http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

TOXICOLOGIA AMBIENTAL

Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental

Carlos E. Peña
Dean E. Carter
Felix Ayala-Fierro

Southwest Hazardous Waste Program
A Superfund Basic Research and Training Program
At the College of Pharmacy
The University of Arizona
© 2001

RECONOCIMIENTO

Este trabajo se realizó gracias al apoyo del Instituto Nacional de Ciencias de la Salud Ambiental del Gobierno de los Estados Unidos de América dentro del Proyecto de Investigación Básica para el Superfund otorgado a la Universidad de Arizona (Grant P42 ESO 4940).

COPYRIGHT

This document is copyright © Carlos E. Peña, Dean E. Carter and Felix Ayala-Fierro, The University of Arizona 1996-2001. This Adobe Acrobat™ version was prepared as a courtesy for offline reading from the original online version, which is available at http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/. The online version is the latest and only authoritative version.

This document may be reproduced in whole or in part, without fee, subject to the following restrictions:

- The copyright notice above and this permission notice must be preserved complete on all complete or partial copies.
- If you distribute this work in part, instructions for obtaining the complete original version of this document must be included.
- Small portions may be reproduced as illustrations for reviews or quotes in other works without this permission notice if proper citation is given.

Exceptions to these rules may be granted for academic purposes by contacting the author.

How to cite this document

The original online version should be cited:

Peña, Carlos E., Dean E. Carter and Felix Ayala-Fierro. 2001. Toxicologia Ambiental: Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental. Distributed on the Internet via the Southwest Hazardous Waste Program website at http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/.

TABLA DE CONTENIDO

1 INTRODUCCIÓN 8

1.1 ELEMENTOS DE BIOLOGÍA....8
1.1.1 Bioquímica....8
1.1.2 Citología....23
1.1.3 Fisiología....30
1.2 DEFINICIÓN DE CONCEPTOS BÁSICOS....40
1.2.1 Toxicología ambiental....40
1.2.2 Medio ambiente....40
1.2.3 Exposición....41
1.2.4 Blanco....41
1.2.5 Ruta de exposición....41
1.2.6 Efecto tóxico....42
1.2.7 Dosis....42
1.2.8 Susceptibilidad individual....43
1.2.9 Suposiciones básicas....43
1.2.10 Riesgo....45
1.2.11 Evaluación de riesgos para la salud humana (ER)....45
1.2.12 Restauración ambiental....46
1.2.13 Prevención de la contaminación....47

2 TOXICOLOGIA AMBIENTAL 48

2.1 INTRODUCCIÓN....48
2.2 CUANTIFICACIÓN DE TÓXICOS EN EL ORGANISMO....49
2.2.1 Muestreo biológico....49
2.2.2 Biomarcadores....51
2.3 TOXICODINÁMICA....53
2.3.1 Absorción....54
2.3.2 Distribución....58
2.3.3 Excreción....60
2.3.4 Metabolismo....62
2.3.5 Toxicocinética....71
2.4 RESPUESTA TÓXICA....73
2.4.1 Caracterización de la respuesta tóxica....73
2.4.2 Factores que afectan la toxicidad....81
2.5 RELACION DOSIS-RESPUESTA....90
2.5.1 Curvas Dósis-Respuesta....91
2.5.2 Indices de toxicidad.....95

3 EVALUACIÓN DE RIESGOS AMBIENTALES 102

3.1 ANÁLISIS DE RIESGOS....102
3.1.1 Introducción....102
3.1.2 Conceptos Básicos....102
3.1.3 Usos del análisis de riesgos....103
3.1.4 Metodología y Técnicas....103
3.2 ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN....105
3.2.1 Escenario de exposición....105
3.2.2 Ruta de exposición....108
3.2.3 Cuantificación de la exposición....111
3.3 CARACTERIZACIÓN DE RIESGOS....114
3.3.1 Evaluación de la exposición....115

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3.3.2 Evaluación de la toxicidad 120
3.3.3 Selección de índices de toxicidad. 123
3.3.4 Estimación de riesgos 125

4 RESTAURACIÓN AMBIENTAL 137

4.1 PROYECTO DE REMEDIACIÓN 137
4.1.1 Estructura del proyecto 138
4.1.2 Información generada por el proyecto de restauración. 139
4.2 ESTUDIOS DE VIABILIDAD 140
4.2.1 Establecimiento de los objetivos de protección 140
4.2.2 Desarrollo y selección preliminar de alternativas 146
4.3 TECNOLOGIAS DE RESTAURACION AMBIENTAL 147
4.3.1 Métodos biológicos 149
4.3.2 Métodos químicos 154
4.3.3 Extracción 156
4.3.4 Técnicas de control 159
4.3.5 Manejo de medios contaminados 160

PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN 161

5.1 ESTRATEGIA DE PREVENCIÓN 162
5.1.1 Evaluación de riesgos para la prevención 163
5.1.2 Modelos de Predicción 163

ANEXO 165

6.1 EJEMPLOS DEMOSTRATIVOS 165
6.1.1 Cálculo de riesgos 165
6.2 EJEMPLO DE UN ARCHIVO EN LA BASE DE DATOS IRIS 167
6.3 EVALUACION DE RIESGOS PARA LA FAUNA SILVESTRE 188
6.3.1 Introducción 188
6.3.2 Los plaguicidas en el ambiente 189
6.3.3 Toxicología de peces 192

7 ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS 199

7.1 LISTA DE FIGURAS 199
7.2 LISTA DE TABLAS 200

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

DESCRIPCIÓN GENERAL

Día a día el mundo se enfrenta a la necesidad de crear una conciencia del medio ambiente. Las actividades industriales que se han vuelto necesarias para la vida moderna en los países desarrollados han generado una serie de peligros ambientales. Los países en desarrollo, al modernizarse han generado el mismo tipo de problemas, quizá más agudos debido a la falta de recursos económicos, científicos, tecnológicos y humanos que los enfrenten.

La frontera entre México y los Estados Unidos es una región donde se palpa más claramente ese futuro no deseable. La sociedad norteamericana por un lado genera y afronta los problemas ambientales que se presentan en todo el mundo desarrollado, y por otro lado, en México se experimenta lo que sucede en una sociedad en la que se produce un desarrollo industrial acelerado, sin contar con los recursos suficientes que controlen eficientemente el deterioro ecológico.

Para que la población pueda vivir y desarrollarse en un ambiente sano, los peligros deben ser prevenidos en sus orígenes o restaurar los daños ya producidos. Afortunadamente se cuenta con los conocimientos para realizar la mayor parte de estas tareas.

Los problemas ambientales se discuten en el seno de la sociedad, sin separar los problemas reales de los que están sustentados sólo en informaciones anecdóticas no comprobadas. Desafortunadamente con frecuencia se difunden en los medios de comunicación masiva los problemas ambientales en forma distorsionada, desacreditando las preocupaciones y esfuerzos legítimos de la comunidad. Es necesario que los actores sociales, incluyendo las autoridades, dispongan de métodos científicos para discriminar entre los dos extremos y poder actuar en forma responsable al tratar esta importante problemática.

Si bien, se puede encontrar abundante información científica sobre los peligros que corre el hombre al vivir en un medio deteriorado por la contaminación, muchas veces además de no estar reunida tal información, ésta se dirige solamente a especialistas en toxicología y a profesionales en otras ramas de las ciencias de la salud. Sin embargo, los miembros de la sociedad interesados en los problemas acarreados por la contaminación y en la restauración del medio ambiente, en general tienen otra formación académica.

Este libro nació del interés de la Universidad de Arizona por difundir los conocimientos en toxicología ambiental, entre los interesados en la reducción de los riesgos sociales producidos por la contaminación. Como parte de este Programa se decidió organizar cursos de difusión de la Toxicología Ambiental enfocados a la evaluación y manejo de riesgos producidos por la exposición a productos industriales tóxicos en el ambiente.

Los cursos se pensaron para audiencias formadas por funcionarios públicos, técnicos del sector de la producción y académicos en áreas diferentes de la toxicología.

El esfuerzo de la Universidad de Arizona fue apoyado por El Programa de Investigación Básica del Superfund de los Institutos Nacionales de Ciencias de la Salud Ambiental (National Institute of Enviromental Health Sciences).

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El libro se dirige principalmente a los profesionales de la ingeniería, por ser los actores en el diseño y operación de los procesos que produce la contaminación, así como de los esfuerzos para retirarla del ambiente. Este libro no descarta la posibilidad de que sea interesante y provechoso para otras personas. A los líderes de opinión los apoyará para informar y prevenir al público de los verdaderos riesgos producidos por la contaminación ambiental. A los ciudadanos en general, les ayudará a formarse una opinión para ejercer su derecho a vivir en un ambiente sano y no peligroso, ya que el saneamiento y conservación del medio ambiente redundan en la calidad de vida de la población.

Se orientó hacia evaluación de riesgos porque es la técnica que proporciona las herramientas para identificar y calificar, en forma racional, los problemas ambientales significativos. Es la base metodológica que fundamenta las estrategias de reducción de los riesgos para la salud pública a niveles que sean socialmente tolerables.

Este trabajo, en general, se enfoca a los problemas relacionados con los riesgos para la salud humana y no a los peligros para el medio ambiente mismo, aunque en el apéndice se presenta un ejemplo de como utilizar la misma metodología en el cálculo de parámetros ambientales para proteger otras especies de la biota. Para facilitar su lectura se organizó en cinco capítulos y un anexo.

La Introducción consta de dos secciones. La Sección 1.1 se escribió en beneficio de los lectores sin formación en ciencias biológicas o de la salud. Consiste en un resumen de los conceptos básicos de bioquímica y citología necesarios para entender los mecanismos, a nivel molecular y celular, por medio de los cuales los tóxicos producen daños, así como para entender las transformaciones que efectúa el organismo en las substancias extrañas que penetran sus barreras protectoras. Presenta también una descripción muy breve del funcionamiento de los órganos más importantes, involucrados en el ingreso, metabolismo y excreción de tóxicos. La Sección 1.2 define conceptos importantes de la toxicología ambiental usados en la evaluación de riesgos y en el estudio de la restauración del medio ambiente.

En el segundo capítulo denominado Toxicología Ambiental, se presentan los conceptos básicos que se consideran necesarios para comprender la derivación de los índices de toxicidad que se utilizan en evaluación de riesgos. Se dividió en cuatro secciones.

En la sección 2.1 se encontrarán aspectos fundamentales de la determinación de las concentraciones de tóxicos dentro del organismo o monitoreo biológico, así como la determinación de las transformaciones orgánicas cuantificables causadas por la exposición y que son útiles tanto para cuantificar la exposición como para medir sus efectos: los biomarcadores.

La Sección 2.2 se orienta hacia el estudio de la dinámica de los tóxicos dentro del organismo. Aquí se presentan los fenómenos que suceden desde que los tóxicos penetran a través de las superficies de contacto, entre el organismo y el medio ambiente, hasta que llegan a su blanco. Se analizan las variables que afectan el ingreso y transporte de los tóxicos, las modificaciones que les introduce el metabolismo y los mecanismos por medio de los cuales son excretados. Se presenta en forma asequible, el estudio de la variación de la concentración del tóxico con respecto al tiempo transcurrido desde que sucedió una exposición a través del modelo más sencillo de la toxicocinética.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

A continuación en la Sección 2.3 se define el concepto de respuesta tóxica. Se analizan las consecuencias que tiene para el organismo la llegada del tóxico a su blanco y se enfoca en el estudio del daño celular, así como a los factores internos y externos que influyen sobre la magnitud de ese daño.

La Sección 2.4 trata de la relación que existe entre la magnitud de la dosis y la respuesta tóxica o efecto. El estudio de esta relación es una parte fundamental de la toxicología ambiental que describe, en forma cuantitativa, la relación que existe entre la magnitud de los daños producidos y la cantidad de tóxico contactado. Se describe cómo se usa tal información para derivar los índices de toxicidad, que son la medida de la peligrosidad de una substancia usados en la evaluación de riesgos.

Evaluación de Riesgos Ambientales**,** se tituló al tercer capítulo que estudia la estimación de la exposición y la caracterización de los riesgos, decidimos dividirlo en tres Secciones .

La Sección 3.1 define los términos evaluación, análisis y manejo de riesgos.

La Sección 3.2 presenta la dinámica de los tóxicos en el medio ambiente y en su relación con las poblaciones humanas que pueden quedar expuestas a esos tóxicos, y tiene como propósito la descripción de la metodología para llegar a la evaluación de las exposiciones que enfrentan los individuos y las poblaciones.

La manera de caracterizar los riesgos para la salud de la población, provenientes de la presencia de tóxicos en el ambiente de un sitio determinado, se encuentra en la sección 3.3.

La Corrección Ambiental conforma el capítulo cuarto, que presenta la forma de diseñar la intervención de sitios contaminados con el propósito de eliminar, reducir o controlar los tóxicos ambientales que puedan representar un peligro para la salud de la población. Consta de dos Secciones.

La Sección 4.1 presenta cómo se puede usar la caracterización de los riesgos para fundamentar la decisión de intervenir un sitio, establecer las metas del proceso de intervención y evaluar las alternativas tecnológicas para llevar a cabo la restauración del ambiente contaminado.

La Sección 4.2 es un resumen de las principales tecnologías innovadoras para eliminar tóxicos del medio ambiente. Se describen los principales resultados de los esfuerzos de innovación tecnológica para restaurar el ambiente, sin trasladar los substratos contaminados fuera del sitio. Los métodos se denominan de restauración *in situ,* si los medios contaminados se tratan en el lugar en que se encuentran y, de restauración *ex situ,* si se desplazan dentro del sitio mismo para su tratamiento.

Las metodologías para caracterizar los riesgos y para diseñar la restauración ambiental de un sitio contaminado, que se describen en este trabajo, son las que requiere la Agencia para la Protección Ambiental del Gobierno de los Estados Unidos (EPA) para aprobar y diseñar la limpieza de los "Sitios Superfund"

La quinta parte trata la prevención de la contaminación. Es obvio que es más conveniente evitar la emisión de tóxicos al ambiente que tener que retirarlos de los medios contaminados, una vez que ya representan un problema para la salud. Está dividida en dos secciones. La primera discute los problemas que se enfrentan al tratar de evitar la contaminación en la ausencia de información toxicológica, y la segunda se centra en los métodos para estimar toxicidades y propiedades de

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

transporte de substancias en el ambiente y de cómo se aplica la metodología de evaluación de riesgos para diseñar e implementar estrategias de prevención.

El anexo presenta en la Sección 6.1 ejemplos numéricos de cálculo de dosis suministradas y de caracterización de riesgos, en la Sección 6.2 una copia de uno de los archivos de la base electrónica IRIS y la Sección 6.3 es un ejemplo del uso de la metodología de evaluación de riesgos para calcular la concentración ambiental tolerable de DDT en la exposición de peces.

Esperamos que todos estos conceptos sean de gran beneficio para quienes trabajan previniendo, enfrentando y/o contrarrestando los procesos de contaminación, así como para todas aquellas personas que sin estar involucradas directamente, sus actividades influyen en que todos disfrutemos de un ambiente sano.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Elementos de biología

La toxicología estudia los mecanismos de ingreso, transformación y excreción de los tóxicos, así como el estudio de los mecanismos a nivel molecular y celular de los procesos de producción de daños y de desintoxicación.

La descripción de esos procesos tiene por objetivo principal entender las causas de la gran variabilidad que existe en la respuesta de los diferentes individuos y especies a la agresión química. La variabilidad de la respuestas tóxicas obliga, en el estudio de la toxicología ambiental, al tratamiento probabilístico de las posibilidades de daño, en lugar de la estimación cuantitativa del daño mismo.

La mayoría de los ingenieros no estudian durante su formación profesional los procesos químico/biológicos que suceden dentro de un organismo vivo, por lo que se consideró conveniente incluir, como apoyo, el material que se presenta en esta sección la cual se divide en tres subsecciones. La primera, está dedicada a la presentación de los conceptos básicos de bioquímica necesarios para estudiar las transformaciones que sufren los tóxicos una vez que entran al organismo. La segunda, describe la estructura de una célula “típica” de un organismo superior, al nivel estrictamente necesario para adquirir una base adecuada para el estudio posterior de los daños ocasionados por los tóxicos en las células de los tejidos blanco. La tercera subsección, se dedica a la descripción de los órganos más importantes involucrados en el ingreso, distribución, metabolismo y excreción que son frecuentemente los sitios de acción de los tóxicos.

1.1.1 Bioquímica

1.1.1.1 Introducción

La bioquímica estudia la base molecular de la vida. En los procesos vitales interaccionan un gran número de substancias de alto peso molecular o macromoléculas con compuestos de menor tamaño, dando por resultado un número muy grande de reacciones coordinadas que producen la energía que necesita la célula para vivir, la síntesis de todos los componentes de los organismos vivos y la reproducción celular.

Al conjunto de reacciones que suceden dentro de los seres vivos se le llama metabolismo.

Actualmente se conoce a detalle la estructura tridimensional de las macromoléculas de mayor importancia biológica, los ácidos nucleicos y las proteínas, lo que ha permitido entender a nivel molecular sus funciones biológicas.

Gracias al conocimiento de la estructura de los ácidos nucleicos, se esclarecieron los mecanismos de transmisión de la información genética de generación a generación, y también los mecanismos de expresión de esa información, la cual determina las propiedades y funciones de las células, los tejidos, los órganos y los organismos completos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Conocer a detalle la estructura de varias proteínas ha sido muy útil en la elucidación de los mecanismos de las reacciones enzimáticas. Prácticamente todas las reacciones que integran el metabolismo son reacciones enzimáticas.

El tipo de especie química y los mecanismos de acción que intervienen en el almacenamiento, replicación y transferencia de la información genética, así como las reacciones que forman el metabolismo son prácticamente idénticas, desde las bacterias hasta los organismos superiores. No todas las células contienen y expresan la misma información, pero las reacciones que sí llevan a cabo, utilizan enzimas practicamente idénticas. De hecho las diferencias y similitudes entre ellas se han utilizado para establecer la secuencia de aparición de las especies. Los virus tienen algunas variantes, por ejemplo; los cromosomas de los retrovirus están constituidos por moléculas de ARN y en algunos fagos (virus que atacan a las bacterias) tienen ADN de una sola cadena. Los virus no cuentan con un metabolismo que les permita vivir en forma autónoma, sólo se pueden reproducir y expresarse dentro de las células que invaden.

Las reacciones que constituyen el metabolismo están localizadas en determinadas estructuras celulares que forman unidades discretas que se llaman organelos. Las reacciones se llevan a cabo en los lugares en donde se encuentran las enzimas que las catalizan. La célula no es un saco sin estructura, sino que es un sistema muy complejo y altamente organizado. En la subsección 1.1.2, denominada Citología, se encontrará la descripción de las estructuras celulares.

En seguida vamos a presentar la información más relevante, para la toxicología, sobre las macromoléculas biológicas en lo que se refiere a su estructura y función. Frecuentemente se mencionará la localización dentro de la célula de los sitios donde se sintetizan y actúan.

1.1.1.2 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas que tienen múltiples funciones en el organismo; controlan las condiciones fisicoquímicas dentro de la célula, forman parte de las estructuras celulares y sobre todo catalizan prácticamente todas las reacciones que tienen lugar en la célula, y en este caso se les denomina **Enzimas**.

La presencia de una enzima y su concentración en un compartimento biológico dado, determina la capacidad de ese compartimento de llevar a cabo una reacción bioquímica y la velocidad a la cual tiene lugar.

Se conoce a detalle la estructura de varias proteínas, así como la relación que existe entre esa estructura y la función de varias de ellas. Se conoce también la cinética y los mecanismos de un número considerable de reacciones enzimáticas.

Estructura. Las unidades estructurales de las proteínas son los aminoácidos. Todas las proteínas están construidas a partir del mismo conjunto de 20 aminoácidos. El carbono alfa, enmarcado en azul en la figura que sigue, de todos los aminoácidos sostiene un grupo amino, un grupo carboxilo y el residuo característico de cada aminoácido.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

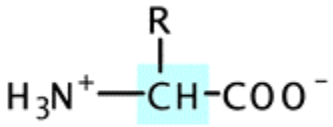


Figura 1.1.1.A Estructura de un Aminoácido.

Los residuos R tienen diferente forma, carga, tamaño, reactividad química y capacidad de formar puentes de hidrógeno. El residuo es una cadena alifática, en el caso de la **glicina** (Gli), **alanina** (Ala), **valina** (Val), **leucina** (Leu), **isoleucina** (Ile) y **prolina** (Pro). En la **serina** (Ser) y **treonina** (Thr) el residuo es una cadena hidroxialifática. En los aminoácidos **triptofano** (Tri), **tirosina** (Tir) y **fenilalanina** (Phe) el residuo es una cadena aromática. La **lisina** (Lis), **arginina** (Arg) y la **histidina** (His) tienen residuos básicos y en el ácido **aspártico** (Asp) y el ácido **glutámico** (Glu) el residuo es un ácido carboxílico. En la **asparangina** (Asn) y en la **glutamina** (Gln) el residuo tiene una función amida y en la **cisteina** (Cis) y en la **metionina (**Met) contiene un átomo de azufre.

Los aminoácidos se unen uno al otro, vía los grupos alfa amino de un aminoácido con el grupo alfa carboxilo de otro aminoácido. A esta unión se le denomina **enlace peptídico** y al producto se le denomina **péptido**.

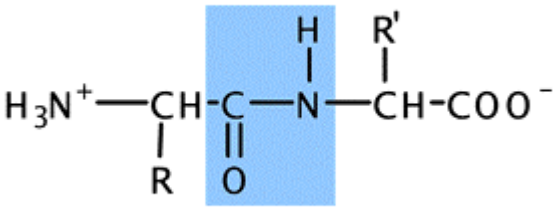


Figura 1.1.1.B Enlace Peptídico.

Si se unen dos aminoácidos se le denomina dipéptido, y si son muchos se le llama polipéptido. **Las proteínas están formadas por uno o más polipéptidos.** En algunas ocasiones los polipéptidos están formados por más de 100 uniones peptídicas, o sea, son largas cadenas integradas por un número relativamente grande de aminoácidos.

A la secuencia en la cual están acomodados los aminoácidos en una cadena peptídica se le denomina estructura primaria y se determina genéticamente. La estructura primaria determina la estructura tridimensional de la proteína, la que a su vez determina su función.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

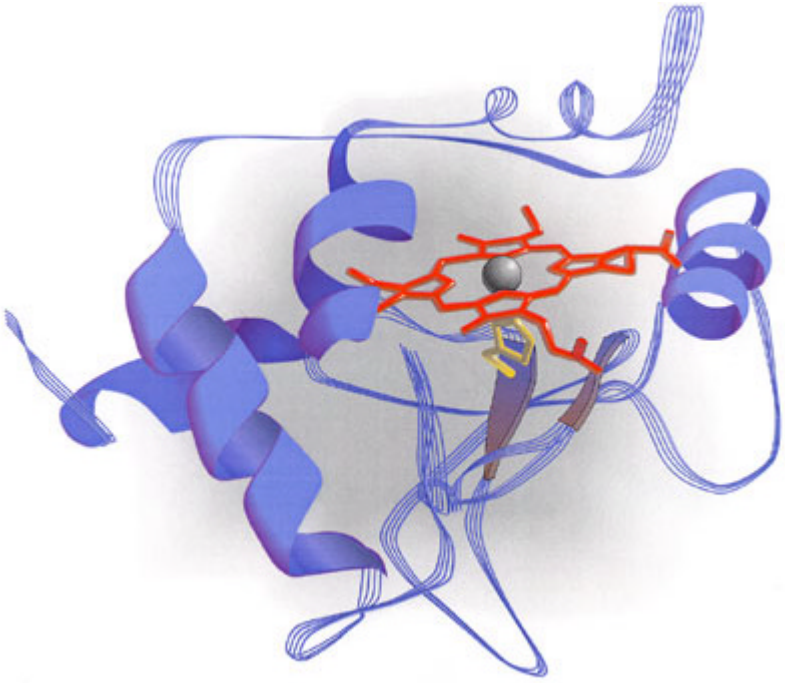


Figura 1.1.1.C Estructura Tridimensional de una Proteína (Citocromo).

Los polipéptidos se sintetizan en los organelos citoplasmáticos llamados ribosomas. Los aminoácidos se van uniendo, uno a uno, a la cadena del polipéptido en formación. La selección de cuál aminoácido se integra en un punto dado de la cadena, está determinada por el mensaje genético transportado desde los cromosomas por medio de los ácidos ribonucleicos.

Una vez que se termina la construcción de la cadena, el polipéptido se libera al citoplasma donde se dobla sobre sí mismo hasta obtener la estructura tridimensional propia, pudiéndose agrupar con otros polipéptidos para constituir la proteína biológicamente activa.

La estructura tridimensional está determinada por las interacciones entre los residuos de los aminoácidos que forman la cadena peptídica. Los grupos lipofílicos tienden a estar en el centro de la molécula y los grupos polares hacia afuera. Los residuos sulfurados forman uniones disulfhidrilo que estabilizan la forma de la proteína. Las uniones del tipo interacciones de van der Waals y los puentes de hidrógeno ayudan a posicionar las cadenas en el espacio, estabilizando la estructura tridimensional. El proceso por medio del cual la proteína adquiere su conformación en condiciones fisiológicas es espontáneo, no está catalizado por ninguna enzima y la conformación final depende exclusivamente de la estructura primaria.

Cuando la proteína contiene, además de las cadenas de polipéptidos otros compuestos diferentes, se dice que la proteína es compleja. Ejemplo de proteínas complejas son las glicoproteínas involucradas en las inmunoreacciones, las hemoproteínas como la

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

hemoglobina y la mioglobina involucradas en el transporte de oxígeno y, el citocromo P-450 involucrado en reacciones de óxido/reducción.

Enzimas. En su función como enzimas, las proteínas hacen uso de su propiedad de poder interaccionar, en forma específica, con muy diversas moléculas. A las substancias que se transforman por medio de una reacción enzimática se les llama substratos. Los substratos reconocen un sitio específico en la superficie de la proteína que se denomina **sitio activo**.

Al ligarse los sustrato a sus sitios activos en la proteína, quedan orientados de tal manera que se favorece la ruptura y/o formación de determinadas uniones químicas, se estabilizan los estados de transición al mismo tiempo que se reduce la energía de activación. Esto facilita la reacción e incrementa su velocidad varios órdenes de magnitud.

La enzimas tienen una gran especificidad, por ejemplo catalizan la transformación de sólo un substrato o grupo funcional, pudiendo discriminar entre dos enantiomorfos.

Normalmente el nombre de una enzima se forma con el nombre de la reacción que cataliza o el nombre del sustrato que transforman, terminando el nombre en "asa". Por ejemplo:

- a las enzimas que transfieren un átomo de oxígeno a un metabolito se les denomina oxigenasas,
- a las que transfieren un residuo de ácido glucurónico del ácido UDPglucurónico a un metabolito o xenobiótico, se le conoce como UDP glucuronil transferasa,
- a las enzimas que catalizan la adición de una de las cuatro bases a una molécula de ADN en formación se le denomina ADN sintetasa o ADN polimerasa, las que hidrolizan el ADN se le llama ADNasa, etc.

Frecuentemente en la literatura se refieren en forma genérica a las enzimas que catalizan un tipo de reacción, por ejemplo a las que catalizan la oxidación de los metabolitos vía la transferencia de un átomo de hidrógeno a un determinado receptor, se les conoce como deshidrogenasas. En ocasiones se dice alcohol deshidrogenasa, o aldehído deshidrogenasa, cuando el compuesto que sede el hidrógeno es un alcohol o un aldehído. Sin embargo, en realidad las enzimas son más específicas que eso y actúan sobre un alcohol determinado y no en todos. De hecho, el nombre debería ser más específico y referirlo al nombre del substrato, por ejemplo; si el substrato es etanol la enzima debe de llamarse etanol deshidrogenasa. Hay otro tipo de reacciones en las que las enzimas que las catalizan reciben un nombre genérico, como las quinasas que catalizan la transferencia a un substrato de un ión fosfato del ATP. La glucoquinasa cataliza la fosforilación de glucosa en el carbón 6 para formar glucosa 6 fosfato.

Existe un método sistemático, aprobado por las asociaciones internacionales de bioquímica, para integrar el nombre de una enzima, pero el mencionado anteriormente es el que se utiliza en este trabajo.

Uniones tóxicos-proteínas. No siempre las interacciones entre las proteínas y los compuestos de relativo bajo peso molecular son del tipo enzima-sustrato. Pueden dar lugar a asociaciones de adición que no producen cambios en la cosntitución química del aducto. Esto sucede en la captación de tóxicos por las proteínas de la sangre y es una función muy importante dentro de los mecanismos de protección del organismo a la presencia de compuestos extraños ya que reduce la concentración de tóxicos libres en el plasma

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

sanguíneo. El tóxico no asociado a proteínas es el que se puede transportar mas fácilmente a los tejidos.

1.1.1.3 Ácidos nucleicos

De acuerdo a la composición química, los ácidos nucleicos se clasifican en ácidos desoxiribonucleicos (ADN) que se encuentran residiendo en el núcleo celular y algunos organelos, y en ácidos ribonucleicos (ARN) que actúan en el citoplasma. Se conoce con considerable detalle la estructura y función de los dos tipos de ácidos.

Estructura. El conocimiento de la estructura de los ácidos nucleicos permitió la elucidación del código genético, la determinación del mecanismo y control de la síntesis de las proteínas y el mecanismo de transmisión de la información genética de la célula madre a las células hijas.

A las unidades químicas que se unen para formar los ácidos nucleicos se les denomina **nucleótidos** y al polímero se le denomina **polinucleótido** o ácido nucleico.

Los **nucleótidos están formados por una base nitrogenada, un grupo fosfato y un azúcar**; ribosa en caso de ARN y desoxiribosa en el caso de ADN.

Las bases nitrogenadas son las que contienen la información genética y **los azúcares y los fosfatos tienen una función estructural** formando el esqueleto del polinucleótido.

En el caso del ADN las bases son dos purinas y dos pirimidinas. Las purinas son A (**Adenina**) y G (**Guanina**). Las pirimidinas son T (**Timina**) y C (**Citosina**) . En el caso del ARN también son cuatro bases, dos purinas y dos pirimidinas. Las purinas son A y G y las pirimidinas son C y U (**Uracilo**).

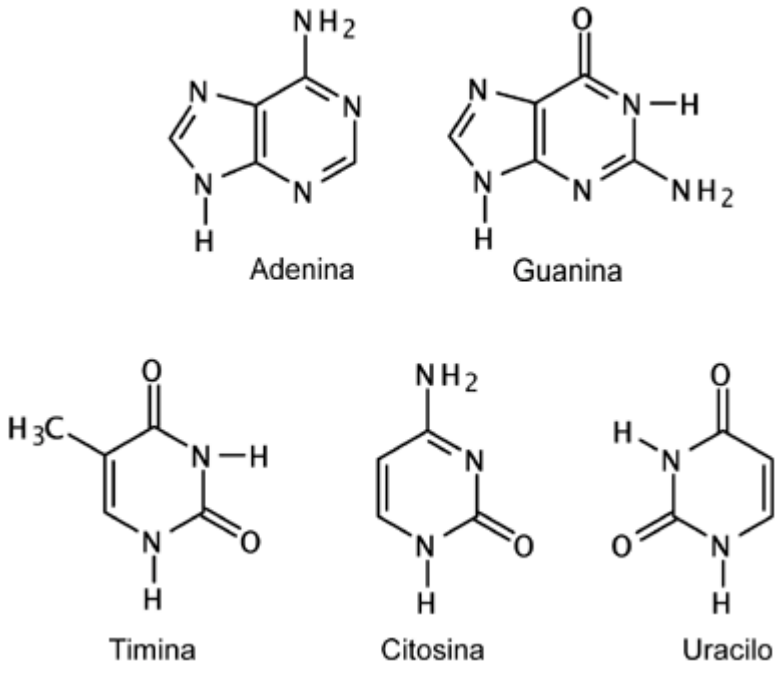


Figura 1.1.1.D Estructura de las Bases Nitrogenadas.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Las bases se unen al carbono 1’ del azúcar y el fosfato en el carbón 5’ para formar el nucleótido.

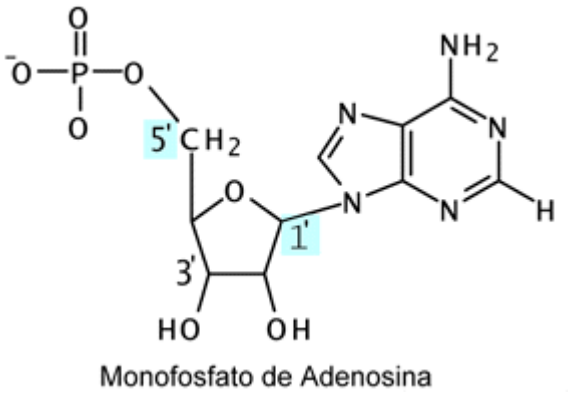


Figura 1.1.1.E Estructura de un Nucleótido.

Los nucleótidos se unen para formar el polinucleótido por uniones fosfodiester entre el carbono 5’ de un nucleótido y el carbono 3’ del siguiente.

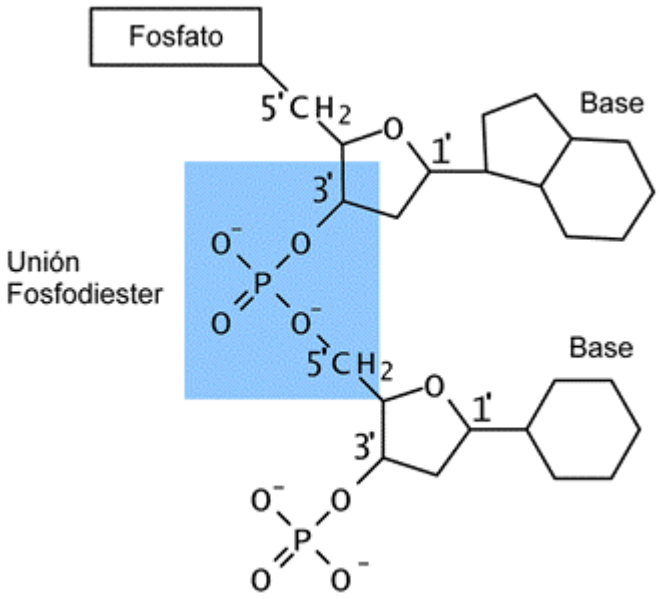


Figura 1.1.1.F Unión Fosfodiester en los Ácidos Nucleicos.

Un dinucleótido en el que se unieron un nucleótido con la base A con un nucleótido con la base G y el enlace fosfodiester se formó entre el carbono 3’del nucleótido con base A y el 5’del nucleótido con base G, se representa simplemente como AG. Si a este dinucleótido se le agrega otro nucleótido en el carbono 3’ y este nucleótido tiene una base T, el trinucleótido

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

resultante se representará por AGT. Ésta es la forma simplificada en que se acostumbra representar los polinucleótidos.

El ADN está formado por dos cadenas muy largas de polinucleótidos unidas entre sí por puentes de hidrógeno específicos entre las bases de las dos cadenas. La base de una cadena que se une por los puentes de hidrógeno con la base de la otra cadena se dice que forman un par de bases. A se parea con T y G con C (Figura 1.1.1.G).

Las dos cadenas se encuentran arregladas en una estructura helicoidal alrededor de un eje común por lo que recibe el nombre de doble hélice. Las bases se encuentran acomodadas hacia el eje de la doble hélice, mientras que el azúcar y los fosfatos se encuentran orientados hacia el exterior de la molécula.

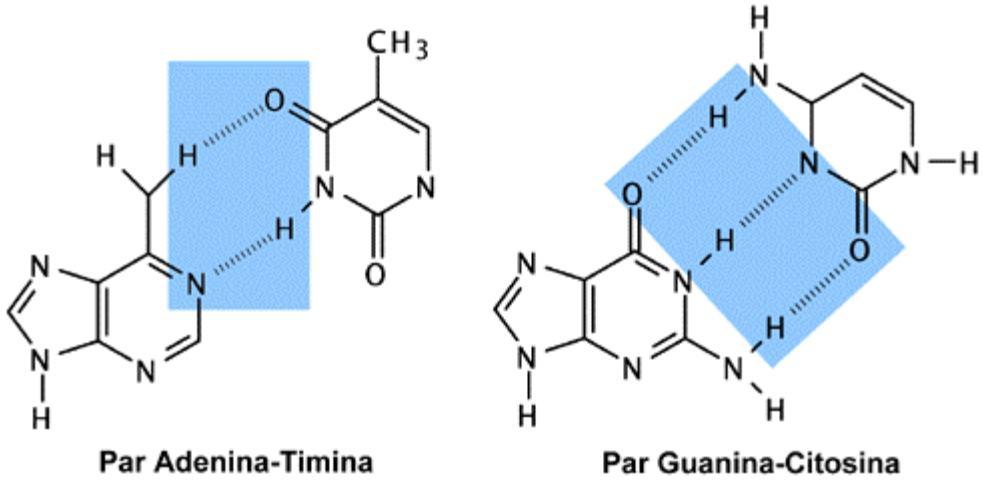


Figura 1.1.1.G Estructura de los Pares de Bases.

El dimensiones de la hélice, independientemente de la especie, son las siguientes: **diámetro 20 Angstrom** y la **longitud del paso 34 Angstrom** el cual **está constituido por 10 residuos de nucleótidos**. El tamaño de la molécula de ADN de doble hélice se expresa en miles de bases o kb. **La longitud de 1kb es entonces 0.34 micras**.

Una molécula de ADN de un milímetro de longitud estará formado de 3 mil kb o sea tres millones de bases.

Así pues la molécula de **ADN es un largo filamento de 20 Angstrom de diámetro cuya longitud depende del número de kb,** el cual a su vez depende de la especie. El rango de tamaño va desde **2 micras (5 kb) en el virus SV40**, hasta **casi un metro (3 x 10^6 kb) en cromosomas humanos**. **El genoma de *E. coli***, no tiene extremos, o sea **forma un círculo, y el perímetro tiene una longitud de 1.4 mm (4000kb).** El genoma de los animales superiores no forma círculos, es una estructura lineal abierta.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

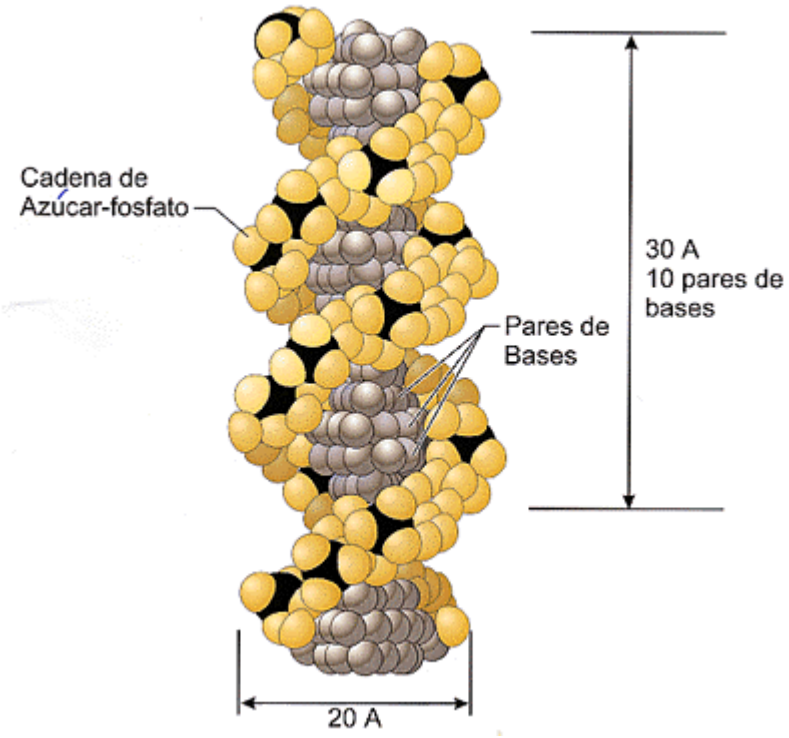


Figura 1.1.1.H Estructura de la Doble Hélice

En los cromosomas estas moléculas se arreglan en estructuras más compactas en las que la doble hélice se enrolla sobre sí misma. En el caso de las bacterias, la molécula de ADN de más de un milímetro de longitud se arregla dentro de la bacteria que sólo tiene una longitud de una micra (o sea es una longitud mil veces menor).

El ARN es un filamento de una sola cadena, no forma doble hélice. La presencia de un oxígeno en la posición 2' de la ribosa impide que se forme la doble cadena de la manera en que se forma en el ADN. El filamento de ARN se puede enrollar sobre sí mismo mediante la formación de pares de bases en algunas secciones de la molécula.

Existen varios tipos de ARN cada uno con función distinta. Los que forman parte de las subunidades de los ribosomas se les denomina **ARN ribosomal (rARN),** los ARN que tienen la función de transportar los aminoácidos activados, desde el citosol hasta el lugar de síntesis de proteínas en los ribosomas; se les conoce por **ARN de transferencia (tARN)** y los ARN que son portadores de la información genética y la transportan del genoma (molécula de ADN en el cromosoma) a los ribosomas son llamados **ARN mensajero (mARN).** El tamaño de las moléculas de ARN es mucho menor que las del ADN. En el caso de *E. coli* va de menos de 100 nucleótidos en los tARN hasta casi 4000 (4kb) en rARN.

Información genética. La estructura de la doble hélice para el ADN fue originalmente propuesta por Watson y Crick (WyC) en 1953, postulando que **la secuencia en la cual se encuentran las bases a lo largo de la molécula de ADN es lo que contiene la información genética**. No existe ningún impedimento estérico que limite la secuencia de bases, cualquier base puede seguir a cualquier otra.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Transmisión. Con estas bases, WyC propusieron el mecanismo de duplicación del ADN por medio del cual, las dos células hijas provenientes de una división celular contienen copias idénticas del ADN presente en la célula que se dividió. **A la duplicación del ADN se le conoce con el nombre de replicación.**

Durante la replicación, las dos cadenas se van separando y cada una de ellas sirve de patrón para la síntesis de su cadena complementaria. Las bases se van agregando una a una y la selección de cuál base entra en un sitio específico de la cadena en formación, queda determinada por la base en la cadena patrón con la que se va a aparear.

Donde hay una A en la cadena patrón, se inserta una T en la cadena en proceso de formación y, donde hay una T se inserta una A, y lo mismo sucede con el apareamiento de G y C. La nueva cadena tiene una secuencia de bases complementaria a la cadena original.

El modelo de duplicación del ADN se dice que es semi-conservado, porque la mitad del ADN de un cromosoma, una cadena completa, proviene de la célula paterna y la otra mitad, la otra cadena, se sintetiza durante el proceso de replicación.

Este es el mecanismo propuesto por Watson y Crick para explicar la transmisión de la información genética de una generación a otra.

La formación de las uniones fosfodiester está catalizada por la ADN polimerasa. La ADN polimerasa no formará la unión fosfodiester, a menos que la base que está entrando a la molécula, sea complementaria a la base existente en la cadena patrón. La frecuencia con la que se inserta una base equivocada es menor a 1 en 100 millones.

Flujo. El apareamiento de bases es también el mecanismo para enviar la información genética desde el núcleo hasta los ribosomas y dirigir la síntesis de proteínas. En este caso una porción de una de las cadenas del ADN sirve de patrón para la síntesis de ARN y la secuencia de bases en el ARN es complementaria a la que se presenta en la porción de la cadena que se está copiando.

Al ARN que se sintetiza en esta forma se le denomina ARN mensajero o mARN. **La síntesis del ARN es catalizada por la ARN polimerasa**, que al igual que la ADN polimerasa es una enzima patrón-dependiente.

El **mARN se une, en el citoplasma, a las dos subunidades ribosomales, constituyendo el ribosoma activo, que es la estructura celular responsable de la síntesis de proteínas**. Es en este organelo donde el **mARN especifica la secuencia en que deben de insertarse los aminoácidos en la síntesis de polipéptidos. Ésta es la forma en que la información contenida en los cromosomas se traduce en la especificación de la estructura primaria de las proteínas.** Como ya se mencionó, la estructura primaria determina la estructura tridimensional de la proteína, la que a su vez determina su funcionalidad.

Al proceso de copiado de la información genética contenida en el ADN cromosomal durante la síntesis del mARN se le llama **transcripción**. Al proceso de lectura, en el ribosoma, de la información transportada por mARN, durante la síntesis de proteína, se le conoce como **traducción**.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

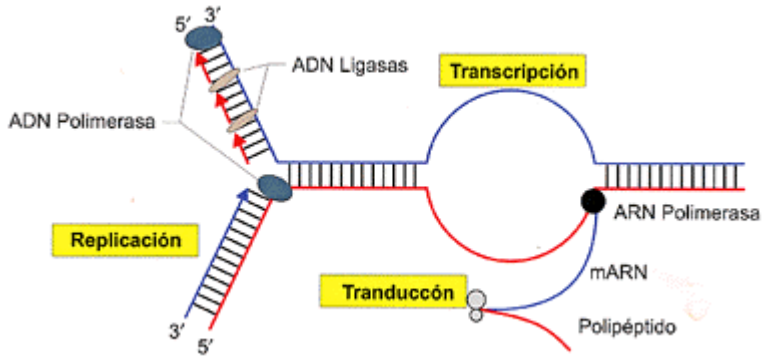


Figura 1.1.1.I Mecanismo de replicación, transcripción y traducción

La porción de ADN que contiene la información para codificar una proteína determinada se le da el nombre de **gene** y normalmente recibe el mismo nombre de la proteína que codifica, usando casi siempre, una abreviación de tres letras. A la porción de ADN que codifica un conjunto de proteínas que entran en un paso del metabolismo se le llama **operón**. Por ejemplo; al conjunto de genes que intervienen en la codificación de las proteínas que intervienen en la utilización de lactosa se les llama **lac operón**.

El lenguaje utilizado para describir el proceso de dirección de la síntesis de proteínas por los genes del cromosoma refleja la interpretación de que se trata de un flujo de información.

Tabla 1.1.1.A El Código Genético

	U	**C**	**A**	**G**	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr **Alto** **Alto**	Cys Cys **Alto** Trp	**U** **C** **A** **G**
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	**U** **C** **A** **G**
A	Ile Ile Ile Met (**Inicio**)	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	**U** **C** **A** **G**
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	**U** **C** **A** **G**
Primera Posición (5’-)	Segunda Posición				Tercera Posición (3’-)

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El mensaje que está contenido en el genoma se encuentra escrito en un lenguaje de 4 letras (las cuatro bases), el cual se transcribe usando el mismo lenguaje, al sintetizar el mARN. La síntesis de proteínas se le denomina traducción porque ahora se pasa del lenguaje de 4 letras a otro con 20 letras (los 20 aminoácidos). Para pasar de un lenguaje a otro se necesita un código para hacer la traducción y se le denomina código genético.

Las equivalencias entre los dos lenguajes se presentaron en la tabla anterior. Tres bases contiguas (**un triplete**) **codifican un aminoácido**, así como también para la **puntuación del mensaje**. Se determinó qué tripletes codifican cada aminoácido y qué tripletes indican el inicio y la terminación del mensaje. Al triplete se le dio el nombre de **codón**. Se encontró que algunos aminoácidos podían ser codificados por más de un codón, o sea hay codones que son sinónimos. Por esta razón se dijo que **el código genético es degenerado.**

Modificaciones. Al estudio de las bases moleculares de la herencia se le conoce como **genética molecular** o **biología molecular** y a las modificaciones artificiales del ADN con el fin de cambiar el mensaje genético que contiene se le conoce como **ingeniería genética**.

Se pueden agregar porciones de ADN que contienen genes que no están presentes en el cromosoma incrementando el número de genes de la célula, o bien se pueden inducir cambios que eliminen genes activos presentes en la célula haciendo en este caso que la célula pierda cierta capacidad genética.

Cuando se modifica la molécula de ADN de un organismo agregándole porciones de ADN provenientes de otro organismo se dice que se hizo una **recombinación** del ADN y al resultado se le llama **ADN recombinante**. Esta técnica se usa para producir organismos capaces de hacer funciones que el organismo original no tenía. Por ejemplo se puede introducir en una bacteria el gene de la insulina humana y la bacteria adquirirá la capacidad de sintetizar ese polipéptido.

Tabla 1.1.1.B Mutaciones del ADN.

Tipo de mutación	Secuencia del ADN	Secuencia del polipéptido Cadena superior
Ninguna	AAT CGG GAG TTA GCC CTC	Asn Arg Val
Transversión (GC:TA)	AAT CCG ***T***AG TTA GCC ***A***TC	Asn Arg **(fin)**
Transición GC:AT	AAT ACC ***A***AG TTA GCC ***T***TC	Asn Arg **Lis**
Incerción, cambio de marco Produce la sig. secuencia	A***X***A TCG GGA T T AGC CCT A***T***A TCG CCT T***A***T AGC CCT	**Ileu Ser Gli**

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

En párrafos anteriores se mencionó que la replicación del ADN se hace con gran fidelidad, con una frecuencia de errores del orden de 10^{-8}, sin embargo, sí ocurren errores.

Si se substituye una purina por otra, o una pirimidina por otra, al cambio se le llama **transición**; si se substituye una purina por una pirimidina al cambio se le llama **transversión;** si se agrega o elimina una base entonces se produce lo que se llama un **cambio de marco.** En este último caso, se lee en forma errónea todo el mensaje que sigue al punto de cambio. En algunas ocasiones, cuando se modifica una de las bases y la ADN polimerasa no la identifica, entonces introduce una A y el cambio final será la introducción de una T en la cadena patrónLa célula tiene mecanismos para eliminar los errores o cambios que ocurren en el ADN, bien sea durante la síntesis o cuando ya está formado. Si la célula no repara los cambios y entra en el proceso de duplicación con el ADN modificado, el cambio se fija y se vuelve permanente. El gene modificado puede ahora codificar una proteína diferente, y si este es el caso, se dice que tuvo lugar una **mutación**. En la Tabla 1.1.1.B se presenta el efecto de los cambios en el ADN sobre la estructura primaria del polipéptido que codifica.

Existen varias substancias **que incrementan significativamente la frecuencia con la que ocurren cambios en las bases que se introducen en el ADN** que se está sintetizando y se les denomina **mutágenos**. La mayoría de los cancerígenos son mutágenos.

Tabla1.1.1.C Mutágenos y su Efecto sobre el ADN.

Mutágeno	Mecanismo	Resultado en el ADN
Agentes alquilantes (nitrosourea,nitrosoguanidina)	Se une covalentemente y forma sitios apurínicos	Transición y transversión
Agentes desaminantes (ácido nitroso)	Adenina-hipoxantina y citosina-uracilo	Transición
Base análoga (2-aminopurina)	Substitución durante la replicación del ADN	Transición
Agente intercalante (antridinas, antraciclinas)	Inserción o eliminación de pares de bases	Cambio de cuadro
Fraccionadores de las cadenas (radiaciones ionisantes)	Translocación cromosomal	Cambio de una o más bases

Si la substitución, inserción o eliminación de una base tuvo lugar en alguna parte del ADN que codifica una proteína, entonces puede cambiar un codón y dar lugar a una modificación que produzca la introducción de un aminoácido diferente o se codifique por terminación de la cadena peptídica.

Las mutaciones se clasifican de acuerdo al efecto que tienen sobre el producto del gene modificado. Se dice que la mutación es: 1) sin sentido, si el producto es inactivo o incompleto, 2) de pérdida del sentido, si el producto es defectuoso y C) silenciosa, si no se altera ni la función ni la cantidad del producto activo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

1.1.1.4 Metabolismo

Todas las formas de vida están basadas en prácticamente las mismas reacciones bioquímicas. Cada uno de los compuestos que se generan en este conjunto de reacciones se le denominan compuestos endógenos o metabolitos y al conjunto de todas las reacciones que suceden en una célula se le denomina metabolismo.

Las bacterias y los animales superiores usan:

- básicamente las mismas reacciones para producir la energía que necesitan para sostener los procesos vitales,
- los mismos tipos de compuestos y mecanismos para construir sus macromoléculas y
- los mismos conjuntos de reacciones para sintetizar los compuestos que intervienen en las diferentes reacciones bioquímicas.

Se puede generalizar diciendo que todas las células tienen básicamente el mismo metabolismo, aunque obviamente hay diferencias entre ellas.

Algunas células tienen mayor capacidad bioquímica que otras:

- hay bacterias que sintetizan todos sus metabolitos a partir de compuestos inorgánicos y se les denomina autótrofos. Las células vegetales también pueden vivir a base de solo precursores inorgánicos.
- hay microorganismos que necesitan que en el medio de cultivo existan fuentes de carbono orgánico (azúcares) y se les denomina heterótrofos,
- otros microorganismos necesitan que se les suministren además otros compuestos orgánicos que ellos no tienen la capacidad de sintetizar (a estos compuestos se les denomina factores de crecimiento)
- las células de los animales necesitan un gran número de compuestos preformados los cuales deben estar en la dieta (se le denominan vitaminas, aminoácidos esenciales o ácidos grasos esenciales).

En el proceso de diferenciación celular, durante la formación de un nuevo organismo, las distintas células que constituyen el embrión se especializan y sólo expresan parte de la información genética que contienen pasando a formar los distintos tejidos y órganos.

El conjunto de reacciones que suceden en forma secuencial y que dan lugar a un compuesto o a una función integran un camino metabólico y se le da un nombre específico. Por ejemplo, 1) la glicólisis, es el camino metabólico por medio del cual se oxidan los azúcares produciendo piruvato y equivalentes reducidos NADH; 2) la transformación de la acetil-coenzima A, proveniente de la descarboxilación del piruvato o de la beta-oxidación de los ácidos grasos, en anhídrido carbónico y equivalentes reducidos se le denomina ciclo de Krebs; 3) la transferencia de electrones de los equivalentes reducidos hasta el oxígeno molecular, acoplado con la síntesis de ATP, se le llama cadena de transporte de electrones o fosforilación oxidativa. Este último proceso está formado por un conjunto de enzimas complejas que catalizan varias reacciones de óxido-reducción, donde el oxígeno es el aceptor final de electrones.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

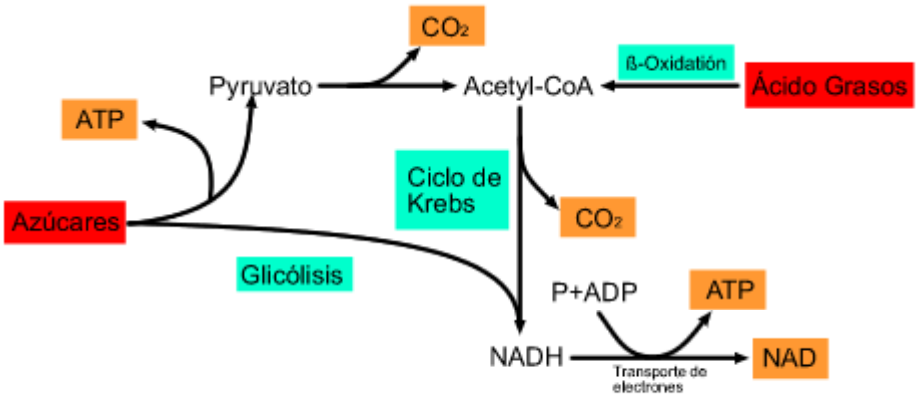


Figura 1.1.1.J Metabolismo Energético.

Al conjunto de los caminos metabólicos mencionados en el párrafo anterior y representados en la Figura 1.1.1.J, son todos procesos de oxidación y se le denomina metabolismo energético porque, produce la energía que necesita la célula para todas sus necesidades, tanto para hacer posibles las reacciones del metabolismo sintético como para llevar a cabo todos los trabajos físicos que hace la célula. Todas las células heterótrofas tienen metabolismos energéticos muy similares.

El ATP al hidrolizarse en P y ADP sede alrededor de 12 000 calorías/mol en condiciones fisiológicas, energía que es usada por los procesos metabólicos que no son termodinámicamente favorables. El ATP es el compuesto que se considera el producto útil de los procesos de oxidación.

Los siguientes procesos son ejemplos de pasos metabólicos que no son termodinámicamente favorables y que se llevan a cabo usando la energía almacenada en el ATP:

- transporte a través de membranas en contra del gradiente de concentración,
- reacciones con energía libre positiva en condiciones fisiológicas, tales como la síntesis de proteínas, síntesis de ácidos nucleicos, reacciones de óxido-reducción en contra del gradiente de potencial, etc.

La mayoría de las reacciones de óxido/reducción que se efectúan en el organismo no involucran la participación directa del oxígeno molecular, sino que los electrones son transferidos a/o desde moléculas específicas (por ejemplo NAD^+ se reduce a NADH).

Cuando estas moléculas están en su forma reducida, producto de haber aceptado electrones de un metabolito que se oxidó, se dice que son equivalentes reducidos y son los que se oxidan por la cadena de transporte de electrones que sí tiene al oxígeno molecular como aceptor final de electrones.

Este mismo tipo de substancias se usan para reducir metabolitos mediante la transferencia de un ion hidruro (NADPH se oxida a $NADP^+$).

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Las reacciones bioquímicas de oxido/reducción involucran la transferencia de un par de electrones.

A las enzimas que catalizan las reacciones de reducción del NAD se les llama deshidrogenasas y a las que catalizan la oxidación del NADPH se les llama reductasas.

Las enzimas que transfieren átomos de oxígeno a un substrato directamente del oxígeno molecular, tal cómo se mencionó antes, se les denominan oxigenasas. Cuando transfieren uno solo de los átomos del oxígeno molecular se les llama oxigenasas de función mixta o monooxigenasas. Ejemplos de estas enzimas son los citocromos P 450 y las amino monooxigenasas

Se conoce como metabolismo sintético al conjunto de procesos bioquímicos por medio de los cuales se sintetizan todos los compuestos que conforman una célula. Se incluye en este término la síntesis de lípidos, coenzimas, todas las macromoléculas como las proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos, así como, la síntesis de los compuestos que se polimerizan para dar lugar a esas macromoléculas, etc.

En toxicología se le denomina biotransformación al conjunto de reacciones que transforman los compuestos tóxicos exógenos o xenobióticos que penetran al organismo. La biotransformación se considera formada por dos grupos de reacciones, las de oxido-reducción (Fase I) y las de conjugación (Fase II). Estos conjuntos de reacciones son catalizadas por enzimas que normalmente existen en el organismo para llevar a cabo otras funciones metabólicas, en las que transforman compuestos endógenos que se forman en el metabolismo normal de las células.

1.1.2 Citología

Las células son las unidades funcionales de todos los organismos vivos. Contienen una organización molecular y sistemas bioquímicos que son capaces de:

- almacenar información genética,
- traducir esa información en la síntesis de las moléculas que forman las células
- producir la energía para llevar a cabo esta actividad a partir de los nutrimentos que le llegan
- reproducirse pasando a su progenie toda su información genética.

Las células son capaces de adaptarse a cambios en su ambiente alterando su metabolismo y cuando esos cambios son mayores que los tolerables se pueden producir daños permanentes llegando hasta producir la muerte celular. Ejemplos de estos cambios permanentes son los daños ocacionados por los tóxicos.

Algunas células viven en forma independiente, llevan a cabo todas las actividades vitales y se les conoce como organismos unicelulares. Ejemplos de organismos unicelulares son las bacterias, los protozoarios, algunas algas y hongos unicelulares (como las levaduras).

En otros casos las células se agrupan en conjuntos especializados, los tejidos y órganos, los cuales realizan determinadas funciones específicas y en su conjunto constituyen un individuo

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

multicelular. Los organismos multicelulares superiores, como las plantas y los animales, pueden estar formados por miles de millones de células (Figura 1.1.2.A.)

El tamaño de las células de los organismos unicelulares puede variar desde cilindros o esferas con dimensiones en el rango de una micra, como las bacterias, hasta glóbulos de varios centímetros de diámetro, como los huevos de aves que son una sola célula.

Las células de los animales superiores tienen diámetros en el orden de decenas de micras y en el caso de las plantas hay células de más de 100 micras de longitud. Las células del sistema nervioso pueden tener filamentos de hasta un metro de longitud.

Las **células de los organismos multicelulares que se reproducen sexualmente provienen de una sola célula, el huevo fecundado. Todas las células tienen la misma información genética.** Durante el período embrionario, cuando entran en el proceso de diferenciación celular, en algunas células sólo se expresa parte de esa información y cambian de morfología y bioquímica, dando lugar a los diferentes órganos que conforman el organismo. Son muy diferentes las células que forman el sistema nervioso, de las células del hígado o las de los músculos o el corazón aunque contengan exactamente la misma información genética.

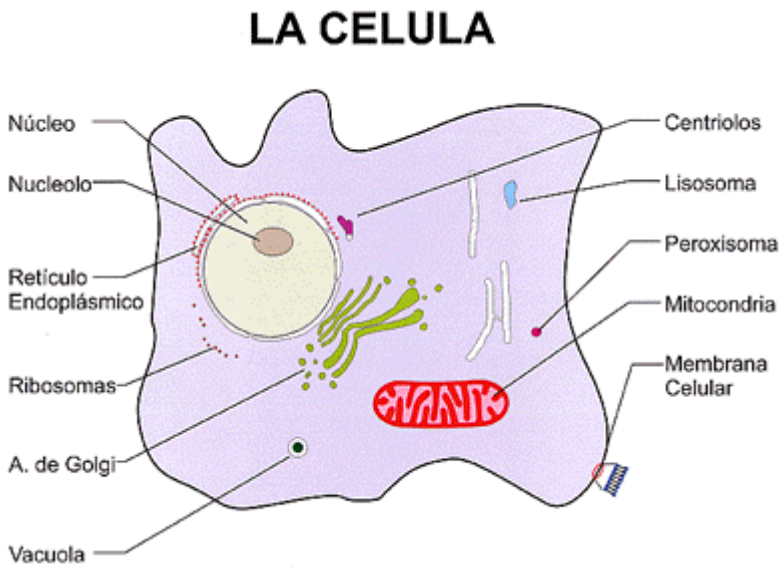


Figura 1.1.2.A Representación Esquemática de una Célula.

Las células de los organismos superiores se pueden aislar y crecer en el laboratorio como si fueran organismos unicelulares y la técnica para hacerlo se le denomina **cultivo de tejidos**. En el laboratorio también se pueden producir **extractos libres de células** que resultan de fraccionar las células y separar los organelos que la constituyen. Los extractos libres de células se usan para estudiar la localización de las distintas funciones celulares, y como **no se pueden reproducir y sólo llevan a cabo funciones muy limitadas, no se consideran que sean seres vivos funcionales**.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La célula mantiene su individualidad rodeando su contenido con una delgada película formada de lípidos y proteínas que se denomina **membrana celular o membrana citoplásmica o membrana plasmática**. El interior de la célula se denomina **protoplasma.**

En el caso de los organismos unicelulares la membrana celular está a su vez rodeada por otra estructura que le da rigidez y resistencia al medio ambiente y se denomina **pared celular.**

El protoplasma se puede considerar formado por dos copartimentos, el **citoplasma** y el **núcleo**.

En el núcleo está localizada la información genética y la maquinaria para copiarla y transcribirla. En el citoplasma tienen lugar todas las reacciones necesarias para producir la energía que necesitan las células para vivir. El citoplasma sintetiza las proteínas de acuerdo a la información que le llega del núcleo y también sintetiza todas las otras moléculas que no son sintetizadas en el núcleo y que son necesarias para el crecimiento y la reproducción. Algunas células tienen membranas internas que separan una región de la célula de otra.

1.1.2.1 Membrana celular

La membrana está constituída de lípidos y proteínas. La parte lipídica de la membrana está formada por una película bimolecular que le da estructura y constituye una barrera que impide el paso de substancias hidrosolubles.

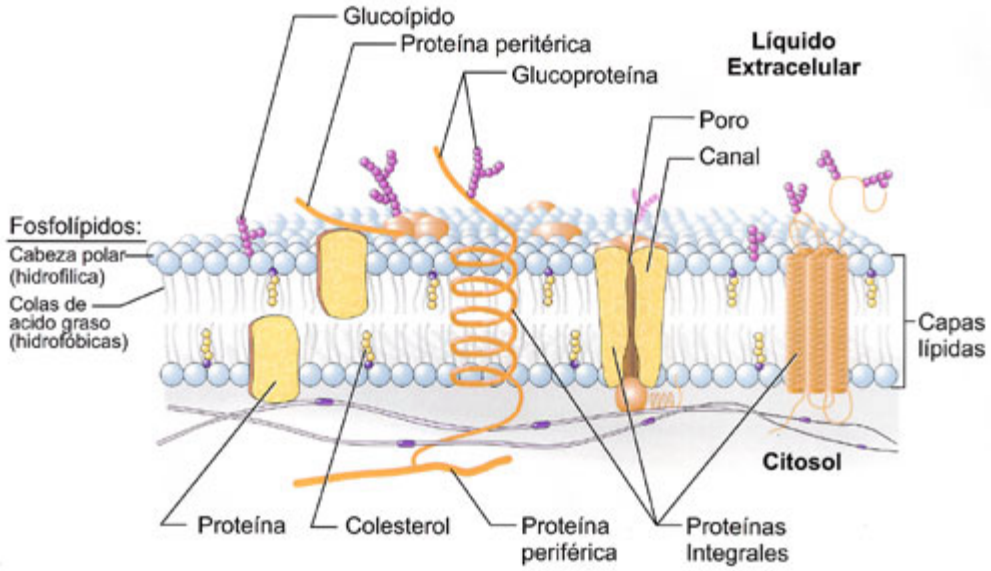


Figura 1.1.2.1 Estructura de la Membrana Celular.

Las proteínas de la membrana están suspendidas en forma individual o en grupos dentro de la estructura lipídica, formando los canales por los cuales entran a las células, en forma selectiva, ciertas substancias.

La selectividad de los canales de proteínas le permite a la célula controlar la salida y entrada de substancias así como los transportes entre compartimentos celulares. Las proteínas de la membrana no solo hacen que el transporte a través de ella sea selectivo, sino que también son

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

capaces de llevar a cabo transporte activo (transferencia en contra del gradiente de concentración).

Las demás funciones de la membrana, como son el reconocimiento y unión de determinadas substancias en la superficies celular están determinadas también por la parte proteica de la membrana. A estas proteínas se les llaman receptores celulares. Los receptores están conectados a sistemas internos que solo actúan cuando la substancia se une a la superficie de la membrana. Mediante este mecanismo actúan muchos de los controles de las células, algunos caminos metabólicos no entran en acción a menos que la molécula "señal", por ejemplo, una hormona, haya llegado a la superficie celular.

En la membrana se localizan unas glicoproteínas que identifican a otras células como integrantes de un individuo o como extrañas (inmunoreacción).

Las interacciones entre las células que conforman un tejido están basadas en las proteínas de las membranas.

Resumiendo, la estructura de las membranas depende de los lípidos y las funciones dependen de las proteínas.

1.1.2.2 Núcleo

Los organismos cuyas células tienen una membrana para separar el núcleo del resto del protoplasma se les llaman **eucariotes,** y a los que no tienen esta membrana se le llama **procariotes**. Sólo las bacterias y algunas algas son procariotes.

Los eucariotes tienen un sistema muy complejo de membranas internas, no sólo separan al núcleo, sino que también rodean a los distintos organelos.

A la membrana que envuelve el núcleo se le conoce como **envolvente nuclear** y consiste de dos membranas concéntricas. La membrana exterior da hacia el citoplasma y la interior hacia el **nucleoplasma**. La membrana nuclear tiene unos poros que casi son obstruidos por una estructura densa que se le llama **anillo**. Este es el conducto por medio del cual salen del núcleo hacia el citoplasma los ácidos ribonucleicos bien sean libres (ARN mensajero o ARN de transferencia) o como subunidades ribosomales.

Dentro del núcleo se encuentran unas masas de fibras formadas por ADN nuclear y proteínas. Cada molécula de ADN y sus proteínas asociadas constituyen un **cromosoma**. El núcleo de una **célula humana contiene 46 cromosomas**.

Al conjunto de los cromosomas que se encuentran dentro de una célula se le llama **cromatina**. Dentro de la cromatina se distinguen varias estructuras que se llaman **nucleolos, fibras nucleolares y gránulos nucleolares**. Los nucleolos son parte de la cromatina y se especializan en el ensamble de las subunidades que constituyen los ribosomas.

El núcleo es el centro de control de la célula. Desde aquí se dirige la síntesis de enzimas en los ribosomas del citoplasma y por ende se determina la actividad metabólica de la célula. Se conserva, replica y expresa la información genética de la célula. Como se trató anteriormente, el conjunto de enzimas que se encuentran en una célula determinan su actividad metabólica.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

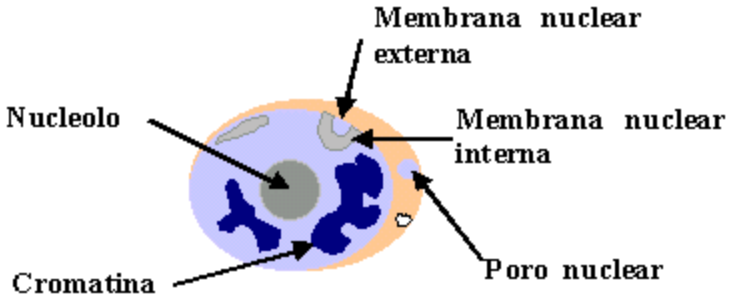


Figura. 1.1.2.B Estructura del Núcleo.

1.1.2.3 Citoplasma

El citoplasma está constituido por los organelos y el citosol. Los organelos más importantes son los **ribosomas, mitocondrias, vacuolas** y otras estructuras unidas a las membranas. Al líquido en el que sobrenadan los organelos se le conoce como **citosol**.

Ribosomas. La síntesis de las proteínas tiene lugar en el citoplasma. Después de que los mARN y los tARN se sintetizan en el núcleo, pasan a través de los anillos en la envolvente nuclear y entran al citoplasma como moléculas independientes. El rARN entra al citoplasma como subunidades ribosomales. Existen dos tipos de subunidades. En el citoplasma se unen las dos subunidades con moléculas de mARN para formar ribosomas completos activos. Los ribosomas completos tienen un diámetro de 25-30 nm.

Los ribosomas activos pueden estar suspendidos en el citoplasma o unidos al **retículo endoplásmico rugoso (RER).**

Los ribosomas suspendidos en el citoplasma sintetizan las siguientes proteínas: a) las que formarán parte del citosol, b) las que constituirán los elementos estructurales y c) las que forman los elementos móviles del citoplasma.

Los ribosomas del RER sintetizan las proteínas que van a formar parte de las membranas o del contenido de las vacuolas.

Retículo endoplásmico. El RER es un conjunto de membranas interconectadas que forman un extenso sistema de canales y que tienen unidos ribosomas.

Las proteínas sintetizadas en el RER se integran a sus membranas o las atraviesan y pasan a los canales del RER.

Las proteínas que forman parte del RER eventualmente emigran para integrarse a otras membranas, entre ellas la membrana plasmática. En los canales del RER se forman las proteínas complejas (glicoproteínas, lipoproteínas, sulfoproteínas, etc.), vía la adición de los grupos prostéticos las cuales son transportadas a otras partes de la célula o enviadas al exterior de la misma.

La región del RER, donde se transforman y desplazan las proteínas, tiene la forma de sacos aplanados y se le conoce con el nombre de **Cuerpos de Golgi**.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

En los Cuerpos de Golgi se sintetizan también algunas de las macromoléculas que no son proteínas. Ejemplo de estos compuestos son los polisacáridos estructurales y los de almacenamiento.

La parte del retículo endoplásmico no asociado a ribosomas, se conoce como retículo endoplásmico liso. Este sistema se encarga de la degradación de grasas cuando se metabolizan para la producción de energía, o cuando se involucran en la destoxificación de substancias que hayan penetrado la célula.

Vacuolas. Las vacuolas son sacos que almacenan proteínas para su uso posterior dentro de la célula o para exportarse al exterior de la misma.

Las vacuolas de excreción envían su contenido hacia afuera de la célula mediante el proceso de **exocitosis**. Las vacuolas también pueden actuar para transportar hacia el interior de las células substancias que no se pueden difundir a través de la membrana celular. El proceso se llama **endocitosis** y es la forma en que las células introducen macromoléculas y material corpuscular.

En la exocitosis las vacuolas de excreción se acercan a la membrana celular, se funden con ella y su contenido termina en el exterior de la célula.

En la endocitosis las moléculas que se van a introducir a la célula se unen al exterior de la membrana celular, se forma una invaginación y se constituye una vacuola. Esta vacuola puede emigrar al lugar de la célula donde su contenido se digerirá o será transformado.

Lisosomas. Son vacuolas producidas por el RER y los cuerpos de Golgi, contienen enzimas digestivas que pueden romper la mayoría de las biomoléculas. En muchos casos las substancias obtenidas por endocitosis son llevadas a los lisosomas para su rompimiento.

El contenido de los lisosomas se puede enviar al exterior de la célula para digerir substancias que se encuentren en el exterior.

En algunas ocasiones se liberan las enzimas de los lisosomas hacia el interior de la célula causando la muerte celular. Esto puede ser producto de procesos patológicos, daños por tóxicos o ser parte del proceso de desarrollo embrionario. Por ejemplo la pérdida de la cola de los renacuajos es producida por este tipo de muerte celular.

Mitocondria. Es un organelo complejo, unido a membranas, que cambia de forma. La forma reconocida como típica, es un corpúsculo alargado con un diámetro de aproximadamente media micra y una micra de longitud. Está rodeado de una doble membrana. La membrana exterior es lisa y continua y la membrana interior se dobla y se extiende hacia el interior en proyecciones tubulares llamadas **cristas**. El espacio que queda en el interior de las mitocondrias se le llama **matriz.**

A las mitocondrias se les conoce como las centrales de fuerza de la célula, porque en ellas se llevan a cabo las reacciones de oxidación que producen la energía que utiliza las células. Las miticondrias generan la gran mayoría de los **ATP** (adenosín-tri-fosfato) que necesita la célula, por medio de la **fosforilación oxidativa** del ADP (adenosín-di-fosfato).

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

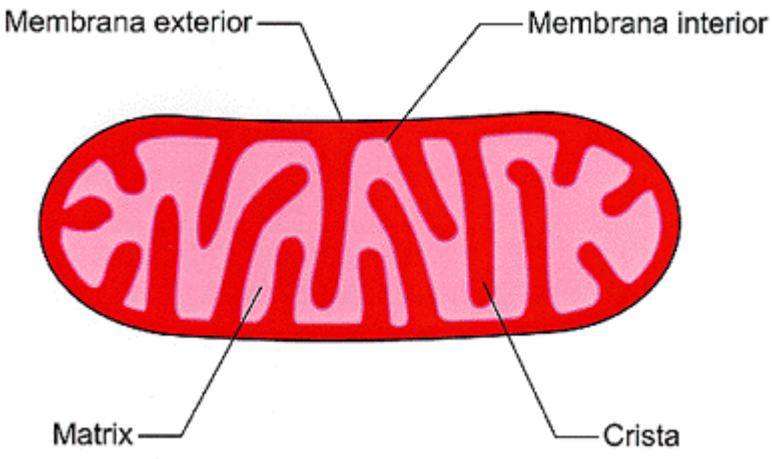


Figura 1.1.2.C Esquema de una Mitocondria.

Las mitocondrias son prácticamente autónomas. Tienen su propio ADN y ribosomas. Actúan prácticamente igual que una bacteria. De hecho se piensa que las mitocondrias fueron bacterias que quedaron embebidas en una célula que evolucionó para convertirse en célula eucariota.

Microcuerpos. Existe otro conjunto de organelos conocidos en forma colectiva como Microcuerpos. Son estructuras relativamente simples en la que una solución o suspensión de enzimas llamada matriz está rodeada de una membrana de una sola capa. Llevan a cabo reacciones de oxidación que no producen directamente energía utilizable por el resto de la célula (no generan ATP). Uno de los productos de las reacciones de oxidación es el peróxido de hidrógeno y por eso a los microcuerpos se les llama también peroxisomas.

Microtúbulos y microfilamentos. Los movimientos que tienen lugar dentro de las células se deben a estas estructuras citoplásmicas de naturaleza proteica. Los microtúbulos son fibras huecas con una pared de 5 nm de espesor y 25 nm de diámetro exterior. Los microfilamentos son filamentos sólidos de un diámetro de 5 nm. Ambas estructuras usan mecanismos similares para producir movimientos celulares. Las estructuras que se van a mover se unen a los microfilamentos o microtúbulos por medio de una proteína. En el caso de los microfilamentos se usa miosina y en el caso de los microtúbulos se usa dineina o cinosina. El movimiento flagelar por medio del cual se desplazan, las bacterias, los protozoarios o los espermatozoides es producido por los microtúbulos.

Citoesqueleto. Está constituido por una red de fibras proteicas que le dan estructura a la célula. Estas fibras pueden ser microtúbulos, microfilamentos u otras fibras como los filamentos intermedios.

Los microtúbulos y microfilamentos del citoesqueleto son idénticos a los que se usan en la producción de movimiento celular, pero no tienen las proteínas que producen las uniones cruzadas con los elementos que se van a desplazar.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los filamentos intermedios son estructuras formadas por distintas proteínas dependiendo del tejido; vimetilina en el caso de las fibras musculares, citoqueratina en el caso de la piel, etc. Todos los filamentos intermedios están formados por proteínas que tienen secuencias de aminoácidos más o menos similares. La citoqueratina es el principal constituyente de las uñas, pelo, garras y cuernos en los animales.

En las células del sistema nervioso hay otros tipos de formaciones filamentosas.

1.1.2.4 Virus

Los virus en estado libre son partículas de material genético envueltas en una cápsula de proteína. El material genético es normalmente una o más moléculas de ADN, aunque hay virus que el material genético es ARN. El tamaño del virus es igual o menor al de un ribosoma.

Los virus no tienen metabolismo propio pero desvían el de la célula huésped. para que produzca copias de ellos.

1.1.3 Fisiología

En esta sección se describirá brevenente la estructura y funcionamiento de los órganos que intervienen en el ingreso, transformación y excreción de tóxicos en el organismo. Frecuentemente estos mismos órganos son también el sitio de acción o almacenamiento de los tóxicos. La vía de ingreso de los tóxicos es a travez de las superficies epiteliales en contacto con el ambiente del instestino delgado (ingesta), los pulmones (respiración) y la piel (contacto cutáneo). Se considera que una sustancia entró al organismo cuando se encuentra en el torrente sanguíneo. Los órganos que mas involucrados están en la transformación y excresión de los tóxicos son el hígado y los riñones.

1.1.3.1 Intestino Delgado

Su función primaria es la digestión y absorción de los alimentos. Sin embargo, la absorción no es específica para nutrimentos, sino que cualquier otra substancia, con estructura o propiedades similares a los nutrimentos, que llegue, ya sea por si sola o presente como contaminación de los alimentos, podrá también ser absorbida.

Todas las substancias tóxicas que llegan al intestino delgado y se absorben, pasan al hígado por medio del sistema portal. Si el organismo no tiene la capacidad de metabolizar rápidamente la substancia absorbida, ésta podría originar toxicidad. En el hígado estas substancias pueden ser transformadas en metabolitos hidrosolubles que pueden ser eliminadas por la orina o por las heces. El hígado también puede transformar la substancia absorbida en otras substancias más tóxicas. En el caso de la eliminación por medio de la orina, la substancia es transportada en la circulación sanguínea hacia los riñones, donde es filtrada a través del glomérulo y transportada a través de los túbulos hasta el túbulo colector, donde la orina ya formada es llevada a la vejiga urinaria.

En el caso de la eliminación por heces, la substancia es secretada por medio de la bilis hacia el intestino grueso.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La mayoría de las substancias ingeridas se tienen que digerir antes de ser absorbidas. Para realizar su función de digestión, el intestino delgado requiere de varias enzimas provenientes de glándulas intestinales, submucosales, del hígado y del páncreas. La superficie del intestino se protege de la acción de estas enzimas por medio del moco. El moco proviene de las mismas glándulas y además de las células goblet que se encuentran inmersas entre las células de la membrana intestinal.

El intestino delgado es un tubo delgado y alargado de aproximadamente 6 metros de largo que se inicia en el orificio pilórico en la parte final del estomago y termina en la unión ileocecal, donde se inicia el intestino grueso.

Consiste de tres secciones: el duodeno, el yeyuno y el íleon. La pared de intestino está formada de tres capas, la primera es la *muscularis mucosa* que integra la superficie exterior y separa la mucosa de la submucosa; la segunda capa es la *lámina*, que es la capa intermedia y está constituida por tejido conectivo. Esta capa contiene vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios, tejido muscular liso, tejido conectivo y glóbulos blancos. La tercera capa se encuentra en el interior o lumen del intestino delgado, es una capa continua de células epiteliales (células que forman una superficie).

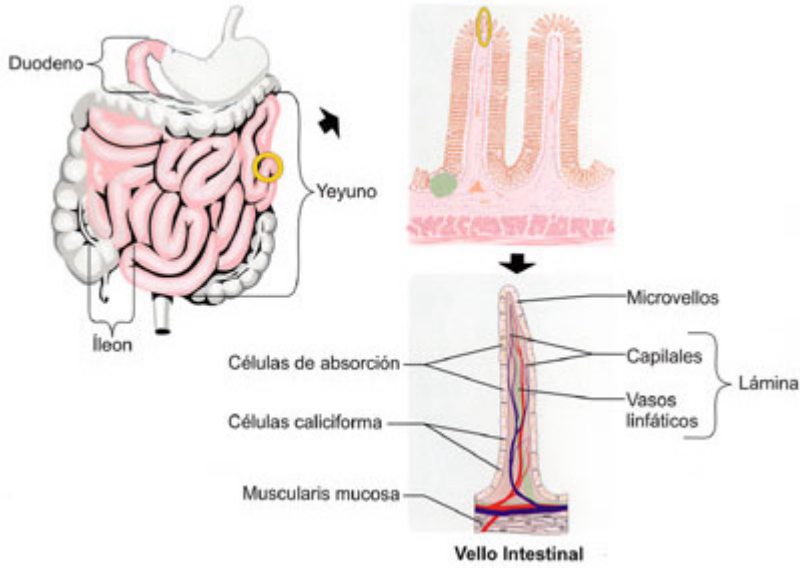


Figura 1.1.3.A Esquema del Intestino Delgado

En las células epiteliales del intestino se localiza el **vello intestinal** que son extensiones de aproximadamente 0.5-1.5 mm, cuya función es incrementar el área de la superficie de contacto y por lo tanto, aumentar la superficie de absorción. Estas vellosidades son más anchas en el duodeno que en el resto del intestino. La presencia del vello es primordial para la función óptima del intestino delgado. La superficie de absorción se hace aún más grande por medio de pequeños cepillos que cubren el vello intestinal y a los cuales se denominan **microvellos**. Los microvellos están cubiertos por membranas que los protegen contra agentes proteolíticos y mucolíticos. Cualquier tóxico que altere la estructura morfológica del

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

vello y microvello afectará la absorción, y por lo tanto ocasionará una posible desnutrición al disminuir la absorción de proteínas, minerales esenciales y otros nutrimentosportal.

1.1.3.2 Pulmones

La función principal de estos órganos es el intercambio de gases entre la sangre y la atmósfera. Aquí es donde se lleva a cabo la absorción del oxígeno necesario para las reacciones de oxidación del metabolismo que son la fuente de energía del organismo y se excreta el bióxido de carbono producido en los distintos caminos metabólicos.

Los pulmones también tienen otras funciones que no tienen nada que ver con la función respiratoria. El endotelio pulmonar agrega, degrada o retira substancias químicas de la sangre. Una de estas substancias es la angiotensina I que es convertida a la angiotensina II, que se encarga de la contracción del músculo liso en la vasos sanguíneos de la periferia, lo que eleva la presión sanguínea. Los pulmones también actúan como filtros para remover agregados de células y otras partículas para que estos corpúsculos no lleguen a entrar y bloquear los capilares del cerebro y el corazón.

Los tóxicos que normalmente se absorben a través de los pulmones son gases, (monóxido de carbono, bióxido de nitrógeno, bióxido de azufre, etc.), vapores de líquidos volátiles (benceno, tetracloruro de carbono, etc.), y partículas suspendidas en el aire (polvos y aerosoles).

Los pulmones son dos órganos que se encuentran en la cavidad torácica en un espacio que se denomina espacio intrapleural.

Los pulmones están formados por dos unidades:

- la unidad de conducción de aire, compuesta por traquea, bronquios y bronquiolos, se encarga de mover el aire hacia adentro y fuera de los pulmones.
- la membrana alveolar-capilar que se encarga del intercambio gaseoso (bióxido de carbono por oxígeno).

La traquea, los bronquios y los bronquiolos tienen una estructura cartilaginosa que permite mantener todas estas ramificaciones abiertas. Los bronquiolos además dependen de la estructura muscular de las células circundantes para mantenerse abiertos.

La unidad alveolar está formada por dos áreas, el área gruesa, de estructura proteica incluyendo colágeno y fibras de elastina, que se encarga del intercambio de fluidos, y el área delgada que se encarga del intercambio gaseoso.

El diámetro interior de los ductos de aire va disminuyendo a medida que se acercan a los alvéolos y las partículas inhaladas se van depositando en los ductos dependiendo de su tamaño. Las partículas más pequeñas se internan más en el aparato respiratorio. Esto es importante porque las especies de animales de laboratorio pueden tener anatomías diferentes al hombre y los tóxicos presentes en partículas inhaladas se pueden depositar en regiones diferentes del sistema respiratorio, y por lo tanto producir lesiones diferentes.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

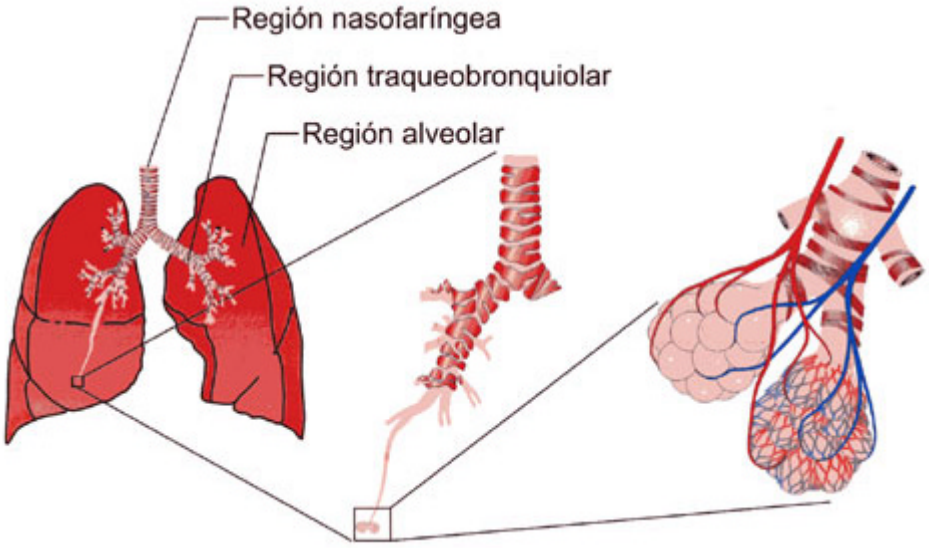


Figura 1.1.3.B Representación Esquemática del Tracto Respiratorio.

1.1.3.3 Piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo, lo cubre completamente, se encarga de proteger sus tejidos internos. Constituye cerca del 10% del peso corporal.

Está compuesta de tres capas principales. Una capa superficial sin irrigación sanguínea, denominada **epidermis**. Una capa irrigada y de tejido conectivo a la cual se le llama **dermis**. Y una capa interna de tejido adiposo y conectivo que se llama **hipodermis**.

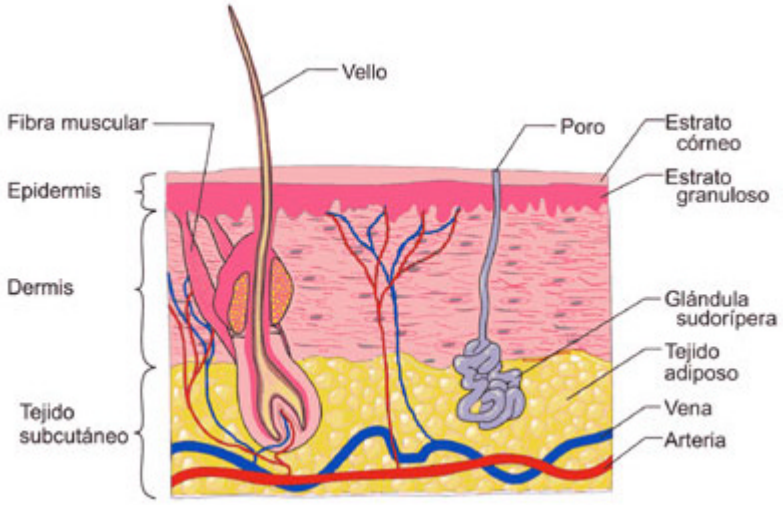


Figura 1.1.3.C Representación Esquemática de la Piel.

La epidermis es la primera capa de la piel. Está formada por cuatro subcapas que dependen de las características de los queratocitos (células primordiales de la piel).

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Es más gruesa en determinadas áreas como en la palma de las manos y plantas de los pies. Las células de la epidermis se mudan constantemente entre 12 y 14 días. La subcapa más externa de la epidermis es el estrato córneo que está formado por células queratinizadas biológicamente inactivas que tienen un empacado muy denso.

La dermis, la cual también es una capa gruesa, posee una gran cantidad de innervaciones, éstas se encuentra insertadas en la epidermis por medio de proyecciones de colágeno y fibras de reticulina y elastina.

Los vasos sanguíneos de la dermis le dan su color característico a la piel y además juegan un papel importante en la regulación térmica y en la absorción de tóxicos por exposición cutánea.

Las uñas, el cabello y las glándulas, dependencias de la piel, son modificaciones de células epidérmicas dentro de la dermis.

La uña es una modificación muy gruesa de la epidermis, crece totalmente en aproximadamente tres meses. El cabello se encuentra presente en casi todo el cuerpo y se proyecta hacia el interior de la dermis, Hay aproximadamente 100,000 cabellos en la piel que crecen a una velocidad de 0.37 mm/día. Las glándulas sebáceas son pequeñas glándulas dermales que lubrican la piel. Las glándulas sudoríferas también se encuentran en la capa dermal y se encargan de la producción del sudor por medio del cual se eliminan algunas substancias, entre ellas el cloruro de sodio y ciertos metales como el cobre, el zinc, el fierro, el plomo, cadmio y níquel. Los electrolitos perdidos en un día de alta sudoración deben de remplazarse inmediatamente.

La piel tiene varias funciones, entre ellas la de controlar la temperatura corporal, la de preservar los constituyentes y composición de los contenidos corporales, la absorción de muchas sustancias y la excreción de otras.

1.1.3.4 Sangre

La sangre es el líquido que circula en todo el organismo a través de dos sistemas; la circulación sistémica y la circulación pulmonar.

La circulación sistémica distribuye la sangre oxigenada del corazón hacia todos los órganos del cuerpo, y luego la regresa con el bióxido de carbono hacia el corazón. La circulación pulmonar transporta la sangre venosa (sin oxígeno) del corazón a los pulmones para su oxigenación y luego, la regresa oxigenada al corazón.

La estructuras que se encargan de distribuir la sangre en estos dos sistemas son las arterias, las arteriolas, los capilares, las venas y las vénulas.

Las **arterias** son las estructuras que distribuyen la sangre oxigenada, a alta presión, hacia todos los tejidos. Su estructura muscular fuerte provee la fuerza de envío hacia los tejidos más lejanos.

Las **arteriolas** son las ramificaciones más pequeñas de las arterias y entregan la sangre a los capilares dentro de los tejidos. También tienen estructura muscular fuerte para contener el flujo arterial.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los **capilares** son estructuras pequeñas, de paredes delgadas y permeables que se encargan del intercambio de fluidos, nutrimentos, electrolitos, hormonas y otras substancias entre la sangre y el espacio intersticial.

Las **vénulas** se encargan de recoger la sangre de los capilares.

Las **venas** son los conductos que transportan la sangre que ha recogido el bióxido de carbono de todos lo tejidos y la transporta de regreso al corazón. Las venas son de estructura delgada y almacenan temporalmente la sangre antes de llegar al corazón.

La sangre se puede considerar formada por dos compartimentos: las células y el líquido en el que sobrenadan, que se denomina plasma.

El plasma tiene en solución varias proteínas, tales como las albúminas y globulinas, que juegan un papel muy importante en el manejo de tóxicos por el organismo.

Existen compuestos que tienden a unirse a las proteínas del plasma, y con esto se evita que el compuesto sea distribuido a los tejidos donde podría efectuar su acción. Cualquier situación que libere un compuesto unido a las proteínas del plasma, provoca que una mayor cantidad de tóxico llegue a su sitio de acción. Por ejemplo el 90-96% del anticoagulante warfarina que llega al torrente sanguíneo se une a las proteínas plasmáticas Esto significa que solamente el 4-10 % de la warfarina es responsable de su efecto. Cuando se administra al mismo tiempo aspirina, desplaza la warfarina de sus sitios de unión en las proteínas plasmáticas, produciendo moléculas libres que causan una hemorragia mortal.

Entre las células hemáticas se encuentran los glóbulos rojos, llamados eritrocitos. Se encargan de distribuir el oxígeno por medio de una proteína que se llama hemoglobina. La hemoglobina tiene un grupo prostético llamado hemo que contiene un átomo de fierro que fija oxígeno y lo sede al llegar al tejido donde va a ser entregado.

Existen muchos tóxicos que atacan a los eritrocitos, entre ellos el monóxido y el bióxido de carbono y la arsina. Los dos primeros se producen durante los procesos de combustión y se unen irreversiblemente a la hemoglobina, impidiendo el transporte de oxígeno a todo el organismo produciendo asfixia. La arsina, es un gas que reacciona con los eritrocitos produciendo hemólisis o ruptura celular que conduce a la muerte si la exposición es fuerte.

El otro tipo de células sanguíneas son las glóbulos blancos o leucocitos. Existen diferente tipos de leucocitos, entre ellos; los linfocitos, los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), y los monocitos o macrófagos.

Las glóbulos blancos tienen la función de proteger al cuerpo de las enfermedades infecciosas, ya que atacan al agente invasor (bacteria, virus) hasta que lo destruyen. Los linfocitos se encargan de defender al cuerpo por medio de la producción de anticuerpos en contra del agente invasor. Los células fagocíticas; granulocitos y monocitos, se encargan de digerir células o microorganismos extraños hasta eliminarlos. Los neutrófilos son los fagocitos más reactivos y atacan a todo tipo de célula extraña. Los eosinófilos son activados generalmente en ataques por parásitos o en situaciones de reacciones alérgicas.

Otro tipo de células sanguíneas son las plaquetas que se encargan de la coagulación de la sangre, por medio de formación de agregados, para proteger al cuerpo contra la pérdida excesiva de éste fluido.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los eritrocitos tienen una vida media de 120 días, los granulocitos de aproximadamente un día, mientras que los monocitos pueden duran hasta 4 días en la sangre.

Cuando la sangre se coagula se obtiene una porción acuosa a la cual se le denomina suero. Existen diferencias entre suero y plasma, específicamente, el plasma contiene los factores de la coagulación que no se encuentran en el suero.

1.1.3.5 Hígado

El hígado es el órgano interno más grande del cuerpo llegando a pesar en un adulto kilo y medio. Está formado de dos lóbulos principales de los cuales el derecho es más grande que el izquierdo. El color café rojizo de este órgano se debe a la cápsula de tejido conectivo que lo cubre.

Al hígado llega la vena portal, la cual transporta los compuestos absorbidos en el intestino y en el estómago, incluyendo las substancias que podrían causar toxicidad. Al hígado también llega la arteria hepática, la cual transporta hasta un 25% del gasto cardiaco y se encarga de oxigenar todos los tejidos del hígado. Del hígado salen vasos linfáticos y dos ductos biliares (uno de cada lóbulo). Los dos ductos biliares se unen entre sí para luego unirse al ducto cístico que sale de la vesícula biliar, entonces forman un solo conducto que viaja hasta el duodeno del intestino delgado, donde descarga la bilis producida.

La unidad funcional del hígado está formada por tres vasos (la vena portal, la arteria hepática y el ducto biliar) y los hepatocitos que los rodean. Los vasos van del **E**spacio **P**eriportal (EP) al **A**rea **C**entrolobular (AC). En el EP existe una mayor concentración de oxígeno, por lo que las substancias que se bioactivan por medio de oxigenación son más peligrosas en esta área. En el AC la concentración de oxígeno es menor y como la concentración de citocromo P-450 es alta, existen las condiciones para que se presenten reacciones de reducción catalizadas por esta enzima. Las substancias que se bioactiven en estas condiciones pueden producir daño en esta región. Un ejemplo es el CCl_4 que es tóxico en esta área.

El hígado ejecuta un gran número de funciones y entre las más importantes están el almacenamiento y biotransformación de las substancias que recibe por medio del torrente circulatorio y el sistema portal. Normalmente biotransforma y acumula substancias útiles en el organismo tales como la glucosa, en forma de glucógeno, aminoácidos, grasas y vitamina A y vitaminaB_{12}.

El hígado está muy propenso a sufrir daños por la exposición a tóxicos debido a que los dos sistemas circulatorios pueden llevar hasta al hígado substancias tóxicas o que se vuelven tóxicas con las transformaciones que tienen lugar en este órgano (bioactivación).

Algunas de las reacciones que sufren los tóxicos en el hígado de hecho los convierten en substancias menos tóxicas o no tóxicas y más fáciles de excretar, en este caso se dice que el hígado hizo una destoxificación.

Tanto la bioactivación como la destoxificación se tratarán posteriormente cuando se describa la dinámica de los tóxicos en el organismo.

Para realizar sus funciones, el hígado cuenta con una gran cantidad de enzimas con funciones oxidativas y reductivas, entre las cuales se encuentran el sistema del citocromo de la proteína

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

450 (P-450), flavin-monooxigenasas, peroxidasas, hidroxilasas, esterasas y amidasas. Otras enzimas también presentes son las glucuroniltransferasas, las sulfotransferasas, metilasas, acetiltransferasas, tioltransferasas. Todas estas enzimas tienen gran importancia en las biotransformaciones de los tóxicos.

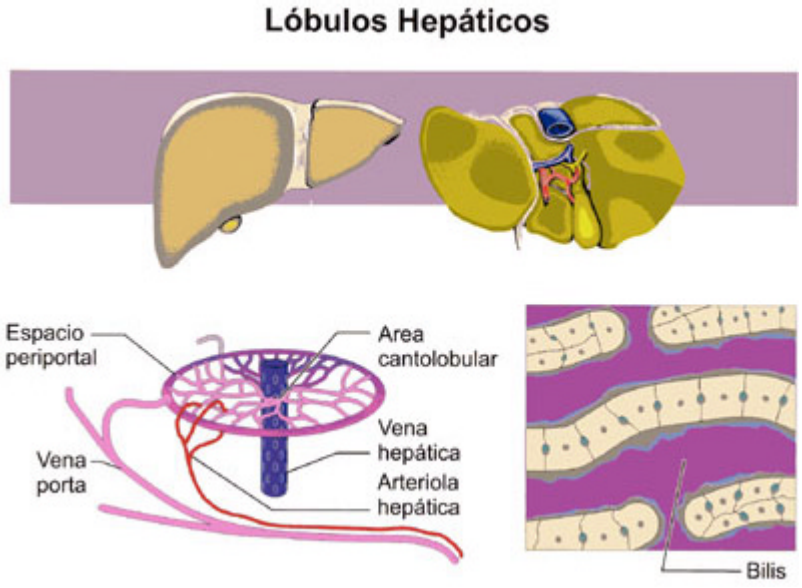


Figura 1.1.3.D Representación Esquemática del Hígado.

El hígado produce y regula la concentración de ciertas substancias de la sangre. Ejemplos de substancias producidas o controladas en el hígado son las albúminas, el fibrinógeno y la mayoría de las globulinas y proteínas de la coagulación. Cuando hay descontrol de estas substancias, el individuo se encuentra bajo en defensas y susceptible a problemas de coagulación. Ejemplo de substancias reguladas por el hígado son los azúcares y los aminoácidos. Cuando se retrasa una ingesta, el hígado utiliza su almacén de glucógeno para producir glucosa y de las proteínas de reserva para producir aminoácidos. El hígado también tiene una función exócrina, produce la bilis por medio de la cual se excretan al intestino un número considerable de metabolitos. Como se mencionó anteriormente algunas substancias transportadas al intestino delgado en la bilis pueden ser transformadas por la flora intestinal dando lugar al ciclo enterohepático. En algunas ocasiones el incremento del tiempo de residencia del tóxico en el organismo, producido por ciclo enterohepático, favorece la generación de respuestas tóxicas, incluso hepatotóxicas.

En resumen, son varios los factores que predisponen al hígado a sufrir toxicidad, entre ellos los siguientes:

- Recibe una gran cantidad de sangre la cual puede ser portadora de tóxicos, sobre todo la vena portal que transporta los materiales absorbidos en el tracto gastrointestinal (vía de ingreso de los tóxicos que penetran al organismo por vía oral)

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- Una gran capacidad de biotransformación y diversas concentraciones de oxígeno permiten que en el hígado tengan lugar, tanto reacciones de reducción como de oxidación de diversos substratos entre ellos, los xenobióticos que llegan a él.
- Tener una función excretora que hace que se concentren tóxicos dentro de este órgano.

La combinación de estos factores expone al hígado a la toxicidad causada por una serie de sustancias, entre ellas los contaminantes ambientales. La severidad del daño depende de muchos factores, como lo veremos más adelante

1.1.3.6 Riñones

Los riñones tienen forma de frijol, cada uno mide aproximadamente 10 cm de largo y cerca de 5 cm de ancho. El riñón derecho se encuentra un poco más abajo que el izquierdo. Los riñones cumplen muchas funciones entre ellas; la excreción de desechos, la regulación de la homoestasis total del cuerpo, la regulación del volumen de los fluidos extracelulares y la composición de los electrolitos. Desempeñan un papel importante en la síntesis de hormonas que influyen en funciones metabólicas sistémicas, entre ellas están la eritropoietina, la 1,25-di-OH-vitamina D_3, la renina y varios prostanoides vasoconstrictivos.

El riñón está formado por dos áreas anatómicas: la corteza y la médula.

La corteza recibe la mayor parte del flujo sanguíneo y por lo tanto, cuando un tóxico llega al riñón éste alcanza primeramente la corteza.

La médula constituye la parte menor del riñón y una porción menor de sustancias tóxicas alcanzan esta región. Sin embargo los tóxicos que llegan pueden causar daños considerables, debido a que en esta región se incrementa grandemente su concentración cuando se reabsorbe el agua en que llegan disueltos.

La unidad funcional del riñón es la nefrona a la que comúnmente se le considera formada de tres secciones: el glomérulo que está formado de un red capilar porosa que actúa como un filtro plasmático, el elemento vascular (arteriolas aferentes y eferentes, es decir que entran y salen al glomérulo), y el elemento tubular que comprende el túbulo proximal, el túbulo distal, el asa de Henle, y el túbulo colector. Existen nefronas corticales (que se encuentran totalmente en la corteza renal) y nefronas juxtamedulares (los elementos tubulares se encuentran en la médula renal).

Cada elemento renal cumple con funciones específicas:

- el elemento vascular se encarga de llevar los desechos y otros materiales a los túbulos para su excreción, regresar los materiales reabsorbidos por el riñón o ahí sintetizados a la circulación sistémica y de llevar el oxígeno y otros substratos metabólicos a la nefrona.
- El glomérulo filtra el plasma y la separación se basa en la estructura molecular (tamaño, carga eléctrica neta y la forma).
- El elemento tubular reabsorbe o secreta selectivamente al total del filtrado.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

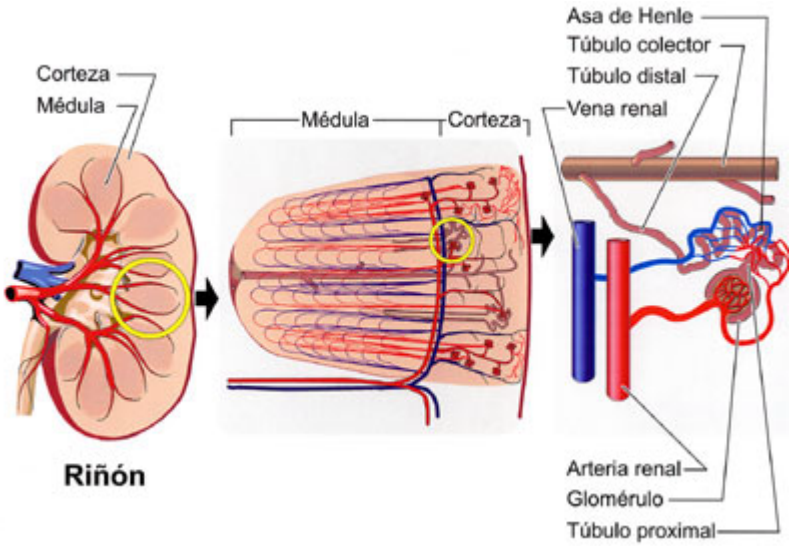


Figura 1.1.3.E Representación Esquemática del Riñón.

Aproximadamente el 99% de las sales y agua son reabsorbidos, así como todos los azúcares y aminoácidos. El túbulo proximal absorbe electrolitos como potasio, bicarbonatos, cloruros, fosfatos, calcio y magnesio. También secreta material a la orina para regular compuestos orgánicos y algunos iones como el hidrógeno y el potasio.

Algunos tóxicos afectan la integridad renal produciendo diferentes grados de toxicidad. La respuesta a un insulto tóxico varía desde aberraciones bioquímicas imperceptibles, hasta necrosis que llevan a la muerte celular.

Los tóxicos afectan diferentes funciones del riñón por medio de diferentes mecanismos, por ejemplo:

- la vasoconstricción ocasiona una disminución del flujo sanguíneo renal
- la disminución en la capacidad de filtración y reducción en el flujo urinario; conduce a una destrucción de los tejidos.
- afecta el elemento glomerular, alterando su permeabilidad, ocasionando problemas en la filtración plasmática.
- afecta la función tubular influyendo la capacidad secretora o de reabsorción de sustancias en este segmento.

Existen diferentes razones por las cuales los riñones son fácil blanco de ciertos tóxicos:

- debido a la reabsorción de casi el total del agua (99% es reabsorbida); el tóxico puede alcanzar en el riñón concentraciones 100 veces mayores que en la sangre.
- recibe aproximadamente 1160 ml/min de sangre (25% del gasto cardiaco), debido a esta gran perfusión, una substancia tóxica en la sangre llegará fácilmente a los riñones.
- produce bioactivaciones de varios xenobióticos en los segmentos S2 y S3 del túbulo proximal.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El riñón tiene gran importancia como órgano de desintoxicación debido a que produce cambios en los tóxicos que los hace inocuos o menos tóxicos y facilitan su excreción vía la orina.

1.2 Definición de conceptos básicos

1.2.1 Toxicología ambiental

La toxicología ambiental estudia los daños causados al organismo por la exposición a los tóxicos que se encuentran en el medio ambiente.

El **objetivo** principal de la **toxicología ambiental es evaluar los impactos que producen en la salud pública la exposición de la población a los tóxicos ambientales presentes en un sitio contaminado**. Es conveniente recalcar que se estudian los efectos sobre los humanos, aunque pudieran existir, en el sitio de estudio, otros blancos de los tóxicos tales como microorganismos, plantas, animales, etc.

Los tóxicos son los xenobióticos que producen efectos adversos en los organismos vivos.

Un xenobiótico es cualquier substancia que no ha sido producida por la biota, tales como los productos industriales, drogas terapéuticas, aditivos de alimentos, compuestos inorgánicos, etc.

La biota son todos los seres vivos; sean plantas o animales superiores o microorganismos.

Existe un campo de estudio diferente, denominado **Toxinología**, que estudia el efecto de las **toxinas**, que son las substancias peligrosas producidas por la biota, principalmente insectos y reptiles.

1.2.2 Medio ambiente

El ambiente se define como el conjunto de medios en interacción con el organismo humano a causa de sus actividades. En el caso de toxicología ambiental el ambiente se describe en función de los medios que contienen los tóxicos. La siguiente es una lista parcial de los medios de interés toxicológico en el caso del hombre :

agua para beber
cuerpos de agua que se usan para la pesca
agua para irrigación (cuando se usa para la producción de alimentos)
aire inhalado
suelo ingerido
suelo agrícola (cuando se usa para la producción de alimentos)
alimentos
cuerpos de agua que se usan para recreación.

Algunos hábitos personales, aunque no son actividades vitales, dan lugar a exposiciones crónicas. Por ejemplo:

el consumo de bebidas alcohólicas
el uso de tabaco y
el uso de cosméticos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

1.2.3 Exposición

Es el contacto de una población o individuo con un agente químico o físico. La magnitud de la exposición se determina midiendo o estimando la cantidad (concentración) del agente que está presente en la superficie de contacto (pulmones, intestino, piel, etc.) durante un período especificado. Esta cantidad cuando se expresa por unidad de masa corporal del individuo expuesto se le denomina **Dosis Suministrada.**

La **E**xposición **M**áxima **R**azonable (EMR) se define como **la exposición más alta que es razonable esperar que ocurra en un sitio.** El propósito de calcular la EMR es hacer una estimación de la exposición que esté dentro de los niveles posibles y que nos permita hacer predicciones conservadoras de los efectos que puede causar el tóxico.

1.2.4 Blanco

Se usa con frecuencia el término blanco para designar a la parte del organismo que recibe el impacto del tóxico y presenta la respuesta biológica correspondiente a la exposición. Se puede referir a una molécula (ADN, proteína, etc.) o a un órgano (hígado, riñón, cerebro, médula espinal, etc.). También se usa para designar al individuo, subpoblación o población que quedan expuestos a los tóxicos en un sitio determinado.

1.2.5 Ruta de exposición

Es el camino que sigue un agente químico en el ambiente desde el lugar donde se emite hasta que llega a establecer contacto con la población o individuo expuesto. El análisis de la ruta de exposición describe la relación que existe entre las fuentes (localizaciones y tipo de derrames ambientales) y los receptores (localización de las poblaciones, patrones de actividad, etc.).

Se consideran como rutas significativas las que dan lugar a exposición humana.

Las rutas de exposición consisten generalmente de cuatro elementos:

- fuentes y mecanismos de emisión de tóxicos
- medio de retención y transporte (o medios en el caso de que haya transferencias de un medio a otro)
- punto de contacto potencial entre el medio contaminado y los individuos
- vía de ingreso al organismo

1.2.5.1 Vía de exposición

Es el mecanismo por medio del cual el tóxico entra en el organismo. Para el propósito de la toxicología ambiental, se consideran de importancia **la ingestión, la respiración y el contacto cutáneo.** Las vías de ingreso clínicas, tales como la intravenosa, intraperitoneal, intramuscular y subcutánea no se van a considerar en este trabajo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

1.2.5.2 Tiempo de exposición

Para el propósito de toxicología ambiental las exposiciones se clasifican de acuerdo a la magnitud del período de exposición en:

- **Exposiciones crónicas**.- Son las exposiciones que duran entre 10% y el 100% del período de vida. Para el caso del hombre entre 7 y 70 años
- **Exposiciones subcrónicas**.- Son exposiciones de corta duración, menores que el 10% del período vital
- **Exposiciones agudas**.- Son exposiciones de un día o menos y que suceden en un solo evento

El período transcurrido entre el evento de exposición y las observaciones en el organismo expuesto es una variable muy importante de considerar especialmente en el caso de exposiciones intermitentes.

1.2.6 Efecto tóxico

Se define como efecto tóxico o respuesta tóxica, cualquier desviación del funcionamiento normal del organismo que ha sido producida por la exposición a substancias tóxicas.

Sólo se consideran como desviaciones significativas los cambios irreversibles o los cambios que permanecen por un período prolongado después de que la exposición ha cesado. Por ejemplo; la variación en la relación de masa hepática a masa corporal es una respuesta tóxica, porque persiste varios días o semanas después de que la exposición terminó. El incremento en grasa hepática no se considera como cambio significativo, porque desaparece en una cuantas horas.

El tipo de efecto tóxico que produce una substancia sirve para hacer una clasificación muy general, pero que es muy útil. Los tóxicos se clasifican en :

- cancerígenos
- no-cancerígenos
- tóxicos para el desarrollo

1.2.7 Dosis

Dosis es un concepto con el que la mayoría está más o menos familiarizado. El hombre primitivo sabía como usar los venenos de animales y de extractos de plantas para cazar, para agredir o defenderse y también asoció el uso de preparaciones específicas para controlar determinadas enfermedades. En estos usos está implícita la pregunta ¿qué tanto tóxico (o droga) se necesita para alcanzar un efecto determinado?

Sabemos que la aspirina quita el dolor, si alguien tiene dolor de cabeza y se toma una sola pastilla, no se le quita, si toma dos pastillas obtiene el efecto deseado, pero si se toma todo el frasco se muere. Es decir; hay una cantidad de substancia que no produce efecto alguno, una

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

cantidad mayor que sí produce respuestas biológicas y los efectos crecen al incrementarse la cantidad hasta que se vuelven efectos adversos y hasta letales.

La relación entre el tipo de respuesta y la dosis suministrada fue analizada desde los tiempos de Paracelsus, quien en 1493 expresó que todos los remedios son venenos y la diferencia entre remedio y veneno es la dosis correcta.

Hay un dicho popular que expresa esta idea "poco veneno no mata".

La dosis de exposición **está definida por la cantidad de substancia a la que se expone el organismo y el tiempo durante el que estuvo expuesto**.

La **dosis determina el tipo y magnitud de la respuesta biológica** y éste es un concepto central de la toxicología.

El **efecto adverso** o **daño es una función de la dosis y de las condiciones de exposición** (vía de ingreso, duración y frecuencia de las exposiciones, tasa de contacto con el medio contaminado, etc.).

1.2.8 Susceptibilidad individual

Otro de los conceptos importantes en toxicología es la variabilidad de la respuesta biológica en función de la susceptibilidad de cada organismo. Por ejemplo, dos compañeros de trabajo que desempeñaron funciones idénticas durante 30 años y que por lo tanto estuvieron expuestos al mismo ambiente, uno desarrolla una enfermedad inducida por las exposiciones a los tóxicos presentes en el ambiente de trabajo y el otro no. Nadie es idéntico a otro y las respuestas tóxicas pueden variar de un individuo a otro.

Hay factores que hacen que a exposiciones iguales se observen respuestas iguales, pero hay otros factores que las hacen diferentes.

Para acomodar esa variabilidad, lo que hace la toxicología ambiental es evaluar **riesgos** o sea; determina **la probabilidad de que se desarrolle un daño cuando se está expuesto a una dosis determinada durante un período especificado**.

El resultado de los estudios de toxicología ambiental es el establecimiento del límite máximo de exposición que aunque puede representar un riesgo para la población, es todavía socialmente aceptable. En toxicología ambiental nunca especifica que una dosis es inofensiva.

Si se observan diferencias de respuesta entre individuos de una misma especie, es lógico esperar que se observen diferencias importantes entre individuos de diferentes especies.

Las diferencias entre individuos y entre especies se deben a diferencias metabólicas que pueden estar determinadas por el estado fisiológico o por la estructura genética del organismo expuesto.

1.2.9 Suposiciones básicas

Para los propósitos de este trabajo podemos establecer las siguientes aseveraciones como reglas de la toxicología ambiental:

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

1.2.9.1 Especies similares presentan respuestas similares

Es la base para usar los datos obtenidos con animales como subrogados de datos humanos. Por ejemplo; dos especies de mamíferos, las ratas y los humanos, sufren, a dosis equivalentes, el mismo tipo de daño hepático por la exposición a tetracloruro de carbono.

Hay muchas excepciones a esta regla, hay substancias que presentan diferencias interespecies muy marcadas y hay otras substancias que sólo producen efectos tóxicos en una cierta especie y en otra no.

1.2.9.2 La respuesta está determinada por la concentración del tóxico en el blanco

La concentración que determina la respuesta tóxica es la que se presenta en el tejido blanco (mg de substancia/ml de sangre) y no la que se encuentra en el medio contaminado.

La cantidad absorbida se diluye en el organismo y entre mayor sea la masa corporal, mayor cantidad de substancia se necesitará para alcanzar una determinada concentración en la sangre. Por esta razón la dosis se normaliza expresando la cantidad de tóxico por unidad de masa corporal (mg de substancia/Kg de masa corporal). Se necesita una cantidad mayor de aspirina para quitar el dolor de cabeza de un elefante que la que se necesita para curar un ratón.

Aunque la exposición efectiva sea la que recibe el órgano blanco, de todas maneras en la evaluación de riesgos ambientales, la dosis suministrada se expresa en función de la concentración en el medio contaminado que entra en contacto con el organismo receptor. Este dato es un resultado del muestreo ambiental. Para hacer estudios más precisos de la relación dosis-respuesta se pueden estimar las dosis efectivas en el tejido blanco, utilizando datos obtenidos en muestreo biológico y la determinación de biomarcadores. Posteriormente se definirán muestreo biológico y biomarcadores.

1.2.9.3 La sangre está en equilibrio con todos los tejidos

No es fácil determinar la concentración de tetracloruro de carbono dentro de los hepatocitos, y lo qué se hace es medir la concentración en la sangre y estimar la concentración dentro de la célula, asumiendo que se llega a concentraciones de equilibrio en la interfaces sangre/hígado. Este concepto es el que se utiliza cuando, para determinar el efecto que puede tener el alcohol que se ha ingerido sobre la capacidad de conducir de un individuo (que depende de la concentración de alcohol en el cerebro), se mide la concentración de alcohol en el aire exhalado y no se tiene que hacer el análisis del cerebro del conductor. La concentración de etanol en el aire exhalado, está en equilibrio con la que se encuentra en la sangre y, ésta a su vez está en equilibrio con la que se presenta en el cerebro.

1.2.9.4 La concentración del tóxico dentro del organismo cambia con el tiempo

Tan pronto entra un tóxico al organismo, se inicia el proceso de eliminarlo, por lo que su concentración disminuirá con el tiempo. Si se consume una cantidad grande de alcohol en un tiempo corto, la concentración de alcohol en los órganos de desintoxicación, en este caso el hígado, es muy alta. De inmediato se inicia la eliminación del alcohol pero no hay tiempo para reducir la concentración de alcohol en la sangre, permitiendo que llegue suficiente

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

alcohol al cerebro, como para alcanzar una concentración que produzca efectos tóxicos. Cuando se ingiere la misma cantidad, pero lentamente, se le da más tiempo al cuerpo para eliminar el alcohol, llegando una cantidad baja al cerebro y sus efectos serán mucho menores. La variación de la concentración del tóxico con el tiempo la estudia la toxicocinética.

1.2.9.5 El período y frecuencia de la exposición determina el tipo de efecto

Por otro lado, si se consume una cantidad grande de alcohol en una ocasión, es muy poco probable que se produzca un daño hepático, sin embargo si se consume en forma cotidiana por un período de varios años, aunque las cantidades ingeridas en cada ocasión no sean tan grandes, es muy probable que se desarrolle cirrosis hepática. Es por eso que son tan importantes las exposiciones crónicas, o sea las que suceden en forma constante durante todo el período vital. Los tóxicos presentes en el agua que bebemos y en el aire que respiramos diariamente, aunque se encuentren en concentraciones relativamente bajas, pueden causar daños serios.

1.2.10 Riesgo

El término **"peligroso" define la capacidad de una substancia de producir efectos adversos** en los organismos, y el término **"riesgo" describe la probabilidad de que, en una situación dada, una substancia peligrosa produzca un daño.**

Se dice que una persona se puso en "riesgo" cuando está "expuesta" a un "peligro" y la magnitud del riesgo es una función de la peligrosidad de la substancia y de la magnitud de la exposición.

RIESGO = f (EXPOSICION, PELIGRO)

Para que exista un riesgo es necesario que se esté expuesto a una substancia y que esta exposición represente un peligro para la salud. Se necesitan tanto el peligro como la exposición, si alguno de ellos es igual a cero entonces no hay riesgo.

La toxicidad es una medida del peligro inherente de la substancia.

1.2.11 Evaluación de riesgos para la salud humana (ER).

Como se menciona en el párrafo anterior, para estimar el riesgo que significa la presencia de un tóxico en un sitio determinado es necesario conocer su toxicidad, la cantidad de tóxico que entra en contacto con el organismo o población en estudio y las condiciones en las que se da este contacto.

La ER consiste en determinar si es tolerable el riesgo que enfrenta una población por estar expuesto a tóxicos en el ambiente de un sitio contaminado.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La determinación y caracterización de los riesgos para la salud pública en un sitio determinado se lleva a cabo en cuatro pasos:

***Análisis de los datos*.**

***Evaluación de la Exposición*.**

***Evaluación de la toxicidad*.**

Caracterización de los riesgos.

Primera Etapa: Análisis de los datos.

El objetivo de esta parte es identificar la información de buena calidad que existe sobre el sitio y determinar la información que se necesita generar o captar para hacer la ER. En esta primera etapa se hace la selección preliminar de la lista de los tóxicos sobre los que se hará la evaluación de riesgos.

Segunda Etapa: Evaluación de la Exposición.

Se hace una estimación de la magnitud actual y futura de las exposiciones humanas, de la frecuencia y duración de estas exposiciones y de las rutas y vías potenciales de exposición.

Tercera Etapa: Evaluación de la toxicidad.

Consiste en obtener la información cualitativa y cuantitativa sobre los distintos tipos de efectos adversos a la salud (cáncer, no-cáncer y efectos sobre el desarrollo) que producen las substancias, a las que se ha determinado que la población está expuesta o pudiera llegar a estar expuesta. En esta etapa se localiza la mejor información disponible sobre la magnitud de la respuesta tóxica como una función del nivel de exposición.

Cuarta Etapa: Caracterización de los riesgos.

Conociendo la magnitud de las exposiciones que se han determinado como posibles y la toxicidad de las substancias involucradas, se estiman los riesgos para la salud a los que se enfrentan las diferentes poblaciones. Se evalúan los riesgos producidos por cada tóxico en lo individual bien sea que llegue a los individuos expuestos por una ruta o por varias. Se evalúan también los riesgos que representan las exposiciones a las mezclas de las distintas substancias presentes.

La caracterización de los riesgos consiste en determinar si estos son tolerables o no.

A la evaluación de los riesgos presentes o futuros que se pueden presentar en un sitio antes de que se haya hecho intento alguno para controlar o reducir las exposiciones se le conoce como **Evaluación de Riesgos de Línea Base (ERLB).**

1.2.12 Restauración ambiental

Si la ERLB en un sitio determinado caracteriza los riesgos existentes como no tolerables, entonces se tiene que intervenir el sitio para reducir los niveles de los tóxicos hasta el punto de que no signifiquen peligro para la salud pública. A este **proceso de limpieza ambiental** se le da el nombre de **restauración , remediación o corrección ambiental.** El término

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

restauración se usa cuando los tóxicos que se van a eliminar provienen de contaminación del medio y el término remediación es más amplio, incluye los procesos de eliminación de tóxicos naturales.

La restauración ambiental tiene como propósito eliminar, reducir o controlar los riesgos para la salud humana y para el medio ambiente en sitios contaminados.

El proceso de **restauración ambiental** para proteger la salud humana **debe de reducir la concentración de los contaminantes por debajo de los niveles normativos, a costos aceptables y la solución debe de ser permanente.**

1.2.13 Prevención de la contaminación

La evaluación de riesgos también se usa para diseñar estrategias de prevención de riesgos para la salud humana. En este caso se determina la cantidad permisible de contaminantes en los medios ambientales que entran en contacto con las poblaciones y, mediante el uso de modelos de transporte se estima cuales son las concentraciones de los tóxicos que serían permisibles en el punto de emisión. Con esta información, se establecen las metas de concentraciones de tóxicos en la fuente, que no se deben de exceder, para que la población posiblemente receptora no esté expuesta a un peligro intolerable. Este dato es una restricción a considerar en el diseño del proceso.

Cuando se está trabajando en el diseño de procesos o de productos no se ha presentado todavía el problema de la contaminación misma y es necesario simularla. Se necesita predecir la toxicidad y el comportamiento de los desechos en el medio ambiente. Se necesita simular el transporte y destino de las substancias, estimando cuál podría ser la permanencia de los desechos en el ambiente, a que medios podría emigrar y los peligros potenciales que significarían estas substancias para las poblaciones que los pudieran contactar. Orientar los esfuerzos hacia evitar la contaminación es, por sentido común, más conveniente que esperar a que ésta se produzca y entonces tratar de eliminarla.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

2 TOXICOLOGIA AMBIENTAL

2.1 Introducción

Cuando el tóxico llega al organismo, dependiendo de la vía de exposición, entra en contacto con las superficies epiteliales del tracto digestivo, del aparato respiratorio o de la piel. Cuando cruza esas membranas y alcanza el torrente sanguíneo, se considera que el tóxico penetró al organismo. La sangre lo transporta a los distintos órganos y en uno o en varios de ellos puede llegar a causar un daño permanente.

La cantidad de tóxico que penetra al organismo puede ser muy diferente de la cantidad inhalada o ingerida, debido a que la substancia no siempre está 100% biodisponible. Por ejemplo; el arsénico ingerido en el agua se absorbe casi totalmente, pero se absorbe mucho menos si el vehículo de ingreso es el suelo. El arsénico no está igualmente disponible cuando está absorbido en las partículas de suelo que cuando está disuelto en el agua. En este caso, para ingestas de la misma cantidad de arsénico, una persona tendrá una concentración mayor en sangre cuando el vehículo fue el agua potable.

Para estudiar el transporte, modificaciones y destino de los tóxicos dentro del organismo es necesario determinar la concentración de las especies químicas que producen los daños, así como medir la magnitud de esos daños.

Las substancias que llegan a las superficies de contacto del organismo con el medio ambiente lo penetran a velocidades diferentes, dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas y de las condiciones que existan en la superficie de contacto, tales como, área y permeabilidad de la membrana de contacto y magnitud del flujo sanguíneo en la zona de contacto.

El xenobiótico es transportado por la sangre a los distintos órganos del cuerpo en los que se distribuye y en algunos de ellos puede llegar a producir un daño.

Desde el momento en que el tóxico penetra en el organismo empieza a ser transformado por las distintas enzimas del organismo de las que pueden ser substrato.

Al conjunto de reacciones que convierten los tóxicos en especies químicas distintas que pueden ser menos o más dañinas que el tóxico original, se le da el nombre de biotransformación. Si los convierten en substancias más dañinas se dice que el proceso fue una bioactivación y si lo convierten en substancias menos peligrosas se dice que el proceso fue una destoxificación.

Los procesos de destoxificación normalmente consisten en incrementar la polaridad de los xenobióticos lo cual los hace menos difundibles a través de las membranas biológicas y más solubles en el agua, lo cual facilita su excreción en forma de solución acuosa (orina). Estos procesos reducen la cantidad de tóxico que penetra al tejido blanco, así como, el tiempo de permanencia del tóxico dentro del organismo y, por lo tanto reducen la magnitud del daño probable a las células del tejido blanco.

Además del tiempo y concentración de contacto entre el tóxico y el tejido blanco también influyen en la magnitud del daño la toxicidad del agente y el estado del receptor. Los daños

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

producidos pueden ser reversibles debido a que las células tengan capacidad de reparar los daños que sufran o bien pueden ser irreversibles y producir una transformación permanente, incluyendo la muerte de la célula, en cuyo caso se dice que se produjo una respuesta tóxica.

A partir del estudio de la relación que existe entre la dosis contactada por un organismo y la magnitud de la respuesta tóxica se llega a la estimación de los índices toxicológicos que son una medida de la peligrosidad de una substancia. Este parámetro es el que se usa para estimar los riesgos en la población expuesta a los tóxicos, que se encuentran en los distintos medios que constituyen el ambiente de una determinada población que, habita, trabaja o hace otros usos de un sitio contaminado.

2.2 Cuantificación de tóxicos en el organismo.

Como se mencionó anteriormente, la respuesta tóxica en un órgano determinado depende de la exposición de ese órgano al tóxico, o sea el daño depende de la concentración de la substancia en el tejido blanco.

Es evidente que si se desea estudiar cuantitativamente el efecto de los tóxicos ambientales en la salud del hombre es necesario poder estimar la cantidad de tóxico que realmente entró al organismo, estudiar las transformaciones que le hace el metabolismo y las concentraciones en las que se encuentran las especies tóxicas en los distintos órganos del cuerpo.

La estimación de la concentración de las especies tóxicas en los medios corporales se puede hacer de dos formas: por medio de muestreo biológico y por el uso de marcadores biológicos.

2.2.1 Muestreo biológico

El muestreo biológico o dosimetría interna consiste en la determinación cuantitativa de la concentración del tóxico o sus metabolitos en uno o más medios corporales del organismo expuesto.

Esta información se usa para estimar la exposición que experimentan cada uno de los tejidos del cuerpo, con el fin de estimar la magnitud de la exposición ambiental y para demostrar que existió una exposición efectiva. El simple hecho de que el tóxico se encuentre dentro del organismo es la prueba de que existió la exposición.

El diseño del muestreo biológico consiste en seleccionar el medio biológico que se va a muestrear, la especie química que se deberá analizar y el tiempo al que se deberá tomar la muestra. Es necesario asegurarse que las condiciones de muestreo sean las que proporcionen observaciones de valores representativos del nivel del tóxico en el organismo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Factores principales que se consideran al diseñar el muestreo.

Tipo de Exposición. En el caso de las exposiciones intermitentes el tiempo transcurrido desde la exposición es muy importante debido a que la concentración del agente puede variar rápidamente con el tiempo. La concentración interna se incrementa al inicio de la exposición y después empieza a disminuir debido al efecto de los procesos de desintoxicación del organismo (metabolismo y excreción). El tiempo transcurrido no es tan importante si la exposición es continua, ya que la concentración del compuesto estará prácticamente constante, cuando se establece el régimen estacionario.

Movilidad y metabolismo. Dependiendo de las propiedades físicoquímicas y bioquímicas del tóxico éste se transportará a distintas velocidades hacia los órganos, se acumulará y se transformará a velocidades diferentes en cada uno de los órganos en los que penetró. Si el compuesto original se biotransforma rápidamente, entonces su concentración, en los medios biológicos, será muy baja y en ese caso es más significativo seguir la concentración de sus metabolitos. El compuesto se puede encontrar en la sangre, acumulado en grasa, pelo, uñas, músculo o hueso, o encontrarse en las secreciones del organismo (orina, heces, leche, sudor) etc.

Facilidad de muestreo.- Se prefiere analizar los medios de los que se puedan obtener las muestras más fácilmente, invadiendo el organismo lo menos posible. Se prefiere el medio en el que se encuentre la especie química relevante en forma más fácil de analizar.

El muestreo de cada medio tiene sus ventajas y desventajas y la selección del medio más adecuado, en cada caso, dependerá del balance entre esas ventajas y desventajas. Los medios más comúnmente analizados son la orina, la sangre y el cabello. A continuación se describen las características principales de los muestreo de estos medios.

2.2.1.1 Orina

En este medio se encuentran los xenobióticos y/o sus productos de excreción que sean solubles en agua.

El muestreo es muy sencillo, no requiere de procedimientos invasivos ni de personal especializado. Como la orina es una solución acuosa homogénea es muy fácil estimar la recuperación del analizando.

Los cambios en flujo y composición de la orina influyen sobre la concentración de las substancias en este medio y por lo tanto los resultados se deben de corregir por estos factores.

2.2.1.2 Sangre

Como se mencionó anteriormente, la sangre se supone que está en equilibrio con todos los órganos del cuerpo y, por lo tanto, es el medio que mejor refleja la exposición de los diferentes órganos en un momento dado.

El factor que más afecta la representatibidad de los resultados del muestreo de sangre es la distribución del tóxico entre el plasma y las células que puede variar con el periodo de exposición y el lapso transcurrido desde que sucedió. Como se verá más adelante, la

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

distribución depende de las propiedades físicoquímicas del compuesto. Los liposolubles normalmente se encuentran en las células y los compuestos ionizados en el plasma. En cada uno de estos compartimentos el compuesto se puede encontrar libre o asociado a diferentes ligandos como proteínas, cloruros, glutatión.

El muestreo de sangre requiere de entrenamiento especializado y se deben de tener los siguientes cuidados:

- no contaminar la muestra con la aguja o con el recipiente
- seleccionar procedimientos de muestreo y preparación que no afecten los resultados. Por ejemplo, si se usa EDTA como anticoagulante no se podrá hacer la determinación del nivel de plomo plasmático. La concentración de plomo que se determine en una muestra preparada en esta forma será un valor más alto que el real, debido a que el EDTA redistribuye el ion al provocar su emigración de las células al plasma
- hacer la determinación del hematocrito para estimar la recuperación del analizando

2.2.1.3 Cabello

La mayoría de los compuestos que se incorporan al cabello son los que tienen afinidad por los grupos sulfhidrilo de la queratina

El cabello crece lentamente, así que su muestreo no es adecuado para evaluar exposiciones recientes. Se sabe que sólo en una de las fases de crecimiento del cabello (anagenia) se incorporan los xenobióticos, presentes en el cuerpo, al eje del cabello y se sabe también que la velocidad de crecimiento en esa fase es de 0.37 mm/día. Esta información se usa para reconstruir, con buena exactitud, la historia de exposiciones pasadas por períodos prolongados. Desafortunadamente solo se tiene datos para muy pocas substancias que nos permitan estimar el coeficiente de partición sangre-pelo.

El principal problema que se tiene con el muestreo del cabello es la contaminación proveniente de fuentes externas como partículas suspendidas en el aire, contaminantes presentes en el agua, productos de limpieza y cosméticos.

El muestreo de cabello no es un procedimiento invasivo.

2.2.1.4 Otros medios

Se pueden seleccionar otros medios biológicos para tomar muestras, tales como, aire exhalado (v.g. en la determinación de alcohol etílico), células exfoliadas de la piel, uñas, sudor, saliva, hueso y leche materna. El análisis de leche materna se utiliza principalmente para estimar exposiciones de infantes, más que para estimar concentraciones corporales en la madre.

2.2.2 Biomarcadores

Los marcadores biológicos o biomarcadores son los cambios medibles, ya sean estos bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a la exposición a un tóxico.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Por ejemplo; el nivel de colinesterasa en sangre se cambia por la exposición a plaguicidas. Un nivel anormalmente bajo de colinesterasa es un biomarcador de la exposición a plaguicidas organofosforados.

Los biomarcadores se utilizan para:

- detectar la presencia de una exposición
- determinar las consecuencias biológicas de la exposición
- detectar los estados iniciales e intermedios de un proceso patológico
- identificar a los individuos sensibles de una población
- fundamentar la decisión de intervenir, tanto a nivel individual como ambiental

En el diseño de una rutina de muestreo es necesario considerar lo siguiente:

- especificidad y sensibilidad del biomarcador
- dificultad de muestreo
- cinética de la formación del biomarcador y
- estabilidad del biomarcador

Los biomarcadores más útiles son los que se pueden obtener menos invasivamente, por eso es que se prefieren los que se encuentran en sangre.

A continuación se describen varios tipos de biomarcadores

2.2.2.1 Marcadores internos de dosis

Indican que el tóxico ha entrado al organismo. Proporcionan información cuantitativa sobre la exposición y corroboran el ingreso de tóxicos al organismo. Son los resultados de la dosimetría interna, o sea la concentración de los xenobióticos y sus metabolitos en los medios biológicos.

2.2.2.2 Marcadores de dosis biológicamente efectivas

Indican que el tóxico ya ha producido daños en el organismo. Son los compuestos de adición estables que forman el tóxico o sus productos de bioactivación con los ácidos nucleicos y proteínas.

Cuando se encuentran compuestos de adición del ADN se puede concluir lo siguiente:

- que el tóxico ha llegado a su blanco
- que ha reaccionado con él y que probablemente ha producido una lesión la cual puede ser reparada o conducir a un daño permanente

Los productos de la bioactivación normalmente tienen una vida media muy corta y es difícil medir directamente su concentración. En este caso se determinan los marcadores de dosis biológicamente efectivas que producen.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los compuestos de adición de hemoglobina y albúmina son biomarcadores de dosis biológicamente efectivas muy convenientes debido a que se pueden obtener fácilmente de la sangre.

2.2.2.3 Marcadores de respuesta biológica

Representan estados avanzados del proceso de daño. Son más persistentes y a menudo representan alteraciones genéticas. Ejemplos de estos son las mutaciones de ciertos oncogenes y los intercambios entre cromatinas hermanas.

2.2.2.4 Marcadores de enfermedades

Son manifestaciones preclínicas o tempranas de enfermedades, representan el último paso antes de que se establezca la enfermedad que produce la exposición. Los pólipos en el colon son un marcador de enfermedad ya que la continuación de la exposición puede conducir a la generación de un cáncer..

2.2.2.5 Marcadores de susceptibilidad

Se utilizan para identificar a los individuos más susceptibles a daños en una población. Algunos individuos tienen probabilidades más altas que otros de recorrer completo el camino exposición-enfermedad. Esto se puede deber a que tienen más activos los procesos de bioactivación o a que tienen disminuidas sus capacidades de destoxificar, de excretar o de reparar daños. Ejemplo de un marcador de susceptibilidad es la actividad de la N-acetiltransferasa (NAT). Los individuos con una alta actividad NAT tienen un riesgo más alto si son expuestos a los compuestos que son bioactivados por NAT (por ejemplo 2-aminofluoreno).

Resumen. Los biomarcadores son muy útiles, pero es necesario validar la relación entre el nivel del biomarcador y la exposición. Los marcadores de respuesta biológica y de enfermedad no pueden identificar el tóxico que produjo el daño, pero sí indican al investigador qué el daño ha ocurrido y es necesario iniciar la intervención.

2.3 Toxicodinámica

En el medio ambiente la biota está rodeada permanentemente de una gran cantidad de substancias con las cuales interacciona en todas sus actividades vitales. Aunque todos los compuestos con los que está en contacto, incluyendo el agua, pueden ser tóxicos en determinadas dosis, es evidente que un gran número de especies han tolerado esta situación.

Para que un tóxico ambiental cause un daño, en primer lugar se debe estar expuesto a él y en segundo lugar el tóxico tiene que vencer las defensas del organismo que tratan de impedirle que llegue al tejido blanco en forma activa. Las defensas consisten fundamentalmente en mecanismos que restringen la movilidad y disminuyen el período de exposición del tejido blanco. Esto lo puede hacer el organismo poniendo barreras a su desplazamiento hacia determinados tejidos, disminuyendo su difusibilidad a través de las membranas celulares y/o facilitando su excreción.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El efecto producido por una dosis, depende de la cantidad de tóxico que llegue en estado activo al sitio de acción y del tiempo que se le permita actuar allí.

El proceso de transporte y transformaciones que experimenta el tóxico desde la superficie epitelial de contacto hasta llegar a los órganos en los que se almacenan y en los que causa lesiones es muy complejo. Por conveniencia, para facilitar su estudio se considera que consta de cuatro pasos: **A**bsorción, **D**istribución, Metabolismo y **E**xcreción. El proceso se conoce por sus siglas ADME (Figura 2.3).

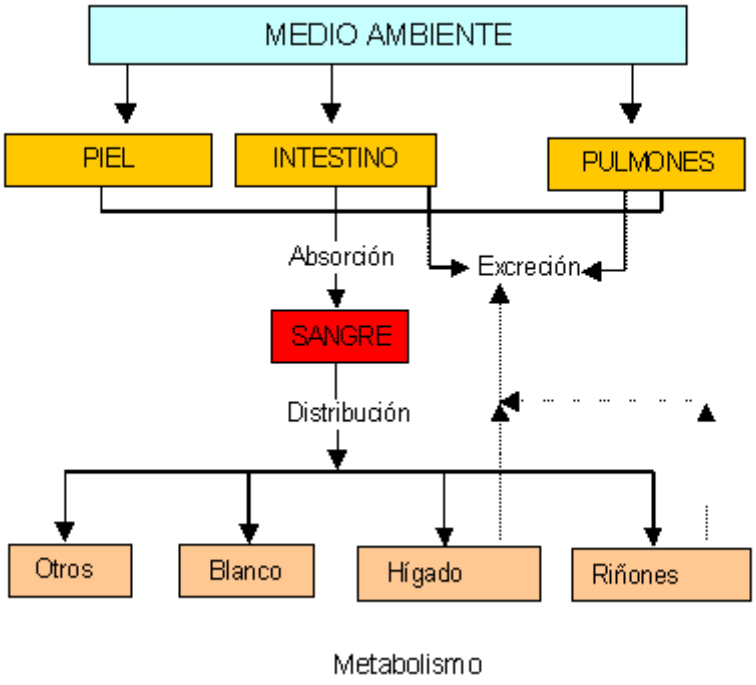


Figura 2.3 ADME Las rutas que sigue un tóxico en el organismo

2.3.1 Absorción

La absorción de un tóxico se define como el proceso por medio del cual éste atraviesa membranas y capas de células hasta llegar al torrente sanguíneo. El mecanismo de ingreso del tóxico al organismo usa los mismos mecanismos de transporte diseñados para movilizar compuestos de estructura similar

Los principales mecanismos de transporte son los siguientes:

- **difusión simple.** Depende de la existencia de un gradiente positivo de concentración (entre el medio contaminado y la sangre). La difusibilidad de una substancia a través de las membranas biológicas depende de sus propiedades físicoquímicas, las substancias polares de bajo peso molecular (hasta 600 daltons) pasan a través de los poros acuosos de

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

las membranas, mientras que, las moléculas hidrófobas se difunden a través de las zonas lipídicas. En general, los lípidos penetran más fácilmente las membranas que las moléculas ionizadas

- El **transporte activo, la endocitosis o la difusión mediada por un transportador** son los mecanismos por los cuales se difunden los compuestos de peso molecular grande (sean polares o liposolubles) y los que se transportan en contra del gradiente de concentración

La absortividad de ácidos y bases débiles depende de su estado de ionización y por lo tanto del pH. Se transportan más fácilmente las formas no disociadas. La cantidad absorbida depende de la velocidad de absorción y del tiempo de residencia del agente en la superficie de transporte.

La velocidad de absorción, en un sitio determinado, depende como todos los procesos de transporte de masa, del **área de transferencia**, del **gradiente de concentración** a través de la membrana y del **coeficiente de transferencia** de masa.

Una vez que el tóxico ha penetrado, el torrente sanguíneo lo arrastra bajando su concentración en la superficie interior de la membrana, así que **a mayor flujo de sangre** en el sitio, se incrementa el gradiente de concentraciones y se reduce la resistencia al transporte por lo que, **será mayor la velocidad de absorción**.

En las superficies del organismo cuya función principal es la absorción, normalmente se presentan una o mas de las siguientes condiciones:

- alta irrigación sanguínea,
- tiempos de residencia prolongados
- superficies expandidas, ejemplo las vellosidades del intestino,
- películas muy delgadas, ejemplo los alvéolos pulmonares
- se pueden presentar combinaciones de estas características, como en el caso de intestino delgado donde se tiene la superficie expandida y el tiempo de residencia largo.

Los epitelios de absorción son al mismo tiempo las superficies de contacto del organismo con el ambiente y por lo tanto forman parte de las principales vías de exposición.

Ya se mencionó antes que las vías de exposición a los tóxicos ambientales son la ingestión, la inhalación y la exposición cutánea. Una misma dosis química pueden producir diferentes efectos, dependiendo de la vía por la cual ingresa. La ingestión es la vía de exposición más común, sin embargo la inhalación y la absorción cutánea forman parte importante de varias rutas de exposición en el ambiente de trabajo. La exposición cutánea es importante, cuando los tóxicos se encuentran en cuerpos de agua que se pueden usar para recreación (natación y deportes acuáticos).

A continuación se presentarán los mecanismos de absorción y los lugares dónde ésta sucede para cada una de las vías de ingreso de importancia ambiental.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

2.3.1.1 Ingestión

Cuando el tóxico se ingiere, entra al **T**racto **G**astro **I**ntestinal (**TGI**), la mayor cantidad se absorbe en el estómago y en los intestinos aunque también puede haber absorción en cualquier lugar del **TGI**, incluyendo las absorciones sublingual y rectal.

El sitio de absorción depende en parte del estado de ionización del compuesto. Los ácidos débiles es más probable que se absorban en el estómago, donde hay un pH bajo, mientras que las bases débiles, que están menos ionizadas a pH alto, se absorben mejor en el intestino donde existen estas condiciones.

La gran área de absorción del intestino y los largos tiempos de residencia, dependiendo de la movilidad intestinal, permiten que se tengan absorciones considerables aunque el flux, cantidad transportada por unidad de área y de tiempo, sea pequeño.

La absorción de los xenobióticos usa los mismos mecanismos que tiene el TGI para absorber los nutrimentos. Por ejemplo, el plomo se absorbe en el intestino usando el sistema de transporte del calcio.

Para que un compuesto ingerido pueda alcanzar la circulación general, accesar el resto del organismo y tener la posibilidad de causar un daño, debe primero ser capaz de resistir:

- la acción de las enzimas digestivas,
- el pH del estómago,
- la biodegradación por la flora intestinal.
- la biotransformación por las enzimas hepáticas.

La absortividad del tóxico ingerido depende de sus propiedades físicoquímicas. Los compuestos liposolubles de bajo peso molecular y los compuestos no ionizados se absorben mejor.

2.3.1.2 Inhalación

La inhalación es la vía de exposición a gases, vapores de líquidos volátiles, aerosoles y partículas suspendidas en el aire.

Los sitios de absorción son la nariz y los pulmones.

La nariz actúa como un limpiador o trampa para los gases solubles en agua y los muy reactivos así como, para retener las partículas grandes.

La absorción de gases y vapores que llegan al pulmón usa el mismo mecanismo que existe para el intercambio de oxígeno y bióxido de carbono.

La velocidad de difusión de los gases en el pulmón es muy grande, debido a que la distancia de difusión es muy pequeña, el flujo sanguíneo es muy alto y el área de transferencia es muy grande. Lo anterior produce que la velocidad de absorción en el pulmón sea alta, independientemente de la naturaleza química del agente.

Las substancias ionizadas, que son las de más lenta absorción, normalmente no son volátiles, por lo que es poco probable que se encuentren en el aire como vapores o gases, aunque desde luego pueden llegar hasta los alvéolos si están absorbidas en las partículas pequeñas de polvo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La concentración de tóxico que se puede alcanzar en la sangre depende de los coeficientes de partición de la substancia, primero el coeficiente aire/sangre cuando se absorbe y después, el coeficiente sangre/tejido cuando se distribuye. El coeficiente de partición es la relación de concentraciones de equilibrio de un soluto a ambos lados de una interface.

Las moléculas de los gases se absorben en el espacio alveolar de los pulmones, disolviéndose en la sangre, hasta que las concentraciones del gas en ambas fases llegan al equilibrio. La solubilidad de gases en la sangre depende fundamentalmente de su solubilidad en agua y de la presión parcial del gas en el aire inhalado. Si se incrementa la concentración de un gas en el aire, se incrementará su velocidad de difusión en los pulmones, hasta alcanzar la nueva concentración de equilibrio en la sangre. La sangre distribuye los tóxicos a todo el organismo.

El flujo sanguíneo es el factor limitante en la absorción de los gases con bajo coeficiente de partición. En el caso de los gases con coeficiente de partición alto, el factor limitante en la absorción es la concentración del gas en el aire que llega a los pulmones.

Las partículas pueden quedar atrapadas en distintos lugares del tracto respiratorio y no llegar al espacio alveolar, con lo cual se disminuye la entrada del tóxico al organismo. La absorción de aerosoles y de partículas, depende de su tamaño y de la solubilidad acuosa de la sustancia química presente en el aerosol o partícula. Las partículas solubles se pueden disolver en el moco nasal y transportadas a la faringe o bien, pueden ser absorbidas a través del epitelio nasal hacia la sangre.

La región del aparato respiratorio en el que se depositan las partículas y aerosoles depende de su tamaño. Las partículas de 5 µm o más grandes se depositan en la región nasofaríngea, que es la región más alta. Las partículas de 1 a 5 µm son depositadas en la región traqueobronquiolar del pulmón, que es la región intermedia, de aquí pueden ser eliminadas por el moco mediante un movimiento tipo elevador hacia arriba, a las regiones ciliadas de donde se podrían eliminar por medio de estornudos o tos, y pueden pasar al TGI. Las partículas de 1 µm y más pequeñas penetran a las sacos alveolares de los pulmones. Estas pueden ser absorbidas a la sangre o bien, pueden ser eliminadas a través del sistema linfático o por medio de macrófagos alveolares. Las partículas inhaladas por la boca son deglutidas y entran al TGI.

La inhalación es la ruta de exposición para la causa más frecuente de muerte por envenenamiento, que es la intoxicación con monóxido de carbono y para una de las enfermedades profesionales más importantes: la silicosis.

2.3.1.3 Absorción cutánea

La piel, a diferencia del epitelio del intestino y de los alvéolos pulmonares, no está diseñada para la absorción de substancias útiles al organismo. La permeabilidad a través de la piel es muy baja debido a que está formada, como ya se vio anteriormente, por varias capas, algunas de ellas muy gruesas, y con muy escasa irrigación sanguínea.

Para que una substancia se absorba por la piel debe difundirse a través del estrato córneo y las demás capas de la epidermis, antes de contactar los vasos capilares sanguíneos y linfáticos de la dermis y pasar al torrente sanguíneo. El transporte a través de la piel es por difusión simple ya que este órgano no cuenta con mecanismos de transporte activo. Por el estrato córneo sólo

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

pueden pasar los lípidos. La absorción en los folículos y en las glándulas se considera despreciable.

La velocidad de absorción depende de varios factores entre los que se incluyen

- la concentración del tóxico
- la magnitud y localización en el cuerpo del área expuesta
- la condición de la piel. La hidratación, quemaduras y ciertas enfermedades incrementan la permeabilidad
- la velocidad de flujo sanguíneo
- temperatura y humedad ambiental
- la interacción con otras substancias que puedan modificar la permeabilidad de la piel.

2.3.2 Distribución

Se entiende por distribución de un tóxico su localización y concentración en los diferentes tejidos.

La distribución no es la acción de transportar el tóxico. Por ejemplo, cuando se dice que un compuesto se distribuye en los órganos A, B y C, no se refiere a como el compuesto se desplazó desde la superficie de absorción hasta los órganos A, B y C, sino al hecho de que el tóxico aparece en esos órganos con una concentración a, b y c respectivamente.

Una vez que el tóxico ha llegado al torrente sanguíneo, se puede transportar a distintos destinos:

- sus sitios de acción
- uno o varios almacenes de depósito. Los **almacenes de depósitos son los sitios donde se puede acumular el compuesto y que no es su sitio de acción.** Ejemplos de almacenes de depósito son el hígado, los riñones, el tejido adiposo y el tejido óseo
- diversos órganos para su biotransformación

La distribución depende de:

- del flujo sanguíneo,
- la velocidad de difusión en las interfaces sangre-tejido, la cual depende del coeficiente de partición,
- la permeabilidad de la membrana y
- de la afinidad del tejido por el compuesto.

En el camino hacia el sitio de acción, el compuesto puede ser:

- captado por las proteínas plasmáticas
- transportado hacia determinadas células
- ver restringido su paso por membranas selectivas
- ser lo suficientemente liposoluble como para ser almacenado en el tejido graso

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

2.3.2.1 Unión a proteínas

Los xenobióticos se pueden ligar reversiblemente a las proteínas plasmáticas, por medio de distintos tipos de uniones: interacciones hidrófobas, puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. La molécula de proteína tiene un número limitado de sitios donde se pueden ligar, tanto los xenobióticos, como los compuestos endógenos. Así que, un agente determinado tiene que competir con los demás compuestos (xenobióticos y/o endógenos) por los sitios de unión disponibles. La unión reversible del compuesto a las proteínas impide la difusión simple pero no limita su transporte activo.

2.3.2.2 Transporte a tejidos especiales

El hígado y los riñones cuentan con mecanismos de transporte activo, por lo que pueden captar muy diversas substancias para almacenarlas, biotransformarlas y/o excretarlas.

2.3.2.3 Transporte a tejido graso

Los lípidos pasan fácilmente las membranas y se almacenan por disolución simple en las grasas neutras, pudiendo dar lugar a grandes acumulaciones, ya que las grasas representan entre el 20 y el 50% de la masa corporal. Esta forma de acumulación puede parecer benigna, sin embargo el compuesto depositado está siempre en equilibrio con su forma libre en la sangre, haciendo que se incremente la permanencia del compuesto en este fluido. También existe el peligro de que se produzca un elevación súbita de la concentración de la substancia en la sangre cuando se tiene una rápida movilización de grasa por inanición, o por esfuerzos extenuantes y prolongados, etc.

2.3.2.4 Transporte hacia tejido óseo

Ciertos iones, como los floruros, el plomo y el estroncio, se intercambian en las interfaces entre los huesos y el fluido extracelular. El hueso es almacén de depósito para el plomo y es el sitio de acción del floruro, donde produce fluorosis ósea.

2.3.2.5 Barreras de exclusión

Los compuestos, como ya vimos, se pueden acumular en un sitio pero también pueden ser excluidos de otros. La barrera sangre-cerebro, aunque no es absoluta, protege al **S**istema **N**ervioso **C**entral (SNC) de la exposición a muchas substancias químicas. Lo mismo sucede con la barrera placentaria que protege al feto y en la barrera testicular que protege a los testículos.

La barrera del SNC consiste de tres mecanismos de exclusión:

- las células epiteliales de los vasos capilares del SNC están íntimamente unidas no dejando poros acuosos entre las células. Esto impide la difusión de substancias polares de bajo peso molecular
- los capilares del SNC están rodeados de células gliales (astrocitos) imponiendo una película adicional que cruzar
- la concentración de proteínas en el líquido intersticial del SNC es la más baja de todo el organismo, haciendo que los lípidos no cuentan con transportadores intercelulares.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La protección que proporciona la barrera varía, de una región del cerebro a otra, debido a las diferencias en el suministro de sangre y en la permeabilidad de la barrera.

2.3.2.6 Factores que afectan la distribución

Los dos factores que más influencian la distribución son, el flujo sanguíneo y la afinidad de los distintos órganos o tejidos por el agente.

La distribución puede cambiar con el tiempo. Por ejemplo los bifenilos policlorados (BPC), primero se distribuyen al hígado y los músculos, con el paso del tiempo se redistribuyen a la piel y al tejido adiposo. Los compuestos se redistribuyen cuando su concentración en los distintos órganos cambia, debido a que los procesos de acumulación, salida, biotransformación y excreción tienen velocidades diferentes en los distintos órganos en los que se distribuye.

La fracción libre del compuesto, la porción que se encuentra en el plasma no unido a proteínas, se encuentra en equilibrio con todos los órganos y tejidos del cuerpo y la concentración en cada tejido depende del coeficiente de partición respectivo.

En la distribución, al igual que en la absorción, la liposolubilidad juega un papel muy importante.

2.3.2.7 Volumen aparente de distribución

El volumen aparente de distribución es una forma de relacionar la cantidad de tóxico en el cuerpo con la concentración plasmática y se calcula dividiendo la dosis suministrada por la concentración plasmática. Los compuestos que se unen fuertemente a las proteínas o que son muy lipófilos se encuentran en concentraciones muy bajas en el plasma, haciendo que se estimen volúmenes aparentes de distribución muy grandes, 100 litros o más. Este valor no tiene ningún significado fisiológico, sin embargo los compuestos menos afines a las proteínas y medianamente lipófilos tienen volúmenes aparentes de distribución alrededor de 7 litros, que es el volumen medio de sangre en adultos.

2.3.3 Excreción

La concentración de un tóxico distribuido se puede disminuir por excreción. Todas las secreciones corporales pueden excretar compuestos químicos, pero las tres principales vías son la orina, las heces y el aire exhalado. La excreción de xenobióticos utiliza los mismos mecanismos que tiene el organismo para excretar los desechos metabólicos endógenos.

2.3.3.1 Orina

Los riñones son los órganos más importantes en la excreción ya que directamente remueven las substancias tóxicas de la sangre. Para que una substancia sea eliminada por la orina es necesario que sea soluble en agua. Los compuestos liposolubles se tienen que biotransformar en hidrosolubles para poder ser excretados por esta vía.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La excreción está fuertemente influenciada por las propiedades físicoquímicas del excretando, las bases débiles pueden excretarse en la orina debido al pH de la orina, aunque los riñones también pueden excretar activamente aniones y cationes orgánicos.

2.3.3.2 Heces

Las heces son otra ruta importante de excreción. Consisten de la ingesta no absorbida, secreciones biliares, secreciones intestinales y microflora. Cualquier dosis oral que no se absorbe se elimina con las heces y no existe la absorción 100%. La flora microbiana puede bioacumular compuestos y como parte de ella es eliminada en las heces, esto contribuye a la excreción de tóxicos. Hay también una pequeña contribución de la difusión pasiva de algunos compuestos de la sangre al intestino.

2.3.3.3 Bilis

La bilis contribuye a la excreción de los metabolitos formados en el hígado. Las substancias con peso molecular mayor a 350 se excretan más fácilmente por esta vía. Algunos iones metálicos, ácidos orgánicos, bases orgánicas y compuestos neutros se pueden transferir a la bilis por medio de transporte activo. Una vez formada la bilis pasa al intestino para ser excretada con las heces. La microflora intestinal biotransforma algunos compuestos que van en la bilis y los metabolitos resultantes pueden ser reabsorbidos y llevados de nuevo al hígado. Este fenómeno, como se mencionó anteriormente, se conoce como el ciclo enterohepático y es la causa de que se incremente la permanencia del tóxico en el organismo.

2.3.3.4 Aire exhalado

Así como los compuestos pueden ser inhalados también pueden ser exhalados. Para que esto ocurra el compuesto debe de ser un gas a temperatura corporal. Los líquidos volátiles están en equilibrio con su fase vapor en los alvéolos. La transferencia de la sangre a los pulmones tiene lugar por difusión pasiva y es inversamente proporcional a su velocidad de absorción. La baja solubilidad en sangre permite una excreción rápida y está limitada por la perfusión (flujo de sangre), mientras que para los compuestos con una alta solubilidad en sangre su excreción está limitada por la ventilación.

2.3.3.5 Otros mecanismos

Las secreciones corporales, como la leche, el sudor y la saliva constituyen vías menores de excreción de tóxicos.

La leche constituye una vía importante en el caso de transporte de tóxicos de la madre lactante al hijo y del ganado lechero al hombre. El pH ligeramente menor de la leche, con respecto al plasma, facilita la excreción de algunos compuestos básicos pero también se pueden excretar algunos compuestos liposolubles y iones similares al calcio.

En el sudor y en la saliva se pueden excretar compuestos liposolubles no disociados que en el caso del sudor, pueden causar dermatitis y en caso de la saliva se vuelven a deglutir y empieza de nuevo el ciclo de absorción, distribución, metabolismo y excreción.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los xenobióticos presentes en el SNC se pueden remover vía el flujo de salida del **L**íquido **C**erebro-**E**spinal (LCE) y también se cuenta con mecanismos de transporte activo para remover compuestos ionizados del LCE.

2.3.4 Metabolismo

Anteriormente se mencionó que, para reducir la posibilidad de que una substancia produzca una respuesta tóxica, se debe de disminuir la cantidad de substancia que llega en forma activa al tejido blanco, así como disminuir el tiempo de permanencia de ésta en su sitio de acción.

Lo anterior se logra disminuyendo la difusibilidad del tóxico e incrementando la velocidad de excreción, ambos fenómenos se producen cuando se incrementa la polaridad del xenobiótico.

Los lípidos se difunden más rápidamente, así que al transformar el xenobiótico en un compuesto más polar se reduce la velocidad de difusión, se aumenta su solubilidad en agua, y esto facilita la excreción en orina. Por ejemplo; la destoxificación del benceno, que tiene una solubilidad de 1 g en 1500 ml de agua, consiste en su oxidación a fenol, que es 100 veces más soluble en agua, y la posterior sulfatación del fenol produciendo un compuesto que tiene una solubilidad en agua de 1g en 3 ml. El resultado de estas dos reacciones es la producción de un compuesto que es 500 veces más soluble en el agua que el xenobiótico original y que, por lo tanto se excreta mucho más fácilmente en orina.

Al conjunto de caminos metabólicos por medio de los cuales los tejidos incrementan la polaridad de un tóxico se le denomina biotransformación. **Podemos decir que la biotransformación de un tóxico consiste fundamentalmente en convertir un xenobiótico no polar en un compuesto soluble en agua. Este es el mecanismo más común que usan los organismos para eliminar los tóxicos ambientales**.

Al igual que la absorción y distribución, dos procesos de transferencia, la biotransformación también se lleva a cabo utilizando los mecanismos existentes en los tejidos. **Se usa la misma maquinaria bioquímica con la que se metabolizan los compuestos endógenos de estructura química similar**.

En algunos casos, la biotransformación resulta en la producción de un metabolito que es más tóxico que el compuesto original, al proceso se le denomina **bioactivación**. Si estos metabolitos se acumulan y vencen las defensas del organismo entonces pueden producir un daño que se manifieste en una respuesta tóxica.

El estudio de las reacciones que constituyen la biotransformación es de gran importancia, porque nos permiten entender los mecanismos por medio de los cuales los tejidos se defienden de los tóxicos que logran penetrar y también cómo es que en algunas ocasiones sucede lo contrario y de hecho se incrementa la toxicidad en el interior del cuerpo. Estas reacciones se agrupan en dos conjuntos a los cuales se le denominan **Biotransformación Fase I** y **Biotransformación Fase II.**

La Fase I biotransforma los xenobióticos convirtiéndolos en substratos de las enzimas de la Fase II, al mismo tiempo que los hacen más hidrófilos. La Fase II son reacciones de conjugación en las cuales un metabolito con enlaces de alta energía sede un grupo funcional polar al xenobiótico, o su producto de transformación por la Fase I. En el ejemplo de la

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

destoxificación del benceno, la oxidación a fenol es una reacción de la Fase I y la sulfatación del fenol es una reacción de la Fase II.

2.3.4.1 Biotransformación Fase I

La Fase I es un conjunto de reacciones de oxidación que preparan a los tóxicos para que puedan transformarse por las reacciones de la Fase II (Figura 2.3.4.A). Esto lo logran transformando los grupos funcionales del xenobiótico en sitios que pueden llevar a cabo reacciones de la Fase II, o bien introducen grupos nuevos que le dan esta característica. Para hacer este trabajo las células cuentan con dos sistemas de enzimas, que tienen la función de introducir en el substrato un átomo de oxígeno proveniente del oxígeno molecular (oxigenasas de función mixta). Estos dos sistemas son las amino-oxigenasas y los Citocromos P-450. Ambos sistemas se encuentran localizados en el retículo endoplásmico.

Las amino-monoxigenasas oxidan aminas y compuestos sulfurados.

Los Citocromos P-450 están formados por dos proteínas diferentes, una tiene función de reductasa y la otra es una hemoproteína con actividad de oxigenasa. La oxigenasa es una proteína, que en estado reducido y monoxicarbonada, presenta un pico de absorción a 450 nm. Que es lo que le da el nombre a esta familia de enzimas).

El mecanismo de la reacción de la oxidación del xenobiótico catalizada por citocromo P-450, en términos generales es como sigue: **(A)** el xenobiótico entra a su sitio activo que se encuentra en la oxigenasa, **(B)** la reductasa transfiere un electrón al hierro hemático reduciédolo del nivel (III) a (II), **(C)** la reducción abre el sitio activo del $O_{2,}$, **(D)** el O_2 entra a su sitio activo y oxida al xenobiótico que está en la superficie de la enzima transfiriéndole uno de los átomos de oxígeno.

Existen varios Citocromos P-450 que se diferencian en su especificidad, por ejemplo, el P-450 IIE oxida al etanol y el P-450 IA oxida al alfa-benzo-pireno.

Si la concentración de oxígeno en la célula es muy baja, entonces la reacción catalizada por el Citocromo P-450 es una reducción en la que el NADPH actúa como donador de iones hidruro.

Las reacciones de reducción más comunes son la transformación de nitroderivados aromáticos a aminas, la azoreducción de aminas primarias y la deshalogenación reductiva. La reducción puede dar lugar a la formación de un radical libre más tóxico que el xenobiótico original, capaz de producir daños en el ADN. Esta biotransformación es entonces una bioactivación. Por ejemplo; el tetracloruro de carbono sufre la deshalogenación reductiva produciendo el radical libre triclorometilo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

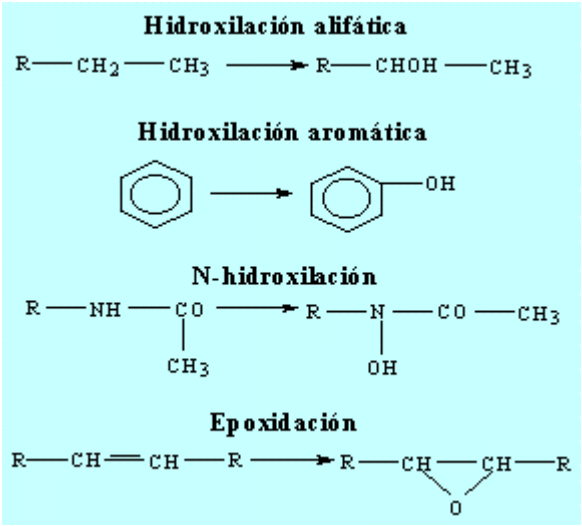


Figura 2.3.4.A Reacciones Comunes de Oxidación en la Fase I.

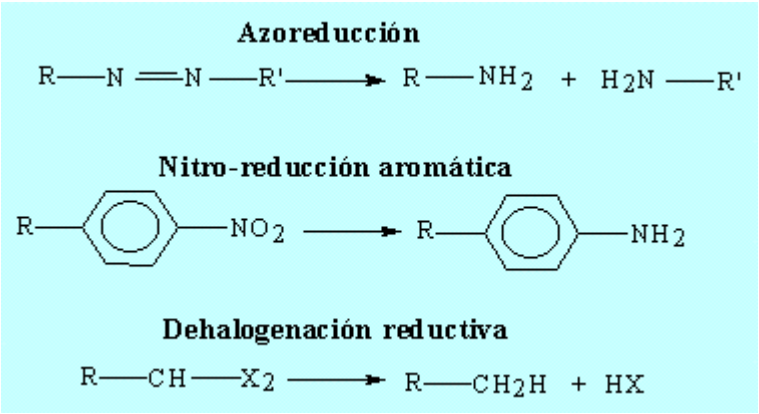


Figura 2.3.4.B Reacciones de Reducción Catalizada por Citocromo P-450.

La Figura 2.3.4.B resume las reacciones de reducción en la que intervienen los Citocromos P-450.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

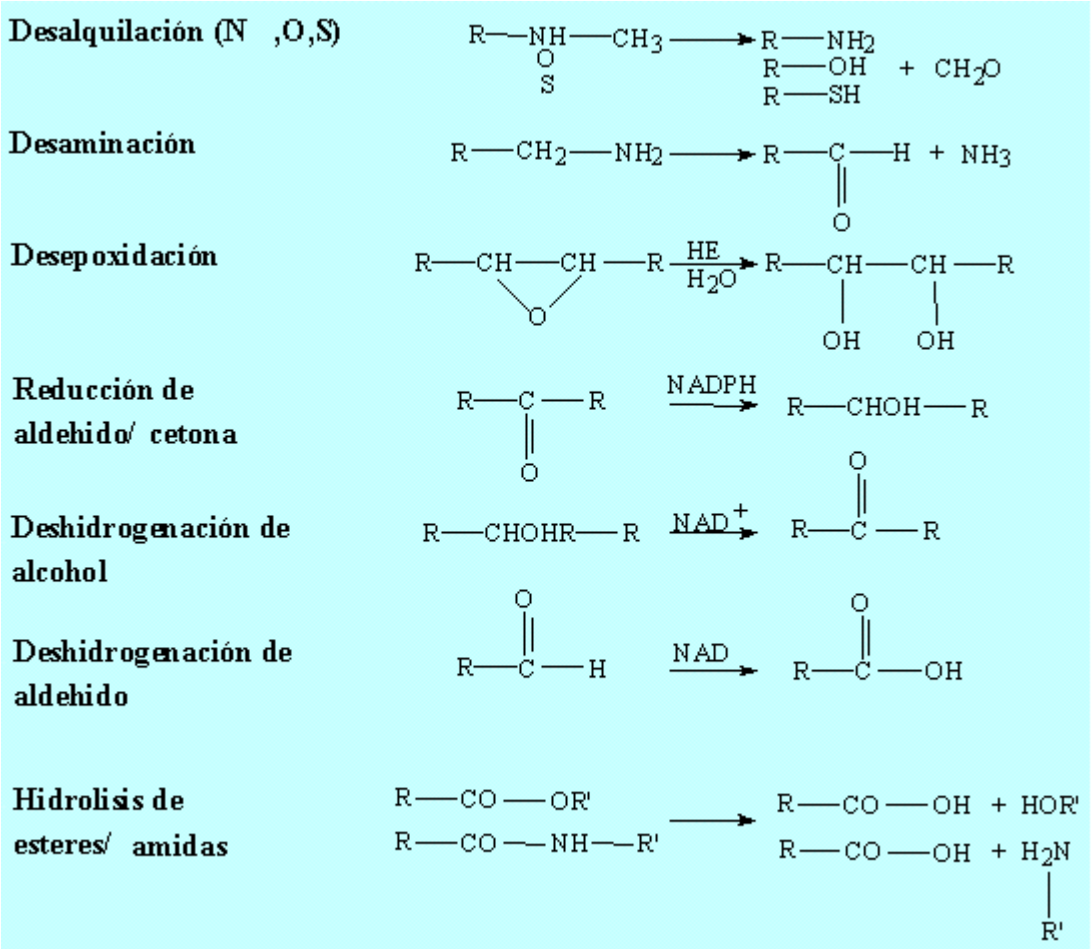


Figura 2.3.4.C Reacciones de Exposición de Grupos Funcionales

Los Citocromos P-450 exponen grupos funcionales catalizando reacciones de desalquilación, desaminación y deshalogenación (Figura 2.3.4.C).

Las peroxidasas catalizan reacciones entre los xenobióticos y los peróxidos endógenos, permitiendo, al mismo tiempo, que la célula oxide al xenobiótico y se deshaga de estos compuestos endógenos altamente tóxicos. El producto de esta reacción es un alcohol que puede ser destoxificado por una alcohol deshidrogenasa.

2.3.4.2 Biotransformación Fase II

La Biotransformación Fase II, tal como se mencionó anteriormente, consiste en reacciones de conjugación, catalizadas por un conjunto de enzimas, la mayoría de ellas localizadas en el citosol.

Las reacciones consisten en agregar un grupo polar de tamaño relativamente grande a los productos de las reacciones de la Fase I o a los xenobióticos originales que contienen los

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

grupos funcionales apropiados para ser substratos de las reacciones de conjugación. Los donadores de los grupos polares tienen que ser compuestos de alta energía, ya que las reacciones de conjugación no son termodinámicamente favorables.

El resultado que se logra con estas reacciones es un gran incremento de la solubilidad en agua del xenobiótico.

Glucuronidación. La reacción consiste en agregar un grupo glucuronil en un grupo hidroxilo, amino o sulfhidrilo del tóxico. La enzima que cataliza la reacción es la UDP glucuronil transferasa y el donador del grupo polar es el ácido UDP glucurónico. La enzima se encuentra localizada en el retículo endoplásmico, a diferencia de las otras enzimas de la Fase II que se localizan en el citosol. Los compuestos glucuronidados son muy solubles en agua y aparecen en la orina y en la bilis. Existe un número muy grande de xenobióticos que son substrato de esta enzima.

Sulfatación. La reacción consiste en la transferencia de un grupo sulfato de PAPS (3´-fosfoadenosil-5´-fosfosulfato) a un grupo hidroxilo o amino en el xenobiótico. La reacción es catalizada por sulfotransferasas, enzimas solubles localizadas en el citosol. El producto de la reacción es un sulfato orgánico ionizado, muy soluble en agua que se excreta en la orina.

Aminoacidación. La reacción consiste en la formación de una unión peptídica entre el grupo amino de un aminoácido, normalmente glicina, y un carboxilo en el xenobiótico. Obviamente para que esta reacción se pueda dar es indispensable que el xenobiótico tenga un grupo carboxilo. Estos conjugados son eliminados en la orina debido a que el sistema de transporte del riñón reconoce al aminoácido.

Glutationización. La glutationización consiste en la adición de glutatión (GSH), a través de su grupo sulfhidrilo (nucleofílico), con un carbón electrofílico del xenobiótico. La reacción es catalizada por la glutatión-S-transferasa y el glutatión mismo es el cofactor de alta energía. El glutatión es un tripéptido, Glu-Gli-Cis. El compuesto que se forma se rompe en el riñón produciendo el Cis-derivado, que se acetila para producir un conjugado del ácido mercaptúrico, el cual se excreta en la orina. Esta reacción es importante en la destoxificación de epóxidos y peróxidos. La glutatión-S-transferasa se encuentra en células de muy diversos tejidos. Si esta reacción disminuye significativamente el nivel celular de glutatión, el organismo puede sufrir daños considerables debido a la peroxidación de lípidos o por otros tipos de agresión química.

Metilación. La metilación juega un papel menor en la biotransformación de xenobióticos, excepto en la destoxificación de arsénico. Los compuestos inorgánicos de arsénico se transforman en metabolitos monometilados y dimetilados que son menos tóxicos. La reacción consiste en la transferencia de un grupo metilo a un hidroxilo, amino o sulfhidrilo, es catalizada por las metiltransferasas y el compuesto donador de grupos metilo es la SAM (S-adenosil-metionina). La metilación es importante en la transformación de compuestos endógenos y forma parte en la biosíntesis de varios aminoácidos y esteroides, así como en la metilación del ADN.

Las reacciones de la Fase I activan grupos funcionales, la metilación los enmascara impidiendo que participen en reacciones de la fase II, por lo tanto, si se metilan los xenobióticos se disminuye la tasa de eliminación del compuesto.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Como se puede ver, varias de las reacciones de la Fase II requieren de los mismos grupos funcionales, así que los compuestos que pueden ser modificados por más de una enzima entran en reacciones que son mutuamente competitivas.

Qué tanto tiene lugar una reacción determinada depende, de la capacidad del tejido para llevar a cabo la reacción y de la afinidad de la enzima por el substrato. La capacidad está definida por la cantidad de cofactor presente en el tejido cuando éste es expuesto al xenobiótico.

Tabla 2.3.4.A Capacidades y Afinidades de las Reacciones de Conjugación

REACCIÓN	CAPACIDAD	AFINIDAD
Glucuronidación	Alta	Baja
Aminoacidación	Media	Media
Sulfatación	Baja	Alta
Glutationización	Baja	Alta
Acetilación	Variable	Variable

Por ejemplo, el fenol contiene un grupo hidroxilo y puede ser transformado por una glucuroniltransferasa o una sulfotransferasa. La capacidad de estas reacciones dependerá de la concentración celular de UDP glucuronato y PAPS.

Cuando se administran cantidades pequeñas de fenol, aparece el sulfoester en la orina, si se administran cantidades crecientes de fenol, se incrementará la concentración del sulfoester y posteriormente aparecerá el derivado glucuronidado. Esto significa que el fenol tiene mayor afinidad por la sulfotransferasa, esta reacción procederá hasta que se agote la disponibilidad de PAPS. Cuando se agota el PAPS se empieza a utilizar el UDPglucuronato. En el caso de la N-acetilación, las afinidades y capacidades pueden cambiar debido al polimorfismo de esta enzima (acetiladores lentos contra los acetiladores rápidos).

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

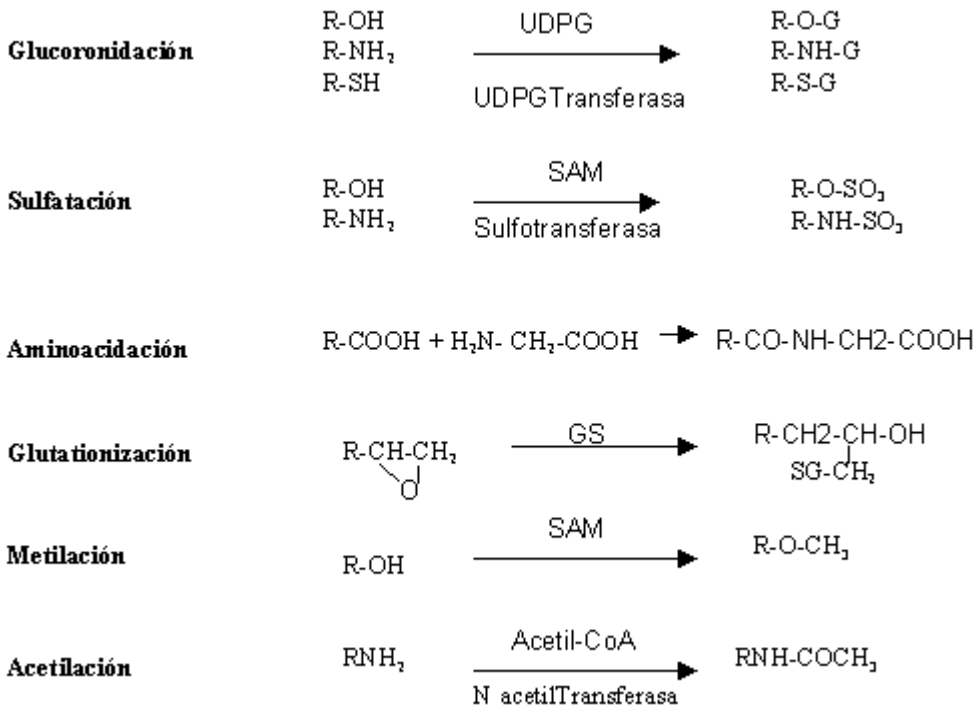


Figura 2.3.4.D Reacciones de Conjugación de Fase II.

2.3.4.3 Bioactivación

Como mencionamos anteriormente, la bioactivación es el conjunto de reacciones metabólicas que incrementan la toxicidad de los xenobióticos, o sea que los metabolitos resultantes de la biotransformación de la substancia absorbida son más tóxicos que el compuesto original.

La mayoría de las bioactivaciones son producidas por las enzimas de la Fase I, aunque algunas de las enzimas de la Fase II también pueden bioactivar algunos xenobióticos. Este efecto lateral indeseable de la biotransformación ocurre cuando se producen especies químicas muy reactivas, normalmente compuestos electrofílicos con gran afinidad por los nucleófilos. El ADN, las proteínas y los lípidos son nucleófilos.

La mayoría de las reacciones en los que se generan productos de aducción de ADN y proteínas se deben a la interacción de estas macromoléculas con los productos de las reacciones de bioactivación. El acetoaminofén se N-hidroxila en el hígado, vía un Citocromo P-450. El producto de la hidroxilación reacciona con proteínas del hígado, produciendo hepatotoxicidad.

La aducción del ADN es un tema de estudio de gran importancia, ya que da por resultado la transformación de las células normales en cancerosas. El benzo-alfa-pireno es un cancerígeno que es bioactivado en el hígado, formando un epoxidiol altamente electrofílico que se liga al ADN.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Existen varios mecanismos por medio de los cuales una substancia puede incrementar la toxicidad de otra:

- Inducción de Enzimas. Un xenobiótico puede inducir una enzima que bioactiva a otro xenobiótico. Por ejemplo el etanol induce la síntesis del Citocromo P-450 que bioactiva al tetracloruro de carbono. Esta interacción hace que el tetracloruro de carbono sea más tóxico cuando se administra junto con alcohol
- Inhibición de enzimas. La inhibición también puede incrementar la bioactivación. Por ejemplo, una substancia que bloquee la síntesis de los Citocromos P-450 hará que el organismo se vuelva más susceptible a los tóxicos que son destoxificados por los P-450. Las substancias que inhiben la síntesis de Citocromo P-450 también pudieran servir de antídoto si la especie tóxica es producto de la bioactivación del xenobiótico por el Citocromo P-450

Las rutas de Bioactivación son las siguientes:

1. El tejido blanco contiene las enzimas para bioactivar el xenobiótico y es el sitio activo para la especie tóxica. El ejemplo clásico de esta ruta es la bioactivación del tetracloruro de carbono vía la deshalogenación por el P-450 del hígado, produciendo el radical libre triclorometilo, el cual reacciona con proteínas y lípidos del hígado.
2. Un tejido no blanco bioactiva al xenobiótico, el cual experimenta otra bioactivación en el tejido blanco. Ejemplo, el benceno es oxidado a fenol por los P-450 del hígado y este compuesto se transporta hasta la médula ósea donde se transforma en hidroquinol, un diol que causa daño en la médula ósea.
3. Un tejido no-blanco bioactiva el xenobiótico, el cual tiene sus efectos en el tejido blanco. Ejemplo: el hexano se transforma en 2,5-hexanodiona por la acción del P-450 y la alcohol deshidrogenasa del hígado. Este metabolito produce ligaduras cruzadas en los neurofilamentos causando daño en nervios periféricos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

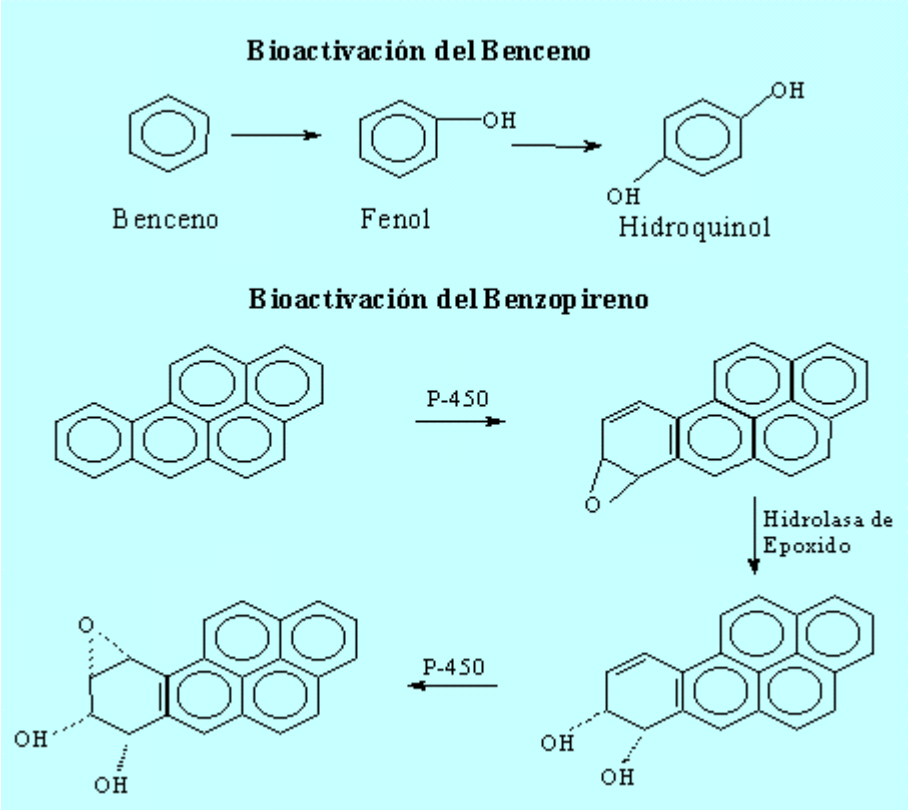


Figura 2.3.4.E Ejemplos de Reacciones de Bioactivación

En resumen:

- La biotranformación Fase I son reacciones de oxidación catalizadas por un sistema complejo de enzimas que convierten los xenobióticos no polares en compuestos solubles en agua. La mayoría de los xenobióticos no serían substrato de las enzimas de la Fase II sin las transformaciones introducidas por las reacciones de la Fase I
- A bajas concentraciones de oxígeno, los Citocromos P-450 pueden catalizar reducciones de los xenobióticos
- Las reacciones de la Fase I pueden dar lugar a bioactivaciones
- Las reacciones de la Fase II son adiciones de residuos polares en los grupos funcionales del xenobiótico, normalmente producidos en la Fase I, que dan productos mucho más solubles en agua que los compuestos absorbidos y los productos de la Fase I
- Algunas reacciones de la Fase II producen compuestos menos solubles en agua
- La capacidad de los tejidos para hacer transformaciones Fase II depende de la cantidad disponible de cofactores en las condiciones fisiológicas en las que se encuentra el organismo

Normalmente el organismo tiene las defensas adecuadas para manejar la agresión química para lo cual cuenta con lo siguiente:

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- las enzimas de las dos fases de la biotransformación
- la presencia de antioxidantes que eliminan radicales libres y reducen especies tóxicas
- las proteínas plasmáticas que ligan los tóxicos en el plasma sanguíneo impidiendo su difusión hacia los tejidos

La toxicidad ocurre cuando todas las defensas han sido vencidas.Por ejemplo el fenol, como vimos anteriormente, se destoxifica primero por sulfatación y después por glucuronidación. Cuando se agotan los dos cofactores para estas reacciones, el fenol se empieza a acumular y se produce su distribución hacia su sitio activo, la médula ósea, donde produce su respuesta tóxica.

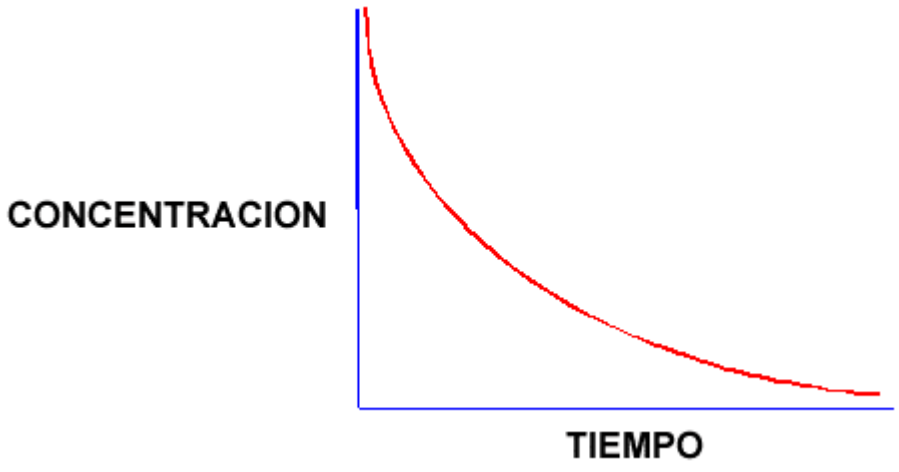
2.3.5 Toxicocinética

Ya hemos visto que el comportamiento del tóxico en el organismo está determinado por los procesos de absorción, distribución, biotransformación y excreción.

La interacción dinámica de todos los procesos que constituyen el ADME, determina el tiempo que permanecerá un agente dentro del organismo después de que éste ha sido expuesto a una dosis determinada. **Al estudio de la velocidad de cambio de la concentración de las especies tóxicas dentro del organismo se le conoce como toxicocinética**

Las tasas de cambio que se presentan en cada fase del ADME se pueden modelar matemáticamente e integrarlas en un modelo que represente la dinámica global del tóxico dentro del organismo.

Cada proceso, sea este de cambio de lugar y/o de identidad química, se puede representar por una ecuación diferencial en la que la derivada de la concentración con respecto al tiempo en un sitio determinado, se expresa como una función de la concentración en ese lugar. La constante de proporcionalidad se denomina velocidad específica y normalmente se representa



por la letra “k”.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Figura 2.3.5.A Concentración vs Tiempo. Cinética de Primer Orden.

El conjunto de ecuaciones diferenciales simultáneas integran el modelo que representa el cambio global de la concentración del tóxico. El modelo se puede usar para predecir la magnitud de la respuesta tóxica en función de la exposición, utilizando la información generada por el muestreo biológico y los biomarcadores.

Si se quisiera representar el proceso en toda su complejidad resultarían modelos prácticamente imposibles de manejar, así que se establecen una serie de suposiciones plausibles que permiten simplificar el modelo.

Podemos representar al cuerpo por un modelo de un solo compartimiento que sigue una cinética de primer orden si se supone que se llega rápidamente al equilibrio en la interface sangre-tejido. En este caso, el cambio de concentración en plasma refleja el cambio de concentración en los tejidos. Este modelo establece que la velocidad de eliminación de un compuesto, en un momento dado, sólo es proporcional a su concentración. La variable eliminación incluye la expulsión del compuesto por todas las rutas de excreción y la desaparición por biotransformación. La cinética de primer orden se representa matemáticamente de la siguiente manera:

$$\mathbf{dC/dt = - k_{el}C}$$

donde. **C** = concentración plasmática

$\mathbf{k_{el}}$ = constante de velocidad de eliminación de primer orden

t = tiempo al que se muestreó la sangre.

Este modelo indica que la velocidad global a la que procede el ADME de un compuesto es directamente proporcional a la concentración y que la velocidad **no** varía linearmente con la dosis, sino que su variación es exponencial. La velocidad de eliminación es alta cuando la dosis es alta, pero disminuye fuertemente a medida que la concentración del tóxico disminuye.

Vida media es el tiempo que tarda el organismo en reducir a la mitad la concentración del tóxico.

Si un compuesto tiene una vida media de 24 horas y su concentración en un momento dado es 40 mg/L, en un día se bajará la concentración a 20 mg/L, pero bajar esta concentración otros 20 mg/L (bueno, casi 20 mg/L, digamos 19.8 mg/L) requerirá de más de 6 días.

La constante k_{el} se puede evaluar graficando la concentración plasmática contra el tiempo en escala semilogarítmica. Se obtiene una línea recta con pendiente - $k_{el.}$

La mayoría de los compuestos siguen una cinética de primer orden, pero no todos, el alcohol etílico sigue una cinética de orden cero, en la cual la velocidad de eliminación es

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

independiente de la concentración y sólo es función del tiempo. La cinética de orden cero se presenta cuando se saturan las enzimas de un camino metabólico. Si la concentración de un agente es muy alta, se saturarán las enzimas y su eliminación mostrará una cinética de orden cero aparente, aunque a concentraciones no saturantes presente una cinética de primer orden. Por el contrario, los compuestos que normalmente se eliminan siguiendo una cinética de orden cero, cuando las concentraciones son muy bajas, su eliminación sigue una cinética de primer orden aparente. El modelo que representa la cinética de orden cero es:

$$dC/dt = K_o$$

Donde: k_o es la constante de velocidad de orden cero,

C y t tienen el mismo significado que en la ecuación anterior

Cuando se tienen dosis repetidas el nivel del tóxico se aproxima a la concentración de estado estacionario porque las velocidades de eliminación y de absorción son iguales. Se necesitan aproximadamente 5 vidas medias para alcanzar el estado estacionario, así que los compuestos que se eliminan muy lentamente tardan mucho en alcanzarlo.

El cálculo de la concentración en estado estacionario se hace con la siguiente ecuación:

$$C^* = FD/tTs$$

Donde: C* es la concentración en el estado estacionario;

D es la dosis;

F la biodisponibilidad o fracción de la dosis absorbida;

Ts es el tiempo de residencia en el organismo y

t es el intervalo entre dosis.

2.4 Respuesta tóxica

2.4.1 Caracterización de la respuesta tóxica

La caracterización de los efectos tóxicos o dañinos es esencial en la evaluación del peligro potencial impuesto por una substancia química.

La toxicidad, o sea la capacidad de producir un daño, es una propiedad intrínseca de la substancia.

Ya se mencionó anteriormente, que la respuesta tóxica es cualquier cambio que produce una lesión celular permanente.

Otra forma de expresar lo anterior es la siguiente: la toxicidad es la interrupción de la homeostasis de una célula que lleva a una alteración en estado morfológico o muerte.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Una célula normal no está en reposo o inactiva. Está cambiando dinámicamente para responder a estímulos o cambios en función. Una célula mantiene su estructura y función dentro de un rango de condiciones fisiológicas, el cual define su homeostasis normal.

La célula puede responder a estímulos externos adaptándose y llegando a un nuevo estado estacionario. Si el cambio que experimenta la célula está más allá de su capacidad de adaptación se le causa un daño. Esto no necesariamente lleva a la muerte celular ya que hay muchas etapas de daño celular que son reversibles. La muerte puede sobrevenir si el estímulo es severo y persistente.

2.4.1.1 Daño celular

Existen muchos blancos celulares para el daño, pero generalmente, estos mecanismos convergen y producen una respuesta celular común. La muerte celular seguirá mecanismos similares independientemente de que la causa del daño sea de naturaleza química, física o biológica.

El conocimiento de las manifestaciones de daño y de los blancos celulares potenciales permite estimar los efectos adversos potenciales, diseñar alternativas y sugerir acciones terapéuticas y antagónicas para bloquear o revertir los efectos dañinos. En esta sección se define lo que es daño celular y se hace una revisión de los blancos celulares críticos.

Blancos celulares. La célula tiene varios componentes que deben estar en buen estado para que la célula funcione.

Los componentes de la célula que en forma selectiva se pueden convertir en blancos son la membrana plasmática, el citoesqueleto y los lisosomas. El daño al citoesqueleto a su vez, causará daño a la membrana plasmática. Los lisosomas contienen enzimas digestivas y su destrucción causará que estas enzimas se liberen produciendo lesiones graves en el citoplasma.

La célula necesita tener los siguientes caminos metabólicos en buen estado: la producción de ATP mitocondrial, el metabolismo de calcio, la síntesis de proteínas, la regulación del ADN, la glicólisis y el ciclo del ácido cítrico o ciclo de Krebs. Estos dos últimos proporcionan los precursores para síntesis de aminoácidos y los equivalentes reducidos cuya oxidación genera la mayoría de los ATP.

Los daños a la membrana plasmática, a la producción de ATP mitocondrial y al control de los niveles de calcio intracelular son rutas comunes para la destrucción final de la célula y merecen discusión especial.

La membrana plasmática es utilizada por la célula para mantener los gradientes iónicos que a su vez regulan el volumen celular. Si se daña la membrana entran iones sodio y calcio y salen iones potasio. El agua y los cloruros se redistribuyen de acuerdo al gradiente electroquímico y hay incremento neto intracelular del agua. El aumento de agua intracelular es visible al microscopio por el aumento de tamaño de la célula que se hincha. Si ésto no se corrige la célula se puede romper. Hay varios mecanismos que pueden inducir estos cambios, algunos ejemplos son el trauma físico, fluidización de la membrana, peroxidación de lípidos (tetracloruro de carbono), daño al citoesqueleto, bloqueo de canales y ataque viral.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Independiente de la agresión tóxica, la membrana plasmática es uno de los componentes que primero responde al daño y la pérdida de integridad es el punto final del daño.

En la mayoría de las células las mitocondrias son responsables de la síntesis de ATP vía la respiración aeróbica. El ATP es la fuente de energía más importante de la célula, se utiliza en las reacciones biosintéticas, y es necesario para la activación de compuestos endógenos por fosforilación o adenilación, para incorporarse en cofactores, para la funcionabilidad del citoesqueleto y para operar las bombas iónicas de la membrana celular.

La producción de ATP por las mitocondrias requiere de oxígeno para funcionar, así que una de las rutas para dañar el proceso es la hipoxia (baja concentración de oxígeno). El principal agente que priva a la célula de oxígeno es el monóxido de carbono el cual se liga a la hemoglobina inhibiendo la unión de ésta con el oxígeno. La anemia (baja concentración de hemoglobina en la sangre) y la isquemia (bajo flujo arterial o del drenaje venoso), reducen la capacidad de transporte de oxígeno y pueden contribuir a la deficiencia de este compuesto a nivel celular.

La producción de ATP también se puede impedir por:

- agentes que interrumpen la cadena de transportes de electrones a través de inhibidores de enzimas como la rotenona (inhibe la NADH-coenzima Q reductasa) y el cianuro (inhibe la citocromo oxidasa)
- por substancias que inhiben o desacoplan la fosforilación oxidativa tales como el DDT (inhibe la ATP sintetasa) y
- el arsenato (substituye al fósforo y produce intermediarios de baja energía).

El incremento del nivel de calcio intracelular produce la disociación de la actina de los microfilamentos en el citoesqueleto y la activación de fosfolipasas y proteasas. Estos cambios producen fragmentación del ADN, condensación de la cromatina, ampollado y rompimiento de membranas y degradación de proteínas.

El control de calcio se puede romper por el incremento del ingreso o por la salida de este ión de sus depósitos celulares. Los agentes que inducen la entrada de calcio son metilmercurio que produce poros y, el tetracloruro de carbono que rompe la membrana. Los agentes que inhiben la exportación de calcio del citoplasma son inhibidores de la calcio-ATPasa en la membrana celular o en el retículo endoplásmico. Algunos ejemplos de ellos son el bromobenceno, diamida, diquat y ión vanadato.

Los radicales libres son especies químicas altamente reactivas que tienen un electrón no pareado. Hay tres mecanismos principales para producir radicales libres en un escenario biomolecular y son:

- toma de un electrón por un xenobiótico (v.g. una reductasa cataliza la transferencia de un electrón al paraquat),
- pérdida de un electrón (v.g. el fenol y la hidrazina pierden un electrón en la reacción catalizada por peroxidasas) y
- fisión homolítica de un enlace inducido por la transferencia de un electrón a la molécula.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La transferencia del electrón se lleva a cabo por el citocromo P-450 o por la cadena de transporte de electrones de la mitocondria. A menudo estos radicales donan un electrón al oxígeno molecular formando un superóxido (O_2^{-*}), como es en el caso de la activación del tetracloruro de carbono para dar lugar al radical libre Cl_3C^* el cual se combina con oxígeno para formar la especie activa Cl_3COO^*.

La célula no está indefensa contra estas especies reactivas, tiene dos líneas principales de defensa para protegerse.

- La primera es la presencia de antioxidantes los cuales donan o aceptan un electrón para formar intermediarios estables. Ejemplos de ellos son el alfa-tocoferol, ascorbato y GSH.
- Probablemente de mayor importancia, particularmente en la destoxificación de radicales oxigenados y del peróxido de hidrógeno, son los sistemas de enzimas protectoras. Éstas incluyen la peróxido dismutasa, la cual convierte el superóxido en peróxido de hidrógeno, la GHS peroxidasa y la catalasa convierten al peróxido de hidrógeno en agua.

Si el radical libre no es inactivado causará daños a la célula y puede hacerlo vía la unión a un blanco o capturando un hidrógeno del blanco.

Los radicales libres neutros, como el HO* y el Cl_3C^*, se pueden unir covalentemente a biomoléculas y alterar su función, o en el caso que se unan a ADN el resultado sea una mutación.

Los radicales libres pueden capturar un hidrógeno de otras moléculas, convirtiéndolos en radicales libres. La abstracción de hidrógeno del ADN produce rompimiento o ligaduras cruzadas de las cadenas, la abstracción por lípidos inicia la peroxidación de estos compuestos.

El daño por radicales libres está implicado en las lesiones causadas por agentes químicos, por radiación, inflamación, envejecimiento y reperfusión/isquemia.

2.4.1.2 Muerte Celular

El punto al cual la célula no se puede recuperar de las lesiones es difícil de definir. Hay muchos pasos que se consideran reversibles y muchos que son definitivamente irreversibles.

Los dos fenómenos que consistentemente están asociados a lesiones irreversibles son la incapacidad de revertir la disfunción mitocondrial y las distorsiones profundas de la funciones de la membrana.

Características de las lesiones celulares *reversibles*

- Pérdida de ATP que disminuye la actividad ATP-asa en la membrana
- Hinchazón célular aguda (pérdida del control de volumen)
- Aumento de la velocidad de la glicólisis para compensar la pérdida de ATP
- Desprendimiento de los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso
- Permeabilidad incrementada de la membrana y disminución de la actividad mitocondrial que resulta en el ampollamiento de la superficie célular

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- Mitocondrias normales, ligeramente hinchados o condensados

Características d e las lesiones *irreversibles*

- Vacuolización severa de las mitocondrias
- Daño masivo de la membrana celular
- Crecimiento de los lisozomas
- Entrada de calcio y activación de las proteasas y fosfatasas
- Pérdida continua de proteínas coenzimas y ARN
- Eosinofilia que produce rompimiento de lisozomas
- Picnosis (condensación nuclear con agregación de cromatina)
- Cariólisis (destrucción de cromatina)
- Carirrexis (fragmentación nuclear)
- Digestión enzimática del citoplasma y nucleo, fuga de compuestos intracelulares y entrada de macromoléculas extracelulares

Existen dos mecanismos principales de muerte celular: la apoptosis y la necrosis

Apoptosis. En una definición muy amplia, la apoptosis se puede considerar como una muerte celular "programada". La apoptosis es un evento celular natural el cual también puede ser inducido por condiciones patológicas. Como ejemplo de funciones fisiológicas normales de la apoptosis podemos mencionar la regresión del útero después del parto, la inmunoeliminación de células y la muerte de células nerviosas en el desarrollo si no se establecen contactos axonales. La apoptosis está implicada en enfermedades y en lesiones inducidas químicamente. Se presenta apoptosis insuficiente en el desarrollo de linfoma folicular y se piensa que en el SIDA, la esclerosis lateral amiotrófica y en las lesiones por isquemia/perfusión se presenta apoptosis excesiva. Como ejemplo de drogas o substancias químicas que inducen apoptosis se tiene los glucocorticoides (apoptosis de células linfoides) y el TCDD (apoptosis de timocitos causando atrofia tímica). La apoptosis se diferencia de la necrosis por sus características morfológicas

La apoptosis es un evento controlado. Las células se vuelven más condensadas consistente con el hecho de que el agua está siendo removida de la célula (no es un proceso pasivo). Durante todo el proceso la membrana celular y los organelos permanecen intactos. El contenido celular nunca se derrama hacia el área que la rodea lo cual hace que no se produzca reacción inflamatoria.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Tabla 2.4.1.A Diferencias Morfológicas entre Necrosis y Apoptosis.

	Necrosis	**Apoptosis**
La célula completa	Inflamación	Condensación
Núcleo	Picnosis	Creciente
	Cariólisis	
	Cariorrexis	
Organelos	Degeneración	Intactos
Degeneración celular	Ruptura	Cuerpos apópticos
Inmunorespuesta	Inflamación aguda	Ninguna

Necrosis. En la necrosis el resultado final es la ruptura de la membrana celular y el derrame del contenido celular en el espacio intersticial. Esto trae como consecuencia una respuesta inflamatoria en el área que puede ser detrimente para las células que la rodean.

2.4.1.2.1 Respuesta de los tejidos a la pérdida de células

Si la lesión produce que se pierdan células por necrosis o apoptosis, el resultado final depende principalmente del tipo de células que se han lesionado. Las células vecinas pueden ser capaces de responder con regeneración produciendo células iguales a las perdidas o bien sólo las reemplazan por tejido no funcional.

Las **células lábiles** se están dividiendo continuamente y en su ciclo celular no existe el estado de reposo. Ejemplo de ellas son las células epiteliales, gastrointestinales y hematopoyéticas. Si se pierden células se pueden remplazar por células del mismo tipo.

Las **células estables** están prácticamente en reposo y tienen una velocidad de replicación muy baja. Su ciclo celular está normalmente en reposo pero se pueden estimular para que entren en replicación. Ejemplos de estas células son los hepatocitos y las células renales (túbulos). Si ocurre algún daño, las células contiguas pueden regenerar la masa perdida, como sucede con los hepatocitos después de una cirugía en la que se remueve parte del hígado.

La **células permanentes** no se están dividiendo y no pueden entrar en ciclo de replicación. Ejemplo de estas células son las neuronas del sistema nervioso central y los miocitos del corazón. Si estas células se pierden la única respuesta de remplazo es a través de la respuesta fibrótica. Las células son remplazadas por tejido conectivo y se forma una cicatriz. El remplazo fibrótico también se puede dar en algunas ocasiones para células lábiles y estables -

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

2.4.1.3 Genotoxicidad

Neoplasia significa literalmente "crecimiento nuevo". Los neoplasmas o tumores, independientemente del origen celular, se deben a la falta de respuesta al control celular normal. **Las células neoplásicas se dice que están transformadas y continúan replicándose sin obedecer las señales reguladoras que controlan el crecimiento celular normal.** Las células neoplásicas satisfacen sus necesidades metabólicas compitiendo favorablemente con las células y tejidos normales, por lo que un neoplasma crecerá activamente independientemente del ambiente local que lo rodee.

Un tumor se dice que es benigno cuando permanece localizado en su sitio de origen y no tiene capacidad de infiltrarse invadiendo tejidos locales o formar metástasis en sitios distantes. La mayoría de los tumores benignos forman una cápsula fibrosa que lo separa del tejido huésped aunque esto no siempre sucede. A los tumores malignos se les llama **cáncer y es el término que se usa para designar al tejido neoplásico capaz de invadir los tejidos vecinos. Metástasis es el término usado para designar el desarrollo de implantes secundarios que son discontinuos con el tumor de origen.** Un tumor puede ser maligno sin que forme metástasis, aunque sólo los tumores malignos son capaces de formarlas.

La discusión detallada de la naturaleza del crecimiento canceroso y de su manejo no será tratado en este libro y se centrará en los cánceres ambientales y las implicaciones de las exposiciones químicas y otros factores ambientales.

Todos los días el cuerpo está rodeado de substancias químicas potencialmente peligrosas y algunas de ellas están relacionadas con el desarrollo de cáncer. Un individuo puede quedar expuesto a cancerígenos ambientales en su sitio de trabajo, debido a sus hábitos personales y por los alimentos que ingiere. Algunos riesgos son ubicuos (incremento en el desarrollo de cáncer de piel por exposición a la luz solar) y otros son específicos para un estilo de vida (incremento de distintos cánceres asociados al uso del tabaco).

Carcinogénesis molecular. La explicación, a nivel molecular, del desarrollo del cáncer se basa en los siguientes conceptos:

1. El ADN es el verdadero blanco para los cancerígenos
2. La carcinogénesis es un proceso que sucede en múltiples etapas
3. Los genes reguladores que suprimen la inhibición del crecimiento de tumores y los que promueven el crecimiento (oncogenes) son los principales blancos cuyas lesiones producen cáncer.

La teoría de la mutación somática del cáncer establece que los daños del genoma que producen mutaciones son la base para el desarrollo del cáncer. Se ha demostrado en el laboratorio que se puede producir una masa tumoral como resultado de la expansión clonal de una sola célula progenitora que ha sufrido un daño genético. Esto lleva a la idea de que el ADN es el blanco para los cancerígenos y de que un solo impacto en el ADN, en el sitio adecuado y que no sea reparado correctamente, puede tener consecuencias severas para la célula.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La evidencia experimental de que esto sea así es la siguiente:

- muchos cancerígenos o sus productos reaccionan químicamente con el ADN
- muchos cancerígenos son mutágenos
- individuos que tienen deficiencias en la reparación del ADN son más propensos al cáncer
- la mayoría de los cánceres muestran anormalidades cromosomales
- la mayoría de los cánceres contienen oncogenes activados y/o genes supresores de tumores inactivados.

La formación de tumores requiere de algo más que el solo hecho de que ocurra una mutación. La carcinogénesis es un proceso que tiene lugar en varias fases: a) al primer paso se le llama iniciación del daño genético, b)el siguiente paso es la promoción de la célula iniciada (reproducción) y finalmente c) es el paso de progresión hacia otras características fenotípicas.

Cuando se le infringe un cambio a la molécula de ADN, la célula reacciona tratando de eliminarlo usando alguno de los mecanismos que tiene para reparar daños del ADN. Si no tiene éxito y el daño en el ADN permanece hasta que la célula se reproduce, se dice que el daño se fijó (fenómeno irreversible) y queda incorporado al genoma. Así pues, es posible que una sola molécula del cancerígeno produzca la iniciación de una célula, por lo tanto la iniciación no tiene dosis límite. Esto se conoce como la "hipótesis del impacto único" y es la base de muchas de las reglamentaciones que existen hoy en día. Hay varios compuestos que funcionan como iniciadores, por ejemplo, dimetilbenzantraceno, N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG), uretano, benzopireno, etc.

Los promotores son normalmente agentes que incrementan la proliferación (mitógenos), dando la oportunidad a que la célula iniciada se reproduzca. La promoción es un fenómeno reversible y generalmente se necesitan exposiciones repetidas y una vez que se remueven los promotores se pierde el estímulo. En el caso de la promoción aparentemente sí hay una dosis límite de exposición. No se ha demostrado que el promotor tenga que interaccionar directamente con el ADN para causar su efecto. Como ejemplos de agentes promotores se tiene a los ésteres del forbol.

La progresión se caracteriza por una proliferación de las células iniciadas acompañada de cambios genómicos mayores tales como translocaciones y perdidas de material cromosomal. Los cambios que suceden en esta etapa son irreversibles y las células tumorales se convierten en malignas.

Blancos críticos. Los blancos en el ADN que producen carcinogénesis son muy específicos. No cualquier cambio producido en cualesquiera de las proteínas que codifica el genoma va dar lugar a los cambios tan profundos que experimenta una célula que se vuelve cancerosa. Este tipo de célula es muy especializada, tiene que perder y ganar un número considerable de características para que pueda tener la capacidad de reproducirse en la forma que lo hace.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los oncogenes y los genes represores de tumores. La célula tiene dos grupos de genes que controlan la reproducción celular, los oncogenes que estimulan la proliferación celular y los genes supresores de tumores que inhiben la reproducción celular.

Los oncogenes son genes altamente conservados que codifican varias proteínas funcionales en el ciclo de la reproducción celular. Si el cambio en el ADN produce que se incremente el número de copias de alguno de estos genes o, que éste quede permanentemente activado, la célula lo interpreta como una señal de crecimiento continuo. El incremento en la reproducción celular aumenta las posibilidades de que se presenten más mutaciones que pueden producir además otros cambios en el fenotipo.

Los genes supresores de tumores se consideran como "antioncogenes" y sus productos son proteínas que actúan como inhibidores del crecimiento. Si se inactiva cualquiera de ellas, no se presenta la inhibición del crecimiento y la célula puede reproducirse a mayor velocidad.

La mayoría de las células tumorales tienen activados los oncogenes e inactivados los genes supresores de tumores. Estos dos cambios le dan a la célula un gran potencial de proliferación.

Telomerasas. Los telómeros son cadenas largas de ADN de secuencias repetitivas que se encuentran en las puntas de los cromosomas.

El cultivo de células primarias sólo presenta unas cuantas rondas de replicación y las que más se reproducen son las células lábiles (hematopoyéticas, epidérmicas y gastrointestinales). La razón de que se detenga la reproducción celular es la pérdida gradual, cada ciclo de reproducción, de los telómeros y cuando se terminan se detiene la replicación, debido al déficit de material genético.

Las telomerasas son enzimas que replican el ADN telomérico, permitiédole a las células continuar su reproducción. Las telomerasas están presente en las células lábiles y se han detectado en todas las líneas de células tumorales y malignas en que se ha buscado.

2.4.2 Factores que afectan la toxicidad

La magnitud de la respuesta tóxica en un organismo determinado depende de la exposición (dosis, tiempo, ruta y vía de exposición) y de factores relacionados con las características del organismo expuesto, del medio ambiente y de la substancia misma.

La relación cuantitativa entre la dosis y el efecto tóxico se va a tratar en la próxima sección 2.5.

2.4.2.1 Influencia del medio

Localización geográfica. Los estudios epidemiológicos han demostrado la importancia de este factor aunque todavía se discute el porqué de las diferencias observadas. Por ejemplo, la tasa de mortalidad por cáncer mamario, después de corregir por el factor edad, es varias veces mayor en los Estados Unidos que en Japón y el carcinoma en el estómago es siete veces más frecuente en Japón que en Estados Unidos. Se piensa que las diferencias en la dieta explican lo anterior. Se ha demostrado que la dieta tiene influencia en la incidencia de cáncer mamario y del colon. En Japón se utiliza nitrito en la preservación de alimentos y éstos son

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

cancerígenos. Otro ejemplo es la mucho mayor incidencia de cáncer de células hepáticas en las poblaciones aborígenes africanas comparada con la observada en los Estados Unidos. Esto se puede deber a la alta incidencia del virus de la hepatitis B, el cual actúa como mitógeno, provocando una hiperproliferación que incrementa las posibilidades de mutaciones. La evidencia indica que las diferencias geográficas son ambientales y no genéticas. Los japoneses de segunda generación que viven el los Estados Unidos tienen un riesgo de desarrollar cáncer del colon similar al resto de los habitantes de los Estados Unidos y no al de los japoneses que viven en Japón.

Ocupación. Un gran número de cánceres se asocian a las exposiciones que tienen lugar en el sitio de empleo. De hecho la idea de que el desarrollo de cáncer está ligada a la exposición a ciertas substancias se originó estudiando los cánceres ocupacionales. Al final del siglo XVIII, el médico inglés Percival Pott observó el incremento de cáncer del escroto entre los limpiadores de chimeneas. Posteriormente se demostraron las propiedades cancerígenas del alquitrán de hulla y eventualmente se identificaron los hidrocarburos aromáticos policíclicos (benzo alfa pireno) como los responsables de este efecto (Tabla 2.4.2.A).

Tabla 2.4.2.A Ocupaciones que Incrementan el Riesgo de Cáncer.

Personas Expuestas	Agente	Tipo de Cáncer
Mineros y obreros de la industria química	Arsénico	Piel, pulmón e hígado
Albañiles y mantenimiento de edificios	Asbesto	Mesotieloma
Obreros de la industria de hule-cemento	Benceno	Leucemia
Obreros de la industria de hule y colorantes	Betanaftalina	Vejiga
Obreros de la industria del plástico	Cloruro de vinilo	Hígado
Personal de cromadoras	Cr, Ni	Aparato respiratorio

2.4.2.2 Interacciones químicas

La toxicidad de una substancia se puede incrementar o disminuir por la exposición simultánea o consecutiva con otra substancia. Los efectos combinados pueden ser aditivos, sinérgicos, potenciantes o antagónicos.

El incremento a la toxicidad por interacción química se puede deber a varios mecanismos:

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- una substancia desplaza a la otra de su sitio de unión con una proteína plasmática, incrementando su concentración en estado libre.
- una substancia modifica el pH de la orina, modificando la excreción renal de ácidos y bases débiles.
- una substancia que compita por un mismo sistema de transporte renal puede afectar la excreción de otra.

Otra interacción química de interés es la que resulta de las alteraciones que puede hacer una substancia a la biotransformación de otra:

- Algunas substancias son inductoras de las enzimas que metabolizan los xenobióticos, quizá la mayoría de las veces por síntesis *de novo*, necesitándose la administración repetida para que continúe la inducción. La inducción puede disminuir la toxicidad de otra substancia acelerando su destoxificación o incrementarla acelerando la formación de metabolitos tóxicos.
- La inhibición de la biotransformación también es posible y al igual que la inducción puede incrementar o disminuir la toxicidad. Si el xenobiótico original es más tóxico que sus metabolitos, la disminución de su biotransformación y su posterior excreción incrementa la vida media del compuesto en el organismo incrementando su toxicidad. Si los metabolitos son más tóxicos, el inhibidor reducirá la toxicidad inhibiendo la biotransformación y bioactivación.
- La exposición previa a un agente puede alterar las subsiguientes respuestas tóxicas a ese agente o a otro. Por ejemplo se puede presentar la sensibilidad química múltiple cuando la exposición a una o más substancias sensibiliza al organismo a un gran número de substancias, incrementando su toxicidad. En otras ocasiones la exposiciones a pequeñas cantidades de una substancia puede proteger el organismo contra efectos letales de una sola dosis grande, por ejemplo, la exposición repetida a dosis pequeñas de compuestos de cadmio puede proteger a la persona contra dosis que pudieran ser letales para un organismo que previamente no hubiera estado expuesto al cadmio.

Tal como se mencionó anteriormente, los efectos de dos tóxicos administrados simultáneamente pueden producir una simple respuesta **aditiva**, la cual es la suma de las dos respuestas individuales, v.g., dos insecticidas organofosforados producen una inhibición aditiva de la colinesterasa.

La respuesta puede ser **sinérgica** cuando es mayor que la esperada por la adición de las respuestas individuales, v.g., el tetracloruro de carbono y el etanol son hepatotóxicos que producen una lesión hepática mucho mayor cuando son administrados juntos que la suma de las respuestas que cada uno produce cuando se administran por separado.

Una respuesta se **potencia** cuando una substancia que no es tóxica en un determinado órgano blanco, pero que cuando se agrega a otra hace que ésta se vuelva mucho más tóxica, v.g., el isopropanol no es tóxico para el hígado pero cuando se administra junto con tetracloruro de carbono, incrementa la actividad hepatotóxica de este último compuesto.

La respuesta es **antagónica** cuando dos substancias administradas simultáneamente se interfieren mutuamente en sus acciones o una interfiere con la acción de la otra. Las

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

respuestas antagónicas son la base de muchos antídotos. El antagonismo puede ser **funcional**, **químico**, **disposicional o receptivo**. En el **antagonismo funcional** cada substancia produce efectos contrarios sobre la misma función fisiológica contrabalanceándose mutuamente, v.g., la administración de norepinefrina (vasodepresor) para bajar el alta presión producida por las intoxicaciones severas con barbitúricos. El **antagonismo químico**, que también se le llama inactivación, es simplemente una reacción química entre los dos compuestos que da lugar a un producto menos tóxico, v.g. la quelación del dimercaptol con iones metálicos. El **antagonismo disposicional** es la alteración de ya sea la absorción, distribución, metabolismo o excreción de un compuesto para disminuir su concentración o duración en el sitio blanco, v.g.,. la absorción de un tóxico con carbón o ipecacuana. Finalmente el **antagonismo por recepción** está basado en el bloqueo de una substancia por otra, en el mismo receptor produciendo un efecto menor que cuando se administran por separado, v.g., se administra naloxona para tratar la depresión respiratoria causada por la morfina y narcóticos similares. Otro ejemplo es el bloqueo del receptor de la colinesterasa con atropina en el envenenamiento con plaguicidas organofosforados.

2.4.2.3 Influencia del organismo receptor

Como vimos en la primera parte, la respuesta tóxica puede variar de un organismo a otro, aunque sean de la misma especie, raza o sexo y también vimos que las respuestas de organismos de diferentes especies pueden ser similares a dosis similares y que estas similitudes y diferencias podían explicarse con estudios de metabolismo comparado.

Los factores relacionados con el organismo receptor que tienen influencia sobre la toxicidad de una substancia pueden ser genéticos (especie, cepa, sexo, individuo) o fisiológicos (embarazo, edad, estado nutricio, estado hormonal, estado de salud).

Factores genéticos

La presencia o ausencia de un determinado camino metabólico está determinada por la constitución genética del individuo. Estas diferencias genéticas pueden resultar en diferencias en el ADME de una substancia en un organismo y por ende de la respuesta tóxica en condiciones determinadas.

El hecho de que organismos de diferente especie puedan presentar relaciones dosis-respuesta similares, se dijo que es la razón de que se puedan extrapolar a humanos los datos toxicológicos obtenidos con animales de estudio (ratones, ratas, conejos, perros y monos). Las respuestas serán más parecidas entre más semejantes sean los caminos metabólicos que siga el xenobiótico en el hombre y en el modelo animal.

Anteriormente vimos que, el polimorfismo genético puede afectar la capacidad de un organismo para biotransformar un compuesto exógeno, lo cual afecta su toxicidad. Por ejemplo; los organismos con niveles bajos de colinesterasa sérica son más sensibles a ciertos insecticidas organofosforados. Otro ejemplo es el polimorfismo de la paraoxonasa sérica, una enzima que cataliza la hidrólisis de ésteres organofosfatados, carbamato y ésteres de ácidos carboxílicos aromáticos. La paraoxona es un inhibidor de la colinesterasa sérica y es un intermediario en el metabolismo del paratión. Así que, un valor alto de paraoxonasa protege de los efectos tóxicos del paratión.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Género. Se ha observado que algunos tóxicos presentan respuestas diferentes, dependiendo del sexo del organismo expuesto y algunas de estas diferencias se pueden explicar en base a las diferencias hormonales entre los dos sexos, y los efectos que estas hormonas tienen en los procesos de absorción, distribución, biotransformación y excreción, especialmente la presencia o ausencia de testosterona o estrógeno.

Estas diferencias se pueden atribuir a las diferencias en la actividad de enzimas de biotransformación que están bajo control hormonal. En humanos las diferencias en metabolismo de los xenobióticos está menos influenciada por el sexo que en algunas especies de animales experimentales como las ratas.

Las ratas macho adultas tienen tasas metabólicas más altas que las hembras para muchos compuestos y esto las hace más susceptibles a ciertas substancias, por ejemplo la aflatoxina B_1. Pero también hay substancias que causan mayor toxicidad en hembras. Las ratas hembras tienen mayor susceptibilidad a los insecticidas azinfosfometilo y paratión. Las ratas hembras bioactivan más rápidamente el paratión produciendo paraoxón, un inhibidor de la colinesterasa, y por lo tanto, el paratión es más tóxico para las hembras debido a las concentraciones más altas de paraoxona.

Tabla.- 2.4.2.B Tóxicos con Susceptibilidad Diferente en Cada Sexo en la Rata.

Mayor susceptibilidad en machos	Mayor susceptibilidad en hembras
Plomo	Warfarina
Aflatoxina B1	Estricnina
Epinefrina	Hexobarbital
Vapores de gasolina sin plomo	Paratión

Las ratas macho desarrollan nefrotoxicidad después de la exposición repetida a los vapores de la gasolina sin plomo. La diferencia en toxicidad se asocia al mayor nivel sanguíneo de la alfa-2-microhemoglobina, proteína a la que se liga uno de los componentes de la gasolina sin plomo. Cuando el complejo formado llega al riñón causa la formación de tumores. Las ratas hembras, los ratones de ambos sexos y el hombre no desarrollan esta nefrotoxicidad. Se piensa que se debe al bajo nivel o total ausencia de la alfa-2-microhemoglobina en estos organismos.

Herencia. Se continua discutiendo si el cáncer es una enfermedad hereditaria o no. Hay unos cánceres que definitivamente son hereditarios y otros en los que la predisposición juega un papel importante en la génesis de varios cánceres comunes. Un ejemplo de cáncer hereditario es el retinoblastoma infantil. La predisposición a este tumor muestra un modo de transmisión autosomal dominante. La inmunodeficiencia y la deficiencia en la reparación del ADN son defectos hereditarios que favorecen el desarrollo de cáncer.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Tabla 2.4.2.C Herencia y cáncer.

Cáncer	Tipo de Herencia	Características
Neoplasmas hereditarios		
Retinoblastoma	Dominante	Incapacidad de suprimir tumores
Liposis adenomatosa	Dominante	Adenocarcinoma del colon
Neurofrimatosis tipo I	Dominante	Gliomas del cerebro y nervio óptico
Defecto en reparación del ADN		
Xerodermia pigmentosa	Recesivo	No reparación de excisiones
Anemia de Franconi	Recesivo	No reparación de ligaduras cruzadas
Ataxia	Recesivo	No repara roturas de una cadena
Agamaglobulinemia	Recesivo	Linfomas y leucemia
Síndrome linfoproliferativo	Recesivo	Linfomas y leucemia aguda
Síndrome de cáncer familiar	Dominante	Cánceres de varios órganos

Estado fisiológico

Embarazo. El embarazo es un estado fisiológico durante el cual hay grandes cambios en las actividades de las hormonas sexuales y esto tiene un gran influencia sobre los efectos tóxicos de las substancias en la madre gestante y el feto en desarrollo. La actividad de varias enzimas de biotransformación decrecen durante el embarazo afectando la toxicidad de algunos agentes.

En varias especies, el nivel de actividad de la monooxigenasa microsomal y la del citocromo P-450 en el hígado, decrecen durante el embarazo. En humanos la inhibición del sistema oxidasa mixta hepática puede ser la causa de que se retrase la eliminación de cafeína al final de la gestación, cuando los niveles pueden llegar a ser tres veces mayores que la concentración que normalmente se alcanza en hembras no gestantes.

La velocidad de filtración glomerular se incrementa en un 30-50% y el flujo de plasma se incrementa aproximadamente en un 25%. Estos valores regresan a sus niveles normales después del parto. Así que las exposiciones a substancias que se eliminan por excreción renal pueden resultar en toxicidad reducida durante le embarazo y regresar a valores normales después del parto.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Edad. Se ha demostrado que los neonatos y los animales muy jóvenes, en general, son más susceptibles a los tóxicos lo que se atribuye a deficiencias en varias enzimas de destoxificación. El cloranfenicol es más tóxico para infantes, debido a que no han desarrollado completamente la capacidad para formar glucurónidos. No todas las substancias son más tóxicas para esta edad. Ciertas substancias, sobre todo los estimulantes del SNC, son menos tóxicas para los infantes. Se ha reportado que el LD_{50} de DDT es 20 veces mayor en ratas recién nacidas que en adultas. Quizá esto proteja a los infantes de la contaminación con DDT de la leche. La disminución de la toxicidad es debida a la ausencia de ciertas enzimas de bioactivación.

Tabla 2.4.2.D Efecto de la Edad en la Toxicidad.

Características en los Niños
pH neutro y tiempo prolongado de vaciado del estómago
Reducción en la capacidad renal
Aumento en la absorción percutánea
Mayor proporción de agua corporal
Menor capacidad de formar ligandos con proteínas
Menor glucuronidación y actividad microsomal hepática
B. Cambios Fisiológicos en los Ancianos
Múltiples enfermedades
Deficiencias nutricionales
Alta proporción de grasas
Mayor vida media de drogas en el plasma
Reducción en la eliminación renal
Reducción en la capacidad de ligar compuestos a las proteínas plasmáticas
Disminución de la absorción gastrointestinal

Aparte de las diferencias en biotransformación, hay otros factores que influyen. Ciertos tóxicos se absorben más rápido por los organismos jóvenes. Los infantes absorben de cuatro a cinco veces más plomo y 20 veces más cadmio que los adultos. El subdesarrollo de los mecanismos de excreción produce acumulación de tóxicos y medicamentos en los neonatos. En este estrato etáreo se presenta acumulación de penicilina y tetraciclina y mayor susceptibilidad a la morfina y esto se atribuye a que la barrera sangre-cerebro es menos eficiente.

Los individuos viejos, sean animales o humanos, también son más susceptibles a ciertas substancias. El efecto de la senectud sobre la toxicidad se ha estudiado muy poco, sin

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

embargo se considera que se debe a la disminución de la capacidad de destoxificación y a la diminución de la excreción renal. La distribución de los tóxicos también puede cambiar por el incremento en grasa y la pérdida de agua corporal. La Tabla 2.4.2.D (A) presenta una lista de los factores fisiológicos que tienen efecto sobre la toxicidad en organismo jóvenes y también enlista algunos cambios fisiológicos que ocurren con la edad y que afectan la toxicidad.

La edad es el factor de riesgo más importante. Los neoplasmas son responsable de menos del 10% de las muertes de menores de 15 años, mientras que la incidencia de cánceres aumenta a más del 50% en los mayores de 75 años. Se piensa que la disminución con la edad, tanto de la capacidad de reparar daños en el ADN como de eliminar las células transformadas, son las causas de este fenómeno.

Estado Hormonal. El desbalance en hormonas sexuales altera la susceptibilidad a tóxicos.

El hipertiroidismo, hiperinsulinismo, adrenalotomía, y la estimulación del eje pituitaria-adrenales se ha demostrado en ratas, que modifican el efecto de ciertos tóxicos. Los efectos de estas hormonas sobre la toxicidad, están menos estudiados y entendidos que el de las hormonas sexuales.

Los efectos de los tóxicos, a menudo muestran un patrón circadiano, que se considera está relacionado con el ciclo de luz. Se han observado, principalmente en roedores, ciclos circadianos, en la susceptibilidad a tóxicos que se pueden deber a cambios bioquímicos que siguen estos ciclos tales como niveles hormonales y niveles de citocromo P-450. Aunque los cambios, en toxicidad parecen estar relacionado con el ciclo de la luz, probablemente estén más relacionados con otros hábitos del animal, tales como la alimentación que también siguen el mismo ciclo.

Obesidad. La obesidad se define como el exceso de tejido graso en comparación con los valores normales para la edad y sexo. La mayoría de los obesos, además de tener incrementada la cantidad de grasa, también tienen incrementada la masa de tejido magro con respecto a los individuos de peso normal de la misma edad, altura y sexo. La obesidad es lo suficientemente común como para constituir un serio problema médico y de salud pública.

La mayoría de los estudios toxicológicos se han hecho en individuos de peso normal y puede ser peligroso extrapolar los datos a los obesos. Tal como se ha propuesto el ajuste de dosis de medicamentos para pacientes obesos, se considera que también deben de hacerse ajustes similares en la evaluación de la toxicidad.

La absorción de tóxicos y otros xenobióticos parece que no es afectada por la obesidad. Las biotransformaciones tales como, la oxidación, reducción y conjugación no se afectan con la obesidad.

La modificación farmacocinética más obvia que se debe de hacer es en la distribución de la substancia en los tejidos. En individuos de peso normal la velocidad de perfusión sanguínea en grasa es menor que en tejido magro. En obesos se ha demostrado que el flujo de sangre por gramo de grasa es significativamente menor que en individuos delgados. Así pues; el flujo sanguíneo en tejido adiposo de obesos será mucho menor que en tejido magro y los tóxicos tendrán una mayor tendencia a acumularse en el tejido adiposo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los niveles de citocromo P-450, como tendencia general, son mayores en obesos.

Estado de Salud. El hígado es el órgano principal en la biotransformación de tóxicos. Los padecimientos hepáticos tienen un gran efecto sobre la destoxificación. La hepatitis crónica y aguda, la cirrosis hepática y la necrosis hepática disminuyen la capacidad de biotransformación, normalmente entorpeciendo la oxidación, acetilación, glucuronidación e inhibiendo varias estearasas.

Las enfermedades renales también afectan la toxicidad de las substancias químicas debido a que distorsionan el metabolismo y la función de excreción del riñón.

Las enfermedades cardiacas incrementan la toxicidad, debido a que entorpecen la circulación hepática y renal, afectando las funciones metabólicas y excretoras de estos órganos.

Las enfermedades del tracto respiratorio hacen a los sujetos más susceptibles a los contaminantes del aire tales como el SO2 .

El incremento y la disminución de temperatura corporal incrementan la vida media de los tóxicos en el organismo.

Dieta y estado nutricio. Muchos de los constituyentes de los alimentos que consumimos influyen sobre el metabolismo y disposición de los compuestos exógenos. Las interacciones directas de algunos nutrimentos con tóxicos antes de la ingestión o dentro del TGI pueden hacer que se disminuya la toxicidad y las deficiencias nutricionales pueden incrementar la toxicidad de una substancia.

La influencia de los nutrimentos sobre la toxicidad se puede deber a: alteraciones en la velocidad de absorción e ingreso, formación competitiva de enlaces con proteínas, cambios en las tasas metabólicas y de destoxificación y modificaciones de la eliminación renal.

Como se mencionó antes, una de las rutas más importante de biotransformación de tóxicos es catalizada por el sistema de Oxidasas de Función Mixta (OFM) en los microsomas.

La deficiencia en ácidos grasos esenciales reduce la actividad OFM.

La deficiencia de proteínas y el exceso de carbohidratos produce los mismos resultados. La deficiencia de proteínas también afecta la biotransformaciones Fase II, debido a que limita la disponibilidad de cisteina que se necesita para la biosíntesis de PAPS y GSH.

Las proteínas dietarias influyen fuertemente en la respuesta del organismo a muchos compuestos incluyendo plaguicidas y micotoxinas. Se ha demostrado con animales que una dieta alta en proteínas incrementa la actividad OFM, incrementando la tasa metabólica y la velocidad de eliminación de estas substancias peligrosas. Las ratas en dieta deficiente en proteínas son más susceptibles a los efectos tóxicos agudos de la aflatoxina B1, un hepatotóxico muy potente. Por otro lado, la deficiencia de proteínas generalmente reduce la tumorogenicidad de los cancerígenos, incluyendo la aflatoxina B1.

En general, la deficiencia en vitaminas A, C y E deprime la actividad de las monooxigenasas y la deficiencia en tiamina produce el efecto contrario.

La deficiencia de vitamina A incrementa la susceptibilidad del tracto respiratorio a cancerígenos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La deficiencia de una o varias vitaminas del complejo B disminuye la actividad P-450 (algunas de las isoenzimas) y la UDP-glucuroniltransferasa. Las deficiencias de riboflavina causan el incremento del nivel de actividad citocromo P-450 y la reducción de la NADPH-citocromo P-450 reductasa.

Los alimentos también contienen cantidades apreciables de compuestos que son inductores de OFM, tales como las flavonas, xantinas e indoles. Una dieta rica en indoles produce un incremento de las tasas metabólicas de la oxidación y salida de xenobióticos del plasma. Es posible que la inducción de estas rutas metabólicas inhiba la carcinogénesis.

El DDT y los BPC, en ocasiones presentes en los alimentos como contaminates, son inductores potentes.

2.5 Relacion dosis-respuesta

En las secciones 2.3 y 2.4 se presentaron los conceptos e información que nos explica la respuesta tóxica y su variabilidad en función de lo que sucede dentro del organismo. Se describió lo que pasa desde que el tóxico llega a la superficie de absorción hasta que llega al órgano blanco, las características del daño causado cuando sus defensas son vencidas y como el organismo se defiende de la agresión química.

En esta sección se van a tratar los aspectos cuantitativos de la relación que existe entre la respuesta tóxica y la dosis suministrada.

La correspondencia entre la cantidad de tóxico y la magnitud del efecto es lo que se conoce como la relación dosis-efecto o dosis-respuesta, y tal como se mencionó antes, es uno de los conceptos centrales de la toxicología.

La mayoría de los estudios de la relación dosis/respuesta se ha hecho para determinar los efectos terapéuticos de drogas en experimentos de tipo farmacológico. Lo anterior se refleja en cierta manera en el vocabulario científico que se usa para describir esta relación.

Lo que se denomina efecto o respuesta tóxica **es un cambio orgánico permanente que debe de poder ser medido en el componente bajo estudio y tener un valor de cero cuando la dosis es cero.**. La medición puede hacerse a diferentes niveles; molecular, celular, órgano, organismo, pero independientemente del nivel, **el efecto debe ser medible.**

La magnitud y tipo de los efectos adversos producidos dependen de la duración de la exposición. En algunas ramas de la toxicología, se les dan nombres diferentes a la longitud de las exposiciones a las que se acostumbran en toxicología ambiental. Por ejemplo; en farmacología las exposiciones se denominan de la forma siguiente: las exposiciones agudas se refieren a exposiciones de menos de 24 horas y usualmente a una sola dosis, las exposición subagudas corresponden a exposiciones de uno a tres meses; y las exposiciones crónicas corresponden a exposiciones por más de tres meses o una determinada fracción del tiempo de vida normal del organismo en estudio

La frecuencia de administración es también muy importante y la respuesta tóxica se incrementa cuando:

- la velocidad de absorción es más grande que la velocidad de eliminación

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- cuando el intervalo de dosificación es menor que el tiempo requerido para una eliminación completa

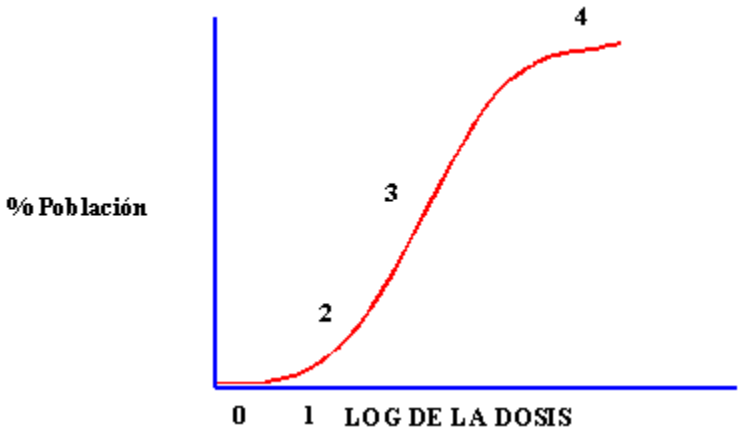
cuando la velocidad de reparación del daño es menor que la velocidad de producción del daño.

2.5.1 Curvas Dósis-Respuesta

Si se obtiene una respuesta de una magnitud definida para cada dosis, dentro de un rango de dosis, se dice que la respuesta es "gradual". Es decir que a diferentes dosis, D_1, D_2,...Di, se observan los efectos, E_1, E_2,...E_i, que varían en forma continua y tienen un valor único para cada dosis (dentro de la variabilidad normal que siempre se observa cuando se hacen bioensayos).

La curva dosis-efecto se construye graficando en las ordenadas los Efectos (E) causados en el organismo expuesto a una substancia química y en las absisas las Dosis (D) a las que fue expuesto. Si la experimentación se hizo con el tejido blanco aislado expuesto directamente a la substancia, la respuesta observada normalmente es una función hiperbólica de la dosis de una forma similar a la ecuación de Michaelis-Menten para expresar la velocidad inicial de una reacción enzimática. La curva pasa por el origen del sistema de coordenadas cartesianas y la pendiente máxima se presenta en el origen. La pendiente permanece aproximadamente constante durante un rango amplio de la dosis (cinética de primer orden), después la pendiente disminuye con la dosis hasta que se vuelve cero (cinética de orden cero) y la respuesta adquiere su valor máximo. A este valor máximo se le denomina efecto máximo (E_{max}) y es una medida de la eficacia del tóxico.

En algunas ocasiones, la relación dosis-efecto no es tan definida y dentro de una población se observa una distribución de respuestas para cada dosis. En este caso el efecto que se mide no es la magnitud, se mide el porcentaje de la población en estudio que presenta una determinada respuesta para cada dosis suministrada. Este tipo de efecto se le denomina cuantal. En estos casos se acostumbra graficar, en la ordenada, el por ciento de la población que presenta un determinado valor de la respuesta y en la absisa, el logaritmo de la dosis suministrada. Esta curva tiene forma sigmoidal.



© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Figura 2.5.1.A Curva Dosis-Respuesta.

0 a 1.-Región NOAEL; 2.-LOAEL; 3.-Región Lineal; y 4.-Respuesta Máxima.

La curva pasa por el origen (cuando la dosis es cero, la respuesta es cero) y a valores muy bajos de la dosis, la curva es horizontal con un valor del efecto igual a cero (la curva va sobre el eje de las dosis). La respuesta empieza a tener un valor mayor que cero cuando la dosis llega al **nivel límite.** De allí en adelante la pendiente de la curva crece con la dosis, hasta que se llega a una pendiente máxima. Esta pendiente se mantiene por un amplio rango de dosis en el que la respuesta es directamente proporcional a la dosis (línea recta). A dosis mayores la pendiente empieza a decrecer hasta que la curva se vuelve asintótica a un valor máximo de la respuesta (E_{max}).

A la región de la curva donde los efectos no son medibles, se le conoce como región NOAEL (por sus siglas en ingles **N**o **O**bserved **A**dverse **E**ffects **L**evel).

La región lineal de la curva abarca aproximadamente del 16 al 84% de la respuesta máxima. El valor de E_{max} es una medida de la eficacia del tóxico o la droga (Figura 2.5.1.A). Algunas substancias presentan relaciones dosis-respuesta diferentes a la descrita y la curva no tiene la forma de S.

Hay compuestos peligrosos que presentan dos curvas dosis-efecto, una curva que representa efectos tóxicos y otra los efectos letales. Cuando se aumenta el nivel de la dosis, se pasa de una área de la curva en la que no se observan efectos dañinos a otra donde se observan efectos tóxicos crecientes. Cuando se aumenta aún más la dosis se presentan los efectos letales crecientes que también se relacionan con la dosis en la misma forma que los efectos anteriores. Las dos curvas son paralelas (Figura 2.5.1.B).

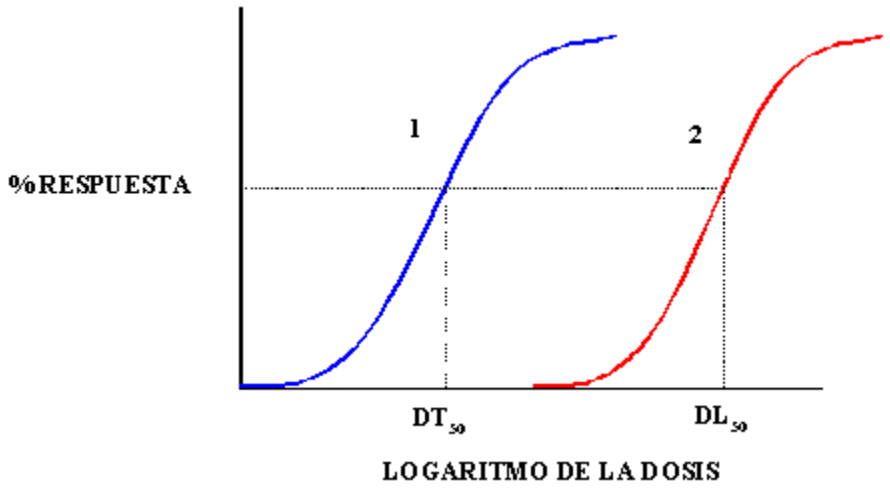


Figura 2.5.1.B Curva Dosis-Respuesta. Compuesto que presenta las dos curvas. 1= curva de dosis-efectos tóxicos; y 2= curva de dosis-efectos letales.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

2.5.1.1 Potencia vs. Eficacia

Potencia se refiere al rango de dosis dentro del cual una substancia produce respuestas crecientes. La curva del tóxico (o droga) más potente aparece más cercana al origen.

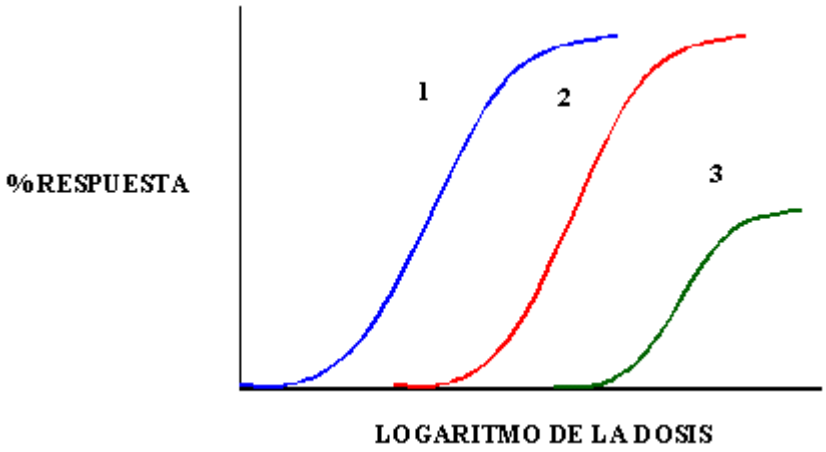


Figura 2.5.1.C Potencia y Eficacia de 3 Compuestos.

La potencia de un droga está influenciada por factores tales como la absorción, el metabolismo, etc. La eficacia está relacionada a una acción más fundamental de la droga, es una medida de la capacidad intrínseca de la droga para producir un efecto. Este valor se estima midiendo la altura máxima de la curva dosis-respuesta (cuando la curva se vuelve asintótica a las absisas) y, como ya vimos anteriormente, se le denomina E_{max}.

Dos drogas que son cualitativamente iguales en producir un efecto particular pueden diferir en su eficacia, en su potencia, o en ambas (Figura 2.5.1.C). El compuesto 1 es más potente que el compuesto 2, y el compuesto 2 es más potente que el compuesto 3; los compuestos 1 y 2 tienen igual eficacia, pero el compuesto 3 es menos eficaz que 1 y 2 .

2.5.1.2 Parámetros fármaco-toxicológicos

Para representar las curvas dosis-efecto por un número se acostumbra utilizar la dosis que produce una respuesta igual a la mitad de E_{max}.

DE_{50}. Si se trata de la curva dosis-efectos terapéuticos se le llama **DE_{50}** (Dosis Efectiva, nivel 50%). Cuando se midieron efectos graduales la DE_{50} es la dosis que produce una respuesta igual a la mitad de la respuesta máxima. Si se midieron efectos cuantales, entonces la DE_{50} es la dosis que produce una respuesta deseable determinada en el 50% de la población.

Este parámetro se obtiene trazando una línea horizontal del punto del 50% de respuesta en la región lineal de la curva de dosis-efectos deseables; en el punto de intersección con la curva se traza una línea vertical. El punto en el cual la línea intercepta la absisa, es la DE_{50}.

DL_{50}. Cuando se quieren representar las curvas de efectos tóxicos y letales se usa la LD_{50} que es la dosis a la cual el 50% de la población que recibe esa dosis muere. La forma de calcular este parámetro es idéntico al utilizado para obtener la DE_{50}, pero en este caso se usa

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

la curva de efectos letales. La DL_{50} no es una constante biológica porque hay muchos factores que influyen en la toxicidad.

Indice terapéutico, IT y Margen de seguridad, MS. Son números útiles en estudios farmacológicos. El primero es el cociente que resulta de dividir la dosis requerida para producir un efecto letal por la dosis requerida para producir un efecto deseado, usualmente, se hace la comparación de las dosis medias

$$\mathbf{IT = DL_{50}/DE_{50}}$$

El segundo se calcula dividiendo la DL1 (efectos letales en el 1% de la población) por la DE99 (efectos deseables en el 99% de la población)

$$\mathbf{MS = DL_{1}/DE_{99}}$$

2.5.1.3 Efecto tóxico crítico

Este es un parámetro que se calcula después de recopilar la información experimental de buena calidad que se haya hecho con la substancia para una vía de exposición determinada.

Se conoce como **estudio crítico al experimento o conjunto de experimentos que contienen los mejores datos de dosis-efecto de una substancia para una vía de exposición determinada.** Para decidir cuál es el mejor, se toman en cuenta los siguientes atributos:

- Si existe algún buen estudio hecho en humanos, se selecciona como el estudio crítico.
- Si no se cuenta con buenos estudios en humanos, entonces se utiliza información obtenida con animales, prefiriéndose la que provienen de modelos en los que el metabolismo de la substancia es similar al que se observa en el hombre.
- En la ausencia de estudios, en especies que sea claramente relevantes, se asume que los humanos son tan sensible como los organismos más sensibles en los que se haya hecho experimentación. El estudio con la especie más sensible (la especie que muestra un efecto tóxico con la dosis administrada más baja) se selecciona como el estudio crítico.

El nivel experimental más bajo, en el estudio crítico, en el que se observa que se produce el efecto adverso, también llamado LOAEL (lowest observed adverse effect level), después de las conversiones dosimétricas para ajustar por las diferencias en especie, se conoce como *efecto tóxico crítico*.

2.5.1.4 NOAEL

NOAEL (Non Observed Adverse Effects Level) es el nivel de exposición experimental que representa el máximo nivel probado al cual no se observan efectos tóxicos. Para el propósito de evaluación de riesgos éste es el dato clave que se obtiene de los estudios de Dosis-Respuesta. Si las exposiciones experimentales fueron intermitentes, se corrige el valor del NOAEL para que representen exposiciones continuas

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

2.5.2 Indices de toxicidad.

Los índices de toxicidad son los parámetros toxicológicos que se utilizan en la evaluación de riesgos y se obtienen de los estudios de dosis-respuesta.

Se estiman en forma diferente los índices para cancerígenos y los índices para no cancerígenos.

Los valores de estos parámetros son los que se comparan con las dosis suministradas que se estiman en los estudios de exposición a tóxicos ambientales.

La mayoría de los valores publicados de los índices de toxicidad se calcularon en base a efectos observados experimentalmente en exposiciones controladas de animales de laboratorio.

2.5.2.1 Efectos no-cancerígenos

Concepto de tolerancia. Como ya se presentó anteriormente, para que el tóxico llegue en forma activa a su blanco y cause un efecto permanente tiene que vencer una serie de obstáculos que le impone el organismo. Existe un nivel de dosis suministrada abajo del cual no se manifiestan los efectos tóxicos no-cancerígenos. Como resultado de esto, existe un rango de valores de exposición, desde cero hasta un valor finito determinado, en el que el organismo puede tolerar la exposición sin manifestar ningún daño. El dato importante, en este caso, es el límite superior del rango de tolerancia para poblaciones sensibles.

2.5.2.1.1 Dosis de Referencia (DdR)

DdR es el índice de toxicidad que más se utiliza en la evaluación de riesgos por exposición a substancias no-cancerígenas. Es el **nivel de exposición diaria que no produce un riesgo apreciable de daño en poblaciones humanas, incluyendo las subpoblaciones sensibles**.

Derivación de DdR. La DdR se calcula en base al NOAEL.

El primer paso es obtener el valor de NOAEL de la substancia para la vía de exposición, tipo de efecto y período de exposición para la cual se desea calcular la DdR.

Se selecciona el NOAEL como base para calcular la dosis de referencia bajo el supuesto de que si se evita el efecto tóxico crítico, entonces se previenen todos los efectos tóxicos. Si no se ha determinado el NOAEL se usa el LOAEL. En algunas ocasiones, en los estudios dosis-respuesta se observan efectos que no son de significancia toxicológica. Estos datos no se toman en cuenta para determinar el NOAEL.

Se pueden calcular varios valores de DdR para una substancia. Se calculan diferentes DdR dependiendo de la vía de entrada del tóxico, período de exposición evaluado y de tipo de efecto agudo observado. Es decir se puede obtener el valor de la dosis de referencia para exposiciones crónicas orales(DdRco), de la dosis de referencia para exposiciones crónicas por inhalación(DdRci), de la dosis de referencia para exposiciones subcrónicas orales(DdRso), de la Dosis de Referencia para efectos sobre el desarrollo (DdRd), etc.

El nivel de incertidumbre puede ser muy alto, y este índice no se puede tomar como una línea de demarcación entre una concentración tóxica y una no tóxica.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La DdR se deriva a partir del NOAEL o LOAEL aplicando en forma consistente una serie de **F**actores de **I**ncertidumbre (FI) y un **F**actor **M**odificador (FM).

Cada uno de los FI representan una área de incertidumbre inherente a la extrapolación de los datos disponibles. Las bases para la aplicación de los FI son las siguientes:

- Se usa un FI de 10 cuando el NOAEL se obtuvo de experimentos con animales y se quiere extrapolar los resultados para determinar los niveles protectores para el hombre. Este factor tiene por objeto tomar en cuenta las diferencias interespecies entre el hombre y los animales de estudio,
- Se usa un FI de 10 para tomar en cuenta la variabilidad en la población general. Tiene por objeto proteger a las subpoblaciones más sensibles (niños, ancianos)
- Se usa un FI de 10 cuando el NOAEL se obtuvo de un estudio subcrónico y se desea estimar la DdRc
- Se usa un FI de 10 cuando se usa el LOAEL en lugar del NOAEL. Este factor intenta considerar la incertidumbre asociada con la estrapolación de LOAEL a NOAEL

El FM se aplica como sigue:

- Se aplica un FM entre 0 y 10 para reflejar una evaluación cualitativa profesional de las incertidumbres adicionales en el estudio crítico y en la base de datos que no se hayan mencionado entre los FI precedentes. El valor normal del FM es 1.

Para calcular la DdR se divide el NOAEL (o LOAEL) por el producto de todos los FIs y FM.

$$\textbf{DdR} = \frac{\textbf{NOAEL}}{\textbf{FIs x FM}}$$

Donde FIs es el producto de todos los FI, FM es el factor modificador

Consideraciones sobre el tiempo de exposición. Las DdR crónicas (DdRc) se calculan para proteger de las exposiciones continuas durante todo el período vital. Como una guía general, este índice se utiliza para evaluar efectos no-cancerígenos por exposiciones por períodos mayores de 7 años (10% de la expectativa de vida).

Las DdR subcrónicas (DdRs) son útiles para caracterizar efectos no-cancerígenos en exposiciones de corta duración, entre dos semanas y siete años. Las exposiciones de corta duración suceden cuando una actividad determinada se lleva acabo por un número limitado de años o cuando la substancia se degrada hasta alcanzar niveles insignificantes en un lapso

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

relativamente corto. Hay muy pocos valores de DdRs homologados como índices de toxicidad verificados.

En el cálculo de DdR de desarrollo (DdRd) se obtiene evidencia referente a la potencialidad de una substancia para causar efectos adversos en organismos en desarrollo, como resultado de la exposición de cualquiera de los padres antes de la concepción, de la madre durante el período de gestación o del individuo desde el período postnatal hasta la maduración sexual. Los efectos adversos pueden incluir la muerte, anormalidades estructurales, crecimiento alterado y deficiencias funcionales.

La evidencia se pondera y se le asigna a la substancia una designación de peso-de-evidencia. Se establecen tres niveles que indican el grado de confiabilidad en la información: evidencia definitiva, evidencia adecuada y evidencia inadecuada. Las categorías de evidencias definitivas y adecuadas se subdividen para indicar si la evidencia demostró que sí se producen o que no se producen efectos adversos.

Después de asignar la clasificación por peso de la evidencia, se selecciona un estudio para la identificación del NOAEL. El NOAEL se transforma, si es necesario, en dosis equivalente humana y se divide por FI similares a los descritos anteriormente.

Las DdR de desarrollo están basadas en exposiciones de corta duración, porque aún una exposición única en períodos críticos (v.g.., durante la gestación) puede ser suficiente para producir efectos adversos de desarrollo.

Consideraciones sobre la vía de exposición. La filosofía detrás del cálculo de la DdR es la misma, independientemente de cual sea la vía de exposición, sin embargo, la forma de calcularla es diferente.

Si en los estudios experimentales la exposición fue intermitente, la DdR se calcula ajustando los valores observados de tal manera que reflejen exposiciones continuas.

El procedimiento de cálculo de las dosis de referencia orales es el descrito anteriormente.

Los valores tabulados de las DdRco están expresados en mg de substancia por Kg de masa corporal por día.

Cuando la vía de exposición es el aparato respiratorio, la extrapolación de datos obtenidos con animales debe de considerar

- las diferencias anatómicas entre el animal de estudio y el hombre. Estas diferencias pueden afectar el patrón de deposición, salida y redistribución de los contaminantes. Consecuentemente, las diferentes especies, no recibirán la misma dosis de contaminante en los mismos lugares del aparato respiratorio, aunque hayan estado expuestos a las mismas concentraciones de partículas o gases.
- Las dosis calculadas en animales se convierten a dosis equivalentes en humanos sobre las bases de consideraciones de fisiología comparada, v.g., parámetros de ventilación y superficie de las diferentes regiones pulmonares.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Las diferencias en las características físicoquímicas de los contaminantes, tales como tamaño y forma de las partículas, o si el contaminante es un aerosol o un gas, también influyen en los patrones de deposición, salida y redistribución.

Los valores de DdRci tabulados se expresan en función de la concentración del tóxico en el aire en mg por metro cúbico para una exposición continua de 24 horas por día.

Otros índices. Además de las DdR se han calculado y publicado otros índices de toxicidad que se denominan HA1 y HA10 para exposiciones de corta duración. Son concentraciones de contaminantes en agua potable, a las cuales no se presentan efectos adversos si la exposición es de una duración especificada, un día o 10 días respectivamente. Estos índices de toxicidad no-cancerígena se obtienen dividiendo el NOAEL por los FI y FM adecuados. Se basan en que un niño de 10 Kg. ingiere 1 litro de agua por día y se incluye un margen de seguridad para proteger a los miembros más sensibles de la población. Los HAs no incluyen ningún riesgo cancerígeno aún si la substancia es un cancerígeno potencial.

2.5.2.2 Efectos Cancerígenos

Los índices de toxicidad para cancerígenos que se encuentran publicados son el peso de la evidencia y el factor de pendiente.

La mayoría de los estudios experimentales para determinar la capacidad de una substancia para inducir cáncer, se hace con animales de laboratorio a concentraciones del cancerígeno mucho más altas de las que se podrían presentar en las exposiciones a tóxicos ambientales. Esto se hace porque, a concentraciones bajas se necesitan lotes experimentales muy grandes en experimentos de larga duración. Se han hecho experimentos con decenas de miles de roedores con duración de varios años. Para obtener datos a más corto plazo y con un número más reducido de animales se tienen que hacer experimentos en los que la concentración del tóxico sea varias órdenes de magnitud mayores que las que el hombre pueden encontrar en el medio ambiente. En los estudios de carcinogénesis experimental se utilizan dosis similares a la máxima dosis tolerable, que es la dosis que el animal de laboratorio puede tolerar sin que presente síntomas de intoxicación que induzcan estados de enfermedad diferentes al cáncer.

Concepto de no-tolerancia. La carcinogénesis es un fenómeno para el cual no se considera apropiado el concepto de tolerancia. Se supone que un número reducido de eventos a nivel molecular puede producir cambios en una célula que pueden conducir a una proliferación descontrolada y eventualmente a un estado clínico de enfermedad. Por lo tanto, no existe un nivel de exposición en el que un cancerígeno no presente una probabilidad, no importa que tan pequeña, de originar un cáncer. Esto quiere decir que no hay dosis que se considere libre de riesgo.

Lo anterior, se aplica a los cánceres formados por el mecanismo de genotoxicidad. Los cánceres inducidos por mecanismos diferentes al anterior, como podría ser la elevación de la incidencia de cáncer debido a que el tóxico acelera la reproducción celular sin afectar la integridad del ADN, presentan un comportamiento similar al de los tóxicos no cancerígenos y el índice de toxicidad más adecuado en este caso es la dosis de referencia DdR.

Peso de la evidencia. Es una evaluación de la información existente para determinar si un compuesto se puede considerar como cancerígeno para humanos. La información se

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

caracteriza en forma separada, la proveniente de estudios humanos y animales, como suficiente, limitada, inadecuada, inexistente o evidencia de no efecto. En base a esta información la substancia se asigna a uno de los grupos que aparecen en la Tabla que sigue

Tabla 2.5.2.A Clasificación de la Cancerogenicidad por Peso de la Evidencia.

GRUPO	DESCRIPCION
A	Cancerígeno para Humanos
B	Probable cancerígeno para Humanos
B1	Hay información limitada con humanos
B2	Hay información suficiente en animales pero no con humanos
C	Posible cancerígeno humano
D	No clasificable como cancerígeno para humanos
E	Evidencia de no-carcinogenicidad para humanos

La clasificación de peso de la evidencia que se presenta en esta tabla, se basa fundamentalmente en la demostración experimental de que la substancia produce tumores.

En la actualidad se ha propuesto una alternativa diferente para clasificar los cancerígenos en función de la información experimental disponible. En esta clasificación las substancias se agrupan en tres grandes categorías: 1.-Cancerígeno Comprobado/Probable, 2.-No se ha probado que sea cancerígeno y 3.- No es probable que sea cancerígeno.

Se propone que se le de peso a los resultados obtenidos en estudios de genotoxicidad *in vitro* y que no se dependa exclusivamente de los resultados de estudios de tumorogénesis. Después de asignar la substancia a cualquiera de los 3 grupos, se hace una descripción resumida de la base experimental para clasificar la substancia en esa categoría.

2.5.2.2.1 Cálculo del factor de pendiente

A las substancias que se ha demostrado que son cancerígenos para el hombre, o que es probable que lo sean (substancias del los grupos A, B y C), se les determina el índice de toxicidad que relacione la dosis con la respuesta genotóxica.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Para el caso de los cancerígenos, la curva dosis-respuesta se construye graficando en la ordenada la probabilidad de que se produzca cáncer y en las absisas la dosis suministrada. Se utiliza la dosis diaria vitalicia.

Los datos experimentales normalmente se encuentran en rangos de dosis de una magnitud considerablemente mayor que las que puede experimentar el hombre por exposición a tóxicos ambientales. Lo mismo sucede si los datos fueron obtenidos con animales de laboratorio o con estudios epidemiológicos hechos en poblaciones humanas.

Por la razón anterior es necesario extrapolar los resultados observados hacia la región de dosis cercanas a cero. La extrapolación se puede hacer usando diferentes modelos matemáticos para linearizar los resultados. La pendiente de la región linearizada de esta curva, es el índice de toxicidad que se usa para evaluar riesgos ambientales producidos por cancerígenos y se le denomina **Factor de Pendiente.** Las unidades son $(mg/Kgxdía)^{-1}$.

Cuando en la linerización se usa el modelo que asume que el cáncer es un proceso que sucede en varios pasos, al factor de pendiente se le denomina *riesgo por unidad de dosis* y se representa por q_1*. Es el valor que normalmente se encuentra publicado. Se debe de tener cuidado en el uso de los valores de q_1*, ya que algunos datos publicados están basados en dosis suministradas y en otros casos están basados en dosis absorbidas.

Se discute entre los científicos del ramo si éste es el modelo más adecuado y se han propuesto otros. Normalmente se sugiere el uso de un modelo que supone que, a dosis bajas, se tiene una relación lineal directa entre la dosis y la respuesta.

El factor de pendiente, cualesquiera que haya sido el modelo usado para hacer la extrapolación, representa el límite superior de confianza percentil 95 de que la probabilidad de una respuesta por unidad de dosis suministrada por todo el período vital, sea igual o menor a la respuesta estimada. Esto quiere decir que sólo hay un 5% de probabilidad de que se presente una respuesta mayor a la estimada sobre la base de los datos experimentales existentes y el modelo de extrapolación utilizado. Cuando la pendiente se evalúa con datos obtenidos con humanos, se utiliza la “mejor estimación” en lugar del limite superior percentil 95.

La curva de Dosis-Respuesta es lineal sólo en la región de las bajas dosis, por lo tanto, la estimación de la pendiente sólo es válida en esa región de la curva.

Los Factores de Pendiente van siempre acompañados de la clasificación por peso de la evidencia del cancerígeno.

Los indicadores de toxicidad para efectos cancerígenos, también se pueden expresar en término del riesgo por unidad de concentración de la substancia en el medio en el que entra en contacto con el hombre. Este índice conocido con el nombre de *unidad de riesgo* se calcula dividiendo q_1* por 70 Kg. y multiplicando este cociente por la velocidad de inhalación, que es de 20 m^3/día, si se trata de tóxicos presentes en el aire, o por la tasa de consumo de agua, que es de 2 litros por día, si el tóxico se encuentra en el agua potable.

Cuando se utiliza un factor de absorción menor de 1 en el cálculo de q_1*, se tiene que usar un factor de conversión adicional en el cálculo de la unidad de riesgo, de tal manera que éste

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

quede referido a la base de dosis suministrada. La unidad de riesgo se calcula para una exposición vitalicia.

Identificación de la información adecuada. Para obtener los Factores de Pendiente que se encuentran tabulados en la literatura, se tuvo que revisar la información científica existente y se seleccionó el mejor conjunto de estudios disponible. En la selección de ese conjunto de datos se le dió preferencia a los buenos datos obtenidos con humanos. Si se van a usar datos obtenidos con animales se prefieren aquellos obtenidos con especies que respondan en forma más parecida a los humanos, con respecto a factores tales como metabolismo, fisiología y farmacocinesis. Cuando no se tenga una selección clara, se prefieren los datos de las especies más sensibles. Cuando no se tiene ningún estudio que se pueda seleccionar como el más apropiado, pero varios estudios apoyan en forma colectiva la estimación, lo que se adopta es la media geométrica de las estimaciones de las pendientes de todos los estudios.

Dosis equivalentes para humanos. Cuando se utilizan datos obtenidos con animales experimentales como base para la extrapolación, hay que calcular la dosis para humanos que es equivalente a las dosis utilizadas en los estudios. Para calcular las dosis equivalentes se supone que los organismos son igualmente susceptibles al agente, si absorben la misma cantidad de tóxico por unidad de superficie corporal. La superficie corporal es aproximadamente proporcional al peso corporal elevado a la potencia 2/3.

La dosis equivalente para humanos, en mg/día, se calcula multiplicando la dosis experimental por el factor (peso hombre/peso animal)$^{2/3}$.

$$\mathbf{DEH = DSA(H/A)^{2/3}}$$

Donde

DEH es la Dosis Equivalente para Humanos en mg/día
DSA es la dosis suministrada en el estudio experimental con animales, expresada en las mismas unidades.
H es la masa corporal del hombre y
A es la masa corporal del animal, ambas expresadas en las mismas unidades.

Para dosis experimentales expresadas en mg/(Kg.xdía), la dosis humana equivalente se calcula multiplicando la dosis con animales por la relación de peso de hombre a animal elevada a la potencia 1/3.

$$\mathbf{DEH = DSA(H/A)^{1/3}}$$

Donde

DEH , DSA, A y H tienen el mismo significado que en la ecuación anterior pero están expresadas en mg/Kgxdía.

Para la inhalación vitalicia de vapores y gases parcialmente solubles, la dosis equivalente es la concentración del agente en el aire expresada en ppm. Los tiempos equivalentes se expresan en fracciones del período vital.

Para la inhalación de partículas y de gases solubles, la cantidad absorbida por unidad de superficie corporal se considera como la dosis equivalente entre especies.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3 EVALUACIÓN DE RIESGOS AMBIENTALES

3.1 Análisis de riesgos

3.1.1 Introducción

El análisis de riesgos es una disciplina relativamente nueva con raíces antiguas. Como campo del conocimiento se organizó en las últimas tres décadas y su auge se debe a que varios países han aprobado leyes para proteger, tanto a la salud humana como a la biota, de los peligros que puede acarrear la exposición a substancias peligrosas presentes en el medio ambiente en base a la prevención y reducción de riesgos.

El análisis de riesgos es una técnica multidisciplinaria que utiliza conceptos desarrollados en varias ciencias en las que se incluyen a la toxicología, epidemiología, ingeniería, psicología, higiene industrial, seguridad ocupacional, seguridad industrial, evaluación del impacto ambiental, etc.

El análisis de riesgos sirve para:

- Identificar y evaluar los problemas ambientales y de salud producidos por la realización de actividades peligrosas y el manejo de substancias tóxicas.
- Comparar tecnologías nuevas y tradicionales que se usan en la determinación de la efectividad de los diferentes controles y técnicas de mitigación diseñadas para reducir riesgos.
- Localización de instalaciones potencialmente peligrosas.
- Selección de prioridades entre las posibles alternativas de acción para establecer secuencias de ejecución de acciones correctivas y/o de elaboración de reglamentos ambientales

3.1.2 Conceptos Básicos

Los términos ***riesgo*** y ***peligro*** se definieron anteriormente en la sección **1.2.10** en la que se dice que riesgo es la posibilidad de sufrir un daño por la exposición a un peligro y peligro es la fuente del riesgo y se refiere a una substancia o a una acción que puede causar daño.

Evaluación de riesgos se refiere a la técnica para determinar la naturaleza y magnitud del riesgo.

El término ***análisis de riesgo*** se ha usado frecuentemente como un sinónimo de evaluación de riesgos. Debe de interpretarse que además de la evaluación, el análisis incluye los métodos para hacer un mejor uso de los resultado de la evaluación.

En el ***manejo de los riesgos*** se diseña la respuesta de control, reducción o eliminación de riesgos utilizando la información producida por la evaluación y el análisis, en el contexto de los recursos técnicos, valores sociales, económicos y políticos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La diferencia entre evaluación y manejo de riesgos no es muy clara. La controversia se centra en el grado en el cual la evaluación se puede mantener libre de los juicios y valores que típicamente corresponden a las decisiones de manejo.

Las percepciones de los riesgos son factores importantes que influyen tanto a la evaluación como al manejo.

Los riesgos se perciben en forma diferente, dependiendo de quiénes son los afectados, qué tan probable es que los daños se produzcan, las características de los daños, tal cómo qué tan catastróficos son, qué tan acostumbrada está la población a ese tipo de daño, qué tan grande es la fracción de la población afectada, cómo se afecta a los individuos en forma personal y si éstos han aceptado en forma voluntaria enfrentar los riesgos. Las percepciones de los riesgos están influenciadas por los beneficios que se obtienen de enfrentar tales riesgos.

3.1.3 Usos del análisis de riesgos.

Las técnicas de análisis se pueden aplicar a un amplio rango de situaciones de riesgo para la salud y el medio ambiente, incluyendo:

- La introducción o el descubrimiento de una substancia en el ambiente
- La exposición ocupacional a una substancia o radiación.
- Contaminación del aire, tanto en espacios interiores como en el ambiente exterior
- Disposición de residuos peligrosos
- Presencia de substancias peligrosas en la cadena alimentaria
- Instalaciones que manejan o crean substancias tóxicas
- El análisis de riesgos también se puede aplicar a muy diferentes situaciones, por ejemplo, el riesgo asociado al uso de un producto farmacéutico o tratamiento médico, a la construcción de obras tales como presas y puentes etc.

3.1.4 Metodología y Técnicas

El análisis de riesgos usa una serie de técnicas que se aplican cuando las respuestas no son obvias y la información es ambigua e incierta. Se utilizan las herramientas de la ciencia, la ingeniería y la estadística para analizar la información relacionada con los riesgos y, para estimar y evaluar la probabilidad y magnitud del riesgo ambiental y de la salud.

El análisis de riesgos no proporciona una fórmula para tratar la problemática de riesgos. No resuelve las complicadas negociaciones políticas y sociales que se tienen que hacer en la toma de decisiones sobre riesgos. Lo que sí mejora es la capacidad de los científicos y tomadores de decisiones en la identificación, evaluación, control y reducción de riesgos asociados con actividades del hombre.

El proceso de análisis de riesgos se puede pensar como formado de cuatro fases interrelacionadas, cada una con ciertos métodos y técnicas.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3.1.4.1.1 Identificación del Peligro

En esta fase la pregunta que se trata de contestar es: **¿existe el peligro?**

Para contestar esta pregunta se tiene que recurrir a la toxicología, la cual hace uso de estudios epidemiológicos, estudios *in vivo* en modelos animales, pruebas realizadas *in vitro* utilizando cultivo de células y de tejidos, así como estudios de estructura/actividad.

3.1.4.1.2 Evaluación de riesgos

Esta fase tiene como meta estimar la severidad y probabilidad de que se produzca un daño para la salud humana y el ambiente por una actividad o exposición a una substancia, que bajo circunstancias es probable que pueda causar daño a la salud humana o al ambiente. Se usan cuatro técnicas, aunque distintas, están muy relacionadas: evaluación de la fuente/mecanismo de emisión, evaluación de la exposición, evaluación de dosis/respuesta y caracterización del riesgo.

3.1.4.1.3 Determinación de la significancia del riesgo

La fase involucra juicios y negociaciones para resolver la cuestión de qué nivel de riesgo es tolerable. Se cuenta con varias técnicas para contestar esta pregunta, incluyendo el análisis de la percepción del riesgo, el análisis de costo/beneficio y análisis de decisiones. Como en el caso de la evaluación de riesgos estas técnicas proporcionan un mejor conocimiento del fenómeno pero también involucran incertidumbres. Sin embargo, de todas maneras la decisión de considerar un riesgo como aceptable genera controversia. Se tiene que negociar, formar consenso y usar otros medios para ampliar el involucramiento en el proceso de declarar un riesgo como aceptable.

3.1.4.1.4 Comunicación de Riesgos

En esta fase los actores involucrados transfieren o intercambian información acerca de los niveles de riesgos para la salud o el ambiente, la importancia de esos riesgos, tipos de decisiones, acciones o políticas con que se cuenta para controlar o manejar los riesgos. El principal canal para la comunicación de riesgos son los medios de comunicación, los cuales han sido criticados por exagerar los riesgos y poner más énfasis en los dramas que en los datos científicos. Los problemas en la comunicación provienen de lo numeroso que son las fuentes de información, causando frustración tanto a los comunicadores de riesgos como a los grupos que se pretende sean los receptores de la información.

El análisis de riesgos tiene sus virtudes y sus debilidades. Entenderlas puede ayudar a los tomadores de decisiones en la búsqueda del mejor uso posible de la información y de las suposiciones y juicios de experiencia involucrados en el tratamiento de los riesgos para la salud y el ambiente.

En el resto del presente capítulo se presenta la metodología para hacer la evaluación de riesgos y la determinación de la significancia del riesgo. Los métodos descritos son los utilizados por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos, a la que llamaremos por sus siglas en inglés EPA, para caracterizar los riesgos para la salud humana en sitios contaminados con substancias peligrosas.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3.2 Estimación de la exposición

Los tóxicos que interesan son aquellos que tienen probabilidad de llegar a estar en contacto con poblaciones humanas, en cualquier lugar que éstas se encuentren. Se estudian los desplazamientos de los tóxicos en el medio ambiente, desde el punto en que se emiten hasta el lugar en que contactan las poblaciones. Como se mencionó anteriormente, a este desplazamiento se le conoce como ruta de exposición. **No se consideran relevantes los desplazamientos de tóxicos que no dan lugar a exposiciones humanas efectivas.**

La corrovoración de que en un sitio están ocurriendo exposiciones efectivas es la determinación del tóxico, o sus manifestaciones, en los organismos expuestos y la presencia del tóxico en el punto de contacto entre los medios ambientales y las poblaciones de interés. En esta sección se describe la selección de las rutas relevantes de exposición, y el cálculo de la dosis suministrada por cada ruta. Se tratarán también los aspectos relacionados con el tiempo de exposición en función de su duración y frecuencia.

3.2.1 Escenario de exposición

Al área física que comprende el lugar donde se derraman o emiten los tóxicos al ambiente, donde se transportan y donde las poblaciones entran en contacto con los medios contaminados recibe el nombre de escenario de exposición.

El estudio del escenario consta de dos partes fundamentales; la descripción físicoquímica del sitio y la descripción de las poblaciones que es probable que sufran la exposición. Las características del sitio y de las poblaciones que interesan serán aquellas que son útiles para estimar las exposiciones.

3.2.1.1 Descripción del sitio

El sitio se describe en función de las variables que puedan tener influencia sobre la movilidad de los tóxicos y los niveles de contaminación. Las variables físicas y químicas que se evalúan son las que se utilizan para alimentar los modelos de transporte y destino y estimar las dosis suministradas.

Las características físicas importantes del escenario de exposición son: clima, vegetación, topografía, edafología (composición y estructura de suelos) y geohidrología (estratos en el subsuelo, acuíferos subterráneos y corrientes superficiales).

En lo que se refiere al suelo y al subsuelo es conveniente describirlos en función de la humedad, pH, contenido de carbono orgánico y presencia de otros intercambiadores de iones. Los modelos para representar el desplazamiento de los tóxicos en este estrato incluyen tales variables. El conocimiento del tipo de suelo puede ayudar a predecir la producción de polvos transportables. La posición de los acuíferos con respecto al nivel de la superficie es también una variable importante. Un nivel friático muy somero puede incrementar la probabilidad de que un tóxico presente en el suelo emigre hacia el acuífero.

Los datos climatológicos permiten estimar la persistencia de los tóxicos en el ambiente, los posibles desplazamientos por acarreo de polvos y gases por los vientos y junto con la topografía los desplazamientos en corrientes superficiales.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Las características químicas importantes son: la identificación y cuantificación de las substancias que se saben o se sospecha que son tóxicas para los humanos, que se encuentren en uno o más medios de los que integran el sitio o que pueden salir del mismo. Los datos se obtienen experimentalmente en trabajo de campo, analizando los distintos medios con los que puede entrar en contacto la población. A esta actividad se le denomina "Muestreo o Monitoreo Ambiental."

La recopilación de información y el muestreo se deben de planear para que al principio del trabajo se generen datos que permitan desarrollar una comprensión general del sitio, y así poder dirigir las esfuerzos subsiguientes para obtener sólo los datos que sirvan para llenar las lagunas remanentes de información. En esta forma se minimizará la recolección de datos innecesarios y se maximizará la calidad de los datos obtenidos.

La información físicoquímica del sitio se utiliza para identificar las posibles rutas y vías de exposición, así como para calcular las dosis suministradas.

3.2.1.2 Descripción de las poblaciones

En la descripción de las poblaciones se consideran los asentamientos humanos dentro del sitio y sus cercanías, así como los que pudieran quedar expuestos en el futuro, aunque se encuentren localizados en sitios alejados de la fuente de contaminación.

Las poblaciones lejanas que no están en contacto con los medios contaminados, pero que es conveniente incluirlas en un estudio de evaluación de riesgos, son aquellas que se consideran que podrían quedar expuestas; tanto por sus actividades o hábitos, o bien porque los tóxicos pudieran emigrar en el futuro hasta localidades donde esas poblaciones constituirían un nuevo escenario de exposición.

Como en el caso de la descripción del sitio, las poblaciones se describen especificando aquellas características que influyen en la exposición y sus consecuencias.

Estas características son las siguientes:

- localización relativa al sitio
- presencia de subpoblaciones sensibles
- patrones de actividad.

Localización En lo referente a la localización de los asentamientos humanos, la información más importante es su posición relativa con respecto a la fuente de contaminación y a la dirección de los desplazamientos más probables de los tóxicos.

Hay mayores probabilidades de estar expuesto a los tóxicos si el lugar de trabajo o residencia está localizado:

- cerca de la fuente
- en la dirección de los vientos dominantes
- aguas abajo de las corrientes superficiales
- en la dirección del flujo de los acuíferos subterráneos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

También son importantes:

- las poblaciones que consumen productos generados o que se contaminaron en el sitio, independientemente de su posición geográfica
- las poblaciones que en el futuro pudieran estar expuestas a substancias que hayan emigrado del sitio.

Subpoblaciones especiales Las subpoblaciones especiales son las más susceptibles de sufrir un daño al quedar expuestas a un determinado agente debido a:

- que tienen una mayor sensibilidad, tales como, niños, ancianos, mujeres embarazadas o en período de lactancia y personas con enfermedades crónicas
- que presentan un patrón de comportamiento que puede dar lugar a una mayor exposición. Un ejemplo son las personas que consumen cantidades grandes de alimentos producidos en el sitio. Otro ejemplo son los niños quienes tienen una probabilidad más alta que los adultos de entrar en contacto directo con el suelo, etc.
- quienes se han sensibilizado por exposiciones anteriores o, que experimentan exposiciones simultáneas provenientes de otras fuentes. Por ejemplo; individuos expuestos a substancias químicas en su trabajo y residen o residieron en sitios contaminados.

Actividades humanas Las exposiciones están asociadas a los patrones de actividad de los individuos en el escenario y éstos, a su vez están determinados por el tipo de uso del suelo en el escenario de exposición. Así pues, para caracterizar las exposiciones es necesario primero identificar los usos del terreno en el escenario de exposición.

Para el propósito de evaluación de riesgos los usos del suelo se clasifican en:

- residencial,
- comercial/industrial/agropecuario y
- recreativo.

Las mejores fuentes de información para determinar los usos actuales del suelo son la visita al sitio y el examen de fotos aéreas identificando las áreas pobladas, las áreas de juego, parques, negocios e industrias, explotaciones agrícolas, ganaderas y pesqueras. Puede ser que algunos de los terrenos tengan un uso múltiple y pudieran quedar clasificados en más de una categoría.

La clasificación del uso del suelo sirve para caracterizar el patrón de actividades y su efecto sobre la intensidad, frecuencia y duración de las exposiciones. Lo que se pretende lograr es lo siguiente:

- *determinar el porcentaje del tiempo que los individuos pasan dentro del escenario de exposición.* Si el sitio es comercial o industrial es razonable esperar que la población tenga un período de exposición de 8 horas diarias. Si el sitio es residencial entonces se puede asumir una exposición de 24 horas al día. La selección más conservadora de tipo

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

de uso del suelo que se le puede asignar a un sitio, cuando se justifique, es el uso residencial, ya que da lugar a exposiciones más prolongadas

- *clasificar las subpoblaciones de acuerdo a si realizan sus actividades a la intemperie, en el interior o en ambos ambientes*
- *identificar los cambios estacionales de actividades*
- *determinar si la población local tiene acceso restringido o ilimitado al sitio*
- *identificar las características de la población que pudieran estar determinadas por el sitio.* Por ejemplo si el sitio es un lugar pesquero es probable que la población local consuma más pescado y mariscos que el promedio de la población.

Al analizar el uso del suelo se debe de determinar si es probable que cambie en el futuro y si este cambio va a repercutir en el patrón de actividades que se llevan a cabo en el sitio. Para determinar la posibilidad de cambios futuros es conveniente consultar los reglamentos oficiales sobre el uso del suelo, los mapas de zonificación, etc.

3.2.2 Ruta de exposición

La trayectoria que sigue un tóxico desde la fuente de emisión hasta el contacto con las poblaciones previamente seleccionadas como potencialmente expuestas, incluyendo la vía de ingreso del tóxico a los organismos expuestos, como ya se especificó, se denomina ruta de exposición.

Una ruta está completa si hay una liberación de una substancia desde una fuente, un escenario de exposición donde pueda ocurrir un contacto y una vía de exposición o ingreso.

3.2.2.1 Descripción de la ruta de exposición

A continuación se describen cada uno de los elementos que integran una ruta de exposición típica completa.

Fuente. Las características fundamentales de la fuente son su localización y los mecanismos de emisión. Se localiza y describe utilizando los datos de muestreo y la información preliminar que se tenga acerca del sitio.

Se localizan los lugares dónde se están liberando, se liberaron o se espera que se liberen los tóxicos, identificando todos los mecanismos posibles de liberación y de medios receptores. Por ejemplo; la presencia de suelo contaminado cerca de un tanque puede indicar que el tanque con rupturas (fuente) presentó fugas (mecanismo de liberación) hacia el suelo (medio receptor). La fuente puede ser también punto de contacto si los organismos receptores entran en contacto directo con la fuente. Por ejemplo; con recipientes abiertos, suelo contaminado, residuos apilados, etc.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

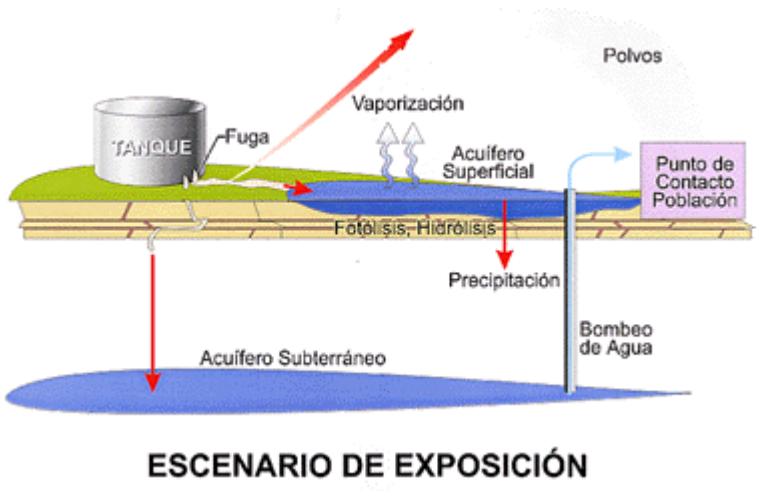


Figura 3.2.2.A Descripción de la Ruta de Exposición.

Un medio contaminado puede ser a su vez fuente de contaminación para otro medio. Por ejemplo; una zona del subsuelo contaminada por un derrame previo puede ser la fuente de contaminación de un acuífero subterráneo

Transporte y destino. Después de que la substancia ha sido liberada le puede pasar lo siguiente:

- acumularse en uno o más medios incluyendo el de recepción
- transportarse por una corriente de agua, disuelto o suspendido en algún sedimento, o por los vientos, en estado gaseoso o en los polvos
- transformarse físicamente (volatilización, precipitación), químicamente (fotólisis, hidrólisis, oxidación, reducción, etc.) o biológicamente (biodegradación)

Para estudiar la distribución de una substancia en el ambiente es necesario conocer sus propiedades físicas y químicas y las del medio y/o medios en los que se desplaza.

Estos datos se alimentan en modelos que representan el transporte dentro del medio de recepción, las transferencias de este medio a otros y los transportes dentro de los medios a los que fue transferido. Los modelos incluyen términos para representar cada uno de los procesos que sufre la substancia en el ambiente.

Con los modelos se puede estudiar la cinética de los tóxicos en cualquier lugar de la ruta, especialmente se pueden estimar las variaciones de la concentración del tóxico en el punto de contacto, cuando no se disponga de datos completos de muestreo ambiental en este lugar.

Uno de los propósitos del análisis de destinos y transportes es predecir las exposiciones futuras y para servir de base en el diseño de estrategias de prevención de la contaminación.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El análisis del proceso de transporte de tóxicos en el medio ambiente permite esclarecer las ligas existentes entre las fuentes y los medios contaminados y contestar las siguientes preguntas sobre los tóxicos:

- ¿Cuáles especies químicas están presentes en las fuentes dentro del sitio?
- ¿En qué medios, dentro y fuera del sitio, y en qué formas químicas se encuentran los tóxicos?
- ¿En qué medios y en qué localizaciones se podrán encontrar en el futuro?

Punto de exposición. Cualquier contacto potencial entre los pobladores con un medio contaminado es un punto de exposición. Son más importantes los puntos de exposición dónde la concentración que va a ser contactada sea la más alta y dónde la población expuesta se clasifique como de interés especial por pertenecer a un grupo sensible.

Se consideran como puntos de exposición potencial todas las fuentes y medios contaminados si

- el sitio se encuentra en uso
- el acceso al mismo no está restringido o de alguna otra forma limitado
- si el contacto es posible en el futuro por un uso alterno del suelo

Para puntos de exposición potenciales fuera del sitio, se espera que la concentración de contacto será mayor en los puntos más cercanos al sitio o donde los gradientes de altura y dirección del viento lo favorezca. En algunas ocasiones se pueden encontrar puntos de contacto de mayor concentración a distancias grandes, ésto puede suceder si en el transporte de los tóxicos se incluyen pasos en los que pueda ser bioconcentrado. Por ejemplo; si una substancia originada en el sitio se transporta hasta un cuerpo de agua donde es bioconcentrada por los organismos acuáticos y la población entra en contacto con esos organismos.

Vías de exposición. El último elemento de la ruta de exposición es la vía de exposición, que es el mecanismo por medio del cual el tóxico entra al organismo. En el caso de exposiciones ambientales las vías de exposición son ingestión, inhalación y contacto cutáneo. La selección de cuáles vías se deben de estudiar, depende de los medios en los que se encuentre el tóxico en el punto de contacto. Si se encuentra en el agua potable, en los alimentos o en el suelo la vía de exposición será la ingestión, si se encuentra en el aire, sea como gas, vapor o partículas suspendidas, el ingreso será por la vía respiratoria (inhalación) y si se encuentra en el agua o aire ambiente que entra en contacto con la piel, el ingreso será por vía cutánea.

El equipo de protección tiene por propósito evitar que exista una vía de exposición aunque se presente un punto de contacto. Por ejemplo el uso de guantes, máscaras y botas son barreras que impiden el ingreso del tóxico al organismo contactado.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3.2.2.2 Identificación de las rutas significativas

Sólo se consideran como significativas y merecen ser evaluadas las rutas completas de exposición que produzcan exposiciones efectivas, es decir que el tóxico además de llegar a hacer contacto con un individuo encuentra la forma de ingresar al interior del organismo.

Los datos de muestreo biológico y/o biomarcadores en la población supuestamente expuesta que indiquen que hay acumulación de alguna substancia o efectos relacionados con alguna substancia, en miembros de la población considerada, es una información muy valiosa para identificar una ruta como significativa. Esta información indica que han existido exposiciones efectivas, puesto que se identifica la presencia del tóxico o sus manifestaciones dentro de los organismos expuestos. Los resultados positivos de los análisis de fluidos biológicos indican cuáles rutas son significativas, pero los datos negativos en individuos de una población no se pueden usar para concluir que una ruta está incompleta.

No siempre se analizan todas las rutas completas.

Hay rutas que aunque sean poco probables o signifiquen exposiciones relativamente bajas siempre se evalúan y éstas son las siguientes:

1. las rutas que representan una exposición posible de individuos sensibles
2. cuando los resultados de la exposición son catastróficos,

Se pueden considerar como justificaciones válidas para eliminar el análisis de una ruta completa las siguientes:

- La exposición resultante es mucho menor por esta ruta que por otra que involucra el mismo medio y el mismo punto de contacto
- La magnitud de exposición potencial es baja o es muy poco probable que se dé la exposición y no son altos los riesgos asociados con la exposición.

En algunas ocasiones no se pueden cuantificar las exposiciones en rutas completas por falta de datos. Es posible que los datos de muestreo no sean suficientes para estimar las características de las fuentes, las concentraciones ambientales o las dosis suministradas. En estos casos se puede recurrir al uso de modelos para complementar la información disponible, pero al usar modelos en lugar de datos se incrementa la incertidumbre. Si no se tienen datos suficientes para validar el modelo, entonces puede ser que no se justifique el análisis cuantitativo de la ruta.

3.2.3 Cuantificación de la exposición

El estudio de la ruta de exposición tiene por objeto llegar a determinar la cantidad de substancia tóxica que contacta un organismo durante el período de exposición y poder estimar las exposiciones futuras.

La cuantificación de la exposición consiste en determinar la magnitud, frecuencia y duración de las exposiciones de los individuos miembros de la población por cada una de las rutas significativas.

Si la exposición ocurre durante un determinado período, la exposición total se divide entre el tiempo de ocurrencia para calcular la tasa de exposición promedio por unidad de tiempo y frecuentemente esta tasa promedio de exposición se expresa por unidad de masa corporal.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

A esta exposición normalizada se le denomina **Dosis Suministrada**.

Hay tres categorías de variables que se usan para calcular este valor y son: una variable relacionada con la substancia (**concentración de exposición**); las variables que describen la población expuesta (**tasa de contacto, frecuencia y duración de la exposición, peso corporal**) y una variable determinada por el proceso de evaluación (el **tiempo de promediación**).

Cada una de estas variables puede tomar valores dentro de determinados rangos y se seleccionan los valores cuya combinación resulte en una estimación de la **Exposición Máxima Razonable (EMR).**

La estimación de un valor "razonable" no siempre está basada totalmente en información cuantitativa sino también en la experiencia y juicio profesional.

3.2.3.1 Cálculo de la dosis suministrada

La Dosis Suministrada (D_S) se calcula para todas las substancias en el punto de contacto de todas las rutas seleccionadas como significativas. Se expresa en términos de la cantidad de la substancia (mg) en contacto con el cuerpo por unidad de masa corporal (Kg) por unidad de tiempo (día).

La D_S se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$Ds = (CTFD)/(MP)$$

Donde: C = concentración promedio durante el período de exposición
T= tasa de contacto, la cantidad de medio contactado por unidad de tiempo
F = frecuencia de exposición
D = duración
M = masa corporal
P = tiempo de promediación

Para calcular la Dosis Absorbida (D_A) se multiplica la D_S por un factor de absorción.

Concentraciones de exposición. La concentración de exposición C se calcula en base a los datos de muestreo ambiental. El término C es el valor del límite superior de confianza, percentil 95, del promedio aritmético de las concentraciones que son contactadas durante el período de exposición. Aunque este valor puede ser menor que la concentración máxima contactada, se considera razonable ya que es poco probable que se contacte la concentración máxima durante un período prolongado.

Si no se cuenta con mediciones directas de la concentración en el punto de contacto entonces se hacen estimaciones de estos valores usando los modelos de destino y transporte.

Tasa de contacto. Representa la cantidad de medio contaminado contactado por unidad de tiempo o por evento. Si se dispone de datos estadísticos de tasas de contacto se debe de seleccionar el límite superior de confianza percentil 90 o 95 del promedio. Si no se cuenta

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

con información estadística, entonces se debe de seleccionar, por experiencia, un valor similar al del percentil 95. Por ejemplo; la tasa de contacto para tóxicos en el agua potable es de 2 litros por día. Este es el valor del limite superior de confianza percentil 95 del promedio de ingesta diaria de agua en adultos en Estados Unidos.

En algunas ocasiones se introducen más términos en la ecuación para calcular esta cantidad. Por ejemplo en el contacto cutáneo con substancias químicas disueltas o suspendidas en agua, la tasa de contacto se estima combinando la información del área corporal expuesta, la permeabilidad de la piel a ese compuesto y el tiempo de exposición.

Frecuencia y duración de la exposición. Estas dos variables se utilizan para calcular el tiempo total de exposición. Los valores que pueden tomar dependen del sitio, sin embargo es muy difícil que existan estadísticas sobre un sitio en particular.

En algunas ocasiones se pueden obtener valores estadísticos nacionales. Se debe de seleccionar un valor conservador para el tiempo de exposición. Por ejemplo; en algunos casos se pueden utilizar períodos de 30 años para el caso de residentes (valor esperado del tiempo de residencia en un lugar) y en otros casos, es más conveniente usar 70 años (expectativa de vida). Las frecuencias de exposición y las duraciones de las exposiciones deben de ser consistentes con las tasas de contacto seleccionadas. Si se usa una tasa de contacto basada en observaciones de largo plazo, como en el caso de contar con la tasa del consumo anual de pescado, entonces se deben de calcular la tasa de contacto y la frecuencia de exposición expresada en días y en días^{-1} (365 días = 1año).

Masa corporal. Para niños se utiliza como valor de la masa corporal el valor estándar encontrado en las tablas de "peso para la edad". La exposición vitalicia se estima por un promedio ponderado por tiempo de exposiciones estimadas para todos los grupos etáreos. Cuando los contactos son, más o menos, constantes durante el período vital, como la ingesta de agua, se utiliza el valor de 70 Kg. como valor de la masa corporal.

Tiempo de promediación. El tiempo de promediación seleccionado depende del tipo de efecto tóxico que se esté evaluando.

Cuando se evalúan exposiciones a tóxicos para el desarrollo, los insumos se calculan promediando sobre el período del evento de exposición. Para tóxicos agudos se promedia sobre el tiempo más corto que se conoce, en el que se puede producir un efecto, normalmente un día.

Cuando se evalúan exposiciones de largo plazo a tóxicos no-cancerígenos las dosis se calculan promediando los insumos durante el período de exposición. Por ejemplo; dosis diarias crónicas o dosis diarias subcrónicas.

Para cancerígenos, las dosis se calculan promediando la dosis total acumulada durante el período vital y se le llaman Dosis Diaria Vitalicia Promedio (DDVP). Esta diferencia se basa en la opinión científica actual de que los mecanismos de acción son diferentes. Se supone que el efecto de la exposición a un cancerígeno es básicamente el mismo si se tiene una exposición a una alta concentración por corto tiempo a que se tenga una exposición a baja concentración por un período prolongado. Esta suposición es menos justificable cuando las exposiciones son intensas y poco frecuentes, especialmente si la substancia es un cancerígeno que ha mostrado que sus efectos dependen de la dosis y de la tasa.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Incertidumbres. Las principales fuentes de incertidumbre en el cálculo de la D_S son:

- la variabilidad en los datos analíticos
- el uso de modelos para estimar algunas variables
- uso de valores supuestos para algunos parámetros.

La estimación del efecto de las incertidumbres en el cálculo de las dosis suministradas es un aspecto muy importante en la evaluación de riesgos, ya que indica el nivel de confiabilidad que se tiene en la evaluación de la exposición y pueden influir significativamente en la toma de decisión sobre intervención en un sitio.

3.3 Caracterización de riesgos

La caracterización de los riesgos a la salud pública en un sitio contaminado consiste en determinar si es tolerable el nivel de riesgo de que se produzcan daños asociados a la exposición a los tóxicos presentes en el sitio.

Para hacer lo anterior se evalúan las exposiciones que sufren los pobladores, lo cual, consiste en:

- hacer la selección de las poblaciones que se consideran en riesgo y de los tóxicos capaces de producir esos riesgos, identificando las condiciones de exposición
- cuantificar las exposiciones que tienen lugar, estimando las dosis suministradas/absorbidas
- calificar la calidad de los resultados del cómputo de las exposiciones.

Por otro lado se evalúa la peligrosidad de los tóxicos presentes, lo cual consiste en:

- obtener los índices de toxicidad, que estén basados en información confiable, para todos los tóxicos que se seleccionaron en la evaluación de la exposición, y sean aplicables a las condiciones presentes en el sitio
- calificar la calidad de la información obtenida.

En la mayoría de los sitios contaminados, los individuos están expuestos a varios tóxicos al mismo tiempo y cada uno de los tóxicos pueden llegar a hacer contacto con las poblaciones por más de una ruta.

En esta sección se revisará cómo se integran ambos conocimientos para la evaluación de riesgos por exposición a substancias tóxicas, tanto si se trata de exposiciones a una sola substancia por una ruta, como de exposiciones múltiples.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los riesgos asociados a la exposición de substancias no-cancerígenas, se evalúan por separado de los riesgos por exposición a cancerígenos. Las metodologías para evaluar estos dos modos de toxicidad química son diferentes.

Para caracterizar efectos no-cancerígenos, las comparaciones se hacen entre las dosis de exposición estimadas para cada una de las substancias y sus dosis de referencia y al cociente de estas dos cantidades (exposición /dosis de referencia), que se le conoce como Cociente de Peligro.

Los efectos cancerígenos o sea , la probabilidad de que un individuo desarrolle cáncer por exposición vitalicia a una substancia, se estima a partir de las dosis de exposición estimadas y la información sobre la probabilidad específica de desarrollar cáncer (riesgo de cáncer por unidad de dosis o factor de pendiente), para la substancia de interés. Al producto del valor de la exposición por el factor de pendiente se le llama: Riesgo de Cáncer.

Una evaluación de riesgos no se puede considerar completa, a menos que las estimaciones numéricas del riesgo se califiquen, a la luz de las suposiciones más importantes que se hicieron para llegar a los resultados obtenidos y el análisis de las incertidumbres que se introdujeron en los resultados como producto de esas suposiciones.

3.3.1 Evaluación de la exposición

En la sección 3.1 se presentó cómo se transportan los tóxicos en el ambiente desde la fuente de emisión y cómo parte de esos tóxicos liberados llegan en estado activo a contactar a algunos miembros de las poblaciones en uno o más escenarios, y cómo se determina qué rutas son significativas. Se vio también, cómo se define y calcula la dosis que reciben los individuos expuestos. Se mencionó varias veces que los modelos matemáticos que normalmente se utilizan en estos cálculos pueden representar sobre-simplificaciones de la realidad. También se dijo, que muy frecuentemente no se tiene información propia del sitio y/o de la población que se está estudiando y, que en ese caso se tienen que asignar valores a los parámetros de los modelos, basándose en estadísticas nacionales o en base a la experiencia de los encargados de hacer la evaluación de riesgos.

La presentación de toda esta información numérica y cualitativa acompañada de los juicios de valor sobre las suposiciones hechas en el proceso de obtenerla es lo que denominamos evaluación de la exposición**. Es la información que se necesita para hacer la evaluación de riesgos.**

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3.3.1.1 Información contenida

Los resultados del estudio de la exposición que se necesitan son los siguientes:

- Concentraciones químicas de todas las substancias tóxicas en el punto de exposición
- Frecuencia y duración de las exposiciones
- Clasificación de las exposiciones observadas de acuerdo al período de exposición (crónicas, subcrónicas y agudas) y la vía de exposición (oral, inhalación y cutánea)
- Características de la población expuesta identificando subpoblaciones especiales
- Características del sitio
- Descripción de las rutas de exposición significativas
- Dosis Suministradas y/o Absorbidas de cada substancia por cada ruta significativa, por cada vía y por cada período de exposición
- Relación de las rutas completas que se clasificaron como no significativas y porqué. Posible efecto de las exposiciones que no se están evaluando
- Lista de las rutas de exposición que pueden contribuir a la exposición de los mismos individuos en forma simultánea
- Modelos de transporte y destino utilizados en el análisis de las rutas de exposición
- Suposiciones hechas en el proceso de modelaje de las exposiciones
- Valores utilizados para los parámetros de exposición y fuentes de información
- Identificación y caracterización de las incertidumbres.

3.3.1.2 Calificación de la información

En la sección 3.1 se trató cómo se estiman los valores numéricos de la Dosis Suministrada, en esta sección veremos cómo se evalúa esa información.

Las dosis suministradas que se calculen son tan válidas como la calidad de los datos usados, la validez de las suposiciones que se hicieron y lo apropiado de los modelos que se usaron. La desviación de la idealidad de cualesquiera de estos factores introducen incertidumbres en los resultados. Es necesario estimar el impacto de estas incertidumbres.

La evaluación de la exposición involucra la toma de varias decisiones que influyen substancialmente en la calidad de los resultados. Los aspectos más importantes son:

- Definición del escenario físico . Las decisiones que se toman en este paso están basadas en la información que se tenga sobre el área y en la experiencia del evaluador de riesgos. En primer lugar se tiene que asignar la categoría de uso actual y potencial del suelo, en base a la información recabada por observación directa del sitio y en los servicios de información gubernamental sobre planes de desarrollo, reglamentación del uso del suelo y zonificación. Las dosis estimadas son diferentes, dependiendo de si el sitio es residencial,

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

si se va convertir en residencial dentro de un plazo de 10 años o si es o se va a convertir en comercial/industrial/agropecuario, etc. Las exposiciones probables son de muy distinta duración y frecuencia. En segundo lugar, en base a la información de muestreo ambiental y el conocimiento que se tenga sobre la peligrosidad de los tóxicos ambientales detectados, se tiene que seleccionar la lista de substancias de interés y las rutas de exposición significativas que existen realmente. En base al estudio de campo, usando modelos de transporte y destino se seleccionan las rutas que se puedan esperar para el futuro.

- Selección de Modelos de Transporte y Destino.- Se trata de seleccionar modelos que representen adecuadamente todas las interelaciones conocidas e importantes que definen el comportamiento del sitio. Normalmente se cuenta sólo con modelos sencillos y en algunas ocasiones sin validar.
- Selección de los valores de los parámetros de exposición.- Lo ideal es obtener información específica en el sitio, sin embargo muy frecuentemente no se hace y se usan valores estándar para muchos de los parámetros que se usan en la estimación de la dosis. Por ejemplo; se fijan valores para tasas de contacto como ingesta diaria de agua, consumo diario de pescado, etc., o para longitud de los períodos de exposición por duración promedio en un determinado domicilio o en un trabajo, etc.

3.3.1.3 Evaluación de las incertidumbres

La evaluación de las incertidumbres es un aspecto muy importante en la evaluación de riesgos. Algunas de las fuentes de incertidumbre se pueden cuantificar, a las otras se les da un tratamiento cualitativo, pero siempre se analizan. Es conveniente conocer las posibilidades de que las incertidumbres se magnifiquen a lo largo del proceso de evaluación.

Identificación. Las incertidumbres más importantes son las siguientes:

- calidad de los datos de muestreo. Por ejemplo; si los datos de concentración de un determinado tóxico en el suelo no provienen de muestras representativas
- calidad de la información que se consultó para asignar categoría del uso actual del suelo y para hacer la estimación de las probabilidades de cambio del uso del suelo
- la eliminación de substancias de la lista de tóxicos a considerar en el estudio
- la eliminación de rutas de exposición completas.

Se debe de revisar esta información para confirmar o revocar las decisiones que se hayan tomado antes. Los errores que se cometan en estos aspectos pueden llegar a invalidar los resultados del análisis de riesgos.

Otras fuentes importantes de incertidumbre son las inherentes a la evaluación de la exposición de los individuos a todas las substancias. Estas incertidumbres son introducidas por:

- los datos de muestreo
- los modelos usados para estimar concentraciones de exposición, en la ausencia de datos experimentales

- la selección de niveles de los parámetros de insumos que **no** estén basados en datos experimentales
- Las incertidumbres adicionales que se introducen cuando se combinan las exposiciones a varias substancias por varias rutas de exposición.

Es conveniente tener en cuenta y evaluar el posible efecto de las suposiciones más importantes que se tienen que hacer en la derivación de los modelos como son:

- la de suponer linearidad de respuesta
- homogeneidad
- condiciones de régimen estacionario o de equilibrio, etc.

Las distintas suposiciones pueden tener efectos diferentes en los resultados. Es necesario identificar las suposiciones claves, indicando el orden de magnitud de la sobrestimación o subestimación del riesgo.

Si no se dispone de datos de campo para validar un modelo, se puede hacer un análisis de sensibilidad limitado, para indicar la magnitud de la incertidumbre asociada al uso de ese modelo.

Es conveniente identificar cuáles de estos parámetros tienen más influencia en los resultados y los efectos sobre los resultados del hecho que se hayan dado valores estándar a los parámetros de exposición y de transporte. Lo anterior se determina por análisis de sensibilidad o por opinión de expertos. En el análisis de sensibilidad se calculan los riesgos dando diferentes valores a los parámetros y observando su efecto sobre los resultados.

Análisis. Idealmente se debería hacer un seguimiento a lo largo de todo el proceso de evaluación de riesgo de cada una de las incertidumbres asociadas al cálculo de las exposiciones y así, caracterizar sus efectos sobre los resultados finales. A continuación se describen algunas formas de cómo evaluar las incertidumbres en forma cuantitativa, semicuantitativa y cualitativa.

Método Cuantitativo. El método cuantitativo se puede aplicar cuando los modelos son sencillos y se conocen bien los valores de los parámetros de insumo. En este caso, el primer paso será la caracterización de las distribuciones de probabilidades de los valores de las variables y, el segundo será el estudio de la propagación de las incertidumbres de los valores de las variables, a través del proceso de cálculo, usando métodos analíticos (series de Taylor de primer orden) o por métodos numéricos (simulación Montecarlo).

Los métodos analíticos son posibles cuando se trata de pocas variables con distribuciones conocidas y de funciones lineales. En los casos más complejos se usan los métodos numéricos.

Los análisis de primer orden, con series de Taylor, están basados en la suposición de que la varianza total de la variable de salida del modelo, es una función de las varianzas de las variables individuales de entrada al modelo y que la sensibilidad de la variable de salida es una función de las variables de entrada. La sensibilidad de la variable de salida se define

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

como la primera derivada de la función o modelo. La derivada se puede generar en forma analítica o numérica.

En la simulación Montecarlo se estima una distribución de exposiciones o riesgos por medio de la resolución repetitiva de las ecuaciones del modelo. Se necesita definir la distribución de probabilidades para cada variable del modelo. De la distribución de riesgos que resulta se puede seleccionar un determinado percentil (por ejemplo el 95 en el caso de distribución de exposiciones).

Las técnicas cuantitativas requieren de la definición de las distribuciones de todas las variables de entrada y de la covarianza que existen entre ellas. El valor de estos métodos disminuye rápidamente, si no se conocen bien las distribuciones de una o más variables y, si se tienen que suponer los valores y las distribuciones de algunos de los parámetros. Las técnicas cuantitativas se vuelven más difíciles de documentar y revisar, a medida que aumenta el número de variables en el modelo.

El llevar acabo el análisis cuantitativo de las incertidumbres a veces lleva a una falsa percepción de confiabilidad en los resultados. Aún en los análisis más completos no se puede estar seguro de que se tomaron en cuenta todas las fuentes de incertidumbre y que se tomaron en cuenta todas las covarianzas.

Métodos Semicuantiativos. Con frecuencia la información disponible es insuficiente para describir la distribución de valores de las variables, pero sí se pueden conocer los rangos dentro de los cuales toman valores los parámetros. En esta situación se pueden hacer estudios de sensibilidad de la variable de salida, determinar cuáles variables tienen más influencia en los resultados y calcular los rangos dentro de los cuales puede tomar valores la variable de salida. Se calcula el rango de la variable de salida del modelo (exposición) que resulte de suponer las combinaciones de valores extremos o medios de los parámetros de entrada.

La caracterización de las incertidumbres por medio de este método, se puede hacer presentando los rangos de las exposiciones o riesgos calculados en el análisis de sensibilidad y, por la descripción de las limitaciones en los datos que se usaron para estimar rangos plausibles de las variables de entrada del modelo.

Método cualitativo. En la mayoría de los casos este es el método más adecuados para presentar el análisis de incertidumbres. Se describe en forma cuantitativa o cualitativa la incertidumbre de cada parámetro y se indica simplemente la influencia posible de estas incertidumbres en la estimación final del riesgo en base al conocimiento que se tenga de cada modelo.

En seguida se hace un resumen de la información y las incertidumbres que pueden estar asociadas a esas informaciones, que es conveniente tener a la mano cuando se está haciendo este tipo de análisis:

- lista de los parámetros de evaluación de la exposición tales como: velocidad de infiltración, duración de la exposición, factores de bioconcentración, peso corporal, etc.
- lista de los valores usados para cada parámetro y la razón para seleccionar ese valor
- distribución de valores de cada parámetro sean estos medidos o supuestos, considerando, si es posible, los siguientes: rango total, tipo de distribución, media (geométrica o aritmética), desviación estándar y percentiles específicos (mediana, percentil 95)

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- incertidumbre en valores estadísticos usados en la evaluación de riesgos (por ejemplo, el error estándar de la media) o la falta de datos y calificadores
- dirección y magnitud potencial de las desviaciones en las estimaciones de riesgos introducidas por las suposiciones hechas y por la falta de datos.

Las curvas de nivel de riesgo que se calculan en base de exposiciones modeladas, son útiles para visualizar el efecto posible de contaminaciones actuales o futuras sobre las comunidades que viven cerca o en el sitio.

3.3.2 Evaluación de la toxicidad

En la segunda parte de este libro, la cual se denomina Toxicología Ambiental, se analizó qué pasa cuando un tóxico entra al organismo y cómo cada individuo expuesto tiene sistemas bioquímicos para responder a la agresión química, que mecanisticamente pueden ser iguales, pero que pueden ser cuantitativamente diferentes, dependiendo de diversos factores ya sean, ambientales o propios de cada organismo. Se presentaron los mecanismos por medio de los cuales los tóxicos causan daños, así como los factores que tienen influencia sobre esa respuesta. Lo presentado en esas secciones ayuda a explicar la respuesta tóxica y su variabilidad. También se vio cómo la magnitud de las respuestas tóxicas están determinadas por la cantidad del tóxico que llega activo al tejido blanco.

Evaluación de la toxicidad, es la selección de los valores adecuados de los parámetros que miden la peligrosidad de las substancias tóxicas presentes en el sitio, acompañados por la calificación de la calidad de esa información. El parámetro que se usa en evaluación de riesgos es el índice de toxicidad.

3.3.2.1 Información sobre toxicidad

La información sobre toxicidad es crítica en el proceso de evaluación de riesgos, sin embargo, la cantidad de datos sobre toxicidad es muy limitada y no es fácil estimarla. La derivación e interpretación de los índices de toxicidad requiere de experiencia.

La EPA acumula información sobre la potencialidad de que un determinado compuesto sea un tóxico (cancerígeno o no-cancerígeno). Puede provenir de estudios epidemiológicos controlados, estudios clínicos, estudios fármaco-toxicológicos con animales experimentales, así como, información de apoyo provenientes de estudios *in vitro* y estudios comparativos entre estructura y actividad.

Los resultados de los estudios epidemiológicos bien diseñados y conducidos que muestran una correlación positiva entre un agente y una enfermedad, presentan la evidencia más convincente de que el compuesto es un tóxico para humanos. Las bases de datos sobre toxicidad contienen muy poca información de efectos tóxicos observados en humanos, porque normalmente las exposiciones no son intencionales y por lo tanto no son estudios controlados.

Si no se cuenta con información proveniente de estudios con humanos, lo que se hace es inferir el potencial de una substancia para producir efectos adversos en el hombre, a partir de

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

información obtenida con mamíferos experimentales (ratas, ratones, conejos, cuyos, perros o monos).

Hay ocasiones en que las observaciones con animales son de relevancia incierta para humanos. Se considera más probable que un agente tendrá efectos adversos en el hombre, si éstos se observan en diversos experimentos con animales de diferente especie, cepa, en ambos sexos, y por diferentes rutas de exposición. Se le da más credibilidad a los resultados, si se tiene información proveniente de estudios de metabolismo comparado, que demuestren que la substancia experimenta biotransformaciones similares en el animal de laboratorio y en el hombre.

Los estudios de los efectos de un compuesto sobre poblaciones microbianas y células en cultivos de tejidos proporcionan información sobre su toxicidad. Por ejemplo; se refuerza la sospecha de que un compuesto es cancerígeno si se demuestra *in vitro* que produce daño al ADN, aberraciones cromosomales, transformación de células y es mutagénico. Estos resultados también dan información sobre el mecanismo potencial de carcinogenicidad. Por otro lado, los resultados negativos en estos estudios de genotoxicidad de corta duración, no se consideran que son suficientes para desechar los resultados obtenidos en estudios de carcinogenicidad de larga duración con animales.

Los estudios de Estructura-Actividad (o sea la predicción de actividad toxigénica basada en el análisis de la estructura química) son otra fuente potencial de información de apoyo. En algunos casos, se usa la información sobre toxicidad de un compuesto para estimar la actividad de otro compuesto de estructura parecida para el que no existe información experimental.

La EPA está estudiando la adopción de nuevos lineamientos para hacer la evaluación de riesgos de cáncer en sitios contaminados. La metodología actual está basada en los conocimientos que existían hace más de 10 años, está modificándose para dar mayor peso a los estudios de genotoxicidad, reflejando el incremento en la confianza que se tiene en el resultado de estos estudios, después del desarrollo, durante esta década, que han experimentado las distintas técnicas de laboratorio.

El primer paso en la evaluación de la toxicidad es obtener la información sobre los daños que pueden producir los tóxicos presentes en el sitio. Se obtiene la información sobre peso de la evidencia de que el compuesto es cancerígeno humano o tóxico para el desarrollo, así como los índices que corresponden a los distintos modos de acción de la substancia (cancerígenos, no-cancerígenos, tóxicos para el desarrollo) correspondientes a los distintos períodos de exposición y vías de exposición.

La mayoría de los índices de toxicidad publicados se calcularon en base a los niveles de efectos críticos observados experimentalmente, en donde se midieron las dosis suministradas y no las dosis absorbidas. Cuando se obtienen valores calculados usando dosis absorbidas, es necesario transformarlos a valores equivalentes en dosis suministradas.

La EPA ha hecho el trabajo de analizar la información toxicológica de buena calidad que existe y la ha acumulado en varias tablas electrónicas para consulta en línea o en publicaciones periódicas. Estas tablas constituyen las mejores fuentes de información sobre índices de toxicidad disponible. Las más importantes son:

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Sistema IRIS IRIS (Integrated Risk Information System) es una base de datos que contiene información actualizada sobre toxicidad y la normatividad para el uso de numerosas substancias. Sólo está disponible para consulta en línea y se puede accesar desde la página electrónica de la EPA.

IRIS contiene los valores verificados de las DdR y de los Factores de Pendiente y especifica el nivel de incertidumbre usados en la derivación de DdR.

La base de datos consiste de una colección de archivos que se van actualizando a medida que la información científica se revisa. Se tiene un archivo por cada substancia. Se agregan nuevos archivos a medida que la información va estando disponible. Hasta 1998, se cuenta con archivos para más de 500 substancias.

Los archivos contienen la siguiente información cuantitativa arreglada en las siguientes categorías:

- DdR crónicas para vía oral e inhalada
- Factores de Pendiente y Unidades de Riesgo para exposición crónica por vía oral o por inhalación
- HA para agua potable
- Resúmenes de la normatividad que aplica la EPA
- Datos suplementarios sobre peligros agudos para la salud, así como información físicoquímica
- Bibliografía sobre los estudios toxicológicos hechos con la substancia

La base de datos IRIS no contiene información sobre toxicidad a niveles de exposición mayores que los efectos críticos.

Con el propósito de ejemplificar el contenido de los archivos en la base IRIS se presenta en el apéndice la impresión del archivo del arsénico tal como aparecía a mediados de 1998.

Los índices que están esperando la decisión de los grupos de trabajo para ser declaradas como valores verificados se les conoce como **índices interinos** y no aparecen en IRIS.

Tablas HEAST. Las tablas HEAST (Health Effects Assessment Summary Tables) contienen información sobre DdR y Factores de Pendiente interinos, así como otros datos de toxicidad de algunas substancias. Tienen información bibliográfica sobre estudios de toxicidad. Estas tablas son de gran utilidad cuando la información que se necesita no se encuentra en IRIS. Las tablas se publican trimestralmente.

Otros Documentos. Cuando no se encuentra información, en las fuentes arriba mencionadas, sobre la toxicidad de la substancia de interés, se pueden consultar otras publicaciones que contienen información general, tales como los documentos que especifican criterios de calidad de agua potable y pureza del aire.

La ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) publica una serie de documentos que se llaman Perfiles Toxicológicos. Contienen información general sobre toxicidad y niveles de exposición asociados con letalidad, cáncer, genotoxicidad,

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

neurotoxicidad, toxicidad para el desarrollo y la reproducción, inmunotoxicidad y toxicidad sistémica (hepática, renal, respiratoria, cardiovascular, gastrointestinal, hematológica, músculo-esquelética y dermo/ocular). Los Perfiles contienen información sobre los efectos tóxicos observados en el hombre y en los animales, por ruta de exposición y duración (aguda, intermedia, crónica). Los perfiles también incluyen capítulos sobre propiedades físicoquímicas y métodos analíticos.

Los Perfiles Toxicológicos de ATSDR son adecuados para obtener información en forma rápida de los efectos adicionales a la salud que puedan ocurrir por exposiciones de mayor nivel que los que producen los efectos críticos.

Es conveniente hacer notar que ATSDR y EPA definen en forma diferente algunas de las variables que entran en el cálculo de los índices de toxicidad. Es necesario tener cuidado al mezclar los datos provenientes de estas dos fuentes de información.

3.3.3 Selección de índices de toxicidad.

Después de que se ha recolectado la información de toxicidad para los compuestos en cuestión, el siguiente paso es identificar los índices de toxicidad que se van a usar para estimar los efectos asociados con las exposiciones específicas que se desean evaluar.

En primer lugar, en base a la información generada sobre exposiciones, se seleccionan:

- los Factores de Pendiente para los cancerígenos,
- las DdR para respuestas a no-cancerígenos y tóxicos para el desarrollo.

Se seleccionan los índices de acuerdo a las condiciones que se presentan en el|sitio:

- períodos de exposición (crónicos, subcrónicos o agudos)
- vías de exposición (oral, inhalación y cutánea).

Las fuentes preferenciales de información son las tablas enumeradas en la sección anterior.

3.3.3.1 DdR para Efectos No-cancerígenos

Se usan:

- las DdR crónicas para períodos de exposición mayores de 7 años,
- las DdR subcrónicas para exposiciones de 2 semanas a 7 años
- las HA de 1 y 10 días para exposiciones orales de menos de 2 semanas. De acuerdo con la EPA los AH de 1 día se pueden usar para exposiciones de hasta 5 días y las HA de 10 días se pueden usar para exposiciones de hasta 2 semanas.
- Las DdR de desarrollo se deben utilizar para exposiciones únicas y para exposiciones de muy corta duración (1 día).

Para algunas substancias y para algunas exposiciones se pueden usar más de una DdR.

Debido a que algunos cancerígenos también presentan efectos no-cancerígenos, es conveniente localizar las DdR para estos compuestos. Las DdR para cancerígenos están derivadas para efectos no-cancerígenos y no se debe de suponer que se está logrando protección contra carcinogenicidad.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3.3.3.2 Factores de pendiente para efectos cancerígenos

En este paso de la evaluación de la toxicidad se identifican los índices apropiados para evaluar los riesgos de carcinogenicidad asociados con las exposiciones evaluadas. Primero, con base a los resultados de la evaluación de la exposición, se identifican las rutas de exposición a los cancerígenos potenciales. Se obtienen los Factores de Pendiente para los agentes identificados usando las jerarquías de fuentes presentadas anteriormente. Se deben encontrar los q_1* para todos los agentes clasificados como cancerígenos humanos comprobados y probables que se hayan encontrado en el sitio.

3.3.3.3 Información contenida en la evaluación de la toxicidad.

La evaluación de la toxicidad debe de contener la siguiente información:

- Factores de Pendiente para todos los cancerígenos
- Clasificación por peso de la evidencia de todos los cancerígenos
- Tipo de cáncer producidos
- DdR crónicas, subcrónicas o de corta duración para todas las substancias, incluyendo los cancerígenos
- Efectos críticos en los que se basan las DdR
- Discusión de las incertidumbres, FIs y FM utilizados para derivar cada DdR, y grado de confiabilidad de las DdR (alto, medio, bajo)
- Especificar si los índices de toxicidad están calculados en base a las dosis suministradas o absorbidas
- Datos farmacocinéticos que puedan calificar las extrapolaciones de animales a humanos
- Incertidumbres en las extrapolaciones de ruta a ruta.

Incertidumbre en la evaluación de la toxicidad Se debe analizar la información sobre las incertidumbres inherentes a los índices de toxicidad para todas las substancias que contribuyen más significativamente a los riesgos de cáncer y a los índices de peligro.

El análisis se hace en base a los siguientes factores:

- peligros cualitativos (o sea potencialidad de toxicidad para humanos)
- derivación de los índices de toxicidad
- información con humanos y animales
- duración del estudio (uso de datos crónicos para estimar DdR subcrónicas) y consideraciones especiales
- potencialidad de interacciones sinérgicas o antagónicas con otras substancias a las que puedan estar expuestos los mismos individuos
- cálculo de riesgos de cáncer para exposiciones vitalicias sobre la base de exposiciones de más corta duración

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Para cada substancia no incluida en la evaluación cuantitativa de riesgos por falta de información toxicológica adecuada, el evaluador deberá proporcionar la información siguiente:

- posibles efectos sobre la salud
- posibles consecuencias sobre el estudio de riesgos causadas por la exclusión.

3.3.4 Estimación de riesgos

Como se mencionó antes, el riesgo se calcula por separado para cancerígenos y no cancerígenos. Para este último caso se calculan los Cocientes de Peligro dividiendo el valor de la dosis suministrada por cada ruta entre el valor de la dosis de referencia. Se deben seleccionar las DdR para los mismos períodos y vías de exposición que se usaron en la estimación de las dosis suministradas/absorbidas. La dosis suministrada para el cálculo de riesgos de cáncer se debe estimar para exposiciones por todo el período vital (70 años).

3.3.4.1 Prueba de consistencia y validez

Los números que se comparen en la estimación de riesgos, además de ser válidos, deben ser consistentes entre sí.. Es necesario probar la validez de las suposiciones claves más comunes que se hicieron en los estudios de exposición y de toxicidad para cada tóxico y ruta de exposición evaluada. Estas suposiciones incluyen los períodos de promediación de las exposiciones, la vía de exposición y los ajustes de la absorción. El principio básico, en este caso, es asegurarse que las estimaciones de exposición correspondan tan cercanamente como sea posible con las suposiciones utilizadas en el desarrollo de los índices de toxicidad.

Períodos de promediación de la exposicion. Si los índices de toxicidad están basados en exposiciones vitalicias, entonces la evaluación de la exposición deberá estar expresada en los mismos términos.

Para estimar riesgos de cáncer se deben usar promediaciones de exposiciones vitalicias, y si se tienen exposiciones más cortas, éstas deben expresarse en equivalentes de exposiciones vitalicias.

Para evaluar efectos no-cancerígenos para exposiciones no vitalicias, no se deben comparar DdR crónicas con exposiciones de más corta duración. En su lugar se deben usar DdR subcrónica o para exposiciones cortas.

Las exposiciones usadas en los estudios de toxicidad deben ser semejantes a las duraciones de las exposiciones evaluadas en el sitio, para que las estimaciones de los riesgos sean suficientemente conservadoras y protejan adecuadamente la salud humana, particularmente en los efectos subcrónicos y de corta duración. Si no se cuenta con datos de toxicidad para exposiciones de corta duración, se pueden utilizar las DdR crónicas como un valor inicial. Si la relación de la dosis de exposición de corta duración a la DdR crónica es menor a la unidad, entonces hay muy pocas probabilidades de que se presenten efectos adversos. Si este cociente es mayor que 1, se deben localizar o producir valores de DdR para el período adecuado, y así confirmar la existencia de una amenaza significativa para la salud.

Vía de exposición. Se debe confirmar que los índices de toxicidad para cada ruta de exposición sean consistentes con la vía de ingreso del tóxico ambiental (o sea oral con oral,

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

inhalación con inhalación, etc.). Cuando las substancias tienen efecto en el sistema de ingreso, no es posible extrapolar los índices de toxicidad de una vía a otra. Por ejemplo; un índice de toxicidad basado en la aparición de tumores localizados en los pulmones, que resultan solamente de la inhalación de la substancia, no será apropiado para estimar el riesgo cuando en el sitio sólo se observa una exposición cutánea. En la actualidad, sólo se considera (por la EPA) como apropiado que se extrapolen a exposición dérmica, índices desarrollados con exposiciones orales. No se recomienda que se extrapolen índices derivados por exposición por inhalación para usarse en evaluación de riesgos por exposición oral, aunque en algunas ocasiones sí se hace.

Las DdR de inhalación (DdRi) obtenidas en IRIS, normalmente estarán expresadas como concentraciones en el aire ambiente (unidades: mg/m^3) y no como dosis administradas (mg/Kg.x día). Será necesario transformar las unidades para que sean las mismas unidades en las que se calculen las dosis suministradas estimadas en la evaluación de la exposición. Se tiene que multiplicar la DdRi por 20 para considerar el volumen de aire inhalado por una persona por día expresado en metros cúbicos, y dividir por 70 que es peso promedio de la población expresado en kilogramos.

Ajustes a la absorción. Debe de corroborarse que las exposiciones y los índices de toxicidad estén ambos expresados como dosis suministradas o como dosis absorbidas. Con la excepción de las exposiciones dérmicas, los índices en las tablas de la EPA están referidos a las dosis suministradas. En el caso de las exposiciones cutáneas los índices se calculan con las dosis absorbidas.

Los ajustes que hay que hacer para transformar de un tipo de dosis a la otra, dependen de la información de toxicidad disponible. La evaluación de exposición por exposición cutánea está expresada como los miligramos de la substancia absorbida por Kg. de peso corporal por día. Es necesario derivar un índice de toxicidad basado en dosis absorbidas. Hay algunas substancias como el TCE, para las cuales los índices de toxicidad están basados en dosis absorbidas. En este caso las exposiciones se tendrán que modificar para que reflejen dosis absorbidas.

En algunas ocasiones, es conveniente, corregir por diferencias entre las eficiencias de absorción por medio de exposición por ejemplo; alimentos, suelos o agua por vía oral y agua o partículas por inhalación, aunque no siempre se recomienda hacerlo. Sólo si se tienen argumentos de peso que justifique la corrección.

Los valores de DdR y FP para ingestión (vía oral) publicados, normalmente suponen ingestión en solución acuosa, aunque en muchas ocasiones los experimentos usaron aceite de maíz como vehículo. Esto proporciona un factor de incertidumbre adicional.

3.3.4.2 Riesgos por substancias individuales

3.3.4.2.1 Efectos cancerígenos

Para cancerígenos, los riesgos se estiman como el incremento en la probabilidad de que un individuo desarrolle cáncer durante su período vital como resultado de la dosis suministrada por la exposición a un agente cancerígeno. O sea lo que se calcula es el incremento del riesgo de desarrollar cáncer.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El Factor de Pendiente (FP) convierte directamente los insumos diarios estimados promediados para el período vital en el incremento del riesgo de que un individuo desarrolle cáncer. Debido a que las dosis a las que se exponen los individuos en el medio ambiente son generalmente muy pequeñas comparadas con las que se utilizan en experimentos con animales, se supone que la relación dosis-respuesta es lineal (la parte de dosis bajas en la curva dosis-respuesta obtenida por extrapolación a dosis cero usando el modelo multipasos del cáncer). Bajo esta suposición el factor de pendiente es una constante y el riesgo será directamente proporcional a la dosis.

Riesgo = Ds x FP

Donde: Riesgo es la probabilidad adimensional de que un individuo desarrolle cáncer, D_S es el Insumo diario crónico promediado durante 70 años en mg/Kg. x día

FP es el factor de pendiente y tiene las unidades de 1/(mg/Kg. x día).

La ecuación anterior es válida a niveles bajos de riesgos (por abajo de 0.01). Si los riesgos son mayores se tendrá que usar otra ecuación:

Riesgo = 1 – exp (-Ds x FP)

Donde las variables se definen igual que en la ecuación anterior.

Debido a que los valores de FP son a menudo el límite superior de confianza al percentil 95 de la probabilidad de respuesta basado en datos de experimentación con animales utilizando el modelo de multipaso para extrapolar a dosis bajas, el riesgo de cáncer estimado será generalmente una estimación alta. Esto significa que se tiene confianza del que el riesgo real no excederá el riesgo estimado por este modelo y que lo más probable es que sea menor al que se predijo.

El incremento en el riesgo de cáncer que es permisible depende de la legislación de un país. El valor que se considera socialmente aceptable en los Estados Unidos es de una probabilidad de 10^{-4} a 10^{-7} y el nivel para cada substancia es especificada por EPA.

3.3.4.2.2 Efectos no-cancerígenos

La medición usada para describir el potencial de que ocurra una toxicidad de no-cancerígeno en un individuo no está expresada como la probabilidad de que un individuo sufra un efecto adverso. En su lugar el potencial de efectos no-cancerígenos se evalúa comparando el nivel de exposición especificado durante un determinado período (por ejemplo el período vital) con una dosis de referencia derivada para un período similar de exposición Esta relación de exposiciones a tóxicos se le denomina Cociente de Peligro y se define así:

Cociente de Peligro = Ds/DdR

Donde: D_S = Nivel de Exposición (o insumo o dosis suministrada)

DdR = Dosis de Referencia

D_S y DdR deben de estar expresadas en las mismas unidades y representar el mismo período de exposición (o sea crónica, subcrónica o de corta duración) y la misma vía de exposición.

Este cociente supone de que hay un nivel de exposición (DdR) abajo del cual es poco probable que se presente un efecto adverso, aún en poblaciones sensible. Si los niveles de exposición exceden este valor, entonces existe el peligro de que potencialmente se presenten efectos no-cancerígenos. En general entre mayor sea el valor del cociente arriba de la unidad mayor será la preocupación de que se presente un efecto. El valor del cociente no debe de interpretarse como una probabilidad de que se presente un efecto adverso. La curva dosis-respuesta no es lineal así que no hay proporcionalidad directa a valores muy superiores a la DdR. Las exposiciones crónicas (7años o más) como las que experimentan los usuarios de servicios de agua potable y los residentes del sitio son importantes siempre, las subcrónicas (2 semanas a 7 años) como las que experimentan estudiantes de secundaria que van sólo tres años a una escuela localizada en el sitio, son frecuentemente de interés. Las exposiciones de corta duración sólo son importantes si hay tóxicos para el desarrollo presentes en el sitio.

3.3.4.3 Riesgos agregados de varias substancias

Los riesgos de cáncer y los coeficientes de peligro que se calculan por la exposición a una mezcla de varias substancias, al sumar los riesgos por la exposición a cada substancia individual, puede resultar en una subestimación del riesgo de exponerse a todas en forma simultánea.

El cálculo de riesgos por exposición a mezclas, se hace suponiendo que los efectos son aditivos a menos que se tenga información específica sobre las mezclas que se presentan en el sitio y normalmente no se cuenta con esa información.

El modelaje del movimiento de mezclas en el ambiente es difícil, dado que es probable que los diferentes componentes de la mezcla se comporten en forma diferente y, la mezcla vaya cambiando de composición a medida que se mueve a lo largo de la ruta de exposición. El hecho de que se desprecien los efectos de potenciación o de antagonismo entre los tóxicos presentes en la mezcla, incrementa las incertidumbres sobre la validez de los resultados.

3.3.4.3.1 Efectos cancerígenos

La ecuación para el cálculo de riesgo de cáncer que se presenta más abajo estima el incremento del riesgo de un individuo de contraer cáncer por exposición vitalicia a varios cancerígenos.

El modelo de simple sumatoria de riesgos es adecuado para riesgos ambientales. Las suposiciones que se hacen son:

- que las dosis de cada una de las substancias es pequeña

©

- que hay independencia de acción para todos los compuestos involucrados, o sea que; no hay efectos químicos sinérgicos o antagónicos y que todas las substancias producen el mismo efecto: cáncer. Cuando los riesgos totales son menores de 0.1, la diferencia que se calcula con esta suposición es despreciable con respecto a los efectos que se estimarían usando modelos más estrictos.

Si alguna de estas suposiciones no se cumplen entonces tendremos sobrestimaciones o subestimaciones del riesgo real por la exposición múltiple. Así pues, se calcula el riesgo total de cáncer para cada ruta sumando los riesgos presentados por cada substancia. El riesgo de cáncer que resulte se debe expresar con sólo una cifra significativa.

$$\textbf{Riesgo}_T = \textbf{Riesgo}_1 + \textbf{Riesgo}_2 + \textbf{Riesgo}_3 + \ldots$$

Donde: $Riesgo_T$ = Riesgo total de cáncer
$Riesgo_1$ = Riesgo estimado para la substancia 1
$Riesgo_2$ = Riesgo estimado para la substancia 2, etc.

Es conveniente considerar las limitaciones de esta forma de calcular el riesgo de exposiciones simultáneas:

- Los FP representan el límite superior de confianza percentil 95 de la potencia del cancerígeno, como los percentiles 95 no son estrictamente aditivos, el riesgo de cáncer calculado se vuelve artificialmente más conservador. Si uno o dos componentes de la mezcla son los que dominan el riesgo el problema es menor
- El cálculo de riesgo total descrito le da el mismo peso a los cancerígenos independiente de su clasificación como A, B o C. Esto es equivalente a dar la misma validez a los datos derivados de trabajos con animales experimentales o provenientes de estudios de poblaciones humanas
- la acción de dos cancerígenos puede no ser independiente.

3.3.4.3.2 Efectos no-cancerígenos

Para evaluar el potencial total de efectos no-cancerígenos producidos por la exposición simultánea a más de una substancia, se ha desarrollado el cálculo del Indice de Peligro (HI).

Se hace las siguientes suposiciones:

- que se pueden producir efectos adversos para la salud por la exposición a una mezcla de varias substancias, aunque la concentración de cada una de ellas esté por abajo de los niveles de tolerancia
- la magnitud del efecto adverso será la suma de los cocientes de peligro obtenidos dividiendo los niveles de exposición D_S por su respectivo DdR.

El Indice de Peligro es igual a la sumatoria de los Cocientes de Peligro. Las DS y las DdR deben representar los mismos períodos de exposición (crónicas, subcrónicas y de corta duración)

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

$$HI = (D_{S1}/DdR_1) + (D_{S2}/DdR_2) + (D_{S3}/DdR_3) + \ldots$$

Donde: HI es el índice de peligro y las DS y las DdR representan las dosis suministradas al nivel de las EMR y las Dosis de Referencia para cada substancia.

Cuando la sumatoria es mayor que la unidad se interpreta como que existe el peligro de que se presenten efectos adversos.

Si la D_S de cualquiera de los componentes de la mezcla excede su DdR hará que el Indice sea mayor que uno, sin embargo el Indice puede llegar a uno, aún si la D_S de ninguno de los componentes de la mezcla por sí sola excede su DdR.

Recuérdese que se tienen que considerar también los efectos no-cancerígenos de los cancerígenos presentes.

Los Indices de Peligro para exposiciones crónicas, subcrónicas y de corta duración se calculan por separado usando las DdR y las D_S adecuadas, tal como se presenta en el siguiente cuadro:

$$HIc = (Dc/DdRc)_1 + (Dc/DdRc)_2 + \ldots$$
$$His = (Ds/DdRs)_1 + (Ds/DdRs)_2 + \ldots$$
$$Hia = (D_A/DdRa)_1 + (Da/DdRa)_2 + \ldots$$

Donde: HIc, HIs y HIa son los índices de peligro crónicos, subcrónicos y por exposiciones agudas respectivamente. D_C son las dosis diarias crónicas, D_S son las dosis diarias subcrónicas y D_A son las dosis diarias para exposiciónes agudas (de un día a 2 semanas). DdRc, DdRs y DdRa son las dosis de referencia crónica, subcrónica y para exposiciones únicas o agudas respectivamente. Para exposición oral a tóxicos en el agua potable se pueden usar las HA en lugar de DdRa

Esta forma de calcular el efecto de mezclas tiene varias limitaciones:

- Como ya se mencionó antes, el nivel de peligro no se incrementa linealmente a medida que se acerca o se excede la DdR
- Se usan indistintamente valores de las dosis de referencia que podrían no ser compatibles por: a) provenir de estudios que tengan niveles de precisión y exactitud diferentes b) que incluyan diferentes ajustes por factores de incertidumbre y de modificación, por extrapolación de animales a humanos, de LOAEL a NOAEL, de un período de exposición a otro c) no estar basadas en la misma severidad de efectos d) estar basadas en efectos críticos que pueden tener significación toxicológica distinta.
- La suposición de aditividad de las dosis se aplica más estrictamente para compuestos que inducen el mismo efecto y que tienen el mismo mecanismo de acción. Cuando no es así el cálculo de Indices de Peligro resulta en un valor sobre estimado.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3.3.4.4 Riesgos agregados de varias rutas

En esta sección se analizan las bases para determinar cuándo y cómo se deben combinar estimaciones de riesgos en las poblaciones que quedan expuestas a una substancia tóxica por más de una ruta.

Los individuos pueden estar expuestos, a una substancia o mezcla de substancias, por más de una ruta de exposición. Por ejemplo; un individuo puede estar expuesto a una o varias substancias provenientes de un sitio de desechos peligrosos, porque consuma agua de un pozo que se haya contaminado, alimentos contaminados producidos en el sitio y que inhale polvos originado en el sitio.

3.3.4.4.1 Combinaciones razonables de rutas de exposición

La determinación de si es conveniente o no combinar los riesgos e índices de peligro provenientes de dos o más rutas de exposición, de un individuo o grupos de individuos se hace en dos pasos:

- identificando la combinación razonable de rutas exposición
- determinando si es probable que los **mismos** individuos estarán **consistentemente** encarando la exposición máxima razonable desde más de una ruta.

Para ello, se identifican las rutas de exposición que tienen el potencial de exponer al mismo individuo o subpoblación por las distintas vías de exposición, asegurándose de que se consideren las exposiciones, a más alta concentración, para los usos actuales y futuros del suelo. Ejemplo de ello serán; el pozo más cercano aguas abajo, el receptor más cercano en la dirección de los vientos dominantes etc. Los riesgos de cáncer y el índice de peligro se calculan para cada ruta por cada tiempo y vía de exposición en particular. Estos valores no necesariamente se aplican en otro tiempo o punto de exposición.

Si dos rutas no afectan a los mismos individuos, los índices de peligro y las estimaciones de riesgo no se deben combinar.

Una vez que se han identificado las combinaciones razonables de rutas, se examinan para determinar si los **mismos individuos estarán expuestos consistentemente a la EMR (Exposición Máxima Razonable).**

Recuérdese que la EMR para cada ruta de exposición se estima utilizando valores conservadores de los parámetros (v.g; se usa el límite superior de confianza percentil 95 para el volumen de agua consumido, el límite superior de confianza percentil 95 del promedio de las concentraciones de tóxico contactadas) Recuérdese también que algunos parámetros de exposición no son predecibles en el espacio y en el tiempo (v.g; la concentración máxima de la pluma de contaminación del acuífero se puede mover y sobrepasar el pozo).

En situaciones reales, donde las concentraciones varían con el tiempo y el espacio, es difícil que un individuo enfrente la EMR en más de una ruta al mismo tiempo. Unos individuos es posible que enfrenten la EMR en una ruta y otros individuos en otra ruta. Sólo si se encuentra justificable la suposición clave de que la EMR de más de una ruta se aplica a la misma subpoblación, entonces los riesgos de las rutas se deben de combinar.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

En algunas situaciones, pudiera resultar apropiado combinar los riesgos de EMR de una ruta con la estimación de riesgos de otra ruta, los cuales han sido derivados a partir de valores más típicos de los parámetros de exposición. En esta forma, las estimaciones resultantes de los riesgos de combinación de rutas pueden relacionarse mejor con las condiciones de EMR.

3.3.4.4.2 Suma de riesgos de cáncer

Se asume que los riesgos de cáncer provenientes de la exposición a varias rutas son aditivos, siempre y cuando sean para los mismos individuos y para los mismos períodos de exposición, o sea que si se tienen exposiciones de corta duración, éstas deberán expresarse como fracciones de exposiciones vitalicias. La sumatoria se representa en la siguiente ecuación:

Riesgo de Cáncer por Exposición Total = Riesgo (ruta 1) + Riesgo (ruta 2) + …

Un modelo más exacto incluye términos para interacciones entre los efectos. Las diferencias entre las dos ecuaciones para riesgos menores de 0.1 son despreciables.

3.3.4.4.3 Suma de índices de peligro

Para estimar el potencial total de efectos no-cancerígenos para varias rutas, se calcula por separado el Índice de Peligro Total para cada período de exposición, ya sean; crónica, subcrónica y de corta duración, utilizando la siguiente ecuación:

$$HI_T = HI_1 + HI_2 + HI_3 + \ldots$$

Donde: HI_T es el Índice por Exposición Total que se calcula para cada período de exposición. HI_1, HI_2, HI_3 son los índices de peligro calculados para cada ruta de exposición para cada período de exposición.

Cuando el HI_T de un individuo o subpoblación excede la unidad se considera que el sitio puede presentar efectos adversos no-cáncer.

El valor de HI_T puede ser mayor de la unidad, aun si todos los HI de cada ruta son menores de 1. Si el HI_T se obtuvo combinando exposiciones a más de una substancia, es conveniente considerar la segregación de las contribuciones de cada substancia.

Las desviaciones son menos importantes si uno o dos compuestos son los responsables de que el Índice de Peligro exceda la unidad. Si HI es mayor de 1, como consecuencia de sumar varios cocientes de peligro de valor similar, es conveniente segregar los compuestos por efecto y mecanismo de acción y derivar HI para cada grupo.

3.3.4.4.3.1 Segregación de Índices de Peligro

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

De la segregación de Índices por efecto y mecanismo de acción puede resultar un trabajo difícil y laborioso, ya que deben de clasificarse todas las substancias de acuerdo a los órganos blanco y a los mecanismos de acción. Si la segregación no se hace correctamente puede resultar en una subestimación del Índice de Peligro.

Si uno de los HI calculados para un tipo de efecto es mayor de 1, entonces es indispensable segregar el cálculo de los HI.

Cuando dos compuestos producen efectos adversos en el mismo órgano, aunque sea por diferentes mecanismos, sus dosis se consideran aditivas.

Si se sabe que una determinada combinación potencia los efectos de un agente, por ejemplo; la toxicidad de una mezcla es 5 veces mayor que la suma de las toxicidades de los dos componentes, entonces lo anterior, se debe de tomar en cuenta para el cálculo del Índice. Si existe información sobre la mezcla, pero no es suficiente para hacer estimaciones cuantitativas, entonces se reporta en el informe de evaluación de riesgos en el apartado de Suposiciones.

La segregación de los HI requiere de la identificación de los efectos principales de cada substancia, incluyendo aquellos que se observan a dosis más altas que los efectos críticos, como en el caso de una substancia que se sabe que puede causar daño en el hígado a una dosis de 100mg/Kg/día y, ser neurotóxico a una dosis de 250 mg/Kg./día). Las categorías de los efectos principales son: neurotoxicidad, toxicidad al desarrollo, toxicidad reproductiva, inmunotoxicidad, y efectos adversos por órgano blanco (hepático, renal, respiratorio, cardiovascular, musculoesquelético hematológico, y dermo-ocular). Se utiliza la DdR como índice de toxicidad para cada categoría de efecto, como una forma de simplificar las operaciones y obtener resultados más conservadores. Se hace esto, independientemente de que se estén analizando efectos adversos a la salud que requieran exposiciones más elevadas que el efecto crítico.

3.3.4.5 Incertidumbres por exposiciones múltiples

Las incertidumbres asociadas con el hecho de sumar los riesgos e índices de peligro de varias substancias son muy importantes en el paso de caracterización de riesgos. La suposición de que los efectos son aditivos, ignora la posibilidad de sinergismos y antagonismos entre las substancias y, también asume que hay similitud en los mecanismos de acción y metabolismo. Desafortunadamente es muy raro que se tenga información cuantitativa sobre interacciones. En ausencia de información, la EPA considera que; tanto los riesgos de cáncer como los índices de peligro son aditivos. Estas suposiciones se hacen para evitar la subestimación, de los riesgos de cáncer y de los índices de peligro en el sitio.

Es conveniente confrontar los resultados que se obtengan calculando los riesgos por exposiciones múltiples, a través del uso de los métodos descritos y con la información científica que se tenga de los tóxicos involucrados. Se debe analizar cómo afectan los resultados de la evaluación, las interacciones conocidas entre los tóxicos, lo que se sabe sobre la especificidad sistémica de cada tóxico, así como las diferencias que tengan en sus mecanismos de acción.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El análisis se vuelve más importante, si el valor estimado del índice total de peligro es mayor o casi igual a uno, cuando cada uno de los índices de peligro para cada substancia en particular es menor que uno y si la incertidumbre pueda influir significativamente en la administración de riesgos en el sitio.

Se debe determinar en base a la información existente, sobre la especificidad de órganos blanco y mecanismos de acción, si el tratamiento de los riesgos de cáncer como aditivos , pudiera dar lugar a una sobre o subestimación del riesgo total.

3.3.4.6 Interpretación de los resultados

En la presentación de los resultados se deben resaltar las conclusiones más importante del estudio.

Esta sección indica cómo se deben presentar e interpretar los resultados de la caracterización de riesgos. Los resultados de la evaluación de riesgos de línea base, no se deben tomar como una cuantificación absoluta del riesgo. La importancia de los riesgos de cáncer y de los índices de peligro estimados, se encuentra al resaltar las fuentes potenciales de riesgo en el sitio, de tal manera que se pueda tratar con ellos, en forma efectiva, en el proceso de restauración ambiental.

3.3.4.6.1 Discusión de los resultados

La evaluación de riesgos debe especificar la magnitud y clase de riesgos que se presentan en el sitio, dentro del contexto de las incertidumbres inherentes al proceso de estimación de los riesgos y, sirve de base para diseñar el programa de administración o manejo de los riesgos. Esta sección describe una forma de discusión y presentación de los resultados.

La discusión deberá resumir los resultados cualitativos y cuantitativos obtenidos, calificándolos en base a las incertidumbres y suposiciones que se introdujeron en su obtención.

La discusión final de los resultados es un componente clave de la caracterización de los riesgos. La discusión proporciona el medio para situar los resultados numéricos en el contexto de lo que se sabe y lo que no se sabe acerca del sitio y, en el contexto de las decisiones que se deben de tomar para seleccionar las alternativas de restauración.

El contenido mínimo de la discusión se presenta en el cuadro que aparece en la siguiente página.

3.3.4.6.2 Resumen de la información de riesgos

Es conveniente presentar la información de riesgos en forma tal, que sea fácil de visualizar la información importante.

A los textos se les puede agregar una tabla que resuma toda la información sobre Riesgos de Cáncer y sobre Índices de Peligro para todas las rutas y usos del suelo, para todas las substancias consideradas en la caracterización cuantitativa de riesgos e incluir gráficas de barras que permitan al lector identificar de inmediato las rutas que más contribuyen a la

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

exposición en el cálculo del Índice Total de Peligro, así como textos para identificar las substancias que determinan los índices de peligro para cada ruta.

Se pueden presentar gráficas que hagan más clara la visualización de los impactos de las diferentes suposiciones e incertidumbres sobre las estimaciones finales de los riesgos de cáncer y los índices de peligro.

Las gráficas que relacionan el nivel de riesgo con las concentraciones de las substancias en los distintos medios con los costos probables de tratamiento, le pueden permitir ponderar con mayor facilidad las alternativas de restauración.

En unos párrafos finales se deben de resumir los resultados más importantes de la caracterización de riesgos.

Contenido de la discusión de resultados

1. Confianza de que se identificaron todos los contaminantes claves y discusión de las concentraciones de los contaminates, comparadas con los rangos de concentraciones normales en el ambiente
2. Una descripción de los distintos tipos de riesgos de cáncer y otros riesgos para la salud presente en el sitio (v.g. hepatotoxicidad, neurotoxicidad etc.), distinguiendo entre aquellos que se sabe se presentan en humanos y los que se suponen pueden presentarse en base a estudios realizados con animales
3. Nivel de confianza en la información cuantitativa sobre toxicidad que se usó en la estimación de riesgos
4. Presentación de la información sobre toxicidad de las substancias que se detectaron en el sitio, pero que no fueron incluidas en la estimación cuantitativa de los riesgos
5. Nivel de confianza en las estimaciones de las exposiciones para las rutas claves y las suposiciones que se hicieron con respecto a los parámetros de exposición
6. La comparación de la magnitud de los Riesgos de Cáncer y de los Índices de Peligro con las metas de restauración: riesgo de cáncer = 10^{-6} y HI = 1
7. Los factores más importantes que determinan los riesgos en el sitio (substancias, combinaciones de substancias, rutas, combinaciones de rutas)
8. Los factores más importantes que disminuyen la confiabilidad de los resultados y el significado de estas incertidumbres
9. Características de la población expuesta y comparación con estudios de salud que se pudieran haber hecho en el sitio
10. Si la población potencialmente expuesta es grande, entonces se deben de enfatizar estos números, para que se le de la prioridad adecuada a la limpieza del sitio. Es conveniente revisar qué tan probable es que una población de tamaño grande esté toda expuesta a la EMR en forma consistente.

3.3.4.7 Uso de estudios humanos hechos en el sitio

Las evaluaciones de riesgos, tal como se han descrito en este capítulo, siguen las directrices establecidas por la USEPA para hacer la evaluación de riesgos de línea base que fundamentarán la toma de decisiones de intervenir un sitio contaminado, de acuerdo a lo

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

estipulado en la ley conocida como “Superfund”. En esta metodología no es indispensable que se hagan estudios de salud en las poblaciones expuestas.

Si se han realizado en el sitio estudios epidemiológicos controlados o algún otro tipo de estudios sobre la salud, que se consideren adecuados, se deberán utilizar para reforzar las conclusiones del estudio de evaluación de riesgos.

Los estudios de salud normalmente sólo proporcionan información cualitativa de los riesgos y, no siempre contienen información significativa para decidir si un sitio debe de intervenirse o no.

Se debe evitar el uso de información anecdótica o de datos provenientes de estudios que se puedan considerar sesgados. Reportes aislados, en unos cuantos individuos, de concentraciones corporales altas de substancias que se sabe existen en el sitio, no son evidencia suficiente que confirme la hipótesis de que estos individuos han recibido exposiciones significativas provenientes del sitio.

Los reportes aislados de enfermedades o síntomas en unos cuantos individuos viviendo cerca del sitio, no se pueden tomar como confirmación de la hipótesis de que las causas de los efectos sobre la salud de esos individuos son la exposición a contaminantes provenientes del sitio. Sin embargo los estudios en la población pueden ser útiles para reforzar los resultados de la evaluación de riesgos. Por ejemplo; si la evaluación de la exposición indica que la población recibe una dosis considerable de plomo prediciendo que se deben presentar niveles elevados de plomo sanguíneo y el estudio de muestreo biológico encontró que esos niveles elevados se presentaron sólo en los que estuvieron expuestos al agua contaminada del acuífero subterráneo del sitio. Esto proporciona información importante de cuáles exposiciones fueron efectivas y cuáles pueden ser las rutas significativas de exposición.

Debido a la magnitud y número de incertidumbres que se asocian a los estudios de salud y a la evaluación de riesgos, sólo es posible hacer comparaciones cualitativas entre los dos estudios.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

4 RESTAURACIÓN AMBIENTAL

4.1 Proyecto de remediación

La limpieza de un sitio que contenga substancias tóxicas sólo se justifica si la presencia de los tóxicos representa un peligro para la salud de la población. Esto quiere decir que antes de proceder a eliminar o controlar las substancias tóxicas en el ambiente, se deben evaluar los riesgos que representan, si no se les controla en forma adecuada..

La restauración ambiental de un sitio contaminado, o sea la reducción de las exposiciones a niveles tolerables, puede ser un trabajo muy grande y de alto costo cuya magnitud depende fundamentalmente de lo siguiente:

- características del sitio
- aspectos legales y normativos
- disponibilidad de tecnologías adecuadas para tratar el problema.

Así pues, el proceso de limpiar un sitio debe estar perfectamente justificado y diseñado con todo cuidado.

Antes de iniciar trabajos de restauración ambiental es necesario hacer un proyecto que defina el proceso que se va a seguir y, estime la relación costo/beneficio de la restauración.

La elaboración del proyecto normalmente incluye trabajo de campo en el sitio contaminado, trabajo de laboratorio y trabajo de gabinete.

El trabajo de campo consiste fundamentalmente en la caracterización del escenario de exposición, incluyendo el muestreo del sitio y la identificación de las poblaciones en peligro potencial.

El trabajo de laboratorio consiste en el análisis de las muestras ambientales y la realización de las pruebas de tratabilidad de las muestras de medios contaminados que se desean limpiar. Las pruebas de tratabilidad tienen por objeto, determinar experimentalmente si la tecnología que se seleccione para restaurar el sitio es realmente la adecuada para hacer el trabajo. En algunas ocasiones, cuando no se encuentra publicada la información toxicológica necesaria y no se pueden modelar estimaciones confiables, se tienen que hacer estudios toxicológicos de laboratorio.

El trabajo de gabinete consiste fundamentalmente en la obtención y procesamiento de información, selección y uso de modelos matemáticos para predecir transporte y propiedades de las substancias tóxicas. Con el trabajo de campo y de laboratorio, más la información obtenida se hace la evaluación de riesgos y se toma la decisión de intervenir o no el sitio.

En caso de que se decida la intervención, se establecen las metas de reducción de los niveles de exposición, se analizan las alternativas tecnológicas disponibles para destruir o confinar las substancias peligrosas, seleccionando la más adecuada. Se termina el proyecto de remediación con la elaboración del plan de operaciones en el que se establecen los trabajos a

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

realizar desde la preparación del terreno, la limpieza de los medios que contienen las substancias tóxicas, hasta el cierre del sitio.

La elaboración de los proyectos de restauración es un trabajo multidisciplinario que requiere de aportaciones de científicos, ingenieros y técnicos de muy diversas disciplinas (toxicólogos, químicos, médicos, meteorólogos, geólogos, hidrólogos, etc.) con experiencia amplia en el campo de evaluación de riesgos y en restauración ambiental.

4.1.1 Estructura del proyecto

El proyecto de restauración consta de los siguientes estudios:

- Visión global del proyecto
- Investigación para la restauración
- Estudio de viabilidad

4.1.1.1 Visión global del proyecto

El propósito de este estudio es definir, con la información disponible antes de hacer trabajo de campo, la extensión y tipo, de investigación y análisis que se deben de realizar en un sitio dado.

El estudio de Visión Global del proyecto consta de lo siguiente:

- una estimación preliminar de la complejidad del proyecto.
- el desarrollo de un modelo conceptual del sitio en el que se consideren en forma cualitativa las fuentes de contaminación, las rutas de exposición y los receptores potenciales
- la identificación de las decisiones que se espera tomar con el propósito de:
  1) definir tipo y cantidad de información que se va a necesitar
  2) diseñar los estudios que se van a hacer para recolectar y/o generar esa información
- la identificación de las actividades de modelaje-sitio-específicas que se van a hacer para asegurarse que la obtención de información esté siempre dirigida a apoyar las actividades de evaluación de riesgos y que se seleccionen modelos congruentes con los datos que sean factibles de obtener o generar.

4.1.1.2 Investigación para la restauración (IR)

Se define como IR, al trabajo que se necesita para producir y/o captar la información relevante para el estudio de caracterización de riesgos.

La investigación para la restauración, no es un proyecto de investigación científica que pretenda la descripción a detalle de la fisiografía del sitio y la sociología de las poblaciones humanas relacionadas con él. Sólo se pretende la obtención de la información indispensable para determinar si el sitio debe ser intervenido y en su caso, cómo debe hacerse esa intervención. Si el problema es grave se tiene que intervenir a corto plazo y no hay tiempo que perder captando detalles sobre el sitio que no son relevantes para su restauración.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

En este estudio, que se le conoce también como “caracterización del sitio”, se lleva a cabo la recolección y análisis de muestras de campo de acuerdo al plan desarrollado en el estudio de visión global. Se procesa la información recolectada y generada hasta llegar a la conclusión del ERLB (evaluación de riesgos de línea base) y la realización de las pruebas de tratabilidad.

Los resultados de la ERLB se usan para:

- documentar la magnitud del riesgo en el sitio y las causas primarias de ese riesgo
- ayudar a determinar si es necesario intervenir en el sitio
- determinar los niveles residuales de tóxicos que se pueden quedar en los sitios
- establecer y modificar las metas preliminares de restauración
- establecer las metas definitivas de restauración
- fundamentar la decisión de “no-acción”, cuando sea lo apropiado
- establecer bases de comparación en la evaluación de las distintas alternativas de restauración
- determinar los riesgos esperados durante el proceso de restauración.

La ERLB es la parte del proyecto de restauración que fundamenta la decisión de intervenir o no un sitio.

4.1.1.3 Estudio de viabilidad (EV)

En el EV se determina la factibilidad técnica y económica de alcanzar el objetivo de la restauración ambiental, o sea eliminar, reducir o controlar la presencia de los tóxicos en el sitio de estudio, para que no presenten riesgos mayores para la salud pública que los socialmente aceptables.

El Estudio de Viabilidad consta de las siguientes partes:

- Establecimiento de los objetivos de la restauración
- Desarrollo de alternativas de restauración
- Selección preliminar de las alternativas tecnológicas
- Análisis detallado de las alternativas seleccionadas.

4.1.2 Información generada por el proyecto de restauración.

Por razones didácticas se presenta la investigación de restauración y el estudio de viabilidad como si fueran pasos secuenciales, sin embargo en la práctica son procesos interactivos y concurrentes. La información obtenida en los IR influye sobre la selección de las alternativas tecnológicas a considerar en los EV. Por otro lado, la selección del conjunto de tecnologías a evaluar en los EV, influye fuertemente en la cantidad y tipo de información que se tiene que generar en la IR.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La información que se produce en el proyecto de restauración es la siguiente:

- Evaluación técnica de los peligros que representa un sitio con desechos peligrosos sin control
- caracterización de las posibles rutas de exposición
- evaluación de las alternativas de restauración (incluyendo las ventajas y desventajas relativas)
- selección de la alternativa más adecuada, incluyendo el análisis de los criterios de selección.

4.2 Estudios de viabilidad

Los **E**studios de **V**iabilidad (EV) proporcionan una evaluación de las alternativas de restauración, incluyendo el análisis de las debilidades y ventajas de cada una de las tecnologías, así como los criterios utilizados para seleccionar una alternativa sobre las demás.

La integración de la lista de tecnologías posibles de utilizarse en la restauración del sitio se hace en forma concurrente con la investigación de restauración. El desarrollo y análisis de alternativas así como, el establecimiento de las metas de restauración se afinan y modifican a medida que se progresa en la investigación de restauración, y la información generada va estando disponible.

4.2.1 Establecimiento de los objetivos de protección

El primer paso en la elaboración de los EV es definir los objetivos de las acciones de restauración. Éstas se deben enfocar a los contaminantes y medios de interés en el sitio, a las rutas potenciales de exposición identificadas y a las metas preliminares de restauración que se establecieron.

4.2.1.1 Definición de las metas preliminares de restauración (MPR)

Las MPR proporcionan los objetivos de largo plazo en el análisis y selección de alternativas de restauración. Estas metas deben de diseñarse para:

- cumplir con los **R**equerimientos **A**plicables, **R**elevantes y **A**propiados (RARA). Los RARA son las concentraciones límites establecidas por las diferentes reglamentaciones ambientales, por ejemplo; los niveles máximos permisibles en agua potable, etc. Pueden ser diferentes de un país a otro.
- disminuir los riesgos residuales a niveles que satisfagan los requerimientos de protección de la salud pública

Las MPR se deben de establecer desde el inicio del trabajo, antes de hacer el proyecto de restauración (IR/EV), para que desde un principio se puedan visualizar las alternativas tecnológicas e iniciar el diseño del proceso de limpieza ambiental. Las MPR se modifican o

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

ratifican de acuerdo a los resultados que se obtengan en la ERLB y se convierten en Metas de Restauración.

Las MPR tóxico-específicas son las concentraciones residuales de cada substancia para cada combinación de medio y uso del suelo. Hay dos fuentes de este tipo de MPR:

- las concentraciones basadas en los RARA
- y las concentraciones basadas en evaluación de riesgos calculados a partir de los índices de toxicidad y los niveles de exposición.

Las metas basadas en evaluación de riesgos están diseñadas para lograr la protección de la salud pública y, no necesariamente cumplirán con las directrices para la protección ecológica.

4.2.1.1.1 Aspectos legales

Los estándares que se deben de llenar en el proceso de restauración están especificados en la legislación ambiental y sus reglamentos. En el caso de México se deberán llenar las normas de calidad ambiental que establezcan la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, la Secretaría de Salud y la Secretaría del Trabajo.

En el caso de Estados Unidos a la ley que establece estos principios se le denomina CERCLA. Su reglamento está publicado en el Código Federal de Reglamentos (Volumen 40, parte 300) y se conoce como Plan Nacional de Contingencias (NPC, por sus siglas en inglés). La sección 300.450 del NCP contiene las disposiciones que especifican cómo establecer los niveles de contaminación a que se debe llegar en el proceso de limpieza ambiental.

El NCP establece nueve criterios de evaluación para seleccionar una tecnología de restauración, que incluyen dos criterios de tolerancia que definen los niveles tolerables de tóxicos que pueden quedar en el sitio después del proceso de limpieza (criterios 1 y 2), dos criterios de modificación que no están basados en evaluación de riesgos (criterios 8 y 9) y cinco criterios de balance (criterios 3-5).

Tabla 4.2.1.A Criterios de Evaluación del NCP

1. Protección de la salud y el ambiente
2. Cumplimiento de los RARA (al menos que se puedan excusar)
3. Definitividad y efectividad en el largo plazo
4. Reducción de toxicidad, movilidad o volumen durante y al final del tratamiento
5. Efectividad en el corto plazo
6. Factibilidad
7. Costo
8. Aceptación por autoridades locales
9. Aceptación por la comunidad.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

También establece que se deben favorecer las alternativas tecnológicas que reducen en forma significativa y definitiva el volumen, la toxicidad y la movilidad de los tóxicos ambientales y que la tecnología de restauración que se seleccione debe asegurar, al máximo posible, que se obtendrá una solución definitiva al problema con una relación costo/beneficio aceptable .

La EPA ha publicado varias directrices que se deben seguir para planear y evaluar las distintas etapas del proceso de restauración en un sitio "Superfund".

4.2.1.1.2 Desarrollo inicial de las MPR

Las MPR se deben desarrollar en el estudio de visión global del proyecto de restauración o al inicio del IR/EV. Esta determinación temprana de las MPR facilita el desarrollo de alternativas tecnológicas y permite que el esfuerzo se centre en la selección del remedio más efectivo.

Para desarrollar las MPR se requiere la siguiente información sobre el sitio:

- medios potencialmente importantes,
- tóxicos potencialmente importantes y
- usos probables del suelo en el futuro

Esta información se genera en el estudio de visión global. Una vez que se cuenta con esa información se procede a localizar los RARA. Si no se cuenta con los RARA entonces las MPR se basan en una evaluación preliminar de los riesgos. Se seleccionan los índices de toxicidad de las substancias potencialmente importantes y se suponen valores plausibles para las exposiciones).

Vale la pena recordar que, las MPR establecidas en esta última forma son sólo directrices iniciales, no establecen que el proceso de limpieza deberá alcanzar esas metas. Sólo se podrán convertir en metas de restauración después de que se analicen en el IR/EV.

4.2.1.1.3 Cálculo de metas preliminares de restauración

Se utilizan las mismas ecuaciones con las que se calculan los riesgos, pero en este caso se fija el nivel de riesgo y se calcula la concentración del tóxico que produce ese riesgo predeterminado. Para cancerígenos se fija como meta que el incremento en la probabilidad de que se produzca un cáncer no sea mayor a 1×10^{-6}. Para no-cancerígenos se fija el valor del Índice de Peligro en 1. Lo único que se tiene que hacer es despejar la concentración y el valor que se obtiene es la Meta Preliminar de Restauración para esa substancia en ese medio.

Las ecuaciones, la definición de los parámetros y los valores que normalmente se asignan a esos parámetros se presentan en las tres tablas que aparecen en las tres páginas que siguen.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Tabla 4.2.1.B- Ecuaciones para el Cálculo de las MPR

Ecuaciones para calcular MPR

Agua potable. Uso Residencial

Cancerígenos: $\mathbf{MPR} = 365\mathbf{MTR}c / \mathbf{FD}(\mathbf{IKS}_i + \mathbf{AS}_o) = 1.7 \times 10^{-4} / (2\mathbf{S}_o + 7.5\mathbf{S}_i)$

No cancerígenos: $\mathbf{MPR} = 365\mathbf{MTR}nc / \mathbf{FD}(\mathbf{IKR}_i^{-1} + \mathbf{AR}_o^{-1}) = 73 / (7.5\ \mathbf{R}_i^{-1} + 2\mathbf{R}_o^{-1})$

Suelo. Uso Residencial

Cancerígenos: $\mathbf{MPR} = 365\mathbf{TR}c / (\mathbf{A}_c\mathbf{FS}_o \times 10^{-6)} = 0.64/\mathbf{S}_o$

No cancerígenos: $\mathbf{MPR} = 365\mathbf{TR}nc\mathbf{R}_o \times 10^{-6} / \mathbf{FA}_c = 2.7\ \mathbf{R}_o \times 10^{5}$

Suelo. Uso Comercial / Industrial

Cancerígenos: $\mathbf{MPR} = 365\mathbf{MTR}c / \mathbf{FD}\ (\ (\mathbf{AS}_o \times 10^{-6} + \mathbf{IS}_i(\mathbf{K}^{-1} + \mathbf{K}_p^{-1})\ )$

$\mathbf{MPR} = 2.9 \times 10^{-4} / (5\ \mathbf{S}_o \times 10^{-6} + \mathbf{Si}\ (20/\mathbf{K} + 4.3 \times 10^{-9}))$

No cancerígenos $\mathbf{MPR} = 365\mathbf{MTR}nc / \mathbf{FD}\ (\mathbf{A} / \mathbf{R}_o \times 10^{-6} + (\mathbf{I} / \mathbf{R}_i) \times (\mathbf{K}^{-1} + \mathbf{K}_p^{-1})$

$\mathbf{MPR} = 102 / ((5 \times 10^{-9} / \mathbf{R}_o) + \mathbf{Ri\text{-}1}\ (20\mathbf{K}^{-1} + 4.3 \times 10^{-9}))$

Si las MPR para suelo contaminado es mayor que C_{sat}, entonces se usa C_{sat} como MPR.

$$\mathbf{MPR} = \mathbf{C}_{sat} = \mathbf{sHP_a} + \mathbf{sH}_f$$

Factor de Volatilización Suelo/Aire $\mathbf{K} = 3.14\mathbf{zD}^{1/2}\ \mathbf{LVh}\ /\ (2\mathbf{ED}_{ef}\mathbf{P}_a \times 10^{-9})\underline{\mathrm{Sup}}$

Donde: $\mathbf{z} = \mathbf{ED}_{ef} / (\mathbf{E} + \mathbf{P}_i^{-1}\ (1 - \mathbf{E})\ \mathbf{p}_e)$

Factor de Emisión de Partículas: $\mathbf{K}_p = \mathbf{VhL} \times \mathbf{10}^{9} / (1 - \mathbf{c}_v)(\mathbf{V}_m/\mathrm{Vl})\mathbf{S}_{up}\mathbf{F(x)}^{t}$

Tasa Ingesta suelo corregida por la edad: $\mathbf{Ac} = (\mathbf{A}_{-6}\ \mathbf{D}_{-6}\ /\mathbf{M}_{-6}) + (\mathbf{A}_{+6}\ \mathbf{B}_{+6}\ /\ \mathbf{M}_{+6})$

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Tabla 4.2.1.C.- Parámetros para el Cálculo de las MPR.

Parámetros

Símbolo	Unidades	Valor Usual	Definición
MPR	mg/L	*	Meta Preliminar de Restauración, igual a C
C	mg/L		Concentración del tóxico
Rc	**	10^{-6}	Meta de Riesgo. Exposición a cancerígenos
Rnc	**	1	Meta de Riesgo. Exp. a no-cancerígenos
M_{+6}	Kg.	70	Masa corporal. Adultos
M_{-6}		15	Masa corporal. Menores
T	año	70	Tiempo de exposición (vitalicia)
F	días/año	350	Frecuencia de exposición. Residencial
		250	Frec. de exp. Comercial/Industrial
D	año	30	Duración de la exposición. Residencial
		25	Dur. de la exp. Comercial/Industrial
D_{-6}		6	Dur. de la exp. Suelo. Menores de 6 años
D_{+6}		24	Duración de la exposición. Suelo. Mayores
S_o	Kg. x día/mg	*	Factor de pendiente. Vía oral
S_i	Kg. x día/mg	*	Factor de pendiente. Vía respiratoria
R_o	mg/Kg./día	*	Dosis de Referencia. Vía oral
R_i	mg/Kg./día	*	Dosis de Referencia. Vía respiratoria
I	m^3/día	15	Tasa de inhalación. Residencial (interiores)
		20	Tasa de inhalación en el trabajo
A	L/día	2	Tasa de ingesta de agua
A_{-6}	mg/día	200	T. de ingesta de suelo. Menores de 6 años
A_{+6}	mg/día	100	T. de ingesta de suelo. Mayores de 6 años
	mg/día	50	T. de ingesta de suelo. Comercial/Industrial
A_c	mg-año/Kg-día	114	T. de ingesta de suelo. Corregida por edad
K	** L/m^3	0.5	Factor de volatilización en agua.
	m^3 /Kg.	*	Factor de volatilización. Suelo/aire
K_p	m^3 /Kg.	$4.63x10^9$	Factor de emisión de partículas

* Propiedad de la substancia. ** Adimensional

Tabla 4.2.1.D.-Definición de Variables para el Cálculo de las MPR.

© 2001 The Univ

Definición de variables. Exposición a suelo.

Símbolo	Unidades	Valor Usual	Definición
$\mathbf{C}_{sat}$	mg/Kg.	***	Concentración de saturación en suelo
$\mathbf{C}_{org}$	Fracción	***	Contenido de C orgánico en el suelo
$\mathbf{P}_a$	L/Kg.	*	Coeficiente de partición suelo/agua
$\mathbf{P}_i$	g/cm3	41(Hr/Pa)	Coeficiente de partición suelo/aire
$\mathbf{P}_o$	L/Kg.	*	Coeficiente de partición del C orgánico
s	mg/L	*	Solubilidad en agua
H	L/Kg.	***	Humedad del suelo
$\mathbf{H}_f$	Fracción	***	Humedad del suelo
L	m	45	Longitud del área contaminada
V	m/s	2.25	Veloc. del viento en zona de mezclado
h	m	2	Altura de difusión
$\mathbf{S}_{up}$	m^2	2025	Area de contaminación
$\mathbf{D}_{ef}$	cm^2/s	$d \times E^{0.53}$	Difusividad Efectiva
d	cm^2/s	*	Difusividad molecular
E	**	***	Porosidad del suelo
$\mathbf{H}_r$	atm-m^2/mol	*	Constante de la ley de Henry
$\mathbf{p}_e$	g/cm^3	2.65	Densidad verdadera del suelo
$\mathbf{T}_e$	s	7.9×10^8	Intervalo de exposición
	g x m^2/h	0.036	Fracción respirable
$\mathbf{c}_v$	**	0	Fracción con cobertura vegetal
$\mathbf{V}_m$	m/s	4.5	Velocidad media anual del viento
$\mathbf{V}_l$	m/s	12.8	Velocidad límite a 10m
F(x)	**	0.0497	Función que depende de (Vm/Vl)

* Propiedad de la substancia

** Adimensional

*** Propiedad del sitio

4.2.1.2 Modificación de MPR. Niveles de restauración

Como se mencionó anteriormente, las MPR se van modificando a medida de que se va contando con la información generada en el IR/EV. Cuando se tienen los resultados de la ERLB se comparan los resultados obtenidos (identificación de los medios y substancias relevantes así como los usos actuales y futuros del suelo) con las suposiciones que se hicieron en el estudio de visión global. Es probable que se tengan que agregar o eliminar substancias a la lista preliminar y que también se tengan que establecer metas diferentes.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Las metas basadas en la ERLB deben satisfacer los dos criterios de tolerancia y se pueden modificar en la fase final de selección del remedio de acuerdo a los demás criterios y también en base a los factores que resulten de considerar las incertidumbres, las exposiciones y la factibilidad técnica.

Las metas de restauración finales se establecen hasta que se ha llegado a la fase final de selección de la tecnología más apropiada y se les cambia el nombre llamándoseles ahora "niveles de restauración", para enfatizar el hecho de que son requisitos obligatorios y no sólo metas deseables

4.2.2 Desarrollo y selección preliminar de alternativas

Una vez que se han establecido los objetivos de la restauración, se procede a diseñar las acciones generales de respuesta. Se incluyen los tratamientos, confinamientos, excavaciones, bombeo y otras acciones que se deben cumplir para satisfacer los objetivos establecidos.

El proceso de desarrollar las alternativas de restauración del sitio consta de dos acciones importantes:

- la determinación de los volúmenes o áreas de desechos o medios ambientales que se tienen que tratar utilizando la información sobre la naturaleza y extensión de la contaminación, las RARA, los estudios de transporte y destino de los contaminantes y la información sobre toxicidad.
- la comparación de las tecnologías disponibles para identificar aquéllas que sea más efectivas para tratar los contaminantes y medios de interés en el sitio. Existe la base de datos VISITT que se puede consultar directamente en Internet.

Con esta información se integra la lista de alternativas de restauración para tratar el total del sitio o para realizar unidades de operación específicas.

4.2.2.1 Unidades de operación

La restauración se puede fraccionar en **U**nidades de **O**peración (UO). Las UO son acciones discretas que en su conjunto están dirigidas a obtener al final una restauración total de todo el sitio. Pueden ser acciones dirigidas a una porción geográfica o a un problema específico del sitio (v.g. tanque y tambos, acuíferos contaminados) o al sitio completo. Son actividades intermedias (v.g.; bombeo y tratamientos de aguas subterráneas contaminadas para retardar el movimiento de la pluma de contaminación) y que lógicamente tienen que ser seguidas de otras acciones o UO para atacar el problema total.

Una respuesta inmediata puede ser; hacer una UO para atacar un problema apremiante que se agravaría si no se tratara, o realizar una acción coyuntural limitada para reducir significativamente, en forma rápida, un riesgo importante.

La conveniencia de dividir o no dividir, las actividades de restauración en UO, está determinada por las interelaciones que existen entre los problemas del sitio y por la necesidad o deseo de iniciar actividades a corto plazo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Si los problemas están muy interelacionados es posible que sea más conveniente atacar el problema en forma integral.

Si los problemas se pueden fraccionar, entonces será más conveniente diseñar un conjunto de acciones secuenciales dirigidas a UO, con lo cual es posible que se logre una disminución más rápida del nivel de riesgo.

4.2.2.2 Análisis detallado de alternativas

En caso de que se genere un número muy grande de alternativas tecnológicas, para hacer operable el estudio de viabilidad, es posible que sea conveniente reducir el número de las alternativas que se analizarán en detalle. Este proceso de eliminación se puede hacer siempre y cuando se asegure que el análisis se lleve a cabo con las alternativas más prometedoras.

La evaluación de la protección global que proporciona una alternativa se debe enfocar en cómo se logra la protección, en qué tiempo y cómo reduce los riesgos en el sitio.

En este paso se pondera cada una de las alternativas utilizando los criterios de evaluación que especifiquen las reglamentaciones existentes. Los resultados se presentan en forma tal, que sea posible hacer comparaciones entre las alternativas y se puedan identificar los ajustes que se tienen que hacer en el proceso de selección.

En los Estados Unidos se usan los criterios establecidos en el NCP. En la evaluación se toman en cuenta las normas y consideraciones técnicas que la experiencia ha demostrado que son importantes en la selección de alternativas de restauración.

Los criterios que sirven para la conducción del análisis detallado de alternativas del Estudio de Viabilidad son la base para la selección de los procedimientos de restauración.

Algunos de los criterios de selección están basados en el estudio de caracterización de riesgos así que, esta información es fundamental para seleccionar los procedimientos de restauración.

El criterio de permanencia y efectividad a largo plazo es la evaluación de las actividades de restauración en base al riesgo residual en el sitio, después de que se han cumplido los objetivos de la acción de restauración. Se debe evaluar la efectividad de los controles que se tendrán que aplicar para manejar el riesgo que representan los residuos del tratamiento y/o desechos no tratados, que se vayan a dejar en el sitio, así como los volúmenes y naturaleza de estos materiales. Se deben considerar los impactos sobre la salud y el ambiente si el tratamiento falla.

La evaluación de la efectividad a corto plazo se enfoca en los impactos de la alternativa, durante la fase de operación, mientras se cumplen los objetivos de las acciones de restauración. se juzgan las alternativas con respecto a los efectos potenciales sobre la salud humana y el ambiente que puedan ser concecuencia de las acciones de implementación durante la restauración y al tiempo que se tarda en lograr la protección.

4.3 Tecnologias de restauracion ambiental

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

En la década de los 80 y de los 90 se trabajó intensamente en el desarrollo de tecnologías para eliminar los tóxicos ambientales.

Inicialmente, la limpieza de un sitio consistía en el traslado del material contaminado a otro lugar donde era confinado o se incineraba. Estas alternativas normalmente encuentron gran oposición en las comunidades cercanas a las instalaciones de recepción y cremación.

El desarrollo tecnológico en destoxificación ambiental se ha orientado hacia el diseño de procesos físicos, químicos, biológicos o combinaciones de ellos que tengan las siguientes características:

a) que transformen los tóxicos ambientales en substancias menos peligrosas para el hombre ya sea porqué :
    - los destruya completamente
    - disminuya su toxicidad
    - disminuya su concentración en los medios que entran en contacto con las poblaciones humanas
    - los modifique químicamente y el cambio introducido disminuya la probabilidad de que se produzcan exposiciones efectivas
b) los riesgos para la salud durante el proceso de limpieza deben de ser tolerables
c) los riesgos remanentes, después de terminada la restauración, deben ser iguales o menores que los establecidos en las metas de restauración.
d) que la transformación se lleve a cabo en el sitio mismo donde se encuentran los tóxicos, de ser posible sin tener que desplazar, dentro del sitio, el medio contaminado (técnicas *in situ).*
e) que logren la disminución o eliminación del peligro para la salud en tiempos y costos razonables.

En el caso de los sitios “Superfund” de los Estados Unidos, la EPA determina que tecnología se debe de utilizar en la limpieza del sitio. Normalmente recomienda, si es posible, el uso de tecnología de desarrollo reciente. Política que tiene el propósito de que al mismo tiempo que se trabaja en la eliminación de riesgos para la salud y en la conservación de la calidad del medio ambiente, se impulse el desarrollo científico y la innovación tecnológica en el área de remediación ambiental.

Las tecnologías de restauración se clasifican en dos grandes grupos:

1. Técnicas tradicionales o establecidas y
2. Técnicas innovadoras.

Las primeras son técnicas desarrolladas antes de 1980 y que se han probado que son efectivas y de uso común a escala de campo. Como ejemplo de estas técnicas están la inmovilización por vitrificación y cementación en instalaciones de confinamiento y la incineración de medios contaminados en hornos de cremación de residuos tóxicos.

Las segundas son técnicas propuestas más recientemente y que se pueden encontrar en diferentes etapas de desarrollo:

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- etapa de concepto (idea, investigación, pruebas de laboratorio)
- tecnología incipiente (prueba a escala reducida)
- tecnología utilizable (estudio piloto, estudio de demostración, uso limitado a gran escala).

Existen varias bases de datos que se van actualizando periódicamente y están accesibles vía Internet. En tales bases se proporciona información técnico-económica y sobre el estado de desarrollo de las diferentes técnicas de tratamiento de tóxicos ambientales, así como de las empresas propietarias de ellas. Por ejemplo; existe la base denominada VISITT, la base Bfss, la Enciclopedia de Técnicas Innovadoras de Restauración, etc., las cuales se pueden accesar desde las páginas electrónicas de la EPA, del Departamento de Energía y del Departamento de Defensa del Gobierno de Estados Unidos.

En la actualidad se cuenta con información de más de 100 tecnologías diferentes que se basan principalmente en los siguientes procesos:

4.3.1 Métodos biológicos

4.3.1.1 Biorestauración

También se le conoce con el nombre de "medidas biocorrectivas". Consisten en el uso de microorganismos para degradar las substancias tóxicas, de ser posible, convirtiéndolas en bióxido de carbono, agua y sales minerales inocuas.

Los microorganismos normalmente utilizan los compuestos orgánicos tóxicos como fuente de carbono, aunque existen procesos basados en la degradación sintrófica de los tóxicos.

En la degradación sintrófica, también denominada cometabolismo, el microorganismo no utiliza el compuesto tóxico ni como fuente de carbono ni como fuente de energía, sino que obtiene ambos a partir de otras substancias. En el caso del sintrofismo, la degradación no reporta un beneficio aparente para el microorganismo y es el producto de reacciones catalizadas por enzimas que tienen otros usos en el organismo. Por ejemplo; la degradación de TCE por metanotrofos y por *Nitrosomonas europaea*, es la oxidación de este tóxico por las monooxigenasas que los organismos usan para metabolizar sus substratos naturales, metano y amoniaco respectivamente.

La biorestauración se usa para la eliminación de tóxicos en suelo y agua.

La biorestauración *in situ* consiste, en modificar las condiciones físicoquímicas en la zona contaminada para que se incremente, tanto el número de microorganismos capaces de degradar los tóxicos presentes, como su tasa metabólica. El propósito es incrementar la velocidad de degradación de los tóxicos.

Las ventajas principales de estos procesos son:

- no producen polvos tóxicos durante el proceso de limpieza, porque no se tiene que excavar y desplazar el suelo contaminado
- se pueden tratar grandes cantidades de tierra a la vez.

La desventaja principal es:

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

- que el tratamiento *in situ* es más lento que los procesos *ex situ* y pueden durar varios años en el caso de compuestos que se biodegradan muy lentamente.
- no se pueden aplicar en suelos muy estratificados y arcillosos debido a que estas condiciones no favorecen la buena distribución del aire en toda la zona contaminada.

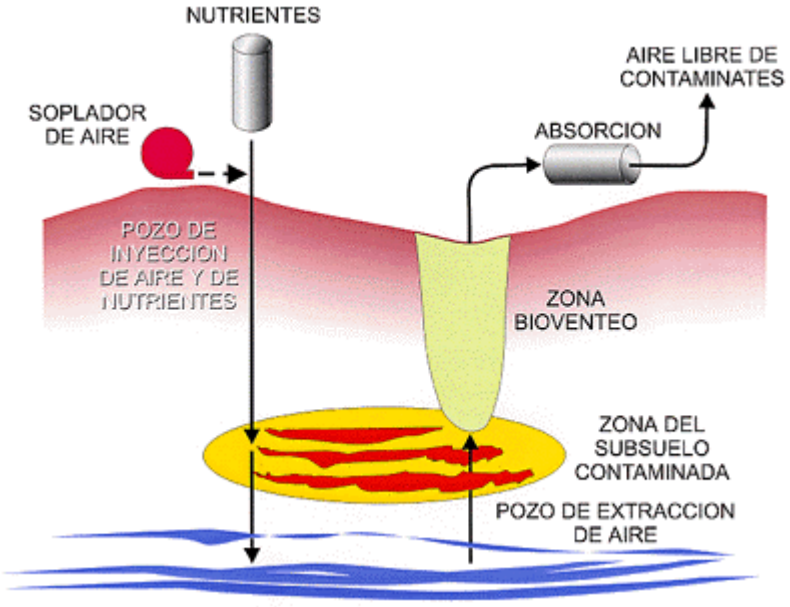


Figura 4.3.1.A Proceso de Bioremediación *in situ* de agua y suelo.

Los métodos *in situ* pueden ser aerobios o anaerobios. En el primer caso las diferencias entre las técnicas estriban en la forma de suministrar el oxígeno necesario para el crecimiento celular. Se perforan pozos de inyección hasta la zona contaminada por donde se introduce aire o soluciones de peróxido de hidrógeno, así como los elementos nutritivos que necesitan los organismos, principalmente fuentes de nitrógeno y fósforo.

La cantidad, ubicación y profundidad de los pozos depende de las características del suelo y subsuelo.

Normalmente se utiliza agua oxigenada cuando el acuífero ya se encuentra contaminado y es necesario tratarlo. Cuando la zona contaminada es muy somera, se pueden usar aspersores para aplicar el agua oxigenada.

4.3.1.1.1 Biorestauración *in situ* de acuíferos Subterráneos

Los métodos *in situ* consisten en acelerar el crecimiento del los microorganismos biodegradadores presentes en la zona de humedad saturada y normalmente se trata de eliminar los tóxicos presentes en las dos fases del acuífero.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Se perfora un pozo hasta el acuífero, se extrae agua contaminada, se le agregan nutrimentos y se satura con oxígeno. La solución se inyecta al acuífero donde los microorganismos degradan los tóxicos. El principal problema que se tiene con esta técnica es que el agua inyectada puede no distribuirse adecuadamente en toda la zona contaminada.

Otra forma de biodegradar compuestos orgánicos volátiles presentes en los acuíferos subterráneos, consiste en inyectar aire por abajo del nivel friático y acarrear los tóxicos volátiles, los cuales son degradados por los microorganismos del suelo a medida que la corriente de aire que transporta los tóxicos pasa a través del lecho de suelo. A este proceso se le conoce como “bioventeo”.

4.3.1.1.2 Biorestauración *ex situ* de agua subterránea

Generalmente la biorestauración de agua subterránea contaminada, consiste en extraer por bombeo el agua, tratarla en bioreactores en la superficie y volverla a inyectar al acuífero una vez que se le ha eliminado el tóxico.

4.3.1.1.3 Biorestauración *ex situ* de suelo

Las técnicas *ex situ* se utilizan para tratar contaminaciones que no se pueden eliminar eficientemente *in situ*, ya sea porque la substancia no se puede degradar o por las características del suelo contaminado, o bien porque el tratamiento se deba terminar en un lapso relativamente corto.

Se extrae el suelo contaminado y se le somete a tratamientos que pueden ser en fase semisólida o en fase sólida. En el primer caso se prepara un lodo fluido agregando agua, nutrimentos y cultivos densos de microorganismos. El tratamiento se hace en bioreactores aireados y agitados en condiciones controladas.

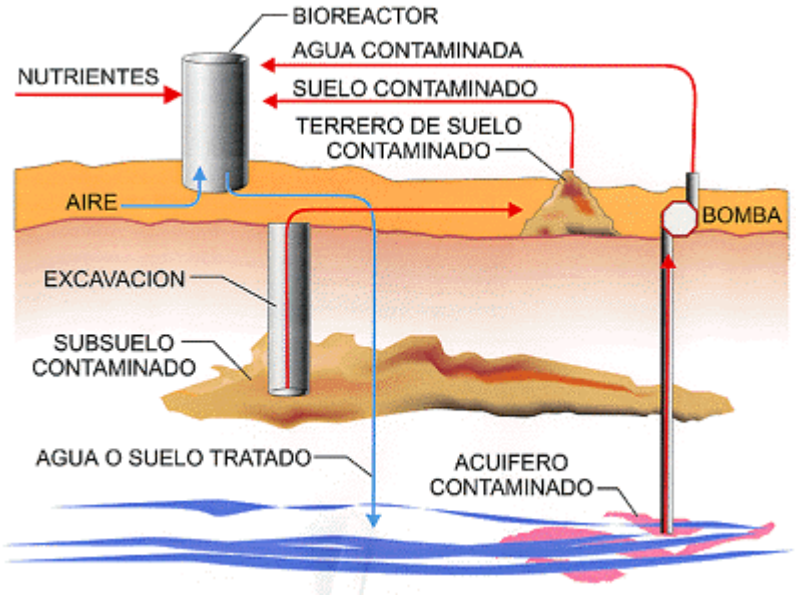


Figura 4.3.1.B Biorestauración ex situ de agua y suelo.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El tratamiento en fase sólida consiste fundamentalmente en apilar el suelo contaminado en lugares acondicionados para este propósito. Lo que se trata de evitar es que los tóxicos puedan emigrar del sitio de tratamiento, ya sea a la

atmósfera (vapores o polvos) o al suelo (por filtraciones). Los terreros se humedecen regándolos con agua con nutrimentos, se inoculan con cultivos de microorganismos y se ventean agregándoles aire en la base del montículo de suelo contaminado. En algunas técnicas, para facilitar la aireación se agregan pajas u otros materiales orgánicos que le dé una consistencia menos compacta al terrero en tratamiento.

4.3.1.2 Fitorestauración

Consiste en utilizar cultivos de plantas para eliminar tóxicos presentes en agua y suelo. Se han utilizado para eliminar iones metálicos, plaguicidas, disolventes, explosivos, derrames de hidrocarburos (tanto crudos como compuestos poliaromáticos) y lixiviados de basureros tóxicos.

Las plantas pueden fijar los tóxicos o bien pueden metabolizarlos tal como lo hacen los microorganismos en los procesos de biorestauración.

4.3.1.2.1 Fitoextracción

Es la captación de iones metálicos por las raíces de la planta y su acumulación en tallos y hojas. Hay plantas que absorben selectivamente grandes cantidades de metales acumulando en los tejidos concentraciones mucho más altas que las presentes en el suelo o en el agua. Este proceso se ha utilizado para eliminar hidrocarburos de agua y suelo con cultivos alfalfa, álamos, enebro.

En la zona contaminada se plantan las especies que se seleccionan. Cuando las plantas crecen se recolectan y se incineran. Las cenizas se pueden lavar para recuperar los metales o bien, pueden confinarse en vertederos de tóxicos, con la ventaja de que ocuparán un espacio mucho menor que el que se usaría si se desechara el suelo contaminado.

4.3.1.2.2 Rizofiltración

Es similar a la fitoextracción, pero en lugar de cultivar las plantas en el suelo, se cultivan en invernaderos por procesos hidropónicos. Las plantas se cultivan en tanques con agua contaminada y los tóxicos quedan fijados en sus raíces. A medida que las raíces se saturan del tóxico se van cortando y eliminando. Este método se probó satisfactoriamente para eliminar iones radioactivos en las lagunas contaminadas en el accidente de la planta nuclear de Chernobyl. Usaron plantas de girasol.

4.3.1.2.3 Fitodegradación

Es un proceso por medio del cual las plantas degradan compuestos orgánicos. Los compuestos son absorbidos y metabolizados. Muy frecuentemente los metabolitos que producen tienen actividad de fitohormonas (aceleran el crecimiento de las plantas). Se han encontrado plantas que degradan residuos de explosivos, disolventes clorados como el TCE, herbicidas, etc.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Las plantas también favorecen la degradación microbiológica en la rizósfera. La flora microbiana del suelo es más abundante en las cercanías de las raíces, por lo que los procesos similares a la biodegradación tienen lugar a una velocidad mayor que en el resto del suelo, sin necesidad de estimular artificialmente la actividad microbiana.

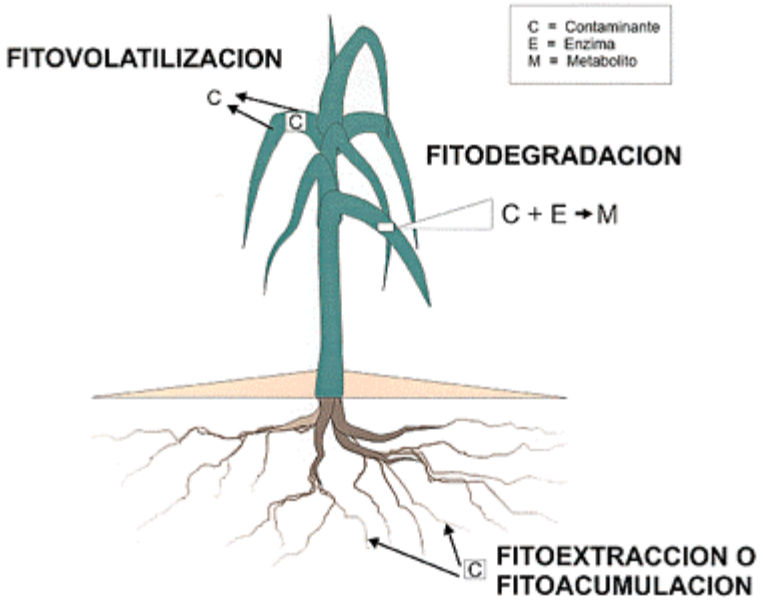


Figura 4.3.1.C Fito-restauración.

4.3.1.2.4 Bombeo biológico

Cuando las raíces de los árboles llegan hasta el manto friático absorben una gran cantidad de agua. Hay una variedad de álamo (*Populus deltoides*) que absorbe más de un metro cúbico de agua por día. Esta característica de los árboles se puede utilizar para impedir que las aguas superficiales contaminadas lleguen a los acuíferos que se usan para suministro de agua potable, o bien para que se prevenga que aguas contaminadas lleguen a sitios donde pudieran causar problemas.

4.3.1.2.5 Fitovolatilización

Cuando los árboles absorben agua contaminada con compuestos orgánicos volátiles, eliminan la gran mayoría del COV en la evotranspiración de las hojas. Los álamos transpiran aproximadamente el 90% del TCE que absorben. El resultado neto de este proceso es, el que los árboles transfieren a la atmósfera el TCE que se encuentra en el acuífero.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

4.3.2 Métodos químicos

4.3.2.1 Deshalogenación

Es un proceso por medio del cual, se reduce el número de átomos de halógeno que se encuentra en una molécula orgánica. Los compuestos polihalogenados son tóxicos y, la disminución del número de halógenos en la molécula disminuye su toxicidad. En la industria y en la agricultura se han usado un número considerable de compuestos polihalogenados y no siempre se han manejado adecuadamente. Por ejemplo; a) los bifenilos policlorados se usaron en los transformadores de alta tensión, porque son buenos conductores térmicos y al mismo tiempo, son aislantes eléctricos y no son inflamables, b) DDT se usó como insecticida en la agricultura y en el control de insectos vectores de enfermedades c) TCE, PCE, etc. se han usado como disolventes de grasas en el lavado en seco y en el desengrase de partes mecánicas y eléctricas, d) se usan compuestos clorados en el saneamiento de agua, etc.

Para utilizar la deshalogenación química es necesario extraer el suelo contaminado y eliminarle las partículas mayores (piedras, palos, etc.). Esto hace necesario que en el sitio se disponga de una área adecuada para hacer esta tarea.

4.3.2.1.1 Polietilenglicol-potasa

En este proceso, la tierra contaminada con bifenilos policlorados se mezcla con el reactivo APEG (**P**oli **E**tilén **G**licol **A**lcalino) y se calienta, a 150° C durante 4 horas, en una retorta. El compuesto policlorado reacciona con el APEG substituyendo los átomo de cloro por residuos de poli etilén glicol. Los átomos de cloro aparecen como ion cloruro. Los gases y vapores que se producen en el reactor se pasan a un condensador y los no condensables se pasan a un filtro de carbón activado antes de emitirlos a la atmósfera. El agua condensada se usa en el paso de lavado de la tierra tratada. La mezcla de tierra tratada y APEG se envían a un separador donde se recupera el APEG que no reaccionó y se recicla a la retorta. La tierra tratada se lava usando los condensados de la retorta, las aguas de lavado se tratan y se descartan. La tierra tratada se regresa a su lugar de origen después de comprobar que la concentración de los tóxicos llegó al nivel deseado.

No se puede usar para tratar grandes cantidades de desechos, ni desechos con concentraciones de los contaminantes mayores al 5%.

4.3.2.1.2 Deshalogenación catalítica

La tierra contaminada se mezcla con bicarbonato de sodio, en una relación de 5/1 y se calienta a 400°C. Los compuestos orgánicos se volatilizan, la tierra que sale del reactor se considera limpia y se envía de nuevo al sitio de donde se extrajo. No se tiene que recuperar ningún reactivo de la tierra tratada. Los vapores que se producen pasan a un reactor, donde tiene lugar la deshalogenación catalítica del tóxico. El catalizador es hidróxido de sodio.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

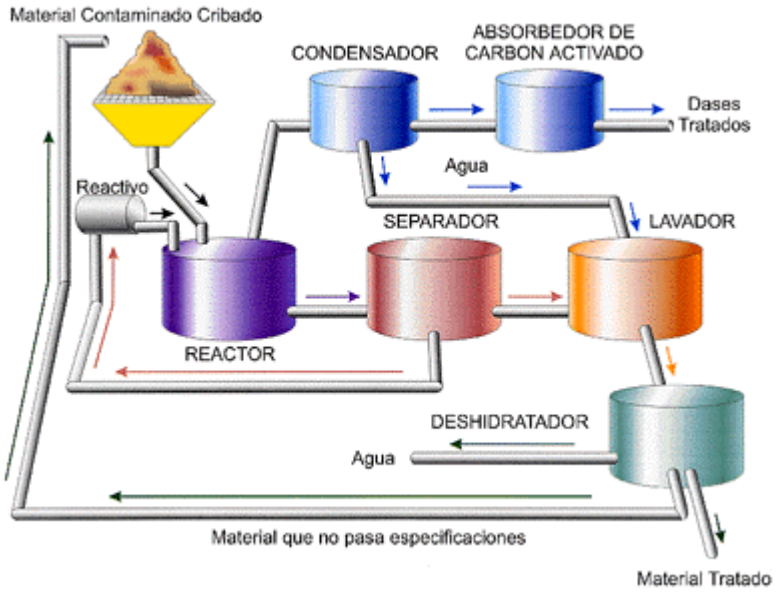


Figura 4.3.2.A Deshalogenación. Remediación *ex situ*.

El equipo que se usa es transportable, se puede llevar al sitio contaminado, lo que evita la transportación de desechos peligrosos. El equipo es más fácil de armar que los incineradores. La deshalogenación catalítica se puede usar para eliminar bifenilos policlorados, plaguicidas, algunos herbicidas y dioxinas.

4.3.2.2 Muros de tratamiento

El proceso consiste en hacer pasar la corriente de agua contaminada por una pared reactiva permeable.

El tóxico disuelto en el agua, al pasar por el lecho, reacciona con el empaque, transformándose en un compuesto no tóxico o en un compuesto insoluble que queda atrapado en el lecho. El resultado es que el agua contaminada que llega a la pared reactiva al salir ya no lleva tóxicos disueltos.

Para construir los muros reactivos se hace una zanja transversal a la dirección del flujo del acuífero contaminado, la zanja se empaca con el material que va a reaccionar con el tóxico. Generalmente se mezcla el ingrediente activo del empaque con un material poroso, para que presente una resistencia al flujo, menor que el suelo que lo rodea. Se recomienda que se construyan paredes laterales impermeables que dirijan el flujo hacia el muro de tratamiento.

El ingrediente activo del muro se selecciona de acuerdo a la substancia o substancias que se desee eliminar.

Son tres los mecanismos de eliminación: degradación, precipitación y sorción.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

4.3.2.2.1 Barreras de degradación

Causan reacciones químicas que descomponen el tóxico presente en el agua del acuífero y lo convierten en una substancia inocua. Por ejemplo; los muros de polvo de hierro producen la deshalogenación reductiva de compuestos policlorados, tales como el TCE, PCE, DCE, TCA. Si se agrega paladio al hierro, se puede incrementar el número de compuestos que se pueden tratar. En este proceso el polvo de hierro se va disolviendo muy lentamente; se estima que las barreras de polvo de hierro durarán en operación varios años, antes de tener que reempacarlas. Los muros se pueden empacar con substancias nutritivas para microorganismos, de tal manera que la pared actúa como un bioreactor.

4.3.2.2.2 Barreras de precipitación

En estas barreras, los iones metálicos presentes en el agua se pueden precipitar y los compuestos insolubles quedan atrapados en la barrera. Por ejemplo; al hacer pasar aguas ácidas contaminadas con plomo por una barrera de piedra caliza, el agua se neutraliza, el plomo se precipita y el resto de la barrera actúa como filtro. Lo mismo se hace con aguas contaminadas con Cromo VI que es muy tóxico y se reduce a Cromo III que es insoluble.

4.3.2.2.3 Barreras de sorción

En este caso, el empaque del muro es una substancia que adsorbe o absorbe el tóxico, por ejemplo puede ser carbón activado o ceolitas.

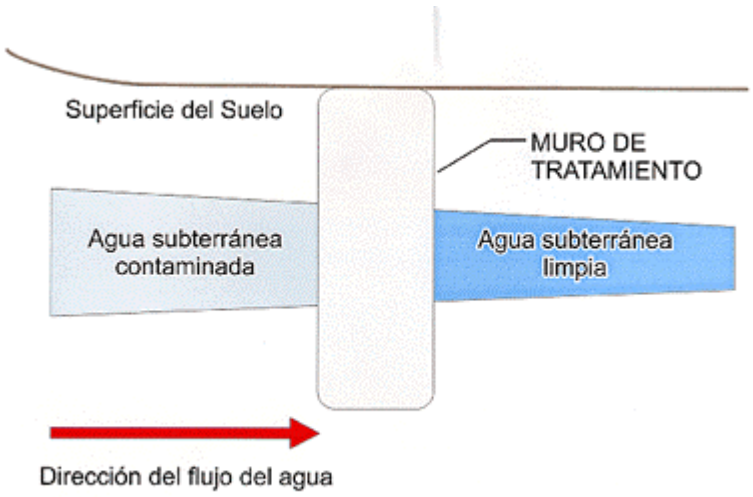


Figura 4.3.2.B Muros de Tratamiento.

4.3.3 Extracción

Son procedimientos que se pueden hacer *in situ* o *ex situ*, normalmente no degradan el tóxico, sino que lo transfieren del medio contaminado a otro, donde puede ser destruido, utilizando cualquiera de los métodos químicos o biológicos que se describieron anteriormente, o bien

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

pueden incinerarse o confinarse. Normalmente la transferencia de un medio a otro va acompañada de una reducción considerable del volumen de material a tratar o confinar.

4.3.3.1 Enjuague del suelo *in situ*

El procedimiento consiste en disolver los tóxicos absorbidos en las partículas de suelo utilizando soluciones de lavado. Para lograr lo anterior se perforan pozos de inyección y extracción, cuya localización y profundidad depende de las condiciones del sitio. Por los pozos de inyección se introduce agua a la que se le puede agregar ácidos (clorhídrico o nítrico), bases (hidróxido de sodio o amoniaco), detergentes, disolventes orgánicos (alcohol etílico) o mezclas de ellos. Por los pozos de extracción se colectan las aguas de lavado, las cuales se tratan para eliminarles los tóxicos extraídos y volverlas a utilizar en la preparación de soluciones de lavado.

Las soluciones ácidas y alcalinas se usan para extraer compuestos inorgánicos y orgánicos polares que no se pueden extraer con agua. Los detergentes y los disolventes orgánicos se usan para ayudar en la eliminación de substancias no polares.

4.3.3.2 Extracción de vapores

Es el procedimiento de desarrollo reciente que más se ha utilizado en la eliminación de compuestos orgánicos volátiles en sitios “Superfund”.

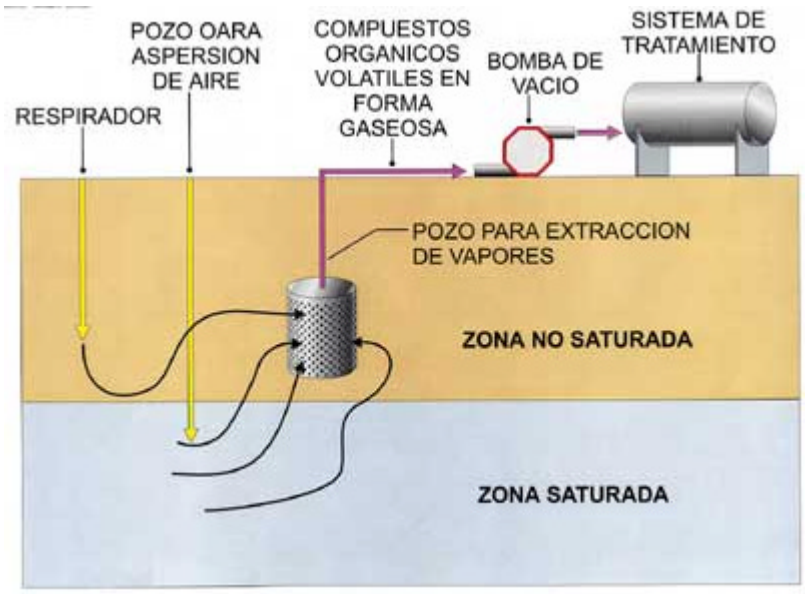


Figura 4.3.3 Procesos de Extracción *in situ*.

Frecuentemente la extracción de vapores se combina con biodegradación de tal manera que, los tóxicos al ir ascendiendo por el suelo en la zona no saturada de humedad, se encuentran con condiciones que favorecen la degradación aeróbica de los compuestos orgánicos. Esto se

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

logra disminuyendo la velocidad de aireación para que los vapores tengan un tiempo de residencia lo suficientemente largo, como para que alcancen a degradarse antes de llegar a los tubos de salida. En este caso al procedimiento se le denomina bioventeo. Este procedimiento se utiliza en la eliminación de derrames de combustibles (hidrocarburos) y se está haciendo investigación para ampliar su uso en procesos cometabólicos como, en la eliminación de compuestos clorados volátiles con cultivos de metanotrofos y amoniaco-oxidantes.

Para acelerar la eliminación de los compuestos menos volátiles, se ha tratado el incremento de la temperatura de la zona contaminada, inyectando aire caliente y/o vapor, utilizando microondas o introduciendo electrodos y aplicando una corriente eléctrica. También se ha experimentado con la extracción simultánea de vapores y aguas contaminadas para hacer su tratamiento en la superficie.

La extracción de vapores se puede usar para tratar tanto suelos como acuíferos contaminados con compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles. Se tratan mejor los sitios con suelos porosos.

4.3.3.3 Lavado del suelo

Es un procedimiento *ex situ* en el que el suelo contaminado se remueve y se le eliminan las partículas mayores (piedras, palos, etc.). El suelo cribado se lava con soluciones acuosas similares a las descritas anteriormente. En la primera fase del lavado se separan las arcillas y limos de las arenas y gravas. Normalmente la fracción gruesa está libre de substancias extrañas absorbidas y se pueden usar directamente para rellenos. Las arcillas y limos se descontaminan utilizando cualquiera de los métodos descritos que sean apropiados para eliminar el tipo de tóxico presente. Las arcillas tratadas se pueden usar como relleno o confinarse en vertederos de tóxicos. Lo que se logra con esta técnica es reducir el volumen de material que se procesa o confina. Esta técnica se aplica principalmente en suelos arenosos donde la cantidad de arcilla y limo es baja y se vuelve significativa la reducción de material procesado.

4.3.3.4 Extracción con disolventes

Es también un proceso de lavado de suelo *ex situ* en el que se usan disolventes orgánicos en lugar de soluciones acuosas. Los pasos de preparación del material a tratar. es el mismo que se usa en todos los procesos *ex situ*, y que consiste en excavar para extraer el suelo contaminado y, el cribado para eliminar las partículas mayores. El suelo cribado se trata en reactores en los que se agrega el disolvente orgánico y si el proceso es continuo entonces se agrega suficiente agua para que el material contaminado se pueda bombear. Después de dejar en contacto el lodo y el disolvente, durante el tiempo que sea necesario se procede a la separación de las distintas fases. Los tóxicos se distribuyen entre las distintas fases. Los compuestos orgánicos, como los bifenilos policlorados se encontrarán en la fase orgánica, los iones inorgánicos en la fase acuosa o en la fase sólida. La fase orgánica se puede tratar con otros disolventes, hasta que se tengan fracciones que se puedan tratar fácilmente, o se puedan volver a utilizar en los procesos de fabricación de donde provienen o en otros usos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

4.3.3.4.1 Desorción térmica

Es un procedimiento *ex situ* que consiste en calentar en un horno rotatorio la tierra contaminada extraída por excavación y cribada . El tóxico se evapora y se recolecta, ya sea para reutilizarse o para destruirse. La temperatura de operación, el tiempo de residencia y la forma de aplicar el calor (calentamiento directo con gases de combustión o calentamiento indirecto a través de las paredes) depende de las características del tóxico. Normalmente no se usa este proceso de limpieza con suelos muy húmedos, ya que el agua se evapora en el horno, incrementando los costos y complicando la recolección de los tóxicos volatilizados. Se ha utilizado en la limpieza de suelos contaminados con COV, COSV (compuestos orgánicos semivolátiles), bifenilos policlorados, hidrocarburos poliaromáticos y plaguicidas. Se ha usado para limpiar suelos de refinerías, coquerías, fábricas de pinturas y sitios de tratamiento de madera.

4.3.4 Técnicas de control

El propósito de las técnicas de control es confinar la contaminación existente en los medios que ya están contaminados evitando que ésta se distribuya a otras regiones.

Las medidas de control pasivas consisten en evitar que se presenten lixiviados, que se propaguen las plumas de contaminación en los acuíferos y en desviar corrientes superficiales. Estas medidas se pueden utilizar en conjunto con métodos para eliminar la contaminación tales como bombeo y tratamiento.

Se pueden construir barreras impermeables, paredes con tortas filtrantes, paredes de mortero o paredes metálicas.

Las paredes impermeables lógicamente impiden el flujo de agua haciendo que se incremente el nivel friático aguas arriba. El incremento en la presión hidrostática puede causar desviaciones en la dirección del flujo y con ello la distribución no controlada del tóxico hacia otras partes.

Para formar las paredes con tortas filtrantes se excava una zanja abajo de una lechada de bentonita en agua y se rellena de una mezcla de suelo y bentonita. El propósito de excavar bajo la lechada es estabilizar las paredes de la zanja durante la excavación e introducir la bentonita en el suelo formando la torta filtrante. La barrera se construye de tal manera que llegue a una capa impermeable del subsuelo. Las paredes con tortas filtrantes se usan para restringir la movilidad de acuíferos contaminados, para desviar de aguas contaminadas (para evitar que éstas lleguen a fuentes de agua potable), desviar el flujo de aguas no contaminadas para evitar que se contaminen y para delimitar zonas contaminadas que se vayan a tratar.

Las cortinas de mortero son barreras subterráneas que se forman inyectando mortero bien sea a base de cemento o a base de plásticos, bentonita o silicato de sodio. Se usan para sellar poros en suelos permeables.

Las paredes metálicas se construyen enterrando hojas de metal (láminas de acero) en el suelo y sellando las juntas con finos. También se pueden usar hojas de madera y placas de concreto.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

4.3.5 Manejo de medios contaminados

El propósito del manejo de materiales en un sitio contaminado es el de remover el suelo contaminado para transportarlo a una planta de tratamiento o lugar de confinamiento o para preparar el sitio para su tratamiento.

Los métodos de tratamiento *in situ* normalmente no requieren del manejo de grandes cantidades de material sólido y ésta es su principal ventaja. Los problemas de manejo de suelos contaminados existen cuando hay que excavar y llevar la porción contaminada del suelo a la superficie para su tratamiento en el sitio o para ser transportado y tratado fuera del sitio.

Una vez que se inicia la excavación se debe cuidar que los tóxicos no se emitan al ambiente. Es necesario evitar que el aire transporte los polvos contaminados fuera de la zona de trabajo, especialmente si la excavación se está haciendo en la época de secas. También debe prevenirse el acarreo de gases y líquidos volátiles. Esto se puede lograr cubriendo los terreros o humedeciéndolos, así como alternando la excavación entre zonas poco contaminadas y altamente contaminadas. Los trabajadores deben de usar equipo de protección (máscaras, guantes, botas, etc.). Si durante la excavación llueve, se presenta el problema de la contaminación de las corrientes superficiales que se forman. Es necesario manejar las corrientes superficiales desviándolas para que no entren en contacto con los materiales contaminados que se descubran con la excavación. Si se produce este tipo de contaminación, entonces quizá lo más conveniente es formar lagunas de evaporación y tratar los concentrados que se obtengan.

El movimiento de tierras contaminadas representa una porción considerable del costo de tratamiento, aproximadamente el 25% o más, si se incluye el costo de muestreo del subsuelo.

La excavación y apilamiento de las tierras contaminadas no es un problema sencillo. Puede ser que se tengan que manejar materiales radiactivos, substancias inflamables, mezclas explosivas, etc. Los terreros deben construirse de tal manera que se pueda llevar un control analítico adecuado y que se pueda disponer del material necesario para tener una buena operación en el proceso de tratamiento.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

5 PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN

Las políticas oficiales, en lo referente a la disminución de los peligros producidos por los xenobióticos peligrosos, normalmente establecen que se debe tratar de impedir que los tóxicos se liberen en el ambiente. Se considera que prevenir la contaminación es preferible a restaurar medios contaminados.

El problema principal, desde el punto de vista técnico, que enfrentan los encargados de evitar el incremento de la peligrosidad en el ambiente, sean estos los participantes en la producción o los encargados de aplicar la ley, es la falta de información sobre la toxicidad de los productos químicos. Se estima que se usan más de 80 mil substancias en las distintas fases de la producción manufacturera industrial. Por otro lado, la base de datos IRIS, que como ya se mencionó antes, contiene la información sobre los índices de toxicidad validados, de únicamente poco más de quinientas substancias. Se estudian toxicológicamente aproximadamente 2 mil substancias por año. Así que hay una gran brecha entre el número de substancias cuya toxicidad se conoce o se estudia y el número de substancias en uso comercial. Para subsanar esta deficiencia se ha estado trabajando en el desarrollo de métodos para estimar toxicidades en base a la estructura química, habiéndose desarrollado varios modelos computarizados.

Lo que los actores sociales en la prevención de la contaminación necesitan identificar es:

a) cuáles substancias en uso son peligrosas y por cuáles substancias inocuas podrían substituirlas.

b) cómo se puede evitar ensuciar el ambiente

c) cómo reducir el costo de evitar la contaminación ambiental, al enfocar los esfuerzos de prevención al manejo de las substancias verdaderamente tóxicas y no gastar tiempo y recursos al tratar substancias inocuas como si fueran tóxicos.

Para identificar y aprovechar las oportunidades de evitar la contaminación, se necesita contar con la información para predecir los riesgos y diseñar estrategias que mantengan los riesgos dentro de un nivel aceptable.

El diseño de estrategias de prevención, a diferencia de la evaluación de riesgos de línea base, no cuenta con datos de campo para estimar la exposición, puesto que no se ha constituido el escenario de exposición. En este caso, se tienen que suponer niveles de emisión y simular el transporte ambiental para estimar la exposición probable, fijando un valor deseable para esta variable en forma muy parecida al establecimiento de metas de remediación presentadas anteriormente. En la mayoría de los casos, especialmente cuando se trata de productos químicos nuevos, es necesario también estimar la toxicidad en base a modelos de estructura/efecto.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

5.1 Estrategia de prevención

La estrategia de prevención se puede resumir como sigue:

1. La contaminación, siempre que se pueda, se debe de evitar en la fuente
2. La contaminación que no pueda evitarse en la fuente, siempre que sea posible, deberá reciclarse en una forma ambientalmente segura
3. La contaminación que no pueda ser evitada o reciclada se deberá, siempre que sea posible, someter a un tratamiento no peligroso de remediación *in situ* (en la planta).
4. La emisión de tóxicos al ambiente, siempre se deberá tratar de evitar y cuando ésto sea imposible, deberá intentarse que la emisión adquiera la forma menos agresiva posible.
5. La confinación en forma toxicológicamente activa, deberá usarse como último recurso y deberá hacerse en forma tal, que se asegure que no se presentarán liberaciones posteriores que amenacen la salud de la población.

La reducción en la fuente se puede lograr a través de:

- modificación del equipo de proceso
- modificación de la tecnología, procesos o procedimientos
- reformulación y/o rediseño de productos
- substitución de insumos

Si no es posible lograr una planta que no produzca ningún tóxico ambiental, se tiene que diseñar una estrategia para mantener los riesgos ambientales a un nivel aceptable.

Lo anterior, en la práctica, implica que ningún desecho industrial que contenga substancias tóxicas, debe alcanzar el medio ambiente, sin que antes haya recibido un tratamiento para reciclar o destruir el tóxico, o en última instancia para modificarlo y poder confinarlo en forma conveniente y segura.

Varias de las tecnologías de remediación descritas en el capítulo anterior, tienen el propósito de retirar los tóxicos de los medios ambientales contaminados. Algunas de las técnicas están diseñadas para destruir las substancias tóxicas, otras tienen por objeto recuperar los tóxicos para volverlos a usar, o bien cambiar el estado en que se encuentran para que no den lugar a exposiciones peligrosas para la población. En algunos de estos procesos, al final, los tóxicos se encuentran en forma menos peligrosa y están presentes en materiales más convenientes de confinar que los medios contaminados originales. Esas mismas técnicas se pueden usar para tratar los efluentes industriales antes de salir de la planta, y así evitar que liberen tóxicos al ambiente.

Es conveniente conceptualizar la restauración ambiental y la prevención de la contaminación como una estrategia más amplia que engloba a ambos procesos y que, tiene como propósito

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

fundamental la reducción de riesgos para la salud de la población. La misma técnica, evaluación de riesgos, se usa para decidir la intervención de un sitio contaminado, para establecer las metas de restauración y para diseñar las estrategias de prevención. Lo mismo sucede con las tecnologías para remediar medios ambientales contaminados que también se pueden usar para tratar efluentes con el fin de prevenir la contaminación.

5.1.1 Evaluación de riesgos para la prevención

Como se mencionó anteriormente, para caracterizar los riesgos ambientales es necesario evaluar la exposición de la población y evaluar la toxicidad de las substancias identificadas como posibles productoras de daños para la salud, que se encuentren en el escenario de exposición. Sin embargo, en el caso de diseño de estrategias de prevención, no se tienen datos de campo para estimar las dosis suministradas y como se mencionó en el apartado anterior, normalmente no se cuenta con información toxicológíca adecuada para la mayoría de las substancias en uso comercial.

Para subsanar esta deficiencia se han desarrollado varios modelos computarizados que estiman las variables que entran en la evaluación de riesgos. El uso de estos modelos, sólo se recomienda cuando no se cuenta con información generada experimentalmente. Es mejor usar, cuando se tienen, los índices toxicológicos homologados y valores medidos de las propiedades fisicoquímicas de las substancias.

5.1.2 Modelos de Predicción

La Oficina de Tóxicos y Prevención de la Contaminación (OPPT) de la EPA ha desarrollado modelos para estimar propiedades fisicoquímicas que pueden ser de utilidad en la determinación de la movilidad de las substancias en el ambiente. La OPPT también proporciona modelos para simular exposiciones, daños ambientales y para estimar algunos tipos de toxicidades.

Los insumos a los modelos son principalmente:

- la estructura química de las substancias
- los coeficientes de partición agua/octano
- las reglamentaciones ambientales aplicables

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los productos de los modelos son los siguientes:

- Propiedades físico/químicas
  Punto de fusión
  Punto de ebullición
  Presión de vapor
  Solubilidad en agua
- Destino ambiental
- Potencial de oxidarse en la atmósfera
- Biodegradación
- Hidrólisis
- Bioconcentración
- Potencialidad de ser removido en tratamiento de aguas negras
- Toxicidad
- Potencialidad de carcinogénesis
- Toxicidad acuática
- Exposición y riesgo
- Exposición dérmica
- Exposición por inhalación
- Concentración en corrientes de agua y posibles dosis suministradas
- Exposición ocupacional
- Posibilidades de infringir reglamentaciones ambientales.

El conjunto de modelos está incompleto y los distintos modelos se encuentran en diferentes etapas de desarrollo. Algunos proporcionan estimaciones cuantitativas y otros sólo dan estimaciones cualitativas. No se tienen modelos para estimar toxicidades con punto final distinto del cáncer. No se tienen estimaciones de toxicidades para el desarrollo, ni para la reproducción ni la neurotoxicidad.

Existen grupos académicos que están desarrollando modelos de movilidad ambiental basados en los conceptos de fenómenos de transporte. Estiman cambios de estado y de identidad química, así como el transporte de las substancias dentro de un medio y la transferencias entre medios.

Otros grupos han estudiado las estrategias de reducción de riesgos usando las metodologías de análisis de sistemas en los que se tratan las interelaciones entre el sistema medio ambiente, el sistema población humana y el sistema tóxicos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

6 ANEXO

6.1 Ejemplos demostrativos

6.1.1 Cálculo de riesgos

Se hace multiplicando la concentración del tóxico en la vía de exposición por el insumo diario promedio, estimado de ese medio, expresándolo por unidad de masa corporal. Por ejemplo si el agua para beber de una comunidad contiene 250 microgramos de arsénico por litro y una persona ingiere 2 litros de agua al día, la exposición, por la vía de exposición ingesta de agua, será de 500 microgramos por día por persona y la dosis suministrada Ds será: 500/79 = 7.14 ug/Kgxdía.

6.1.1.1 Ejemplo del cálculo de Dosis suministrada

Una forma común de expresar la exposición a cancerígenos y para exposiciones crónicas es calculando la **D**osis **D**iaria **P**romedio **V**italicia (DDPV).

$$\text{DDPV} = \frac{\text{(Concentración del tóxico)(tasa de contacto)(biodisponibilidad)(duración exposición)}}{\text{(masa corporal)(período de vida)}}$$

Se quiere calcular la DDPV para la ingestión de agua por una persona que trabaja en Edison, California, donde el agua contiene 0.39 mg As/ litro.

Concentración del tóxico en la vía de exposición: 0.39 mg/litro límite superior de confianza percentil 95 del promedio de las concentraciones contactadas durante el período de exposición.

Tasa de contacto: 2 litros por día (límite superior de confianza percentil 95 del promedio, valor recomendado por la EPA).

Biodisponibilidad: 0.7 (significa que el 70% de lo que se ingiere se absorbe).

Duración de la exposición: 25 años (valor sugerido por la EPA para la duración de un individuo en un trabajo) y como la exposición sólo tiene lugar durante el período de trabajo, se tiene que considerar el tiempo de vacaciones (se trabajan 50 semanas en el año, o sea se trabaja el 50/52 del año), se trabajan 5 días a la semana (5/7 de la semana), y 8 horas por día (8/24 de día).

Masa corporal: 70 Kg (valor sugerido por la EPA).

Período de vida: 70 años multiplicado por 365 para expresarlo en días.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

$$DDPV = \frac{0.39\ mg/L \times 2\ L/día \times 0.7 \times 25\ años \times 50/52\ sem \times 5/7\ días/sem \times 8\ h/24\ h/día}{70\ kg. \times 70\ años \times 365\ días/año}$$

DDPV = 1.647×10^{-6} (mg/Kgxdía) de arsénico por ingesta de agua durante el trabajo

Los valores medios de la EPA que se usaron, tanto en este ejemplo como en otros anteriores, se encuentran publicados en el manual "Guía para la Evaluación de Riesgos en el Superfund" de la EPA.

6.1.1.2 Ejemplo de caracterización de riesgos

Determinar si el riesgo que enfrenta el trabajador del ejemplo anterior es aceptable tanto para efectos cancerígenos como no cancerígenos.

Información localizada en IRIS para arsénico contactado por vía oral, ingerido en agua:

DdRco: 3×10^{-4} mg As/Kgxdía.

Peso de la Evidencia: Grupo A, cancerígeno probado para humanos.

SF, Factor de pendiente para exposición oral disuelto en agua: 1.5 (mg/Kg)/día.

Concentración en agua para un riesgo de 10^{-6}: 2×10^{-2} microgramos por litro.

Resultados:

Cálculo del Coeficiente de Peligro:

DDPV/ DdRco = $1.7x10^{-6}/ 3x10^{-4} = 0.5x10^{-2}$.

Transformando la concentración permitida para un riesgo de 10^{-6} en dosis se obtiene:

$(2 \times 10^{-2}$ ug/L)(mg/1000ug)(2L/día)/70 Kg = 6×10^{-7} mg As/Kg x día

Cálculo del Riesgo de Cáncer:

SF x DDPV = $1.5 \times 1.7x10^{-6} = 2.5 \times 10^{-6}$

Conclusiones:

1. El riesgo de efectos no cancerígenos es aceptable puesto que el valor del coeficiente de peligro es menor que uno.
2. La dosis suministrada en el sitio es mayor que la dosis permitida para ingesta en agua para un nivel de riesgo de cancer de 1 en un millón.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

3. El incremento de la probabilidad de que se produzca cáncer por exposición oral a arsénico es mayor que 1 en un millón, pero menor a 1 en cien mil. El riesgo será aceptable o no dependiendo de cual de los niveles de riesgo se seleccione como tolerable.

6.1.1.3 Ejemplo de cálculo de índice de peligro

Calcular la exposición total a BBP en un sitio y determinar si ésta es aceptable.

Las vías contaminadas son: el agua de consumo, el pescado que se ingiere y el suelo donde se cultivan verduras para el consumo.

Datos:

La exposición aceptable es 13.0 mg/L.

Las concentraciones de BBP son: en el agua 3 mg/L y en el músculo de pescado 0.5 mg/g de músculo. En las verduras se consume 1 mg/día.

Respuesta:

Exposición por cada vía :

Agua:	3 mg/L x 2 L/día	6.0 mg/día
Pescado:	0.5 mg/g de músculo x 11g/día	5.6 mg/día
Verduras		1.0 mg/día
Total de exposición		12.6 mg/día

Índice de Peligro = Exposición Total / Exposición Aceptable = 12.6/13.9 = 0.9

El riesgo es aceptable puesto que el HI (Índice de Peligro) es menor que uno.

6.2 Ejemplo de un archivo en la base de datos IRIS

A continuación se presenta una impresión del archivo del arsénico inorgánico, tal como apareció en la base de datos IRIS, el 20 de febrero de 1998. La impresión se obtuvo por consulta del sitio de la EPA en Internet.

Este es el archivo que se consultó para obtener los índices de toxicidad utilizado en el ejemplo numérico para caracterizar el riesgo por exposición a una substancia única.

El arsénico es uno de los pocos tóxicos para el que se cuenta con índices basados en datos obtenidos en estudios epidemiológicos con poblaciones humanas.

El propósito de incluir el archivo completo en este anexo es el mostrar al lector, la forma en que aparece en la literatura de índices de toxicidad la información validada por los grupos científicos.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

==========

IRIS Substance File

0278

Arsenic, inorganic;

CASRN 7440-38-2 (03/01/97)

Health assessment information on a chemical substance is included in IRIS only after a comprehensive review of chronic toxicity data by U.S. EPA health scientists from several Program Offices and the Office of Research and Development. The summaries presented in Sections I and II represent a consensus reached in the review process. Background information and explanations of the methods used to derive the values given in IRIS are provided in the Background Documents.

STATUS OF DATA FOR Arsenic, inorganic

File On-Line 02/10/88

Category (section)	Status	Last Revised
Oral RfD Assessment (I.A.)	on-line	02/01/93
Inhalation RfC Assessment (I.B.)	no data	
Carcinogenicity Assessment (II.)	on-line	07/01/95

I.- CHRONIC HEALTH HAZARD ASSESSMENTS FOR NONCARCINOGENIC EFFECTS

I A.- REFERENCE DOSE FOR CHRONIC ORAL EXPOSURE (RfD)

Substance Name -- Arsenic, inorganic CASRN -- 7440-38-2 Last Revised -- 02/01/93

The oral Reference Dose (RfD) is based on the assumption that thresholds exist for certain toxic effects such as cellular necrosis. It is expressed in units of mg/kg-day. In general, the RfD is an estimate (with uncertainty spanning perhaps an order of magnitude) of a daily exposure to the human population (including sensitive subgroups) that is likely to be without an appreciable risk of

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

deleterious effects during a lifetime. Please refer to the Background Document for an elaboration of these concepts. RfDs can also be derived for the noncarcinogenic health effects of substances that are also carcinogens. Therefore, it is essential to refer to other sources of information concerning the carcinogenicity of this substance. If the U.S. EPA has evaluated this substance for potential human carcinogenicity, a summary of that evaluation will be contained in Section II of this file.

NOTE: There was not a clear consensus among Agency scientists on the oral RfD. Applying the Agency's RfD methodology, strong scientific arguments can be made for various values within a factor of 2 or 3 of the currently recommended RfD value, i.e., 0.1 to 0.8 ug/kg/day. It should be noted, however, that the RfD methodology, by definition, yields a number with inherent uncertainty spanning perhaps an order of magnitude. New data that possibly impact on the recommended RfD for arsenic will be evaluated by the Work Group as it becomes available. Risk managers should recognize the considerable flexibility afforded them in formulating regulatory decisions when uncertainty and lack of clear consensus are taken into account.

I.A.1. ORAL RfD SUMMARY

Critical Effect	Experimental Doses*	UF	MF	RfD
Hyperpigmentation, keratosis and possible vascular complications	NOAEL: 0.009 mg/L converted to 0.0008 mg/kg-day mg/kg-day	3	1	3E-4
Human chronic oral exposure	LOAEL: 0.17 mg/L converted 0.014 mg/kg-day			

Tseng, 1977; Tseng et al., 1968

*Conversion Factors: NOAEL was based on an arithmetic mean of 0.009 mg/L in a range of arsenic concentration of 0.001 to 0.017 mg/L. This NOAEL also included estimation of arsenic from food. Since experimental data were missing, arsenic concentrations in sweet potatoes and rice were estimated as 0.002 mg/day. Other assumptions included consumption of 4.5 L water/day and 55 kg bw (Abernathy et al., 1989).

NOAEL = [(0.009 mg/L x 4.5 L/day) + 0.002 mg/day] / 55 kg = 0.0008 mg/kg-day.

The LOAEL dose was estimated using the same assumptions as the NOAEL starting with an arithmetic mean water concentration from Tseng (1977) of 0.17 mg/L.

LOAEL = [(0.17 mg/L x 4.5 L/day) + 0.002 mg/day] / 55 kg = 0.014 mg/kg-day.

I.A.2. PRINCIPAL AND SUPPORTING STUDIES (ORAL RfD)

Tseng, W.P. 1977. Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. Environ. Health Perspect. 19: 109-119.

Tseng, W.P., H.M. Chu, S.W. How, J.M. Fong, C.S. Lin and S. Yeh. 1968. Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. J. Natl. Cancer Inst. 40: 453-463.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

The data reported in Tseng (1977) show an increased incidence of blackfoot disease that increases with age and dose. Blackfoot disease is a significant adverse effect. The prevalences (males and females combined) at the low dose are 4.6 per 1000 for the 20-39 year group, 10.5 per 1000 for the 40-59 year group, and 20.3 per 1000 for the >60 year group. Moreover, the prevalence of blackfoot disease in each age group increases with increasing dose. However, a recent report indicates that it may not be strictly due to arsenic exposure (Lu, 1990). The data in Tseng et al. (1968) also show increased incidences of hyperpigmentation and keratosis with age. The overall prevalences of hyperpigmentation and keratosis in the exposed groups are 184 and 71 per 1000, respectively. The text states that the incidence increases with dose, but data for the individual doses are not shown. These data show that the skin lesions are the more sensitive endpoint. The low dose in the Tseng (1977) study is considered a LOAEL.

The control group described in Tseng et al. (1968; Table 3) shows no evidence of skin lesions and presumably blackfoot disease, although this latter point is not explicitly stated. This group is considered a NOAEL.

The arithmetic mean of the arsenic concentration in the wells used by the individuals in the NOAEL group is 9 ug/L (range: 1-17 ug/L) (Abernathy et al., 1989). The arithmetic mean of the arsenic concentration in the wells used by the individuals in the LOAEL group is 170 ug/L (Tseng, 1977; Figure 4). Using estimates provided by Abernathy et al. (1989), the NOAEL and LOAEL doses for both food and water are as follows:

LOAEL -

[170 ug/L x 4.5 L/day + 2 ug/day (contribution of food)] x (1/55 kg) = 14 ug/kg/day;

NOAEL -

[9 ug/L x 4.5 L/day + 2 ug/day (contribution of food)] x (1/55 kg) = 0.8 ug/kg/day.

Although the control group contained 2552 individuals, only 957 (approximately 38%) were older than 20, and only 431 (approximately 17%) were older than 40. The incidence of skin lesions increases sharply in individuals above 20; the incidence of blackfoot disease increases sharply in individuals above 40 (Tseng, 1968; Figures 5, 6 and 7). This study is less powerful than it appears at first glance. However, it is certainly the most powerful study available on arsenic exposure to people.

This study shows an increase in skin lesions, 22% (64/296) at the high dose vs. 2.2% (7/318) at the low dose. The average arsenic concentration in the wells at the high dose is 410 ug/L and at the low dose is 5 ug/L (Cebrian et al., 1983; Figure 2 and Table 1) or 7 ug/L (cited in the abstract). The average water consumption is 3.5 L/day for males and 2.5 L/day for females. There were about an equal number of males and females in the study. For the dose estimates given below we therefore assume an average of 3 L/day. No data are given on the arsenic exposure from food or the body weight of the participants (we therefore assume 55 kg). The paper states that exposure times are directly related to chronological age in 75% of the cases. Approximately 35% of the participants in the study are more than 20 years old (Figure 1).

Exposure estimates (water only) are:

high dose - 410 ug/L x 3 L/day x (1/55 kg) = 22 ug/kg/day;

low dose - 5-7 ug/L x 3 L/day x (1/55 kg) = 0.3-0.4 ug/kg/day.

The high-dose group shows a clear increase in skin lesions and is therefore designated a LOAEL. There is some question whether the low dose is a NOAEL or a LOAEL since there is no way of knowing what the incidence of skin lesions would be in a group where the exposure to arsenic is zero.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

The 2.2% incidence of skin lesions in the low-dose group is higher than that reported in the Tseng et al. (1968) control group, but the dose is lower (0.4 vs. 0.8 ug/kg/day).

The Southwick et al. (1983) study shows a marginally increased incidence of a variety of skin lesions (palmar and plantar keratosis, diffuse palmar or plantar hyperkeratosis, diffuse pigmentation, and arterial insufficiency) in the individuals exposed to arsenic. The incidences are 2.9% (3/105) in the control group and 6.3% (9/144) in the exposed group. There is a slight, but not statistically significant increase in the percent of exposed individuals that have abnormal nerve conduction (8/67 vs. 13/83, or 12% vs. 16% (Southwick et al., 1983; Table 8). The investigators excluded all individuals older than 47 from the nerve conduction portion of the study. These are the individuals most likely to have the longest exposure to arsenic.

Although neither the increased incidence of skin lesions nor the increase in abnormal nerve conduction is statistically significant, these effects may be biologically significant because the same abnormalities occur at higher doses in other studies. The number of subjects in this study was insufficient to establish statistical significance.

Table 3 (Southwick et al., 1983) shows the annual arsenic exposure from drinking water. No data are given on arsenic exposure from food or the body weight (assume 70 kg). Exposure times are not clearly defined, but are > 5 years, and dose groups are ranges of exposure.

Exposure estimates (water only) are:

dosed group - 152.4 mg/year x 1 year/365 days x (1/70) kg = 6 ug/kg/day;

control group - 24.2 mg/year x year/365 days x (1/70) kg = 0.9 ug/kg/day.

Again because there are no data for a group not exposed to arsenic, there is some question if the control group is a NOAEL or a LOAEL. The incidence of skin lesions in this group is about the same as in the low-dose group from the Cebrian et al. (1983) study; the incidence of abnormal nerve conduction in the control group is higher than that from the low-dose group in the Hindmarsh et al. (1977) study described below. The control dose is comparable to the dose to the control group in the Tseng et al. (1968) and Hindmarsh et al. (1977) studies. The dosed group may or may not be a LOAEL, since it is does not report statisically significant effects when compared to the control.

This study shows an increased incidence of abnormal clinical findings and abnormal electromyographic findings with increasing dose of arsenic (Hindmarsh et al., 1977; Tables III and VI). However, the sample size is extremely small. Percentages of abnormal clinical signs possibly attributed to As were 10, 16, and 40% at the low, mid and high doses, respectively. Abnormal EMG were 0, 17 and 53% in the same three groups.

The exact doses are not given in the Hindmarsh et al. (1977) paper; however, some well data are reported in Table V. The arithmetic mean of the arsenic concentration in the high-dose and mid-dose wells is 680 and 70 ug/L, respectively. Figure 1 (Hindmarsh et al., 1977) shows that the average arsenic concentration of the low-dose wells is about 25 ug/L. No data are given on arsenic exposure from food. We assume daily water consumption of 2 liters and body weight of 70 kg. Exposure times are not clearly stated.

Exposure estimates (water only) are:

low - 25 ug/L x 2 L/day x (1/70) kg = 0.7 ug/kg/day;

mid - 70 ug/L x 2 L/day x (1/70) kg = 2 ug/kg/day;

high - 680 ug/L x 2 L/day x (1/70) kg = 19 ug/kg/day.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

The low dose is a no-effect level for abnormal EMG findings. However, because there is no information on the background incidence of abnormal clinical findings in a population with zero exposure to arsenic, there is no way of knowing if the low dose is a no-effect level or another marginal effect level for abnormal clinical findings. The low dose is comparable to the dose received by the control group in the Tseng (1977) and Southwick et al. (1983) studies.

The responses at the mid dose do not show a statistically significant increase but are part of a statistically significant trend and are biologically significant. This dose is an equivocal NOAEL/LOAEL. The high dose is a clear LOAEL for both responses.

As discussed previously there is no way of knowing whether the low doses in the Cebrian et al. (1983), Southwick et al. (1983) and Hindmarsh et al. (1977) studies are NOAELs for skin lesions and/or abnormal nerve conduction. However, because the next higher dose in the Southwick and Hindmarsh studies only shows marginal effects at doses 3-7 times higher, the Agency feels comfortable in assigning the low doses in these studies as NOAELs.

The Tseng (1977) and Tseng et al. (1968) studies are therefore considered superior for the purposes of developing an RfD and show a NOAEL for a sensitive endpoint. Even discounting the people < 20 years of age, the control group consisted of 957 people that had a lengthy exposure to arsenic with no evidence of skin lesions.

The following is a summary of the defined doses in mg/kg-day from the principal and supporting studies:

1. Tseng (1977): NOAEL = 8E-4; LOAEL = 1.4E-2
2. Cebrian et al. (1983): NOAEL = 4E-4; LOAEL = 2.2E-2
3. Southwick et al. (1983): NOAEL = 9E-4; LOAEL = none (equivocal effects at 6E-3)
4. Hindmarsh et al., 1977: NOAEL = 7E-4; LOAEL = 1.9E-2 (equivocal effects at 2E-3)

I.A.3. UNCERTAINTY AND MODIFYING FACTORS (ORAL RfD)

UF -- The UF of 3 is to account for both the lack of data to preclude reproductive toxicity as a critical effect and to account for some uncertainty in whether the NOAEL of the critical study accounts for all sensitive individuals.

MF -- None

I.A.4. ADDITIONAL STUDIES / COMMENTS (ORAL RfD)

Ferm and Carpenter (1968) produced malformations in 15-day hamster fetuses via intravenous injections of sodium arsenate into pregnant dams on day 8 of gestation at dose levels of 15, 17.5, or 20 mg/kg bw. Exencephaly, encephaloceles, skeletal defects and genitourinary systems defects were produced. These and other terata were produced in mice and rats all at levels around 20 mg/kg bw. Minimal effects or no effects on fetal development have been observed in studies on chronic oral exposure of pregnant rats or mice to relatively low levels of arsenic via drinking water (Schroeder and Mitchner, 1971). Nadeenko et al. (1978) reported that intubation of rats with arsenic solution at a dose level of 25 ug/kg/day for a period of 7 months, including pregnancy, produced no significant embryotoxic effects and only infrequent slight expansion of ventricles of the cerebrum, renal pelves and urinary bladder. Hood et al. (1977) reported that very high single oral doses of arsenate solutions (120 mg/kg) to pregnant mice were necessary to cause prenatal fetal toxicity, while multiple doses of 60 mg/kg on 3 days had little effect.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Extensive human pharmacokinetic, metabolic, enzymic and long-term information is known about arsenic and its metabolism. Valentine et al. (1987) established that human blood arsenic levels did not increase until daily water ingestion of arsenic exceeded approximately 250 ug/day (approximately 120 ug of arsenic/L. Methylated species of arsenic are successively 1 order of magnitude less toxic and less teratogenic (Marcus and Rispin, 1988). Some evidence suggests that inorganic arsenic is an essential nutrient in goats, chicks, minipigs and rats (NRC, 1989). No comparable data are available for humans.

I.A.5. CONFIDENCE IN THE ORAL RfD

Study -- Medium

Data Base -- Medium

RfD -- Medium

Confidence in the chosen study is considered medium. An extremely large number of people were included in the assessment (> 40,000) but the doses were not well-characterized and other contaminants were present. The supporting human toxicity data base is extensive but somewhat flawed. Problems exist with all of the epidemiological studies. For example, the Tseng studies do not look at potential exposure from food or other source. A similar criticism can be made of the Cebrian et al. (1983) study. The U.S. studies are too small in number to resolve several issues. However, the data base does support the choice of NOAEL. It garners medium confidence. Medium confidence in the RfD follows.

I.A.6. EPA DOCUMENTATION AND REVIEW OF THE ORAL RfD

Source Document -- This assessment is not presented in any existing U.S. EPA document.

This analysis has been reviewed by EPA's Risk Assessment Council on 11/15/90. This assessment was discussed by the Risk Assessment Council of EPA on 11/15/90 and verified through a series of meetings during the 1st, 2nd and 3rd quarters of FY91.

Other EPA Documentation -- U.S. EPA, 1984, 1988

Agency Work Group Review -- 03/24/88, 05/25/88, 03/21/89, 09/19/89, 08/22/90, 09/20/90

Verification Date -- 11/15/90

I.A.7. EPA CONTACTS (ORAL RfD)

Please contact the Risk Information Hotline for all questions concerning this assessment or IRIS, in general, at (513)569-7254 (phone), (513)569-7159 (FAX) or RIH.IRIS@EPAMAIL.EPA.GOV (internet address).

I.B.- REFERENCE CONCENTRATION FOR CHRONIC INHALATION EXPOSURE (RfC)

Substance Name -- Arsenic, inorganic CASRN -- 7440-38-2

Not available at this time.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

II. CARCINOGENICITY ASSESSMENT FOR LIFETIME EXPOSURE

Substance Name -- Arsenic, inorganic CASRN -- 7440-38-2 Last Revised -- 07/01/95

Section II provides information on three aspects of the carcinogenic assessment for the substance in question; the weight-of-evidence judgment of the likelihood that the substance is a human carcinogen, and quantitative estimates of risk from oral exposure and from inhalation exposure. The quantitative risk estimates are presented in three ways. The slope factor is the result of application of a low-dose extrapolation procedure and is presented as the risk per (mg/kg)/day. The unit risk is the quantitative estimate in terms of either risk per ug/L drinking water or risk per ug/cu.m air breathed.

The third form in which risk is presented is a drinking water or air concentration providing cancer risks of 1 in 10,000, 1 in 100,000 or 1 in 1,000,000. The rationale and methods used to develop the carcinogenicity information in IRIS are described in The Risk Assessment Guidelines of 1986 (EPA/600/8-87/045) and in the IRIS Background Document. IRIS summaries developed since the publication of EPA's more recent Proposed Guidelines for Carcinogen Risk Assessment also utilize those Guidelines where indicated (Federal Register 61(79):17960-18011, April 23, 1996). Users are referred to Section I of this IRIS file for information on long-term toxic effects other than carcinogenicity.

I.A.- EVIDENCE FOR CLASSIFICATION AS TO HUMAN CARCINOGENICITY

II.A.1. WEIGHT-OF-EVIDENCE CLASSIFICATION

Classification -- A: human carcinogen

Basis -- based on sufficient evidence from human data. An increased lung cancer mortality was observed in multiple human populations exposed primarily through inhalation. Also, increased mortality from multiple internal organ cancers (liver, kidney, lung, and bladder) and an increased incidence of skin cancer were observed in populations consuming drinking water high in inorganic arsenic.

II.A.2. HUMAN CARCINOGENICITY DATA

Sufficient. Studies of smelter worker populations (Tacoma, WA; Magma, UT; Anaconda, MT; Ronnskar, Sweden; Saganoseki-Machii, Japan) have all found an association between occupational arsenic exposure and lung cancer mortality (Enterline and Marsh, 1982; Lee-Feldstein, 1983; Axelson et al., 1978; Tokudome and Kuratsune, 1976; Rencher et al., 1977). Both proportionate mortality and cohort studies of pesticide manufacturing workers have shown an excess of lung cancer deaths among exposed persons (Ott et al., 1974; Mabuchi et al., 1979). One study of a population residing near a pesticide manufacturing plant revealed that these residents were also at an excess risk of lung cancer (Matanoski et al., 1981). Case reports of arsenical pesticide applicators have also corroborated an association between arsenic exposure and lung cancer (Roth, 1958).

A cross-sectional study of 40,000 Taiwanese exposed to arsenic in drinking water found significant excess skin cancer prevalence by comparison to 7500 residents of Taiwan and Matsu who consumed

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

relatively arsenic-free water (Tseng et al., 1968; Tseng, 1977). Although this study demonstrated an association between arsenic exposure and development of skin cancer, it has several weaknesses and uncertainties, including poor nutritional status of the exposed populations, their genetic susceptibility,

and their exposure to inorganic arsenic from non-water sources, that limit the study's usefulness in risk estimation. Dietary inorganic arsenic was not considered nor was the potential confounding by contaminants other than arsenic in drinking water. There may have been bias of examiners in the original study since no skin cancer or preneoplastic lesions were seen in 7500 controls; prevalence rates rather than mortality rates are the endpoint; and furthermore there is concern of the applicability of extrapolating data from Taiwanese to the U.S. population because of different background rates of cancer, possibly genetically determined, and differences in diet other than arsenic (e.g., low protein and fat and high carbohydrate) (U.S. EPA, 1988). A prevalence study of skin lesions was conducted in two towns in Mexico, one with 296 persons exposed to drinking water with 0.4 mg/L arsenic and a similar group with exposure at 0.005 mg/L. The more exposed group had an increased incidence of palmar keratosis, skin hyperpigmentation and hypopigmentation, and four skin cancers (histologically unconfirmed) (Cebrian et al. (1983). The association between skin cancer and arsenic is weak because of the small number of cases, small cohort size, and short duration follow-up; also there was no unexposed group in either town. No excess skin cancer incidence has been observed in U.S. residents consuming relatively high levels of arsenic in drinking water but the numbers of exposed persons were low (Morton et al., 1976; Southwick et al., 1981). Therapeutic use of Fowler's solution (potassium arsenite) has also been associated with development of skin cancer and hyperkeratosis (Sommers and McManus, 1953; Fierz, 1965); several case reports implicate exposure to Fowler's solution in skin cancer development (U.S. EPA, 1988).

Several follow-up studies of the Taiwanese population exposed to inorganic arsenic in drinking water showed an increase in fatal internal organ cancers as well as an increase in skin cancer. Chen et al. (1985) found that the standard mortality ratios (SMR) and cumulative mortality rates for cancers of the bladder, kidney, skin, lung and liver were significantly greater in the Blackfoot disease endemic area of Taiwan when compared with the age adjusted rates for the general population of Taiwan. Blackfoot disease (BFD, an endemic peripheral artery disease) and these cancers were all associated with high levels of arsenic in drinking water. In the endemic area, SMRs were greater in villages that used only artesian well water (high in arsenic) compared with villages that partially or completely used surface well water (low in arsenic). However, dose-response data were not developed (Chen et al. 1985).

A retrospective case-control study showed a significant association between duration of consuming high-arsenic well water and cancers of the liver, lung and bladder (Chen et al., 1986). In this study, cancer deaths in the Blackfoot disease endemic area between January 1980 and December 1982 were chosen for the case group. About 90% of the 86 lung cancers and 95 bladder cancers in the registry were histologically or cytologically confirmed and over 70% of the liver cancers were confirmed by biopsy or à-fetoprotein presence with a positive liver x-ray image. Only confirmed cancer cases were included in the study. A control group of 400 persons living in the same area was frequency-matched with cases by age and sex. Standardized questionnaires of the cases (by proxy) and controls determined the history of artesian well water use, socioeconomic variables, disease history, dietary habits, and lifestyle. For the cancer cases, the age-sex adjusted odds ratios were increased for bladder (3.90), lung (3.39), and liver (2.67) cancer for persons who had used artesian well water for 40 or more years when compared with controls who had never used artesian well water. Similarly, in a 15-year study of a cohort of 789 patients of Blackfoot disease, an increased mortality from cancers of the liver, lung, bladder and kidney was seen among BFD patients when compared with the general population in the endemic area or when compared with the general population of Taiwan. Multiple

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

logistic regression analysis to adjust for other risk factors including cigarette smoking did not markedly affect the exposure-response relationships or odds ratios (Chen et al., 1988).

A significant dose-response relationship was found between arsenic levels in artesian well water in 42 villages in the southwestern Taiwan and age-adjusted mortality rates from cancers at all sites, cancers of the bladder, kidney, skin, lung, liver and prostate (Wu et al., 1989). An ecological study of cancer mortality rates and arsenic levels in drinking water in 314 townships in Taiwan also corroborated the association between arsenic levels and mortality from the internal cancers (Chen and Wang, 1990).

Chen et al.(1992) conducted a recent analysis of cancer mortality data from the arsenic-exposed population to compare risk of various internal cancers and compare risk between males and females. The study area and population have been described by Wu et al. (1989). It is limited to 42 southwestern coastal villages where residents have used water high in arsenic from deep artesian wells for more than 70 years. Arsenic levels in drinking water ranged from 0.010 to 1.752 ppm. The study population had 898,806 person-years of observation and 202 liver cancer, 304 lung cancer, 202 bladder cancer and 64 kidney cancer deaths. The study population was stratified into four groups according to median arsenic level in well water (< 0.10 ppm, 0.10-0.29 ppm, 0.30-0.59 ppm and 60+ ppm), and also stratified into four age groups (< 30 years, 30-49 years, 50-69 years and 70+ years). Mortality rates were found to increase significantly with age for all cancers and significant dose-response relationships were observed between arsenic level and mortality from cancer of the liver, lung, bladder and kidney in most age groups of both males and females. The data generated by Chen et al. (1992) provide evidence for an association of the levels of arsenic in drinking water and duration of exposure with the rate of mortality from cancers of the liver, lung, bladder, and kidney. Dose-response relationships are clearly shown by the tabulated data (Tables II-V of Chen et al., 1992). Previous studies summarized in U.S. EPA (1988) showed a similar association in the same Taiwanese population with the prevalence of skin cancers (which are often non-fatal). Bates et al. (1992) and Smith et al. (1992) have recently reviewed and evaluated the evidence for arsenic ingestion and internal cancers.

II.A.3. ANIMAL CARCINOGENICITY DATA

Inadequate. There has not been consistent demonstration of carcinogenicity in test animals for various chemical forms of arsenic administered by different routes to several species (IARC, 1980). Furst (1983) has cited or reviewed animal carcinogenicity testing studies of nine inorganic arsenic compounds in over nine strains of mice, five strains of rats, in dogs, rabbits, swine and chickens. Testing was by the oral, dermal, inhalation, and parenteral routes. All oxidation states of arsenic were tested. No study demonstrated that inorganic arsenic was carcinogenic in animals. Dimethylarsonic acid (DMA), the end metabolite predominant in humans and animals, has been tested for carcinogenicity in two strains of mice and was not found positive (Innes et al., 1969); however, this was a screening study and no data were provided. The meaning of non-positive data for carcinogenicity of inorganic arsenic is uncertain, the mechanism of action in causing human cancer is not known, and rodents may not be a good model for arsenic carcinogenicity testing. There are some data to indicate that arsenic may produce animal lung tumors if retention time in the lung can be increased (Pershagen et al., 1982, 1984).

II.A.4. SUPPORTING DATA FOR CARCINOGENICITY

A retrospective cohort mortality study was conducted on 478 British patients treated between 1945-1969 with Fowler's solution (potassium arsenite). The mean duration of treatment was 8.9 months and the average total oral consumption of arsenic was about 1890 mg (daily dose x duration). In

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

1980, 139 deaths had occurred. No excess deaths from internal cancers were seen after this 20-year follow-up. Three bladder cancer deaths were observed (1.19 expected, SMR 2.5) (Cuzick et al., 1982). A recent follow-up (Cuzick et al., 1992) indicated no increased mortality from all cancers but a significant excess from bladder cancer (5 cases observed/1.6 expected; SMR of 3.07). A subset of the original cohort (143 persons) had been examined by a dermatologist in 1970 for signs of arsenicism (palmar keratosis). In 1990, there were 80 deaths in the subcohort and 11 deaths from internal cancers. All 11 subjects had skin signs (keratosis-10, hyperpigmentation-5 and skin cancer-3). A case-control study of the prevalence of palmar keratoses in 69 bladder cancer patients, 66 lung cancer patients and 218 hospital controls (Cuzick et al., 1984), indicated an association between skin keratosis (as an indicator of arsenic exposure) and lung and bladder cancer. Above the age of 50, 87% of bladder cancer patients and 71% of lung cancer patients but only 36% of controls had one or more keratoses. Several case reports implicate internal cancers with arsenic ingestion or specifically with use of Fowler's solution but the associations are tentative (U.S. EPA, 1988).

Sodium arsenate has been shown to transform Syrian hamster embryo cells (Dipaolo and Casto, 1979) and to produce sister chromatid-exchange in DON cells, CHO cells, and human peripheral lymphocytes exposed in vitro (Wan et al., 1982; Ohno et al., 1982; Larramendy et al., 1981; Andersen, 1983; Crossen, 1983). Jacobson-Kram and Montalbano (1985) have reviewed the mutagenicity of inorganic arsenic and concluded that inorganic arsenic is inactive or very weak for induction of gene mutations in vitro but it is clastogenic with trivalent arsenic being an order of magnitude more potent than pentavalent arsenic.

Both the pentavalent and trivalent forms of inorganic arsenic are found in drinking water. In both animals and humans, arsenate (As+5) is reduced to arsenite (As+3) and the trivalent form is methylated to give the metabolites mononomethylarsinic acid (MMA) and dimethylarsonic acid (DMA) (Vahter and Marafante, 1988). The genotoxicity of arsenate (As+5) and arsenite (As+3) and the two methylated metabolites, MMA and DMA were compared in the thymidine kinase forward mutation assay in mouse lymphoma cells (Harrington-Brock et al. 993; Moore et al., 1995, in press). Sodium arsenite (+3) and sodium arsenate (+5) were mutagenic at concentration of 1-2 ug/mL and 10-14 ug/mL, respectively, whereas MMA and DMA were significantly less potent, requiring 2.5-5 mg/mL and 10 mg/mL, respectively, to induce a genotoxic response. Based on small colony size the mutations induced were judged chromosomal rather than point mutations. The authors have previously shown that for chemicals having clastogenic activity (i.e., cause chromosomal mutations), the mutated cells grow more slowly than cells with single gene mutations and this results in small colony size. In the mouse lymphoma assay, chromosomal abberations were seen at approximately the same arsenic levels as TK forward mutations. Arsenate, arsenite and MMA were considered clastogenic but the abberation response with DMA was insufficient to consider it a clastogen. Since arsenic exerts its genotoxicity by causing chromosomal mutations, it has been suggested by the above authors that it may act in a latter stage of carcinogenesis as a progressor, rather than as a classical initiator or promotor (Moore et al., 1994). A finding which supports this process is that arsenate (8-16 uM) and arsenite (3 uM) have been shown to induce 2-10 fold amplification of the dihydrofolate reductase gene in culture in methotrexate resistant 3T6 mouse cells (Lee et al., 1988). Although the mechanism of induction in rodent cells is not known, gene amplification of oncogenes is observed in many human tumors. Inorganic arsenic has not been shown to mutate bacterial strains, it produces preferential killing of repair deficient strains (Rossman, 1981). Sodium arsenite (As+3) induces DNA-strand breaks which are associated with DNA-protein crosslinks in cultured human fibroblasts at 3 mM but not 10 mM (Dong and Luo, 1993) and it appears that arsenite inhibits the DNA repair process by inhibiting both excision and ligation (Jha et al., 1992; Lee-Chen et al., 1993).

The inhibitory effect of arsenite on strand-break rejoining during DNA repair was found to be reduced by adding glutathione to cell cultures (Huang et al., 1993). The cytotoxic effects of sodium arsenite in

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Chinese hamster ovary cells also has also found to correlate with the intracellular glutathione levels (Lee et al., 1989).

In vivo studies in rodents have shown that oral exposure of rats to arsenate (As+5) for 2-3 weeks resulted in major chromosomal abnormalities in bone marrow (Datta et al., 1986) and exposure of mice to As (+3) in drinking water for 4 weeks (250 mg As/L as

arsenic trioxide) caused chromosomal aberrations in bone marrow cells but not spermatogonia (Poma et al., 1987); micronuclei in bone marrow cells were also induced by intraperitoneal dosing of mice with arsenate (DeKnudt et al., 1986; Tinwell et al., 1991). Chromosomal aberrations and sister chromatid exchange have been seen in patients exposed to arsenic from treatment with Fowler's solution (Burgdorf et al., 1977) and subjects exposed occupationally (Beckman et al., 1977) but no increase in either endpoint was seen in lymphocytes of subjects exposed to arsenic in drinking water (Vig et al., 1984).

II.B. QUANTITATIVE ESTIMATE OF CARCINOGENIC RISK FROM ORAL EXPOSURE

II.B.1. SUMMARY OF RISK ESTIMATES

Oral Slope Factor	1.5E+0 per (mg/kg)/day
Drinking Water Unit Risk	5E-5 per (ug/L)
Extrapolation Method	Time- and dose-related formulation of the multistage model (U.S. EPA, 1988)

Drinking Water Concentrations at Specified Risk Levels:

Risk Level	Concentration
E-4 (1 in 10,000)	2E+0 ug/L
E-5 (1 in 100,000)	2E-1 ug/L
E-6 (1 in 100,000)	2E-2 ug/L

II.B.2. DOSE-RESPONSE DATA (CARCINOGENICITY, ORAL EXPOSURE)

The Risk Assessment Forum has completed a reassessment of the carcinogenicity risk associated with ingestion of inorganic arsenic (U.S. EPA, 1988). The data provided in Tseng et al., 1968 and Tseng, 1977 on about 40,000 persons exposed to arsenic in drinking water and 7500 relatively unexposed controls were used to develop dose-response data. The number of persons at risk over three dose intervals and four exposure durations, for males and females separately, were estimated from the reported prevalence rates as percentages. It was assumed that the Taiwanese persons had a constant exposure from birth, and that males consumed 3.5 L drinking water/day and females consumed 2.0 L/day. Doses were converted to equivalent doses for U.S. males and females based on differences in body weights and differences in water consumption and it was assumed that skin cancer risk in the U.S. population would be similar to the Taiwanese population. The multistage model with time was used to predict dose-specific and age-specific skin cancer prevalance rates associated with ingestion of inorganic arsenic; both linear and quadratic model fitting of the data were conducted. The maximum likelihood estimate (MLE) of skin cancer risk for a 70 kg person drinking 2 L of water per

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

day ranged from 1E-3 to 2E-3 for an arsenic intake of 1 ug/kg/day. Expressed as a single value, the cancer unit risk for drinking water is 5E-5 per (ug/L). Details of the assessment are in U.S. EPA (1988).

Dose response data have not been developed for internal cancers for the Taiwanese population. The data of Chen et al. (1992) are considered inadequate at present.

II.B.3. ADDITIONAL COMMENTS (CARCINOGENICITY, ORAL EXPOSURE)

None.

II.B.4. DISCUSSION OF CONFIDENCE (CARCINOGENICITY, ORAL EXPOSURE)

This assessment is based on prevalence of skin cancer rather than mortality because the types of skin cancer studied are not normally fatal. However, competing mortality from Blackfoot disease in the endemic area of Taiwan would cause the risk of skin cancer to be underestimated. Other sources of inorganic arsenic, in particular those in food sources have not been considered because of lack of reliable information. There is also uncertainty on the amount of water consumed/day by Taiwanese males (3.5 L or 4.5 L) and the temporal variability of arsenic concentrations in specific wells was not known. The concentrations of arsenic in the wells was measured in the early 1960s and varied between 0.01 and 1.82 ppm. For many villages 2 to 5 analyses were conducted on well water and for other villages only one analysis was performed; ranges of values were not provided. Since tap water was supplied to many areas after 1966, the arsenic-containing wells were only used in dry periods. Because of the study design, particular wells used by those developing skin cancer could not be identified and arsenic intake could not be assigned except by village. Several uncertainties in exposure measurement reliability existed and subsequent analysis of drinking water found fluorescent substances in water that are possible confounders or caused synergistic effects. Uncertainties have been discussed in detail in U.S. EPA (1988). Uncertainties in exposure measurement can affect the outcome of dose-response estimation.

II.C. QUANTITATIVE ESTIMATE OF CARCINOGENIC RISK FROM INHALATION EXPOSURE

II.C.1. SUMMARY OF RISK ESTIMATES

Inhalation Unit Risk --	4.3E-3 per (ug/cu.m)
Extrapolation Method --	absolute-risk linear model

Air Concentrations at Specified Risk Levels:

Risk Level	Concentration
E-4 (1 in 10,000)	2E-2 per (ug/cu.m)

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

E-5 (1 in 100,000) 2E-3 per (ug/cu.m)

E-6 (1 in 1,000,000) 2E-4 per (ug/cu.m)

II.C.2. DOSE-RESPONSE DATA FOR CARCINOGENICITY, INHALATION EXPOSURE

Tumor Type -- lung cancer

Test Animals -- human, male

Route -- inhalation, occupational exposure

Reference -- Brown and Chu, 1983a,b,c; Lee-Feldstein, 1983; Higgins, 1982; Enterline and Marsh, 1982

Ambient Unit Risk Estimates (per (ug/cu.m)

Exposure Source	Study	Unit Risk	Geometric Mean Unit Risk	Final Estimates Unit Risk
Anaconda smelter	Brown and Chu, 1983a,b,c	1.25E-3		
	Lee-Feldstein, 1983	2.80E-3	2.56E-3	
	Higgins, 1982; Higgins et al., 1982; Welch et al., 1982	4.90E-3		4.29E-3
ASARCO smelter	Enterline and Marsh, 1982	7.6E-3	6.81E-3	7.19E-3

II.C.3. ADDITIONAL COMMENTS (CARCINOGENICITY, INHALATION EXPOSURE)

A geometric mean was obtained for data sets obtained with distinct exposed populations (U.S. EPA, 1984). The final estimate is the geometric mean of those two values. It was assumed that the increase in age-specific mortality rate of lung cancer was a function only of cumulative exposures.

The unit risk should not be used if the air concentration exceeds 2 ug/cu.m, since above this concentration the unit risk may not be appropriate.

II.C.4. DISCUSSION OF CONFIDENCE (CARCINOGENICITY, INHALATION EXPOSURE)

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Overall a large study population was observed. Exposure assessments included air measurements for the Anaconda smelter and both air measurements and urinary arsenic for the ASARCO smelter. Observed lung cancer incidence was significantly increased over expected values. The range of the estimates derived from data from two different exposure areas was within a factor of 6.

II.D. EPA DOCUMENTATION, REVIEW, AND CONTACTS (CARCINOGENICITY ASSESSMENT)

II.D.1. EPA DOCUMENTATION

U.S. EPA. 1984, 1988, 1993

A draft of the 1984 Health Assessment Document for Inorganic Arsenic was independently reviewed in public session by the Environmental Health Committee of the U.S. EPA Science Advisory Board on September 22-23, 1983. A draft of the 1988 Special Report on Ingested Inorganic Arsenic; Skin Cancer; Nutritional Essentiality was externally peer reviewed at a two-day workshop of scientific experts on December 2-3, 1986. A draft of the Drinking Water Criteria Document for Arsenic was reviewed by the Drinking Water Committee of the U.S. EPA Science Advisory Board on March 10, 1993. The comments from these reviews were evaluated and considered in the revision and finalization of these reports.

II.D.2. REVIEW (CARCINOGENICITY ASSESSMENT)

Agency Work Group Review -- 01/13/88, 12/07/89, 02/03/94

Verification Date -- 02/03/94

II.D.3. U.S. EPA CONTACTS (CARCINOGENICITY ASSESSMENT)

Please contact the Risk Information Hotline for all questions concerning this assessment or IRIS, in general, at (513)569-7254 (phone), (513)569-7159 (FAX) or RIH.IRIS@EPAMAIL.EPA.GOV (internet address).

BIBLIOGRAPHY

Substance Name -- Arsenic, inorganic.-CASRN -- 7440-38-2

Last Revised -- 07/01/95

ORAL RfD REFERENCES

Abernathy, C.O., W. Marcus, C. Chen, H. Gibb and P. White. 1989. Office of Drinking Water, Office of Research and Development, U.S. EPA. Memorandum to P. Cook, Office of Drinking

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Water, U.S. EPA and P. Preuss, Office of Regulatory Support and Scientific Management, U.S. EPA. Report on Arsenic (As) Work Group Meetings. February 23.

Cebrian, M.E., A. Albores, M. Aguilar and E. Blakely. 1983. Chronic arsenic poisoning in the north of Mexico. Human Toxicol. 2: 121-133.Ferm, V.H. and S.J. Carpenter. 1968. Malformations induced by sodium arsenate. J. Reprod. Fert. 17: 199-201.

Hindmarsh, J.T., O.R. McLetchie, L.P.M. Heffernan et al. 1977. Electromyographic abnormalities in chronic environmental arsenicalism. J. Analyt. Toxicol. 1: 270-276.

Hood, R.D., G.T. Thacker and B.L. Patterson. 1977. Effects in the mouse and rat of prenatal exposure to arsenic. Environ. Health Perspect. 19: 219-222. Lu, F.J. 1990. Blackfoot disease: Arsenic or humic acid? The Lancet. 336: 115-116.

Marcus, W.L. and A.S. Rispin. 1988. Threshold carcinogenicity using arsenic as an example. In: Advances in Modern Environmental Toxicology, Vol. XV. Risk Assessment and Risk Management of Industrial and Evironmental Chemicals, C.R. Cothern, M.A. Mehlman and W.L. Marcus, Ed. Princeton Scientific Publishing Company, Princeton, NJ. p. 133-158.

Nadeenko, V.G., V. Lenchenko, S.B. Genkina and T.A. Arkhipenko. 1978. The influence of tungsten, molibdenum, copper and arsenic on the intrauterine development of the fetus. TR-79-0353. Farmakologiya i Toksikologiya. 41: 620-623.

NRC (National Research Council). 1989. Recommended Dietary Allowances, 10th ed. Report of the Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, Washington, National Academy Press, Washington, DC. 285 p.

Schroeder, H.A. and M. Mitchner. 1971. Toxic effects of trace elements on the reproduction of mice and rats. Arch. Environ. Health. 23(2): 102-106.

Southwick, J.W., A.E. Western, M.M. Beck, et al. 1983. An epidemiological study of arsenic in drinking water in Millard County, Utah. In: Arsenic: Industrial, Biomedical, Environmental Perspectives, W.H. Lederer and R.J. Fensterheim, Ed. Van Nostrand Reinhold Co., New York. p. 210-225.

Tseng, W.P. 1977. Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. Environ. Health Perspect. 19: 109-119.

Tseng, W.P., H.M. Chu, S.W. How, J.M. Fong, C.S. Lin and S. Yeh. 1968. Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. J. Natl. Cancer. Inst. 40(3): 453-463.

Valentine, J.L., L.S. Reisbord, H.K. Kang and M.D Schluchter. 1987. Arsenic effects on population health histories. In: Trace Elements in Man and Animals - TEMA 5, C.F. Mills, I. Bremner and J.K. Chesters, eds. Commonwealth Agricultural Bureaux, Aberdeen, Scotland.

U.S. EPA. 1984. Health Assessment Document for Inorganic Arsenic. Prepared by the Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Research Triangle Park, NC. EPA 600/8-83-021F.

U.S. EPA. 1988. Quantitative Toxicological Evaluation of Ingested Arsenic. Office of Drinking Water, Washington, DC. (Draft)

INHALATION RfD REFERENCES

None

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

CARCINOGENICITY ASSESSMENT REFERENCES

Axelson, O., E. Dahlgren, C.D. Jansson and S.O. Rehnlund. 1978. Arsenic exposure and mortality: A case referent study from a Swedish copper smelter. Br. J. Ind. Med. 35: 8-15.

Andersen, O. 1983. Effects of coal combustion products and metal compounds on sister chromatid exchange (SCE) in a macrophage like cell line. Environ. Health Perspect. 47: 239-253.

Bates, M.N., A.H. Smith and C. Hopenhayn-Rich. 1992. Arsenic ingestion and internal cancers: A review. Am. J. Epidemiol. 135(5): 462-476.

Beckman, G., L. Beckman and I. Nordenson. 1977. Chromosome aberrations in workers exposed to arsenic. Environ. Health Perspect. 19: 145-146.

Brown, C.C. and K.C. Chu. 1983a. Approaches to epidemiologic analysis of prospective and retrospective studies: Example of lung cancer and exposure to arsenic. In: Risk Assessment Proc. SIMS Conf. on Environ. Epidemiol. June 28-July 2, 1982, Alta, VT. SIAM Publications.

Brown, C.C. and K.C. Chu. 1983b. Implications of the multistage theory of carcinogenesis applied to occupational arsenic exposure. J. Natl. Cancer Inst. 70(3): 455-463.

Brown, C.C. and K.C. Chu. 1983c. A new method for the analysis of cohort studies: Implications of the multistage theory of carcinogenesis appled to occupational arsenic exposure. Environ. Health Perspect. 50: 293-308.

Burgdorf, W., K. Kurvink and J. Cervenka. 1977. Elevated sister chromatid exchange rate in lymphocytes of subjects treated with arsenic. Hum. Genet. 36(1): 69-72.

Cebrian, M.E., A. Albores, M. Aquilar and E. Blakely. 1983. Chronic arsenic poisoning in the north of Mexico. Human Toxicol. 2: 121-133.

Chen, C-J. and C-J. Wang. 1990. Ecological correlation between arsenic level in well water and age-adjusted mortality from malignant neoplasms. Cancer Res. 50(17): 5470-5474.

Chen, C-J., Y-C. Chuang, T-M. Lin and H-Y. Wu. 1985. Malignant neoplasms among residents of a Blackfoot disease-endemic area in Taiwan: High-arsenic artesian well water and cancers. Cancer Res. 45: 5895-5899.

Chen, C-J., Y-C. Chuang, S-L. You, T-M. Lin and H-Y. Wu. 1986. A retrospective study on malignant neoplasms of bladder, lung, and liver in blackfoot disease endemic area in Taiwan. Br. J. Cancer. 53: 399-405.

Chen, C-J., M-M. Wu, S-S. Lee, J-D. Wang, S-H. Cheng and H-Y. Wu. 1988. Atherogenicity and carcinogenicity of high-arsenic artesian well water. Multiple risk factors and related malignant neoplasms of Blackfoot disease. Arteriosclerosis. 8(5): 452-460.

Chen, C-J., CW. Chen, M-M. Wu and T-L. Kuo. 1992. Cancer potential in liver, lung bladder and kidney due to ingested inorganic arsenic in drinking water. Br. J. Cancer. 66(5): 888-892.

Crossen, P.E. 1983. Arsenic and SCE in human lymphocytes. Mutat. Res. 119: 415-419.

Cuzick, J., S. Evans, M. Gillman and D.A. Price Evans. 1982. Medicinal arsenic and internal malignancies. Br. J. Cancer. 45(6): 904-911.

Cuzick, J., R. Harris, P.S. Mortimer. 1984. Palmar keratoses and cancers of the bladder and lung. March 10. The Lancet. 1(8376): 530-533.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Cuzick, J., P. Sasieni and S. Evans. 1992. Ingested arsenic, keratoses, and bladder cancer. Am. J. Epidemiol. 136(4): 417-421.

Datta, S., G. Talukder and A. Sharma. 1986. Cytotoxic effects of arsenic in dietary oil primed rats. Sci. Culture. 52: 196-198.

DeKnudt, G., A. Leonard, A. Arany, G.D. Buisson and E. Delavignette. 1986. In vivo studies in male mice on the mutagenic effects of inorganic arsenic. Mutagenesis. 1(1): 33-34.

DiPaolo, J.A. and B.C. Casto. 1979. Qantitative studies of in vitro morphological transformation of Syrian hamster cells by inorganic metal salts. Cancer Res. 39: 1008-1013.

Dong, J-T., X-M. Luo. 1993. Arsenic-induced DNA-strand breaks associated with DNA-protein crosslinks in human fetal lung fibroblasts. Mutat. Res. 302(2): 97-102.

Enterline, P.E. and G.M. Marsh. 1982. Cancer among workers exposed to arsenic and other substances in a copper smelter. Am. J. Epidemiol. 116(6): 895-911.

Fierz, U. 1965. Catamnestic investigations of the side effects of therapy of skin diseases with inorganic arsenic. Dermatologica. 131: 41-58.

Furst, A. 1983. A new look at arsenic carcinogenesis. In: Arsenic: Industrial, Biomedical, and Environmental Perspectives, W. Lederer and R. Fensterheim, Ed. Van Nostrand Reinhold, New York. p. 151-163.

Harrington-Brock, K., T.W. Smith, C.L. Doerr, and M.M. Moore. 1993. Mutagenicity of the human carcinogen arsenic and its methylated metabolites monomethylarsonic and dimethylarsenic acids in L5178Y TK+/- mouse lymphoma cells (abstract). Environ. Mol. Mutagen. 21(Supplement 22): 27.

Higgins, I. 1982. Arsenic and respiratory cancer among a sample of Anaconda smelter workers. Report submitted to the Occupatinal Safety and Health Administration in the comments of the Kennecott Minerals Company on the inorganic arsenic rulemaking. (Exhibit 203-5)

Higgins, I., K. Welch and C. Burchfield. 1982. Mortality of Anaconda smelter workers in relation to arsenic and other exposures. University of Michigan, Dept. Epidemiology, Ann Arbor, MI.

Huang, H., C.F. Huang, D.R. Wu, C.M. Jinn and K.Y. Jan. 1993. Glutathione as a cellular defence against arsenite toxicity in cultured Chinese hamster ovary cells. Toxicology. 79(3): 195-204.

IARC (International Agency for Research on Cancer). 1980. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man, Vol. 23. Some metals and metallic compounds. World Health Organization, Lyon, France.

Innes, J.R.M., B.M. Ulland, M.G. Valerio, et al. 1969. Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: A preliminary note. JNCI. 42: 1101-1114.

Jacobson-Kram, D. and D. Montalbano. 1985. The reproductive effects assessment group's report on the mutagenicity of inorganic arsenic. Environ. Mutagen. 7(5): 787-804.

Jha, A.N., M. Noditi, R. Nilsson and A.T. Natarajan. 1992. Genotoxic effects of sodium arsenite on human cells. Mutat. Res. 284(2): 215-221.

Larramendy, M.L., N.C. Popescu and J.A. DiPaolo. 1981. Induction by inorganic metal salts of sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in human and Syrian hamster strains. Environ. Mutagen. 3: 597-606.

Lee, Te-Chang, J. Ko and K.Y. Jan. 1989. Differential cytotoxocity of sodium arsenite in human fibroblasts and chinese hamster ovary cells. Toxicology. 56(3): 289-300.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Lee, Te-Chang, N. Tanaka, P.W. Lamb, T.M. Gilmer and J.C. Barrett. 1988. Induction of gene amplification by arsenic. Science. 241(4861): 79-81.

Lee-Chen, S.F., J.R. Gurr, I.B. Lin and K.Y. Jan. 1993. Arsenite enhances DNA double-strand breaks and cell killing of methyl methanesulfonate-treated cells by inhibiting the excision of alkali-labile sites. Mutat. Res. 294(1): 21-28.

Lee-Feldstein, A. 1983. Arsenic and respiratory cancer in man: Follow-up of an occupational study. In: Arsenic: Industrial, Biomedical, and Environmental Perspectives, W. Lederer and R. Fensterheim, Ed. Van Nostrand Reinhold, New York.

Mabuchi, K., A. Lilienfeld and L. Snell. 1979. Lung cancer among pesticide workers expsoed to inorganic arsenicals. Arch. Environ. Health. 34: 312-319.

Matanoski, G., E. Landau, J. Tonascia, et al. 1981. Cancer mortality in an industrial area of Baltimore. Environ. Res. 25: 8-28.

Moore, M.M., K. Harrington-Brock and C.L. Doerr. 1995. Genotoxicity of arsenic and its methylated metabolites. Mutagenesis and Cellular Toxicology Brance, Genetic Toxicology Dividion, Health Effects Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC. (In press).

Morton, W., G. Starr, D. Pohl, J. Stoner, S. Wagner, and P. Weswig. 1976. Skin cancer and water arsenic in Lane County, Oregon. Cancer. 37: 2523-2532.

Ohno, H., F. Hanaoka and M. Yamada. 1982. Inductibility of sister chromatid exchanges by heavy-metal ions. Mutat. Res. 104(1-3): 141-146.

Ott, M.G., B.B. Holder and H.L. Gordon. 1974. Respiratory cancer and occupational exposure to arsenicals. Arch. Environ. Health. 29: 250-255.

Pershagen, G., B. Lind and N.E. Bjorklund. 1982. Lung retention and toxicity of some inorganic arsenic compounds. Environ. Res. 29: 425-434.

Pershagen, G., G. Norberg and N.E. Bjorklund. 1984. Carcinomas of the respiratory tract in hamsters given arsenic trioxide and/or benxo(a)pyrene by the pulmonary route. Environ. Res. 34: 227-241.

Poma, K., N. Degraeve and C. Susanne. 1987. Cytogenic effects in mice after chronic exposure to arsenic followed by a single dose of ethyl methanesulfonate. Cytologia. 52(3): 445-450.

Rencher, A.C., M.W. Carter and D.W. McKee. 1977. A retrospective epidemiological study of mortality at a large western copper smelter. J. Occup. Med. 19(11): 754-758.

Rossman, T.G. 1981. Enhancement of UV-mutagenesis by low concentrations of arsenite in Escherichia coli. Mutat. Res. 91: 207-211.

Roth, F. 1958. Uber den Bronchialkrebs Arsengeschadigter Winzer. Virchows Arch. 331: 119-137.

Smith, A.H., C. Hopenhayn-Rich, M.N. Bates, et al. 1992. Cancer risks from arsenic in drinking water. Environ. Health Perspect. 97: 259-267.

Sommers, S.C. and R.G. McManus. 1953. Multible arsenical cancers of the skin and internal organs. Cancer. 6: 347-359.

Southwick, J., A. Western, M. Beck, et al. 1981. Community health associated with arsenic in drinking water in Millard County, Utah. Health Effects Research Laboratory, Cincinnati, OH. EPA-600/1-81-064.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Tinwell, H., S.C. Stephens, J. Ashby. 1991. Arsenite as the probable active species in the human carcinogenicity of arsenic: Mouse micronucleus assays on Na and K arsenite, orpiment, and Fowler's solution. Environ. Health Perspec. 95: 205-210.

Tokudome, S. and M. Kuratsune. 1976. A cohort study on mortality from cancer and other causes among workers at a metal refinery. Int. J. Cancer. 17: 310-317.

Tseng W.P., H.M. Chu, S.W. How, J.M. Fong, C.S. Lin, and S. Yen. 1968. Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. J. Natl. Cancer Inst. 40(3): 453-463.

Tseng W.P. 1977. Effects and dose-response relationships of skin cancer and Blackfoot disease with arsenic. Environ. Health Perspect. 19: 109-119.

U.S. EPA. 1984. Health Assessment Document for Inorganic Arsenic. Prepared by the Office of Research and Development, Environmental Criteria and Assessment Office, Reasearch Triangle Park, NC.

U.S. EPA. 1988. Special Report on Ingested Inorganic Arsenic; Skin Cancer; Nutritional Essentiality Risk Assessment Forum. July 1988. EPA/625/3-87/013.

U.S. EPA. 1993. Drinking Water Criteria Document for Arsenic. Office of Water, Washington, DC. Draft.

Vahter, M. and E. Marafante. 1988. In vivo methylation and detoxification of arsenic. Royal Soc. Chem. 66: 105-119.

Vig, B.K., M.L. Figueroa, M.N. Cornforth, S.H. Jenkins. 1984. Chromosome studies in human subjects chronically exposed to arsenic in drinking water. Am. J. Ind. Med. 6(5): 325-338.

Wan, B., R.T. Christian and S.W. Soukup. 1982. Studies of cytogenetic effects of sodium arsenicals on mammalian cells in vitro. Environ. Mutag. 4: 493-498.

Welch, K., I. Higgins, M. Oh and C. Burchfield. 1982. Arsenic exposure, smoking, and respiratory cancer in copper smelter workers. Arch. Environ. Health. 37(6): 325-335.

Wu, M-M., T-L. Kuo, Y-H Hwang and C-J. Chen. 1989. Dose-response relation between arsenic concentration in well water and mortality from cancers and vascular diseases. Am. J. Epidemiol. 130(6): 1123-1132.

REVISION HISTORY

Substance Name -- Arsenic, inorganic CASRN -- 7440-38-2

Date	Section	Description
06/30/88	II.B.	Revised last paragraph
06/30/88	II.C.1.	Inhalation slope factor changed
06/30/88	II.C.3.	Paragraph 2 added
09/07/88	II.B.	Major text changes
12/01/88	II.A.2.	Mabuchi et al. citation year corrected
12/01/88	II.A.3.	Pershagen et al. citation year corrected
09/01/89	II.C.2.	Citations added to anacondor smelter
09/01/89	VI.	Bibliography on-line
06/01/90	II.A.2.	2nd & 3rd paragraph - Text revised

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

06/01/90	II.A.4.	Text corrected
06/01/90	II.C.1.	Inhalation slope factor removed (format change)
06/01/90	IV.F.1.	EPA contact changed
06/01/90	VI.C.	References added
12/01/90	II.B.	Changed slope factor to "unit risk", 2nd para, 1st sen
02/01/91	II.C.3.	Text edited
09/01/91	I.A.	Oral RfD summary now on-line
09/01/91	I.A.	Oral RfD bibliography added
10/01/91	I.A.1.	Conversion factor text clarified
10/01/91	IV.B.1.	MCLG noted as pending change
01/01/92	IV.	Regulatory actions updated
08/01/92	II.	Note added to indicate text in oral quant. estimate
10/01/92	VI.C.	Missing reference added to bibliography
02/01/93	I.A.4.	Citations added to second paragraph
02/01/93	VI.A.	References added to bibliography
03/01/93	VI.A.	Corrections to references
03/01/94	II.D.2.	Work group review date added
06/01/94	II.	Carcinogen assessment noted as pending change
01/01/95	II.	Pending change note revised
01/01/95	II.B.	Dates and document no. added to oral quant. estimate
06/01/95	II.	Carcinogenicity assessment replaced
06/01/95	VI.C.	Carcinogenicity references replaced
07/01/95	II.D.1.	Documentation year corrected; review statement revised
07/01/95	VI.C.	U.S. EPA, 1994 corrected to 1993

SYNONYMS

Substance Name -- Arsenic, inorganic

CASRN -- 7440-38-2

Last Revised -- 02/10/88

7440-38-2

Arsenic

Arsenic, inorganic

gray-arsenic

==========

End of IRIS Substance File

Last updated: February 6, 1998

URL: http://www.epa.gov/ngispgm3/iris/subst/0278.htm

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

6.3 Evaluacion de riesgos para la fauna silvestre

6.3.1 Introducción

En el cuerpo principal del texto se trató la evaluación de riesgos para la salud humana, en este anexo, utilizando los mismos principios se va a presentar un ejercicio de como estimar las concentraciones máximas permisibles de tóxicos ambientales para proteger a otros miembros de la biota.

La evaluación de riesgos para la salud humana cuenta con un fuerte apoyo de ciencias biológicas bien desarrolladas tales como la toxicología, la farmacología, la bioquímica y la fisiología humana, así como, de las ciencias de la tierra y la fisicoquímica necesarias para analizar y predecir el comportamiento de los tóxicos en el medio ambiente.

Además se cuenta con una cantidad considerable de información y una metodología definida, de tal manera que, aunque sea un proceso laborioso, es posible, en la mayoría de los casos, llegar a estimar, con diferentes niveles de incertidumbre, el peligro para la población debido a la presencia de una determinada substancia peligrosa en un sitio.

Cuando el blanco es alguna otra especie de la biota, la información relevante puede ser que no esté disponible, o no esté organizada para utilizarse en la evaluación de riesgos.

Para identificar las vías de ingreso y excreción del tóxico, cuantificar las tasas de contacto entre el medio contaminado y los miembros de la población que queda expuesta, así como los mecanismos de activación y de eliminación del tóxico en la especie de interés es indispensable conocer la anatomía, fisiología y bioquímica de la especie blanco.

Es necesario contar con la información sobre la toxicidad de las substancias presentes en el sitio contaminado, obtenida en estudios realizados en la especie blanco. Si solo se cuenta con información toxicológica generada en otras especies, se podrán hacer extrapolaciones utilizando factores de incertidumbre.

Al igual que en el caso de la estimación de índices de toxicidad para humanos a partir de datos obtenidos con modelos animales, las extrapolaciones interespecies tendrán más validez si se cuenta con estudios de metabolismo comparado entre la especie blanco y la especie estudiada en el laboratorio. Para el caso de peces, se cuenta con modelos para estimar toxicidad en una especie basándose en información generada en otra especie, esto es de gran utilidad cuando la especie que se desea estudiar no se puede crecer en el laboratorio.

Cuando se evalúan riesgos para la biota silvestre, es conveniente tener en cuenta que éstas integran ecosistemas complejos, donde no necesariamente se pueden extrapolar los datos obtenidos en condiciones controladas en laboratorio. En las exposiciones experimentales se estudian los efectos producidos por un solo agente peligroso disuelto en el agua sobre una sola especie. En algunos experimentos se han utilizado modelos un poco más realistas del ambiente natural, tales como los microcosmos y los mesocosmos.

Se tiene, hasta cierto punto, una ventaja en los estudios toxicológicos de especies diferentes que la humana, en el hecho de que se puede generar información toxicológica en experimentación con individuos de la especie de interés. En toxicología acuática para proteger un determinado pez se estudia el efecto de los tóxicos en ese pez.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

6.3.2 Los plaguicidas en el ambiente

La mayoría de las substancias químicas, o sus productos de degradación, hayan sido utilizadas en la industria o en la agricultura, eventualmente llegan a los ambientes acuáticos. Por esta razón es de gran importancia el estudio de la toxicología de la biota en estos ambientes.

A continuación, esta revisión se centrará en el efecto causado por la llegada de plaguicidas al ambiente acuático, especialmente el DDT y sus productos de degradación debido a las características de estos productos como son su alta toxicidad a toda la fauna acuática, su persistencia y bioacumulabilidad.

6.3.2.1 Generalidades sobre plaguicidas

El hombre ha tratado de modificar la naturaleza para satisfacer sus necesidades. Por ejemplo, para reducir las pérdidas producidas por las plagas ha hecho uso intensivo de los plaguicidas con resultados mixtos; unos buenos y otros malos.

Sin duda, el uso de agroquímicos tóxicos ha contribuido a incrementar la disponibilidad de alimentos para el hombre y el uso de DDT ha evitado que más de mil millones de individuos padezcan malaria.

Sin embargo, la agricultura moderna ha incrementado también la disponibilidad de alimentos para muchos otros organismos, entre ellos las plagas. Se dice que las plagas para los cultivos comerciales empezaron a ser un problema cuando se inició la agricultura intensiva.

Los insecticidas artificiales se empezaron a usar intensivamente en la década de los cuarenta, y desde entonces, el número de especies de insectos que atacan los cultivos comerciales se ha incrementado significativamente. Las plagas menores se convierten en plagas mayores, al eliminarse algunas especies predadoras naturales, o bien cuando los insectos se vuelven resistentes a algunos insecticidas después del uso prolongado de una determinada substancia. Por ejemplo, el cultivo del algodonero, en un principio era atacado por dos especies de insectos, posteriormente se incrementó en 5 el número de especies que se tvieron que controlar y, actualmente se considera necesario aplicar insecticidas contra diez plagas.

La guerra química que se ha librado contra los insectos perjudiciales, durante más de 50 años, con la falsa expectativa de eliminar completamente las plagas ha dañado más al ambiente de lo que ha logrado ahuyentar las amenazas de las pestes.

El efecto más indeseable derivado del uso intenso de plaguicidas es el envenenamiento de las especies silvestres que no eran el blanco intencionado de estos tóxicos, especialmente aquellas especies silvestres que habitan ambientes acuáticos.

Los insecticidas organofosforados son significativamente menos tóxicos que los organoclorados y mucho menos recalcitrantes. Las concentraciones de órganoclorados en agua que producen toxicidad aguda en peces son tres órdenes de magnitud menores que en el caso de los organofosforados. Los índices de toxicidad aguda de estos últimos están en el orden de los mg/L (o ppm), mientras que en el caso de los organoclorados los niveles de los índices de toxicidad aguda están en el orden de los ug/L. (o ppb). Prácticamente todos los insecticidas causan lesiones en las exposiciones crónicas

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los herbicidas son menos tóxicos para los peces que los insecticidas, sin embargo pueden tener un efecto indirecto, cuando se aplican para controlar hierbas acuáticas. En este caso incrementan significativamente la cantidad de materia vegetal muerta en el cuerpo de agua, cuya putrefacción consume grandes cantidades de oxígeno disuelto, produciendo ambientes hipóxicos..

6.3.2.2 Características del DDT

En la literatura ambiental, el término DDT se usa para referirse a la mezcla de DDT con sus metabolitos y productos de degradación que todavía son tóxicos, el DDE y el DDD. A la mezcla de estos tres compuestos también se le denomina DDT total.

Es un compuesto lipofílico muy poco soluble en agua, 3.4 ppb, y muy soluble en disolventes no polares. Tiene un alto coeficiente de partición octanol/agua, el logaritmo de este coeficiente es 6.19. Los metabolitos del DDT también son muy hidrofóbicos, el logaritmo del coeficiente de partición son 7.0 para el DDE y 6.2 para el DDD. Debido a esta propiedad, el DDT se bioacumula en los organismos, alcanzando concentraciones mucho mas altas que las existentes en el medio de contacto.

Es una substancia que es tóxica, en concentraciones muy bajas, a un espectro muy amplio de organismos, afectando a prácticamente todos los integrantes de la fauna silvestre.

Es muy poco reactivo y por lo tanto permanece en el ambiente inalterado durante períodos muy prolongados, y los productos de degradación, tanto en el ambiente como dentro de los organismos, son también substancias muy estables.

Las concentraciones ambientales continúan siendo altas, aún en las regiones cuyo uso se prohibió desde 1972. Por ejemplo, la aspersión con 0.25 Kg. de DDT/Ha para controlar las plagas en un bosque de coníferas, produjo la muerte de las truchas que vivían en las aguas de ese bosque, y 15 años después de su aplicación, en las áreas donde se aplicó, se encontró DDT presente en todos los componentes del ambiente (agua, lodos, insectos, peces y pájaros) en concentraciones más altas que en los sitios no tratados. La concentración en las truchas, al tiempo de la aplicación fue de 21 ppm, la cual disminuyó significativamente en dos años, pero, de allí en adelante, se mantuvo prácticamente constante durante más de diez años en el que se estuvo monitoriando el sitio

Debido a su gran toxicidad, persistencia prolongada y bioacumulabilidad, el DDT ya no se utiliza para combatir plagas agrícolas o domésticas, su uso está restringido al combate de insectos vectores de enfermedades del hombre (malaria, tifo, dengue). Se han celebrado acuerdos internacionales para eliminar completamente su uso y se está experimentando para substituirlo, en el combate de vectores, por otros insecticidas menos persistentes y tóxicos para el hombre y la fauna silvestre.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

6.3.2.3 Monitoreo Ambiental del DDT

Se puede encontrar en el suelo, en la atmósfera, en los cuerpos acuáticos y en la biota.

Cuando se absorbe en las partículas de suelo es muy estable y, de allí se lixivia y puede alcanzar las diferentes corrientes de agua varios años después de que fue aplicado. Se ha reportado que algunos suelos de huertas comerciales contienen concentraciones de DDT cercanas a 400 ppm, a pesar de no haber recibido aplicaciones de este producto por más de 15 años.

El DDT se puede transferir a la atmósfera por medio de la erosión del suelo (polvos) y por volatilización, a pesar de que la presión de vapor de esta substancia es muy baja a temperatura ambiente. Se han detectado concentraciones medibles en la fase gaseosa de la atmósfera, sin que el DDT esté absorbido en las partículas sólidas. Se estima que el DDT se evapora con una velocidad de 100g/Ha/año en el suelo inerte. La velocidad de evaporación es menor en suelos con materia orgánica.

En la atmósfera se puede trasladar grandes distancias. Por ejemplo, en 1977, se analizó una muestra de aire tomada sobre el Golfo de México, a gran distancia de la costa, y se detectó DDT con una concentración de 0.034 ng/m^3 aire. El DDT se encontró en la fase gaseosa y no en las partículas de polvo.

El DDT también se puede trasladar grandes distancias en el mar. Se ha detectado en peces de fondo de mar en regiones apartadas que no tienen contacto directo con áreas en las que se aplicó este insecticida.

Antes de la prohibición del uso del DDT, se encontró este compuesto en aproximadamente el 10% de las muestras de agua superficiales que se analizaron. La concentración de DDT estuvo en el rango de 5 a 316 ppt. En la actualidad, esas corrientes de agua continúan dando resultados positivos. Por ejemplo en 1983 se tomaron 5 700 muestras de aguas ambientales en Estados Unidos, de ellas el 45% dieron resultados positivos para DDT total.

En el 8% de 1000 muestras obtenidas en 177 sitios, entre 1975 y 1980, se encontró que las concentraciones promedio de DDT, DDE y DDD eran de 26, 31 y 42% respectivamente. La mediana de las concentraciones de DDT total en sedimentos de esos cuerpos de agua fue de 100 ppt en base seca y la concentración en algunos miembros de la biota fue de 14 millones de ppt.

6.3.2.4 Monitoreo Biológico del DDT

Los peces absorben DDT del agua respirada, del agua ingerida, de los sedimentos y de los alimentos. Lo bioacumulan, ya sea como DDT o como sus metabolitos y, la relación de concentraciones del compuesto original a metabolitos varía dependiendo del ambiente en el que se encuentre el pez y del tiempo transcurrido desde la exposición. Por ejemplo; en un pez estuarino capturado en su ambiente natural, se encontró que contenía 170 ug/Kg de DDT total, aproximadamente la mitad se encontraba en forma de DDT y el resto como sus metabolitos.

En los animales marinos, la mayoría del DDT se encuentra en forma de metabolitos, siendo el DDE la especie prevalente. La concentración de DDT total se correlaciona con la edad del pez. En truchas de los Grandes Lagos se encontró que la concentración en animales menores

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

(50 a 150 mm de longitud) era de 1.3 ppm mientras que en animales mayores (de 558 a 684 mm de longitud) la concentración fué de 18.1 ppm.

En 147 muestras ambientales tomadas antes de la prohibición se encontró DDT total en todas las muestras de peces y los niveles detectados han ido disminuyendo con el paso del tiempo. La media fué de 1.2 ppm en 1969 y de 0.3 ppm en 1981.

La concentración de plaguicidas en peces crecidos en condiciones experimentales presenta una gran variabilidad, la desviación estándar es en el orden de 30% de la media.

Siendo el DDT y sus metabolitos compuestos muy liposolubles y persistentes, se producen grandes bioacumulaciones en el tejido graso, o sea las concentraciones en este tejido son mucho mayores que las que se encuentran en los medios ambientales.

El DDT que se encuentra disuelto en el agua en los ambientes naturales es bioacumulado por el plankton, insectos, moluscos, otros invertebrados y los peces. Como estos organismos forman parte de la cadena trófica en el ambiente acuático, el DDT es biomagnificado en cada uno de esos eslabones. Por este mecanismo las especies mayores que forman los pasos finales de la cadena pueden llegar a presentar concentraciones muy altas de tales residuos aunque las concentraciones en el agua sean muy bajas.

En el caso del pez mosquito se ha observado la biomagnificación a partir de DDT en sedimentos, en el caso de la carpa se observa una biomagnificación de 28.7 con respecto a la concentración en plankton y de 21 para anfípodos/sedimentos. El hombre es un consumidor final de estos organismos.

Se denomina “factor de bioconcentración” o FBC a la relación de concentraciones de equilibrio del tóxico en un tejido y en el medio al que fué expuesto el pez. El FBC en la trucha arco iris es 12 000 y puede resultar tanto de la ingesta de alimento contaminado como de la respiración de agua contaminada. Hay otras especies de peces donde el FBC puede ser mucho más grande, en el orden de 100 mil.

6.3.3 Toxicología de peces

Los principales tóxicos que causan daños en peces son los iones metálicos, el cloro, cianuros, amoniaco, detergentes, plaguicidas, bifenilos policlorados, hidrocarburos del petróleo y efluentes de plantas de papel.

La contaminación del agua en general afecta a la población de peces. Algunas substancias inducen hipoxia, ya sea por la reducción de la concentración del oxígeno disuelto en el agua, por la modificación de las branquias disminuyendo la velocidad de transferencia del oxígeno, o bien afectan el metabolismo de este elemento.

Los tóxicos mencionados anteriormente pueden afectar el metabolismo en muy distintas formas, por ejemplo, la modificación del nivel de una enzima, la permeabilidad de una membrana o alteran algún organelo celular. Estos cambios pueden afectar la integridad celular, la eficiencia energética de la célula o la velocidad de excreción de un metabolito, etc. Si los cambios son lo suficientemente severos, pueden provocar la muerte de un número considerable de células en un órgano determinado produciendo una necrosis visible al microscopio óptico y considerarse una respuesta tóxica observable.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

El mecanismo de acción de algunos tóxicos depende de la concentración de exposición. Por ejemplo la exposición a concentraciones altas de zinc (1.5 mg/L) produce una caída rápida del pH y del nivel de oxígeno sanguíneo produciendo la muerte del pez en 12 horas por acidosis e hipoxia. En cambio con una exposición por tres días a concentraciones más bajas (0.8mg/L), el pez experimenta un incremento en el pH y no tiene efecto sobre el nivel de oxígeno en sangre. La exposición a 0.8mg/L es también letal por un mecanismo de acción desconocido pero que sin duda es diferente al que sucede a concentraciones más elevadas.

La lesión en un órgano puede afectar la homeostasis del organismo completo. Por ejemplo, un tóxico puede causar engrosamiento y necrosis en el epitelio branquial, lo anterior puede reducir la permeabilidad del oxígeno en este órgano, afectando la función respiratoria y por lo tanto producir una hipoxia. Lo mismo se puede decir que cualquier substancia que afecte el sistema nervioso, afectará el comportamiento del pez impactado.

Las modificaciones en una especie, sea esta presa o predador, puede afectar a toda la biota de un ecosistema.

En el caso del efecto del DDT en los peces, este compuesto se acumula en tejido graso, aunque los tejidos blanco son el sistema nervioso y el intestino, donde las exposiciones crónicas afectan la absorción de varios nutrimentos esenciales como los electrolitos y los aminoácidos.

6.3.3.1 Ingreso de Xenobióticos en peces

El término ingreso describe el proceso por medio del cual una substancia es introducida al cuerpo del pez. La cantidad que se acumula dependerá del balance de material dentro del pez, o sea dependerá de la velocidad de ingreso, la tasa metabólica y la velocidad de excreción.

Un pez debe de respirar 20 veces más de su medio respiratorio (agua), que un animal terrestre, para obtener una cantidad equivalente de oxígeno. Por ejemplo; una trucha de 250g, en reposo, pasa aproximadamente 50L/h por sus branquias.

Las branquias son el principal lugar de ingreso para substancias disueltas en el agua. Este tejido está expuesto a cantidades mucho mayores de tóxicos que los pulmones de un animal terrestre. En las branquias el agua y la sangre fluyen a contracorriente, el epitelio es muy delgado, sólo dos capas de células, con una gran área de contacto. Estas son características que facilitan la absorción y son similares a las que se presentan en el epitelio de los órganos de absorción de los animales terrestres.

Hay tres rutas posibles para el ingreso de una substancia a un pez: el sistema respiratorio (las branquias), la ingesta de agua y alimento (tracto gastro-intestinal) y la absorción cutánea (la piel).

Hay tóxicos que son principalmente absorbidos de los alimentos y otros del agua respirada. Por ejemplo; el 90% del mercurio acumulado en los peces entra vía la ingesta.

La importancia de la piel como vía de entrada varía de una especie a otra, siendo más importante en las especies de pequeño tamaño. En animales de menos de 4g de masa corporal la exposición cutánea puede representar hasta el 50% de la dosis absorbida, mientras que en peces de más de 1Kg de masa es menos del 10%.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Los xenobióticos inhalados se distribuyen más rápidamente a los tejidos que los ingresados por vía digestiva. En este último caso, al igual que en los animales terrestres, los tóxicos tienen que ser digeridos, absorbidos y transportados por el sistema portal al hígado antes de ingresar al sistema circulatorio general.

Algunas especies adquieren oxígeno por respiración dérmica (hasta el 10% del oxígeno), el cual es usado por los tejidos cercanos a la piel. Lo mismo sucede con los tóxicos absorbidos por esta vía, que afectan principalmente los tejidos cercanos a la piel.

La velocidad de absorción y el sitio de absorción dependen de las propiedades físico/químicas del xenobiótico, de la vía de exposición y de las características del animal.

6.3.3.2 Pruebas de Toxicidad

El propósito de las pruebas de toxicidad es obtener información útil para lograr la protección de los organismos acuáticos de una especie determinada o, de todas las comunidades que integran la biota de un ecosistema, de los peligros ocasionados por las substancias peligrosas arrojadas al ambiente por el hombre.

En el caso de peces, cuando el tóxico se encuentra disuelto en el agua, en lugar de la dosis se reporta la concentración del tóxico en el agua y, esta es la variable contra la cual se gráfica la respuesta tóxica.

A las exposiciones a concentraciones que producen la muerte en 96 horas o menos se les denomina exposiciones agudas, mientras que las exposiciones de mayor duración a concentraciones subletales se les denomina exposiciones crónicas. La duración de estas exposiciones crónicas experimentales puede ser por un período del desarrollo, pueden ser vitalicias o extenderse por períodos de más de una generación.

En el caso de los estudios de toxicidad aguda, la respuesta que se mide es la muerte de los individuos en estudio. La mayoría de los estudios de toxicidad aguda en peces reportan los resultados calculando la LC50, que es la concentración que resulta letal para el 50% de los peces expuestos durante un período especificado. Antes de las letras LC se acostumbra escribir la duración de la exposición expresada en horas. Normalmente se reportan las LC50 para exposiciones de 96 horas, o sea las 96LC50.

A las concentraciones del tóxico que están por abajo de las respuestas sub-letales se les denomina nivel de no efecto. A la LC50 se le llama concentración letal y las concentraciones mayores a la LC50 se dice que forman el rango letal.

El tiempo de resistencia se define como la mediana del tiempo letal, LT50, el cual se refiere al tiempo de exposición que es necesario para que muera la mitad de los individuos en las condiciones de experimentación.

En estudios fisiológicos y en exposiciones crónicas se miden otras respuestas diferentes que la muerte. Se pueden medir la velocidad de ciertas funciones y la concentración de metabolitos. Por ejemplo: la tasa de respiración, la velocidad de nado, la tasa de consumo de oxígeno, la concentración de electrolitos o de glucosa en suero, el nivel de glutatión hepático, etc. También se miden los niveles de algunas enzimas.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

La respuesta fisiológica es una modificación en una o más de las variables mencionadas en el párrafo anterior, causadas por una modificación ambiental. Cuando las modificaciones fisiológicas tienen como propósito mantener la homeostasis se le llama respuesta, si el cambio refleja el rompimiento de una función fisiológica se le denomina efecto.

Desde el punto de vista de la protección del ambiente, el parámetro que se trata de determinar en los estudios de toxicología acuática es la concentración del tóxico que se puede permitir en un cuerpo de agua, sin que cause daño significativo a la biota residente o a una especie determinada de ese consorcio. Este parámetro normalmente se determina en exposiciones crónicas y es la base para el establecimiento de las normas o criterios de calidad del agua.

El parámetro toxicológico que más comúnmente se mide experimentalmente para evaluar el impacto ambiental de una substancia, es la toxicidad aguda expresada como 96LC50. También se mide la pendiente de la curva de concentración/respuesta construida a partir de una serie de LC50 a períodos fijos, por ejemplo 3, 6, 24, 48 y 96 horas. La pendiente de la curva tiene significación si la concentración del tóxico se puede mantener constante durante todos y cada uno de los períodos experimentales. Esto no es muy fácil de lograr debido a las pérdidas del tóxico por evaporación o por transformaciones fisco/químicas durante la prueba.

Como es de esperarse, los valores de LC50 varían con la temperatura de experimentación y con el nivel de oxígeno disuelto en el agua. La hipoxia puede aumentar la toxicidad de un compuesto, aunque en algunas especies sucede lo contrario. El aumento de temperatura incrementa la tasa metabólica

La experimentación a concentraciones subletales se llevan a cabo con exposiciones crónicas de duración mucho más prolongadas que las exposiciones agudas y las más usadas son las siguientes:

Pruebas de ciclo vital En esta prueba todos los estadios del ciclo vital son expuestos al agente tóxico. La prueba se inicia con los huevos o etapas embrionarias tempranas y se exponen hasta la madurez, la ovodeposición y se continúa hasta que la progenie tiene 30 días de edad.

Pruebas de ciclo parcial Son similares a la prueba crónica anterior, pero se inicia con juveniles y se continua hasta que la progenie cumple 30 días de edad. Se usa con especies que requieren períodos prolongados para madurar.

Pruebas de embrión-larvas Se observa el efecto del tóxico sobre estos dos estadios de desarrollo.

Prueba de velocidad de respiración Se mide el efecto del tóxico sobre la velocidad de respiración en un experimento de flujo continuo.

En base a experimentos a concentraciones subletales, se identifican los siguientes parámetros:

- la concentración más alta que no produce efectos sobre el crecimiento, reproducción, sobrevivencia del pez de prueba, éxito de la eclosión y crecimiento de la progenie
- la concentración más baja que afecta cualquiera de las variables fisiológicas anteriores.

Al rango entre los dos valores se le conoce como la **Concentración Máxima Aceptable del Tóxico o CMAT.**

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Las pruebas crónicas 1 y 2 son de muy alto costo y larga duración, pueden llegar a requerir varios meses, las pruebas de embrión-larva toma semanas y las pruebas de ventilación requieren de 2 a 5 días. Los valores de CMAT calculadas con estas dos últimas pruebas son comparables a los estimados con las pruebas de larga duración.

Se pueden hacer también *in vivo* e *in vitro* para estimar la CMAT. Entre las más comunes están las observaciones del comportamiento de los cardúmenes, pruebas histológicas e histopatológicas, biomarcadores, cultivo de tejidos, monitoreo biológico (bioconcentración/bioacumulación), etc. Los problemas que se tienen con estas pruebas es que algunas son subjetivas y en otras, no se ha identificado claramente la relación de los valores que se obtienen con la supervivencia que pueda tener la especie en condiciones naturales.

6.3.3.3 Estimación de índices de toxicidad

La selección de parámetros fisiológicos o bioquímicos para estimar el estado de salud de peces en cultivos experimentales, o sea biomarcadores es, en la actualidad, un campo de investigación muy activo. Aún no se llega a un acuerdo sobre cuál es la respuesta tóxica más adecuada a medir en la determinación de índices toxicológicos para utilizarse en evaluación de riesgos ambientales.

Se ha estado tratando de identificar la especie de pez que se pudiera considerar "la rata blanca acuática" para hacer la determinación experimental de índices de toxicidad y extrapolar estos valores a otras especies más difíciles o imposibles de crecer en el laboratorio.

Para hacer la extrapolación entre especies de peces se han propuesto algunos modelos sencillos en los que se hace el uso de los pocos valores de CMAT determinados experimentalmente y de las bases de datos más amplias de valores de LC50 disponibles. Se calcula un "factor de aplicación" o "FA" para la especie en la que se conocen los dos parámetros para una determinada substancia:

$$\mathbf{FA = CMAT_1/96LC50_1}$$

El CMAT de la especie para la que no se ha determinado experimentalmente este parámetro pero que se conoce su 96LC50 para el mismo compuesto, se estima de la siguiente manera:

$$\mathbf{CMAT_2 = 96LC50_2 \times AF}$$

También se ha propuesto estimar las concentraciones máximas ambientales tolerables, sólo en base a las LC50. Para plaguicidas degradables se propuso usar un valor igual al 5% de la 96LD50. Para otras substancias se han propuesto valores muy diferentes que van desde el 10% de la 48LC50 hasta 96LC50 x 10^{-4}, aunque este último valor se considera que es sobreprotector. Desde luego que es mucho mejor la determinación del CMAT en experimentos crónicos a concentraciones subletales, porque incluye observaciones en todos los estadios de desarrollo.

Algunos investigadores critican las pruebas toxicológicas hechas en acuarios en los que se estudia la exposición de una sola especie a un solo tóxico. Consideran que estas pruebas de

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

laboratorio, no arrojan resultados que se puedan considerar subrogados de los que se podrían observar en los ambientes naturales. En el ecosistema podría ser que la biodisponibilidad no fuera la misma que cuando el tóxico se encuentra totalmente disuelto en el agua en el ambiente experimental. Por ejemplo; en el ecosistema el tóxico se puede distribuir a los sedimentos y partículas en suspención, la temperatura y la concentración del oxígeno disuelto pueden variar de un lugar a otro y también cambiar con el tiempo siguiendo un ciclo circadiano. La sobrevivencia de la especie en estudio puede verse afectada si el cambio de comportamiento lo convierte en una presa más accesible.

6.3.3.4 Ejemplo de estimación de la concentración ambiental máxima permisible

La mayoría de los valores de 96LC50 y de CMAT publicados son para especies de aguas templadas o frías. Sin embargo, en el caso de México los ambientes marinos en la mayoría de las costas son tropicales cálidos, excepto en la costa del Pacífico de la península de Baja California.

En ausencia de datos experimentales obtenidos con especies nativas en las condiciones de temperatura similares a los existentes en los ecosistemas tropicales se hace necesario extrapolar los valores existentes obtenidos con otras especies en otras condiciones experimentales, para aplicarlos para estimar las concentraciones máximas permisibles que sean protectoras de la fauna existente en los ambientes marinos y estuarinos del país.

Se sabe que la toxicidad se incrementa con la temperatura para la mayoría de las especies y para la mayoría de las substancias.

Se cuenta con la siguiente información toxicológica para el DDT en peces:

96LC50 en bluegills: 3.4 ug/L

Para la protección de la salud humana se tienen los siguientes datos para DDT:

Criterio de calidad de agua	$5.9x10^{-4}$ ug/L
MRL	0.5 ug/Kg/día
DdR	0.5 ug/Kg/día
Unidad de riesgo	$9.7x10^{-6}$ ug/L
Factor de pendiente oral	$0.34(mg/Kg/día)^{-1}$
De la experimentación con roedores de laboratorio NOAEL	610 ug/Kg/día

El valor de CMAT de Endrín, otro insecticida organoclorado, para la misma especie de pez que se usó para la determinación del 96LC50 de DDT, es el siguiente:

CMAT a partir de pruebas crónicas y de embrión-larva	0.22– 0.3 ug/L

El valor de CMAT para Endrín, es el 10% del 96LC50 determinado para DDT para un pez de los Grandes Lagos. En la literatura se ha recomendado la estimación del CMAT en base al

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

valor del 96LC50 de una misma substancia y para misma especie multiplicando este último valor por 0.1, por lo que se puede inferir que la toxicidad del Endrín para peces es muy similar a la del DDT.

Una extrapolación posible para obtener la concentración ambiental máxima permisible para proteger peces tropicales de DDT, podría estimarse utilizando un factor de incertidumbre de 10 con respecto al CMAT de Endrín por cambio de substancia y un factor de 10 por el cambio de condiciones de temperatura y de especie.

Esto nos daría un criterio de calidad del agua para protección de especies de peces tropicales de 3 ppt (0.003 ug/L de DDT), que es similar al 0.1% del 96LC50 de DDT de la especie de aguas frías. Para hacer menos drástico este criterio de protección ambiental es necesario contar con información experimental que reduzca el nivel de incertidumbre.

Es conveniente hacer notar que el 96LC50 de DDT mencionado anteriormente, es idéntico a la concentración de saturación del DDT en agua a 25° C (3.4ppb).

El valor propuesto aquí para la protección de peces tropicales es 10 veces mayor que el criterio de calidad de agua para la protección de la salud humana.

En algunos estados de EUA se tienen criterios de calidad de agua para protección de ecosistemas del mismo nivel que los criterios para la protección de la salud humana.

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

7 ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

7.1 Lista de Figuras

Figura 1.1.1.A	Estructura de un Aminoácido	15
Figura 1.1.1.B	Enlace Peptídico	15
Figura 1.1.1.C	Estructura Tridimensional de una Proteina	16
Figura 1.1.1.D	Estructura de las Bases Nitrogenadas	19
Figura 1.1.1.E	Estructura de un Nucleótido	20
Figura 1.1.1.F	Unión Fosfodiester en los Acidos Nucleicos	20
Figura 1.1.1.G	Estructura de los Pares de Bases	21
Figura 1.1.1.H	Estructura de la Doble Hélice	22
Figura 1.1.1.I	Mecanismo de replicación, transcripción y traducción	24
Figura 1.1.1.J	Metabolismo Energético	29
Figura 1.1.2.A	Representación Esquemática de una Célula	32
Figura 1.1.2.B	Estructura de la Membrana Celular	33
Figura 1.1.2.C	Estructura del Núcleo	35
Figura 1.1.2.C	Esquema de una Mitocondria	37
Figura 1.1.3.A	Representación esquematica del Intestino Delgado	40
Figura 1.1.3.B	Representación Esquemática del Tracto Respiratorio	42
Figura 1.1.3.C	Representación Esquemática de la Piel	43
Figura 1.1.3.D	Representación Esquemática del Hígado	47
Figura 1.1.3.E	Representación esquemática del Riñón	49
Figura 2.3	ADME	67
Figura 2.3.4.A	Reacciones Comunes de Oxidación en la Fase I	78
Figura 2.3.4.B	Reacciones de Reducción Catalizada por Citocromo P-450	78
Figura 2.3.4.C	Reacciones de Exposición de Grupos Funcionales	79
Figura 2.3.4.D	Reacciones de Conjugación de Fase II	82
Figura 2.3.4.E	Ejemplos de Reacciones de Bioactivación	84
Figura 2.3.5.A	Concentración vs Tiempo.Cinética de Primer Orden	86
Figura 2.5.1.A	Curva Dosis-Respuesta	108
Figura 2.5.1.B	Curva Dosis-Respuesta. Compuesto que presenta las tres curvas	109
Figura 2.5.1.C	Potencia y Eficacia de 3 Compuestos	110
Figura 3.2.2.A	Descripción de la Ruta de Exposición	129
Figura 4.3.1.A	Proceso de Bioremediación *in situ* de agua y suelo	176
Figura 4.3.1.B	Biorestauración ex situ de agua y suelo	178
Figura 4.3.1.C	Fito-restauración	180
Figura 4.3.2.A	Deshalogenación. Remediación *ex situ*	182
Figura 4.3.2.B	Muros de Tratamiento	184
Figura 4.3.3	Procesos de Extracción *in situ*.	185

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

7.2 Lista de Tablas

Tabla 1.1.1.A	El Código Genético	25
Tabla 1.1.1.B	Mutaciones del ADN	26
Tabla 1.1.1.C	Mutágenos y su Efecto sobre el ADN	27
Tabla 2.3.4.A	Capacidades y Afinidades de las Reacciones de Conjugación	81
Tabla 2.4.2.A	Ocupaciones que Incrementan el Riesgo de Cáncer	98
Tabla 2.4.2.B	Tóxicos con Susceptibilidad Diferente en Cada Sexo en la Rata	101
Tabla 2.4.2.C	Herencia y cáncer	102
Tabla 2.4.2.D	Efecto de la Edad en la Toxicidad	103
Tabla 2.5.2.A	Clasificación de la Cancerogenicidad por Peso de la Evidencia	117
Tabla 4.2.1.A	Criterios de Evaluación del NCP	166
Tabla 4.2.1.B	Ecuaciones para el Cálculo de las MPR	168
Tabla 4.2.1.C	Parámetros para el Cálculo de las MPR.	169
Tabla 4.2.1.D	Definición de Variables para el Cálculo de las MPR.	170

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

INDICE ANALÍTICO

- Aire exhalado 71
- Factores que afectan la toxicidad....92
- Información generada por el proyecto....154
- Riesgos agregados de varias substancias...143

A

Absorción 64
Absorción cutánea 67
ácidos nucleicos....13
Ácidos nucleicos
  Estructura 18
Actividades humanas....120
ADME
  Figura esquemática....64
ADN
  Acido Desoxyribonucléico 14
Aminoacidación....76
Aminoácido
  Estructura 15
aminoácidos....14
Análisis detallado de alternativas....163
Apoptosis....88
ARN
  Acido Ribonucléico....14
Aspectos legales....156
ATSDR....137

B

Barreras de degradación 172
Barreras de exclusión....69
Barreras de precipitación....173
Barreras de sorción 173
Bases Nitrogenadas
  Estructura 19
Bilis 71
Bioactivación
  Ejemplos....81
Biomarcadores....61
bioquímica 13
Biorestauración....165
Biorestauración *in situ* 167
Biotransformación Fase I....73
  Ejemplos....73
Biotransformación Fase II 73
Birestauración *ex situ*....168
Blanco....49
Blancos celulares....84
Blancos críticos....91
Bombeo biológico....170

C

Cabello....60
Cálculo de riesgos
  ejemplo demonstrativo 182
Capacidades y Afinidades
  de biotransformación, Tabla....77, 221
CARACTERIZACIÓN DE RIESGOS....128
Célula
  Figura 31
células 14
Citoesqueleto 37
Citología....14, 30
Citoplasma 34
Consideraciones
  sobre el tiempo y la via de exposición....109
CUANTIFICACIÓN DE TÓXICOS
  en el organismo 58
Curvas Dósis-Respuesta....102

D

Daño celular....84
Definición de las metas preliminares de restauración
 155
Desarrollo inicial de las MPR
  Cálculo de 157
Descripción de las poblaciones....119
Descripción del sitio 118
Deshalogenación....171
Deshalogenación catalítica 171
Desorción térmica....176
Dieta y Estado Nutricio 100
diseño del muestreo biológico 58
Distribución 68
Dosis 51
Dosis **d**e **R**eferencia (DdR)
  Derivación de DdR....107
dosis suministrada
  cálculo de 125
DOSIS-RESPUESTA....101

E

Edad....98
Efecto tóxico....50
Efecto tóxico crítico....106
Efectos Cancerígenos
  no tolerancia....110
Efectos no-cancerígenos
  tolerancia....107
Ejemplos demostrativos....182
El Código Genético

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Tabla 25
Embarazo 97
Enjuague del suelo *in situ* 174
enlace peptídico.....15
Enzimas.....14, 17
Escenario de exposición 118
Establecimiento de los objetivos
de remediación 155
Estado de Salud.....100
Estado fisiológico 97
Estado Hormonal.....99
ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN 118
Estimación de riesgos 139
Estrategia de prevención.....178
Estructura del proyecto
de remediación 153
Estudio de viabilidad 154
ESTUDIOS DE VIABILIDAD 155
Evaluación de la exposición 129
Evaluación de riesgos
para la prevención 180
salud humana.....54
EVALUACIÓN DE RIESGOS AMBIENTALES
.....115
Excreción.....70
exposición
cuantificación de 125
frequencia y duración de 126
Exposición **M**áxima **R**azonable.....49
Extracción.....173
Extracción con disolventes 175
Extracción de vapores.....174

F

Factores de pendiente 138
Factores genéticos.....95
Fisiología 37
Fitodegradación 169
Fitoextracción 169
Fitorestauración 169
Fitovolatilización 170
Fuente 122

G

Genotoxicidad.....89
Glucuronidación 76
Glutationización.....76

H

Heces 71
Herencia.....96
hidrocarburos.....169
Hígado
Figura 43

I

incertidumbres
evaluación de 131
Incertidumbres.....127
Indices de toxicidad.....106
Influencia del organismo receptor 95
Información contenida.....129
Información genética..... *See*
Ingestión 65
Inhalación 66
Interacciones químicas.....93
Interpretación de los resultados
discusión de 149
Intestino Delgado
Figura 38
Investigación para la restauración.....153
IRIS Substance File 185

L

la toxicidad
evaluación de 134
Lavado del suelo.....175
lesiones celulares *reversibles*.....87
lesiones *irreversibles* 87
Lisosomas 35
Localización.....120
Localización geográfica.....92

M

macromoléculas 13
Manejo de medios contaminados.....177
Marcadores de dosis biológicamente 62
Marcadores de enfermedades.....62
Marcadores de respuesta biológica.....62
Marcadores de susceptibilidad.....62
Marcadores internos de dosis.....61
Masa corporal.....127
Medio ambiente 48
Membrana celular
Figura 32
Metabolismo 27, 72
Metabolismo Energético
Figura 29
Metilación.....76
Método cualitativo.....133
Método Cuantitativo 132
Métodos biológicos.....165
Métodos químicos.....171
Microcuerpos 36
Microtúbulos y microfilamentos.....37
Mitocondria
Figura, cristas y matriz 36
Modelos de Predicción 180
Modificación de MPR 162

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/

Muerte Celular....87
Muestreo biológico....58
Muros de tratamiento....172
Mutaciones del ADN
Tabla de mutaciones....27
mutágenos
transición, transversión, transversión....27

N

Necrosis....88
NOAEL....106
Núcleo
Figura....33
Nucleótido
Estructura-Monofosfato de Adenosina....19

O

Obesidad....99
Ocupación....92
órganos....14
Orina....59, 71

P

Parámetros fármaco-toxicológicos
ED50, LD50, TD50, IT, MS....105
Pares de Bases
Estructura A-T, G-C....21
Peso de la Evidencia....111
Piel
Figura....41
Polietilenglicol-potasa....171
Potencia vs. Eficacia....104
Prevención de la contaminación....56
PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN178
proteínas....13
PROYECTO DE REMEDIACIÓN....152
Prueba de consistencia y validez....139
Pulmones
Figura....39
Punto de exposición....123

R

Reacciones de Conjugación de Fase II
Ejemplos....78, 220
Reacciones de Reducción
Ejemplos....74, 220
RESPUESTA TÓXICA
caracterización....84
Restauración ambiental....55
....152
Retículo endoplásmico....35
Riesgo....54
Riesgos agregados de varias rutas....146
Riesgos por substancias individuales
Formula....141
Riñones
Figura....46
Rizofiltración....169
ruta de exposición....122
Ruta de exposición....49
rutas significativas
Identificación de....124

S

Sangre....42, 60
Segregación de Índices de Peligro....148
Sistema IRIS....136
Subpoblaciones especiales....120
Sulfatación....76
Suma de riesgos de cáncer....147
Suposiciones básicas....52
Susceptibilidad individual....51

T

Tablas HEAST....136
Tasa de contacto....126
TCE....170
Técnicas de control....176
TECNOLOGIAS
de Restauración Ambiental....164
tejidos....14
Telomerasas....91
Tiempo de exposición
crónica, subcrónica y aguda....50
Toxicocinética
de primer orden....81
TOXICODINAMICA....63
Toxicología ambiental....48
Transporte a tejido graso....69
Transporte a tejidos especiales....69
Transporte hacia tejido óseo....69
Transporte y destino....122

U

Unidades de operación....162
Unión a proteínas....69
Unión Fosfodiester
Estructura....20

V

Vacuolas....35
Vía de exposición....50, 140
Vías de exposición....124
Virus....37
Visión global del proyecto
de remediación....153
Volumen aparente de distribución....70

© 2001 The University of Arizona http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/