico y es el principal reactivo para la síntesis de otros compuestos arsenicales. La exposición a arsénico de trabajadores de industrias de fundición de minerales no ferrosos, ha constituido uno de los mayores incentivos para la introducción de leyes restrictivas sobre la exposición a arsénico inorgánico (Zingaro, 1993).

La producción mundial de trióxido de arsénico es de 50.000-53.000 toneladas por año, siendo Estados Unidos consumidor del 50% de esta cantidad. En cuanto a la distribución de los usos del mismo, el 70% del total de As tiene como destino final la industria química (principalmente como conservador de la madera), el 22% se destina a la producción de productos agrícolas (herbicidas y desecantes), el 4% para la manufactura del vidrio (agente decolorante u oscurecedor, fabricación de cristal opalescente y esmaltes), un 3% como arsénico metálico en aleaciones no ferrosas, y el 1% restante para otros usos (industria farmacéutica, aditivo en piensos animales, industria de colorantes, purificación de gases industriales, etc.) (US Department of Health and Human Services 1991; Ishiguro, 1992).

En la Tabla 3 se resumen los usos modernos de los diferentes compuestos arsenicales.

Tabla 3.- Principales usos modernos de los compuestos de arsénico.

SECTOR	USOS
Agricultura	Plaguicidas, insecticida, defoliantes, conservador de la madera, esterilizantes del suelo.
Ganadería	Aditivos en el pienso, prevención de enfermedades
Medicina	Medicamentos antisifilíticos, tratamiento de Tripanosomiasis, amebiasis.
Electrónica	Células solares, semiconductores, relojes digitales
Industria	Fabricación de vidrio, pirotecnia, cerámicas, tintes y detergentes. Industria farmacéutica.
Metalurgia	Aleaciones y baterías.

Los usos mayoritarios de los compuestos de As se producen en la **agricultura**. En la Tabla 4 se exponen dichos usos agrícolas y las principales sustancias empleadas.

Los derivados inorgánicos se utilizan fundamentalmente como plaguicidas (insecticidas, herbicidas y fungicidas) en general, aunque en la actualidad se encuentra desplazado el uso de éstos por otros derivados orgánicos introducidos a finales de los años 40 (CEE, 1991).

TABLA 4. Usos agrícolas de los compuestos de arsénico

USOS	ARSENICALES	APLICACIÓN
ADITIVOS EN PIENSOS	Ac. arsanílico y Roxarsona (Ac. 3-nitro-4 hidroxifenil arsónico).	Incrementa tasa de crecimiento (aves, cerdos), control disentería cerdos.
	Carbasona y nitarsona (Ac. 4-nitrofenil arsónico).	Pavos.
PLAGUICIDAS Herbicidas	Sales mono y bisódicas del ac. metanoarsónico.	Herbicidas postemergencias.
Insecticidas	Ac. dimetilarvánico (ac. cacodílico).	Cultivo del algodón, vid, frutal, cítrico, olivo (activo sobre gramíneas).
Fungicidas	Arsenito sódico.	Herbicida total.
DESECANTE/DEFOLIANTE	Arseniato cálcico.	Escarabajo de la patata, cuca de la Alfalfa, gorgojo del algodón, moscas en granjas avícolas. Herbicida Poa annua.
OTROS USOS	Arseniato de plomo.	Control de polillas, gorgojo ciruela, chinche de la patata, agusanado de manzanas y peras, gusano tabaco, gusano repollo. Insecticida para café, cacao, pomelo y caucho.
	Arsenito sódico	Hormigas.
	Arsenito sódico.	Yesca y escorias de la vid. Protector de la madera, conservación de vías ferreas y postes telefónicos.
	10,10-oxibisfenoxarsina.	Control de hongos en lino
	Ac. dimetilarvánico. (Ac. cacodílico).	Defoliante del algodón.
	Arseniato de plomo y calcio. Trióxido de arsénico.	Control acidez vinos. Rodenticidas.

El arsenito sódico se usó ampliamente como herbicida industrial, y a dosis más elevadas como esterilizante de suelos, pudiendo llegar su persistencia hasta cinco años o más. Actúa tanto por contacto como por absorción en raíces, y parece que su acción se debe a que coagula las proteínas celulares. Su uso no es aconsejable por los problemas derivados de su toxicidad y persistencia (Barberá, 1989). Fue ampliamente usado como herbicida acuático entre los años 1940-1979, particularmente en los Estados Unidos. Tanner y Clayton (1990) han encontrado concentraciones elevadas de As en sedimentos superficiales y en macrofitos, aunque no en aguas y pescados 24 años más tarde de la aplicación en gran escala del producto en el Lago Rotoroa (Nueva Zelanda).

Algunos arseniatos también han sido utilizados como herbicidas, tal es el caso de arseniato cálcico. Respecto al modo de actuar de estos sobre las malas hierbas, nada puede concluirse definitivamente, si bien parece que actúan sobre el proceso fotosintético, al sustituir al fósforo.

Desde hace tiempo se emplean cantidades importantes de ácido metilarsónico y dimetilarsínico (cacodílico) como herbicidas. Del ácido metilarsénico, además de las sales mono y disódica (MSMA, DSMA) se usan sales de aminas de alto peso molecular (decaminas, etc.) y las sales de etanolaminas, e incluso cálcicas o magnésicas. En general, las propiedades de estos productos son muy similares; actúan por contacto y son traslocables, pero no tienen acción residual alguna, ya que se inactivan por compuestos del suelo, así como por oxidantes y reductores fuertes. Su acción es muy efectiva sobre gramíneas y ciperáceas. Las aplicaciones de estos compuestos orgánicos son similares, particularmente en el control de *Sorghum halepense* en los campos de algodón. Estos productos están utilizados en España en cultivo frutal, cítrico, avellano, olivo, viñedo, etc (Barberá, 1989).

Según Liñán (1996), el arsenito sódico está incluido entre los fungicidas de aplicación foliar permitidos por la legislación vigente. Se presenta comercialmente como disolución al 42% p/v (en trióxido de arsénico); su uso está recomendado para el tratamiento invernal de Yesca y Escoriosis en vid a dosis de 2,5 - 3,5 L/hl. Igualmente aparece la sal monosódica de ácido metilarsonico, que se utiliza como una disolución al 50% p/v a dosis que dependen del cultivo en concreto de que se trate.

Otros usos agrícolas son:

- Como agente desecante/defoliante del algodón se utiliza el ácido arsénico (H_3AsO_4), para reducir la humedad que puede afectar a las máquinas de cosechado mecánico. El desecar las plantas de algodón posibilita que se recoja la cosecha más tempranamente no teniendo que esperar a que llegue el período seco (Zingaro, 1993).

- Como conservador de la madera. Cuando el arseniato de cromo y cobre, arseniato sódico y arseniato de zinc se aplican bajo presión, reaccionan con la madera y se forman compuestos insolubles, que proporcionan resistencia a ataques de insectos y de hongos. El consumo de diferentes compuestos de arsénico con esta aplicación, principalmente arseniato de cromo y cobre, arseniato de cobre amoniacal y arseniato fluorcromo fenólico, está en aumento y no parecen existir problemas ambientales por el hecho de que el arsénico no se libera de la madera tratada (Ishiguro, 1992).

- Otros usos más recientes son, para el control del contenido de azúcar en cítricos y el control del color en manzanas (Rice y cols., 1985).

Algunos compuestos, como ácido arsanílico, ácido 4-nitrofenilarsonico, ácido 3-Nitro-4-hidroxifenilarsonico y ácido p-ureidobenzenoarsónico, se utilizan como aditivos en piensos para aves y cerdos, y para combatir ciertas enfermedades en pollos.

Los usos terapéuticos del As datan desde muy antiguo, pero los compuestos arsenicales inorgánicos están hoy en desuso, debido a que han sido desplazados por otras sustancias que no presentan la toxicidad de los mismos, y que adicionalmente son mucho más efectivas (Martindale, 1993).

Así, el derivado orgánico arsfenamina (también conocido como Salvarsan o "bala mágica") se empleó como droga de elección en el tratamiento de la sífilis y otras enfermedades venéreas, antes de la introducción de los antibióticos.

Algunos arsenicales orgánicos están aún prescritos en terapéutica humana con actividad principal antiparasitaria, como Carbarsona, Triparsamida y Melarsoprol (Goodman y Gilman, 1991; Clark y cols. 1993).

Melarsoprol (Mel B o Arsobal) ha ido desplazando a Carbarsona, Triparsamida y otros arsenicales empleados en el tratamiento de la tripanosomiasis africana (Manson-Bahr y Bell, 1987). Es un derivado orgánico de As (III), eficaz contra *Trypanosoma gambiense* y *T. rhodesiense*, que se utiliza como solución intravenosa al 3,6 % en propilenglicol, administrándose lentamente y con precaución, pues es altamente irritante para el tejido circundante (Goodman y Gilman, 1991). Su acción contra los parásitos se basa en su reactividad por los grupos sulfidrilo de la enzima glucolítica terminal piruvato quinasa. Probablemente este mismo mecanismo no específico, por el que melarsoprol inactiva proteínas y enzimas que contengan grupos sulfidrilo, es responsable de su toxicidad sobre el huésped. Debido a su capacidad de penetrar en el líquido cefalorraquídeo, es fármaco de elección en el tratamiento del estado meningoencefalítico de la enfermedad, siendo también eficaz en el estado hemolinfático temprano.

El protocolo del tratamiento varía, pero en general se administra a bajas dosis al comienzo del tratamiento, especialmente en niños y pacientes debilitados, incrementándose la dosis gradualmente hasta el nivel máximo de 3,6 mg/Kg peso corporal (Martindale, 1993; Clark y cols. 1993). Debido a su toxicidad, pues puede producir en el 10 % de los pacientes encefalopatía fatal reactiva, no se utiliza en profilaxis.

Asimismo, aún se emplean compuestos de As en homeopatía, como trióxido de arsénico, y en ciertas hierbas medicinales asiáticas (Martindale 1993; Ellenhorn y Barceloux, 1988).

En otros campos las aplicaciones del arsénico y sus derivados son:

El arsénico elemental se emplea como aditivo en pequeñas cantidades (0.01-0.5%) en la producción de diferentes **aleaciones minerales** para incrementar su dureza, resistencia a la corrosión y resistencia al calor. Otras aplicaciones en la metalurgia incluyen la producción de arseniuros de selenio, indio o galio. Este último compuesto, un cristal artificial, está constituyendo un importante material en la fabricación de circuitos integrados para ordenadores, impresoras laser, discos compactos, etc.(CEE, 1991; Ishiguro, 1992). El arseniuro de galio tiene varias ventajas frente a los semiconductores de silicón, como sus propiedades de gran movilidad electrónica, resistencia a altas temperaturas, radiaciones y sensibilidad a campos magnéticos. Habría que mencionar también el triseleniuro de arsénico, As_2Se_3 , que se moldea dando componentes ópticos como son lentes y prismas, que se utilizan como receptores de máquinas de fotocopias electroestáticas.

El trióxido de arsénico se usa como agente decolorante y dispersador de las pequeñas burbujas de aire formadas durante el proceso de la **fabricación de vidrio**, así como en la producción de cristal opalescente y esmaltes. Recientemente, la compañías de manufactura de vidrio han eliminado o al menos reducido el consumo de compuestos de arsénico, siendo sustituidos por el uso de selenio y cerio (Ishiguro, 1992).

Desafortunadamente el arsénico también ha sido utilizado con fines destructivos sobre el hombre. Así tres derivados cloroetilénicos arsenicales, obtenidos por sustitución de átomos de cloro en el cloruro de arsina por una, dos o tres moléculas de acetileno clorado, de los que el más importante es la clorovinildicloroarsina (Lewisite), son compuestos tóxicos empleados como armas químicas, con acción principal vesicante. Tienen acción similar pero mucho más

Estimación toxicológica del As y sus especies

tóxica que la iperita, por la participación del arsénico sobre la permeabilidad capilar. Actúan sobre piel y mucosas (oculares, respiratorias, digestivas, etc.); tras una rápida absorción asintomática y un período de latencia de incluso horas y días, se originan vesículas exudativas, dolorosas, de curación muy lenta, con escaras debido a su lenta hidrólisis que genera ácido clorhídrico. En vías respiratorias producen irritación, secreciones, edema y muerte por asfixia. En los ojos, inflamaciones y lesión corneal (Repetto, 1991; Zingaro, 1993).

**PRESENCIA DEL ARSÉNICO EN EL MEDIO
AMBIENTE.**

CICLO BIOGEOQUÍMICO.

4.1.- CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL ELEMENTO.

El arsénico es un elemento ubicuo en el medio ambiente, encontrándose en la atmósfera, medio acuático, suelos, sedimentos y organismos vivos. El ciclo general biogeoquímico del As es similar al de otros elementos, interviniendo en su distribución muchos organismos vivos: microorganismos, plantas e invertebrados (Figura 1).

La liberación global estimada de arsénico a partir de fuentes naturales es de 8×10^6 kg/año. Este se encuentra en la naturaleza como elemento libre, así como formando parte de diferentes compuestos, estando ampliamente distribuido en minerales azufrados. Puede acompañar a Au, Cu, Zn, Hg, Sb, Pb, Mo, Fe, Co, Ni y Pt en depósitos minerales, siendo frecuentemente usado como indicador de la existencia de estos depósitos, principalmente en el caso del Au (Azcue, 1995; Irgolic y cols., 1983).

El enlace As-S es la base de todos los minerales de arsenito, siendo la arsenopirita (FeAsS) el más común, llegando a tener hasta un 5% del elemento. También destacan oropimente (As_2S_3) y rejalgar (As_4S_4). Algunos de los principales minerales que contienen As se recogen en la Tabla 5. Igualmente, pueden encontrarse altos niveles de arsénico, en algunos carbones y turbas.

La acción de agentes atmosféricos sobre las rocas libera arsénico inorgánico, proceso catalizado por diferentes microorganismos, y constituyendo la principal fuente natural del elemento (Ferguson y Gavis, 1972). Otras dos fuentes importantes de la acumulación As en el suelo son la precipitación a partir de la atmósfera, por acción de la lluvia y el polvo, y la actividad volcánica.

Tabla 5.- Algunos de los minerales que contienen arsénico, más comunes en la naturaleza.

Nombre	Fórmula
Arsenopitita	FeAsS
Rejalgar	AsS
Oropimente	As ₂ S ₃
Cobaltita	CoAsS
Enargita	Cu ₃ AsS ₄
Arsenoargentita	Ag ₃ As
Arsenolita	As ₂ O ₃
Adamita	Zn ₂ AsO ₄ OH
Farmacosiderita	Fe ₃ (AsO ₄) ₂ (OH) ₃ ·5H ₂ O

Los compuestos de arsénico liberados por la erosión de las rocas pueden quedar retenidos en suelos o disolverse en agua y ser transportados y redistribuidos (Wakao y cols., 1988).

La emisión de arsénico a la atmósfera se debe a fuentes naturales y antropogénicas, con una proporción aproximada 60:40, respectivamente (Chilvers y Peterson, 1987). Las principales fuentes naturales del arsénico atmosférico son: intercambio oceánico de gases, erosión de rocas, volatilización directa a bajas temperaturas a partir de la corteza terrestre, actividad volcánica e incendios de la vegetación forestal. De todas estas fuentes, el volcanismo representa la de mayor importancia; se estima que la emisión de arsénico debido a la actividad volcánica es 120 veces mayor que la debida a otras fuentes (Buat-Menard, 1984).

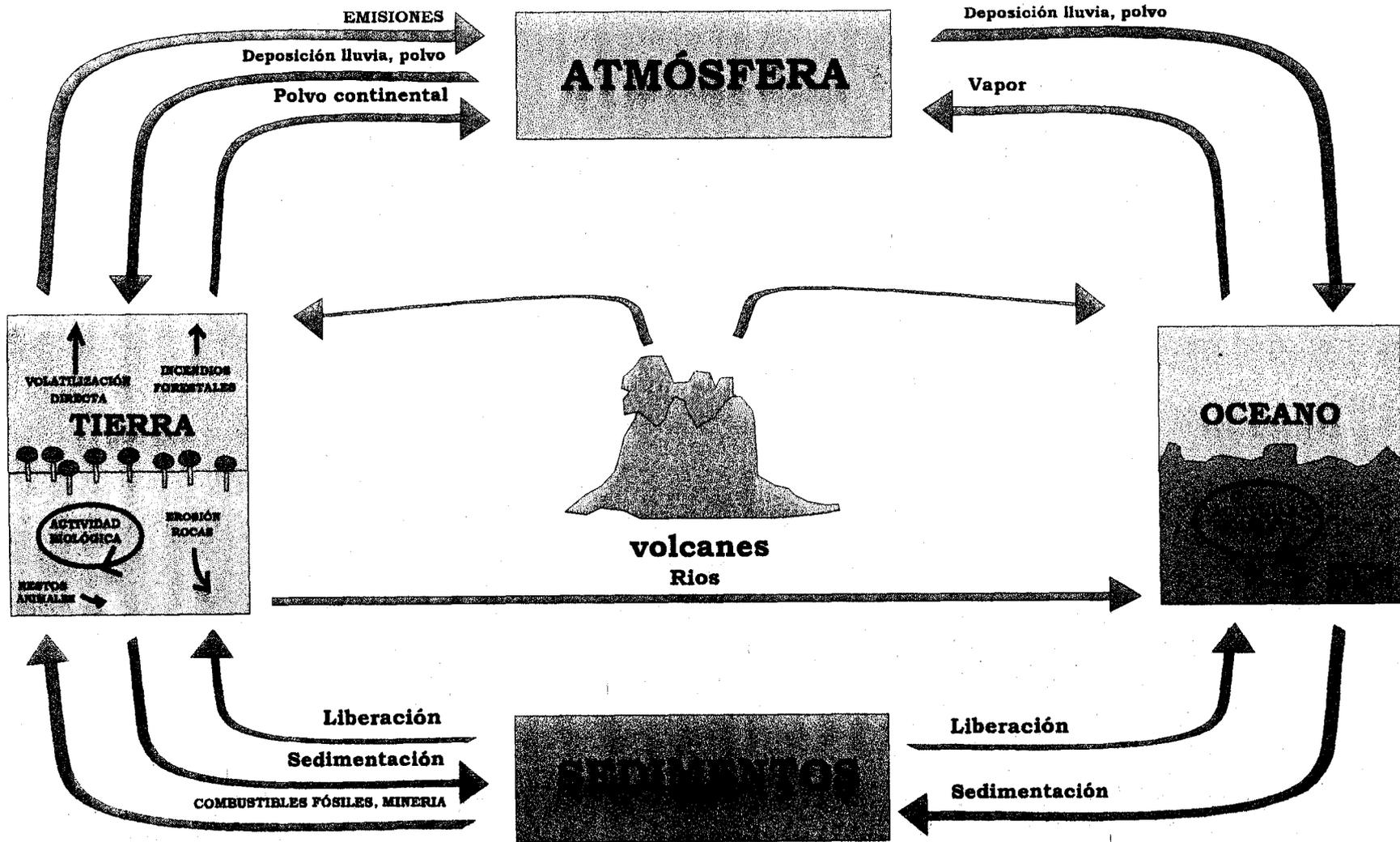


FIGURA 1.- CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL ARSÉNICO

Presencia del As en el medio ambiente. Ciclo biogeoquímico.

Los procesos de biometilación natural también liberan As a la atmósfera; diferentes bacterias, hongos y levaduras forman derivados metilados volátiles en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, pero aún no se ha establecido si a partir de las plantas pueden liberarse dichos compuestos volátiles, como ocurre en el caso del selenio (Tamaki y Frankenberger, 1992).

El arsénico llega al océano a través de la atmósfera, además de otras vías como es el agua procedente de los ríos que llevan especies del elemento en disolución, así como formando parte de materia suspendida. En aguas dulces (ríos y lagos) el elemento se encuentra en concentraciones relativamente bajas, mientras que en océanos el tiempo de permanencia es mayor y las concentraciones, por tanto, son más elevadas, dependiendo más o menos de la salinidad (Sanders y Riedel, 1992).

La adsorción de arsénico en los sedimentos y coprecipitación con iones sulfuro, y compuestos de hierro y aluminio, es uno de los principales mecanismos para la eliminación del mismo a partir de los ambientes acuáticos. Ambos, arseniato y arsenito coprecipitan o se adsorben en los óxidos de hierro hidratados; dichos óxidos son componentes fundamentales de los barros, arcillas, y así la eliminación del As del agua depende del contenido de arcilla del sedimento. El arseniato compete con fosfato en su adsorción a la superficie de las arcillas, barros. El arsenito de las aguas, por su gran afinidad por los grupos sulfuro, se adsorbe o coprecipita con sulfuros metálicos. Por tanto, las concentraciones de hierro y fosfatos presentes en aguas son factores significativos en los niveles de arsénico disuelto (Lemmo y cols, 1983).

El elemento es liberado de los sedimentos si el Fe (III) y los sulfuros se convierten a Fe(II) o sulfatos. Sin embargo, la concentración final disuelta no sólo puede explicarse por sus interacciones con Fe, sulfuros y fosfatos, sino que otros factores como los equilibrios de adsorción-desorción y la concentración total en sedimentos, juegan un papel fundamental.

A pesar del proceso de volatilización del arsénico a partir de la superficie del mar (principalmente en forma de As(V)), así como de la adsorción y precipitación en sedimentos, el balance total indica que, los océanos son el depósito final de este elemento. Así, se ha sugerido que la concentración de As en los océanos del mundo estarán incrementadas en un 1-2 % en los próximos años (Cullen y Reimer, 1989).

4.2.-TRANSFORMACIONES DEL ARSÉNICO EN EL MEDIO AMBIENTE

La mayoría de las transformaciones del As ocurren en el suelo, sedimentos, plantas y animales, y en zonas de actividad biológica en los océanos.

La Figura 2 ilustra el ciclo biológico del elemento, con las especies predominantes en los sistemas sedimentos-agua-aire (Lemmo y cols, 1983), en el que los procesos de metilación y volatilización juegan un importante papel en el trasiego de los productos arsenicales a través de la cadena alimentaria, y en los procesos de detoxicación del elemento.

De las diferentes reacciones por las que el As se cicla en el medio ambiente (oxidación-reducción, adsorción química y física sobre partículas, metilación y desmetilación) las principales transformaciones son biometilación y biorreducción, ya que se producen especies organometálicas, suficientemente estables, y móviles en aire y agua. Sin embargo, las formas biometiladas producidas pueden estar sujetas a posteriores oxidaciones y desmetilaciones bacterianas para volver a dar las especies inorgánicas.

Aunque la exacta naturaleza del proceso de metilación de los arsenicales no es conocida, este hecho se descubrió sin embargo, hace ya bastantes años, por las arsinas producidas a partir de sales de As inorgánicas en cultivos del hongo *Scopulariopsis brevicaulis* (Challenger, 1945). A partir de estas observaciones iniciales, se demostró que las Metanobacterias reducen y metilan el arseniato bajo

condiciones anaeróbicas a ácido dimetilarsínico. Cox y Alexander (1973) aislaron tres hongos que producían trimetilarsina a partir de compuestos orgánicos e inorgánicos de As: *Candida humicola* y especies de los géneros *Penicillium* y *Gliocladium*, así como especies de *Candida*.

Hay diferentes mecanismos propuestos para las biometilaciones del As. Según Challenger, la metilación implica una reducción previa de As(V) a As(III) y la posterior transferencia de un grupo metilo. Para comprender la biomovilidad y bioacumulación de las diferentes formas del As, se está aplicando actualmente la Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear para medir los coeficientes de difusión de las especies DMAA y MMAA, como alternativa a los coeficientes de partición n-octanol/agua convencionales (Cullen y cols, 1994).

Se ha postulado que la transferencia de grupos metilo al As debe ocurrir por ataque nucleofílico de sus especies reducidas al enlace C-S de S-adenosilmetionina (SAM), siendo éste compuesto la fuente de grupos metilo en los procesos de biometilación llevados a cabo por hongos (Cullen y Reimer, 1989). Estos autores proponen la participación de tioles y ditiolos, incluyendo cisteína, glutatión y ácido lipóico, en la reducción previa a la metilación (Figura 3).

En bacterias, McBride y Wolfe (1971) encontraron que la metilcobalamina (metilB₁₂) puede actuar como donador de grupos metilo en la biosíntesis de dimetilarsina a partir de arseniato o arsenito, y actualmente (Cullen y Reimer, 1989) no hay dudas de la participación de Me-B₁₂ en estos procesos.

Independientemente del grupo donador de Me, la metilación se produce por ataque nucleofílico por sales de As de estados de oxidación menor, lo que sugiere de nuevo que la biometilación ocurre preferentemente en ambientes reductores. Sin embargo, Brinkman y cols han demostrado que cultivos mixtos bacterias-hongos son capaces de producir trimetilarsina bajo condiciones tanto aeróbicas como anaeróbicas (Lemmo y cols., 1983).

En los sistemas acuáticos los estados de oxidación e ionización del As dependen del pH y del potencial de oxidación-reducción (pE).

Estimación toxicológica del As y sus especies

En aguas naturales las formas metiladas se encuentran generalmente en concentraciones inferiores a las inorgánicas, siendo el arseniato predominante, en equilibrio con la forma reducida, arsenito; de forma que en aguas y sedimentos oxigenados, la especie más frecuente es As (V) (H_3AsO_4 , $H_2AsO_4^-$ en ríos y lagos, $HAsO_4^{2-}$ en océanos, AsO_4^{3-}); en condiciones reductoras predomina As(III) (H_3AsO_3 , $H_2AsO_3^-$, $HAsO_3^{2-}$). En aguas reducidas las arsinas producidas son ligeramente solubles.

En agua de mar, lagos y ríos las fluctuaciones de la razón As(III)/As(V) están asociadas con la actividad del fitoplancton. En ambientes marinos, la oxidación a As (III) depende de la temperatura, pH, salinidad y luz ambiental. Asimismo, en ambientes acuáticos, las concentraciones de compuestos organoarsenicales depende de la actividad del fitoplancton (WHO, 1981).

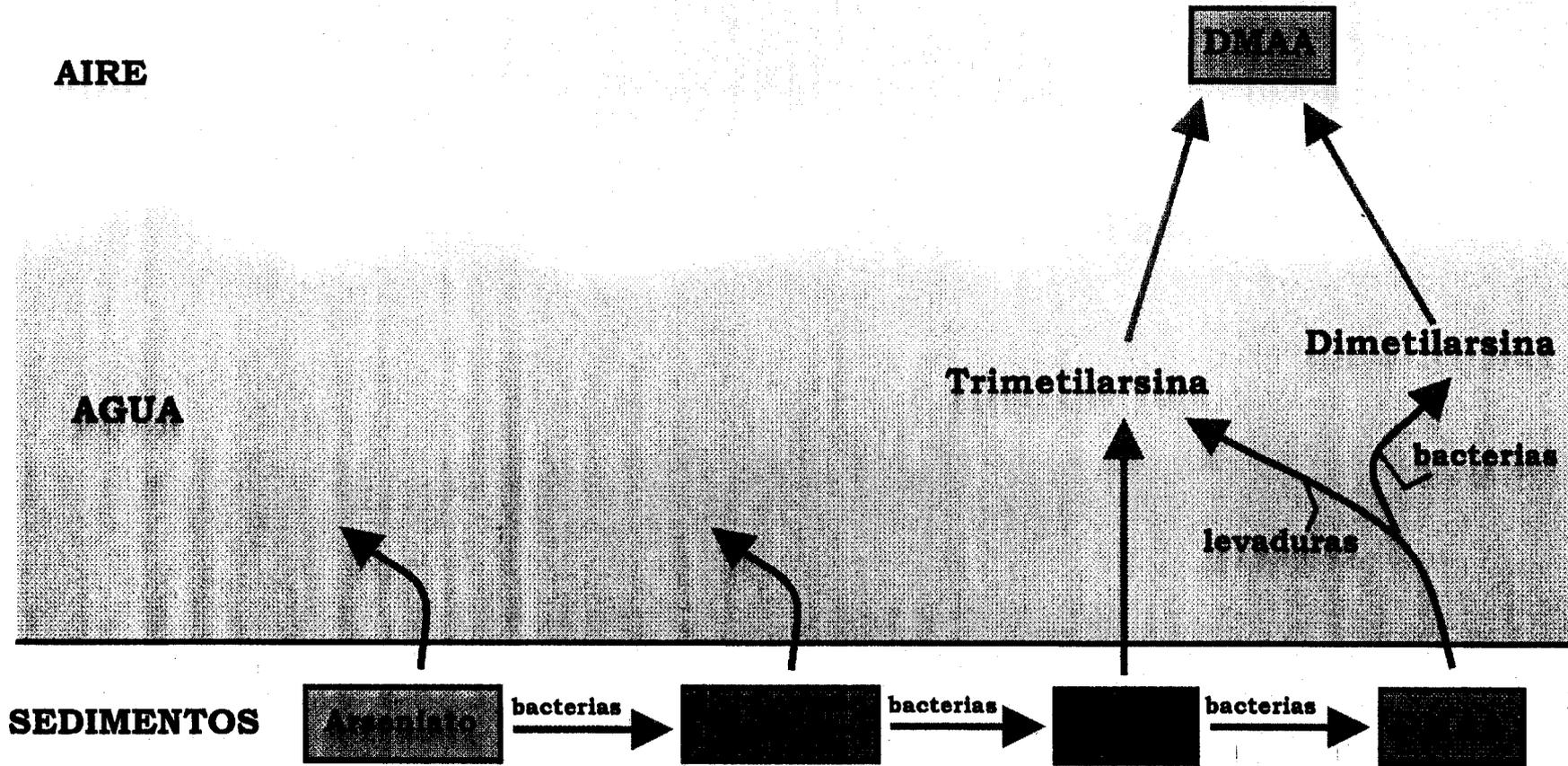
En lagos y ríos los compuestos metilados de arsénico suponen el 10-20% del total, habiéndose registrado en algunos casos niveles de hasta el 70%, pero siempre es el ácido dimetilarsínico el compuesto dominante (Braman y Foreback, 1973). Según Andreae (1978), MMAA y DMAA no exceden del 10% del arsénico total, y sugirió la existencia de una correlación entre los puntos de mayor densidad de algas planctónicas y las mayores concentraciones de arsenicales metilados.

Salvo estos estudios, se sabe poco actualmente sobre la distribución de los organoarsenicales en lagos y ríos. Puede haber limitaciones analíticas en estos estudios, ya que como la concentración total de As suele ser menor de $0,5 \mu\text{g/L}$, los niveles individuales de MMAA y DMAA están cerca del límite de detección de las diferentes técnicas analíticas empleadas en la especiación del elemento (Cullen y Reimer, 1989).

En agua de mar se conoce algo más de la distribución de los organoarsenicales. En unos primeros estudios, se observó que DMAA y arsenito suponían aproximadamente el 20% del As total.

FIGURA 2.-

CICLO BIOLÓGICO ESPECIES ARSENICALES



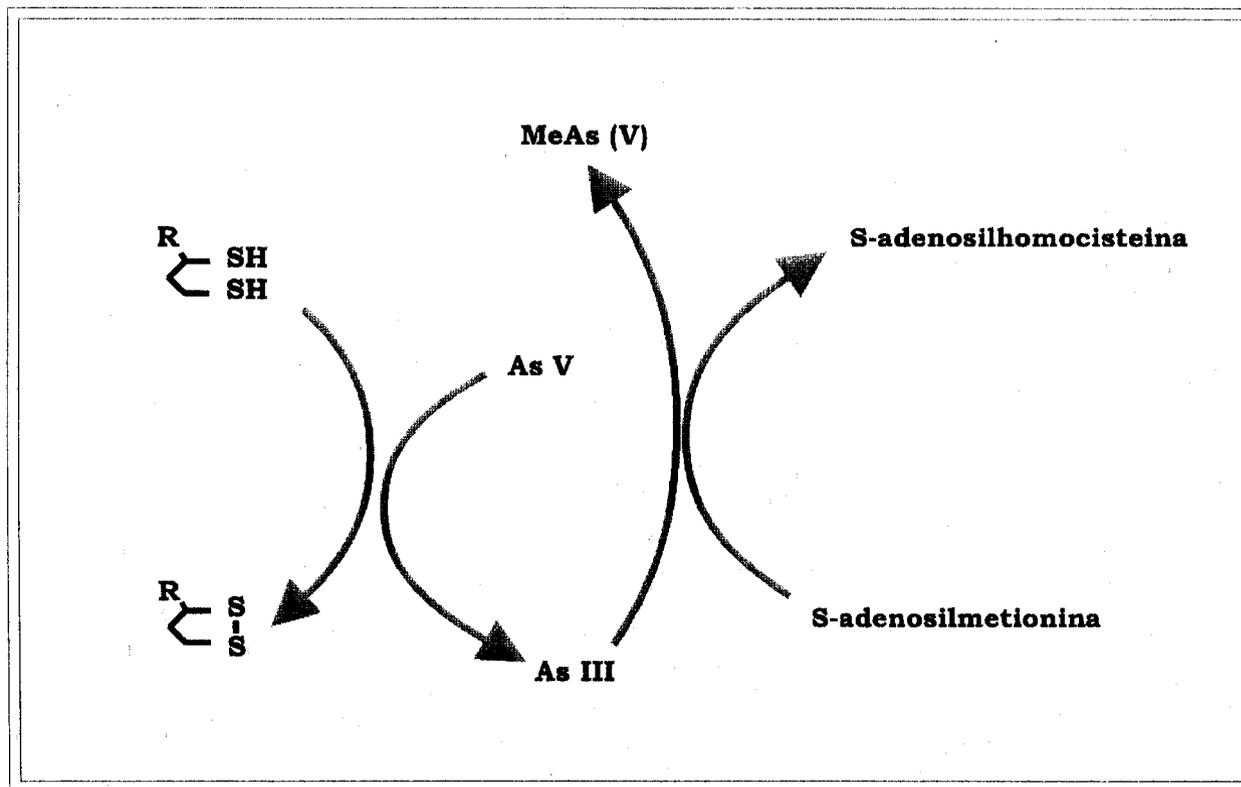


FIGURA 3.- METILACIÓN DEL As. PARTICIPACIÓN DE GRUPOS TIOLES

Presencia del As en el medio ambiente. Ciclo biogeoquímico.

Andreae (1979) fue el primer investigador que realizó un estudio detallado de especiación de As en aguas costeras de California y Noreste del Pacífico. La disminución de arseniato y aumento de arsenito en aguas superficiales venía acompañada de la aparición de las formas metiladas (cuya concentración a veces no era fácil de detectar). Partiendo de estos resultados, Andreae (1986) concluye que el arseniato es tomado por el fitoplancton de las aguas superficiales junto con fosfato, y subsecuentemente es convertido, probablemente como un mecanismo de detoxificación, a MMAA y DMAA, siendo liberados estos compuestos metilados a la columna de agua. Además, indica que MMAA y DMAA son ubicuos en las zonas eutróficas de los océanos, representando el 10% del As total disuelto. La concentración de MMAA fue mucho menor que la del DMAA (proporción 1/10), sugiriendo que este hecho estaba sujeto a diferentes factores ambientales.

Por ejemplo, Sanders (1985) encontró altas concentraciones de metilarsenicales durante la época estival en la Bahía de Chesapeake, que en algunos casos representaban el 60% del As disuelto. El MMAA estaba presente en cantidades iguales o mayores que el DMAA; esta distribución ocurría paralelamente a la presencia mayoritaria de algunas especies de algas del género *Chroomonas*, típicas de esta época del año. Por contra, en invierno, sólo se encontraba presente arseniato, a pesar de que la densidad de la población de algas era similar, pero las especies dominantes pertenecían al género *Katodinium*, lo cual fué interpretado como una diferente capacidad de transformar arseniato por estas algas.

Por tanto, aunque las especies metiladas de As se encuentran preferentemente en las aguas superficiales marinas, su concentración, la distribución de especies y las proporciones relativas están relacionadas con el tipo y presencia de las especies de algas existentes, y/o temperatura. Consecuentemente, es imposible asignar concentraciones típicas de las especies de As acuáticas.

La presencia de organoarsenicales en organismos marinos parece deberse a la acumulación de compuestos que han sido sintetizados previamente a partir de arseniato en niveles tróficos inferiores.

4.3.- NIVELES NATURALES DE ARSÉNICO EN MUESTRAS AMBIENTALES.

El arsénico está presente de forma natural en la **corteza terrestre**, principalmente como arsénico inorgánico. Se encuentra asociado fundamentalmente a rocas ígneas y sedimentarias; está considerado como el vigésimo elemento, en cuanto a su abundancia. Las concentraciones medias en la corteza terrestre son de 1,5-5 mg/Kg (Azcue, 1995).

Las rocas ígneas y sedimentarias contienen niveles de arsénico variables, siendo el margen de 0,4-100 mg/Kg. En esquistos, la concentración media de arsénico es 13 mg/Kg, siendo el margen de 0,3-490 mg/Kg (Cullen y Reimer, 1989).

Un rango de concentración similar se ha encontrado para los **suelos**, entre 0,1 y 40 mg/Kg, con una media de 5,0-6,0 mg/Kg, los cuales contienen una concentración de arsénico que refleja la del material rocoso de origen a partir del cual se han formado (Tamaki y Frankenberger, 1992). Así, algunos suelos poseen niveles de arsénico particularmente elevados, como es el caso de algunos suelos africanos asociados a depósitos de oro que contienen niveles entre 300-5000 mg/Kg de arsénico.

En **sedimentos**, los niveles naturales rondan los 10 mg/Kg, aunque los sedimentos profundos pueden contaminarse sustancialmente por las actividades humanas.

La cantidad de arsénico tomada del suelo por las **plantas**, dependerá de la concentración de arsénico soluble existente en éste, así como de la composición química del suelo y de la especie vegetal en concreto. Los niveles encontrados en plantas terrestres no contaminadas son aproximadamente de 0,2 mg/Kg (Cullen y Reimer, 1989), aunque otros autores proponen niveles más elevados, superiores a 1 mg/Kg (Nriagu y Azcue, 1990).

Presencia del As en el medio ambiente. Ciclo biogeoquímico.

La concentración natural de As total en **aguas subterráneas** depende del contenido en arsénico del lecho de roca, de forma que cuando éste es elevado se han alcanzado concentraciones que sobrepasan los 0,05 mg/L, llegando incluso hasta niveles superiores a 3,6 mg/L (WHO, 1981). Las formas químicas en aguas subterráneas no están suficientemente establecidas, aunque Clement y Faust (1973) encontraron que la proporción de As (III) era del 25-50 % del arsénico total, no detectándose compuestos metilados orgánicos.

Las aguas geotérmicas tienen niveles particularmente altos de As disuelto, registrándose concentraciones de 206 $\mu\text{g/L}$ (Lacayo, 1992) e incluso superiores a 1 mg/L (Stauffer y Thompson, 1984); As (III) es la forma predominante.

La presencia de As en **agua de mar** es relativamente homogénea, variando entre 0,5 - 5 $\mu\text{g/l}$ (Sanders, 1980) con una media de 1,7 $\mu\text{g/l}$ (Chilvers y Peterson, 1987). Se ha observado un margen de valores más reducido, 1,0-1,8 $\mu\text{g/L}$, en el caso de aguas profundas de los océanos Pacífico y Atlántico (Cullen y Reimer, 1989).

En contraste, las concentraciones de arsénico **aguas dulces** (ríos y lagos) varían considerablemente, dependiendo de la composición geológica de las áreas drenadas, de la corriente y evaporación; la concentración media es de 1,7 $\mu\text{g/L}$, variando la mayoría de las aguas en un rango entre 1,0-10 $\mu\text{g/L}$ (Tamaki y Frankenberger, 1992).

Las Tablas 6, 7 y 8 resumen los datos encontrados en la bibliografía acerca de las concentraciones de arsénico en diversos compartimientos ambientales, en regiones no contaminadas.

Tabla 6.- Concentración de arsénico en diferentes compartimientos ambientales no contaminados.

Compartimiento	Margen de concentración	Referencia
Corteza terrestre Rocas ígneas Rocas sedimentarias Rocas metamórficas	1,5-5,0 $\mu\text{g/g}$ 0,1-14,0 $\mu\text{g/g}$ 0,1-490 $\mu\text{g/g}$ 0,4-18 $\mu\text{g/g}$	WHO, 1981.
Aire áreas rurales	0,001-0,01 $\mu\text{g/m}^3$	Azcue, 1995.
Agua dulce	1,0-10,0 $\mu\text{g/L}$	Tamaki y Frankenger, 1992.
Agua de mar	0,5-5,0 $\mu\text{g/L}$ 0,5-2,0 $\mu\text{g/L}$	Sanders, 1980. Azcue, 1995.
Vegetación	0,01-5,00 $\mu\text{g/g}$	WHO, 1981. Azcue, 1995.
Peces de agua dulce de agua de mar	0,7-3,0 $\mu\text{g/g}$ 1-100 $\mu\text{g/g}$	Azcue, 1995.

Tabla 7.- Niveles de arsénico en aguas de lagos y ríos no contaminados.

MUESTRA	NIVELES ENCONTRADOS		REFERENCIAS
	Media ($\mu\text{g/L}$)	Márgenes ($\mu\text{g/L}$)	
Planta acuífera del lago Snake, Idaho (USA).	1	ND - 4	Mann y Knobel, 1988.
Ríos del norte y sur de América y Europa.	1,4 (total) 0,5 (América) 3,5 (Europa)	0,1 - 75	Andreae 1983, 1984.
Río Arakawa.	-	1 - 2	Narasaki y Ikede, 1984.
Ríos de Noruega.	2,5	-	Lenvik y cols., 1978.
Lagos de Alemania	3	-	Quentin y Winkler, 1974.
Río Tajo (España)	3,20	-	Freitas y cols., 1988
Lagos y ríos del sudeste de España.	3,67	0,87 - 9,50	Navarro y cols., 1993.
Lagos y ríos de New York.	9,58	9,0 - 10,0	Stein y cols., 1980.
Arroyos.	-	ND - 10	Norris y cols., 1983.
Aguas superficiales de ríos y lagos, (USA).	< 10 (79% de los casos)	< 10 - 1100	Concon, 1988.

Tabla 8.- Niveles de arsénico en aguas de mar.

MUESTRA	NIVELES ENCONTRADOS		REFERENCIAS
	Media ($\mu\text{g/L}$)	Márgenes ($\mu\text{g/L}$)	
Agua de mar, Onagawa. Area de Miyagi (Japón).	0,63	-	Ishikawa y cols., 1987.
Aguas del Mar Báltico.	0,76	0,45 - 1,11	Stoepler y cols., 1986.
Agua de mar, Bainbridge Island (USA).	1,46	-	Mok y Wai, 1987.
Agua de mar (Mo- tril, España).	1,49	0,45 - 3,67	Navarro y cols., 1993.
Agua de mar, costa Nakaminato. (Ibaraki, Japón).	3,14	-	Ishikawa y cols., 1987.

Presencia del As en el medio ambiente. Ciclo biogeoquímico.

Por último, en **agua de lluvia** se han encontrado niveles de arsénico de 1,6 y 0,6 $\mu\text{g/L}$ sobre tierra y mar respectivamente (Cullen y Reimer, 1989).

En cuanto a las concentraciones de arsénico encontradas en **organismos acuáticos**, los peces de aguas dulces presentan concentraciones de arsénico de 0,07 a 3 $\mu\text{g/g}$ (Azcue, 1995). Sin embargo, Cullen y Reimer (1989) proponen para organismos marinos un margen de concentración mucho más amplio, 0,310-340 $\mu\text{g/L}$.

Las **concentraciones atmosféricas** naturales de arsénico son considerablemente mayores en los continentes que sobre los océanos. La concentración en los océanos dependerá de la cercanía a la costa, siendo esta concentración aproximadamente de $6,0 \times 10^{-4} \mu\text{g/m}^3$ sobre el Atlántico norte y de $1,8 \times 10^{-5} \mu\text{g/m}^3$ sobre los océanos del hemisferio sur (Chilvers y Peterson, 1987). Sobre los continentes se estima que es de $2,8 \times 10^{-3} \mu\text{g/m}^3$ en el hemisferio norte y de $1,0 \times 10^{-3} \mu\text{g/m}^3$ en el hemisferio sur (Tamaki y Frankenberger, 1992).

En áreas no contaminadas las concentraciones de As en el aire son del orden de ng/m^3 . En cuanto a las áreas rurales, la concentración atmosférica de arsénico es de $<0,01 \mu\text{g/m}^3$. En el aire, se encuentra principalmente en forma particulada como trióxido de arsénico, menos del 10% está presente en fase de vapor o partículas menores de 0,2 μm ; aproximadamente el 20 % del arsénico total del aire tanto rural como urbano, está constituido por metilarsinas.

Existen diversas áreas del mundo que se han caracterizado por la existencia de niveles anormalmente elevados de arsénico por causas naturales. En algunos de estos lugares se han llegado a producir intoxicaciones masivas de la población residente debido al consumo de agua de pozos que contenían concentraciones extremadamente elevadas de arsénico. Estas concentraciones se han debido a diferentes causas naturales, como la existencia de lechos rocosos ricos en el elemento. En las Tablas 9 y 10 se resumen los niveles de arsénico alcanzados por estas aguas.

Tabla 9.- Rangos de concentración encontrados en aguas de pozo de regiones con elevados niveles de arsénico por causas naturales (Azcue, 1995).

Región	$\mu\text{g/L}$
Costa occidental de Taiwan.	100-1820
Región de Lagunera, Mexico.	8-949
Córdoba, Argentina.	19-3810
Antofagasta, Chile.	más de 800
Easter Dome, Alaska.	1-4781
Ohio, USA.	0-96
Lane, Oregon (USA).	< 1-2000
Lassen, California (USA).	100-1400
Nova Scotia.	1-1000
New Brunswick, Canada.	3-193

Tabla 10.- Aguas de lagos y ríos con concentraciones de arsénico elevadas debido a la actividad volcánica (Lacayo, 1992).

Región	$\mu\text{g/L}$
Lago Montegalán (Nicaragua).	25,2
Lago Asososca-León (Nicaragua).	78,2
Lago Xolotlán, (Nicaragua)	10,2-30,1
Ríos de Antofagasta (Chile)	800,0
Ríos de la región de Córdoba (Argentina).	3400,0

4.4.- NIVELES DE ARSÉNICO ELEVADOS EN EL MEDIO AMBIENTE POR CAUSAS ANTROPOGÉNICAS.

Suelos

Ya se ha mencionado anteriormente que cantidades considerables de compuestos de arsénico usados en agricultura se distribuyen inicialmente en el suelo, aunque en los últimos años ha disminuído esta aplicación. Además, las entradas del elemento en la atmósfera por actividades antropogénicas, juegan un papel importante en la redistribución global del arsénico, siendo mayor la acumulación en suelos o sedimentos cercanos a la fuente de emisión.

La concentración media de arsénico en los suelos es de $6\mu\text{g/g}$, aunque este valor puede llegar hasta $500\mu\text{g/g}$ cuando estos suelos sufren contaminación por compuestos arsenicales minerales u orgánicos, usados como pesticidas (Navarro y cols., 1993; Ishinishi y cols., 1986).

Las plantas que crecen sobre suelos que contengan altas concentraciones de As pueden exceder las 50 mg/L en las partes superficiales, llegando las raíces a contener hasta 400 mg/L y por bioacumulación pueden ser tóxicas para los animales que pastan, y para el hombre. Así, Weaver y cols. (1984) comprobaron que cuando la planta *Cynodon dactylon*, ampliamente usada en regiones tropicales y subtropicales, crecía en suelos contaminados (45 mg/L As), era capaz de acumular concentraciones de As en hojas, tallos y raíces de 15 , 25 y 200 mg/L , suficientemente elevadas para ser un peligro tóxico para animales que se alimenten de estos pastos. Además, en suelos que contenían 90 mg/L de As, se reducía el crecimiento de la planta. En general, las cantidades requeridas para este efecto dependen de la especie en particular.

El nivel de arsénico soluble en agua en los cultivos, indicativo de la cantidad disponible para las plantas, que se considera como tóxico para frutos pequeños y vegetales es de 2 mg/L . MacLean y Langille (1981) encontraron que los contenidos de As total y As soluble en agua, disponible, de suelos de huertas y campos de

patatas tratados, eran superiores a los no tratados, incluso después de 10-15 años; las concentraciones más elevadas se encontraron en la capa más superficial (0-10 cm). En suelos previamente tratados, las hojas y piel de patatas acumulaban el elemento, mientras que la pulpa no.

El interés por la fitotoxicidad potencial del As a los cultivos subsecuentes, acumulación en alimentos, y su movilidad ha focalizado últimamente la atención sobre los procesos que afectan la distribución y especiación del elemento en suelos, en vez de limitarse a las concentraciones totales de As (Woolson, 1983).

Otra actividad antropogénica que puede causar un aumento de los niveles naturales de As en suelos es la actividad minera. Por ello, Koe y cols. (1991) estudiaron el contenido del suelo y de hierbas de unas minas de oro del norte de Portugal, encontrando niveles de 30000 mg/Kg en suelo y de 3-1800 mg/kg de peso seco en hierbas.

Actualmente se está estudiando la influencia de la lluvia ácida sobre la presencia de As en suelos y sedimentos. El incremento de acidez en la atmósfera, medios acuáticos y suelos puede alterar el impacto del As en el medio ambiente, pero la naturaleza y extensión de este fenómeno se desconoce, pues no se trata sólo de una simple dependencia pH-especiación de As, sino que se reconoce que hay una multiplicidad de formas por las cuales estos factores pueden interaccionar.

Algunos autores indican que la acidificación trae consigo diferente reactividad de las especies inorgánicas del elemento (oxianiones), pero no se tiene en cuenta los aspectos cinéticos de interconversión, ni las transformaciones redox inducidas por microorganismos. Se ha apuntado que el incremento de acidez producirá una disminución de la estabilidad de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ amorfo, y por tanto, existirán cambios en la eficacia del mismo en su unión a arsenicales; consecuentemente se modificará la distribución del elemento (Cullen y Reimer, 1989).

Conforme aumenten los conocimientos sobre el ciclo biogeoquímico del As, crecerá la capacidad de predecir la respuesta del mismo a cambios esporádicos, como la lluvia ácida.

Agua

Además de las fuentes naturales, las principales fuentes de arsénico que contaminan las aguas de lagos y ríos son de carácter antropogénico, como: la existencia de fundiciones minerales, las plantas geotérmicas y el uso de pesticidas arsenicales.

Efectivamente, la mayoría de las aguas de ríos y lagos contienen entre 1-10 $\mu\text{g/L}$, con una media de 1,7 $\mu\text{g/L}$; sin embargo, algunos estudios tras revisar los contenidos del elemento en diferentes ríos de Europa y de América, admiten un rango más amplio, entre 0,1-75 $\mu\text{g/L}$, estando reflejada la mayor densidad de actividad antropogénica en el valor medio obtenido para Europa (3,5 $\mu\text{g/L}$), en comparación con el obtenido para norte América (0,5 $\mu\text{g/L}$).

En nuestro país, Navarro y cols. (1993) han estudiado las concentraciones de As en aguas de ríos del sudeste de España, concretamente en Motril, área de gran actividad agrícola con empleo intensivo de plaguicidas arsenicales. Los niveles encontrados (3,67 $\mu\text{g/L}$ de media) no son elevados y son comparables a los determinados por otros autores, concretamente muy similares a los encontrados en el río Tajo (Freitas y cols. 1988).

Lacayo y cols. (1992), estudian los niveles de arsénico en aguas del lago Xolotlan (Nicaragua), el cual se encuentra contaminado por fuentes naturales (volcanismo y aguas termales), así como antropogénicas (aguas de desecho de una planta geotérmica). La concentración de las aguas de desecho de esta planta oscilaban en el margen 5295-16700 $\mu\text{g/L}$; sin embargo, debido a las grandes dimensiones del lago, las concentraciones en agua no estaban excesivamente aumentadas, siendo de 10,2-30,1 $\mu\text{g/L}$.

Azcue y Nriagu (1995), analizaron el agua del Lago Moira (Ontario), que recibió el aporte de As y otros elementos de minas existentes en la zona, y encuentran altas concentraciones del elemento, y variables según la estación del año: 62 $\mu\text{g/L}$ en verano y 22 $\mu\text{g/L}$ en invierno. Además, estos mismos autores, en 1994, estudiaron los niveles de As en sedimentos (673 mg/Kg) y peces (0,03-0,34 mg/Kg peso húmedo) de este lago.

Estimación toxicológica del As y sus especies

También se encontraron altos niveles de arsénico, 31,2 $\mu\text{g/L}$, en sedimentos del río Columbia (lago Roosevelt) debido a las descargas procedentes de una fundición de plomo-zinc y de una refinería cercana (Johnson, 1990).

En el Lago Unión (Sudeste New Jersey), los altos contenidos de As se debieron a una única fuente de contaminación, la fabricación industrial de compuestos arsenicales en las proximidades, de forma que la eliminación incorrecta de productos de desecho dió lugar a cantidades importantes de As en aguas (hasta 2780 $\mu\text{g/L}$) y sedimentos (hasta 2290 $\mu\text{g/L}$) (Faust y cols., 1983).

Tanner y Clayton (1990) estudiaron la persistencia del arsénico en el lago Rototoa (Nueva Zelanda), 24 años después de la aplicación de arsenito sódico como herbicida acuático, encontrando que la concentración en aguas era de 0,01 g/m^3 , en sedimentos de 540 a 780 mg/kg peso seco y en pescados inferior a 1 mg/Kg peso seco.

Los compuestos metilados, empleados como herbicidas, también pueden pasar a las aguas naturales si bien sufren alta retención en los suelos. Esta llegada directa de organoarsenicales ocurrió en el río Menominee (Wisconsin), como efluentes de industrias; como respuesta a esta contaminación se observó un incremento de los procesos de desmetilación (Holm y cols, 1979).

En Niigata (Japón) las aguas de desecho de una fábrica de producción de sulfuro de As contaminó las aguas de pozos cercanos, alcanzándose niveles de hasta 3000 $\mu\text{g/L}$.

Atmósfera

Como hemos dicho anteriormente, se estima que la razón del aporte de As a la atmósfera por vía natural y antropogénica es del 60:40. Algunos autores sugieren que las concentraciones de As en la atmósfera son predominantemente naturales en el hemisferio sur (65%), e industriales (80%) en el hemisferio norte (Buat-Menard, 1984; Walsh y cols., 1979).

Presencia del As en el medio ambiente. Ciclo biogeoquímico.

Existe un acuerdo general de que las principales fuentes de ingreso de As en la atmósfera debido a la actividad humana son las operaciones de fundición (suponen un 60% del total), la combustión de carbón y la aplicación de plaguicidas, encontrándose principalmente como trióxido de arsénico (Cullen y Reimer, 1989; Ishinishi y cols., 1986).

En las cercanías de fundiciones los niveles de As han excedido $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (WHO, 1981). Este es el caso de El Paso (Texas) y Rumanía, donde se encontraron concentraciones de 1,4 y $1,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ respectivamente (Ishinishi y cols., 1986).

En Praga, se observó que la concentración de As en el aire variaba con la estación del año, siendo de $0,56 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en invierno y de $0,07 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en verano, lo que se atribuye a la combustión de carbón para la calefacción de los hogares. Igualmente, la combustión de madera tratada con conservadores de la madera arsenicales, puede liberar As, principalmente As(V) a la atmósfera, dependiendo estrechamente la concentración de la temperatura (WHO, 1981).

Por otro lado, se sabe que la volatilización biológica es de gran importancia en la liberación de As de suelos tratados, aunque las cantidades de compuestos metilados encontradas en aire no contaminado son pequeñas. El arsénico total en muestras de aire tomadas en invernaderos es mucho mayor que en aire ambiental, y las formas metiladas predominan sobre las formas inorgánicas.

**PRESENCIA DE ARSÉNICO EN MUESTRAS
BIOLÓGICAS HUMANAS**

Los indicadores biológicos de exposición al As son sangre, orina, y pelo.

En **sangre**, el As está distribuido entre plasma y eritrocitos. Existe gran variabilidad en los valores de As en sangre consultados en la bibliografía; en sujetos normales las concentraciones sanguíneas varían, dependiendo de la dieta y medio ambiente, y se ha registrado que oscilan entre 0,002-0,062 mg/L en algunas poblaciones (Baselt y Cravey, 1989); otros autores encuentran una concentración media de As en sangre en población no expuesta de 11 $\mu\text{g/L}$ (Vercruysse, 1984).

En diversas poblaciones de USA que consumen agua de bebida con concentraciones normales de As (0,006-0,098 mg/L), los niveles medios sanguíneos varían en un rango de 0,003-0,005 mg/L, aumentando hasta 0,013 mg/L cuando los niveles de As en agua ascendían a 0,393 mg/L (Valentine y cols., 1979).

Ya que el tiempo de vida media del As es corto, los niveles sanguíneos como indicador biológico de exposición son útiles sólo a los pocos días de una exposición aguda, pero no para valorar el grado de exposición crónica. Se considera que una concentración sanguínea de 1-4 $\mu\text{g/L}$ de As es indicadora de una exposición normal al elemento y más de 50 $\mu\text{g/L}$ indicador de exposición alta (Goyer, 1996).

De hecho, en zonas endémicas de arsenicismo en Taiwan, se han encontrado niveles de As en sangre total de 60 $\mu\text{g/L}$ (Vercruysse, 1984). Los valores sanguíneos de referencia de As para habitantes de la CEE no expuestos oscilan entre 0,4-11,9 $\mu\text{g/L}$ (Alessio y cols., 1992), rango similar al registrado por Gossel y Bricker (1994) que estiman como concentración normal de As en sangre un rango de 0,0-20,0 $\mu\text{g/L}$.

En la Tabla 11 aparecen las concentraciones de As normales o habituales en muestras biológicas humanas, así como las concentraciones tóxicas y letales o postmortem, que nos han resultado más fiables.

El mejor indicador biológico de exposición reciente del As es la concentración en **orina** del elemento, que usualmente es mayor a 100 µg/L, mientras que en personas no expuestas suele ser inferior a 10 µg/L. Los valores de referencia de $[As]_{\text{orina}}$ en individuos no expuestos de la CEE oscilan entre 2,3-31,1 µg/L (Alessio y cols., 1992).

En trabajadores expuestos a As_2O_3 (industria del vidrio), los niveles de As urinario aumentan en comparación con una población control, y en proporción a la intensidad de exposición, llegándose a alcanzar valores superiores a 200 µg/L (Foa y cols. 1984). En trabajadores de la industria de GaAs, expuestos a bajos niveles de As inorgánico, la excreción urinaria de As total oscila entre 107-186 µg/L, mientras que en trabajadores de una fundición de Cu (mayor exposición a As) oscila entre 181-433 µg/L (Yamauchi y cols., 1989).

Vahter y cols. (1986) encuentran una correlación lineal entre la $[As]$ en orina y la exposición a óxido de As(III): $y = 2,0x + 29 \mu\text{g As/g creatinina}$.

La excreción de As en orina también se ha correlacionado con la ingesta de As en el agua de bebida. En casos de hidroarsenicismo, se han registrado concentraciones de As en orina de hasta 1982 µg/24 horas (Vercruyssen, 1984).

El consumo de alimentos de origen marino conlleva un marcado aumento de la excreción urinaria de As, principalmente, en forma de arsenobetaina. Se observa un máximo de 0,2-1,7 mg/L en las concentraciones urinarias de arsénico total durante las 4 horas posteriores al consumo de pescado (Baselt y Cravey, 1989).

Por tanto, la determinación de la concentración de arsénico total urinario, sin tener en cuenta la ingesta de pescado, puede conducir a la sobreestimación de la exposición a arsénico.

Tabla 11.- Presencia de As en muestras biológicas humanas.

Muestra	Exposición normal	Exposición excesiva Concentración Tóxica	Concentración Letal	Referencia
Sangre	0,0-20 µg/L	1000 µg/L	15 mg/L	Gossel y Bricker, 1994.
	1-4 µg/L	> 50 µg/L	-	Goyer, 1996.
	0-10 µg/L	600 µg/l (intox. aguda) 10-500 µg/L (intox. Crónica)	10 mg/L	Servicio de Información del Instituto Nac. Toxicol., Dpto. Sevilla.
	4-11,9 µg/L	-	-	Alessio y cols., 1992
Suero	0-20 µg/L	50 µg/L	10 mg/l	Servicio de Información del Instituto Nac. Toxicol., Dpto. Sevilla.
Pelo	81 µg/100 g	300 µg/g	-	Vercruisse, 1984.
	< 1 µg/g	-	-	Goyer, 1996.
	-	3 mg/Kg	-	Borzsonyi y cols., 1992.
	-	5 mg/Kg	-	Vercruysse, 1984.
	-	-	0,1-16 mg/Kg	Chatt y Katz, 1988.
Orina	< 10 µg/L	> 100 µg/L	-	Goyer, 1996.
	2,3-31,1 µg/L	-	-	Alessio y cols., 1992
	-	100-200 µg/L	-	Foa y cols., 1984.
	2-5 µg/L	1-20 mg/L (intox. aguda) 0,05-5 mg/L (intox. crónica)	-	Servicio de Información del I.N.T., Dpto. Sevilla.
	-	100-500 µg/L	-	Yamauchi y cols., 1989.

El As se encuentra en mayor concentración en pelo y uñas que en otros órganos humanos, debido a su retención por la queratina de estos tejidos. De acuerdo con Smith (Vercruyse, 1984) la concentración media de As en pelo de personas no expuestas es de 81 $\mu\text{g}/100\text{ g}$; sobre una población estudiada de 1000 personas, en el 80% de los casos los niveles de As en pelo eran inferiores a 100 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, mientras que concentraciones del orden de 300 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ se consideran sospechosas de intoxicación. Otros autores (Goyer, 1996) estiman que una concentración $< 1\ \mu\text{g}/\text{Kg}$ de As en pelo es indicativo de una exposición normal a As, aunque no informan sobre niveles tras exposición excesiva. En un caso de intoxicación letal, se encontró que la [As] en el extremo proximal del pelo fue de 16 mg/Kg y en el extremo distal de 0,1 mg/L (Chatt y Katz, 1988).

Se han encontrado niveles elevados de As en pelo de personas expuestas a As en el medio ambiente e industrial, así como por consumo de agua con altos contenidos en As. La presencia de As en el pelo puede tener dos fuentes principales: 1) incorporación del As absorbido en la región más próxima a la raíz y 2) contaminación externa.

En intoxicaciones crónicas de As por consumo de agua, se ha encontrado una correlación positiva entre la frecuencia de los síntomas y las [As] en pelo y/o agua de bebida, observándose una relación dosis-respuesta y concluyéndose que el pelo de la población expuesta podría servir como índice sensible de la contaminación del agua por As. En Hungría, por ejemplo, se encontraron niveles elevados de As en pelo entre consumidores de agua que contenían 0,17-0,33 mg/L, correspondiendo los valores más altos a muestras de pelo de niños, con concentraciones superiores a 3 mg/Kg (Borzsonyi y cols., 1992). En sujetos japoneses que consumían aguas con contenidos de As entre 1-3 mg/L de As, en el 54% de los casos la concentración fue del orden de 500 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de pelo, y la concentración máxima fue de 8500 $\mu\text{g}/100\text{ g}$.

Son diversos los ejemplos de niveles elevados de As en pelo en personas expuestas al As de forma no ocupacional. En jóvenes residentes en las cercanías de una fundición de Cu, las [As] medias en pelo y orina fueron elevadas: 2,6

mg/Kg frente a 0,1 mg/Kg (población control) y 0,019 mg/L frente a 0,006 mg/L, respectivamente; se observa una consistente correlación negativa entre la distancia de la residencia a la industria y el nivel del elemento en pelo.

Niños que vivían en las proximidades de una refinería de oro tenían [As] en pelo de 6,7 mg/Kg, comparado con 0,33 mg/Kg de los controles. En Alemania, el pelo y orina de niños residentes en una región con altas concentraciones de As en aire, tenían concentraciones hasta 10 y 3 veces superiores de As, respectivamente, en comparación con una población control; concretamente, las [As] en pelo fueron de 5,5 mg/Kg frente a 0,5 mg/>Kg (Chatt y Katz, 1988).

En ambiente ocupacional también se han observado niveles de As en pelo significativamente elevados. En algunos casos sí se han podido relacionar diversos síntomas como neuropatía periférica con las [As] en orina y pelo de los trabajadores expuestos a As_2O_3 . En trabajadores de una refinería de Cu se encontró una alta incidencia de dispepsia, síntomas de poliartritis y la [As] media en pelo de los trabajadores fue de 31 ± 10 mg/Kg.

Pero el pelo, muestra de indudable valor en investigaciones forenses para evaluar exposiciones pasadas, tiene menos aplicación en el estudio de la exposición ocupacional por el problema de la contaminación externa, ya que es imposible eliminar el As inorgánico como contaminante externo del pelo por los métodos convencionales de lavado de la muestra (Goyer, 1996).

Yamauchi y cols. (1989) indican que la determinación de As en pelo tiene más valor sólo cuando se emplea para monitorización ambiental de la contaminación por el elemento más que para monitorización biológica y recomiendan que para ésta podría evaluarse en un futuro la [DMAA] en pelo, al ser un contaminante externo bastante improbable.

En la monitorización biológica de la exposición humana a As, se considera que la orina es la muestra de elección; pero, la **especiación** de las distintas formas que As en orina es totalmente necesaria para poder establecer con certeza la fuente, industrial o alimentaria, de exposición (Tabla 12).

Tabla 12. Presencia de las especies arsenicales en orina.

Exposición baja	Exposición ocupacional	Referencia
As(III): 1,3 µg/L As(V): 1,3 µg/L MMAA: 3,4 µg/L DMAA: 11,5 µg/L	As(III): 8,6 µg/L As(V): 3,1 µg/L MMAA: 20,8 µg/L DMAA: 64,1 µg/L	Smith y cols, 1977.
As Inorg: 0,5-10 µg/L MMAA: 0,5-9 µg/L DMAA: 0,5-10 µg/L	Industria del vidrio: As Inorg: 0,5-31 µg/L MMAA: 0,5-26 µg/L DMAA: 0,5-100 µg/L	Foa y cols, 1984.
[As ³⁺ + As ⁵⁺ + MMAA + DMAA]: < 10 µg/g creatinina.	[As ³⁺ + As ⁵⁺ + MMAA + DMAA]: 47,9-245 µg/g.	Farmer y Johnson, 1990.
	Exposición GaAs: As inorg: 13,4 µg/L. MMAA: 3,72 µg/L. DMAA: 25,7 µg/L.	Yamauchi y cols., 1985.
	Exposición fundición Cu: As inorg: 18,2-111 µg/L. MMAA: 14,0-61,4 µg/L. DMAA: 80,1-222 µg/L.	

La posibilidad de diferenciar entre As excretado, como resultado del consumo de alimentos marinos (fundamentalmente como especies orgánicas poco tóxicas) y el excretado por exposición a especies inorgánicas, es de gran importancia para evaluar el riesgo potencial producido por exposición ambiental y/o ocupacional.

Para la monitorización biológica de trabajadores expuestos a As inorgánico, lo más recomendable es la determinación de la concentración urinaria de As inorg, MMAA y DMAA. A altos niveles de exposición (excreción de As total aproximada de 200 $\mu\text{g/L}$) el As se acumula en el organismo y la excreción de DMAA refleja esta acumulación; a bajos niveles de exposición (excreción de As total aproximada de 50 $\mu\text{g/L}$) no se produce acumulación a corto plazo y el mejor indicador de exposición puede ser la excreción urinaria de As inorgánico (Foa y cols, 1984).

Yamauchi y cols. (1989) concluyen de igual forma que la determinación de arsénico inorgánico urinario es suficientemente sensible para monitorizar exposición de bajos niveles de arsénico inorgánico (plantas de GaAs), mientras que en exposiciones más elevadas (fundición de cobre), se produce un incremento de As inorgánico así como de sus metabolitos metilados (MMAA y DMAA). La determinación de arsenobetaina urinaria determinaría el arsénico derivado de alimentos marinos.

Farmer y Johnson (1990) encuentran diferentes concentraciones de [As(V) + As(III) + MMAA + DMAA] urinarias dependiendo de la ocupación (diferente tipo y grado de exposición a As inorgánico). Frente a 4,4 $\mu\text{g As/g creatinina}$ para una población control, en los trabajadores de la industria electrónica la excreción de las cuatro especies arsenicales fué < 10 $\mu\text{g/g}$, aumentaba a 47,9 $\mu\text{g/g}$ en trabajadores que aplicaban conservadores de la madera arsenicales, a 79,4 $\mu\text{g/g}$ en trabajadores de la industria del vidrio que empleaban trióxido de arsénico; incluso alcanzan niveles de 245 $\mu\text{g/g}$ en personas dedicadas a la fabricación y manejo de arsenicales inorgánicos.

Estimación toxicológica del As y sus especies

Para la mayoría de los grupos expuestos, los rangos de presencia de las distintas especies fueron: 1-6% As(V); 11-14% As(III); 14-18% (MMAA); 63-70% (DMAA). En la Tabla 13 se exponen los rangos medios (%) de presencia de las especies arsenicales por tipo de ocupación encontrados por estos autores.

Tabla 13.- Rangos medios (%) de presencia de las especies arsenicales por tipo de ocupación (Farmer y Johnson, 1990).

Categoría	As(V)	As(III)	MMAA	DMAA
Controles	0	1,7	0,7	97,6
Manufactura semiconductores	1,0	0,8	1,5	96,7
Industria Electrónica	8,9	7,7	8,0	75,4
Manufactura vidrio	0,9	14,0	15,4	69,7
Tratamiento de madera	4,6	14,2	13,9	67,4
Manufactura arsenicales	6,1	12,1	18,2	63,6

Hakala y cols. (1995) estudiando las posibles correlaciones entre las concentraciones urinarias de los metabolitos de As inorgánico (As(III), As(V), MMAA, DMAA) en trabajadores expuestos al elemento (fundición de cobre y refinería de trióxido de As) a diferentes tiempos, y las concentraciones TWA de As en aire, encuentran que la suma de [As(III) y As(V)] entre las 0-8 horas tras la exposición es la que mejor refleja el grado de exposición, de forma que se calcula que una exposición TWA (8 horas) de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de As conduce a una $[\text{As}_{\text{inor}}]$ de $5 \mu\text{g}/\text{L}$ en orina. La concentración de DMAA urinaria se correlaciona pobremente con la exposición ocupacional, por la ingestión a través de la dieta de dicha especie.

Presencia de As en muestras biológicas humanas

Según Le y cols. (1993), el consumo de alimentos marinos multiplica hasta por un factor de 10 la $[As]_{\text{orina}}$, debido a la excreción de organoarsenicales, apareciendo el máximo entre las 4-17 horas del consumo, mientras que la eliminación urinaria de As inorgánico, MMAA y DMAA no se ve afectada (exposición ocupacional).

Sin embargo, Buchet y cols. (1994) estudian en voluntarios humanos si el consumo de pescado (bacalao, platija) y moluscos con alto contenido en compuestos organoarsenicales se asocia con una liberación significativa de As inorgánico in vivo, monitorizando la excreción urinaria de las cuatro especies fundamentales arsenicales. Observan que la ingestión del pescado no está asociada con un aumento del As inorgánico, y por el contrario, el consumo de mejillones parece aumentar la cantidad de DMAA excretada. Teniendo en cuenta que entre los alimentos analizados, la mayor proporción de As inorgánico se encontró en los moluscos, concluyen que en la monitorización biológica de la exposición ocupacional a As inorgánico por medida de sus metabolitos metilados urinarios, los resultados pueden ser erróneos si los trabajadores consumen moluscos dentro de las 48 horas antes de la toma de muestra de orina.

TOXICOCINÉTICA

En general, la toxicocinética del As es muy compleja, ya que depende de su forma química; para su consideración haremos siempre que sea posible, diferencias entre los compuestos inorgánicos y orgánicos del elemento. En el caso de los compuestos inorgánicos, en muchos estudios el estado de oxidación no ha sido controlado, por lo que se aprecian aún numerosas incertidumbres.

6.1.- ABSORCION

A).- Vía inhalatoria:

La mayor parte de las intoxicaciones por arsénico inorgánico por vía inhalatoria ocurren debido a exposición ocupacional o por hábitos de consumo de tabaco. En determinados ambientes de trabajo, las partículas que contienen arsénico son de un tamaño relativamente elevado, más de 5,5 μm . Partículas de esta naturaleza se depositan en el tracto respiratorio superior (cavidad nasal, nasofaringe, laringe, tráquea y bronquios), y consecuentemente pueden ser absorbidas, o tras aclaramiento mucociliar, absorberse en el tracto gastrointestinal (WHO, 1981).

Por otro lado se ha de considerar la absorción por vía inhalatoria de arsina, causante de síntomas severos por exposición aguda o crónica.

B).- Vía dérmica:

La aparición de efectos tóxicos sistémicos tras la exposición ocupacional o aplicación de medicamentos arsenicales, indican que la piel es una posible ruta para la absorción del arsénico.

Rahman y cols. (1994) estudian la absorción percutánea de arsenito sódico en ratón *in vitro*, encontrando que ésta se ve afectada por el vehículo empleado para la aplicación, de forma que la absorción del compuesto a partir de vehículos acuosos fué mayor que la debida a compuestos sólidos, probablemente por efectos de hidratación de la piel. En ambos casos, el incremento de la dosis aplicada produjo un aumento lineal de la cantidad de compuesto absorbido, aunque el porcentaje de la dosis absorbida permaneció constante.

De la exposición a corto plazo (1 hora) de DMAA, (herbicida y metabolito del As inorgánico) en medio acuoso, y posterior lavado de las células de piel de ratón, sólo se absorbe el 1% de la dosis del producto (Hughes y cols. 1995).

C).- Absorción gastrointestinal:

Arsénico inorgánico

La absorción gastrointestinal (GI) de arsénico inorgánico puede ocurrir tras la ingestión de bebidas, alimentos, fármacos, o tras exposición por vía inhalatoria y subsiguiente aclaramiento mucociliar. La absorción de la cantidad ingerida dependerá, entre otros factores, de la solubilidad del compuesto. El arsénico pentavalente se absorbe bien en el intestino, pero el arsénico trivalente es algo más liposoluble.

En general, los datos humanos y de animales de experimentación indican que aproximadamente el 90% de la dosis ingerida de As disuelto, trivalente y pentavalente, se absorbe en el tracto GI (Ishinishi y cols, 1986).

Se ha estudiado la absorción de As (III) y (V) en ratones tras administración por vía oral de ⁷⁴As; la eliminación por heces durante las primeras 48 horas fue del 6-9 % de la dosis, para ambos estados de oxidación (Vahter y Norin, 1980). La absorción de óxido de As (III) ocurre principalmente en el intestino delgado, y es muy baja en el estómago.

Tras la administración de una simple dosis de óxido de arsénico (III) (1 mg de As/Kg peso corporal) a monos adultos hembra, aproximadamente sólo el 2% de la dosis se eliminó por heces en los siguientes 14 días, indicando esencialmente que

toda la dosis administrada se ha absorbido en el tracto GI (Charbonneau y cols, 1978).

González y cols. (1995) estudian la absorción de As (V) en intestino delgado de rata, indicando que existe una relación directa entre dosis recibida y cantidad absorbida de As. La absorción parece ocurrir por un proceso saturable, que puede modificarse por la presencia de aniones como fosfato y dicromato. El fosfato reduce de forma pronunciada la absorción de As, quizás por competencia por el mismo mecanismo de transporte; dicromato aumenta la absorción, bien por modificar el pH intracelular y dar lugar a un gradiente $[H^+]$ adecuado, o por ejercer una acción cáustica que dañe los microvilli de la pared intestinal y permitir la difusión libre del elemento.

En humanos, al igual que en animales, el As (III) disuelto se absorbe realmente por el tracto GI, lo cual se hace evidente por los datos de alta excreción urinaria del elemento. Ahora bien, la absorción GI del óxido de As (III), ligeramente soluble en agua, dependerá de diversos factores, como tamaño de partícula y pH de los jugos gástricos (Ishinishi y cols., 1986).

Tam y cols. (1979) estudiaron la absorción de arsénico pentavalente en voluntarios humanos, encontrando que sólo el 6 % de la dosis administrada se eliminó en las heces.

Otros compuestos poco solubles, como seleniuro de As finamente pulverizado (insoluble en agua ó HCl 0,1 M), son pobremente absorbidos (Mappes, 1977).

La naturaleza de la dieta puede afectar la absorción intestinal de As. La absorción de óxido de As (III) en conejos fue inhibida por caseína, ácido fosfórico y fosfato dihidrógeno de potasio. En ratas expuestas a óxido de As (III) con dietas a base de leche y cereales durante 6 meses, no se observaron diferencias en la excreción fecal del elemento (WHO, 1981).

Compuestos orgánicos de As

La absorción gastrointestinal de los diferentes compuestos arsenicales orgánicos depende de las propiedades químicas de los mismos.

Los compuestos orgánicos de As existentes en alimentos de origen marino (crustáceos, pescados), se absorben en el tracto GI (>80 %), tanto en animales de experimentación como en humanos (Ishinishi y cols., 1986).

Tam y cols. (1982) determinaron cuantitativamente la excreción de As en orina y heces en el hombre tras ingestión de una única dosis oral (aproximadamente 10 mg/persona) a través del consumo de lenguados que contenían altos niveles de compuestos orgánicos de As. La cantidad insignificante de As excretada en heces (0,33% de la dosis en ocho días) demostró inequívocamente la absorción del elemento. Esta falta de excreción fecal por el hombre, de As a partir del consumo de pescado, parece única, puesto que en animales siempre aparecen cantidades finitas en las heces, y en humanos las especies inorgánicas también se excretan de forma definida y regular.

Aparentemente, el arsénico ingerido a partir de la carne de animales alimentados con piensos con aditivos arsenicales no es absorbido tan efectivamente como el que procede de pescados y crustáceos. De hecho, estudios realizados sobre animales y humanos demuestran que sólo se absorbe entre 15-40 % de la dosis administrada de ácido arsanílico, empleado como aditivo en piensos para aves, cerdos (WHO 1981; Ishinishi y cols., 1986).

Tras la administración oral del herbicida metilarseniato sódico a ovejas y carneros, se comprueba que el As se absorbe principalmente por el tracto GI, sin producirse acumulación en el organismo (Shariatpanahi y Anderson, 1984).

Carbarsona, triparsamida, ácido dimetilarsínico se absorben en el intestino delgado de ratas y conejos, por un proceso fundamentalmente de difusión.

6.2. DISTRIBUCION

Compuestos inorgánicos de arsénico

Tras la absorción pulmonar o gastrointestinal, el As se transporta a través de la sangre a los diferentes órganos. Por exposición a arsenito o arseniato, la mayoría del As se aclara rápidamente a partir de la sangre; sin embargo, en ratas, una gran parte del As absorbido se acumula en las células sanguíneas, uniéndose fuertemente a la hemoglobina (Ishinishi y cols., 1986). La mayoría de los estudios experimentales sobre ratas estiman que aproximadamente la mitad de la dosis de As (III) o As(V) se acumula en sangre, y los tiempos de vida media varían entre 60 y 90 días (WHO, 1981). La principal forma química de As unido a la hemoglobina en ratas es el ácido dimetilarsínico.

Esta acumulación de As en la sangre no ocurre en otros animales. Así, en ratones, conejos y monos, menos del 1 % de As (III) permanece en sangre a las 24-48 horas de la administración. Tras administración intramuscular de As(V) a perros, conejos, cobayos, cerdos y ratón, menos del 0,3 % de la dosis permanece en sangre a las 48 horas.

Tras administración intravenosa de As radiactivo-arsenito en humanos y determinación de las concentraciones plasmáticas, se ha comprobado que la curva plasmática se ajusta a un modelo tricompartmental: en la primera fase el tiempo de vida media es muy corto, aproximadamente 2 horas, de forma que a las 24 horas menos del 0,1 % de la dosis permanece en plasma; en la segunda fase de la curva el tiempo de vida media aproximado es de 30 horas y en la tercera fase (aproximadamente a la semana de la administración) el tiempo de vida media se estima en 200 horas (WHO, 1981).

El As tiene un amplio volumen de distribución, amplia distribución en tejidos. Las concentraciones tisulares más elevadas, más de 7 veces superiores a las sanguíneas, se encontraron en hígado, pulmón y riñón. Estudios *in vivo* muestran que a las 5 horas de la administración de arsenito en conejos un 11,6%, 1,4% y

1,7 % de la dosis se encuentra en hígado, riñón y pulmón, respectivamente, de forma que la mayor parte del As encontrado en esos tejidos se halla unido a proteínas existentes en el citosol. Según Bogdan y cols. (1994) el 67% de los sitios de unión a las proteínas citosólicas son específicos para As(III), proponiendo estos autores que éste podría ser un mecanismo de destoxicación del organismo, de forma que el arsenito permanezca secuestrado hasta que pueda ser metilado a especies menos tóxicas.

Vahter y Marafante (1985) han estudiado la toxicocinética de As (V) en monos titís, administrando ⁷⁴As-arseniato; dicha especie de mono no es capaz de metabolizar arseniato a ácido dimetilarsínico. El porcentaje de As (III) producido tras reducción in vivo del As (V) se unió a los tejidos, de forma similar a la administración de arsenito. Los tejidos de mayor retención fueron el hígado, tracto GI superior, piel, riñón y vejiga. La pronunciada acumulación del elemento en hígado resultó de la unión específica del As a membranas microsomales rugosas. La distribución subcelular del elemento en riñón estuvo caracterizada por acumulación en mitocondrias.

Igualmente, en humanos la exposición a arsenito o arseniato lleva a una acumulación inicial del elemento en hígado, riñón y pulmón. El aclaramiento a partir de estos tejidos es bastante rápido, mientras que una gran retención se produce en pelo, piel, uñas, dientes, epitelio escamoso del tracto GI superior, epidídimo, tiroides, cristalino y esqueleto (Soria y cols., 1995).

Datos de autopsia en humanos muestran altos niveles de arsenico en pelo, uñas, dientes, hueso y piel. Ésto se explica teniendo en cuenta que los compuestos de As trivalente se combinan químicamente con grupos sulfidrilo, y por tanto tienden a acumularse en tejidos ricos en queratina. Por otro lado, los arseniatos pueden interferir en reacciones de fosforilación, probablemente por su similitud química con fosfato, lo cual puede explicar la acumulación en el esqueleto.

El As administrado como arsenito u óxido de As (III) atraviesa la llamada barrera hematoencefálica en diferentes animales de experimentación (ratón, cobayo, conejo, ratón), aunque los niveles encontrados en cerebro son bajos comparados con otros tejidos (Ellenhorn y Barceloux, 1988). Zheng y cols. (1991) han determinado en ratas y conejos que después de la administración intraperitoneal de As, éste se acumula en el plexo coroidal lateral, a una concentración 40 veces superior que la encontrada en fluido cerebroespinal, y además los niveles son muy superiores que los de cerebro o sangre. Concluyen que el plexo coroidal lateral secuestra al As y sería un mecanismo importante de protección del fluido cerebroespinal y cerebro.

El As atraviesa la placenta en hamster tras administración de altas dosis de arseniato sódico por vía intravenosa, y en humanos se ha encontrado aumento progresivo de As en fetos conforme avanza la gestación. Los niveles de As en hueso, hígado, piel y cerebro fueron 2-4 veces superiores en niños recién nacidos que en fetos de 7 meses (Ishinishi y cols., 1986).

Compuestos orgánicos de As

La concentración sanguínea de As en ovejas y carneros administrados oralmente con metilarseniato sódico disminuyó rápidamente, no acumulándose significativamente en el organismo (Shariatpanahi y Anderson, 1984)

Investigaciones sobre la cinética del ácido dimetilarsínico en plasma de ratas administradas con el compuesto marcado demuestran que la retención en sangre es alta.

Estudios de distribución de arsenobetaina en ratones y conejos muestran que el compuesto se elimina rápidamente en la mayoría de los tejidos, observándose retención más prolongada en cartílagos, testículos y músculo. Datos sobre animales de experimentación indican que arsenocolina, al igual que colina, puede incorporarse en los fosfolípidos (Marafante y cols., 1984).

Snider y cols. (1990) estudian la distribución de As en conejos administrando Lewisita (dicloro(2-clorovinil)arsina) por vía subcutánea. La vida media en sangre del elemento fue de 55-75 horas y el aclaramiento sanguíneo de 120 ml/hora/Kg.

Estudios sobre distribución de ácido arsánico en cerdos demuestran que los máximos niveles de As en la mayoría de los tejidos se alcanzan sobre las dos semanas, con concentraciones superiores en hígado y riñón, si bien en SNC y nervios periféricos tarda 3 semanas aproximadamente y el aclaramiento es más bajo (WHO, 1981).

En humanos, un estudio sobre la absorción de arsenobetaina marcada (^{74}As) en seis voluntarios demuestra que el compuesto se distribuyó rápidamente en los tejidos blandos, sin alcanzar concentraciones muy elevadas en órganos o regiones localizadas. En todos los sujetos, menos del 1 % de la dosis ingerida permaneció en el organismo después de 24 días (Brown y cols., 1990).

Muy interesantes son las investigaciones de Yamauchi y Yamamura (1983) sobre niveles de las distintas especies químicas de As en tejidos y órganos humanos, procedentes de autopsias. Los niveles más altos de As total (551 ng/g) se encontraron en aorta, seguido de: glándula adrenal > páncreas > piel > cerebelo > hígado > riñón > músculo > pulmón > médula > cerebro; no existen diferencias significativas entre hombre/mujer en ningún órgano ensayado.

As (III) y As(V) fueron detectados en todos los órganos y tejidos, el primero representando aproximadamente el 20 % del As total, y el As(V) el 72 %; por tanto, el As(V) fue la principal especie química detectada seguido de As (III). MMAA fue detectado como trazas en hígado y riñón, representando el 3 % y 4,6 % del As total, respectivamente. DMAA se detectó en el 100 % de las muestras de glándula adrenal, pulmón, páncreas y aorta, y en el 85 % de las muestras de hígado, riñón, médula, músculo y piel, pero en pequeña concentración (10 % As total). No se detectó trimetilarsina (TMA) en ningún tejido. Concluyen que las formas metiladas de As ingeridas a través de los alimentos (TMA, MMAA, DMAA)

se eliminan rápidamente y muy poca cantidad queda retenida en el organismo. El As inorgánico parece tener más afinidad por los tejidos y órganos que las formas metiladas. También concluyen que no hubo diferencias significativas en la distribución de las distintas especies químicas de As en el organismo humano entre personas que habían tenido una muerte súbita y aquellas que habían fallecido por enfermedades crónicas como cáncer.

6.3. BIOTRANSFORMACION DE LOS COMPUESTOS DE ARSÉNICO.

Compuestos inorgánicos de arsénico.

Existen numerosos estudios que demuestran que las especies inorgánicas de arsénico (III) son oxidadas in vivo, tanto en animales como en el hombre, a compuestos inorgánicos de arsénico (V). Igualmente se ha observado la reacción opuesta, o sea la reducción de arseniato a arsenito (Vahter y Mafarante, 1985; Vahter y Envall, 1983; Ishinishi y cols., 1986). Esta reducción de arseniato a arsenito es común para todas las especies.

Ambas formas, probablemente tras la reducción de arseniato a arsenito, pueden ser metiladas in vivo, siendo éste el mecanismo de destoxicación de estos compuestos (Fisher y cols., 1985).

Aunque existen diferencias interespecies en la capacidad de metilar y destoxicar el As inorgánico, numerosos estudios establecen la capacidad de algunos animales mamíferos de excretar derivados metilados de arsénico en orina tras un tratamiento con arsénico inorgánico (Vahter y cols., 1984; Bertolero, 1981), siendo DMAA el principal metabolito producido.

El único mamífero incapaz de llevar a cabo esta reacción de metilación de los derivados inorgánicos de arsénico es el mono marmoset, el cual tiene la capacidad, única para su especie, de acumular arsénico en el hígado de forma pronunciada debido a la unión específica de éste a las membranas rugosas microsomales (Vahter y Mafarante, 1985).

Investigaciones recientes sobre la biotransformación y eliminación de As inorgánico en chimpancés machos, tras una única administración i.v. de ⁷³As-arseniato revelan que éstos, al igual que el mono marmoset, no son capaces de metilar y detoxicar el As inorgánico (Vahter y cols., 1995). Estos autores encontraron que el aclaramiento plasmático fué rápido con un $t_{1/2}$ aparente de 1 hora, siendo la orina la principal fuente de excreción, de forma que el 60% de la dosis administrada se excretó en forma de arsénico inorgánico a las 96 horas.

También se ha observado la presencia de DMAA en los eritrocitos de animales, ya sea tras la inyección intravenosa o administración oral de compuestos de arsénico inorgánico (Charbonneau y cols., 1978; Tam y cols., 1979).

Diversos autores han estudiado la presencia de estos compuestos metilados de arsénico en la orina humana, cuyos resultados son:

Crecelius (1977), midió las diferentes formas de arsénico en orina de personas que consumieron vino contaminado con As (III) y As(V), siendo el DMAA el 50% , MMAA el 14% y el arsénico inorgánico el 8% del total excretado. En personas que habían consumido agua de pozo conteniendo 200µg/L de As(V), parte del arsénico consumido se eliminó tal cual en la orina, y a la vez los niveles de DMAA se incrementaron de 5 a 10 veces.

Al igual, Smith y cols. (1977), observan que la forma más abundante encontrada en orina de trabajadores de fundiciones expuestos al elemento es el DMAA.

Según Johnson y Farmer (1991), el As(V) administrado en agua mineral es rápidamente reducido a As(III) y posteriormente biotransformado a los metabolitos metilados MMAA y DMAA.

Por tanto existen sólidos fundamentos de que la metilación de compuestos inorgánicos de arsénico, ya sea como As(III) o como As(V), es llevada a cabo en humanos, con producción de DMAA y MMAA como resultado final, aunque no se puede decir que todo el arsénico inorgánico ingerido sea metilado in vivo, sino que una parte de ese arsénico inorgánico es excretado en orina o retenido en el organismo sin que sea modificado.

Por otro lado, algunos autores consideran la posibilidad de que pequeñas cantidades de TMA puedan producirse in vivo (Yamauchi y Yamamura 1984, 1985), aunque se debe tener en cuenta que la mayor parte de TMA encontrada en orina procede de la ingestión de pescado (Yamato, 1988).

El principal órgano donde se produce la metilación de los compuestos de arsénico inorgánico es el hígado, aunque aún no se ha elucidado el mecanismo bioquímico en su totalidad. En unas primeras observaciones, Buchet y Lauwerys (1984), postularon la posibilidad de la participación de dos enzimas, produciéndose MMAA y DMAA por caminos completamente diferentes. En estudios posteriores estos mismos autores proponen la existencia de un metabolito monometilado el cual sufre rápidamente metilación a un derivado dimetilado, que dará lugar a DMAA o es oxidado espontáneamente a MMAA (Buchet y Lauwerys 1985; 1987; 1988).

La primera reacción es limitante, puede ser estimulada por glutatión reducido (GSH) y es catalizada por una enzima diferente a la que transfiere el segundo grupo metilo. La segunda reacción de metilación es sensible a la inhibición por arsénico inorgánico e iones mercurícos, por lo que la estimulación de la primera reacción de metilación por GSH se evidencia únicamente cuando las concentraciones de arsénico inorgánico son elevadas, puesto que en esas condiciones la segunda enzima de metilación está suficientemente inhibida, permitiendo la acumulación de MMAA (Figura 4). Un exceso de grupos tiol puede impedir las reacciones de metilación al ser menor la cantidad de arsénico trivalente (Offergelt y cols., 1992).

Según estos autores la S-adenosilmetionina es el donador del grupo metilo y se requiere GSH para que se lleve a cabo la metilación. El glutatión reducido regula el metabolismo del As(III) a través de varios mecanismos: facilita la difusión de As (III) al interior de la célula, estimula la primera reacción de metilación e incrementa la excreción de DMAA por las células (Georis y cols., 1990). La disminución drástica del glutatión hepático afecta no sólo esta metilación sino también la excreción biliar del elemento. Esta disminución importante del glutatión hepático puede ocurrir en caso de enfermedades hepáticas.

El papel de la S-adenosilmetionina (SAM) como donador del grupo metilo en el proceso de metilación de arsénico inorgánico fué estudiado por Takahashi y cols. (1990) que observan que los niveles de DMAA en hígado de hamsters tratados con SAM y trióxido de arsénico eran altos, llegando a la conclusión de que SAM es un potente donador de grupos metilos y acelera el proceso de metilación.

Para investigar la influencia de la cirrosis hepática sobre la capacidad de metilación humana, Geubel y cols. (1988) midieron la excreción urinaria de derivados metilados de arsénico por Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA) tras la administración de pequeñas dosis de arsénico inorgánico. El estudio se realizó sobre 13 pacientes control, 18 pacientes con otras enfermedades clínicas pero sin afecciones aparentes del parénquima hepático, y 38 pacientes con cirrosis de diversa etiología y severidad. En los controles, el porcentaje de arsénico excretado como MMAA y DMAA fué del 12,3 y 23,3 % respectivamente y no se encontró diferencias significativas con los controles que sufrían otras enfermedades clínicas. Sin embargo, en los pacientes que padecían cirrosis se observó una cantidad significativamente menor de MMAA (4,7%) y más DMAA (40,4%).

De igual forma, Buchet y cols. (1984) encontraron, tras la administración de arsénico inorgánico, un incremento de la excreción de DMAA y MMAA en la orina de pacientes con afectación hepática, en comparación con personas sanas.

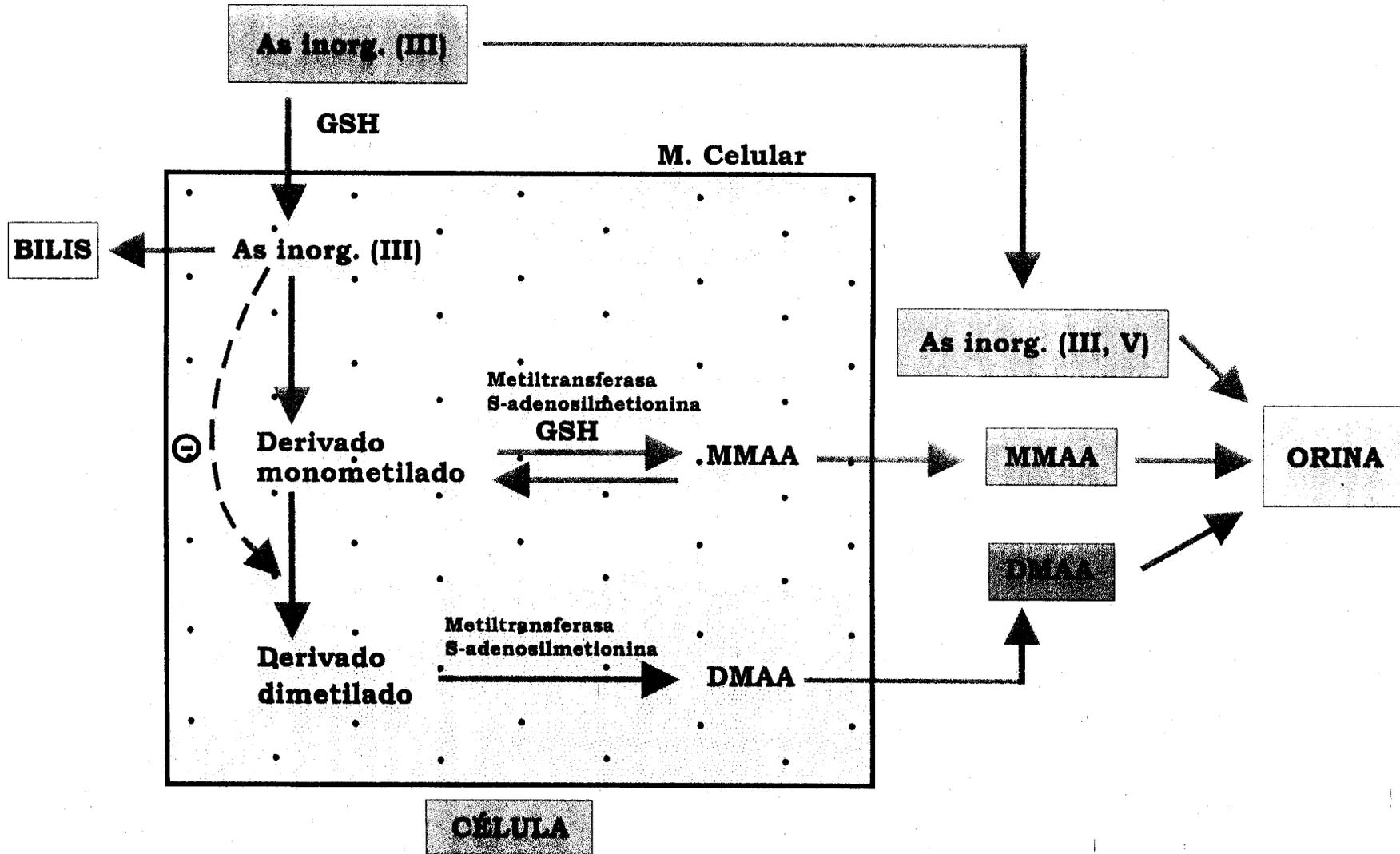


FIGURA 4.- BIOTRANSFORMACIÓN DE As INORGÁNICO

La depleción de GSH por sustancias que inhiban su síntesis como butionina sulfoximina (BS), trae consigo cambios en la excreción renal de arsenito en hamster (cantidad excretada 5 veces inferior, con gran persistencia de As en sangre, hígado y riñón), y una disminución de su metilación, aumentando las manifestaciones nefrotóxicas de la intoxicación por As (necrosis tubular renal) (Hirata y cols., 1990).

Por último, estudios de la biotransformación de arsenito en conejos sometidos a dietas bajas en metionina, colina y proteínas, demostraron un descenso de la excreción urinaria de DMAA, originando un incremento de la retención de arsénico en tejidos, especialmente hígado (microsomos) y pulmón. Estos resultados indicarían que sujetos con un estatus nutricional pobre tienen menor capacidad de metilación y por tanto de detoxicar el arsénico inorgánico (Vahter y Marafante, 1987).

Compuestos orgánicos de arsénico.

Estudios sobre la biotransformación de compuestos orgánicos de arsénico usados como aditivos en piensos indican que son transformados a formas más fácilmente excretables y en algunos casos más tóxicas. Estos cambios de la estructura molecular de los compuestos rara vez afectan al estado de oxidación y nunca conducen a la producción de derivados inorgánicos (WHO, 1981). Este es el caso del ácido arsanílico, promotor del crecimiento en piensos, que tras una dosis oral administrada a cerdos, el 17-39% de los compuestos detectados en orina correspondían al producto inicial incambiado, el 15-20% suponía el compuesto N-acetilado y en pequeñas cantidades este último compuesto metilado (Hawkins, 1993).

Marafante y cols.(1987), tras administrar (⁷⁴ As)-DMAA a ratones y hamsters, observan que el porcentaje excretado en orina de óxido de trimetilarsina es del 3.5% y 6.4% de la dosis, respectivamente; un 76% de la dosis en hamsters y un 80.7% para ratones se elimina en orina y heces sin transformación alguna, y

entre 13-15% de la dosis se elimina como un compuesto no identificado. No se observa desmetilación.

En humanos se ha visto que tras la ingestión de especies metiladas de arsénico (TMA, DMAA o MMAA) con la comida, estas son rápidamente excretadas en orina tal cual, sin sufrir transformaciones, y son poco retenidas en el organismo (Yamato, 1988; Yamauchi y Yamamura, 1983).

Marafante y cols. (1987) explican que tras la exposición de individuos a DMAA, un 80% de la dosis se excreta en orina sin transformar y un 4% como óxido de trimetilarsina.

De igual forma, según diversos estudios, los compuestos orgánicos de arsénico ingeridos con el pescado, se excretan en la orina sin ser transformados en el organismo. Por ejemplo, la arsenobetaina aparentemente no se transforma in vivo habiéndose detectado en orina tras la ingestión de pescados (Cannon y cols., 1981). Contrastando con este hecho, la arsenocolina aunque en pequeña extensión es oxidada a arsenobetaina (Ishinishi y cols., 1986).

El trabajo de Johnson y Farmer (1991) confirma lo expuesto por Cannon y cols., al demostrar que tras la ingestión de pescado, los niveles de As(III), As (V), MMAA y DMAA excretados no se ven aumentados, y es la arsenobetaina la principal especie encontrada en orina.

6.4. ELIMINACION

La principal vía de eliminación de los compuestos de As inorgánico es la renal; sólo un pequeño porcentaje se excreta por heces. La excreción biliar también se ha demostrado para el As, lo cual disminuye la excreción neta fecal (Camner y cols., 1986). Otras rutas de eliminación menores son la piel, pelo, uñas y sudor.

La velocidad de excreción urinaria del As depende de la forma química del elemento y de la especie expuesta.

Conejos expuestos a dosis única pequeña de arsenito, excretan aproximadamente el 80 %, ratones un 90 % aproximadamente, y los monos marmoset sólo excretan el 15 %, en el mismo periodo de tiempo (Ishinishi y cols., 1986). En humanos expuestos a una única dosis similar, aproximadamente el 35 % de la misma se excreta en orina a las 48 horas. En el caso de exposición crónica humana a As (III), la velocidad de excreción urinaria alcanza el equilibrio a los 5 días, excretándose por orina del 60 al 70 % de la dosis diaria.

Se han considerado tres fases en la excreción urinaria en el hombre después de una única inyección intravenosa de arsenito marcado, y los tiempos de vida media fueron de 2 horas, 8 horas y 8 días (Soria y cols., 1995).

Los estudios de exposición a As (V) en humanos indican que la velocidad de excreción es similar a la de arsenito. Creelius (1977) estudió la excreción de As en orina de personas que habían ingerido agua que contenía As, principalmente en forma pentavalente, encontrando que aproximadamente el 50 % de la dosis se eliminó por orina a las 70 horas de la ingestión. Sin embargo, en animales de experimentación los datos de diferentes estudios se inclinan por una excreción algo más rápida del arseniato.

De forma similar, Pomroy y cols. (1980) proponen una eliminación trifásica en humanos tras administración de As (V) marcado: el 66% de la dosis se excreta con un tiempo de vida media de 2,1 días, el 30% con un tiempo de vida media de 9,5 días y el 3,7% con una vida media de 38 días.

Existe una variabilidad individual en la excreción urinaria de los metabolitos de As inorgánico (arsenito sódico) en ratón. Según Morel y cols. (1995), las diferencias en la excreción de As inorgánico, MMAA y DMAA dependen de un mecanismo tiol-disulfuro, y el estado redox del GSH intracelular interviene en la regulación de la reducción y metilación del arsénico; estas diferencias en la excreción serían un factor a tener en cuenta en la monitorización biológica de la exposición ocupacional al As.

Como hemos comentado anteriormente, los alimentos marinos son ricos en As, y la concentración del mismo en orina varía según la ingesta de estos productos. El As presente en orina humana es, mayoritaria y normalmente, una mezcla del arsénico que proviene de los alimentos de origen marino y del arsénico metabolizado in vivo.

Buratti y cols. (1984) investigan en 160 individuos sin exposición ocupacional al As, los niveles de las distintas formas químicas de arsénico, encontrando que el As inorgánico, MMAA y DMAA representan cada uno el 10 % del total de As en orina, indicando que en una población normal, sobre el 60 % del As en orina se encuentra en otras formas orgánicas del elemento. Tras consumo de pescado existe un marcado aumento de la excreción urinaria de As total, pero no denotan incremento en las formas antes mencionadas.

Yamato (1988) estudió las concentraciones de las diferentes especies químicas de As en orina y pelo de estudiantes (no expuestos laboralmente), sin restricciones dietéticas. En orina, de las 4 especies detectadas, el As inorgánico representa el 9,4 % del total de As excretado, MMAA el 3 %, DMAA el 28,9 % y TMA (arsenobetaina) el 58,2 %; en definitiva, los compuestos metilados suponen el 90 % del As en orina. La concentración total urinaria de arsénico encontrada era muy superior (5 veces) al de otras poblaciones europeas, como la italiana, concluyendo que el As en orina representa de forma aproximada las especies químicas del elemento en alimentos. Las concentraciones de As inorgánico se distribuyeron hacia los 20 $\mu\text{g/L}$; MMAA sobre 10 $\mu\text{g/L}$ y DMAA sobre 120 $\mu\text{g/L}$;

existe una correlación significativa entre las concentraciones de TMA y As total. Teniendo en cuenta que diversos estudios en humanos y animales revelan que los compuestos metilados son estables in vivo, concluye que el As inorgánico detectado en orina deriva del de la dieta, que se excreta incambiado en la orina, por lo que el nivel de $20\mu\text{g/L}$ de As inorgánico encontrado en sujetos normales se podría emplear en la monitorización biológica de la exposición ocupacional.

En muestras de pelo, el As inorgánico representaba el 73 % del total y DMAA el 27 %, no detectándose MMAA ni arsenobetaina. El no detectar arsenobetaina está de acuerdo con otros autores, que demuestran que tras administración oral se elimina rápidamente del organismo y que las especies químicas de As en pelo son similares a las encontradas en tejidos (Yamauchi y Yamamura, 1983).

Johnson y Farmer (1991) estudiaron la excreción de las especies químicas de As tras la ingestión de marisco (una dosis), y exposición a As(V) inorgánico a dosis única y repetidas dosis, observándose diferencias tanto en los tiempos de vida media del elemento, como en los niveles de las distintas especies:

- Tras consumo de marisco, la excreción del As a las 6 horas fue del 25 % de la dosis (velocidad de $23,7\ \mu\text{g/hora}$), y al menos el 50 % de la dosis se eliminó después de las 20 horas. Los niveles excretados fueron bajos, propios de personas no expuestas y parece que arsenobetaina fue la especie predominante.

- La administración de una única dosis de As (V) condujo a una eliminación más lenta, pues sólo se eliminaba el 5,25 % de la dosis a las 6 horas (velocidad de eliminación de $1,93\ \mu\text{g/hora}$), y la eliminación del 50 % de la dosis se producía a las 54-70 horas de la ingestión; si bien As(III) y As(V) fueron las especies predominantes en las primeras horas de excreción, a las 10 horas DMAA fue la mayoritaria.

- En el tercer caso, absorción de múltiples dosis de As(V), sólo el 48,2 % de la dosis se recuperaba a los 18 días, con una significativa proporción de As retenido en el organismo, probablemente como As (III), dada su afinidad por los grupos sulfhidrilo de proteínas y enzimas.

Foa y cols. (1984), estudiaron las formas químicas de arsénico existentes en la orina de un grupo control compuesto por individuos sin una historia de exposición ocupacional y en trabajadores de fábricas de vidrio expuestos durante largo tiempo al elemento. En el grupo control un 10% del arsénico urinario estaba en forma de As inorgánico, al igual que las especies MMAA y DMAA, correspondiendo el 70% restante a otras formas orgánicas de arsénico. En los trabajadores expuestos a trióxido de arsénico, sólo se encontró As inorgánico, MMAA y DMAA, significando DMAA el 60-70%.

Respecto a la excreción biliar del As, existen diferencias dependientes del estado de oxidación. En ratas, mientras arseniato se excreta aproximadamente un 1 % en dos horas, el arsenito se excreta aproximadamente una cantidad diez veces superior en el mismo tiempo (Camner, 1986).

EFFECTOS TÓXICOS

Veamos detenidamente los efectos tóxicos producidos por este elemento de acuerdo con la bibliografía consultada, haciendo mención, siempre que sea posible, a la especie química causante de la acción tóxica.

7.1.- EFECTOS AGUDOS

7.1.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se han registrado casos de intoxicación aguda en animales domésticos, en su mayoría perros, y en ganado, expuestos a pesticidas arsenicales, como arseniato de Pb (Stair y cols., 1995). Los síntomas presentados son similares para las sales de arsénico trivalente y pentavalente: diarrea, gastroenteritis hemorrágica, convulsiones y parálisis. Ésto se podría deber a la capacidad de los mamíferos de reducir arseniato a arsenito.

De forma general, cuando se ingieren por vía oral los compuestos de As inorgánico, su toxicidad depende de su solubilidad; la toxicidad aguda de varias sales de As (III) es mayor que la de sales de As(V). Así, las DL-50 de arsenitos sódico y potásico varían desde 9 mg/Kg en cobayo hasta 40 mg/Kg en rata; en el caso de arseniato de calcio, menos soluble, de 300 a 800 mg/Kg y la DL-50 oral de arseniato de plomo, superior a 800 mg/Kg. La DL-50 oral de arseniato sódico, soluble, en conejo es de 11 mg/Kg (Abernathy y Ohanian, 1992).

Estimación Toxicológica de As y sus especies

Teniendo en cuenta la DL-50 oral en rata, se puede establecer el siguiente orden de mayor a menor toxicidad entre las diferentes especies de arsénico:

Arsina > As (III) > As (V) > ac. metanoarsónico > ac. dimetilarsínico

DL50 arsina = 3,0 mg/kg.

DL50 arsenito potásico = 14 mg/kg.

DL50 arsenaito cálcico = 20 mg/kg.

DL50 ac. metanoarsónico = 700-1800 mg/kg.

DL50 ac. dimetilarsínico (ac. cacodílico) = 700-2600 mg/kg.

Estas diferencias de toxicidad entre los estados de oxidación pueden también explicarse por diferencias en la solubilidad.

Otros datos de toxicidad del NaAsO_2 y Na_2HAsO_4 son (Soria y cols., 1995):

NaAsO_2 : Intramuscular: en ratón: DL-50 = 14 mg/Kg.

Intraperitoneal: en ratón: DL-50 = 1,17 mg/Kg;

en rata: DL-50 = 7 mg/Kg.

Intravenosa: rata: DLm = 6 mg/Kg;

conejo: DL-50 = 7,6 mg/Kg.

Oral: niño: DTm = 1 mg/Kg, DLm = 2 mg/Kg;

rata: DL-50 = 41 mg/Kg;

conejo: DL-50 = 12 mg/Kg.

Percutánea: Rata: DL-50 = 150 mg/Kg.

Na_2HAsO_4 : Intramuscular: ratón: DL-50 = 38,04 mg/Kg.

Intraperitoneal: rata: DLm = 34,72 mg/Kg.

Subcutánea: cobayo: DLm = 21,77 mg/Kg.

En cuanto a animales acuáticos, Rankin y Dixon (1994) estudian la toxicidad aguda de arsenito sobre truchas, indicando que la concentración letal-50 (CL-50) es de 18,5 mg/L (a 14°C). Esto concuerda con estudios previos realizados por McGeachy y Dixon (1989), que establecen una CL-50 para truchas de tamaño similar a las del anterior experimento, de 17,7 y 20,2 mg/L a 5 y 15°C, respectivamente. Resultados similares se obtienen para salmones (Buhl y Hamilton, 1991).

Existen pocos estudios sobre la toxicidad aguda de compuestos organoarsenicales. Estudios de toxicidad aguda de arsenocolina en ratón (administración oral e intravenosa) revelan una depresión respiratoria, ataxia y finalmente, parálisis de las extremidades posteriores (Kaise y cols., 1992), estimándose la DL-50 oral en 6,5 g/Kg y por vía intravenosa en 187 mg/Kg. Para la arsenobetaína el valor de la DL-50 vía oral se ha establecido en 10 g/Kg. Aunque la arsenocolina es ligeramente más tóxica que la arsenobetaína, su toxicidad oral parece insignificante. La arsenocolina se absorbe por vía gastrointestinal en ratón, convirtiéndose en arsenobetaína, la cual es menos tóxica y se excreta rápidamente por orina.

7.1.2 HUMANOS

La DL-50 estimada para humanos del arsénico es de 1-4 mg/Kg, lo cual sugiere que el hombre es más sensible a los efectos agudos letales que los animales de experimentación. La dosis letal de trióxido de arsénico en humanos oscila entre 70 y 180 mg/día (Ishinishi y cols., 1986).

En la literatura hay descrito un gran número de intoxicaciones suicidas, homicidas o accidentales por ingestión de compuestos arsenicales inorgánicos (principalmente trióxido de arsénico). El arsénico ha sido hasta nuestro siglo uno de los tóxicos más utilizados con fines criminales debido a la facilidad de obtención, su elevada toxicidad y sus propiedades organolépticas. Además el cuadro clínico podía confundirse fácilmente con el de otras afecciones del tracto gastrointestinal (afecciones intestinales, toxiinfecciones alimentarias). Hoy día, debido a los avances analíticos este uso está prácticamente erradicado.

Actualmente, los casos de intoxicaciones agudas que se producen se deben a ingestión accidental o suicida del elemento. En 1978, la ingestión de un vino al que se adicionó de forma accidental arseniato sódico causó aproximadamente 200 intoxicaciones y varias muertes en Extremadura. En 1987, se produjo la intoxicación aguda de 720 personas en Olavarría (Argentina), por el consumo de productos cárnicos a los que se añadió arsenito sódico, plaguicida arsenical habitualmente usado en el medio rural para proteger al ganado de las picaduras de insectos, en vez de cloruro sódico (Repetto, Toxicología Fundamental 3º ed., en prensa).

En 1990, se produjo la muerte de 70 personas y 6.000 casos de envenenamiento por la utilización en la fabricación de cerveza, de azúcar contaminada con altos niveles de arsénico. En Japón, tuvo lugar una intoxicación masiva, registrándose 12.131 casos y 130 muertes de niños que habían bebido leche contaminada durante el procesado, con altos contenidos de As, posiblemente As(V) inorgánico. Los síntomas agudos más comunes fueron: fiebre, insomnio, anorexia, hepatomegalia, melanosis y alteraciones de la función cardíaca (Abernathy y Ohanian, 1992). En intoxicación aguda suicida con trióxido de As se ha descrito fallo múltiple orgánico y síndrome de distress respiratorio (Bolliger y cols., 1992).

Los síntomas de la intoxicación aguda por arsénico dependen de la vía de absorción de éste, así como de la dosis, que puede originar una intoxicación sobreaguda o aguda:

Por **vía digestiva** las manifestaciones clínicas suelen iniciarse entre media hora y dos horas después de la ingesta, en forma de un cuadro gastrointestinal de tipo coleriforme con dolores abdominales, vómitos, diarreas profusas y deshidratación, con ardor esofágico, dificultad para la deglución y aliento con olor aliáceo. Intoxicaciones graves pueden desencadenar un shock secundario a la vasodilatación y a la depresión miocárdica, y alteraciones del SNC en forma de letargia, delirio, coma y convulsiones. La muerte puede presentarse entre el primer y cuarto día de la intoxicación (Graef y Lovejoy, 1991; Sáenz-Gallén y cols., 1993). También se ha descrito la producción de rabdomiolisis, destacando la presencia de fibras

perifasciculares hipercontraídas, disrupción miofibrilar, anormalidades mitocondriales y abundantes vacuolas citoplásmicas con lípidos (Fernández-Sola y cols., 1991).

Individuos que se recuperan de una intoxicación aguda por ingestión de compuestos inorgánicos de As presentan alteraciones periféricas nerviosas sensoriales que aparecen tras 2-3 semanas; las extremidades inferiores a menudo se afectan de forma más severa que las superiores y en intoxicaciones más graves aparecen alteraciones periféricas motoras con pérdida de fuerza distal e incapacidad deambulatoria. El examen histológico de nervios periféricos en estos casos muestra degeneración walleriana, especialmente en los axones más largos (Goebel y cols., 1990; Repetto, 1988). Otras secuelas posteriores pueden aparecer en forma de hepatopatía y fallo renal.

La intoxicación sobreaguda, por rápida absorción de una gran cantidad de producto, se manifiesta una hora tras la exposición como un cuadro neurológico paralítico sin vómitos ni diarreas (Soria y cols., 1995)

Tras su **inhalación**, los compuestos arsenicales inorgánicos, principalmente trivalentes, irritantes y vesicantes, como trióxido de arsénico, tricloruro de arsénico y gases de guerra, originan daños severos en el tracto respiratorio. Los síntomas incluyen tos, edema pulmonar agudo, disnea, cianosis y dolor torácico. Además, la intoxicación aguda tras exposición a polvo ambiental se acompaña frecuentemente de irritación de la piel o membranas mucosas expuestas, dando lugar a dermatitis, irritación nasal, laringitis, bronquitis media, conjuntivitis. Generalmente no se manifiestan síntomas del tracto gastrointestinal (Ishinishi y cols., 1986). Por el contrario, el síntoma típico de la intoxicación por arsina o hidrógeno arsenical, es la hemólisis, que se manifiesta por náuseas, engrosamiento de hígado y bazo, color bronceado de la piel y fracaso renal.

7.2. EFECTOS CRONICOS

La intoxicación crónica y subcrónica por arsénico se produce generalmente debido a la exposición a dosis bajas del elemento presente en aire, agua, alimentos y bebidas contaminados, o por contacto dérmico en determinados ambientes laborales, así como por el uso de medicamentos arsenicales. Sólo una pequeña parte de la exposición humana a arsénico se encuentra bajo nuestro control, ya que, en pequeñas concentraciones, este elemento está ampliamente distribuido; de hecho se considera inevitable una ingesta aproximada de 45 $\mu\text{g}/\text{día}$ y 10 $\mu\text{g}/\text{día}$ a través de alimentos y aguas, respectivamente (Stöhrer, 1991).

7.2.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

En estudios de toxicidad crónica en ratas y perros, administrando durante dos años altas dosis de arseniatos y arsenitos, se produjeron muertes en ambas especies, pero el único efecto patológico encontrado fue agrandamiento del conducto biliar en ratas (Byron, 1967). La administración de arsenito sódico a ratones (6 mg/Kg/día), durante 64 días produjo hinchamiento mitocondrial y alteraciones de la respiración; arsenitos y arseniatos en ratón parece que disminuyen la resistencia viral de esta especie, posiblemente a través de la interferencia con procesos inmunitarios (Mohelsha, 1980).

Rankin y Dixon (1994) estudiaron los efectos de la exposición crónica a arsenito sódico en truchas, observando que tras el tratamiento durante 17 semanas con 9,64 mg arsenito/L existe una reducción del crecimiento del 50%, atribuida principalmente a una disminución del apetito, un incremento de la mortalidad que se asocia a una erosión necrótica en las regiones mandibular y olfativa, e inflamación de la vesícula biliar.

En gatos expuestos de forma crónica a arsenito, vía alimentaria, se ha observado electrocardiogramas anormales (Ishinishi y cols., 1986).

En otro estudio, arseniato en ratas produjo ligeras alteraciones renales (alargamiento de los capilares del glomérulo) y hepáticas (hinchamiento de los hepatocitos), y un incremento de la sensibilidad vascular a la estimulación de beta-adrenoreceptores (Carmignani y cols., 1983), pero debido a la diferente eliminación del As, en comparación con el hombre, los datos de efectos en ratas tienen que interpretarse con precaución.

En ratas expuestas crónicamente a As (V) (arseniato sódico, 5mg/Kg/día) se observa un retraso en el comportamiento operante, una disminución de la actividad de acetilcolinesterasa, y alteraciones en los niveles de aminas (noradrenalina, dopamina, serotonina) y aminoácidos (glutamato, GABA) en algunas regiones del cerebro (Nagaraja y Desiraju, 1993, 1994).

Ya que el riñón es la principal vía de eliminación de As inorgánico y sus metabolitos, se han estudiado los posibles efectos del mismo en este órgano. Arseniato (4,7-9,4 mg/Kg/día, 6 meses) en ratas, induce cambios ultraestructurales en túbulos proximales, y disminuye la respiración mitocondrial. Se sugiere que los efectos se deben a acción directa de arseniato, aunque como se encontraron niveles elevados de cobre en el tejido renal, Goyer (1996) recomienda determinar el posible papel de este último elemento.

Se han estudiado los efectos de As(V) en mono Rhesus, observándose vacuolización de hepatocitos, con un contenido menos marcado de glucógeno, y dilatación de túbulos proximales en riñón.

Sin embargo, tras exposición crónica, no se han observado en animales, lesiones en la piel ni polineuropatías, por lo que no se han reproducido en los mismos los síntomas característicos de la intoxicación crónica humana (Clarkson, 1991).

Los estudios de toxicidad crónica en animales, de compuestos orgánicos de arsénico, son limitados, e indican que la toxicidad de estos es relativamente baja. Exon y cols. (1976), administraron a conejos una dieta que contenía el herbicida MSMA en concentraciones de 50 mg/Kg de dieta, lo cual equivalía a 27,5 mg

As/Kg, durante 7-8 semanas, observando hepatitis en algunos animales e incluso hiperplasia reactiva.

Dickinson (1972) administró dosis diarias de 10 mg de MSMA/Kg de peso corporal a terneras durante 10 días. Todos los animales presentaron pérdida de peso y diarrea severa, gastritis hemorrágica e intensa hiperemia. También se encontraron casos de necrosis hepática y degeneración de los túbulos renales. De igual forma, el estudio de los efectos histopatológicos de la exposición crónica a este compuesto (dosis de 5, 10 y 20 mg MSMA/kg durante 40 días) en conejos reveló la aparición de degeneración celular hepática, inflamación periportal, nefrosis tubular, nefritis intersticial e hiperemia vascular (Jaghir y cols., 1989).

Ledet y cols. (1973) estudiaron los efectos del ácido arsánico, en cerdos que consumían una dieta que contenía 1000 mg/Kg (350 mg As/Kg), lo cual supone diez veces lo recomendado para la estimulación del crecimiento, y observaron la aparición de asperezas en la piel y diarreas leves como primeros síntomas. Pasados unos días apareció hiperemia cutánea e hiperestesia, mostrando los animales síntomas de debilidad y lesiones histológicas en nervios óptico y periféricos. Witzel y cols (1976) encontraron que niveles de este compuesto similares a los anteriores causaron ceguera y atrofia del nervio óptico en cerdos tras 25-30 días de tratamiento.

Se ha descrito también la intoxicación por roxarsona (ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsónico) en cerdos, mostrando que es más tóxica que el ácido arsánico (Blakley y cols., 1990). Dos semanas después de haber consumido pienso que contenía niveles de 133 mg/Kg, lo cual corresponde a 38 mg As/Kg, los animales presentaron trastornos neurológicos, caracterizados por ataxia, incoordinación, temblores musculares, parálisis posterior y cuadriplegia.

7.2.2. HUMANOS

7.2.2.a.- Aspectos generales

Trabajadores expuestos por vía inhalatoria de forma prolongada a compuestos arsenicales han manifestado lesiones en piel, membranas mucosas y alteraciones de los sistemas nervioso y respiratorio. Igualmente se han descrito estos efectos en poblaciones afectadas por las emisiones de arsénico de una refinería de trióxido de arsénico (Kuratsune, 1972) y de una planta energética de carbón (Benko y cols., 1977).

El arsénico se encuentra en el agua de bebida preferentemente como arsénico inorgánico, en forma de arseniato o arsenito. Cuando hay presencia de oxígeno, la forma predominante es arseniato (sal pentavalente), mientras que cuando existen condiciones reductoras, como en el caso de aguas de pozos de gran profundidad, el arsénico se halla principalmente como arsenito (sal trivalente) (Viraraghavan y cols., 1992; Lin y cols., 1995).

No se han encontrado efectos nocivos sobre la salud por la ingestión crónica de aguas que contienen niveles de arsénico entre 0,05-0,250 mg/L (Varsányi y cols., 1991; Viraraghavan y cols., 1992). La exposición crónica a concentraciones superiores de arsénico a través del agua de bebida se ha asociado con la aparición de lesiones dérmicas, vasculares, neurológicas y hepáticas.

Existen zonas endémicas de arsenicismo crónico causado por altas concentraciones de As en el agua de consumo, como Taiwan, Argentina, Chile, Mexico, India, USA y Hungría. En estos casos, el primer criterio para el diagnóstico de la intoxicación fue la hiperqueratosis simétrica palmar y plantar. Se ha observado un exceso de mortalidad por cáncer en estas zonas.

Una enfermedad endémica del suroeste de Taiwan asociada a la ingestión de arsénico en el agua es la enfermedad de Blackfoot. Se trata de una alteración vascular que conduce a gangrena de las extremidades, y que cursa también con hiperqueratosis en la piel.

Una gran epidemia por consumo de agua con contenidos de As, de fuente geológica, superiores al límite máximo permitido por la WHO, de 0,05 mg/L, ha ocurrido en India (Das y cols., 1995). En los últimos cinco años se ha controlado a la población expuesta en algunas áreas afectadas y hasta el momento se cree que al menos 800.000 personas están bebiendo agua contaminada, y más de 175.000 muestran lesiones en la piel, típicas de esta intoxicación. Los síntomas más comunes son: conjuntivitis, melanosis, despigmentación, queratosis e hiperqueratosis. También se han registrado casos de gangrena y neoplasias malignas. Los estudios de especiación del elemento en estas aguas contaminadas revelan que la mayoría de ellas contienen una mezcla de arsenito y arseniato pero en ninguna de ellas se ha detectado MMAA y DMAA.

También se han producido intoxicaciones crónicas por exposición a medicamentos arsenicales (solución de Fowler) y a través de otras bebidas contaminadas. Este es el caso de viticultores alemanes que consumían una bebida llamada "Haustrunk" que preparaban a partir de la piel de las uvas a las que se aplicaban plaguicidas arsenicales. Esta bebida, de bajo contenido en alcohol, contenía niveles de arsénico que llegaban a los 10 mg/L. Se observó también que el 63% de las muestras de vino analizadas contenían más de 2 mg/L de arsénico, de las cuales el 43% tuvo niveles superiores a 5 mg/L.

De forma general, en las intoxicaciones subcrónicas y crónicas se producen cuadros irritativos cutáneos eccematoides con melanosis e hiperqueratosis, y mucosos con conjuntivitis, necrosis corneal y la perforación típica del tabique nasal. Aunque también se origina anemia y alteraciones hepáticas y cardiovasculares, con gangrena de extremidades, el cuadro más importante es la neuritis periférica (Soria y cols., 1995).

La exposición crónica a As inorgánico puede inducir diabetes mellitus en humanos; Lai y cols (1994) encuentran que residentes de áreas de arsenicismo endémico tenían una prevalencia dos veces superior de diabetes mellitus en

comparación con una población control, existiendo una relación dosis-respuesta entre exposición acumulada de As y presencia de la enfermedad.

7.2.2.b.- Lesiones en la piel

La piel es un órgano crítico en la población expuesta a compuestos arsenicales, desarrollándose síntomas eccematoides de diverso grado de severidad; en el caso de exposición a compuestos de As(III), como arsenito, ello se explica por la abundancia de grupos sulfidrilo de las proteínas en la piel (Ishinishi, 1986).

En el caso de la exposición ocupacional, las lesiones en la piel pueden deberse a una irritación local (dermatitis de contacto) y no implicar necesariamente una afectación sistémica. Estas lesiones suelen encontrarse en palmas de manos y pies.

Las principales afecciones que se observan tras exposición crónica son: hiperqueratosis simétrica palmar y plantar, hipo e hiperpigmentación y ulceraciones, existiendo una relación dosis y tiempo-dependiente entre aparición de los síntomas dérmicos y exposición al elemento. (Abernathy y Ohanian, 1992; Börzsönyi y cols., 1992; Varsányi y cols., 1991).

La hiperqueratosis inducida por arsénico ocurre principalmente en palmas de pies y manos, aunque también puede darse en dedos, brazos, piernas y dorso de las manos. Se trata de elevaciones parecidas a un grano de maíz, de 0,4-1cm de diámetro, que se unen unas con otras formando placas. Al microscopio se observan alteraciones celulares que consisten en un aumento del tamaño del núcleo, aparecen células multinucleadas, aumenta el número de mitosis y disqueratosis (queratinización anormal de algunas células de la epidermis).

La hiperpigmentación se localiza frecuentemente en los párpados inferior y superior, sienes, cuello, pezones y axilas. En casos más severos, aparece conjuntamente en pecho, abdomen, espalda y escroto con hiperqueratosis y verrugas (Manson-Bahr y cols., 1987). Las lesiones son de color marrón oscuro y pueden

contener lunares pálidos o hipopigmentados. Esta hiperpigmentación se ha achacado a la formación de depósitos de arsénico y a un incremento de melanina (Shannon y Strayer, 1989).

Otras manifestaciones en la piel del intoxicado crónico por arsénico son la enfermedad de Bowen (carcinoma celular escamoso con apariencia psoriasiforme, que suele ir asociada a carcinomas viscerales respiratorio o gastrointestinal) y la presencia de líneas de Aldrich-Mees (estrías blancas transversales en las uñas) (Graef y Lovejoy, 1991).

En cuanto a la evolución de estas lesiones, la hiperpigmentación y queratosis pueden desaparecer o persistir después de haber terminado la exposición a arsénico. Se ha encontrado que la queratosis y la enfermedad de Bowen se pueden malignizar produciéndose carcinomas celulares escamosos y carcinomas de células basales.

7.2.2.c.- Lesiones en las mucosas

En estados subcrónicos se puede encontrar conjuntivitis, caracterizada por enrojecimiento, lagrimeo y dolor. Un tipo de conjuntivitis severa es la queratoconjuntivitis, que se ha registrado en la utilización de arseniato cálcico como insecticida. Igualmente se han registrado casos aislados de necrosis corneal, acompañada de úlcera corneal.

También pueden darse casos de irritación nasal y faríngea, causando traqueobronquitis rinofaríngea.

En trabajadores expuestos a polvo arsenical aparece perforación del tabique nasal, en la porción cartilaginosa de éste (area de Kiessel-Bach), que no conlleva deformación de la nariz (Ishinishi y cols., 1986).

7.2.2.d.- Efectos cardiovasculares. Enfermedad de Blackfoot.

En pacientes con intoxicación debida a trióxido de arsénico se ha producido colapso cardio-circulatorio. Igualmente se han encontrado anomalías en los electrocardiogramas (ECG) de individuos tras la exposición crónica a arsénico

inorgánico, con un ensanchamiento del complejo QRS y, con menor frecuencia, depresión del segmento RT y alisamiento de la onda Q (WHO, 1981).

La exposición a largo plazo a arsénico puede inducir hipertensión en humanos. En zonas de arsenicismo crónico, la prevalencia de hipertensión es superior (factor de 1,5) a la encontrada en residentes de áreas no endémicas; existe una relación dosis-respuesta entre exposición acumulativa de arsénico y prevalencia de hipertensión (Chen y cols., 1995).

Son de especial importancia las lesiones vasculares periféricas descritas en la literatura por exposición a arsénico inorgánico:

Los habitantes de la ciudad de Antofagasta (Chile), estuvieron expuestos durante al menos 12 años a altos niveles de arsénico inorgánico a través del agua de consumo público, y experimentaron espasmos vasculares en dedos, pies, y lengua, con cambios que histológicamente eran similares a la enfermedad de Raynaud. En algunos casos se produjeron desórdenes cardiovasculares con disfunción respiratoria; los síntomas más severos aparecieron en niños.

Los efectos vasculares, que se producen en la citada enfermedad de Blackfoot (BFD), son de gran severidad. Los primeros síntomas clínicos de la enfermedad son entumecimiento y enfriamiento de una o más extremidades, que progresa con un oscurecimiento del miembro afectado, ulceración y gangrena. En estados avanzados de la enfermedad es común la amputación espontánea de las partes distales de las extremidades afectadas (Engel y cols., 1994).

Arteriografías de algunos pacientes afectados por la enfermedad mostraron un marcado estrechamiento de las principales arterias de piernas y brazos. Histológicamente se observa tromboangitis y arteriosclerosis obliterante. En la piel afectada existe degeneración y estrechamiento de la paredes vasculares. En los dedos afectados de gangrena se encontró una proliferación y dilatación de los vasos dérmicos y oclusión de las arteriolas subcutáneas con trombosis.

Estimación Toxicológica de As y sus especies

Aunque la etiología de esta enfermedad no está clara, se ha relacionado con el consumo de agua de pozos artesianos existentes en la zona. El suelo y el agua de pozos superficiales de estas áreas son salobres, por lo que, los residentes de esta zona, especialmente de la costa, comienzan a utilizar agua de pozos artesianos (de 100 o 200 m de profundidad) para su consumo, limpieza personal, regadío y piscicultura. En los años 50 se encuentra una coincidencia entre la distribución de la enfermedad y el consumo de agua procedente de estos pozos. El contenido de arsénico del agua de estos pozos artesianos era muy elevado, oscilando entre 0,35 y 1,14 mg/L, con un valor medio de 0.78 mg/L; mientras que el contenido de arsénico en aguas de pozos superficiales osciló entre 0,00 y 0,30 mg/L, con una media de 0,40 mg/L. Igualmente se han encontrado altos niveles de arsénico en productos agrícolas y pescados (Lo, 1978). Se ha estimado que el arsénico total ingerido diariamente por los residentes en estas áreas endémicas es de 1 mg. Esto unido a que junto con la enfermedad de Blackfoot aparecen síntomas cutáneos de intoxicación crónica por arsénico y que la principal causa de mortalidad entre los pacientes es el cáncer de piel, bazo y riñón hace pensar que el arsénico podría ser la causa principal de la enfermedad de Blackfoot (Chen y cols., 1985).

Chen y cols. (1990) sugieren que el arsénico (As_2O_3) puede dañar a las células endoteliales, lo cual puede jugar un papel importante en la patogénesis de esta enfermedad.

Las concentraciones de As, Se, Cu, Zn, Fe en pelos de pacientes afectados por la enfermedad de Blackfoot en diferentes estados clínicos, muestran que el As es el principal agente causal, que antagoniza al Se y Fe, por lo que éstos disminuyen en los estados clínicos más avanzados (Wang y cols., 1994).

Sin embargo, se sabe que las aguas aludidas contenían, además de arsénico, altas concentraciones de sustancias húmicas fluorescentes (ácidos húmico y fúlvico), cloruros orgánicos y alcaloides ergotamínicos.

Algunos estudios indican que las sustancias húmicas encontradas en el agua de pozos del área endémica de Taiwan podrían desempeñar un papel importante en la inducción de la enfermedad de Blackfoot. Experimentos *in vitro* muestran cómo las sustancias húmicas modifican parámetros de la coagulación sanguínea y permeabilidad capilar (Lu 1990a; Lu y Lee, 1992) y además, se ha encontrado que los ácidos húmicos producen gangrena en ratón (Lu, 1990b).

En el estudio realizado por Lu y cols. (1994) se observa como sustancias húmicas sintéticas acortan el tiempo de protrombina del plasma humano por sí solas. Este efecto fue más pronunciado cuando estos ácidos húmicos contenían elementos metálicos (As, Fe, Cu, Cr, Al, Zn) los cuales eran abundantes en estas aguas, mientras que tras la exposición única a As o mezclas de otros metales no se afectó este parámetro. Concluyendo, los autores indican que el As actúa únicamente como agente promotor o auxiliar de este efecto, y que la existencia de estos complejos, sustancias húmicas-metales, en el agua de los pozos, es de gran importancia en la patogénesis de la enfermedad.

Yang y cols. (1994) indican que el ácido húmico es un potente inhibidor de la proteína C, aún en presencia de arsénico (III) (aumenta la actividad de la proteína C), por lo que se podría disminuir la actividad anticoagulante y profibrinolítica de esta proteína e inducir efectos trombóticos.

En 1994, Hung y cols. realizan un estudio detallado de las sustancias orgánicas y húmicas encontradas en el agua de estos pozos, y encuentran altas concentraciones de carbono orgánico disuelto (COD), ácido fúlvico y ácido húmico en comparación con los niveles de las aguas costeras; por análisis elemental demuestran que el ácido fúlvico tiene un gran porcentaje de carbonos aromáticos, y además, que la intensidad de fluorescencia de los extractos de ácido fúlvico es muy elevada.

Es sabido, que las sustancias húmicas tienen una alta capacidad de formar complejos organometálicos (Power y Town, 1991). Se especula con la posibilidad de que se formen complejos entre arsénico y ácidos orgánicos como son los ácido fúlvico y húmico. De hecho, se han encontrado sustancias fluorescentes que contienen arsénico en las aguas de los pozos artesianos que han inducido lesiones similares a la enfermedad de Blackfoot en ratones (Lu y cols., 1991). Además, los niveles de fluorescencia más elevados están correlacionados con el agua de distritos en los cuales los pacientes tenían síntomas dérmicos.

El hecho de que la enfermedad Blackfoot no se ha observado en otras zonas endémicas de arsenicismo (Chile, México, Argentina), que sí presentaban alteraciones en la piel y síndrome de Raynaud, hace pensar que intervengan otros factores ambientales, aún no definidos, como podrían ser el estatus socioeconómico, estado nutricional y factores genéticos (Engel y cols., 1994).

De hecho Chen y cols. (1988) estudian la posible relación entre el estado nutricional y la posibilidad de padecer la enfermedad de Blackfoot. La desnutrición, baja ingesta de calorías, Zn, proteínas y vitaminas, puede estar involucrada en la patogénesis de esta enfermedad por desestabilizar las estructuras endoteliales, sistemas enzimáticos que participan en el funcionamiento vascular, sistema hemodinámico y sistema inmunitario. Igualmente encontraron que existía una tendencia dentro de la familia a padecer la enfermedad que no se pudo explicar en su totalidad por factores ambientales como es la exposición a este agua, o por el estado nutricional. Por ello se llegó a pensar en una susceptibilidad genética compartida por los miembros de una familia, en definitiva, una capacidad de metilación de arsénico deficiente u otros factores genéticos.

Otras alteraciones vasculares periféricas se detectaron entre viticultores de las zonas de Palatine y Moselle en Alemania, y en Austria. En la zona de Moselle los síntomas más frecuentes fueron pies y manos fríos, y en algunos casos se diagnosticó acrodermatitis atrófica de Herxheimer, una enfermedad cutánea vascular con un componente inflamatorio. También se observó acrocianosis en brazos y piernas.

En cuanto a la exposición por vía inhalatoria, diferentes estudios sobre exposición ocupacional a arsénico, sin especificar la especie química, revelan un mayor riesgo relativo de enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares. Ahora bien, debido a que en los estudios existentes se ha prestado más interés a la aparición de cáncer de pulmón, no se han analizado con mucho detalle estos trastornos (Engel y cols., 1994).

7.2.2.e.- Efectos sobre el Sistema Hematopoyético

La intoxicación crónica por arsénico suele acompañarse de anemia y leucopenia. La anemia no se considera que se deba a deficiencia de hierro, y es similar a la anemia aplásica desde el punto de vista hematológico. El análisis de la médula ósea muestra alteraciones de la eritropoyesis y ocasionalmente cambios megaloblásticos. También puede aparecer severa granulocitopenia, con posibilidad de afectar la resistencia a infecciones bacterianas (WHO, 1981; Ishinishi y cols., 1986). Se ha registrado un caso de intoxicación por arsénico que cursó con un síndrome mielodisplásico, afectando a las tres líneas celulares medulares (Rezuke y cols., 1991), acompañado de síntomas gastrointestinales y neurológicos.

Aunque no se conocen los posibles efectos sobre la síntesis del grupo hemo en trabajadores expuestos a InAs, empleado como semiconductor, en animales de experimentación (hamster) se ha comprobado que tanto el In como el As son biológicamente activos, inhibiendo la actividad de diversas enzimas como la delta-aminolevulínico dehidratasa (ALAD), lo cual puede ser de gran utilidad como marcador de exposición (Conner y cols., 1995).

7.2.2.f.- Efectos sobre el Sistema Nervioso

En la intoxicación crónica por arsénico se produce polineuropatía periférica que afecta principalmente a las extremidades inferiores y superiores. Es simétrica, y dolorosa. En un principio, es sensorial, con entumecimiento, sensación de picazón, ardor y calambres musculares. Más tarde se caracteriza por disfunción motora y parestesia. Al examinar los pacientes se observa pérdida del tacto, de las

sensaciones de dolor y calor, estando los reflejos nerviosos disminuídos o ausentes (Ellenhorn y Barceloux, 1988; Manzo, 1985). El curso de la enfermedad es variable. Cuando la alteración motora es leve la recuperación puede ser completa y rápida, pero cuando es severa pueden durar las lesiones hasta 3 años y en algunos casos puede quedar alguna incapacidad residual.

En un estudio realizado en Nueva Escocia con tres grupos de personas expuestas a aguas con concentraciones superiores a 0,1 mg/L, en el rango 0,1-0.05 mg/L y de menos de 0,05 mg/L, aparecen anomalías electromiográficas en un 50%, 17%, y 0% respectivamente (Hindmarsh y cols., 1977). Southwick y cols. (1983) observan un moderado enlentecimiento de la conducción nerviosa motora, aunque este estudio no es estadísticamente adecuado al no llevarse a cabo sobre un número suficiente de pacientes.

También se ha detectado encefalopatía, del tipo de Wernicke.

En una intoxicación que afectó a 415 niños en Japón en 1955, por consumo de leche en polvo contaminada con arsénico pentavalente, el 18% de los mismos sufrió pérdidas severas de la audición (>30dB) (Yamashita, 1972). Además se observaron anomalías en los electroencefalogramas y atrofia óptica bilateral (WHO, 1981). Bencko y cols. (1977) notaron pérdida de audición aparentemente debida a afectación del oído interno en niños que vivían cerca de una planta de carbón en Checoslovaquia.

El uso de determinados compuestos orgánicos de arsénico en el tratamiento de algunas enfermedades parasitarias ha causado efectos secundarios adversos en diferentes órganos, pero más notablemente en el sistema nervioso. Sina y cols. (1977) observaron encefalopatía en el 1,5% de 1066 pacientes tratados con arsobal (triparsamida), para la tripanosomiasis, siendo la mortalidad elevada (62,5%). Se ha observado además atrofia ocular, dermatitis, y lesiones hepáticas y del sistema hematopoyético. En pacientes tratados con melarsoprol, se pueden presentar mialgias, parestesias distales y debilidad progresiva, desarrollándose una polineuropatía desmielinizante, parecida al síndrome de Guillain-Barré: degeneración

walleriana distal masiva en nervios periféricos, anormalidades en ganglios basales y médula espinal. También aparecen disfunciones hepáticas y renales (Gherardi y cols., 1990).

7.2.2.g.- Efectos sobre el Hígado

El arsénico, sobre todo sus compuestos inorgánicos, produce daños hepáticos. En India, se detectó hepatomegalia en personas que bebieron agua contaminada por arsénico, aunque no se conoce la especie (Mazumder y cols., 1988).

Diversos estudios indican la existencia de hipertensión portal y cirrosis en pacientes con psoriasis tratados con solución de Fowler (arsénico trivalente). Las biopsias hepáticas mostraron cirrosis septal incompleta y alteraciones menores difíciles de detectar, por lo que Nevens y cols. (1990) recomiendan el seguimiento de este tipo de pacientes por la posibilidad de desarrollo posterior de lesiones malignas en hígado, piel y pulmón.

De igual forma, se observa cirrosis entre trabajadores de fundiciones altamente expuestos a arsénico inorgánico, así como en trabajadores expuestos a plaguicidas arsenicales y vino contaminado. En este último caso, es posible que el consumo elevado de alcohol juegue un papel importante en esas lesiones (Lüchtrath, 1983).

7.2.2.h.- Efectos sobre el Sistema Respiratorio

Los efectos sobre el sistema respiratorio han sido principalmente resultado de exposición ocupacional crónica a través de aire contaminado, fundamentalmente por compuestos de arsénico inorgánico. Se han encontrado dos tipos de síndromes respiratorios: uno incluye síntomas del tracto respiratorio superior con perforación del septum nasal y laringitis rinofaríngea, y el otro traqueobronquitis y signos de insuficiencia pulmonar, frecuentemente debidas a lesiones enfisematosas.

La exposición a arsénico por vía digestiva también puede causar efectos sobre el sistema respiratorio. Así, en individuos expuestos a altas concentraciones en el agua de consumo en Antofagasta (Chile) mostraron tos y broncopulmonías (Borgoño y cols., 1977). Además otros autores encontraron en esta población fibrosis intersticial difusa en pulmón (Rosenberg, 1974).

Al evaluar estos efectos se debe tener en cuenta el posible papel del arsénico como supresor de la respuesta inmunitaria, que puede afectar la resistencia a infecciones.

En la valoración del riesgo por inhalación de As, generalmente se ignora el estado de oxidación de los compuestos inorgánicos. Lantz y cols (1994) estudian las diferencias de toxicidad de As(III) y As(V) determinando la alteración de la función de los macrófagos pulmonares alveolares, tras exposición in vivo e in vitro de compuestos solubles de As, observando diferencias en el mecanismo de alteración de los macrófagos, lo cual afecta al sistema inmunitario.

7.2.2.i.- Efectos sobre el Sistema Inmunitario

Aunque el arsénico es un carcinógeno humano, existen pocos estudios sobre la influencia de los componentes de arsénico sobre el sistema inmunitario. Algunas de las propiedades inmunotóxicas de los compuestos de arsénico recogidas por Descotes (1986) son:

- Disminución de la inmunidad humoral, en ratón, tras exposición vía oral de 0,5-10 mg/L As/3 semanas.
- Disminución de la resistencia a infecciones víricas, en ratón, por exposición a arsenito sódico, trióxido de arsénico y ácido arsánico.

En la exposición de ratones a 2, 5, 25 ó 100 mg/L de arsénico en agua de bebida (10-12 semanas), no se han observado efectos inmunosupresores, mientras que la inhalación de trióxido de arsénico disminuye la actividad bactericida pulmonar. Contrastando con estos resultados, otros estudios sugieren que el arsénico

pueda aumentar la respuesta inmune de los individuos expuestos (Descotes y cols., 1990).

Rosenthal y cols. (1988) en ratones expuestos a 0,5-5 mg/L de arsina por inhalación, encuentran una disminución dosis-dependiente de la actividad de linfocitos T citotóxicos y actividad celular NK; pero las funciones de los linfocitos B no se alteran.

Burns y cols. (1991) indican que el arsénico en arseniuro de galio (GaAs), es el principal responsable de la inmunosupresión inducida por este compuesto, concentración-dependiente, demostrada en estudios *in vitro*, con eritrocitos bovinos.

En individuos expuestos a elevados niveles de arsénico en agua, se ha desarrollado cáncer y lesiones en la piel, similares a las que sufren aquellos pacientes que toman medicamentos inmunosupresores. De hecho, estados de inmunodeficiencia prolongados incrementan el riesgo de padecer determinados tumores (Gonsebatt y cols., 1992).

Bencko y cols. (1988) observaron bajos niveles de IgM en el suero de trabajadores de una planta térmica donde se quemaba carbón con altos contenidos de arsénico.

Se ha visto que los cultivos de linfocitos de individuos expuestos a hidroarsenismo muestran un enlentecimiento del ciclo celular con respecto a cultivos de individuos no expuestos (Ostrosky-Wegman y cols., 1991).

En 1992, Gonsebatt y cols. investigaron los efectos de arsénico pentavalente y trivalente sobre la estimulación y proliferación de linfocitos humanos, usando concentraciones similares a las encontradas en la sangre de individuos altamente expuestos. Estos llevan a cabo dos experimentos, uno de ellos en linfocitos en fase de proliferación activa y el otro en linfocitos que estaban en la fase inicial de proliferación (fases G_0 - G_1 del ciclo celular), a los que además se añadió fitohemaglutinina. Las dosis usadas fueron 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9} molar, lo cual equivale a 0,13-13,00 $\mu\text{g/L}$ para As (III) y 0,31-31,00 $\mu\text{g/L}$ de As(V). Se observó una

depresión de la respuesta a la estimulación por fitohemaglutininas y retraso de la progresión del ciclo celular dependiente de la dosis. Este efecto es menos pronunciado en las células en proliferación activa, probablemente debido a que éstas ya están estimuladas y en otra fase del ciclo celular. En este trabajo se observa similar toxicidad para As(III) y As(V), lo que puede deberse a la reducción de As(V) a As(III) en los cultivos celulares (Bertolero y cols., 1987).

La alteración de la respuesta inmune, según estos autores, podría jugar un papel en la mayor incidencia de cáncer observado en individuos expuestos a compuestos inorgánicos de arsénico.

7.3. CARCINOGENESIS

El arsénico, es un potente carcinógeno humano ambiental, sobre todo en piel y pulmón, tanto tras exposición por vía oral como inhalatoria. Los mecanismos genéticos que explican esta actividad carcinogénica no se conocen aún.

El arsénico y ciertos compuestos de As, han sido clasificados por la Agencia Internacional de Investigaciones científicas sobre el Cáncer (IARC 1987, 1993) en el grupo 1: "sustancias con suficiente evidencia de ser carcinogénica para el hombre", basándose en datos epidemiológicos y experimentales disponibles, así como otros datos relevantes:

- Existe evidencia *limitada* de carcinogenicidad en humanos.
- Existe evidencia *suficiente* de ser carcinógeno en humanos.

En la Tabla 14, se resumen las conclusiones científicas de la Comisión de la Comunidad Europea sobre la carcinogenicidad y genotoxicidad de diferentes compuestos de arsénico (CEE, 1991).

Tabla 14.- Carcinogenicidad y genotoxicidad de diferentes compuestos de arsénico (CEE, 1991).

COMPUESTO	ESTUDIOS DE CARCINOGENESIS		GENOTOXICIDAD
	Animales	Humanos	
Arsina (AsH ₃)	ND	ND	ND
Trióxido de arsénico (As ₂ O ₃)	Tumores tracto respiratorio en ratas y hamsters por instilación intratraqueal	*Cáncer de pulmón (por inhalación). *Cáncer de piel (por ingestión).	*Daño sobre DNA bacteriano. *Aberraciones cromosómicas en linfocitos humanos.
Arsenito potásico	ND	*Inducción de cáncer de piel vía oral (carcinomas intraepidémico, de células basales y células escamosas). *Otros cánceres internos, principalmente angiosarcoma hepático.	*Aberraciones cromosómicas en cultivos de linfocitos humanos. *Incremento frecuencia rupturas cromosómicas y inducción SCE, pacientes tratados solución de Fowler.
Arsenito sódico (Na ₂ HAsO ₃)	* No tumores malignos por vía oral o inhalación. *Promotor de tumores inducidos por dietilnitrosamina en ratas, por administración oral.	Cáncer de piel y pulmón.	*Mutagénico en levaduras. *SCE, aberraciones cromosómicas y transformación y amplificación génica en células mamíferos. *Daño cromosómico en ratón, <i>in vivo</i> .

Tabla 14.- Continuación.

COMPUESTO	ESTUDIOS DE CARCINOGENESIS		GENOTOXICIDAD
	Animales	Humanos	
Ac. arsénico (H_3AsO_4)	ND	ND	Aberraciones cromosómicas en células de mamíferos (ruptura de cromátidas).
Pentóxido de arsénico (As_2O_5)	ND	ND	Genotóxico en bacterias, SCE y aberraciones cromosómicas en mamíferos.
Arseniato cálcico (Ca_3AsO_4)	Tumores pulmonares por instilación intratraqueal, en ratas y hamsters.	Por exposición simultánea con otros compuestos de arsénico (arsenitos y arseniats de plomo), incremento del riesgo de cáncer de pulmón, piel e hígado.	ND
Arseniato de plomo	No tumores malignos en ratas, vía oral.	Ver arseniato cálcico.	ND
Arseniato potásico (KH_2AsO_4)	ND	ND	ND
Arseniato sódico ($H_3AsO_4 \cdot xNa$)	*No tumores malignos vía oral y dérmica, ratas. *Leucemia en ratón vía i.v./subcutánea.	ND	*Daño DNA en bacterias, no mutación. *SCE, aberraciones cromosómicas, transformación y amplificación génica en mamíferos.

7.3.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

A pesar de los esfuerzos realizados, los estudios diseñados para la inducción de tumores por exposición a arsénico, ya sea vía inhalatoria, oral o dérmica, en animales de laboratorio han sido en su mayor parte infructuosos, proporcionando únicamente evidencia limitada de carcinogenicidad (Zíngaro, 1993; Bates y cols., 1992; IARC 1987,1993; Ishinishi y cols., 1986). Probablemente esto se deba a diferencias en el metabolismo interespecies, pero no se podrá encontrar una respuesta adecuada a estas diferencias hasta que no se conozca el mecanismo por el cual As produce cáncer en humanos.

Estudios en los que se ha llevado a cabo la instilación intratraqueal de trióxido de arsénico en ratones y hamsters, han mostrado que este compuesto produce: adenomas de pulmón en ratón, tras tratamiento perinatal, y que la incidencia de carcinomas, adenomas, papilomas y otras lesiones en el tracto respiratorio es baja en hamster (CEE, 1991; Pershagen y cols., 1984).

Glaser y cols. (1986) no encontraron tumores pulmonares, ni diferencias en la incidencia de otro tipo tumores, entre las ratas expuestas por vía inhalatoria a dosis de 60 y 200 μg de As/m^3 en forma de trióxido de arsénico durante 18 meses y los controles.

No existen datos adecuados de la carcinogenicidad de arsenicales orgánicos en animales. Estudios in vitro sobre la citotoxicidad y potencial neoplásico de arsenobetaína, demuestran que concentraciones tan altas como 500 μM del compuesto no producen efectos tóxicos, mientras que se obtienen resultados positivos para arsenito sódico a dosis de 10 μM (Sabbioni y cols., 1992).

La administración oral de arsenito sódico aumenta la incidencia de tumores renales en ratas tratadas conjuntamente con inyección intraperitoneal de dietilnitrosamina, conocido carcinógeno renal (Shirachi y cols., 1983). Los animales a los que se les administró arsénico presentaron pérdida del apetito, lo cual llevó a una considerable disminución de peso. Esto hace pensar en una posible interacción entre

la deficiencia nutricional y dietilnitrosamina, existiendo también en este caso, limitada evidencia de la capacidad como promotor del arsénico (Bates y cols., 1992).

Los compuestos de arsénico, según algunos autores, actúan más como cocarcinógeno y comutágeno (Dong y Luo, 1994).

7.3.2 HUMANOS

Se sabe, que el arsénico inorgánico produce cáncer de pulmón por vía inhalatoria y cáncer de piel por ingestión. Sin embargo cada día es mayor la evidencia epidemiológica de que el arsénico por ingestión puede causar también cáncer de pulmón, vejiga, riñón e hígado (Bates y cols., 1992; Chiouh y cols., 1995). Así, un estudio cohorte llevado a cabo para detectar efectos a largo plazo por As (1959-1992), sobre 454 residentes que estuvieron expuestos a As inorgánico a través del agua de bebida durante 5 años revela que desarrollaron cáncer de pulmón (15,69%), cáncer del tracto urinario (31,18%) (Tsuda y cols., 1995).

La exposición a arsénico inorgánico se ha asociado a diversas alteraciones neoplásicas de la **piel**, como son la enfermedad de Bowen y carcinomas basales y escamosos, siendo la vía de exposición más frecuente la oral, ya sea por consumo de agua contaminada o por medicación arsenical.

Existen numerosos estudios epidemiológicos realizados sobre poblaciones residentes en áreas donde el agua de bebida contenía altas concentraciones de arsénico (0,35-1,14 mg/L), que indican que en estas zonas existe un riesgo elevado de aparición de cáncer de piel, así como de otros órganos como son: vejiga, riñón, pulmón, hígado y colon, tanto en hombres como en mujeres (Engel y cols., 1994; Bates y cols., 1992; IARC, 1987). Así, Chen y cols. (1985, 1988) estudiaron la relación entre el consumo de aguas procedentes de pozos artesianos y la presencia de cáncer en el área de Taiwan endémica de la enfermedad de Blackfoot, encontrando una mayor mortalidad por cáncer, principalmente cáncer de piel

(carcinoma epidermoide y de células basales), así como de pulmón, hígado, vejiga y riñón, en las poblaciones en las que el consumo de estas aguas era mayor.

La prevalencia de cáncer de piel entre residentes de Taiwan con arsenicismo crónico es del 6,1%, según Hsueh y cols. (1995) existiendo un incremento con la edad, tanto en hombres como en mujeres. Otros factores de riesgo asociados fueron el estado nutricional (malnutrición) y las enfermedades hepáticas, pues pueden afectar al metabolismo de As inorgánico.

Igualmente se ha detectado gran número de casos de cáncer de piel en personas que habían sido tratadas con medicamentos que contenían arsénico inorgánico, principalmente trivalente. En algunos casos, el cáncer de piel se producía en combinación con otros tipos de cánceres, como angiosarcoma, cáncer intestinal, de la vejiga urinaria y meningioma (Bates y cols., 1992; U.S. Department of Health and Human Services, 1991; IARC, 1987). En contraste, no se ha encontrado relación entre el cáncer de próstata y el tratamiento con compuestos arsenicales en enfermos de próstata.

A diferencia de otros carcinógenos que también actúan sobre la piel, como son los rayos UV e hidrocarburos aromáticos, que producen efectos sólo en las áreas expuestas, el arsénico origina lesiones multifocales. Así, las lesiones psoriasiformes características de la **enfermedad de Bowen** aparecen distribuidas de forma fortuita, principalmente en el tronco. Se trata de placas eritromatosas, bien irregulares o de forma redondeada, cuyo tamaño oscila entre 1 mm y 10 cm. Histológicamente se observan células gigantes y multinucleadas, núcleos hipercromáticos, mitosis anormales, disqueratosis y vacuolización celular (Shannon y Strayer, 1989). A partir de estas lesiones, así como de las lesiones queratosas o de *novo*, pueden desarrollarse **carcinomas de células escamosas**. Estos son múltiples y aparecen frecuentemente en las extremidades, especialmente en palmas de las manos y plantas de los pies, caracterizándose por aparición de fisuras, úlcera y durezas (Ishinishi y cols., 1986). También se han encontrado **carcinomas de**

células basales de bajo grado de malignidad, que con frecuencia aparecen de *novo*. Se trata de lesiones superficiales, nodulares, dispersas, que con frecuencia son difíciles de distinguir de la enfermedad de Bowen. Los carcinomas de células escamosas inducidos por arsénico son más agresivos que los producidos por los rayos solares, siendo los casos de metástasis más comunes.

La GESAMP, Agrupación de Expertos en los Aspectos Científicos de la Contaminación Marina, considera que la exposición a lo largo de toda la vida, a altas concentraciones de arsénico (en forma de arsenobetaína, especie considerada poco tóxica), a través del consumo extremo de pescado, puede estar relacionado con un aumento significativo del riesgo de padecer cáncer de piel (Friberg, 1988).

La intoxicación crónica por As en trabajadores tras exposición continuada por vía inhalatoria ha mostrado una fuerte asociación con la aparición de **cáncer de pulmón**. Este incremento del riesgo de cáncer de pulmón se ha producido en trabajadores de fundiciones de cobre (expuestos a As en forma de trióxido de arsénico, principalmente), en la manufactura y aplicación de plaguicidas (compuestos de arsénico tri y pentavalente: arsenito sódico, arseniatos de plomo y calcio, etc.), y viticultores (Engel y cols., 1994; Jarüp y Pershagen, 1991; CEE, 1991; Ishinishi y cols., 1986). La incidencia de cáncer de pulmón entre estos trabajadores es diez veces mayor que en personas no expuestas, obteniéndose una clara relación dosis-respuesta.

El estudio realizado por Lühtrath (1983), sobre viticultores expuestos a arsénico debido al uso de insecticidas arsenicales y al consumo de una bebida conocida como *Haustrunk*, muestra cómo de 130 casos de carcinomas de órganos internos, el 66% eran de pulmón, y el resto del tracto respiratorio superior (faringe y laringe), tracto digestivo (amígdalas, esófago, estómago), conductos biliares, recto, tracto urogenital (ureter, próstata y vejiga) e hígado. El análisis histológico de los carcinomas pulmonares, reveló en un 56% de los casos, carcinomas no diferenciados, un 40% de carcinomas de células escamosas y un 3,5% de adenocarcinomas. Entre los trabajadores de fundiciones también parece aumentar

la incidencia de cáncer gastrointestinal, renal y hematolinfático.

La composición del medioambiente laboral es compleja. Así, en ciertas fundiciones no-ferrosas la exposición a arsénico ocurre en combinación con otros metales, óxido de azufre y carcinógenos orgánicos (benzopireno). En el caso de la interacción de arsénico y otros metales, con respecto a la producción de cáncer, no hay evidencias concluyentes, aunque se piensa que la exposición a antimonio pueda ser de importancia. Se han encontrado (Nodberg y Pershagen, 1984), elevados niveles de otros elementos (antimonio, plomo, lantano, selenio), además de arsénico, en los pulmones de trabajadores de fundiciones en comparación con los controles. Esta diferencia es considerablemente mayor para arsénico y antimonio, que además tienen una elevada vida media en los tejidos pulmonares de los afectados. El estudio de la composición del polvo ambiental tomado de puestos de trabajo de fundiciones, indicó que contenía un 20% de arsénico y un 2% de antimonio. Por tanto, los elevados niveles de antimonio en los pulmones a pesar de las bajas concentraciones existentes de éste en la atmósfera laboral suponen una alta retención de antimonio en los tejidos pulmonares, lo que hace especular sobre el papel del antimonio como un factor de riesgo adicional junto con As.

Por otro lado, la exposición a óxidos de azufre y benzopireno pueden jugar un papel importante en la incidencia de cáncer respiratorio observada en ciertos puestos de trabajo. En trabajadores expuestos a combinaciones de trióxido de arsénico y dióxido de azufre, parece ser que se incrementa el riesgo de cáncer de pulmón (IARC, 1987). En animales de experimentación, se observa un aumento de la frecuencia de tumores adenomatosos tras la exposición a benzo(a)pireno cuando se combina con arsénico por instilación intratraqueal (Nodberg y Pershagen, 1984).

En gran parte de los estudios sobre exposición ocupacional a arsénico y cáncer no se ha dispuesto de datos acerca del consumo de tabaco, factor que puede crear confusión. Existe evidencia epidemiológica de la existencia de interacción entre la exposición a arsénico y el consumo de tabaco en relación al cáncer de pulmón. Se ha observado sinergismo, siendo el efecto conjunto de ambas exposiciones

considerablemente mayor a la suma de los efectos por separado. Según Järup y Pershagen (1991), esta interacción es intermedia entre un modelo aditivo y multiplicativo, siendo menos pronunciada en el caso de grandes fumadores. Una explicación de esto podría ser que, en fumadores severos, se produjese un engrosamiento de la mucosa bronquial, que actuase como barrera protectora contra la influencia de los carcinógenos.

El mecanismo por el cual se produce este efecto no está claro. En el caso de trabajadores que fuman en el lugar de trabajo, el humo del cigarrillo puede actuar como un vector para las partículas que contienen arsénico. Por otro lado el tabaco impide el aclaramiento traqueobronquial, lo cual podría prolongar la exposición del epitelio bronquial a partículas que contienen arsénico. Además, el sinergismo podría explicarse por otros constituyentes habituales del tabaco, (arsénico es uno de ellos, encontrándose 6 microgramos por paquete), que puedan interferir en el metabolismo o eliminación del arsénico inorgánico, por ejemplo, inhibiendo la metilación. Alternativamente, el arsénico que se deposita en el pulmón puede intensificar la proliferación de células ya sometidas a la acción de otros constituyentes del tabaco (Hertz-Picciotto, 1992).

Experimentalmente, se ha observado que arsenito sódico induce lesiones preneoplásicas en epitelio de traquea humano fetal y epitelio de bronquiolos de pulmón humano fetal (Dong y cols., 1995), lo que soporta la conclusión de diferentes estudios epidemiológicos que consideran al As carcinógeno en pulmón humano.

En el caso de trabajadores de la industria del vidrio, se ha visto también que el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón y estómago es el doble en comparación con una población control, aunque se ha de tener en cuenta que éstos están expuestos a otros metales potencialmente carcinógenos y a asbestos. El **cáncer de estómago** es especialmente frecuente entre estos trabajadores, lo cual se podría deber a un contacto oral con pipas contaminadas (Wigren y Axelson, 1985).

De igual forma se han descrito casos de **Cáncer de hígado** combinados generalmente con cirrosis, con un tiempo de latencia de 20-25 años, entre trabajadores expuestos a insecticidas arsenicales, personas que ingerían altas concentraciones de arsénico a través del agua de bebida o vino contaminado y personas que ingirieron de forma prolongada la solución de Fowler (Lüchtrath, 1983; WHO, 1981). Se han registrado casos de angiosarcoma hepático relacionados con el tratamiento con sales de arsénico (Neosalvarsan, dioxidiaminoarsenobenzol) o por exposición ambiental al elemento (Salgado y cols., 1995).

Diversos estudios epidemiológicos señalan que la ingestión de As inorgánico a través del agua de bebida trae consigo un mayor riesgo de **cáncer de vejiga**, como se ha observado en Taiwan. Warner y cols. (1994) emplean como marcador biológico el ensayo de micronúcleos en células exfoliadas de vejiga de individuos expuestos crónicamente a altas concentraciones de As (1,3 mg/L) para evaluar los posibles efectos genotóxicos del As, evidenciando que, efectivamente, la ingestión crónica de As inorgánico está asociada a un aumento de la frecuencia de células de vejiga micronucleadas.

Smith y cols. (1993) encuentran una clara relación dosis-respuesta en la producción de cáncer de vejiga, al aumentar las concentraciones de arsénico. Otros estudios adicionales soportan la evidencia de asociación de ingestión de arsénico y cáncer de vejiga (Tsuda y cols., 1990; Cuzick y cols., 1992).

Para terminar, no se puede olvidar el **efecto carcinógeno sobre el sistema hematopoyético** en situaciones de exposición ocupacional a compuestos de arsénico inorgánico. Existen estudios en los que se ha observado un incremento de mortalidad debido a neoplasmas malignos de los sistemas linfáticos y hematopoyéticos en comparación con grupos controles no expuestos (Ott y cols., 1974; Axelson y cols., 1978).

Respecto a los compuestos orgánicos no hemos encontrado estudios epidemiológicos sobre sus posibles efectos carcinogénicos. Aunque según Yamamoto y cols. (1995) DMAA actúa como promotor de cáncer de vejiga urinaria, riñón,

hígado y glándula tiroides en ratas tratadas con carcinógenos conocidos (nitrosaminas).

7.4.- MUTAGENICIDAD

Los mecanismos por los que el arsénico ejerce su efecto carcinogénico no se conocen, por lo que se han propuesto diversas teorías. Parece claro que, el arsénico es un potente clastógeno (agente que causa ruptura de los cromosomas), pero un débil agente mutágeno. Así, arsénico induce aberraciones cromosómicas, intercambios de cromátidas hermanas, uniones cruzadas ADN-proteínas, y rupturas de cadenas de ADN asociado a proteínas en células de mamíferos. Sin embargo, no induce mutación génica en un lugar genético específico en bacterias o en células de mamíferos; por tanto, el daño directo al ADN y subsecuente mutación génica no parece ser el principal mecanismo por el cual arsénico ejerce su acción carcinógena (Dong y Luo, 1994).

Existen varios estudios, *in vivo* e *in vitro*, sobre células humanas, que indican que el arsénico inorgánico produce un incremento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas e intercambios de cromátidas hermanas (SCE) (Tabla 14)

Se ha observado que el arsénico induce aberraciones cromosómicas en humanos *in vivo*. Existe una marcada incidencia de este tipo de alteraciones, principalmente intercambio de cromátidas hermanas, en linfocitos de trabajadores de fundiciones expuestos a arsénico, así como en pacientes psoriáticos tratados con la solución de Fowler (WHO, 1981; Ishinishi, 1986).

Nilsson y cols. (1993) estudiaron la existencia de anormalidades en linfocitos de mujeres expuestas a altas concentraciones de arsénico inorgánico, vía inhalatoria además de a través de agua y alimentos, debido a la existencia de una fundición de

cobre en las cercanías de su lugar de residencia. Encontraron un incremento significativo de micronúcleos (fragmentos de ADN, que debido a la exposición a algún agente ambiental, no se incorporan a la célula hija durante la división celular, formando un segundo núcleo de pequeño tamaño) en los linfocitos expuestos en comparación con los controles, lo cual sostiene la hipótesis de que el arsénico inorgánico tiene un efecto clastogénico en humanos, posiblemente inhibiendo la reparación del ADN.

Lerda (1994) observó una alta incidencia de alteraciones genéticas, en forma de intercambio de cromátidas hermanas, en individuos de Córdoba (Argentina), expuestos de forma crónica (durante más de 20 años) a niveles de 0,13 mg/L de arsénico a través del agua de bebida. Igualmente, Paldy y cols. (1991) encuentran gran incidencia de células aberrantes en niños expuestos a aguas de pozos artesianos, contaminadas con arsénico, en el sureste de Hungría. Las alteraciones más frecuentes fueron, deleciones de cromátidas, fragmentos acéntricos, dicéntricos y anillos, efectos que se esperan de la inhibición de las ADN ligasas.

En contraste con estos trabajos, Vig y cols. (1984), no encuentran un aumento de la incidencia de daño genético, medido como alteraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas, en linfocitos cultivados de sujetos expuestos a niveles de arsénico de 0,10 mg/L o más a través del agua de consumo. Tampoco Wen y cols. (1981) encuentran un incremento significativo en la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas en linfocitos de 13 pacientes que sufrían la enfermedad de Blackfoot. Estos resultados parecen indicar que, a niveles bajos de exposición los linfocitos no se ven afectados de forma significativa, lo cual explicaría la falta de pruebas del incremento de cáncer hematopoyético en poblaciones expuestas a arsénico.

Por ello Smith y cols. (1993) creen que el ensayo de micronúcleos, formados como resultado de la actividad clastogénica puede medir el efecto del arsénico directamente en el órgano diana de interés. Concretamente, proponen el ensayo de micronúcleos en células de vejiga como marcador biológico apropiado

de los efectos genotóxicos del arsénico.

Son varios los estudios que han mostrado que el arsénico inorgánico produce un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas e intercambios de cromátidas hermanas en células humanas *in vitro*. En cuanto a las posibles diferencias entre As(III) y As(V), Nakamuro y Sayoto (1981) encuentran mayor incidencia de alteraciones cromosómicas en cultivos de fibroblastos y leucocitos humanos, expuestos a compuestos de arsénico trivalente, que en aquellos expuestos a especies pentavalentes. De igual forma, Nordeson y cols. (1981) observaron que cuando cultivos de linfocitos humanos se exponen a NaAsO_2 (As trivalente), aumenta significativamente la frecuencia de aberraciones cromosómicas, lo cual no ocurría con Na_2HAsO_4 (As pentavalente). Ambas especies producen *in vitro* alteraciones genéticas en levaduras, aunque no causan mutación en bacterias (IARC, 1987).

Goldstein y Babich (1989) estudian los efectos de arseniato y arsenito sobre *Drosophila melanogaster*, encontrando que el último es más tóxico, afectando en mayor medida a las moscas adultas, y alterando el desarrollo a partir de los huevos. La genotoxicidad de NaAsO_2 y Na_2HAsO_4 sobre células somáticas y germinales de *Drosophila melanogaster*, se localiza principalmente en las células somáticas, de acuerdo con el potencial carcinógeno de ambos compuestos, siendo arsenito sódico más tóxico y mutágeno que arseniato sódico (Ramos-Morales y Rodríguez-Arnaiz, 1995).

El arsénico actúa más como comutágeno y cocarcinógeno, ya que se ha observado la co-mutagenicidad de los arsenicales inorgánicos con radiaciones UV, rayos X y agentes alquilantes como N-metil-N-nitrosourea y diepoxibutano (Okui y Fujiwara, 1986; Wiencke y Yager, 1992). Li y Rossman 1991, sugieren que el aumento de mutagenicidad de las radiaciones UVB y UVA, producido por arsenito, juega un papel importante en la producción de los cánceres de piel relacionados con la exposición a arsenito.

Jha y cols. (1992) estudiaron los efectos de arsenito sódico sólo y en combinación con rayos-X en linfocitos de sangre periférica, y con radiación UV de onda corta en cultivos de fibroblastos humanos. Encontraron que el arsenito sódico inhibió la progresión del ciclo de linfocitos activado por fitohemaglutinina, indujo aberraciones cromosómicas e intercambios de cromátidas hermanas en función de la concentración y potenció el daño cromosómico inducido por rayos-X y UV. Es probable que este compuesto interfiera con el proceso de reparación de ADN, presumiblemente por inhibición de la actividad de las ligasas.

El mecanismo por el cual los compuestos de arsénico producen efectos comutagénicos no está muy claro. Varios estudios muestran que arsénico inorgánico trivalente afecta los mecanismos de reparación del DNA, probablemente actuando sobre las ADN ligasas, las cuales contienen grupos sulfhidrilo (Jha y cols., 1992; Li y Rossman, 1989b). Es de interés el hecho de que se hayan encontrado defectos en la ADN ligasa de células de pacientes afectados por la enfermedad de Bloom, enfermedad hereditaria que se caracteriza por una gran incidencia de aparición espontánea de cáncer.

Dong y Luo (1994) estudian los efectos genotóxicos de arsenito sódico sobre fibroblastos pulmonares de fetos humanos y su comutagenicidad con N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG). Para ello examinan la síntesis descontrolada de ADN, que es un indicador de la polimerización en el mecanismo de reparación por escisión del ADN; ésto proporciona información acerca del daño causado en el ADN y si se lleva a cabo reparación de éste. Los resultados obtenidos fueron: 1) el tratamiento con arsénico produjo daño sobre el ADN; 2) los daños fueron escindidos por la endonucleasa; 3) se llevó a cabo la polimerización de los fragmentos libres. Por tanto, se indica la posibilidad de que el arsénico dañe directamente al ADN, lo cual contrasta con los estudios anteriores. Según los autores, puede ser que los daños originados por arsénico en el ADN no generen alteraciones en las bases de éste, o que el efecto del arsénico en la mutación génica sea tan débil que no se detecte. A las concentraciones usadas en este estudio, el arsénico no inhibió las enzimas endonucleasa y polimerasa encargadas de la

reparación del ADN, por tanto, el arsénico probablemente no inhibe el mecanismo de escisión y reparación del ADN. Estos autores proponen que la producción de uniones cruzadas ADN-proteínas por arsénico, puede hacer al ADN más sensible al daño causado por MNNG, aunque el mecanismo de reparación no se ve influenciado, explicando así la comutagenicidad de este con otros agentes mutágenos.

Arsenito aumenta la citotoxicidad, mutagenicidad y clastogenicidad de la luz UV en células de mamíferos y puede ejercer sus efectos co-genotóxicos por inhibición de la reparación del ADN. Lee-chen y cols. (1992) estudian el efecto de arsenito sobre la reparación del ADN en células de ovario de hamster irradiado con UV, concluyendo que arsenito inhibe la unión de las cadenas de ADN, bloqueando los procesos de reparación post-replicación, mientras que el mecanismo en fibroblastos humanos es diferente, por inhibición de la escisión de dímeros de piridina (órgano diana).

En sistemas bacterianos y cultivos celulares in vitro el As inorgánico potencia la acción mutagénica de otros agentes (radiaciones UV), probablemente por interferir en las últimas etapas de la reparación del ADN. Pero existen discrepancias con los resultados obtenidos en ensayos con *Drosophila melanogaster*, ya que se observa un efecto inhibitorio del As sobre la recombinación mitótica inducida por los agentes alquilantes y radiaciones gamma (de la Rosa y cols., 1994).

El arsenito sódico aumenta de forma sinérgica la citotoxicidad de la radiación ultravioleta, y esta citotoxicidad se puede suprimir con cicloheximida, un inhibidor de la síntesis proteica, según Lee y cols. (1991). Esto parece que se debe a que la citotoxicidad del As está mediada por las llamadas proteínas del stress, y la cicloheximida tiene la capacidad de inhibir la síntesis de estas proteínas, particularmente la síntesis de un polipéptido pequeño denominado ubiquitina.

Aunque la mayor parte de los animales mamíferos y el hombre, pueden llevar a cabo metilación de compuestos inorgánicos de arsénico para dar MMAA y DMAA, existen pocos estudios de la genotoxicidad de estos compuestos.

Endo y cols. (1992) estudiaron la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas inducida por varios compuestos orgánicos de arsénico, encontrando que ninguno de los nueve compuestos estudiados indujo mutación génica, graves daños sobre el ADN o una gran frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas. Sin embargo, observaron inhibición de la mitogénesis de linfocitos humanos estimulada por fitohemaglutinina M, de forma similar a lo observado para arsenito y arseniato sódico (Jha y cols., 1992; McCabey cols., 1983), llegando a la conclusión de que DMAA inhibe directamente la división celular de linfocitos.

Se ha estudiado el efecto de arsenito sódico sobre la separación de cromátidas en fibroblastos de piel humanos, sugiriéndose que ejerce un papel similar al ácido okadaiko, induciendo la endoreduplicación de cromosomas por su acción inhibitoria sobre la actividad proteínfosfatasas, concretamente la actividad de serina/treonina proteínfosfatasas (Huang y cols., 1995).

7.5.- TERATOGENICIDAD

Se han observado efectos teratogénicos tras la administración única intravenosa de altas dosis (6-10 mg/Kg peso) de arseniato sódico a roedores en estado de gestación, viéndose incrementada la tasa de reabsorción y malformaciones fetales del tipo de anencefalías, agénesis renal y malformaciones genitourinarias (Ishinishi y cols., 1986; WHO, 1981). La vía de administración parece tener cierta influencia en la acción teratogénica; así, para producir los mismos efectos que los encontrados tras administración intraperitoneal de una solución acuosa de arseniato, Thacker y cols. (1977) hubieron de administrar una dosis oral tres veces mayor.

La administración repetida durante tres generaciones de bajas dosis de arsenito a ratones, no produjo anomalías, tan sólo una disminución en el tamaño (WHO, 1981). En ratonas preñadas, se ha comprobado que el As puede afectar al desarrollo de los embriones y de la descendencia, observándose

alteraciones estructurales de neuronas en cortex cerebral, y menor ganancia de peso.

No se observa un aumento de la incidencia de muertes de fetos en la descendencia de ratones machos a los que se administra intraperitonealmente ácido arsenodiacético (50 mg/Kg peso corporal) y ácido metanoarsónico (250 mg/Kg peso corporal) (WHO, 1981).

Concentraciones atmosféricas de 2,5 mg/L de arsina no producen efectos teratogénicos en ratas y ratones (Morrissey y cols., 1990).

Existen pocos estudios de efectos teratogénicos en humanos. Nordoström y cols. (1979) encontraron una mayor incidencia de malformaciones congénitas en niños cuyas madres trabajaron durante el embarazo en una fundición de cobre sueca. El hecho de la existencia de otros metales y dióxido de azufre, además de arsénico, en el ambiente laboral, hace que no se puedan sacar conclusiones de la responsabilidad del As sobre esas malformaciones.

Estos mismos autores estudiaron la frecuencia de abortos espontáneos entre 4427 mujeres embarazadas que vivían en las proximidades de esta fundición, encontrando que era significativamente mayor que la existente en una población control residente a más de 50 Km de la fundición.

INTERACCIONES

Los efectos tóxicos de los xenobióticos en general pueden modificarse por diferentes factores como son: factores que dependen del medioambiente, factores propios del individuo y factores derivados de las condiciones de administración o absorción del mismo.

Entre estos últimos se encuentra la coincidencia con otros xenobióticos, que puede conducir a modificaciones toxicocinéticas o a fenómenos de sinergia (aditiva o potenciación) o antagonismo (Repetto, 1988).

En las interacciones As-metal, se ha prestado especial atención a la interacción arsénico-selenio.

Arsénico-selenio

Se ha demostrado que el arsénico tiene un efecto protector, para diferentes especies animales (ratas, perros, cerdos, aves), frente la toxicidad de varias formas de selenio (WHO, 1981), encontrándose que el arsénico trivalente es más potente que el arsénico pentavalente. Una posible explicación de este efecto es el incremento de la excreción biliar de Se inducida por As (Nordberg y cols., 1986).

También se ha observado el efecto recíproco: selenito puede estimular la excreción biliar de arsenito en ratas y a altas dosis del mismo administradas en la dieta se observa una disminución de la concentración de As en diferentes órganos, lo cual hace pensar en un efecto protector del selenio. Holmberg y Ferm (1969), encuentran que selenito disminuye los efectos teratogénicos de arseniato en hamsters cuando ambos compuestos se administran simultáneamente por vía intravenosa.

Fisher y cols. (1986) encuentran que el selenio antagoniza ligeramente los efectos tóxicos del arsénico en cultivos de macrófagos pulmonares. Sin embargo, no existen aún datos concluyentes que soporten esta interacción As-Se en humanos.

Se ha estudiado el mecanismo de interacción As-Se en células renales de rata, a nivel subcelular: ambos elementos se concentran, y precipitan en los lisosomas en forma de seleniuro insoluble (As_2Se); a largo plazo, los precipitados se eliminan por orina (Berry y Galle, 1994).

Diversos estudios indican que el selenio posee cierta actividad anticarcinogénica. En trabajadores de fundiciones expuestos a arsénico y otros metales, las concentraciones de selenio en los tejidos fueron menores en individuos que murieron por cáncer. De igual forma, ciertos estudios *in vitro* describen los efectos antimutagénicos de compuestos de selenio: el daño cromosómico inducido *in vitro* por arsenito se contrarresta por exposición simultánea a selenito (Nordberg y Pershagen, 1984; Nordberg y cols., 1986).

Arsénico-otros metales

La exposición a cadmio, plomo y arsénico es relativamente común en determinados ambientes industriales. Por ello, Mahaffey y Fowler (1977) estudiaron los efectos de Cd (50 mg/Kg dieta) y Pb (200 mg/kg dieta) en la toxicidad del arsénico administrado como arseniato sódico o ácido arsanílico en ratas (50 mg/Kg dieta). Estos autores observaron que la combinación de As y Cd causó una disminución de los niveles séricos de la alcalinofosfatasa, mayor que la producida por cada elemento por separado. Por otro lado, se detecta que el plomo incrementa de forma aditiva la excreción de coproporfirina en animales tratados con arsénico.

De igual forma, la administración combinada de los tres elementos produjo un incremento de la excreción de uroporfirina en ratas, en comparación con los niveles excretados tras la exposición única a arsénico (Fowler y Mahaffey, 1978).

Schrmolke y cols. (1993) estudiaron en riñón de rata las interacciones entre arsénico y otros metales, Cd, Ni, Pb y Cu, encontrando que las concentraciones de Cu acumuladas en la corteza renal dependen de la concentración de As administrado con la dieta.

Según Yañez y cols. (1991) los efectos tóxicos de la mezcla As y Cd (10 mg As/Kg, 2,6 mg/Kg peso corporal) no se pueden predecir por los mecanismos de toxicidad de cada componente por separado. Estos autores, basándose en las DL-50, observan que la mezcla es más tóxica que cada componente por separado. Los resultados indican que la mezcla afecta el tejido cardíaco, al igual que cada componente por separado, produciendo una inducción de la peroxidación lipídica y glutatión (efecto debido al As) y de metalotioneína (debido al cadmio).

El mecanismo de tolerancia al As no se conoce. Recientemente, se ha demostrado que el As induce la metalotioneína, proteína rica en grupos sulfidrilo, que disminuye la toxicidad de diversos metales (Zn, Cd, etc). Kreppel y cols. (1994) observan que en ratones pretratados con Zn, e inyectados posteriormente con arsenito marcado, los contenidos de As en sangre, corazón, pulmón, riñón, médula, músculo, y piel fueron más bajos que en los controles, indicando que se aumenta la eliminación del elemento por el tratamiento con Zn, pero el mecanismo de tolerancia no parece ser por inducción de metalotioneína, ya que la cantidad de As unido a metalotioneína del citosol fue muy baja.

Parece posible la existencia de acciones sinérgicas entre As-Zn en cuanto a los efectos tóxicos vasculares derivados de la exposición crónica al As. El Zn, su aporte através de la dieta, jugaría un papel protector en los fenómenos aterogénicos y trombóticos del As. Existen diversos mecanismos para explicar esta interacción como son: desproporción (inbalance) entre el daño (As) y la reparación (Zn importante para la integridad de la membrana en general y en el endotelio vascular en particular); disminución de los niveles de glutatión reducido y de la actividad glutatión S-transferasa y superóxido dismutasa; competencia As-Zn por proteínas con grupos ditioles; disminución de la biodisponibilidad intracelular de Zn por

metalotioneína inducida por arsénico (Engel y cols., 1994).

Como ya hemos comentado en otro apartado (7.3.2), ciertos estudios apuntan a la posible interacción positiva arsénico-otros metales (principalmente antimonio) así como arsénico-dióxido de azufre, con respecto a la producción de cáncer de pulmón (Nordberg y Pershagen, 1984). Otras interacciones del mismo tipo son las referentes a arsénico-benzopireno y arsénico-consumo de tabaco (Hertz-Picciotto y cols., 1992; Järup y cols., 1991) .

Interacciones con microorganismos

Entre las interacciones de diversos compuestos con microorganismos no podemos olvidar que diversos hongos y bacterias desarrollan tolerancia al As. Los hongos marinos (*D. Salina*) parecen ser más tolerantes que los no marinos (género *Botrycsporium*).

La resistencia a arsenito y/o arseniato de bacterias aisladas de ambientes hospitalarios se debe a que poseen determinantes genéticos. La resistencia a arsenito determinada cromosómicamente resulta en una menor acumulación del mismo (Cullen y Reimer, 1989). La resistencia mediada por plásmidos a arseniato se debe a la síntesis de una bomba altamente selectiva que permiten extraer el As a partir del citoplasma celular. Otras bacterias ofrecen resistencia a arsenito, por un determinante que oxida al compuesto a arseniato, menos tóxico (Cervantes, 1994).

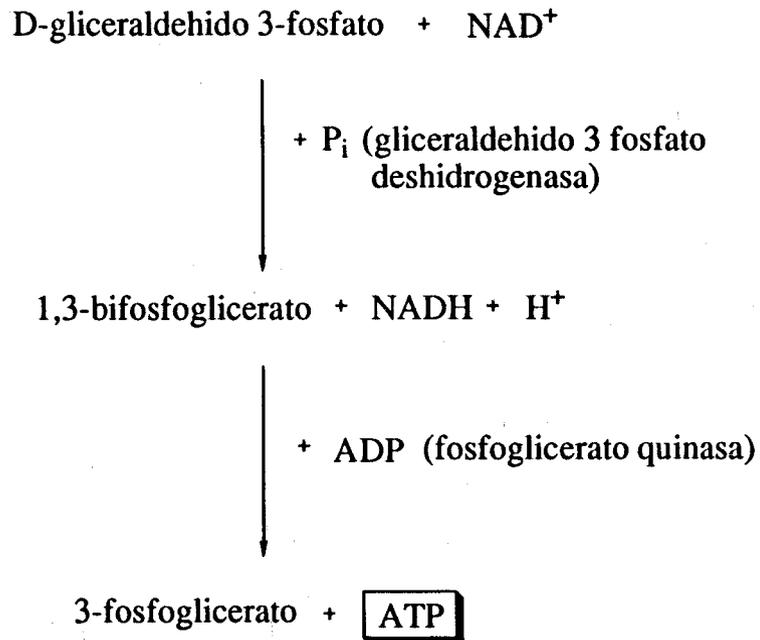
MECANISMOS DE TOXICIDAD

Los compuestos arsenicales no constituyen un grupo homogéneo en cuanto a efectos sobre los sistemas biológicos, dependiendo éstos, de la forma química y estado de oxidación del átomo de arsénico. De forma general se considera un tóxico protoplásmico.

El arsénico inorgánico, tanto As(III) como As(V), produce alteraciones en la respiración celular de tejidos *in vivo*, por desacoplar la fosforilación oxidativa. Para ello debe atravesar la membrana mitocondrial, de hecho, estudios *in vitro* muestran como las mitocondrias de hígado de ratas pueden acumular arsenito y arseniato gracias a un proceso dependiente de energía, apareciendo con aspecto hinchado (Manzo, 1985; WHO, 1981). Sin embargo, el mecanismo por el cual As (III) y (V) ejercen sus efectos es diferente.

El **ión arseniato** (AsO_4^{-3}), tiene un efecto biológico específico asociado fuertemente con su relación con el fósforo en la tabla periódica; es parecido al anión fosfato tanto en su tamaño como geometría, y por tanto puede competir con él como sustrato de reacciones enzimáticas. Así, el ión arseniato, interfiere en una fase de la glicolisis de gran importancia: la reacción catalizada por la enzima gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa, reemplazando al fosfato en la conversión de D-gliceraldehido 3-fosfato (G3P) a 1,3-bifosfo-D-glicerato (1,3BPG). Como consecuencia, se forma un acilarseniato lábil, 1-arseno 3-fosfo-D-glicerato, fácilmente hidrolizable a 3-fosfo-D-glicerato (3PG), no llevándose a cabo el paso en el cual ADP es fosforilado por el 1,3BPG para dar ATP (Figura 5). La célula al no poder sintetizar ATP, finalmente muere, conociéndose este proceso como arsenolisis.

RUTA HABITUAL



EN PRESENCIA DE ARSENIATO

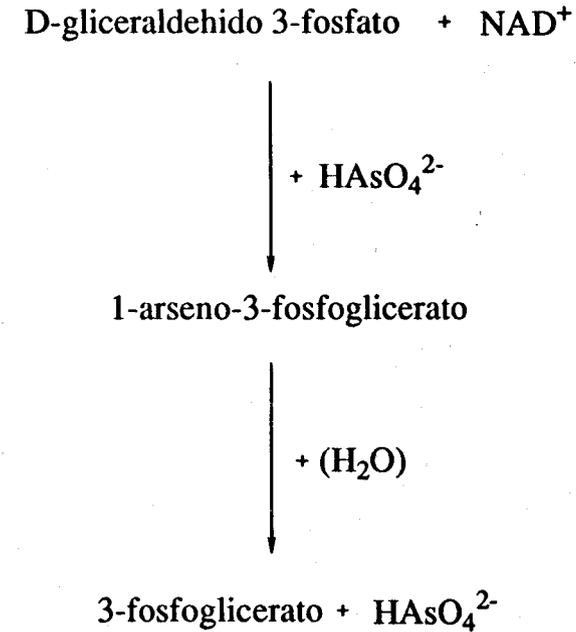


Figura 5.- Unión de As a la enzima gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (Tomado de Gossel y Bricker 1994)

Además, el arseniato, por sustitución de fosfato, desacopla la fosforilación oxidativa y estimula la respiración mitocondrial, viéndose incrementada la razón NAD/NADH. Estos efectos inhiben seriamente la biosíntesis y otros procesos celulares que requieren energía en forma de ATP y NADH (Abernathy y Ohanian, 1992; CEE, 1990; Rawn 1989). Arseniato podría también reemplazar a fosfato en la formación de monosacáridos sustituidos como es la glucosa-6-fosfato, dando glucosa-6-arseniato.

Por otro lado, la capacidad del arseniato de interferir en reacciones de fosforilación, puede explicar la acumulación del elemento en el esqueleto.

Generalmente, la toxicidad de los compuestos de **As trivalente** se atribuye a su reactividad con componentes celulares que contienen grupos -SH, de forma que una extraordinaria variedad de enzimas pueden inhibirse. Puede acilar los grupos cisteínicos de las proteínas, aunque no reacciona electrofílicamente con los ácidos nucleicos (Stöhrer, 1991). Esta reactividad del As(III) explica su afinidad por tejidos ricos en queratina y por tanto su acumulación en pelo, uñas y piel.

El estudio de Chen y cols. (1986), en hígado demuestra que el arsenito disminuye también los niveles intracelulares de ATP. Ello se debe a que As(III) inhibe la respiración mitocondrial, por tener gran afinidad por el coenzima ácido lipóico (ácido 6,8-dimercapto-octánico), formando un ciclo estable de 6 miembros (Figura 6), y por tanto bloquea las enzimas oxidativas que requieren este ácido como cofactor: piruvato deshidrogenasa (PDH) y α -cetoglutarato deshidrogenasa. Como consecuencia de esta unión, se producen graves alteraciones del metabolismo de carbohidratos, con incremento de las concentraciones intracelulares y sanguíneas de piruvato y α -cetoglutarato (Abernathy y Ohanian, 1992; Klaassen, 1991; CEE, 1990). Además disminuyen los niveles intracelulares de NADH, desacoplando la cadena respiratoria y por consiguiente inhibiendo la síntesis de ATP. Para revertir esta inhibición se necesita un sustrato con mayor afinidad, como es el antídoto British Anti-Lewisite (BAL).

As(III), origina asimismo, una disminución del contenido mitocondrial de acetil CoA, la cual regula la actividad de la piruvato carboxilasa, enzima limitante en la gluconeogénesis, produciéndose una disminución de la actividad de esta enzima. La disponibilidad de acetil CoA es importante para la generación de equivalentes reductores en el ciclo del ácido cítrico y en la disponibilidad de fosfatos de alta energía (ATP).

Como consecuencia de la inhibición de la piruvato carboxilasa, en ratones expuestos a dosis letales de arsenito sódico se produce una depleción pronunciada de carbohidratos totales, proponiéndose una disminución de la síntesis de los mismos. Szinicz y Forth (1988) estudian el efecto de As_2O_3 y As_2O_5 sobre la gluconeogénesis en hígado y riñón de ratas, encontrando una alta sensibilidad hacia los compuestos trivalentes. La inhibición por As(III) fue dosis-dependiente, y el efecto fue similar en túbulos renales y hepatocitos, indicando un mecanismo similar en ambos tejidos. La inhibición de la formación de glucosa se acompaña, en menor grado, con una disminución del consumo de oxígeno y contenido de ATP. Para conseguir estos mismos efectos se necesita una concentración diez veces superior de As_2O_5 , proponiendo que los efectos de As(V) se deben a su reducción a arsenito. Un resumen de las alteraciones bioquímicas producidas por los compuestos arsenicales trivalentes se expone en la figura 7.

En la intoxicación aguda por compuestos de As(III) trivalentes, la inhibición de la gluconeogénesis y consecuente depleción de glucógeno y glucosa es un problema fundamental sobre todo para órganos altamente dependientes de los carbohidratos, como es el sistema nervioso, afectando principalmente el funcionamiento neuronal periférico (Manzo y cols., 1985). Por ello, desde el punto de vista terapéutico se recomienda en el tratamiento de la intoxicación suplementar con glucosa y posiblemente con ácidos grasos (Szinicz y Forth, 1988). Se ha estudiado el efecto de la administración de glucosa e insulina en ratones tras intoxicación aguda con As_2O_3 , encontrándose una mayor supervivencia de los animales, lo cual soporta la hipótesis anteriormente mencionada. El tratamiento con solución salina a los animales incrementa el tiempo de supervivencia en comparación con los

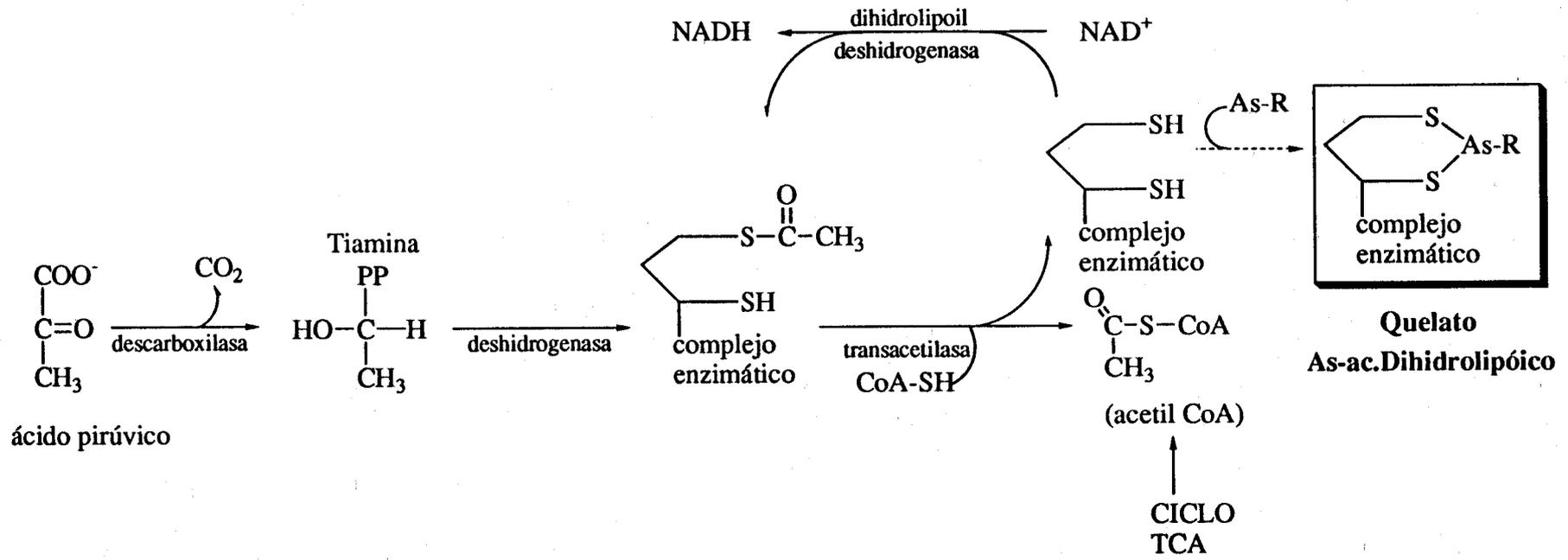


Figura 6.- Unión de arsenito a los grupos -SH de las enzimas.

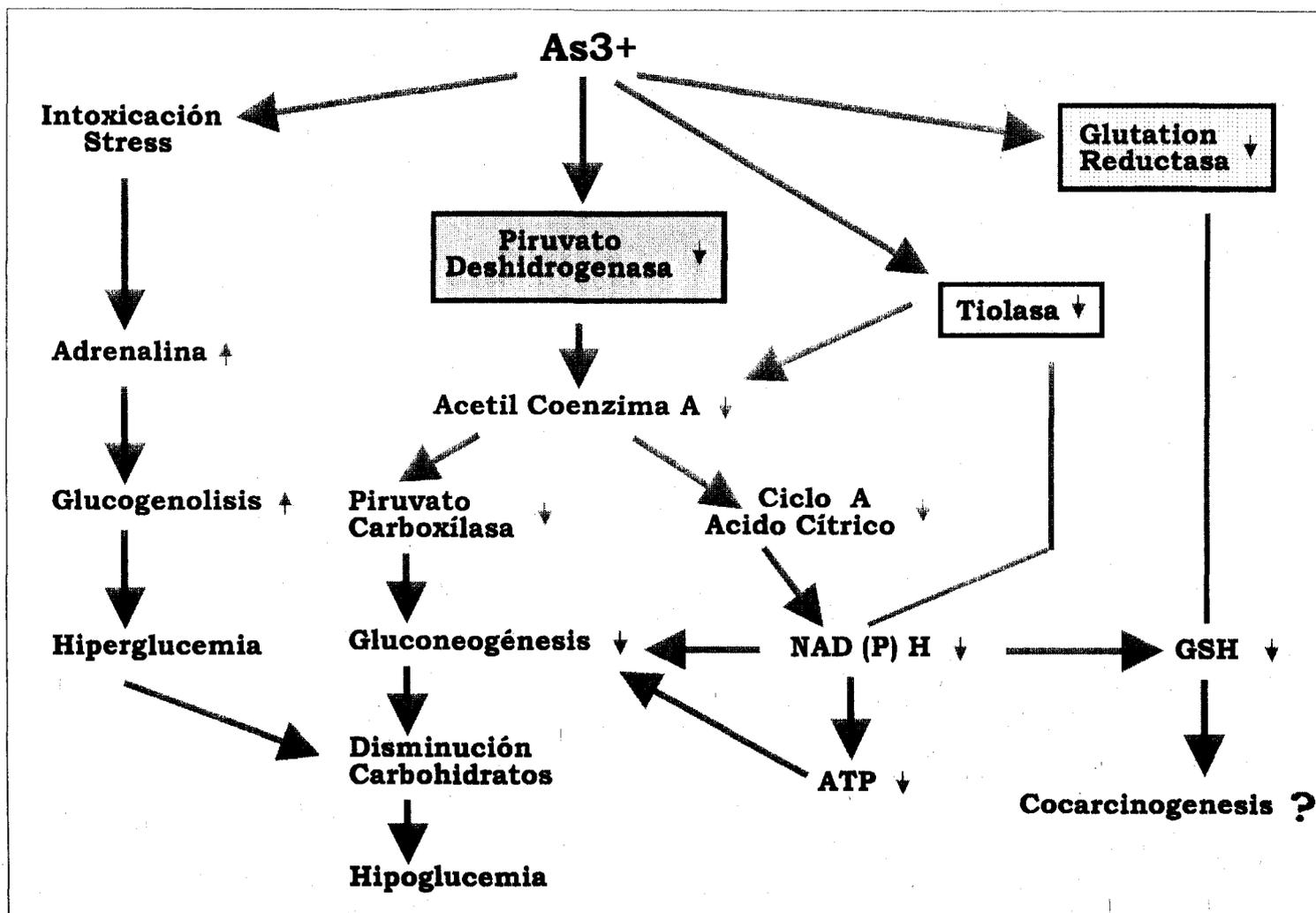


FIGURA 7.- ALTERACIONES BIOQUÍMICAS PRODUCIDAS POR As (III)

animales que recibieron sólo As(III). Con respecto a las diarreas observadas en los animales intoxicados, se sugiere que las pérdidas de electrolitos contribuyen a la toxicidad de estos compuestos (Reichl y cols., 1990).

Abernathy y Ohanian (1992) indican algunos hechos que evidencian la importancia de los grupos sulfhidrilos en la toxicidad del As(III):

- El tioglicolato sódico retrasa los efectos letales en rata de arsenóxido.
- Igualmente, el glutatión reducido protegió a los animales de los efectos tóxicos de éste.
- La administración de grandes cantidades de ácido glutámico, protegió parcialmente contra la toxicidad del arsenóxido, administrado 3 ó 4 horas más tarde.

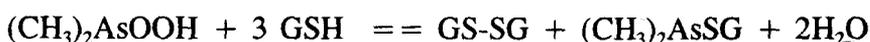
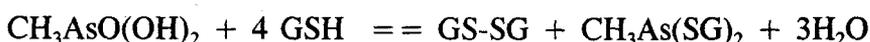
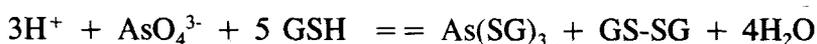
En cultivos celulares BALB/c 3T3, el orden de citotoxicidad de los diferentes compuestos de arsénico es el siguiente: $\text{As(III)}_{\text{Arsenito}} > \text{As(V)}_{\text{Arseniato}} > \text{DMAA} > \text{MAAA} > \text{Trimetilarsina óxido}$. Arsenobetaína, arsenocolina e ión tetrametilarsonium son aún menos tóxicos. La depleción de GSH aumenta los efectos citotóxicos de casi todos los compuestos arsenicales (papel protector del GSH en estas células), exceptuando DMAA (papel inductor efectos citotóxicos del GSH) (Ochi y cols., 1994).

Hirata y cols (1990) demuestran que la depleción de GSH desencadena las manifestaciones nefrotóxicas del arsénico, concretamente de arsenito sódico. Para ello estudian los efectos de arsenito sódico (5mg/Kg As) en riñón de hamster, con y sin tratamiento con butionina sulfoximina (BSO), que inhibe la síntesis de GSH; el tratamiento conjunto trae consigo necrosis tubular renal, que fué superior a la hora de la administración de arsenito; BSO no sólo alteró la excreción de As inorgánico, prolongándola, si no que también alteró su metilación.

La disminución del contenido de glutatión reducido (GSH) en suspensiones de túbulos renales de rata, sin incremento del contenido de glutatión oxidado (GSSG) no correlacionada con incrementos de la concentración del tóxico, según

algunos autores no está causada por reacción de As (III) con GSH, sino por la inhibición del ciclo del ácido cítrico y consecuente menor biodisponibilidad de nucleótidos de piridina reducidos. Esta hipótesis se soporta por el hecho de que se obtienen los mismos resultados con fluoracetato, un inhibidor del ciclo de ácido cítrico (aconitasa). También, la disminución del contenido de GSH se explica por la inhibición de la enzima glutatión reductasa.

Otros autores, Scott y cols. (1993), han estudiado las reacciones de las diferentes especies de As con el glutatión (GSH), puesto que los mecanismos de reacciones redox del As in vivo no se han caracterizado totalmente y las especies involucradas en el transporte celular tampoco se conocen. Así, han estudiado y caracterizado las reacciones en solución del As con GSH por Resonancia Magnética Nuclear, postulando los diferentes complejos:



El significado de los diferentes complejos de As-GSH en el transporte, y metabolismo del elemento, y si dichos complejos existen in vivo, aún no se conoce y requiere posteriores estudios. No está claro cómo las especies reducidas se oxidan antes de su aparición en orina como MMAA y DMAA o cómo las reacciones redox del elemento pueden ser importantes para comprender los mecanismos tóxicos.

Existen diferencias en los efectos citotóxicos producidos por arsenito sódico entre células humanas y animales. Así, los fibroblastos humanos fueron 10 veces más susceptibles a los efectos del arsenito sódico que las células de ovario de hámster (CHO-K1). Se sospecha que esta diferencia de toxicidad pueda deberse a que el arsenito sea un inductor más eficiente del daño oxidativo en células humanas. Ello se basa en que las células CHO-K1 tienen el triple de actividad de glutatión peroxidasa y la actividad catalasa es 8 veces más potente que en fibroblastos

humanos. Además, la resistencia al As de células de ovario de hámster se atribuye a la gran elevación de glutatión-S-transferasa, y la resistencia de células de adenocarcinoma humano se atribuye a un aumento de la actividad de hemooxigenasa, respuesta general al estrés oxidativo (Lee y Ho, 1994).

La arsina produce hemólisis fulminante de eritrocitos en humanos y animales. Estudios de toxicidad subcrónica en ratones expuestos a gas arsina, revelan que el mecanismo de la hemólisis incluye la depleción de GSH reducido celular, dando lugar a una oxidación de los grupos sulfhidrilos de la hemoglobina y posiblemente, de las membranas de los hematíes (Blair y cols., 1990a). Estos mismos autores, para ver las posibles diferencias interespecies, en la respuesta a la exposición a arsina, han realizado estudios de exposición aguda y subcrónica por vía inhalatoria en tres especies animales: ratón, rata y hamster. En todas las especies, el sistema hematopoyético fué el órgano diana y los efectos fueron similares (Blair y cols., 1990b).

En cuanto a los compuestos orgánicos de arsénico se debe hacer una distinción entre los compuestos orgánicos de As(III) y los de As(V). Los compuestos orgánicos de As(V) ($R-AsO_3H_2$), tienen poco efecto sobre la actividad enzimática pero pueden ser reducidos *in vivo* para dar compuestos trivalentes más tóxicos. Los compuestos de As(III) a su vez se pueden clasificar en compuestos *arseno* ($R-As=As-R$) y *arsenoso* ($-As=O$). Los compuestos *arseno* son rápidamente oxidables, incluso cuando las concentraciones de oxígeno son del orden de trazas, y su acción se ha sugerido que se debe a su conversión a los derivados arsenosos correspondientes. Los derivados arsenosos pueden ser mono- o disustituídos, según la forma en que reaccionen con grupos sulfhidrilos.

Los derivados arsenosos monosustituídos ($R-As=O$) reaccionan con enzimas que contienen grupos sulfhidrilos, luego pueden inhibirlas. Esta inhibición es reversible al añadir un exceso de un monotiol, por ej: glutatión. Estos compuestos pueden reaccionar también con enzimas que contienen dos grupos tioles, dando

lugar a la formación de un anillo de cinco miembros, el cual se revierte con BAL aunque no con monotioles.

Los derivados arsenosos disustituídos ($(R)_2\text{-As-OH}$) ejercen su acción por reacción con enzimas que contienen grupos monotioles, lo cual puede ser probablemente revertido por los mecanismos de defensa de monotioles del organismo. Sin embargo, pueden darse complicaciones por la transformación de estos a derivados monosustituídos.

En células de pulmón de ratón, tras administración oral de una única dosis de DMAA, compuesto orgánico de As(V) de tipo arsenoso, Yamanaka y cols. (1991), encuentran que la actividad de ciertas enzimas aumenta, como superóxido dismutasa mitocondrial, glutatión peroxidasa y glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa; mientras que las actividades de superóxido dismutasa citosólica y catalasa disminuyen. Además los niveles de GSH reducido, grupos-SH no proteicos, y NADPH disminuyen. Ello sugiere que se producen formas de oxígeno activas, como radicales anión superóxido, H_2O_2 y otros radicales (R.), en la biotransformación de DMAA.

Los organoarsenicales trivalentes monosustituídos, como oxofenilarsina además de interferir en la oxidación del piruvato y ácido cetoglutarico, disminuyen la absorción de glucosa en células MDCK (Liebl y cols., 1995).

Los mecanismos por los que el arsénico ejerce su efecto carcinogénico no se conocen, por lo que se han propuesto diversas teorías. Parece claro que el arsénico es un potente clastógeno, pero un débil agente mutágeno; por tanto, el daño directo al ADN y subsecuente mutación génica no parece ser el principal mecanismo por el cual arsénico ejerce su acción carcinógena (Dong y Luo, 1994). El mecanismo podría estar relacionado con la interferencia en los últimos pasos de los procesos de reparación del ADN, probablemente actuando sobre las ADN ligasas por reacción con los grupos sulfhidrilos, estando así la célula y su información genética desprotegida frente a la acción de agentes como son la luz solar ionizante, diversas sustancias químicas y virus (Lüchtrath, 1983). Así, el

arsénico actúa más como comutágeno y cocarcinógeno, ya que se ha observado la comutagenicidad de los arsenicales inorgánicos con radiaciones UV, rayos X y agentes alquilantes como N-metil-N-nitrosourea y diepoxibutano (Okui y Fujiwara, 1986; Li y Rossman 1989a; Wiencke y Yager, 1992).

De forma general, los carcinógenos indirectos requieren la acción inicial de un carcinógeno que cause daño de forma directa en los genes (genotóxico), para causar cáncer. Los carcinógenos genotóxicos directos pueden causar daño génico y por tanto mutaciones; mientras que los promotores de tumores (carcinógenos indirectos) tienen multitud de efectos estresantes que en última instancia, inducen o afectan la expresión génica. Una propiedad, común a todos los carcinógenos indirectos, es su habilidad de inducción génica, incluyendo los genes que controlan la proliferación, diferenciación, y en el caso del arsénico, la recombinación y otros efectos en el ADN. (Störher, 1991)

Tanto arsenito como arseniato inducen amplificación génica, la cual puede ser responsable de la inducción de proteínas de shock del calor o estrés (CEE, 1991; Störher, 1991; Lee y cols., 1988). Así, Deaton y cols (1990) observan que estos compuestos son capaces de inducir proteínas del shock del calor o proteínas del estrés en queratinocitos humanos; concretamente arsenito sódico induce la síntesis de dos proteínas con pesos moleculares entre 70 y 90 KDa. Igualmente, Edwards y cols. (1991) encuentran que arsenito sódico induce la síntesis de proteínas del calor en fibroblastos de piel y en líneas celulares de tumores epiteliales humanos.

Algunos autores (Welch y Suhan, 1986) proponen que la acumulación de proteínas alteradas, modificadas covalentemente por arsénico, es la causa que proporciona la señal para el posterior desarrollo de la lesión cancerosa; sin embargo, no se sabe con total seguridad si este fenómeno tiene alguna relevancia en la carcinogenicidad de este elemento.

Lee y cols. (1991) estudian en células de ovario de hamster el efecto supresor de la cicloheximina (inhibidor de la síntesis de proteínas) sobre la

citotoxicidad potenciada por arsenito sódico de la luz UV. Encuentran que existe una buena correlación entre la síntesis de proteínas del estrés y la exposición a arsenito sódico y radiación UV, y por inmunoprecipitación parece ser que esta proteína es la ubiquitina, lo cual concuerda con los estudios de otros autores (Bond y cols., 1988). La ubiquitina es conocida por ser un factor estimulante del catabolismo proteico intracelular, luego esta aceleración de la degradación proteica celular en células expuestas a agentes que afectan al ADN parece que inhibe los mecanismos de reparación y lleva a la muerte celular. Además se sabe que arsenito sódico es un inhibidor de las enzimas de conjugación de la ubiquitina, por tanto la superproducción y la inhibición de la conjugación de ubiquitinas inducida por arsenito puede interferir en la reparación del ADN en células irradiadas con UV.

El arsénico, además, activa también los virus del herpes simple y herpes zoster. Se propone que, probablemente, y apoyándose en la capacidad del arsénico de causar amplificación génica, éste pueda amplificar específicamente oncogenes humanos o del virus oncogénico del papiloma humano. Si esto fuese así, éste elemento debería ser retenido en el cuerpo, siendo el tiempo de latencia muy prolongado. Sin embargo, aunque existen datos de que el arsénico inhalado se retiene en pulmón durante largos periodos de tiempo, no existe evidencia de la acumulación en otros órganos internos. Además los estudios epidemiológicos sobre la carcinogénesis de arsénico, indican que el tiempo de latencia varía en un rango muy amplio (10-30 años) (Bates y cols., 1992).

Según Chen y cols. (1988) el hecho de que pacientes con la enfermedad de Blackfoot presenten mayor riesgo de padecer cáncer de algunos órganos internos, se podría explicar por la oclusión de la circulación debido a la tromboangitis o arteriosclerosis obliterante que estos pacientes presentan. El retraso en la microcirculación podría prolongar el tiempo que tarda en circular la sangre a través del lecho capilar, incrementando así el tiempo de exposición en los órganos diana a la sustancia tóxica.

Con respecto a las lesiones dérmicas y al cáncer de piel, las características clínicas e histopatológicas de la queratosis arsenical son similares a las lesiones inducidas por el virus del papiloma humano (HPV). Algunos autores, Neumann y cols. (1987), encuentran secuencias de este virus en lesiones malignas inducidas por arsénico, sugiriendo que el HPV y el arsénico pueden actuar como cocarcinógenos en la producción de cáncer de piel. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Ratnaman y cols. (1992) en su estudio de las lesiones de pacientes psoriáticos o asmáticos, que habían ingerido arsénico en forma de solución de Fowler. Estos autores encuentran que sólo un 6% de las lesiones estudiadas dieron resultado positivo para el HPV.

Gosenbatt y cols. (1992) proponen que el hecho de que el arsénico afecte al sistema inmunitario, pueda jugar un papel importante en el incremento de la incidencia de cáncer en las poblaciones expuestas a arsénico. En concreto estos autores observan que se produce una disminución de la proliferación de linfocitos estimulados por fitohemaglutininas.

En cuanto a la aterogenicidad del arsénico, Lilienfeld (1988) propone que pueda ser debida a la capacidad del arsénico de iniciar un proceso de tipo neoplásico en los vasos; al igual que puede hacerlo en pulmón, piel, hígado, riñón y vejiga. Para demostrar esta hipótesis, sería necesario desarrollar de forma experimental sobre animales estas lesiones y evaluarlas posteriormente, lo que requeriría un gran esfuerzo debido a que arsénico es uno de los pocos carcinógenos que en animales no origina este tipo de lesiones.

El hecho de que se haya observado un efecto protector por selenio y por las enzimas captadoras de radicales libres oxidados, como superóxido dismutasa (SOD) y en menor medida, catalasa, contra las alteraciones cromosómicas e intercambios de cromátidas hermanas inducidas por arsénico en linfocitos humanos, hace pensar que el efecto genotóxico de arsénico pueda ser mediado por radicales libres oxidados (Nordenson y Beckman, 1991). Wang y Huang (1994) emplean líneas celulares de ovario de hamster, sensibles a diversos agentes generadores de radicales libres, para estudiar los efectos genotóxicos de arsenito sódico. Dichas

células tenían menor actividad catalasa que las células parenterales; estos resultados indicarían que la menor actividad catalasa puede explicar la mayor sensibilidad de estas células a los efectos tóxicos del arsenito, y que arsenito probablemente induce micronúcleos por sobreproducción de H_2O_2 .

Lin y cols. (1995) estudian la relación entre la enfermedad de Blackfoot y el arsénico, así como con malonildialdehído, producto final de la peroxidación lipídica, encontrando una correlación entre el arsénico urinario y las concentraciones de malonildialdehído en la orina de los enfermos. Ello indicaría que el mecanismo por el cual el As ejerce sus efectos en la enfermedad de Blackfoot, está, en parte, debido a la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados. Además, la deficiencia de Zn y Se existente en esta población, incrementaría el daño de As y la peroxidación lipídica en los organismos.

Se ha investigado el papel que juega la peroxidación lipídica como mecanismo de toxicidad del As, en ratas pretratadas con N-acetilcisteína (NAC, inductor GSH) o con butionina sulfoximina (BSO, depresor GSH), a las que se administra arsenito sódico. El As inorgánico disminuyó los niveles de GSH y aumentó la peroxidación lipídica en hígado, riñón y corazón; el pretratamiento con NAC aumentó los niveles de GSH y disminuyó la peroxidación lipídica en hígado, disminuyó los niveles de As en los tejidos, pero en riñón y corazón no protege de la peroxidación lipídica; el pretratamiento con BSO tenía un efecto aditivo sobre la disminución de GSH en hígado y riñón producida por As, y alteraba la distribución tisular del elemento, aumentándose los niveles en piel y disminuyendo en riñón. Existía una clara tendencia hacia una correlación positiva entre [As]-peroxidación lipídica en hígado, riñón y corazón (Ramos y cols., 1995).

La administración oral de oropimente (As_2S_3) produjo una disminución significativa de citocromo P450 (44%), de GSH (47%) en microsomas de hígado de rata, y concomitantemente, un aumento de la peroxidación lipídica, demostrando la acción hepatotóxica del compuesto (Singh y Sharma, 1994).

ESENCIALIDAD

Los elementos traza (presentes en el cuerpo humano en concentraciones de $\mu\text{g/g}$ o menos) considerados como esenciales para el ser humano, es decir imprescindibles para el crecimiento, reproducción y salud, son: cobalto, cobre, iodo, hierro, molibdeno, selenio y zinc (Nielsen 1990). Se sugiere que otros elementos en concentraciones ultratrazas puedan ser también esenciales. En esta categoría incluimos el arsénico, junto con boro, bromo, cadmio, fluor, plomo, litio, níquel, silicio, estaño y vanadio (Nielsen 1991).

Aunque la deficiencia de los elementos traza es relativamente poco común debido a que el organismo humano posee poderosos mecanismos que mantienen la homeostasis, desde los años 70 se especula con la posibilidad de que determinadas enfermedades como arteriosclerosis, osteoporosis, osteoartritis, hipertensión, enfermedades isquémicas, etc, pueden estar relacionadas con la deficiencia o desequilibrio de alguno de estos elementos en el organismo. Existe evidencia circunstancial de ello en el caso de modelos animales, pero al no existir estudios en humanos, no está claramente establecida la importancia nutricional de éstos.

El arsénico, al igual que otros elementos, se comporta como una hormetina, es decir, como una sustancia que a pequeñas dosis ejerce un efecto beneficioso para los procesos fisiológicos, pero que a dosis más elevadas o cuando dosis bajas repetidas originan concentraciones tisulares elevadas, da lugar a efectos tóxicos (Repetto, 1988).

10.1. EFECTOS DE LA DEFICIENCIA DE ARSÉNICO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Existen varios trabajos en los que se han descrito con detalle los síntomas de privación de arsénico en diferentes especies animales: pollos, cabra, ratas, hamsters y cerdos enanos (Nielsen y cols., 1975; Anke y cols., 1976; Anke, 1986). Los signos más frecuentemente encontrados son: retraso en el crecimiento, disminución de la fertilidad, elevada mortalidad perinatal y en crías lactantes, disminución de triglicéridos en suero y daños miocárdicos.

El primer estudio que aportó evidencias de la esencialidad del arsénico fué el llevado a cabo por Nielsen y cols. (1975). Para ello alimentaron un grupo de ratas de dos días de vida con una dieta basal que contenía 30ng As/g, y otro grupo recibió un suplemento de 4.5 μ g As/g. Las ratas macho se ven más afectadas por la privación de arsénico que las hembras. Estos sufren un aumento del tamaño del bazo que presentaba un color oscurecido, que en las hembras es menos pronunciado y la lesión es más tardía. Ambos sexos exhibieron unos eritrocitos enormemente frágiles. En cuanto a la descendencia, las crías de padres sometidos a la dieta deficiente en arsénico presentaron una piel áspera y menor velocidad de crecimiento que la de los controles.

Otro trabajo similar fué llevado a cabo con cabras y cerdos enanos (Anke y cols., 1976). En ambas especies se observa que la privación de arsénico disminuye la descendencia, y que los animales que nacen de madres sometidas a estas condiciones exhiben una disminución en el crecimiento (más marcada aún en la segunda generación) y una alta tasa de mortalidad. Se produjeron muertes de algunas crías en el período de lactancia, aparentemente debidas a lesiones miocárdicas. Este mismo autor, años más tarde, encuentra cambios histológicos en el tejido cardíaco de estas crías. Ultraestructuralmente, observó un ensanchamiento del contorno de las membranas mitocondriales y la existencia de un material granuloso, y en estados avanzados, ruptura de la membrana mitocondrial (Anke 1986).

Uthus (1990) estudia los efectos de la privación de arsénico en hamsters, especie animal más parecida al hombre en cuanto al metabolismo del arsénico, según este autor. Para ello sometió a un grupo de animales a una dieta basal que contenía 12 ng de arsénico/g y administró a un grupo control la misma dieta basal, con un suplemento de 1µg de As/g en forma de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Observó, en este caso, que el peso corporal no se veía afectado por la cantidad de arsénico existente en la dieta, lo cual difería con lo observado en estudios previos. Este hecho se podría explicar teniendo en cuenta que los hamsters tienen un crecimiento más lento que ratas, pollos y otros animales, y otra posible explicación sería que existiesen diferencias en los requerimientos de arsénico o metionina entre las especies. Sin embargo, sí encontró un ligero aumento de la razón entre el peso del corazón y el peso corporal. No se llevaron a cabo estudios histológicos del músculo cardíaco. No se observaron cambios en las razones peso hígado, bazo y riñón/ peso corporal, y tampoco ningún efecto en la hemoglobina, hematocrito o el metabolismo del hierro, al igual que lo descrito por Anke (1986). La concentración de cinc en el hígado de los hamsters sometidos a una dieta deficiente en arsénico fue elevada, lo cual coincide con el trabajo de Uthus y colaboradores (1983).

Se encontró la concentración de los aminoácidos alanina, glicina, fenilalanina y taurina en significativamente disminuida en el suero de los animales.

Taurina es uno de los productos finales que se producen en el metabolismo de la metionina; la glicina es un sustrato de la glicina N-metiltransferasa, la cual se piensa que regula la cantidad de S-adenosilmetionina disponible para que se lleven a cabo las reacciones de metilación durante periodos de deficiencia de metionina y metilos (Wagner y cols., 1985; Kerr, 1972). Alanina puede transformarse en glicina gracias a una transaminasa hepática.

La función que desempeña en el organismo la taurina, metabolito de la metionina, parece ser la de proporcionar estabilidad a las membranas celulares (Zelikovic y Chesney, 1989). En el miocardio existen altas concentraciones de taurina, que cambian en determinados estados patológicos cardíacos. Se ha descrito

cardiomiopatías asociadas a bajos niveles plasmáticos de taurina en gatos alimentados con dietas deficientes en taurina, y una reducción del crecimiento y supervivencia de los animales. Por otro lado, la taurina también tiene otra función fisiológica de importancia como es la conjugación con ácidos biliares, necesaria para la solubilización y absorción de lípidos.

Posiblemente la ruptura de membranas mitocondriales y el daño encontrado a nivel cardiaco en los animales de experimentación sometidos a dietas deficientes en arsénico pueda deberse a la disminución de los niveles de taurina en el miocardio. La disminución de la taurina, también esclarecería algunos efectos de la privación de arsénico, como son la muerte perinatal, depresión del crecimiento perinatal y la disminución de triglicéridos en sangre.

Otra posible explicación de esta modificación de las membranas celulares podría ser que se vea afectada la síntesis de fosfatidilcolina. La fosfatidilcolina es el principal fosfolípido encontrado en la membrana plasmática, nuclear, mitocondrial y del retículo endoplásmico de la célula. La deficiencia de arsénico modifica la actividad de algunas enzimas que intervienen en la biosíntesis de fosfatidilcolina (Cornatzer y cols., 1983), como son fosfatidiletanolamina metiltransferasa, fosfatidil-dimetiletanolamina metiltransferasa y colina fosfotransferasa.

Además otros estudios han encontrado que la deprivación de arsénico produce disminución de la actividad de determinadas enzimas como: S-adenosilmetionina decarboxilasa y ornitina decarboxilasa (Uthus y cols., 1989a, 1989b). Todos estos descubrimientos indican que "posiblemente el arsénico desempeñe alguna función en el metabolismo de metionina y grupos metilos".

Al ser la S-adenosilmetionina de gran importancia en el metabolismo de metionina y al estar involucrada en la biosíntesis de poliaminas, se ha estudiado el efecto de la privación de arsénico en el contenido de poliaminas en el hígado de ratas (Uthus 1989a, 1989b). Éste observa que disminuyen las concentraciones de espermina, espermidina y putrescina en hígados de ratas al estar la S-adenosiltransferasa disminuida en su actividad. Espermidina y espermina se forman por transfe

rencia de un grupo aminopropilo desde la S-adenosilmetionina descarboxilada a la putrescina y espermidina, respectivamente.

Las poliaminas controlan la proliferación y crecimiento celular (Jänne y cols., 1983). En animales de experimentación a los que se les ha causado hiperproliferación de las células epidérmicas mediante estímulos físicos o químicos, se ve una estimulación de la síntesis de poliaminas. La ingesta crónica de altas concentraciones de arsénico se han asociado con hiperqueratosis, hiperpigmentación y cáncer de piel (Benko, 1987).

También se piensa que el arsénico "pueda modificar la expresión génica mediante la metilación de histonas". Ya hemos visto que arsenito induce la formación de proteínas de Shock de calor (Desrosiers y Tanguay, 1987). Según estos autores el control de la síntesis de estas proteínas puede estar en la metilación de las histonas.

10.2. FACTORES QUE AFECTAN LOS REQUERIMIENTOS DE ARSÉNICO

Diversos autores han centrado su interés en el estudio de la importancia nutricional de varios elementos traza, entre ellos el arsénico bajo condiciones de estrés nutricional, metabólico, hormonal o psicológico. Se puede decir que una ingesta insuficiente de un elemento traza, como es el arsénico, puede hacerse obvia cuando el organismo está estresado al aumentar la demanda del elemento por el organismo o por interferir en la utilización de éste. Se ha propuesto la siguiente fórmula, aplicable a los requerimientos nutricionales de elementos traza (Nielsen, 1990):

Efectos Patológicos = Estrés x Vulnerabilidad orgánica.

Según ésta, probablemente no aparecerían determinadas patologías si una deficiencia de estos elementos (vulnerabilidad orgánica) no se ve multiplicada por

el estrés. Igualmente, algunas patologías no se producirían si el estrés no está acompañado de una cierta vulnerabilidad orgánica o escasez de un elemento traza.

En el caso del arsénico, estudios en animales de experimentación han revelado que la naturaleza y severidad de los signos de su deficiencia se ven afectados por modificaciones en la dieta, entre ellas, variaciones en la concentración de cinc, arginina, colina, metionina, y ácido guanidoacético (GAA). Todas estas sustancias están interrelacionadas por afectar el metabolismo de la metionina (Nielsen, 1990, 1991; Uthus, 1992).

Nielsen y Shuler (1978) fueron los primeros autores que estudiaron el efecto de la privación de arsénico sobre el crecimiento de animales, polluelos en este caso, cuyo metabolismo de la metionina se encontraba estresado. Un grupo de los animales recibió una dieta basal que contenía 15-25 ng As/g, y otro grupo control recibió un suplemento de 1 μ g de As/g. A su vez, algunos animales de ambos grupos se alimentaron con un suplemento de 20g de arginina/Kg de dieta. Tras seis semanas observaron que los polluelos alimentados con la dieta deficiente en arsénico y con suplemento de arginina pesaban significativamente menos que los controles a los que se les había administrado también el suplemento de arginina y la razón peso del hígado/peso corporal estaba aumentada. Además la concentración de cinc en el hígado era elevada, mientras que las concentraciones de arsénico, hierro y manganeso habían disminuido.

Esto se debe a que la arginina al metabolizarse produce GAA, el cual, a su vez, se metila por la S-adenosilmetionina dando lugar a creatinina. Por tanto, los animales a los que se les alimenta con un exceso de arginina ven sus niveles de metionina y grupos metilo disminuidos, al ser estos grupos usados para la metilación del guanidoacetato, lo cual potencia los signos de la deficiencia de arsénico.

En estudios similares realizados posteriormente (Uthus y Nielsen, 1986, 1987) en los que la dieta se suplementa GAA directamente, se encuentra que existe una interacción entre arsénico y GAA. El GAA deprimía marcadamente el

crecimiento de los animales y la hemoglobina, viéndose esta depresión exacerbada por la deficiencia de arsénico. Por otro lado, el GAA producía un aumento de la concentración total de creatina-creatinina en plasma, efecto que también se veía aumentado por el déficit de As.

Uthus y Poellot (1992) estudian también el efecto de la deficiencia de metionina sobre la privación de arsénico fijando su atención en parámetros sanguíneos, crecimiento, razones peso órgano/peso corporal y concentración de elementos traza en los tejidos. Para ello utilizan ratas, siendo las variables las concentraciones en la dieta de L-metionina (1 o 5g/kg) y de arsénico como As_2O_3 (0 ó $1\mu g/g$). Las conclusiones a las que llegan son:

1)- El hematocrito y la hemoglobina son bajos en las ratas privadas de arsénico, existiendo interacción entre arsénico y metionina que afecta al volumen corpuscular medio (MCV) y hemoglobina corpuscular media (MCH), siendo marcadamente menores cuando se dan las dos deficiencias. La modificación de la dieta no afectó los glóbulos rojos. La concentración de arsénico en sangre total era significativamente menor en el caso de los animales privados de arsénico.

2)- Se produce depresión del crecimiento cuando existe deficiencia de As.

3)- Cuando la cantidad de metionina es adecuada, el déficit de arsénico no tiene un efecto significativo sobre el peso corporal. La deficiencia de metionina produce un incremento de las razones peso hígado/peso corporal, peso corazón/peso corporal, y peso riñón/peso corporal, no modificándose la razón peso bazo/peso corporal.

4)- Respecto a la concentración de elementos traza en los diferentes órganos: se encuentra un aumento de la concentración de cobre, manganeso y molibdeno en el hígado de los animales con deficiencia de arsénico. La deficiencia de metionina incrementó los niveles de hierro, manganeso y sodio y disminuyó la concentración de molibdeno. Las concentraciones hepáticas de calcio, potasio, manganeso, fosforo y cinc no se alteraron por las modificaciones de la dieta.

En el tejido cardíaco, sólo calcio se ve afectado por interacción entre arsénico y metionina. Se observa que la deficiencia de metionina produce un ligero aumento de la concentración de Ca cuando las ratas tienen suficiente arsénico. Sin embargo, en las ratas que tienen falta de As los niveles de calcio en corazón son considerablemente mayores en los casos en que existe deficiencia de metionina. La deficiencia de metionina produce también un aumento de manganeso y sodio, mientras que el cobre, hierro, potasio y fósforo no se ven afectados de forma significativa por la dieta.

Por último, la interacción entre arsénico y metionina afecta los niveles de cobre, potasio, manganeso y cinc del fémur. La privación de arsénico no produce efectos sobre los niveles de cobre en fémur, pero cuando existe conjuntamente déficit de metionina, los niveles de éste disminuyen. En el caso de potasio, magnesio y cinc, la deficiencia de metionina no produce efectos sobre sus niveles cuando hay un suplemento de arsénico, pero cuando hay deficiencia de arsénico y metionina se produce una disminución marcada de los niveles de éstos en el fémur.

Se ha encontrado que algunos efectos de la deficiencia de arsénico indican una relación entre el arsénico y la vitamina B₆ (Uthus y Poellot 1991, 1992). La deficiencia de piridoxina produce anemia microcítica hipocrómica. Esta anemia, al igual que en la deficiencia de arsénico, disminuye el volumen y hemoglobina corpuscular medios (MCV, MCH), mientras que no se producen cambios en los glóbulos rojos.

Otros factores que soportan esta relación entre la deficiencia de arsénico y vitamina B₆ son: 1)- disminución de la actividad de la cistationina liasa (observación no publicada de Uthus) y de la ornitina descarboxilasa (enzimas que utilizan piridoxal-fostato como cofactor); 2)- se produce un aumento de hierro en los tejidos, se ha observado un aumento de los niveles de hierro en fémur y plasma en ratas privadas de arsénico y metionina (Uthus y Poellot, 1992); y 3)- una disminución de la taurina en plasma, siendo la piridoxina necesaria para la síntesis de taurina (Dakshinamurti, 1982; Stipanuk y Kuo, 1984).

10.3. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE ARSÉNICO

Como conclusión, se podría decir que todos estos estudios refuerzan la hipótesis de que el arsénico tiene un papel fisiológico fundamental pues afecta al metabolismo de la metionina y a la formación de sus metabolitos, taurina, grupos metilo lábiles y poliaminas. De este modo, los efectos más probables del arsénico afectan al metabolismo de los aminoácidos azufrados. Algunos signos de la privación de arsénico, especialmente cuando la cantidad de metionina en la dieta no es adecuada, son similares a los signos de la deficiencia de piridoxina (vit. B₆). Estos síntomas pueden ser más pronunciados en situaciones en las que el metabolismo de metionina esté estresado (embarazo, lactancia), deficiencia de metionina y privación de vitamina B₆.

Se podría hacer una estimación de los requerimientos nutricionales de arsénico en humanos, usando datos de estudios sobre animales. El requerimiento de arsénico en ratas y polluelos (Nielsen 1990) es de 25 ng/g de dieta, por tanto se podría tomar para el hombre la cantidad de 12 µg/g (Uthus 1992; Nielsen 1991). El contenido de arsénico encontrado en las dietas de diferentes países indica que la ingesta aproximada de arsénico se encuentra en el rango de 12-40 µg, siendo pescado y cereales los alimentos que más arsénico aportan.

**TRATAMIENTO DE LA INTOXICACIÓN POR
ARSÉNICO**

El tratamiento de la intoxicación por arsénico incluye:

- La **estabilización del paciente**, que debido a los efectos de este elemento sobre el sistema gastrointestinal, puede sufrir shock hipovolémico fatal, estando indicada la reposición de fluidos, y en algunos casos el apoyo farmacológico de la presión sanguínea con el uso de agentes presores como la dopamina.

- La **prevención de una mayor absorción del tóxico** con el uso de catárquicos y carbón activado, o si es el caso, la descontaminación de la piel expuesta.

- La **administración de algún agente quelante**, para prevenir o revertir la unión del arsénico con sus ligandos orgánicos (Klaassen, 1990).

En el caso de que se presente nefropatía grave inducida por arsénico, puede ser necesaria la hemodiálisis ya que se ha demostrado una buena eliminación de arsénico mediante este tratamiento.

En la Figura 8 se recogen los **agentes terapéuticos quelantes** indicados para el tratamiento de las intoxicaciones por arsénico.

El agente British Anti-Lewisite (BAL, 2,3-dimercaptopropan-1,ol ó dimercaprol), se ha empleado desde hace mucho tiempo como antídoto del arsénico, pero su eficacia terapéutica está limitada por su toxicidad inherente. Es un quelante provisto de dos grupos tiólicos, y originalmente desarrollado como antídoto del As. Insoluble en agua, se comercializa en solución oleosa, y es de uso exclusivo por vía intramuscular. Está indicado en todas las intoxicaciones agudas graves por arsénico

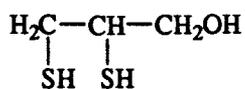
excepto en la intoxicación por arsina. La dosis empleada depende del grado de severidad de la intoxicación, siendo un programa típico de dosificación el siguiente: la administración de 3-5 mg/kg peso corporal, i.m. cada 4 horas durante los dos primeros días de la intoxicación; durante el tercer día, 3mg/Kg peso i.m. cada 6h; y 3 mg/Kg i.m. cada 12h hasta que los síntomas disminuyen o los niveles de As en orina descienden a menos de 50 $\mu\text{g}/24\text{h}$ (Ellenhorn y Barceloux, 1988). Algunos de los efectos colaterales del BAL son: urticaria, sensación de ardor en labios, boca y garganta, conjuntivitis, dolor de cabeza, leucopenia transitoria e hipotensión. Estos síntomas se alivian tras administración por vía i.m. u oral de 1,5 mg de difenhidramina/Kg de peso corporal (Benadryl), cada 5h.

El empleo de la terapia combinada hemodiálisis-BAL, aunque es motivo de controversia, es recomendada por Mathieu y cols. (1992): hemodiálisis temprana en casos de intoxicación aguda masiva por As, y elección de BAL como agente quelante.

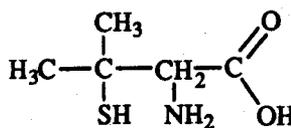
El BAL puede sustituirse, tras el primer día de tratamiento, por D-penicilamina, vía oral, la cual produce menos efectos adversos. Ésta se administra en cuatro dosis divididas hasta un máximo de 1g/día, tratamiento que se debe continuar durante 4 días. El uso prolongado de penicilamina trae consigo algunos efectos colaterales como son neuritis óptica y nefrotoxicidad (Klaassen, 1990). También se pueden usar BAL y penicilamina en el tratamiento de la exposición prolongada a arsénico, aunque suele ser suficiente el uso de penicilamina sola, si bien ésta puede también desencadenar trastornos inmunitarios. La duración del tratamiento, estará determinada por la condición clínica del paciente y las concentraciones urinarias del tóxico (Klaassen, 1991).

Es bastante escasa y contradictoria la información disponible sobre los propios efectos embriotóxicos y teratogénicos del BAL, por lo que se recomienda la no administración de este agente quelante durante la gestación (Domingo, 1995).

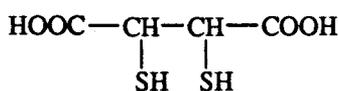
Tratamiento de la intoxicación por arsénico



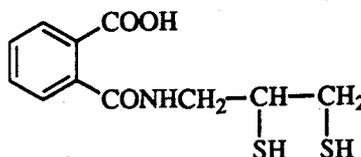
BAL
2,3-Dimercapto-1-propanol



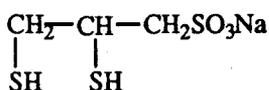
DPA
D-Penicilamina



DMSA
Acido meso-2,3-Dimercaptosuccínico



DMPA
Acido N-(2,3-Dimercaptopropil)ftalamidico



DMPS
2,3-Dimercaptopropano-1-sulfonato sódico

Figura 8.- Agentes terapéuticos quelantes indicados para el tratamiento de las intoxicaciones por arsénico.

Los efectos tóxicos de BAL, llevaron al estudio de la efectividad de varios ditioles solubles en agua, de menor toxicidad, como son: ac. 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA), 2,3-dimercaptopropano-1- sulfonato sódico (DMPS), ácido N-(2,3-dimercaptopropil) ftalamídico (DMPA). En la tabla 15 se incluyen los valores de DL-50 de los agentes quelantes usados en el tratamiento de la intoxicación por arsénico.

El orden de efectividad encontrado para éstos, como antídotos del As, en ratones que recibieron una dosis letal de arsenito sódico (0,15 mmol/Kg) fué: DMSA > DMPS > DMPA > BAL (Jones, 1991). De igual forma, Kreppel y cols. (1990) observan que los compuestos ditioles solubles en agua son más eficaces en el tratamiento de la intoxicación causada por As_2O_3 en ratones, aumentando la supervivencia y la eliminación de As. Esto concuerda con el estudio realizado por Schäfer y cols. (1991), los cuales observan que DMPS y DMSA reducen con mayor eficacia que BAL los contenidos de arsénico en corazón, pulmón, hígado, bazo, riñón, testículos, músculo, piel, cerebro y sangre de ratones expuestos a trióxido de arsénico, independientemente de que la vía de administración fuese parenteral u oral. Además, BAL produjo un marcado aumento de los niveles de arsénico en cerebro y testículos.

Reichl y cols (1992) estudian el efecto de varios ditioles, BAL, DMPS, DMSA y 2,3-bis-(acetiltio)-propanosulfonamida (BAPSA), en la excreción biliar de arsénico en cobayas, encontrando que, excepto BAL, todos estos compuestos la incrementan, lo cual indica que la excreción de arsénico normalmente mayoritaria por vía renal, se aumenta por vía fecal en el caso del tratamiento con estos ditioles.

Otra ventaja que presentan DMPS y DMSA frente a BAL en el tratamiento de intoxicaciones por arsénico, es que ambos reducen los efectos embriotóxicos y teratogénicos derivados de la exposición a arsenito y arseniato, mientras que el quelante lipofílico BAL muestra únicamente cierta protección frente a los efectos teratogénicos del As (Domingo y cols., 1991, 1992, 1995).

Tabla 14.- Valores de DL-50 de los agentes terapéuticos usados en el tratamiento de la intoxicación por arsénico (Jones, 1991).

AGENTE QUELANTE	ESPECIE ANIMAL	RUTA	DL-50 (mmol/Kg)
BAL	ratón	i.p.	0,73
	ratón	i.p.	0,85
	ratón	i.p.	1,48
	ratón	s.c.	1,48
D-Penicilamina	ratón	i.p.	2,53
D,L-Penicilamina	ratón	i.p.	1,4
N-acetil-D-Penicilamina	ratón	i.p.	>20,0
D,L-DMPS	ratón	s.c.	6,53
DMPS	ratón	i.p.	5,22
	rata	i.p.	5,02
DMSA	ratón	i.p.	16,2
	ratón	i.p.	13,58
	ratón	p.o.	23,8
meso-DMSA	ratón	s.c.	13,73
Na ₂ DMSA	ratón	s.c.	15,5

Todos estos estudios apuntan la necesidad de reconsiderar BAL como agente terapéutico de elección en el tratamiento de la intoxicación aguda por arsénico.

De todas formas, la administración de DMSA exige una valoración especial con tendencia a ser excluido también durante el embarazo (al igual que BAL), mientras que DMPS posee unos niveles sin efecto adverso observable (NOAELs), superiores a las dosis empleadas terapéuticamente, lo cual favorece su potencial uso.

Según Hilmy y cols. (1991) la movilización de arsénico desde los tejidos y su excreción en orina y heces dependerá de la especie química de la que se trate, siendo por lo general mayor para animales intoxicados por arsenito que para los intoxicados con arseniatos. En cuanto a la efectividad de los agentes quelantes dimercapto frente a la intoxicación por compuestos orgánicos por arsénico, Inns y cols. (1990) encuentran que tanto BAL como DMPS y DMSA, proporcionan gran protección frente a 2-(clorovinil)arsina o Lewisite, no presentando entre ellos diferencias significativas en cuanto a sus efectos terapéuticos.

Por otro lado, Boyd y cols. (1989) sintetizaron un derivado de BAL: 2,3-ditioeritritol (DTE). Este presentó una menor toxicidad que BAL y DMSA, y tuvo más capacidad de mejorar la supervivencia celular en cultivos de células procedentes de linfomas de ratón, expuestos a fenildicloroarsina.

La administración por vía i.v. de N-acetilcisteína es también efectiva en el tratamiento de la intoxicación aguda por arseniato sódico (Martin y cols., 1990).

Reichl y cols. (1990, 1991), han estudiado los efectos de la administración de **glucosa** sobre ratones expuestos experimentalmente a trióxido de arsénico, encontrando una mayor supervivencia entre los animales a los que se les proporcionó glucosa frente a los que únicamente se les administró el tóxico. Ésto se debe a que la hipoglucemia, la depleción de glucógeno y disminución de la gluconeogénesis, es un problema de vital importancia tras la intoxicación aguda por arsénico trivalente, y por tanto la administración de glucosa y electrolitos, además de la

eliminación del tóxico con los antídotos específicos anteriormente expuestos debería ser considerada en el tratamiento.

Algunos autores investigan la utilidad de la **inmunoterapia** en el tratamiento de la intoxicación por arsénico. Así, Leikin y cols. (1991) encuentran que tras la administración de ácido arsánico conjugado con ovoalbúmina a ratones, se produjeron anticuerpos reactivos a ácido arsánico y arsenito sódico. La administración de múltiples inyecciones del conjugado, tuvo efectos protectores frente a la intoxicación por arsenito sódico.

DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO Y SUS ESPECIES

10.1. DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL.

La determinación de arsénico, ya sea en muestras biológicas o medioambientales, se ha llevado a cabo utilizando diferentes técnicas analíticas: espectrofotometría visible, espectroscopía de absorción atómica (AAS), espectroscopía de absorción molecular (MAS), espectroscopía de emisión atómica (AES), espectroscopía de fluorescencia atómica (AFS), difracción y fluorescencia de rayos X, activación neutrónica (AN), métodos electroquímicos (voltametría de redisolución anódica, ASV, y polarografía de pulso diferencial), etc., siendo las más populares la espectroscopía de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS) y la espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito (GF-AES).

En la Tabla 16 se resumen algunos estudios en los cuales se ha llevado a cabo la determinación de arsénico total en diferentes matrices, biológicas y ambientales.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

En la determinación de elementos trazas en alimentos, sedimentos, y muestras biológicas en general, por Espectroscopía Atómica, es necesario someter a las muestras a un proceso de descomposición o destrucción de la materia orgánica; de esta forma se produce la ruptura de las uniones de los elementos inorgánicos a la materia orgánica, proteica fundamentalmente, favoreciendo la disolución de los mismos. Además, en el caso concreto del arsénico, durante la digestión ácida se lleva a cabo la transformación de las especies metiladas a arsénico inorgánico, en concreto a As(V).

Los procedimientos para la solubilización de la muestra son variados incluyendo: mineralización por vía seca a altas temperaturas con $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ o $\text{MgO} + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como agente inhibidor de la volatilización; la digestión por vía húmeda con mezclas binarias de ácidos ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$) o terciarias ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$) (Salisbury y Chan, 1985). El procedimiento más usado es la digestión húmeda con la mezcla ácida $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$, seguido de la adición de HClO_4 ó de H_2O_2 .

El ataque ácido puede realizarse en reactores a presión, fabricados con aleación de aluminio, con un contenedor interior de teflón inatacable que elimina las pérdidas por volatilización y desarrolla el proceso con gran rapidez y mínimo consumo de ácidos; en este caso, debe evitarse el empleo de HClO_4 por alto peligro de explosión (se produce un alto volumen de O_2) (Repetto, 1988).

Algunas desventajas de la digestión en bombas a presión son: tamaño de muestra limitado a 0,1 ó 0,2 g de muestra para materiales orgánicos, ya que el CO_2 liberado por la oxidación de la materia orgánica, más los gases de descomposición y la presión de vapor del ácido generan unas presiones que pueden exceder con mucho la presión límite de los dispositivos de seguridad; las paredes de la bomba son sólidas y no permiten la visualización de la muestra, por tanto es difícil decir cuando la digestión está completa.

La digestión ácida usando horno microondas y contenedores de teflón (politetrafluoretileno, PTFE) con válvulas de presión es uno de los métodos más rápidos, fiables y eficientes para la destrucción de la matriz orgánica antes del análisis instrumental, pudiendo ser utilizada satisfactoriamente para una gran variedad de muestras. Gracias a este método se reduce también el uso de reactivos y decrecen los problemas de contaminación, siendo especialmente adecuado para la determinación de elementos volátiles como son arsénico y selenio (Nakashima y cols., 1988).

Tabla 16- Estudios de la determinación de arsénico total en diferentes matrices.

TÉCNICA	MUESTRA	LOD	REFERENCIA
HG-AAS	Muestras biológicas (sangre, orina, agua, heces).	7 ng	Webb y Carter, 1984
HG-AAS (digestión ácida).	Pescado (As y Se).	-	Agemian y Thomson, 1980
HG-AAS (Digestión ácida microondas)	Pescado	0,146 $\mu\text{g/L}$	Navarro y cols., 1984.
HG _{continuo} -AAS	Pescado (As y Se).	0,06 $\mu\text{g/g p.s.}$	Brumbaugh y Walther, 1989.
FIA/HG-AAS	Agua de río.	0,3 $\mu\text{g/L.}$	Narasaki y Ikeda, 1984.
FIA/HG-AAS	Aguas termales.	0,2 ng	Yamamoto y cols., 1985.
GF-AAS (volatilización en tubo de cuarzo).	Rocas, vegetales.	20 $\mu\text{g/L}$	Heinrichs y Keitsch, 1982.
GF-AAS (digestión ácida).	Muestras biológicas (orina, tejidos, uñas, pelo).	0,2 ng	Solomons y Walls, 1983.
GF-AAS (precipitación con óxido de Fe (III)).	Aguas minerales.	0,2 $\mu\text{g/L}$	Hudnik y Gomiscek, 1984.

Tabla 16.- Estudios de la determinación de arsénico total en diferentes matrices (continuación).

TÉCNICA	MUESTRA	LOD	REFERENCIA
GF-AAS (adición de un surfactante como modificador de la matriz).	Sangre.	> 5 $\mu\text{g/L}$	Eaton y McCutcheon, 1985.
GF-AAS (formación hidruro y complejación con dietilditiocarbamato de Ag).	Agua.	10 ng	Shaikh y Taliman, 1977.
HG/ICP-AAS.	Muestras marinas (sedimentos, ostras). (As, Se, Sb).	1 $\mu\text{g/L}$	Oliveira y cols., 1983.
HG/ICP-AAS	Muestras biológicas. Agua.	0,4-0,6 $\mu\text{g/L}$	Tracy y cols., 1991.
FIA/HG/ICP-AAS (Preconcentración intercambio aniónico).	Aguas.	0,08 $\mu\text{g/L}$	Schramel y Xu, 1992.
FIA/HG/ICP-MS.	Agua (Sb, Hg).	6 ng/L	Stroh y Völlkopf, 1993.
HG-AFS	Aguas de mar y río.	0,10 $\mu\text{g/L}$	Corns y cols., 1993.

Determinación de As y sus especies

La muestra acidificada ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) se calienta interiormente por un campo electromagnético oscilante resultando la descomposición de la matriz de la muestra y obteniéndose soluciones apropiadas para ser usadas por numerosos métodos de análisis incluyendo Espectroscopía de Absorción Atómica de llama (FAAS), GFAAS, Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasmas (ICP-AES; DCP-AES) o hibridación Plasma de Acoplamiento Inductivo-Espectrometría de Masas (ICP-MS).

Los ácidos o los líquidos polares en general, se calientan más rápidamente por microondas que por cualquier otro método, ya que las microondas tienen capacidad para penetrar unos 2,5 cm de profundidad en la muestra, y calentar el líquido por todas partes, en vez de sólo por la superficie. Cuando el ácido absorbe las microondas, el calentamiento ocurre por dos mecanismos: rotación dipolar y conducción iónica, que pueden ocurrir simultáneamente.

Las ventajas de este método son:

- Destrucción altamente eficaz de la materia orgánica.
- Se requieren pequeñas cantidades de ácido para completar la digestión lo cual reduce la posibilidad de contaminación.
- Permite trabajar en condiciones de gran seguridad.

ESPECTROSCOPIA ATÓMICA

Espectroscopía de Absorción Atómica con Generación de Hidruros (HG-AAS)

Hasta los años 60, los métodos más empleados para la determinación de arsénico a nivel de trazas fueron los colorimétricos, pero éstos fueron desplazados con la aparición de las técnicas de espectroscopía de absorción atómica en sus diferentes modalidades. Una extensa revisión crítica del análisis de As en alimentos por técnicas de Espectroscopía atómica ha sido realizada por Cervera y Montoro (1994).

El análisis por HG-AAS ha sido muy satisfactorio, aunque el rango lineal de concentraciones en el que se puede trabajar es relativamente estrecho, siendo necesario en los casos en los que la concentración es muy elevada, la dilución de la muestra. En esta técnica la muestra, que debe ser una disolución acuosa, se trata con un agente reductor, en medio ácido, dando lugar a la generación del hidruro volátil, arsina, que mediante una corriente de argón o nitrógeno es transferido al sistema de atomización donde se descompone en átomos para ser medido por AAS. La formación de arsina es una forma de aislar y concentrar el arsénico a partir de un medio acuoso para su posterior cuantificación.

El agente reductor más extensamente empleado en la determinación de As es NaBH_4 , generalmente al 3% p/v en hidróxido sódico al 1% p/v. En cuanto al medio ácido empleado en la formación de arsina, normalmente se emplean HCl , ó H_2SO_4 , mezclas de ambos, o incluso HNO_3 , diluïdos.

La formación de la arsina es un proceso dependiente del pH y del tiempo, no siendo las condiciones óptimas las mismas para la formación de ésta a partir de las especies metiladas y arsénico inorgánico. Luego, el contenido de arsénico total de una muestra puede ser notablemente infraestimado si, la muestra contiene altas concentraciones de especies metiladas, MMAA y DMAA, y se lleva a cabo la generación de arsina directamente sobre la muestra. Para resolver este problema se han usado trampas frías o reservorios previamente al análisis, o la descomposición de las especies metiladas a arsénico inorgánico antes de la formación de arsina (Webb y Carter, 1984).

Las técnicas que usan colectores para la recogida de la arsina son efectivas pero incrementan notablemente el tiempo requerido para cada determinación analítica, mientras que los métodos de descomposición de las especies metiladas son abundantes en la literatura. Webb y Carter (1984) estudiaron la efectividad de varios procedimientos de digestión en la conversión de MMAA y DMAA a arsénico inorgánico y la posterior determinación de As total, encontrando que el procedimiento de digestión más efectivo para la conversión de DMAA a As inorgánico es

el tratamiento secuencial con $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4\text{-K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

La atomización de la muestra se realiza en una celda de cuarzo calentada eléctricamente o por medio de una llama de alto poder calorífico (aire-acetileno).

Sin embargo, las técnicas basadas en la generación de hidruros están expuestas a interferencias, que pueden deberse al proceso de formación del hidruro ó al transporte de éste. A pesar de los esfuerzos realizados, los mecanismos por los cuales se producen estas interferencias aún no se conocen con exactitud, existiendo diferentes teorías; e igualmente se desconocen qué elementos y en qué concentración pueden interferir en la generación de arsina. De todas formas, parece ser que los metales de transición constituyen el grupo más importante de posibles interferencias en la determinación de arsénico, siendo los principales: cobalto, cobre, cromo, hierro, magnesio, níquel, paladio, platino, antimonio, estaño y selenio (Boampong y cols., 1988).

Según Welz y Melcher (1986), el mecanismo de interferencia puede ser la precipitación del metal de transición, produciéndose reacciones gas-sólido, en las cuales la arsina puede adsorberse sobre la superficie del metal y descomponerse. Por otro lado, se sugiere que la interferencia ocurre cuando, en disolución, se da la formación de especies solubles que se forman entre el metal de transición en un estado de oxidación bajo, y la arsina.

Se han utilizado varios agentes para la reducción o eliminación de interferencias en la determinación de As. La mayor parte de estas sustancias son bases de Lewis y pueden comportarse como ligandos; algunos incluso son reductores. Entre ellos podemos citar: EDTA, acetato, citrato, tiocianato, piridina 2-aldoxima, o-fenantrolina, tiourea, L-cisteína, etc. Igualmente, se ha propuesto que el IK, agente reductor usado para la transformación de As(V) a As(III), tiene un efecto enmascarante de los iones interferentes (Cervera y Montoro, 1994).

Espectroscopía de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GF-AAS)

La introducción en 1961 por L'vov de la espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito ofreció un método de alta sensibilidad y exactitud para la determinación de muchos metales. Es a partir de los años 80 cuando GF-EAA se aplica a la determinación de As en alimentos, aguas y organismos marinos. Sin embargo, el arsénico ha sido considerado tradicionalmente como un elemento difícil de determinar con este método al estar situada la longitud de onda para su análisis en el rango ultravioleta, área muy susceptible a posibles interferencias. Para evitar estas interferencias se lleva a cabo precipitación con $\text{Fe}(\text{OH})_3$ o el complejo Cupirrolidínditiocarbamato amónico (APDC) y extracción con disolventes (Cervera y Montoro, 1994; Eaton y McCutcheon, 1985).

En la determinación de arsénico, se ha utilizado ampliamente la corrección de fondo con arco de deuterio y el efecto corrector Zeeman, para eliminar las interferencias espectrales y de absorción de fondo.

Para la eliminación de interferencias químicas se añaden compuestos de níquel o paladio, teniendo el Ni el inconveniente de que reduce el tiempo de vida del tubo de grafito y produce contaminación de los conos y ventanas del instrumento. En los últimos años la técnica de GF-AAS, ha sufrido un cambio revolucionario con la introducción del horno de plataforma a temperatura estabilizada y su uso combinado con el corrector de fondo Zeeman (Cervera y Montoro, 1994).

Algunos autores han incrementado la velocidad del análisis con horno de grafito omitiendo el proceso de la pirólisis, usando corrección de fondo de Zeeman para el control de las señales producidas cuando se omite este paso, empleando volúmenes de muestra menores para que el proceso de secado sea más rápido y reduciendo el tiempo final de enfriamiento.

Plasma de Inducción Acoplado-Espectroscopía de Emisión Atómica (ICP-AES)

En la actualidad, con el desarrollo de la Espectrometría de Plasma de Inducción acoplado, se ha aumentado las posibilidades de determinación de este elemento. La técnica tiene un amplio rango dinámico de trabajo, así como una adecuada sensibilidad.

Por este sistema, la introducción de la muestra se puede llevar a cabo por nebulización neumática o generación del hidruro, siendo este último procedimiento el más adecuado por su mayor sensibilidad.

En la nebulización neumática el límite de detección es muy alto lo que imposibilita en muchos casos la detección de este elemento. Al mismo tiempo pueden aparecer otras limitaciones como son la existencia de interferencias espectrales de otros elementos tales como: Co, Fe, Mn, Cr, Cu, Mo, Ni, Sb, Sn, Cd, presentes en mayor proporción que el As en la muestra.

También contribuyen al bajo límite de detección, las interferencias dependientes del transporte de muestra y del proceso de nebulización. Éstas se deben a un incremento en la densidad y viscosidad de las disoluciones; en muestras cuyo contenido de As es alto, para corregir estas interferencias se sugiere la utilización del método de adiciones estándar (Cervera y Montoro, 1994).

Tompson estableció la técnica de ICP-AES con generación de hidruros en 1978. Las mayores ventajas de la técnica de generación de hidruros para la determinación de As y otros elementos (Sb, Se, Te, Bi, Sn, Pb, Ge) son: el incremento de la sensibilidad y que se evita el empleo de nebulizadores en la introducción de la muestra.

Se han ideado instrumentos que permiten la continua generación de hidruros de elementos como As, Sb, Se y Te, para la posterior determinación multielemento por ICP-AES, siendo el límite de detección para el As del orden de 1 $\mu\text{g/L}$ (Moore, 1989).

En el análisis de alimentos se han introducido algunas modificaciones como es la condensación del hidruro en una trampa y la revaporización subsecuente. Este procedimiento incrementa la sensibilidad por separar el analito de la matriz, preconcentrarlo y además elimina los subproductos de reacción que pueden crear interferencias.

Las interferencias que pueden producirse en esta técnica son aquellas derivadas de la generación de hidruro o las debidas a contaminantes existentes en la matriz. Según la bibliografía el primer tipo de interferencias son mínimas y en cuanto a las segundas se pueden minimizar por técnicas de precipitación rápidas. Un método alternativo, es la extracción del elemento en una fase orgánica y posterior generación de la arsina, de forma que se elimina la interferencia de la matriz.

PLASMA DE INDUCCIÓN ACOPLADO-ESPECTROMETRÍA DE MASAS

ICP-MS está considerada como una técnica altamente sensible para la determinación de elementos traza en diferentes tipos de muestras. En esta técnica se generan iones en una fuente de plasma de argón, principalmente de carga positiva, y son transferidos posteriormente a un analizador de masas cuádruple.

Es una técnica extremadamente flexible, que puede utilizarse con diferentes sistemas de introducción de la muestra como son la nebulización neumática, la ultrasónica, la vaporización electrotérmica, o diferentes acoplamientos con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ó análisis por inyección de flujo (FIA) (Storh y Völlkopf, 1993).

Una ventaja adicional en la combinación ICP-FIA es la mejora de la estabilidad del plasma.

FLUORESCENCIA ATÓMICA

La espectroscopía de fluorescencia atómica (AFS), técnica adecuada y útil para la determinación cuantitativa de diversos elementos, no ha tenido una gran aplicación debido a la eficacia de los métodos de absorción y emisión atómica, los cuales precedieron a ésta técnica en más de una década.

Las interferencias que se encuentran con esta técnica son del mismo tipo e igual magnitud que las observadas en la AAS; el límite de detección para el As es del mismo orden que la AAS en su variedad de llama (Skoog y Leary, 1994).

La generación de hidruros acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica se considera una técnica suficientemente sensible para la determinación de elementos que forman hidruros volátiles. Al aplicar esta técnica, se observa un rango de linealidad muy amplio con respecto a AAS, siendo el límite superior de 100 $\mu\text{g/L}$, valor que podría aumentarse con análisis de inyección de flujo (Corns y cols., 1993).

En general, la incorporación de los métodos de análisis por Inyección de Flujo (FIA) en la determinación de As, ha sido de gran interés debido a sus propias características, ya que supone una frecuencia alta de muestreo, necesidad de menor cantidad de muestra, disminución del consumo de reactivos, mejor tolerancia a las interferencias químicas, mejora de los límites de detección y facilidad de automatización (Cervera y Montoro, 1994).

La denominación FIA fué propuesta en 1975 por Ruzicka y Hansen, y en su metodología cabe resaltar cuatro aspectos clave: flujo no segmentado, inyección directa de muestra, dispersión o dilución parcial del analito controlada y tiempo de operación reproducible (Varcарcel y Luque de Castro, 1984).

ACTIVACIÓN NEUTRÓNICA (NA)

El arsénico puede ser fácilmente identificado y cuantificado por la irradiación emitida del radioisótopo ^{76}As , que se produce cuando la muestra contiene el isótopo estable y se bombardea con un flujo de neutrones térmico. El arsénico tiene una sección eficaz para los neutrones térmicos, a diferencia de los elementos constituyentes de la materia orgánica.

En algunos casos es posible la irradiación de la muestra directamente (no produciéndose la destrucción de la misma), en estos casos otros elementos pueden interferir la medida, lo que hace necesario el realizar una preparación previa de la muestra (Vercruyse, 1984). Se pueden utilizar procedimientos de extracción, por ejemplo usando derivados del ácido ditiocarbámico (Mok y Wai, 1987), o bien procesos de coprecipitación, de forma que se eliminan interferentes como Na y Br (Van Elteren y cols., 1989).

MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS

Se han desarrollado diferentes métodos electroquímicos para la determinación de As total, previa mineralización de la muestra, así como para estudios de especiación del elemento, en muestras medioambientales (Greschonig e Irgolic, 1992).

La polarografía de pulso diferencial es la técnica polarográfica más utilizada hoy día, y permite la determinación de arsenito en un rango de concentraciones de $20 \mu\text{g dm}^{-3}$ a 50mg dm^{-3} . La técnica electroquímica más ampliamente empleada es la voltametría de redisolución, en la cual el analito se preconcentra por reducción electrolítica en el electrodo de trabajo; posteriormente, el analito depositado se determina por oxidación anódica (voltametría de redisolución anódica, ASV), o por reducción en el cátodo (voltametría de redisolución catódica, CSV). En la mayoría de los casos, la concentración de arsenito (proporcional a la corriente o potencial)

se determina por el método de adiciones estándar.

Para eliminar las interferencias en la determinación electroquímica del As, se pueden utilizar procedimientos de extracción (como Cl_3As en benceno, Br_3As en tolueno), de forma que los haluros de arsénico son re-extraídos en agua o determinados directamente en la fase orgánica.

10.2. DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENTES ESPECIES ARSENICALES: ESPECIACIÓN.

Al tratarse el As de un elemento que se encuentra en concentraciones del orden de $\mu\text{g/L}$, en la mayoría de las muestras medioambientales, alimentos y muestras biológicas, se requieren técnicas altamente sensibles y que nos proporcionen una buena separación de las distintas especies.

La manipulación de la muestra ha de ser reducida al menor número de etapas posibles para no alterar la naturaleza de la misma y que no se produzcan transformaciones de unas especies a otras (oxidaciones, reducciones, o complejaciones). Se presentan grandes problemas de contaminación originados por multitud de fuentes, y por otro lado pueden darse pérdidas de las especies por adsorción sobre las paredes del recipiente (Sánchez Uria, 1994).

Por tanto, el método experimental ideal debe ser simple, altamente sensible, y selectivo. Pero desafortunadamente estas cualidades no son fáciles de conseguir con las técnicas de análisis habituales por sí solas, siendo necesaria una separación previa de las diferentes especies a evaluar, sin alterar el estado natural de las mismas, y la posterior determinación de cada especie por separado por una técnica adecuada, suficientemente sensible.

En la Tabla 17, se resumen algunos de los problemas que pueden presentarse en los diferentes pasos del proceso de especiación.

Tabla 17.- Fases del procedimiento de especiación y las principales fuentes de error (Quevauviller y cols., 1993).

ETAPA	MÉTODO	FUENTE DE ERROR
Almacenamiento	Congelación, almacenamiento con humedad, desecado, liofilización	Inestabilidad de los compuestos (volatilización, degradación).
Pretratamiento	Extracción	Extracción incompleta, interconversión entre especies, pérdidas.
Derivatización	HG*, vapor frío, etc.	Inhibición del proceso, transformación incompleta, descomposición.
Separación	GC, HPLC	Descomposición de las especies, adsorción en la columna
Detección	AAS, ICP, MS, FID*, ECD*.	Interferencias, atomización, problemas de ionización

* HG= Generación de hidruro.

FID= Det. Ionización llama.

ECD= Det. captura electrones.

Las etapas de preconcentración/separación (para determinar ultratrazas) pueden desarrollarse de forma aislada o independiente de la instrumentación (técnicas off-line) ó realizarse en continuo, como parte integrante de la instrumentación (técnicas on-line).

Para la separación de las especies de arsénico se han utilizado diferentes técnicas analíticas, como son:

Generación selectiva de hidruros.

Tanto el As inorgánico como las especies orgánicas metiladas pueden ser reducidas a arsina; las cuales se retienen en trampas frías y se liberan posteriormente, siendo detectadas por un sistema de espectroscopía de absorción o emisión atómica.

Aunque estos métodos proporcionan una alta sensibilidad, la precisión y recuperación dependen fuertemente de las condiciones experimentales (flujo del gas portador, velocidad del proceso de desorción térmico, tipo de fase absorbente, tamaño de la columna (Jimenez de Blas y cols., 1994).

Estos métodos presentan una serie de limitaciones como generación de hidruros no automática, el material higroscópico para el secado de los gases debe ser reemplazado con frecuencia ocurriendo pérdidas de las arsinas, insuficiente selectividad, etc. Por ello, algunos autores utilizan dos procedimientos diferentes de especiación: coprecipitación para las especies inorgánicas y atrapamiento criogénico de las arsinas de las especies metiladas (Van Elteren y cols., 1994).

Quelación selectiva con agentes complejantes.

Se han utilizado diferentes agentes quelantes para la extracción de las diferentes especies arsenicales a partir de muestras líquidas, como son: el metiltioglicolato, que reacciona con As inorgánico, MMAA y DMAA, dando

compuestos estables que se determinan posteriormente por CG, aunque presenta el inconveniente de que no es selectivo para As(III) y As(V). Más extenso ha sido el uso de dietilditiocarmato amónico (DDC) y el derivado fluorado de éste, el trifluoroetil ditiocarbamato (FDDC), llevándose a cabo la determinación posteriormente por GC (Yu y Wai, 1991).

Mok y Wai (1987) utilizan pirrolidinditiocarbamato amónico/ Cl_3CH en la extracción selectiva de As(III) y As(V) y posterior determinación por AN; otros autores (Van Elteren y cols., 1989) determinan estas mismas especies por coprecipitación secuencial con dibencilditiocarbamato sódico y AN.

Técnicas cromatográficas.

Se emplean: la cromatografía de intercambio iónico (IEC), cromatografía iónica (IC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y cromatografía gaseosa.

Son varios los autores que han utilizado la cromatografía de intercambio iónico y la posterior determinación por AAS, caracterizándose este procedimiento por su disponibilidad y economía (Buratti y cols., 1984; Grabinski y cols., 1981).

Actualmente, se está empleando con gran éxito, sistemas on-line que acoplan los sistemas cromatográficos a un detector específico de absorción o emisión atómica.

Utilizando este tipo de técnicas acopladas tan sólo se pueden diferenciar y cuantificar aquellas especies arsenicales capaces de formar arsina por reducción, no pudiéndose determinar especies como arsenobetaina y arsenocolina. Se han propuesto diferentes métodos, como la pirólisis de los eluidos metanólicos obtenidos por HPLC en una llama metanol/oxígeno, posterior generación termoquímica de hidruros con exceso de hidrógeno (Blais y cols, 1990), o la fotooxidación, para obtener moléculas más simples, que puedan descomponerse en arsina volátil.

De ambos procedimientos, está teniendo gran éxito la fotooxidación utilizando irradiación con luz UV para obtener As(V), en presencia de persulfato, siendo posible así la automatización y acoplamiento (Rubio y cols, 1993a).

La Tabla 18 muestra de forma resumida las diferentes técnicas usadas para la especiación del elemento arsénico encontradas en la bibliografía.

Por otro lado se han de recordar los procedimientos de especiación que utilizan métodos electroquímicos como sistema de detección específico de las diferentes especies orgánicas e inorgánicas de arsénico previamente separadas (Henry y Thorpe 1980). El método electroquímico más ampliamente utilizado es la polarografía de pulso diferencial. Las propiedades electroquímicas de los diferentes compuestos de arsénico han sido objeto de estudios de revisión (Greschoning y Irgolic 1992).

Tabla 18.- Estudios de especiación de arsénico.

TÉCNICA	MUESTRA ANALIZADA	ESPECIES DETECTADAS	LOD	REFERENCIA
IEC/HG-AAS	Orina	As inorg., MMAA, DMAA	0,5 µg/L	Buratti y cols., (1984)
IEC/HG-AAS	Mostos, vinos.	As(III, V), MMAA, DMAA	-	Aguilar y cols., 1987.
IEC/GF-EAA	agua	As (III, V) MMAA, DMAA	10 µg/L (todas especies)	Grabinski, (1981).
IEC/FIA-HG/EAA (automatizado)	orina	As inorg., MMAA, DMAA	- Asinorg., MMAA, DMAA: 2 ppb - As total: 3 ppb	Jiménez de Blas y cols., (1994)
IC/HG-EAA	Soluciones estandar sintéticas.	Arsenito, arseniato, MMAA, DMAA, p-aminofenil arseniato	AsO ₃ ³⁻ : 8 ng/mL AsO ₄ ³⁻ : 6 ng/mL MMAA: 9 ng/mL DMAA: 7 ng/mL p-APA: 8 ng/mL	Ricci y cols.,(1981)
IC/DCP-EAA	Soluciones estandar	As(III), As(V)	2,5 µg/L	Urasa y cols., 1987

Tabla 18.- Estudios de especiación de arsénico (continuación).

TÉCNICA	MUESTRA ANALIZADA	ESPECIES DETECTADAS	LOD	REFERENCIA
HG/trampa criogénica/AAS	agua	As(III), As(V), MMAA, DMAA	10 ng/L	Michel y cols., 1992.
HG-AAS previa destilación o quelación-extracción	Pescados, moluscos.	As inorg	-	Brooke y Evans, 1981.
HG-AAS (continuo)	agua	As(III) As inorg	As(III): 0,6 µg/L. As inorg: 0,6 µg/L.	Driehaus y Jekel, 1992.
Extracción pirrolidindicarbamato amónico/NA	agua	As(III), As(V)	10 ⁻³ µg/L	Mok y Wai, 1987.
Coprecipitación con dibenzilditiocarbamato/NA	agua	As(III), As (V)	-	Van Elteren y cols., 1989.
- Preconcentración selectiva por formación de complejos/HG-AAS: As(III, V) - HG/AAS (continuo): MMAA, DMAA	agua	As(III, V), MMAA, DMAA	-	Van Elteren y cols., 1994

Tabla 18.- Estudios de especiación de arsénico (continuación).

TÉCNICA	MUESTRA ANALIZADA	ESPECIES DETECTADAS	LOD	REFERENCIA
Quelación FDDC*/GC	aguas, orina.	As(III), As(V)	10 µg/L	Yu y wai, 1991
SPE*/GF-AAS (catiónica)	Orina	- As inorg y sus metabolitos. - AsBet, Ascol.	-	Nixon y Moyer, 1992.
IEC/DPP*	Patrones de referencia acuosos.	As(III), As(V), MMAA, DMAA	8 µg/L 18 µg/L	Henry y Thorpe, 1980.
IC-detector conductimétrico	Soluciones metalúrgicas.	As(III), As(V)	As(V): 0,5 mg/L	Tam y Dutrizac, 1985.
IC-detectores: conductimétrico As(V) electroquímico As(III)	Soluciones metalúrgicas.	As(III), As(V)	As(III): 5 µg/L As(V): 22 µg/L	Tam y Dutrizac, 1986.

* FDDC = Bis (Trifluoroetil) ditiocarbamato sódico.

SPE = Extracción en fase sólida.

DPP = Polarografía de pulso diferencial.

Tabla 18.- Estudios de especiación de arsénico (continuación).

TÉCNICA	MUESTRA ANALIZADA	ESPECIES DETECTADAS	LOD	REFERENCIA
HPLC/HG-AAS	Muestras biológicas.	As(III), As(V), MMAA, DMAA	As(III): 1 ng As(V): 7 ng MMAA: 2 ng DMAA: 2 ng	Maitani y cols., 1987.
HPLC/HG-AAS	Agua y sedimentos	As(III), As(V), MMAA, DMAA, AsBet, AsCol.	-	Martín y cols., 1995.
HPLC/THG*-AAS	Soluciones estandar acuosas.	AsBet, AsCol, ión trimetilarsonio	AsBet: 13,3 ng AsCol: 14,5 ng trimetilarsonio: 7,6 ng	Blais y cols., 1990.
HPLC/GF-AAS. Confirmación MS y derivatización química.	pescados, crustáceos.	AsCol, AsBet	-	Lawrence y cols., 1986.
HPLC/ICP-AES	Muestras biológicas.	As(III), As(V), MMAA, DMAA	As(III): 30 ng As(V): 30 ng MMAA: 19 ng DMAA: 41 ng	Morita y cols., 1981.
HPLC/HG-ICP-AES	Materiales de referencia.	As(III), As(V), MMAA, DMAA	As(III): 3,5 µg/L As(V): 9,2 µg/L MMAA: 3,8 µg/L DMAA: 21,3 µg/L	Rauret y cols., 1991.

* THG= Generación de hidruros termoquímica.

Tabla 18.- Estudios de especiación de arsénico (continuación).

TÉCNICA	MUESTRA ANALIZADA	ESPECIES DETECTADAS	LOD	REFERENCIA
HPLC/HG-ICP-AES	agua, extracto pescado sintético	As(III), As(V), MMAA, DMAA.	- Elución isocrática: As(II): 3,5 µg/L As(V): 9,2 µg/L MMAA: 3,8 µg/L DMAA: 21,3 µg/L. - Elución gradiente: As(III): 2,7 µg/L As(V): 11,4 µg/L MMAA: 9,2 µg/L DMAA: 9,4 µg/L.	Rauret y cols., 1991. Rubio y cols., 1992.
HPLC/UV/HG-ICP-AES	Estandares acuosos	As(III, V), MMAA, DMAA, AsBet, AsCol.	As(III): 2,6 µg/L As(V): 9,6 µg/L MMAA: 13,0 µg/L DMAA: 9,8 µg/L AsBet: 7,9 µg/L AsCol: 6,1 µg/L	Rubio y cols., 1993b.
HPLC/ICP-MS	Material de referencia	As(III), As(V), MMAA, DMAA, AsBet, ión trimetilarsonio, otros arsenicales hidrosolubles	-	Shibata y Morita, 1989.

Tabla 18.- Estudios de especiación de arsénico (continuación).

TÉCNICA	MUESTRA ANALIZADA	ESPECIES DETECTADAS	LOD	REFERENCIA
FIA (continuo digestión microondas)/ HG-AAS	orina	As(III), As(V), MMAA, DMAA	-	Le y cols. 1993.
- FIA (digestión microondas)/ HG-AAS - HPLC/ICP-MS	Algas, bivalbos.	AS(V), DMAA, arsenoazúcares.	-	Le y cols., 1994.
HPLC-amperometría.	agua mineral	As(III), As(V).	$5 \cdot 10^{-9}M$	Stojanovic y Bond, 1990.

Las **aplicaciones** fundamentales de los estudios de especiación son las siguientes:

a).- *Especiación en el medio ambiente.*

Permite conocer el transporte, distribución y acumulación de las diferentes especies del elemento en los sistemas aire, suelo y agua, con lo que se llega a la comprensión total del ciclo geobiológico así como la evaluación de la exposición a estas sustancias.

La especiación en la atmósfera es complicada ya que la mayoría del arsénico está en forma de materia particulada, y menos de un 10% está presente en la fase de vapor o en partículas menores de $0,2 \mu\text{m}$. Las concentraciones atmosféricas de las especies metiladas están sujetas a variaciones estacionales y es necesario evaluar su distribución en la fase vapor, así como disponer de datos adicionales sobre tiempo de residencia y su estabilidad.

El agua contenida en sedimentos o suelos puede extraerse y analizarse por las técnicas generales de especiación existentes para muestras acuosas; pero la información acerca de las especies existentes en la fracción sólida es más difícil de obtener, ya que los procedimientos más comunes como EAA, requieren que la muestra esté disuelta antes de su análisis, y los suelos y sedimentos son resistentes a una disolución completa. Los procedimientos de extracción selectiva proporcionan un tipo de especiación (elemento no residual o residual), que es importante en el desarrollo del ciclo biogeoquímico.

Los datos sobre la distribución del arsénico en aguas naturales revelan que sólo MMAA y DMAA son los únicos arsenicales encontrados como especies disueltas. Serían necesarios más estudios sobre cómo se distribuyen en el ambiente acuático, junto con las especies inorgánicas, ya que la especiación quizás se haya centrado más en los sistemas marinos (Cullen y Reimer, 1989).

Diversos autores indican que los animales marinos no sintetizan AsBet directamente del arseniato presente en el agua de mar, sino que más bien la

acumulan directamente, ó un precursor de la misma a través de la cadena alimentaria (Shiomi y cols., 1984). Se ha sugerido que los arsenoazúcares, principales arsenicales en las macroalgas marinas son intermediarios en la producción de arsenobetaina. Sin embargo el origen de la arsenobetaina aún no está claro; por ejemplo, la langosta americana no es capaz de sintetizar arsenobetaina a partir de arsenoazúcares, aunque la retiene en sus tejidos. Estudios detallados de especiación de arsénico en algas marinas, bivalvos y crustáceos, permitirían una mejor comprensión del ciclo del arsénico en el ambiente marino, ya que no está claro cómo los arsenoazúcares se transforman en arsenobetaina y en qué nivel de la cadena alimentaria ocurre dicho paso (Le y cols., 1994a).

b).- *Especiación en alimentos, bebidas y dietas en general.*

Permite evaluar el riesgo tóxico real a que está expuesta la población en general, por constituir la principal fuente de exposición.

Son escasos los estudios de especiación de arsénico en alimentos y dieta total. En las dietas (y matrices ambientales) además de los problemas de sensibilidad de la técnica, existe la dificultad de tener matrices reales homogéneamente enriquecidas y equilibradas con los analitos a determinar. El CBR (Community Bureau of Reference) tiene en marcha diversos proyectos de determinación de As(III), As(V) y organoarsenicales en disoluciones, pescados y suelos (Quevauviller y cols., 1993). La puesta a punto de métodos analíticos se realiza, por ejemplo, sobre matrices de pescado artificiales (Rubio y cols., 1992).

Vaessen y van Ooik (1989) analizaron el As total de 311 dietas de 24 horas en Alemania, y diferenciaron entre As inorgánico y As total en aquéllas cuyo contenido era más elevado (20 muestras). La ingesta total de As en los voluntarios osciló entre 40-950 $\mu\text{g}/\text{día}$, mientras que para la forma inorgánica se encontró entre <20 a 60 $\mu\text{g}/\text{día}$. La fracción inorgánica representó por término medio el 30% del As total (rango: 3-50%), disminuyendo dicha fracción conforme aumentaba la ingesta total de As. Por tanto, el incremento en la ingesta total de arsénico se

correlaciona proporcionalmente con el arsénico orgánico, pero no con un aumento progresivo del inorgánico, que generalmente representaba menos del 50 % de la Ingesta diaria tolerable (TDI).

Los estudios que diferencian entre As inorgánico y orgánico, revelan que las formas inorgánicas en pescados representan el 2,9-26,0 % del arsénico total, mientras que el arsénico orgánico representa el 74-90 % (Brooke y Evans, 1981; Münz y Lorenzen, 1984).

c).- Especiación en muestras biológicas de animales de experimentación y humanos.

Posibilitan el conocimiento de las distintas fases toxicocinéticas (absorción, distribución, biotransformación y eliminación), así como profundizar en los mecanismos de toxicidad.

Los estudios de especiación del elemento en muestras biológicas y en diferentes órganos de animales de experimentación y humanos, son muy útiles e interesantes para dilucidar los perfiles de distribución y acumulación de las distintas formas químicas del As. Asimismo, permiten conocer las posibilidades y la capacidad de biotransformación de las especies del elemento por los diferentes órganos.

Así, Hughes y cols. (1994) estudian la diferente distribución de arseniato en ratón en función de la dosis (0,5-5000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), por exposición oral aguda a ^{73}As -arseniato en agua. La recuperación de la radioactividad varió entre 83-89%; el 66-79% de la dosis se excretó en orina, el 10-18% en heces y <1% permaneció en tejidos, existiendo un aumento de la radioactividad en varios tejidos al aumentar la dosis administrada. Los estudios de especiación de las muestras de orina revelan que la eliminación de arseniato fue del 3-15%, siendo DMAA el metabolito predominante (51-64% de la dosis) no observándose un efecto de la dosis sobre su eliminación. Conforme la dosis aumenta, la cantidad de MMAA aumentaba de

forma significativa (0,1-1% de la dosis). En el nivel de dosis más elevado (5000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) de arseniato, hay un incremento de la excreción urinaria de arsenito y de arseniato en las dos primeras horas de excreción urinaria, y el máximo de eliminación de DMAA sufrió un retraso (8 horas) disminuyendo asimismo la cantidad excretada. Se sugiere que dependiendo de la dosis de arseniato, puede haber modificaciones en la biotransformación de los arsenicales: altas dosis conducen a la acumulación de intermedios que son más reactivos que DMAA, y ello puede aumentar la toxicidad.

Según Morel y cols. (1995), existe una variabilidad interindividual en la excreción urinaria (24 h.) de las diferentes especies arsenicales (As_{inor} , MMAA, DMAA) en ratones expuestos a arsenito sódico; la excreción urinaria de los metabolitos se correlaciona también con la excreción urinaria de urea, creatinina y S-adenosilmetionina. Por ello, estos estudios de especiación permiten sugerir que el estado redox global intracelular GSH-dependiente está involucrado en la variabilidad de excreción urinaria de metabolitos del As inorgánico, así como en la regulación de las etapas de reducción y metilación del elemento.

Tradicionalmente la valoración de esta exposición se llevaba a cabo por determinación de la concentración total de As en orina, sin distinguir de la absorción de organoarsenicales (principalmente arsenobetaina) a través del consumo de alimentos. Hoy día, la especiación en muestras de orina está posibilitando conocer la exposición ocupacional al As inorgánico.

Se sabe que cuando se ha producido una exposición a arsénico inorgánico, las especies que son significativas en la orina son As(III) y (V), MMAA y DMAA, por ello la determinación de las mismas es el método de elección para la monitorización biológica de los trabajadores expuestos. Ya se han comentado en el capítulo 5 los diversos estudios acerca de la utilidad de la especiación de As en orina como método de evaluación de la exposición al elemento, en diversas circunstancias (Yamauchi y cols., 1989; Hakala y cols., 1995).

La posibilidad de diferenciar entre As excretado, como resultado del consumo de alimentos marinos y el excretado por exposición a las especies inorgánicas, es de gran importancia para evaluar el riesgo potencial producido por exposición ambiental y/o ocupacional (ver capítulo 5: Le y cols., 1993; Buchet y cols., 1994; Le y cols., 1994b).

Claudia Horce Pagliai
eliminación toxicológica del arsénico y sus especies
en aguas bebidas de consumo en Andalucía

Apto Cum Laude

78

octubre

96

