

10
2º



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Estudios Superiores
CUAUTITLAN



“Absorción Intestinal de As(III) y As(V) Inorgánico en Organo Aislado”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C A
P R E S E N T A
HILDEGARTH SCHAUB GARCIA

Asesor: DR. PEDRO JAUGE PELUFFO
Coasesor: Q. RAFAEL GARCIA BARRERA

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN

INTRODUCCION	1
--------------	---

ARSENICO	3
----------	---

Antecedentes Históricos	3
-------------------------	---

Propiedades Químicas	4
----------------------	---

Distribución	5
--------------	---

Usos	6
------	---

Exposición Ambiental y Ocupacional	8
------------------------------------	---

Aire	9
------	---

Alimentos	12
-----------	----

Agua	15
------	----

Exposición Ocupacional	21
------------------------	----

Efectos de la Intoxicación arsenical	25
--------------------------------------	----

Efectos Agudos	26
----------------	----

Efectos crónicos	28
------------------	----

Mecanismos de Toxicidad	30
-------------------------	----

ABSORCION	34
-----------	----

Absorción gastrointestinal	35
----------------------------	----

Intestino Delgado	38
-------------------	----

Estructura de las membranas	45
-----------------------------	----

Sistemas de Transporte	48
------------------------	----

Difusión Simple	48
-----------------	----

Sistemas de Transporte mediado	52
--------------------------------	----

Transporte Facilitado	54
Transporte Activo	55
OBJETIVOS	57
DESARROLLO EXPERIMENTAL	59
Reactivos	59
Soluciones	60
Aparatos y Equipo	60
Material Biológico	60
Preparación del Tejido	61
Cámara de Absorción	64
Montaje del Tejido en la Cámara de absorción	65
Preparación del Experimento de Absorción	66
Determinación de Arsénico	68
Determinación de Arsénico en Solución	69
Determinación de Arsénico en Tejido	69
DISEÑO EXPERIMENTAL	71
Estudio Preliminar de la Absorción	71
Estudio de Absorción en las Tres Secciones Intestinales	71
Estudio de Variación de Concentraciones	71
Concentración de Arsénico en Tejido	72
DIAGRAMA DE BLOQUES	
Desarrollo experimental para el estudio de la absorción intestinal de As(III) y As(V)	73

Diseño experimental para el estudio de la absorción	74
---	----

RESULTADOS Y DISCUSION

Estimación del tiempo óptimo de experimentación con yeyuno <i>in vitro</i>	75
Estudio de absorción en las tres secciones intestinales	81
Estudio de variación de concentraciones	87
A) Diferencia de absorción de arsenito y arseniato de sodio en duodeno	87
B) Diferencia de absorción de arsenito y arseniato de sodio en yeyuno	94
Sistema de transporte de arsenito y arseniato de sodio en duodeno y yeyuno <i>in vitro</i>	104
Velocidad de transporte de arsenito y arseniato de sodio en duodeno y yeyuno	116
Diferencias en las velocidades de absorción	132
Acumulación de arsénico en tejido	137

CONCLUSIONES	139
--------------	-----

BIBLIOGRAFIA	141
--------------	-----

RESUMEN

Se realizó un estudio in vitro de la absorción de arsenito y arseniato de sodio [As(III) y As(V)] en intestino delgado de rata.

Se encontró que la absorción de los dos compuestos arsenicales estudiados fue más eficiente en yeyuno y de manera similar en ileon; mientras que en duodeno fue menos eficiente.

Al incrementar hasta 25 veces la concentración de los compuestos de arsénico, se mantuvo constante el porcentaje de absorción del arsenito y arseniato de sodio en las dos secciones intestinales. La concentración absorbida a los 60 minutos aumentó proporcionalmente con el aumento de concentración.

Los resultados anteriores sugieren que estos compuestos de arsénico se absorben principalmente a través de difusión simple.

El tiempo de vida media promedio (min) para la absorción de los compuestos arsenicales estudiados fue de 59.3 para As(III) y 86.1 para As(V) en duodeno y de 57.7 para As(III) y 72.1 para As(V) en yeyuno. En ambas secciones intestinales el 50 % de la concentración inicial del As(III) se absorbe después de 1 hora.

Al comparar la absorción de los dos compuestos de arsénico en cada sección intestinal, se encontró que en duodeno así como en yeyuno el As(III) y el As(V) muestran una diferencia significativa ($p < 0.01$) en sus velocidades de absorción.

Cuando se comparó la absorción de cada compuesto en las dos secciones intestinales, se encontró que el arsenito de sodio se absorbe prácticamente a la misma velocidad en duodeno y yeyuno, ya que no hay diferencia significativa en sus velocidades de absorción. Sin embargo, el arseniato de sodio mostró velocidades de absorción distintas en duodeno y yeyuno, con un nivel de significancia de ($p < 0.01$).

La acumulación de As(III) en yeyuno fue aproximadamente 3 veces mayor que la observada para As(V).

Se conocen una gran cantidad de estudios de la toxicidad de los compuestos de arsénico, también se ha investigado su metabolismo y el impacto en la salud de poblaciones expuestas a este tipo de tóxicos. Sin embargo, se han realizado pocos estudios de los mecanismos y velocidades de absorción.

Los compuestos de [As(III)] son más tóxicos que los de [As(V)], este trabajo muestra que el As(III) se absorbe más rápido que el As(V). Este resultado permite recomendar que en las zonas donde el agua para consumo humano esté contaminada con arsénico, se oxigene periódica y abundantemente de manera que la proporción de As(III) en este líquido disminuya.

INTRODUCCION

En nuestro país, han surgido desde la década anterior numerosos grupos ecologistas, preocupados por los problemas de contaminación que se ha generado por la explotación de los recursos naturales, el uso no racional de combustibles fósiles, el empleo indiscriminado de plaguicidas y la gran producción industrial de desechos tóxicos que se emiten al ambiente.

Sin embargo, actualmente poco se conoce realmente de la gravedad del problema, ya que en general carecemos de información suficiente sobre el tipo y niveles de contaminación en el aire, agua y alimentos.

Entre la gran variedad de contaminantes presentes en el ambiente, la contaminación por metales ocupa un lugar muy importante. Es bien sabido, que la concentración de este tipo de contaminantes se ha incrementado debido a la actividad antropogénica; sin embargo, si consideramos únicamente la concentración natural, la exposición ambiental generalmente es mayor a través de los alimentos y bebidas que a través del aire.

Los metales son elementos constituyentes de la corteza terrestre. En regiones donde algunos metales son más abundantes, la concentración natural es relativamente elevada; su presencia en agua de bebida y alimentos es de gran interés, pues se pueden absorber y causar daños a la salud. La concentración de metales en el aire de regiones no contaminadas antropogénicamente, es en

general muy pequeña y de poca relevancia sanitaria.

El arsénico es uno de los contaminantes metálicos que se encuentra de manera natural en el medio ambiente, la presencia de concentraciones muy elevadas de este metaloide en aguas de origen subterráneo usada para beber, ha producido efectos graves en la salud de varias poblaciones. También se ha descrito que la toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación, siendo el [As (III)] más tóxico que el [As (V)].

En nuestro país, la contaminación por arsénico es regional, y muy localizada. Hasta el momento, se ha ubicado y estudiado el problema de contaminación por arsénico en la "Comarca Lagunera", donde se han registrado un gran número de casos de intoxicación crónica por este elemento, lo que representa un problema de salud.

Entre los estudios que se realizan para investigar los efectos tóxicos de algún compuesto, la absorción es uno de los más importantes, ya que una sustancia puede ser potencialmente tóxica, pero si no se absorbe no inducirá efectos nocivos sobre la salud de los organismos vivos.

Actualmente, los estudios de absorción se realizan de manera cuantitativa. En el caso de metales como el arsénico, se cuenta con métodos analíticos como la espectroscopía de absorción atómica que permiten estimar la concentración de este elemento en material biológico, lo que facilita medir e investigar exactamente las velocidades de absorción y obtener datos cinéticos detallados con

los cuales podemos conocer los mecanismos de la absorción.

ARSENICO.

El nombre de este elemento procede del nombre latino "arsenicum", y éste del griego "arsenikón", de "arsen", varonil, masculino, macho, su símbolo químico es As (Trifonov & Trifonov, 1980).

ANTECEDENTES HISTORICOS.

Algunos compuestos de arsénico, en especial ciertos sulfuros como el oropimente (As_2S_3) y el rejalgar o sandarajo (As_4S_4), eran bien conocidos por los griegos y los romanos. El oropimente se conocía también con el nombre de "arsénico". Plinio el Viejo y Dioscórides describieron la toxicidad de esas sustancias. No se sabe quién fue el primero en obtener el arsénico elemental; este logro se atribuye generalmente al alquimista Alberto Magno. Sin embargo, fue A. Lavoisier quien demostró que el arsénico era un elemento químico independiente, ya que generalmente se le confundía con el arsénico blanco u óxido del mismo (Trifonov & Trifonov, 1980).

El arsénico ha jugado un papel prominente en el desarrollo de la medicina así como en la historia del mundo. Hipócrates, según se afirma, fue el primero en indicar su uso como agente medicinal. Durante la Edad Media y el Renacimiento, el arsénico (agua tofani) fue el veneno favorito de la élite social de la época. En la actualidad, el arsénico continúa utilizándose con fines suicidas y homicidas (Mack, 1983).

Se dice que Napoleón fue envenenado y que murió intoxicado por arsénico, mientras estaba exiliado en la isla de Santa Helena. Esta hipótesis está fundamentada por el contenido de arsénico encontrado en muestras de pelo del emperador (Leslie & Smith, 1978).

PROPIEDADES QUIMICAS.

El arsénico, As, es un no metal o metaloide que pertenece al grupo VA de la tabla periódica; las valencias principales de este elemento son -3, 0, +3 y +5. Cuando se calienta el arsénico elemental a presión atmosférica sin oxígeno, sublima y forma un gas amarillo; en cambio, cuando se calienta en presencia de aire el vapor se oxida produciéndose un humo blanco que corresponde a trióxido de arsénico. Durante su oxidación se nota un persistente olor parecido al ajo. En su forma metálica, este elemento no es atacado fácilmente por agua, soluciones alcalinas, o ácidos no oxidantes.

Este metaloide forma una gran variedad de compuestos inorgánicos y derivados orgánicos; por ejemplo, la arsina (AsH_3) que es un hidruro gaseoso extremadamente tóxico, haluros, óxidos, sulfuros, arseniuros (que se forman al combinarse con otros metales) y compuestos organoarsenicales, entre otros (Cotton & Wilkinson, 1964; Kirk & Othmer, 1978; Fowler, et al., 1980).

Los compuestos más comunes de arsénico inorgánico trivalente son el trióxido de arsénico (As_2O_3), arsenito de sodio ($NaAsO_2$) y

tricloruro de arsénico (AsCl_3). Los compuestos inorgánicos pentavalentes son el pentóxido de arsénico (As_2O_5), ácido arsénico (H_3AsO_4) y arseniatos, por ejemplo, arseniato de plomo [$\text{Pb}_3(\text{AsO}_4)_2$], y arseniato de calcio [$\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$]. Los compuestos orgánicos más comunes son el ácido arsanílico ($\text{C}_6\text{H}_5\text{AsNO}_2$), ácido metilarsónico [$\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$], ácido dimetilarsínico (ácido cacodílico) [$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$] y algunos compuestos organoarsenicales presentes en los alimentos de origen marino, como arsenobetaina [$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$], arsenocolina [$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH-X}^-$], óxido de trimetilarsina [$(\text{CH}_3)_3\text{As=O}$] y trimetilarsina [$(\text{CH}_3)_3\text{As}$] (Cotton & Wilkinson, 1964; Kirk & Othmer, 1978; Fowler, et al., 1980; Vahter, 1980).

DISTRIBUCION.

El arsénico es un elemento ubicuo en la naturaleza, se le encuentra en minerales, yacimientos de carbón, suelos, aguas, plantas y aire. El contenido de este metaloide en la corteza terrestre es 1.5-2 mg/kg; ocupando el veintavo lugar en abundancia en relación a otros elementos (NAS, 1977).

Son alrededor de 150 minerales, a partir de los cuales se extrae el arsénico; de éstos, los que presentan una mayor concentración son generalmente los arseniuros de cobre, plomo, plata y oro o los sulfuros, entre los cuales se encuentran la arsenopirita (FeAsS), el rejalgar (As_4S_4) y el oropimente (As_2S_3). Generalmente, las formas oxidadas de arsénico se localizan en depósitos sedimentarios, encontrándose también pequeñas cantidades

de arsénico elemental (Kirk & Othmer, 1978; Fowler et al., 1980; WHO, 1981).

USOS.

La utilización principal del arsénico es en el campo de la agricultura; como ejemplo de compuestos inorgánicos de arsénico, tenemos el arseniato de calcio que fue utilizado hasta 1960 para controlar el gorgojo del algodón y el gusano de la hoja del cultivo citado; sin embargo, el empleo en esta aplicación ha desaparecido virtualmente, así como también el uso del arseniato de plomo como plaguicida en la siembra de frutos. Los derivados organoarsenicales más empleados para este fin son: metilarsonato monosódico (MSMA), metilarsonato disódico (DSMA), ácido dimetilarsónico (ácido cacodílico) (DMMA) y ácido arsénico. De los compuestos anteriores, los que se usan como herbicidas son el ácido cacodílico, MSMA y DSMA, el más importante de éstos es el MSMA, pues se aplica extensivamente en los campos de algodón para el control de hierbas y otras malezas.

Otra aplicación de los derivados organoarsenicales es como desfoliantes. Se tiene por ejemplo, el ácido arsénico que sirve como desecante de las hojas del algodón aplicándose antes de ser cosechado, y el ácido dimetilarsínico (agente azul), el cual fue usado durante la guerra de Viet-Nam con propósitos militares, esparciéndolo sobre la vegetación (WHO, 1981).

El ácido arsanílico se emplea en avicultura y porcicultura como

aditivo de alimento; también se utilizan soluciones de arsenito de sodio como antiparasitario en baños para ovejas y cabras y para el control de hierbas acuáticas.

Los compuestos arsenicales también fueron usados en preparaciones para uso medicinal y veterinario. Un ejemplo de estos compuestos es la solución de Fowler (arsenito de potasio al 1 %) que fue muy popular para el tratamiento de leucemia, psoriasis, asma bronquial crónica y como tónico. Uno de los medicamentos organoarsenicales más famosos al principio de este siglo fue la arsfenamina, conocida también como salvarsan o compuesto 606 usado en contra de la sífilis.

En cuanto a las aplicaciones industriales, podemos mencionar al trióxido de arsénico refinado que se emplea como decolorante y agente aclarador (para eliminar el tinte verdoso en la producción de botellas de vidrio y otro tipo de cristalería) y al ácido arsénico que se incluye en la formulación de sales para preservativos de madera.

El arsénico metálico se utiliza fundamentalmente en aleaciones con plomo y en menor grado con cobre; por ejemplo: el cobre arsenical deoxidado y fosforizado se emplea para la manufactura de tornillos de separación y refuerzo, cabezas de bielas y placas para intercambiadores de calor y tubos condensadores.

El uso potencial para arsénico metálico de alta pureza se ha incrementado notablemente en la industria electrónica,

especialmente en aplicaciones de dispositivos semiconductores. Cuando se hace la aleación de arsénico con aluminio, galio e indio se forman los compuestos semiconductores III-V de los cuales los arseniuros de galio e indio son los más importantes. El uso principal del arseniuro de galio es para la producción de diodos emisores de luz (LEDs), pero también se utiliza para producir diodos túnel, emisores infrarrojo, diodos varactores (condensadores variables controlados por voltaje, empleados por ejemplo, en sintonizadores de televisores manejados a control remoto), lasers y ventanas de lasers. El arseniuro de indio se ha utilizado para producir efecto Hall, dispositivos infrarrojos y también como lasers experimentales (Kirk & Othmer, 1978).

EXPOSICION AMBIENTAL Y OCUPACIONAL.

La concentración natural de arsénico en el ambiente, se modifica por la emisión antropogénica en nuestro entorno, siendo su fuente principal la que proviene de la refinación de minerales no ferrosos; de plantas industriales en las cuales se usa como combustible carbón con alto contenido de arsénico y también de insecticidas y plaguicidas agrícolas (Jelinek & Corneliussen, 1977). Una porción de este arsénico que se acumula en las tierras de cultivo, puede ser captado por las plantas y animales, incluyendo algunos sistemas acuáticos y marinos, llegando finalmente al hombre a través de la cadena alimenticia. El hombre y en general todos los organismos vivos están expuestos ambientalmente a través del aire, alimentos y agua (NAS, 1977).

La química del arsénico en el ambiente es compleja e involucra un gran número de reacciones de transformación, la mayoría de las cuales se realizan mediante un intermediario bioquímico. Una excepción es la conversión arsenito-arseniato, que puede ser química o microbiológica (WHO, 1987). La formación de alquilarsinas, principalmente metilarsinas, es una parte importante del ciclo ambiental del arsénico. Una gran diversidad de organismos encontrados en el suelo y el agua son capaces de metilar arsénico; el material inicial puede ser arsenito, arseniato, ácido metilarsónico o ácido dimetilarsínico, la metilación produce dimetilarsina o trimetilarsina (Woolson, 1983).

Además de la exposición ambiental, el ser humano está expuesto ocupacionalmente al arsénico cuando su actividad productiva está relacionada con procesos en los cuales se emita algún derivado de arsénico.

Aire.

La química que presenta el arsénico en el ambiente es muy variada, ya que además de presentar varios estados de oxidación; también se transforma en compuestos volátiles al metilarse (Brimblecombe, 1979).

En áreas no contaminadas, la cantidad de arsénico inhalado por día es alrededor de 0.05 μg o menos (considerando que se inhalan al día cerca de 20 m^3 de aire) (WHO, 1981).

Las actividades humanas que más contribuyen a la liberación de arsénico en el aire son la minería, la fundición y refinación de minerales metálicos, así como la extracción de carbón mineral de los yacimientos (Gabor & Coldea, 1977). También el quemado de combustibles es una fuente importante de contaminación, aunque realmente es el carbón el principal contaminante, ya que se han encontrado niveles de arsénico de aproximadamente 25 ppm; durante el quemado de este combustible se liberan de 0.08 a 16 μg de arsénico por gramo de carbón (Philip, 1985); además del tipo de contaminación descrito anteriormente, la incineración de residuos sólidos (domésticos, mercados, industriales y hospitales) contribuyen de manera importante (Brimblecombe, 1979).

La aportación de fuentes agrícolas y procesos tales como el de las desmontadoras de algodón, son de aproximadamente la misma magnitud que la debida a la combustión (Philipp, 1985).

En el área rural de Inglaterra se examinaron elementos atmosféricos entre 1954 y 1974. Durante la segunda parte de la década de los cincuentas, los niveles de arsénico fueron aproximadamente de 8 ng/m^3 y decrecieron ligeramente a menos de 5 ng/m^3 en los años setentas, siguiéndose el patrón estacional de altos niveles en invierno y valores bajos durante el verano. Además se realizaron experimentos muy cuidadosos para distinguir entre partículas de arsénico y el arsénico en fase de vapor (partículas de tamaño <0.05 micras). El arsénico en fase de vapor contribuye en un pequeño porcentaje a la concentración del

arsénico atmosférico, dado que los compuestos con presiones de vapor menores de 10^{-11} atm están asociadas predominantemente con otras partículas; el trióxido de arsénico estable en el aire tiene una presión de vapor de sólo 6×10^{-12} atm; sin embargo, se observó que la proporción de partículas en la fase de vapor estaba relacionada inversamente con la temperatura del aire. A pesar de las bajas concentraciones de arsénico en la fase de vapor y de sus tiempos de vida relativamente cortos, esta especie es muy importante en la distribución de arsénico entre las pequeñas partículas de aerosol (Brimblecombe, 1979).

En general se ha informado que las concentraciones atmosféricas de arsénico están en un intervalo entre 0.06 y $1.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Philipp, 1985). Se han registrado concentraciones de arsénico atmosférico desde $0.019 \text{ ng}/\text{m}^3$ en el Antártico, $1.4 \text{ ng}/\text{m}^3$ en montañas de Bolivia, y hasta 2.2 y $5.5 \text{ ng}/\text{m}^3$ en el humo de volcanes en erupción (Brimblecombe, 1979).

Durante la primera mitad de este siglo, en lugares como Estados Unidos, se extendió el uso de insecticidas que contenían arsénico en el cultivo de tabaco, lo que produjo un incremento en el contenido de arsénico en los productos obtenidos de este cultivo. A mediados de siglo, se encontraron niveles de hasta 52 (mg/L) (como As_2O_3) en los cigarrillos americanos, posteriormente, en la década de los sesentas el nivel de arsénico se redujo hasta 8 (mg/L) (como As_2O_3) en los cigarrillos, debido a la disminución en el empleo de compuestos de arsénico en la agricultura (Holland &

Acevedo, 1966).

Alimentos.

Además de la contaminación de los alimentos por el arsénico, debida a la actividad antropogénica, se adicionan compuestos de arsénico en las fórmulas alimenticias para ganado porcino y en avicultura; ésto se hace porque estimulan el crecimiento de estas especies o para prevención o tratamiento de enfermedades.

Con excepción de los alimentos marinos, los niveles de arsénico en los comestibles humanos son generalmente bajos. En Suecia, durante 1972 se realizó un estudio extensivo de las concentraciones de arsénico en productos comestibles. Se encontraron los niveles siguientes: <0.05 mg As/kg en huevo, <0.05-0.25 mg As/kg en fruta fresca y <0.05 a 1 mg As/kg en los cárnicos (excluyendo pollo). La mayoría de las muestras contenían menos de 0.25 mg As/kg, pero las muestras de carne de pollo contenían de 0.26-5 mg As/kg (Luten, et al., 1982). En Estados Unidos se han establecido límites de tolerancia para subproductos comestibles de pollo, pavo y cerdo; por ejemplo, el límite de tolerancia para arsénico en el huevo es de 0.05 (mg/L) (Jelinek & Corneliussen, 1977).

En los crustáceos, el intervalo normal de concentraciones de arsénico (vía húmeda) fue de 1 a 50 mg As/kg; sin embargo, algunas especies que se alimentan en el fondo del mar contienen arriba de 100 mg As/kg (vía húmeda) (Luten, et al., 1982). Tomando en cuenta

los datos de consumo de alimentos de origen marino, se estima que el promedio diario de ingestión de As orgánico es de 15-20 μg de As (principalmente como arsenobetaina) (WHO, 1987) y puede llegar hasta 50 μg de As, dependiendo de la ciudad y región; si se consumen diariamente este tipo de alimentos, la ingestión puede ser de 135-1,500 μg de As orgánico (Vahter, 1988).

Desde el comienzo de este siglo se conocía la presencia de concentraciones muy altas de arsénico en ciertos peces y crustáceos (Chapman, 1926). Sin embargo, fue hasta 1977 cuando se identificó a la arsenobetaina, compuesto análogo a la betaína, como la forma principal de arsénico en un tipo de langosta (Edmonds, et al., 1977). Actualmente, se ha identificado a la arsenobetaina como la forma principal de arsénico en la mayoría de los animales marinos que se usan como alimento humano (WHO, 1987). También se han encontrado pequeñas cantidades de arsenocolina (Norin, et al., 1983; Lawrence, et al., 1986) trimetilarsina (Whitfield, et al., 1983) y óxido de trimetilarsina (Norin, et al., 1985a), en algunos peces y crustáceos; en las algas se han detectado derivados hidrosolubles y liposolubles de arsénico orgánico (Klumpp & Peterson, 1981). En el alga *Ecklonia radiata*, se han encontrado diferentes formas metiladas de arsénico que son derivados de ribofuranósido (Edmonds & Francesconi, 1983).

Es muy probable que los precursores de la arsenobetaina se formen a lo largo de la cadena alimenticia.

En la mayoría de los peces y crustáceos, comercialmente

importantes, sólo el 15 % del As total se encuentra como As inorgánico (Lunde, 1973; Brooke & Evans, 1981; Flanjak, 1982; Norin et al., 1985b). Sin embargo, la contribución del As inorgánico proveniente de alimentos de origen marino a la ingestión total diaria es de 15-17 µg de arsénico inorgánico por día (WHO, 1987).

En algunas regiones al este de Asia, es común comer ciertos tipos de algas marinas que presentan altas concentraciones de arseniato y arsenito, por lo que la ingestión de arsénico puede ser mayor (Shinagawa et al., 1983). También se ha informado de casos de intoxicación debido al consumo de kelp (un alga marina), ya que posee un alto contenido de arsénico, de 0.6 a 58 mg/kg (en base seca) (Walkiw, et al., 1975).

A pesar de que los alimentos de origen marino tienen una concentración alta de arsénico, no se han presentado efectos tóxicos en los seres humanos que consumen este tipo de alimentos en gran cantidad; lo anterior puede explicarse, porque el arsénico orgánico se acumula menos que el arsénico inorgánico (Freeman et al., 1979; Fowler & Ünlü, 1978).

En el cultivo de la vid, se han utilizado fungicidas que contienen compuestos de arsénico, por lo que se tiene un nivel elevado de este elemento en las uvas y el vino (Crecelius, 1977).

En los Estados Unidos se analizaron 9 vinos producidos entre 1949 y 1974, encontrándose que tenían concentraciones de arsénico

en un intervalo de 0.02 y 0.11 mg/L (Noble, et al., 1976).

Durante el proceso de fermentación del vino, se producen cambios en las especies químicas de arsénico; aproximadamente el 60 % del As^{+5} se reduce a As^{+3} , no hay metilación del As^{+3} , ni desmetilación del MAA (ácido metilarsonico) (Crecelius, 1977). Se analizaron muestras de vino tinto y blanco procedentes de California, E. U., para determinar niveles y formas de arsénico; el 74 % de las muestras rebasaron la concentración de 0.05 mg/L, encontrándose concentraciones de hasta 0.53 mg/L. La mayor parte del arsénico presente estaba en forma trivalente, también se encontró arseniato, pero no se detectaron especies metiladas (Noble, et al., 1976).

Alemania y Canadá han fijado un límite máximo aceptable para arsénico en el vino que corresponde a 0.2 mg/L, mientras que en Estados Unidos no existe todavía un límite para arsénico en esta bebida, por lo que se toma el de 0.05 mg/L, (que corresponde al límite establecido para el agua de bebida publicado por la OMS (Organización Mundial de la Salud) (Noble, et al., 1976).

Agua.

La concentración de arsénico en agua varía en las diferentes partes del mundo, la presencia del metaloide en este líquido generalmente es de origen natural; sin embargo, puede aumentar debido a la contaminación generada por el hombre.

En aguas naturales se ha reportado la presencia de cuatro diferentes formas de arsénico: arseniato, arsenito, ácido metilarsónico y ácido dimetilarsínico; encontrándose en mayor proporción las especies inorgánicas (Braman & Foreback, 1980). La concentración de estas especies varía en función de la región y origen de esas aguas. Por ejemplo, en muestras de aguas subterráneas que contienen poca cantidad de oxígeno, se encuentra en mayor proporción el As (III); en cambio, en aguas superficiales la cantidad de As (V) es mayor, pues la cantidad de oxígeno disuelto es más alta (Andreae, 1977; Special Report, 1980).

El fitoplancton y las bacterias marinas son capaces de biotransformar el arsénico; en el caso de las bacterias se ha observado que la reducción sucede en aguas superficiales, donde la productividad bacteriana es alta y factores como temperatura, presión, oxígeno disuelto y nutrición no son tan restrictivos como en la profundidad del mar (Johnson, 1972).

En cuanto al fitoplancton, se ha observado un incremento en la reducción de arseniato a arsenito; las algas marinas en cambio, producen la reacción inversa, ya que catalizan la oxidación del As(III) (Braman & Foreback, 1973; Johnson & Burke, 1978).

El uso de energía geotérmica puede producir una severa contaminación por arsénico. En aguas geotermales de Japón, los niveles de arsénico están en un intervalo de 1.8 a 6.4 mg/L, a diferencia de las corrientes de aguas vecinas, que sólo contienen aproximadamente 0.002 mg/L. En Baja California, México, se

descarga una planta geotérmica en un depósito natural de agua, por lo que el nivel natural de arsénico (0.002 mg/L), se incrementó alrededor de mil veces; se calcula que la emisión del metaloide al medio ambiente es de aproximadamente 60 kg/día, encontrándose el As(III) inorgánico en mayor proporción (WHO, 1981).

También se han encontrado concentraciones altas de arsénico en aguas termales de Nueva Zelanda, cuyos niveles son superiores a 8.5 mg/L (WHO, 1981).

En agua para consumo humano, el límite máximo de arsénico que recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS) es de 0.05 mg/L (USEPA, 1975), este criterio ha sido aceptado por la mayoría de los organismos gubernamentales de regulación. Sin embargo, en un documento más reciente de la Agencia de Protección Ambiental de los E. U. (USEPA), se propone disminuir a sólo 0.0022 µg/L (éste límite aún no ha sido aceptado) (USEPA, 1980). Este último límite representaría un riesgo de cáncer de (10^{-6}); ésto significa que, por cada millón de habitantes expuestos al agua contaminada por arsénico, en la concentración mencionada, existiría un caso de cáncer atribuible a este tipo de exposición (Carson, et al., 1986).

Existen varias regiones alrededor del mundo, en las cuales la concentración de arsénico en el agua es muy superior al límite máximo permisible; por ejemplo en Antofagasta, Chile, el agua suministrada a esta población, proveniente del río Toconé, presenta concentraciones entre 0.6 y 0.8 mg/L de arsénico (entre

12 y 16 veces mayor al límite recomendado por la OMS) (Borgoño, et al. 1977).

En Tainan, Taiwan, se ha informado la presencia de arsénico en agua de pozos artesianos, en un intervalo de concentración de 0.01 a 1.82 mg/L (que es hasta 38 veces mayor al límite recomendado) (Tseng, 1977).

En Waverley, Nueva Escocia, Canadá; después de haberse registrado dos casos de intoxicación crónica severa como consecuencia de la contaminación por arsénico del agua subterránea, se analizó el contenido del elemento mencionado en el manto freático, descubriéndose 29 pozos que contenían niveles de arsénico superiores a 0.05 mg/L. El muestreo se realizó cada tres meses durante un año; observándose un intervalo de concentraciones de 0.06-1.40 mg/L (rebasándose hasta 28 veces el límite recomendado) (Hindmarsh, et al., 1977).

En Monte Quemado, poblado pequeño perteneciente a la provincia de Córdoba, Argentina, la población está expuesta crónicamente al arsénico a través del agua de bebida. Se tienen informes de casos de intoxicación en esta región desde 1913, pero realmente fue hasta 1955 cuando un médico local reconoció la ocurrencia de enfermedades endémicas de la piel y también de cáncer, demostrándose posteriormente que eran causadas por la presencia de arsénico en el agua. El análisis del agua de cuatro pozos indicó que la concentración de arsénico estaba en un intervalo de 0.87-0.99 mg/L que representa hasta 8 veces el nivel máximo

permitido en Argentina (0.12 mg/L) (Astolfi, et al., 1981). Posteriormente, se instaló una planta de tratamiento para reducir el contenido de arsénico en el agua, sin embargo, no ha disminuido mucho la incidencia de enfermedades arsenicales.

En la Comarca Lagunera (noreste de Durango y suroeste de Coahuila) México, se tienen informes desde 1960 de casos de intoxicación crónica por arsénico. Estudios epidemiológicos realizados en las colonias Miguel Alemán y Eduardo Guerra de la ciudad de Torreón, Coahuila, revelaron que más del 61 % de los moradores de las colonias estudiadas presentaban síntomas de intoxicación arsenical, lo cual fue corroborado mediante determinaciones de concentración de arsénico en muestras biológicas y en agua, encontrándose que la concentración de este elemento en el agua del pozo seleccionado tenía un contenido de 3.98 mg/L de arsénico (aproximadamente 80 veces mayor que el límite establecido por la OMS) (Espinoza, 1963; Viniegra, et al., 1964; Cantellano, et al., 1964).

Posteriormente, en 1979 se informó de otro estudio en dos poblaciones de la Comarca Lagunera. En esta ocasión fueron seleccionados El Salvador de Arriba, Coahuila (población expuesta) y San José del Viñedo (población testigo); a estos poblados se les suministraba agua de origen subterráneo con una concentración media anual de arsénico de 0.41 mg/L (8 veces mayor que la máxima permisible) y 0.005 mg/L (10 veces menor que el límite establecido) respectivamente. En estos poblados se realizó una

encuesta en el 33 % de las viviendas, observándose que el 68.2 % de los encuestados de la población expuesta y el 5.3 % de los encuestados de la población testigo presentaban signos o síntomas atribuibles al arsénico. También se observó que la frecuencia de otros signos y síntomas de etiología diversa fue mayor en el poblado expuesto a concentraciones altas de arsénico (Albores, et al, 1979; Cebrián, et al., 1983).

En un estudio efectuado recientemente en las once ciudades que conforman la Región Lagunera, se analizaron muestras de agua de 128 pozos. Se informa que en esta región, la contaminación por arsénico es muy severa, ya que la concentración de arsénico total en las muestras está en un intervalo de 0.008 a 0.624 mg/L (hasta 12 veces mayor que el límite permitido). También se encontró que el 50 % de las mismas rebasan la concentración de 0.05 mg/L (límite establecido por la OMS) y que la población expuesta a concentraciones altas de arsénico es de aproximadamente 400,000 personas (Del Razo, et al., 1990).

En el estado de Chihuahua, también se han encontrado algunos caso de intoxicación crónica por arsénico debido al consumo de agua de origen subterráneo contaminada, cuya concentración de arsénico fue de 10 mg/L (200 veces mayor al límite recomendado por la OMS). Al examinar a las personas que utilizaban el agua para beber, preparar alimentos y bañarse, se observaron lesiones dérmicas, principalmente queratosis palmoplantar. A pesar de que la concentración de arsénico era muy alta, no produjo en los

individuos que la consumían síntomas de intoxicación aguda (Vidal, et al., 1979).

Posiblemente el número de personas intoxicadas crónicamente por arsénico en el país sea mayor, pero no se tienen informes. Sólo se cuenta con casos aislados, ya que no se han realizado estudios epidemiológicos, con excepción de la Comarca Lagunera. Por lo que es necesario realizar análisis de agua e indicadores de exposición en zonas donde exista sospecha de este tipo de contaminación, ubicar los mantos acuosos con niveles altos de arsénico y evitar su consumo antes de un tratamiento adecuado.

EXPOSICION OCUPACIONAL.

La ruta más común de la exposición ocupacional a los compuestos tóxicos, es a través de la inhalación principalmente, sin embargo también suele presentarse mediante la ingestión y la absorción dérmica (WHO, 1981).

Los trabajadores expuestos ocupacionalmente a los derivados de arsénico, son los empleados en industrias extractivas, donde se benefician minerales no ferrosos (especialmente el cobre), en la extracción y utilización de carbón mineral, en la producción y uso de plaguicidas, herbicidas y desfoliantes usados en agricultura y con fines forestales, en plantas de tratamiento de madera, fábricas de muebles y carpinterías, así como en la producción de vidrio y componentes electrónicos (Wagner, et al, 1974; NAS, 1977).

Los límites de exposición permisibles para arsénico inorgánico en un medio ambiente ocupacional, son los siguientes: en los Estados Unidos es de 0.01 mg As/m³, el límite equivalente en la Unión Soviética es de 3 mg As/m³ (30 veces mayor que el límite en los E.U.), en Suecia es de 0.05 mg As/m³ (5 veces mayor al límite permitido en los E.U.) (Vahter, M., 1988), y en México es de 0.05 mg As/m³ (5 veces mayor al límite permitido en los E.U. (Escobar, et al., 1964).

Los niveles de exposición se estiman casi siempre, midiendo la concentración de arsénico en aire, pero esta es una medida burda, ya que la cantidad de arsénico que se absorberá por los pulmones depende realmente del tamaño de partícula y de la forma química del arsénico (Vahter, et al., 1986). Se considera que la fracción respirable está constituida por partículas menores a 5 µm, la fracción no respirable está constituida por partículas mayores (WHO, 1981).

En el medio ambiente ocupacional, las partículas que contienen arsénico son relativamente de gran tamaño, por lo que se depositan principalmente en las vías superiores del tracto respiratorio (cavidad nasal, nasofaringe, laringe, tráquea y bronquios) (WHO, 1981).

Entonces, para tener una medida más real del nivel de exposición, es necesario conocer, además de la concentración de arsénico en aire, la distribución del tamaño de partícula.

En Rumania, las fuentes principales de emisión de arsénico son las fundidoras y refinarias de minerales; se encontró en un área cercana a una de estas plantas una concentración diaria promedio de arsénico de $3.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Gabor & Coldea, 1977).

En una planta productora de arsenito de sodio, se encontró que la fracción respirable de arsénico en aire estaba entre el 20 % y el 38 % de la cantidad emanada (Perry, 1948). También se informa que en una fundidora de cobre en E.U., en el área de mayor exposición (hornos de reberberación, chimeneas y almacenamiento), sólo el 32 % del arsénico en el aire era respirable, ya que el tamaño de partícula era menor a 5 micras, a diferencia del área del convertidor en la cuál la fracción respirable era de aproximadamente el 80 % (Smith, 1977).

Al realizar un estudio para clasificar el tamaño de partícula, separándolas en tres grupos (menores a 1.1, entre 1.1 y 7 y mayores a $7 \mu\text{m}$), se observó que la fracción mayor de arsénico estaba constituida por partículas de tamaño respirable, por lo que la tendencia para el arsénico es que el contenido de arsénico en las partículas, aumenta a medida que disminuye el tamaño de partícula (Smith, 1976). Sin embargo, se encontró en otro estudio que las partículas no respirables, se absorben más eficientemente que las respirables, aproximadamente 100 % versus 60 % (Smith, et al., 1977).

Lo anterior puede explicarse porque si el trabajador no usa una mascarilla que retenga la fracción no respirable, esta fracción

también ingresará al organismo, ya que las partículas de tamaño mayor a 5 μm , son evacuadas del tracto respiratorio mediante transporte mucociliar, llegando al tracto gastrointestinal, en donde se absorben finalmente (WHO, 1981).

Ahora bien, para medir el grado de exposición a un compuesto tóxico, se utilizan indicadores biológicos, en el caso del arsénico, la orina resulta ser un indicador conveniente, ya que este elemento se excreta principalmente a través de este fluido (WHO, 1981).

En la exposición ocupacional al arsénico, aparentemente no funciona la orina como indicador de la exposición; se reporta en un estudio realizado en trabajadores de una fundidora, que hubo poca correlación entre el arsénico suspendido en el aire y la concentración de arsénico total en la orina (Pinto, et al., 1976).

El arsénico inorgánico, trivalente como pentavalente, se biometila en el organismo y produce los metabolitos siguientes: ácido metilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsínico (DMA), que se consideran como productos de la detoxificación (Vahter, et al, 1984).

En la orina, se encuentran las diferentes especies de arsénico en aproximadamente las proporciones siguientes: (DMA) 51-65 %, (MMA) 20 % y As inorgánico 15-27 % (Smith, et al, 1977; Tam, et al., 1979). En la exposición ocupacional, la proporción de las

especies mencionadas es independiente del grado de exposición; a su vez, las formas metiladas presentan mejor correlación con el arsénico suspendido en aire, cuando se compara con el arsénico total, ya que este último incluye pequeñas cantidades de arsénico provenientes de la ingesta de alimentos (Smith, et al., 1977).

En general, se puede concluir que el arsénico en aire provee un estimado de la exposición vía inhalación, pero para conocer la exposición ocupacional total, los metabolitos de arsénico en orina son un mejor indicador, ya que proporcionan un estimado más real (Vahter, et al. 1986).

EFFECTOS DE LA INTOXICACION ARSENICAL.

La piel es el órgano crítico común en personas expuestas ocupacional, ambiental o terapéuticamente a compuestos de arsénico inorgánico, desarrollándose síntomas eczematoides en palmas y plantas con varios grados de severidad. Si la exposición continúa, se presentarán lesiones dérmicas crónicas, que dependerán de la concentración y duración de la exposición (Fowler, et al., 1980).

El arsénico induce lesiones de la piel tales como dermatosis, que pueden incluir erupción, pigmentación o hiperqueratosis leucodérmicas y finalmente puede desarrollarse cáncer de la piel y enfermedad de Bowen. También se han presentado efectos sobre el sistema nervioso, en particular del sistema nervioso periférico, desórdenes en el corazón y sistema circulatorio, por ejemplo electrocardiogramas anormales. Además se han encontrado cambios

hematológicos después de la exposición al arsénico, que están caracterizados por anemia y leucopenia. La anemia es similar a la anemia aplásica desde el punto de vista hematológico, a diferencia de la anemia causada por el gas arsina, que se debe a hemólisis (Fowler, et al., 1980).

Efectos agudos.

Los compuestos de arsénico irritantes y vesicantes, tales como el trióxido de arsénico, tricloruro de arsénico y los gases de guerra arsenicales, producen daños severos al tracto respiratorio después de inhalarlos. Los síntomas incluyen tos, disnea y dolor en el tórax. Cuando se presenta una intoxicación aguda después de la exposición al polvo, se observa irritación de la piel o de las membranas mucosas, por ejemplo, dermatitis de la cara y párpados, irritación de la mucosa nasal, laringitis, bronquitis ligera y conjuntivitis (Fowler, et al., 1980).

El gas arsina es un poderoso tóxico hemolítico, que se encuentra en algunos procesos industriales. La intoxicación por este gas se caracteriza por náusea, vómito, dolor de cabeza, deficiencia respiratoria y hemoglobinuria (Fowler, et al., 1980).

Los efectos de la intoxicación aguda por arsénico son náusea, vómito, diarrea, inflamación y ulceración de las membranas mucosas y daño al hígado con hematuria. La diarrea sanguinolenta (melena) puede desarrollarse posteriormente con dolores abdominales, polidipsia, vértigo, deshidratación, calambres musculares,

cianosis, delirio y convulsiones. Eventualmente, debilidad marcada, shock, parálisis muscular, daño al hígado y riñón y muerte debida a la falta de circulación (Philipp, 1985).

Se han presentado un gran número de suicidios, homicidios e intoxicaciones, debido a la ingestión accidental o intencional de arsénico. En Japón, durante el año de 1955, se intoxicaron niños lactantes al consumir leche en polvo contaminada con un alto contenido de arsénico, proveniente de los fosfatos, resultando 12,131 intoxicados y 130 muertes entre los infantes afectados. Los síntomas encontrados en este caso de intoxicación aguda fueron: insomnio, fiebre, anorexia, inflamación del hígado, melanosis y alteraciones de la función cardíaca. Posteriormente, de nuevo en Japón, en 1956, se informó que alrededor de 200 personas se habían intoxicado con salsa de soya contaminada con arsénico. Los síntomas comunes fueron edema facial, anorexia, síntomas en el tracto respiratorio superior, lesiones de la piel, signos neurológicos e inflamación del hígado (Tsuchiya, 1977).

Los efectos a largo plazo después de la supervivencia a la intoxicación aguda de arsénico se han estudiado muy poco, (Philipp, 1985). Sin embargo, se informa que al realizar exámenes consecutivos en niños, intoxicados en su infancia con leche contaminada, se ha observado la pérdida de agudeza auditiva (Fowler, et al, 1980).

Se informa que la dosis letal (ingerida) de trióxido de arsénico en humanos, está en el intervalo de 70 a 180 mg (Fowler,

et al, 1980).

Efectos crónicos.

La intoxicación crónica por arsénico se presenta con mucha frecuencia entre trabajadores, (generalmente la exposición es por inhalación, a largo plazo), está caracterizada por perforación del tabique nasal, lesiones de la piel y membranas mucosas, neuritis periférica y un riesgo excesivo de cáncer pulmonar. En algunos casos, se han registrado desórdenes del sistema circulatorio y el hígado (Pinto, 1978).

En una metalúrgica de Torreón, Coahuila, se realizó un estudio de la sintomatología de intoxicación arsenical entre los trabajadores, encontrándose: anorexia, sabor metálico, dolor epigástrico, diarrea, calambres en las extremidades, conjuntivitis, cefalea, insomnio, pigmentación difusa bronceada, ulceración del tabique nasal e hiperqueratosis palmar (Escobar, et al., 1964). También se estudió a la población que vivía en dos colonias que colindaban con la metalúrgica, encontrándose lesiones dérmicas palmoplantares con parestesias discretas en miembros superiores e inferiores, astenia moderada, adinamia y anorexia; pigmentación en cuello y tórax, dolores abdominales generalizados, conjuntivitis y fiebre. Los casos mas graves presentaron además, ataque intenso al hígado, atrofia muscular y neuritis periférica (Cantellano, et al., 1964).

También se han tenido noticias de desórdenes respiratorios y

del sistema nervioso en niños que vivían cerca de una planta de energía en Novaky, Checoslovaquia, en la cual se utilizaba carbón como combustible; observándose en los menores, un deterioro moderado de la audición (Bencko, et al., 1977).

Así mismo, se han registrado un gran número de casos de intoxicación crónica endémica, causados por el consumo de agua de bebida con alto contenido de arsénico. El problema mencionado es regional, por lo que se ha presentado en lugares muy localizados, como son: Córdoba (Argentina), Antofagasta (Chile), Tainan (Taiwan), y La Comarca Lagunera en México.

Los síntomas comunes, que se han presentado en todas las regiones mencionadas, son lesiones dérmicas que se manifiestan como hipopigmentación e hiperpigmentación, así como hiperqueratosis palmar y plantar. También se han comunicado varios tipos de cáncer cutáneo, como carcinoma epidermoide, carcinoma basocelular, carcinoma intraepidérmico, formas combinadas de los tipos mencionados y variantes de la enfermedad de Bowen (Borgoño, et al., 1977; Tseng, et al., 1968; Shu Yeh, et al., 1968; Astolfi, et al., 1981; Cebrián, et al., 1983).

Sin embargo, además de las lesiones dérmicas mencionadas, se presentan desórdenes vasculares, pero sólo en ciertas regiones; se informa que en Chile se observaron casos de síndrome de Raynaud, hipertensión, infarto al miocardio y trombosis mesentérica (Borgoño, et al., 1977), y en Taiwan se presentan casos de enfermedad de pie negro (blackfoot disease) que produce gangrena

de las extremidades (Tseng, et al., 1968).

Otro tipo de síntomas producto de la exposición crónica al arsénico en el agua de bebida son los cólicos abdominales, náusea, dolor epigástrico, diarrea crónica, dolor de cabeza, edema, tos crónica y herpes en los labios (Borgoño, et al., 1977; Albores, et al., 1979).

MECANISMOS DE TOXICIDAD.

Los primeros trabajos efectuados sobre los mecanismos de toxicidad, se realizaron para comparar los efectos del arsenito y arseniato, y la posibilidad de que las formas trivalentes y pentavalentes se interconvirtieran en los tejidos.

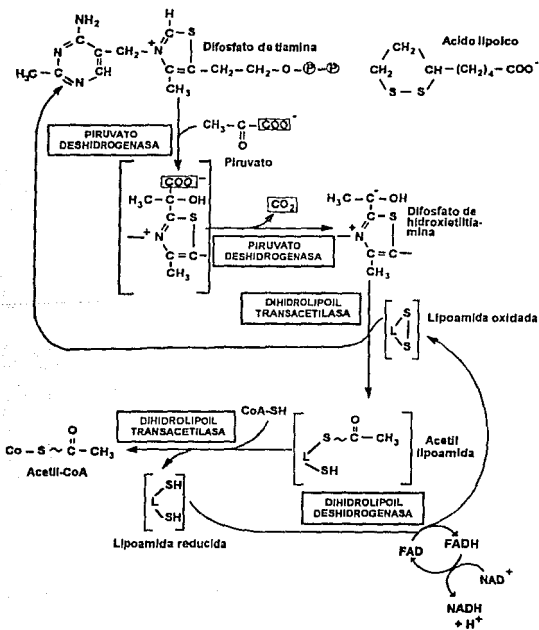
Actualmente, se ha establecido que los arsenitos y los arseniatos actúan de manera muy diferente.

Los arsenitos, deben sus efectos tóxicos a su habilidad para combinarse con los grupos sulfhidrilo (-SH), estos grupos pueden ser parte de una apoenzima, un sustrato, un cofactor o algún intermediario.

La primera acción molecular de los arsenitos es la inhibición de la glucólisis y el ciclo de Krebs. El arsenito, se combina con los dos grupos sulfhidrilo del ácido lipoico, este ácido es un cofactor esencial para la descarboxilación oxidativa enzimática de cetoácidos como el piruvato, cetoglutarato y cetobutirato, al

inhibirse los cetoácidos mencionados, ya no es posible que se formen el Acetil CoA, Succinil CoA y Propionil CoA, que son intermediarios importantes del metabolismo, por lo que una de las consecuencias más importantes de la inhibición de este cofactor enzimático es una disminución o inhibición de la glucólisis y el ciclo de Krebs (Webb, 1966; Murray, et al., 1988).

DESCARBOXILACION OXIDATIVA DEL PIRUVATO



Otra de las acciones importantes de los compuestos arsenicales trivalentes a nivel molecular, es que reaccionan con los grupos -SH de las proteínas, de manera que inhiben los sistemas enzimáticos esenciales para el metabolismo celular. La reactividad de un grupo -SH particular sobre una proteína, depende de la localización del grupo -SH, de los factores estéricos, de la repulsión electrostática, de los ángulos de enlace y de la flexibilidad de la proteína (Webb, 1966).

La reacción general, de un óxido de arsénico con los sulfhidrilos de las proteínas es la siguiente:



Ahora bien, los compuestos arsenicales pentavalentes inhiben la producción de ATP en la glucólisis, por lo que el efecto sobre este ciclo metabólico, es que actúa como desacoplador. El arseniato (AsO_4^{3-}) es muy parecido al fósforo inorgánico (Pi) en estructura y reactividad. En la reacción catalizada por gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, el arseniato puede reemplazar al fosfato atacando el intermediario tioéster que es rico en energía, como puede observarse más adelante en la comparación de las estructuras de las biomoléculas mencionadas. El producto de esta reacción, 1-arseno-3-fosfoglicerato es inestable, comparado con el 1,3-difosfoglicerato.

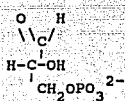
El 1-arseno-3-fosfoglicerato y algunos acil arsenatos se

hidrolizan muy rápido y espontáneamente. Por tanto, la reacción neta en presencia de arseniato es:

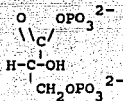


por lo que la glucólisis que procede en presencia de arseniato, se lleva a cabo, pero se pierde el ATP que se forma normalmente en la conversión del 1,3-difosfoglicerato a 3 fosfoglicerato.

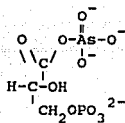
COMPARACION DE LAS ESTRUCTURAS



Gliceraldehido
3-fosfato



1,3-difosfogli-
cerato (1,3-DPG)



1-Arseno-3-fosfo-
glicerato

Por tanto, el arseniato desacopla la oxidación y fosforilación por la formación de un acil arseniato altamente lábil. Esta es la razón por la que el fosfato, a diferencia del arseniato produce biomoléculas muy estables cinéticamente hablando, además de que produce compuestos ricos en energía, como el ATP, que se utilizan en otros ciclos metabólicos. (Strier, 1988).

ABSORCION.

La absorción se define como el proceso mediante el cual una sustancia se mueve desde el sitio de administración, atraviesa una barrera biológica y entra al torrente circulatorio (Levine, 1973).

Para que cualquier xenobiótico (sustancia ajena al ser viviente) produzca efectos nocivos sobre algún organismo, debe absorberse, pasar a los sistemas vascular o linfático, distribuirse a los órganos blanco o tejidos y adquirir una concentración suficiente en algún órgano donde se produce una lesión característica. Este paso es un transporte molecular que puede realizarse por difusión simple, transporte facilitado o transporte activo (Haley, 1987).

Un factor determinante en la absorción, es la vascularidad del sitio de absorción. Ya que la velocidad del flujo sanguíneo es mucho mayor que la del flujo linfático, lo que realmente determina la velocidad de absorción en la mayoría de las sustancias es la cantidad del flujo sanguíneo a través de los tejidos sobre el lado interno de las membranas biológicas (Levine, 1973).

Las rutas principales de absorción son la vía gastrointestinal, el tracto respiratorio y a través de la piel; pero la absorción puede ocurrir a través de otras vías. Otras formas de ingreso de sustancias al organismo es por administración intramuscular, intravenosa y subcutánea (Levine, 1973).

ABSORCION GASTROINTESTINAL.

La mayoría de las sustancias tóxicas se absorben por el tracto gastrointestinal, esto se debe a que la mayoría de los tóxicos del medio ambiente entran a la cadena alimenticia, y posteriormente se absorben del tracto gastrointestinal. El grado y velocidad de absorción están influenciadas por la solubilidad, formación de complejos con los alimentos, susceptibilidad a la acción de enzimas digestivas, tiempo de vaciado gástrico e inducción de emesis en el caso de sustancias irritantes (Klaassen, 1980; Haley, 1987).

El tracto gastrointestinal puede considerarse como un tubo que va a través del cuerpo, sin embargo, su contenido se considera exterior al mismo. Por lo tanto, aún cuando los tóxicos estén dentro del tracto gastrointestinal no producen daño al individuo sino hasta que se absorben, a menos que el compuesto sea cáustico o muy irritante al tracto gastrointestinal (Luckey & Venugopal 1977).

La velocidad con la que se transporta un tóxico o cualquier material a través de las membranas celulares, está limitada por su liposolubilidad (que se mide por el coeficiente de partición lípido/agua), su gradiente de concentración a través de la membrana, y la permeabilidad de la misma. En general, no se tiene claro el mecanismo o mecanismos por los cuáles se absorben los compuestos insolubles en lípidos. La mayoría de los tóxicos que se absorben activamente en el tracto gastrointestinal se absorben por

difusión simple (Klaassen, 1980).

Un tóxico se absorberá en la parte del tracto gastrointestinal en la cuál exista en la forma más liposoluble. Ya que el jugo gástrico es ácido y el contenido intestinal es casi neutro, la liposolubilidad de un tóxico puede diferir marcadamente en estas dos áreas del tracto gastrointestinal.

También es de extrema importancia la estabilidad de los compuestos químicos. Un tóxico puede alterarse por la acción del ácido, enzimas o flora intestinal para formar un nuevo compuesto que puede diferir en toxicidad del compuesto original.

La absorción de metales es despreciable en el estómago, la mayor absorción del material digerido ocurre en el intestino delgado, en particular en la porción media, donde se absorben la mayoría de los metales, siendo máxima la absorción en el yeyuno e ileon. Por el contrario, en el duodeno, el ajuste rápido del equilibrio osmótico provoca que la absorción neta sea mínima. (Klaassen, 1980). Por ejemplo, después de la ingestión oral, el plomo se absorbe alrededor del 10%, manganeso 4%, cadmio 1.5% y cromo 1%. Si el compuesto es muy tóxico, esta pequeña cantidad de absorción puede producir efectos serios (Fowler, et al., 1980).

El tracto gastrointestinal de los mamíferos tiene sistemas de transporte especializado para la absorción de nutrientes y electrolitos. Hay un sistema transportador para la absorción de

glucosa y galactosa, tres sistemas de transporte separados para la absorción de aminoácidos, un sistema de transporte activo para la absorción de pirimidinas, y sistemas de transporte separados para la absorción de fierro, calcio y sodio.

Algunos tóxicos metálicos pueden absorberse por estos mismos sistemas de transporte especializado; por ejemplo, el talio se transporta por el sistema que normalmente absorbe fierro, el plomo puede absorberse por el sistema que normalmente transporta calcio y el manganeso compite por el sistema de transporte de fierro.

La alteración de la motilidad gastrointestinal puede afectar también la absorción de los tóxicos. Un decremento de motilidad tiende a incrementar la velocidad total de absorción, mientras que un incremento de motilidad intestinal tiende a disminuir la absorción. Esto se debe a la gran capacidad absorptiva del segmento proximal del intestino delgado, pues casi la mitad del área total de la mucosa se encuentra en la cuarta parte del segmento proximal del intestino delgado. Por tanto, si el tóxico permanece en la parte proximal del intestino delgado por un período largo de tiempo, se absorberá más.

La absorción de un tóxico en el tracto gastrointestinal depende también de las propiedades físicas del compuesto, en especial de la velocidad de disolución. Si el tóxico es relativamente insoluble, el compuesto tendrá contacto limitado con la mucosa gastrointestinal y por lo tanto se absorberá poco. Si el tamaño de partícula es grande, se absorberá mucho menos por difusión ya que

la velocidad de disolución es proporcional al tamaño de partícula. Esta es la razón por la cual el mercurio metálico sea poco tóxico cuando se ingiere oralmente, y que el trióxido de arsénico finamente dividido sea significativamente más tóxico que el material en polvo de grano grande, ya que cantidades apreciables del último se eliminan en las heces sin disolverse.

Las interacciones entre metales también son importantes, un metal puede alterar la absorción de otro: el cadmio disminuye la absorción de zinc y cobre, el calcio disminuye la absorción de cobre, y el magnesio disminuye la absorción de los fluoruros. El EDTA y otros agentes quelantes incrementan la solubilidad y absorción de los metales, por tanto es conveniente no administrar un quelante oralmente mientras el metal esté presente en el tracto gastrointestinal (Shanker, 1971; Klaassen, 1980).

Como hemos visto, la absorción o transferencia de iones metálicos a través del tracto gastrointestinal, depende además de su modo de captación de otros factores, que pueden caracterizarse como físicos, fisiológicos y no específicos.

INTESTINO DELGADO.

El aparato digestivo está formado por la boca, la faringe, el esófago, el estómago, los intestinos delgado y grueso y varias glándulas voluminosas situadas afuera del tubo digestivo (salivales, hígado, vesícula biliar y páncreas) que vacían sus secreciones en el (Ham, 1970).

Cada segmento del tracto gastrointestinal realiza una función específica durante la digestión y la absorción de nutrientes, fármacos o sustancias tóxicas (Klaassen, 1980). Cuando se investiga la absorción, generalmente se estudia este fenómeno de transferencia de material en el intestino delgado, ya que es justamente en este órgano donde se absorben en mayor proporción la gran mayoría de las sustancias que llegan al tracto gastrointestinal. Para entender por qué el intestino delgado presenta la mayor capacidad absorptiva de todo el tracto gastrointestinal, es necesario revisar la estructura y el arreglo de la mucosa intestinal.

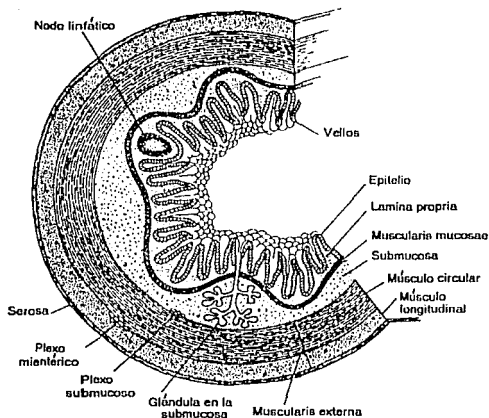


Fig. I-1. CAPAS DE LA PARED DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

La estructura del tracto gastrointestinal varía enormemente de región a región, pero existen características comunes en la organización general del tejido. En la figura I-1 se muestra la estructura de capas de la pared del tracto gastrointestinal. En esta figura podemos ubicar la capa serosa y las partes constitutivas de la capa mucosa dentro del lumen intestinal.

La capa mucosa esta formada de un epitelio, la lámina propia, y la muscularis mucosae (músculo de la mucosa). La mucosa varía enormemente de una parte del tracto digestivo a otra, sin embargo, es en el intestino delgado precisamente donde el recubrimiento epitelial de la capa mucosa presenta un arreglo único que permite al intestino realizar su función primordial de absorción. Estas características excepcionales en el arreglo de la mucosa proveen al intestino delgado de los medios para incrementar el área superficial de su epitelio (Levine, 1973; Berne & Levy, 1988).

A simple vista, la superficie mucosa está apilada hacia arriba en pliegues, que en el hombre se conocen como pliegues de Kerckring. Estos pliegues son más numerosos y profundos en el intestino delgado que los pliegues del epitelio gástrico; con la presencia de estos pliegues, se incrementa la superficie intestinal aproximadamente tres veces con respecto a la superficie serosa. Si estos pliegues se observan con un microscopio óptico, observamos que surgen de ellos pequeñas proyecciones delicadamente fruncidas llamadas vellos. Estas proyecciones añaden un incremento relativo adicional de 10 veces en el área de la superficie

luminal. Los vellos individuales están alineados con las unidades absorptivas primarias -células epiteliales- y con células copa, células que secretan moco, ver figura I-2. Visualizadas con un microscopio electrónico, la superficie libre de la célula epitelial en la frontera luminal muestra un arreglo de estructuras parecidas a los dedos, llamadas microvellos. Se ha estimado que hay alrededor de 600 microvellos por célula, y esto produce otro incremento de 20 veces en el área superficial relativa del epitelio.

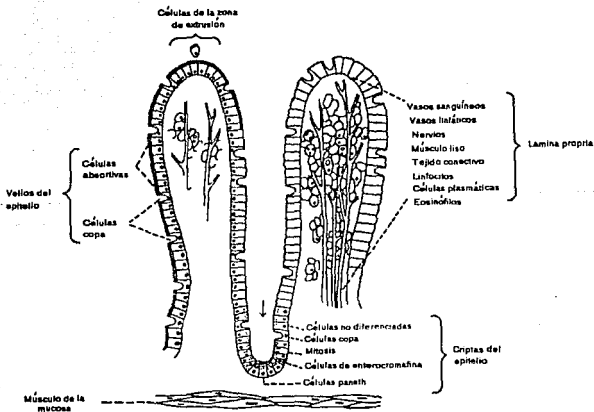


Fig. I-2 DIAGRAMA DE DOS VELLOs SECCIONADOS

La presencia de los pliegues, vellos y microvellos incrementan de manera sorprendente el área superficial del intestino. Si comparamos el área plana de la superficie serosa del intestino con respecto al área de la mucosa intestinal, encontramos que no existe proporción, ya que el área de la mucosa es aproximadamente 600 veces mayor, la gran capacidad absorbiva del intestino se debe precisamente al aumento tan desmesurado de su área superficial. De ahí que si penetra cualquier sustancia en el epitelio gastrointestinal, se absorberá en mayor proporción en el intestino delgado; siempre y cuando la molécula sea liposoluble y no ionizable, o bien sea un electrolito débil ácido o básico.

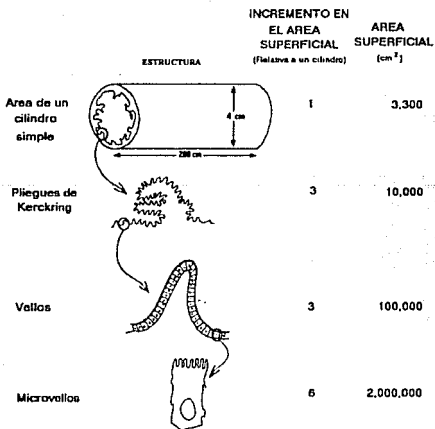


Fig. 1-3 INCREMENTO DEL AREA SUPERFICIAL DEL INTESTINO DELGADO

En la figura I-3 se ilustra el intestino delgado del hombre, que mide aproximadamente 280 cm de largo y 4 cm de diámetro, gracias a la presencia de los pliegues, vellos y microvellos, presenta un área superficial disponible para la absorción de aproximadamente 200 m² (Levine, 1973).

El intestino delgado está dividido en tres secciones que son el duodeno, yeyuno e ileon. Estas partes se pueden diferenciar anatómicamente en el tracto gastrointestinal; sin embargo, desde el punto de vista de la absorción esto no es trascendente. Lo que resulta determinante para explicar las distintas absorciones que se observan en las tres secciones intestinales, son las diferencias morfológicas que presentan los vellos en estas tres partes del tracto gastrointestinal.

Los vellos en el duodeno y yeyuno del hombre alcanzan longitudes de 0.5 a 1 m, dada la gran invaginación que presentan estas estructuras. Se ha estimado que hay aproximadamente de 10 a 40 vellos por mm² de superficie mucosa. En el duodeno proximal, los vellos son frecuentemente anchos y en forma de crestas, especialmente en esta porción de la mucosa atraviesan extensamente las glándulas de Brunner o nódulos linfáticos, lo que produce una distorsión marcada del patrón viloso "normal". En la parte distal del duodeno y en el yeyuno proximal, los vellos son normalmente en forma de hojas o dedos. En la parte más distal del yeyuno y en el ileon, los vellos tienen forma de dedos. Los vellos son más altos en el duodeno distal y en el yeyuno proximal, su altura disminuye

a medida que nos aproximamos distalmente hacia la válvula ileocecal. De manera que los vellos del ileon distal tienen aproximadamente la mitad de la altura que los vellos del yeyuno proximal.

Se han encontrado variaciones significativas en la longitud de los vellos entre otras especies de mamíferos. Por ejemplo, en los perros los vellos son mucho más largos que en el hombre. Sin embargo, en los mamíferos pequeños como las ratas, ratones y hamsters, los vellos son de la misma altura o más largos que en el hombre, pero el espesor total de toda la pared intestinal, incluyendo las capas submucosa y muscular, es mucho menor en estos animales (Trier, 1968).

Las diferencias morfológicas y las distintas longitudes de los vellos a lo largo del intestino delgado, permiten explicar las diferencias de absorción que se observan en las tres secciones intestinales.

La mucosa intestinal es un tejido muy activo metabólicamente, presenta una velocidad de captación de oxígeno igual a la del hígado y posee una gran capacidad de regeneración.

Cuando se forman nuevas células, éstas migran a lo largo del vello para salir fuera de la extremidad del mismo. En este proceso de migración, las células se diferencian en células absorptivas con microvellos y microcálices, el microcáliz es una extensión externa del microvello.

La constante salida de las células se torna en un mecanismo de defensa, pues remueve los tóxicos metálicos unidos a macromoléculas celulares. Pequeñas cantidades de materiales altamente tóxicos matan las primeras células epiteliales con las cuáles entran en contacto, pero se regeneran rápidamente, ya que son reemplazadas en dos o tres días. Esta eliminación de células epiteliales viejas (10^{10} en el hombre), permite al cuerpo, liberar el exceso de metales o de sus sales y es una buena defensa para algunos tóxicos que pueden ser secuestrados en las células epiteliales (Luckey, & Venugopal, 1977).

ESTRUCTURA DE LAS MEMBRANAS.

La absorción implica en general el transporte a través de membranas, por lo que a continuación revisaremos su estructura.

Las membranas son estructuras lipoideas que están constituidas principalmente de proteínas y fosfolípidos. Los fosfolípidos tienen una cabeza polar y dos cadenas no polares de grupos acil grasos. La mayoría de las moléculas de fosfolípido en las membranas biológicas presentan una estructura de bicapa lipídica, ver figura I-4.

Las proteínas de las membranas biológicas se encuentran asociadas con los fosfolípidos de la membrana de dos formas principalmente:

- 1) Por interacciones de carga entre la cabeza polar del fosfolípido y los residuos ácidos o básicos de los aminoácidos de

las proteínas, y

2) Por interacciones hidrofóbicas de las cadenas no polares del fosfolípido con los residuos hidrofóbicos de los aminoácidos proteicos.

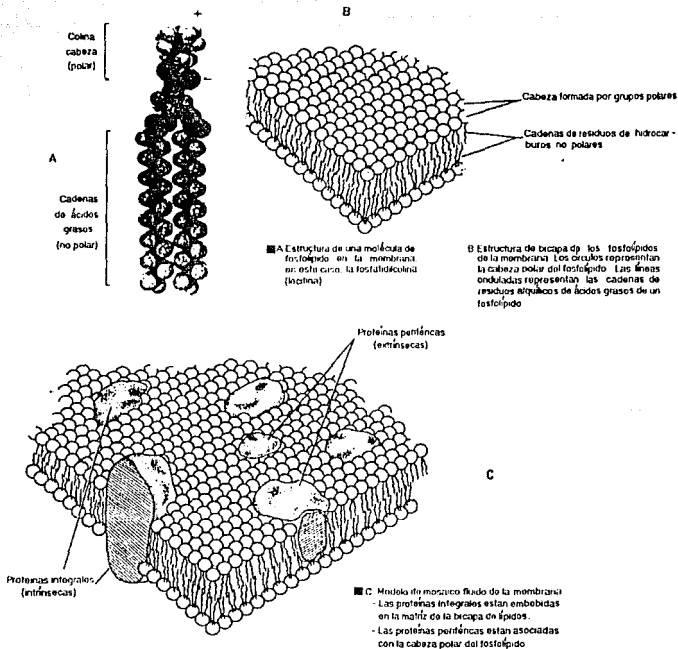


FIG. I-4 ESTRUCTURA DE BICAPA Y DE MOSAICO FLUIDO DE LA MEMBRANA

En la figura I-4 se muestra el modelo de "mosaico fluido" de la membrana. En este modelo se considera que las proteínas presentes en la membrana pueden ser integrales y periféricas. Las proteínas integrales o intrínsecas están embebidas en la bicapa de fosfolípidos y presentan interacciones hidrofóbicas importantes con el interior de la membrana; mientras que las proteínas periféricas o extrínsecas están asociadas con la superficie de la bicapa de fosfolípidos y se mantienen unidas a la bicapa mediante interacciones de carga. De manera que las membranas celulares son estructuras fluidas en las cuales muchas de las moléculas constituyentes se difunden libremente en el plano de la membrana; de tal forma, que la mayoría de los lípidos y proteínas se mueven libremente en el plano de la bicapa, pero cambian de dirección desde un lado a otro de la membrana a velocidades muy pequeñas. Esto es menos probable que ocurra cuando una porción grande hidrofílica tenga que ser arrastrada a través del interior no polar de la bicapa de lípido. Sin embargo, en algunos casos los componentes de la membrana no se difunden libremente en el plano de la membrana.

Los componentes principales de las membranas celulares animales son fosfolípidos que contienen colina, como las lecitinas y las esfingomielinas, también están presentes los aminofosfolípidos como la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina. Otros fosfolípidos que están presentes en pequeñas cantidades son el fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol y la cardiolipina. La composición protéica de las membranas dependerá de la función que

realicen, ya que pueden encontrarse más de 100 proteínas constituyentes diferentes que funcionan como enzimas, proteínas transportadoras, receptores de hormonas, receptores para los neurotransmisores y antígenos.

Por último, las membranas biológicas brindan una barrera permeable para la mayoría de las moléculas hidrosolubles, ya que presentan una baja solubilidad en el medio ambiente no polar del interior de la bicapa lipídica de las membranas biológicas (Berne & Levy, 1988).

SISTEMAS DE TRANSPORTE.

El tráfico de moléculas a través de las membranas biológicas puede llevarse a cabo mediante diferentes sistemas de transporte, entre los cuáles podemos distinguir entre transporte pasivo, es decir difundiéndose simplemente entre las moléculas que conforman la membrana, mientras que el paso de otras moléculas requieren de proteínas transportadoras específicas en la membrana.

DIFUSION SIMPLE.

La difusión simple o transporte pasivo ocurre espontáneamente, una de las características de este tipo de transporte, es que en todo momento depende directamente de la concentración del soluto. El transporte pasivo de un soluto es el resultado de la simple difusión del soluto como respuesta a un gradiente de concentración o electroquímico. De manera que la difusión lleva a un estado en

el cual la concentración de las especies en difusión es constante en espacio y tiempo. Así, la difusión a través de las membranas celulares tiende a igualar las concentraciones sobre ambos lados de la membrana. La velocidad de difusión a través de una superficie plana es proporcional al área del plano y a la diferencia de concentración de la sustancia que se difunde sobre los dos lados del plano. La primera ley de Fick de la difusión establece que:

$$J = - DA \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

donde:

J = velocidad neta de difusión

A = área del plano

$\frac{dc}{dx}$ = gradiente de concentración a través del plano

D = constante de proporcionalidad, llamado coeficiente de difusión

La ecuación (1) contiene un signo menos, este signo indica la dirección de la difusión. Las moléculas fluyen de una concentración mayor a una menor.

Si resolvemos la ecuación (1) para D obtenemos:

$$D = \frac{J}{A \frac{dc}{dx}} = \frac{\text{moles/seg}}{\text{cm}^2 \frac{\text{moles/cm}^3}{\text{cm}}} \quad (2)$$

D puede considerarse como proporcional a la velocidad con la cual la molécula puede moverse difundiéndose en el medio que la rodea.

Para moléculas de soluto esféricas que son más grandes que las moléculas del disolvente que las rodea, A. Einstein obtuvo la siguiente ecuación:

$$D = kT / (6\pi r \eta) \quad (3)$$

donde

k = constante de Boltzman

T = temperatura absoluta

r = radio molecular

η = viscosidad del medio

(kT es proporcional a la energía cinética promedio de una molécula de soluto).

La ecuación (3) se conoce como relación Stokes-Einstein y el radio molecular definido por esta ecuación se conoce como radio de Stokes-Einstein. Para moléculas grandes, la ecuación (3) predice que D será inversamente proporcional al radio de la molécula que se está difundiendo. Ya que el peso molecular (w) es aproximadamente proporcional a r^3 , D debe ser inversamente proporcional a $(w)^{1/3}$.

Desde el siglo pasado, la impermeabilidad relativa de la membrana a la mayoría de las sustancias hidrosolubles se atribuyó a su naturaleza lipoidal, esta hipótesis fue demostrada mediante experimentos en los cuales compuestos solubles en disolventes no polares entraban a la células más fácilmente que las sustancias hidrosolubles de peso molecular similar. La proporción de solubilidad del soluto en aceite de olivo a su solubilidad en agua

se usó como medida de la solubilidad en disolventes no polares. A esta razón se le conoce como coeficiente de reparto aceite/agua. Para compuestos con el mismo coeficiente de reparto, la permeabilidad disminuye a medida que se incrementa su peso molecular, de manera que la bicapa lipídica de la membrana es la barrera principal para la sustancia que permea la membrana por difusión simple.

En el caso de moléculas hidrosolubles, se observó que este tipo de moléculas muy pequeñas y sin carga, pasaba a través de la membrana mucho más rápidamente que lo que predecía su solubilidad. Por ejemplo, el agua permea la membrana mucho más fácilmente que moléculas mayores con coeficientes de reparto similares. Algunos investigadores piensan que las membranas contienen pequeños poros que permiten pasar al agua y a pequeñas moléculas solubles en agua. Otros creen que las moléculas muy pequeñas hidrosolubles pueden pasar al exterior disolviéndose efectivamente entre las moléculas adyacentes de fosfolípidos en la región ocupada por las mismas cadenas de ácidos grasos. Sin embargo, algunos experimentos sugieren que las proteínas de la membrana son las responsables de la permeabilidad tan alta al agua que presenta la membrana.

Debido a su carga, los iones son relativamente insolubles en disolventes lípidos. La difusión iónica a través de las membranas ocurre a través de canales de proteína que atraviesan la membrana. Algunos canales son altamente específicos con respecto a los iones que permiten pasar, mientras que otros permiten pasar a cualquier

ion por debajo de cierto tamaño. Estos canales protéicos están regulados por diferencias de potencial en la membrana, por neurotransmisores o por otras moléculas (Styer, 1975; Berne, & Levy, 1988).

SISTEMAS DE TRANSPORTE MEDIADO.

Algunas sustancias entran o abandonan las células por medio de transportadores específicos o canales que son proteínas de la membrana plasmática. Este tipo de transporte se conoce como transporte mediado por proteínas o simplemente transporte mediado; estos sistemas de transporte mediado incluyen el transporte activo y los procesos de transporte facilitado. La diferencia principal entre estos dos procesos es que el transporte activo es capaz de bombear una sustancia en contra de un gradiente de concentración (o potencial electroquímico), mientras que el transporte facilitado tiende a equilibrar la sustancia a través de la membrana.

Las propiedades básicas del transporte mediado son las siguientes:

1) Moléculas de liposolubilidad y peso molecular similares se transportan más rápido que por difusión simple.

2) La velocidad de transporte muestra una cinética de saturación: al aumentar la concentración del compuesto transportado, la velocidad del transporte se incrementa, hasta una concentración en la cual ya no se observa incremento en la velocidad de transporte.

En este punto, se dice que el sistema de transporte está saturado con el compuesto transportado.

3) La proteína mediadora presenta especificidad química: únicamente las moléculas con la estructura química necesaria se transportan. La especificidad de la mayoría de los sistemas de transporte no es absoluta y, en general, es más amplia que la especificidad de la mayoría de las enzimas. La glucosa se transporta por difusión facilitada, pero también puede ser transportada por las mismas proteínas que transportan galactosa, manosa, xilosa, L-arabinosa y otros azúcares. Sin embargo, los procesos mediados también poseen estereoespecificidad, de manera que el sistema que transporta D-glucosa, de ninguna forma transporta L-glucosa.

4) Moléculas relacionadas estructuralmente pueden competir para transportarse. Típicamente la presencia de un sustrato transportador disminuirá la velocidad de transporte de un segundo sustrato por competencia de la proteína transportadora. Esta competencia es análoga a la inhibición competitiva de una enzima.

5) El transporte puede inhibirse por compuestos no relacionados estructuralmente a los sustratos de transporte. Un inhibidor puede enlazarse a la proteína transportadora, de manera que disminuya su afinidad normal por el sustrato transportado. Los sistemas de transporte activo, que necesitan algún enlace metabólico, pueden inhibirse mediante inhibidores metabólicos. La velocidad de transporte del Na^+ fuera de las células por el Na^+ , K^+ -ATPasa se

disminuye por sustancias que interfieren con la generación de ATP.

TRANSPORTE FACILITADO.

Al transporte facilitado también se le conoce como difusión facilitada, ocurre vía un transporte de proteína que no está acoplado a energía metabólica. El transporte facilitado posee las propiedades mencionadas anteriormente, excepto que este transporte generalmente no se deprime por inhibidores metabólicos. Dado que no está acoplado a energía metabólica, los procesos de transporte facilitado no pueden mover sustancias sin carga en contra de un gradiente de concentración o iones en contra de un gradiente de potencial electroquímico. Los sistemas de transporte facilitado actúan para igualar concentraciones o potenciales electroquímicos de iones en el citoplasma y fluidos extracelulares de las sustancias que transportan; la velocidad de transporte muestra una cinética de saturación.

Los detalles moleculares de los procesos de transporte mediados por proteínas no han sido entendidos totalmente, sin embargo, la evidencia sugiere que la mayoría de las proteínas transportadoras atraviesan la membrana y son multiméricas. Se ha postulado un modelo hipotético para las proteínas que transportan monosacáridos en la membrana de los eritrocitos humanos. Se postula que esta proteína es un tetrámero, y que los cambios conformacionales de la proteína, inducidos por el enlace al monosacárido, permiten a la molécula de azúcar entrar y abandonar la cavidad central, ver figura 1-9.

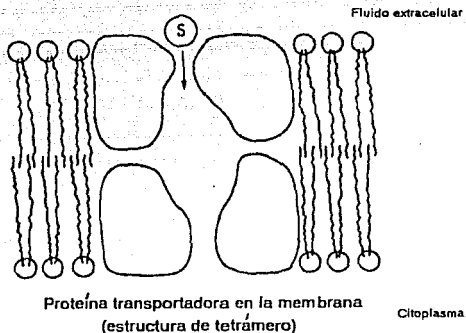


FIG. 1-5. MODELO HIPOTETICO DE UNA PROTEINA TRANSPORTADORA

TRANSPORTE ACTIVO.

Los procesos de transporte activo presentan la mayoría de las propiedades del transporte facilitado, pero además, pueden concentrar sus sustratos en contra de gradientes de potencial electroquímicos. Esto requiere de energía, de manera que los procesos de transporte activo deben estar acoplados a energía metabólica de alguna forma. Los sistemas de transporte activo pueden usar ATP, directamente, o pueden acoplarse de manera indirecta al metabolismo, de manera que los procesos de transporte activo se inhiben con cualquier sustancia que interfiera con la energía metabólica.

El transporte mediado es análogo en muchos aspectos a una reacción química catalizada enzimáticamente. Cuando el proceso de transporte se encuentra en estado estacionario a través de la membrana plasmática, el flujo unidireccional desde el citoplasma al fluido extracelular, es exactamente igual al flujo unidireccional desde el fluido extracelular al citoplasma. Ya que el influjo es igual al eflujo, no hay flujo neto a través de la membrana plasmática, y la concentración celular es constante en el estado estacionario (Ariens, et al., 1978; Styer, 1988; Berne & Levy, 1988).

OBJETIVOS

Hasta el momento hemos mencionado algunas características importantes del arsénico desde el punto de vista de la exposición ambiental, los efectos crónicos y agudos y los mecanismos de toxicidad. También se han descrito los factores que determinan la absorción intestinal, las características más sobresalientes del intestino delgado y los diferentes sistemas de transporte. Sin embargo, para caracterizar adecuadamente la absorción de una sustancia tóxica, es necesario formular tres preguntas:

¿Cómo determinar si una sustancia se absorbe?

¿Cómo se lleva a cabo la absorción? y

¿Con qué velocidad se absorbe?.

Para contestar las preguntas anteriores, nos hemos planteado los siguientes objetivos:

O B J E T I V O S

- 1) DETERMINAR SI EXISTEN DIFERENCIAS DE ABSORCION DEL ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO ENTRE LAS DISTINTAS SECCIONES DEL INTESTINO DELGADO DE RATA.
- 2) ENCONTRAR SI LA ABSORCION DEPENDE DEL ESTADO DE OXIDACION DEL ARSENICO.
- 3) DETERMINAR EL TIPO DE TRANSPORTE QUE USAN LOS COMPUESTOS DE ARSENICO ESTUDIADOS PARA ABSORBERSE.
- 4) DETERMINAR SI EXISTEN DIFERENCIAS EN LA VELOCIDAD DE ABSORCION ENTRE EL ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

REACTIVOS.

Los reactivos utilizados fueron grado analítico.

As_2O_3 -99.5 % resublimado de E. Merck (Darmstadt, RFA).

$\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -98.6 % de J. T. Baker (Phillisburg, USA).

Tabletas de NaBH_4 (Alfa products).

NaCl , KCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (glucosa),

NaHCO_3 , CaCl_2 , HCl , HNO_3 y H_2SO_4 .

Gas carbógeno (mezcla de 95 % de O_2 + 5 % de CO_2).

SOLUCIONES.

Solución Tyrode (pH = 7.4)

Cantidades para preparar 1,000 mL:

NaCl	8.0 g
KCl al 10 %	2.0 mL
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ al 10 %	2.6 mL
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ al 5 %	1.3 mL
glucosa	1.0 g
NaHCO_3	1.0 g
CaCl_2 1 M	1.8 mL

Solución de arsenito de sodio [As (III)]:

Se prepararon soluciones de 80 a 2,000 (mg/L) a partir de As_2O_3 disuelto en agua basificada con NaOH , neutralizando posteriormente a pH de 7.0 con HCl concentrado.

Solución de arseniato de sodio [As (V)]:

Se prepararon soluciones de 80 a 2,000 (mg/L) a partir de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, disolviendo esta sal en agua.

APARATOS Y EQUIPO.

Espectrofotómetro de absorción atómica (AAS), Varian AA-175 con un generador de hidruros Varian modelo 65 acoplado al (AAS).

Potenciómetro Beckman, selection 2 000 Ion Analyzer.

Baño de temperatura controlada, Lauda K-4R, Brinkman Instruments, Inc.

Agitador magnético, Magnestir, Lab-Line Instruments, Inc.

Estufa de vacío

Cámara de absorción

Jeringa con aguja larga, de punta roma de 14 cm de largo.

Micropipetas.

Pipetas volumétricas.

Matraces volumétricos.

Tubos Eppendorf.

Hilo de seda.

MATERIAL BIOLÓGICO.

Intestino delgado de ratas Wistar macho.

PREPARACION DEL TEJIDO.

Se usaron ratas Wistar macho de diez a catorce semanas de edad, cuyo peso estaba en el intervalo de 214 - 371 g; los animales fueron alimentados con nutricubos Purina y agua "ad libitum". Veinticuatro horas antes del sacrificio, se les retiró el alimento, dejándoles libre acceso al agua. Posteriormente, el animal fue sacrificado por dislocación cervical (Wilson & Wiseman, 1954).

Inmediatamente después del sacrificio, se expusieron las vísceras mediante una laparotomía (efectuando un corte a través de la línea alba de la pared abdominal (Olds & Olds, 1979). Las diferentes secciones del intestino delgado, se ubicaron tomando en cuenta las referencias anatómicas siguientes:

-Duodeno. Se localiza después del estómago, su forma característica es de una "U" y rodea una parte de la cabeza del páncreas, esta sección intestinal termina en la flexión duodeno-yeyuno (la flexión se reconoce porque el intestino delgado comienza a enrollarse en el mesenterio).

-Yeyuno. Esta parte del intestino delgado es la de mayor longitud, se encuentra enrollada y suspendida por el mesenterio, que en esta sección del intestino posee arterias.

-Ileon. Se le ubica antes del ciego, entre la unión ileocecal

y el último doblés del yeyuno; esta sección es muy similar al duodeno, ya que tampoco está enrollada en el mesenterio. (Permezal, 1971; Baker, et al., 1979; Olds & Olds, 1979; Fox, et al., 1984).

Cada uno de los tres segmentos del intestino, se lavaron con solución Tyrode (Livingstone, 1970) oxigenada con gas carbógeno (95 % O_2 + 5 % CO_2) (Smith & Taylor, 1957). El lavado se realizó introduciendo el émbolo de una jeringa en el lumen intestinal, pasando varias veces solución Tyrode, hasta dejar libre de residuos alimenticios el intestino. Las secciones limpias, se conservaron en solución Tyrode a una temperatura inferior a 4°C, durante un periodo máximo de 4 horas. (Wilson & Wiseman, 1954; Bamford, 1967).

Los estudios de la transferencia de sustancias a través de la pared intestinal, generalmente se realizan en órgano aislado; dicho transporte puede llevarse a cabo en condiciones aeróbicas o anaeróbicas (Wilson & Wiseman, 1954; Bamford, 1967).

Nuestro estudio se realizó en condiciones aeróbicas, por lo que los "sacos invertidos" de las secciones intestinales se mantuvieron oxigenadas con gas carbógeno. En los "sacos invertidos", el lado mucoso queda a la vista y el lado seroso queda hacia adentro del intestino. Con la inversión del intestino, el lado mucoso quedará suspendido en la cámara intermedia, y por lo tanto recibirá una mayor oxigenación, esto es necesario ya que el lado mucoso es la parte más activa de este tejido (Wilson &

Wiseman, 1954; Smith & Taylor, 1957).

La inversión del intestino se realizó con ayuda de una varilla de vidrio de 1.4 mm de diámetro y 10 cm de largo, teniendo la precaución de no perforar el tejido al realizar esta operación, además de trabajar con rapidéz para evitar la desnaturalización del tejido (Wilson & Wiseman, 1954).

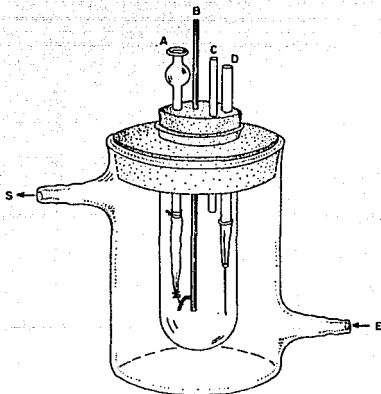


FIGURA D.1 DIAGRAMA DE LA CAMARA DE ABSORCION

volumen de la cámara exterior	260.9 ml
volumen de la cámara intermedia	57.4 ml
volumen de la cámara interior	1.2 ml
(A) muestreador y soporte	(B) soporte
(C) orificio libre	(D) burbujeador

CAMARA DE ABSORCION.

La cámara de absorción que se utilizó es una modificación de la cámaras tipo Wilson, Smith & Taylor y Crane & Wilson (Wilson, 1956; Smith & Taylor, 1957; Crane & Wilson (1958), el esquema se muestra en la figura D.1.

El dispositivo se integró de tal manera que se crearon dos cámaras permanentes y una tercera que corresponde a la del interior del "saco invertido".

La cámara exterior fue la más grande y contaba con un tapón fijo de neopreno. Esta cámara se usó para proporcionar un baño de temperatura constante mediante un fluido que ingresaba constantemente por (E) y salía por (S). Los extremos (E) y (S) estaban conectados a un baño de temperatura constante, que aseguraba una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. La pared exterior de la cámara intermedia se insertó en el tapón de la cámara exterior. La cámara intermedia se formó entre una pared de vidrio y la pared intestinal del "saco invertido". Esta cámara intermedia tiene un tapón de neopreno móvil en el cual se insertaron los siguientes elementos:

- (A) tubo de vidrio en forma de embudo de seguridad.
- (B) tubo de acero inoxidable, con gancho en un extremo.
- (C) tubo de vidrio.
- (D) jeringa de tuberculina recortada, sin émbolo y aguja aplanada.

El tubo (A) se diseñó en forma de embudo de seguridad para evitar derrames durante el muestreo, en el extremo inferior de este tubo se insertó el fragmento del intestino; el tubo (B) funcionó como soporte para sujetar el saco; el tubo (C) es un orificio libre, sirvió para mantener constante la presión en la cámara intermedia; la jeringa (D) funciona como burbujeador, la aguja se aplanó para formar burbujas más pequeñas, mejorar la oxigenación y mantener el tejido en condiciones aeróbicas. En la cámara intermedia se colocaron las soluciones arsenicales, oxigenando de manera continua con gas carbógeno a través del orificio (D).

La cámara interior quedó formada por el espacio que define el lado mucoso del "saco invertido". Con el lado mucoso hacia afuera, se mejora la oxigenación de este tejido tan sensible. De manera que se tuvo un transporte del lado mucoso a seroso del intestino (M-S). Además, el movimiento de una sustancia del lado mucoso al seroso conduce a la sustancia al interior del saco en el cual se detecta fácilmente debido al pequeño volumen del fluido y al grado tan pequeño de dilución (Schanker, 1971). De esta cámara se extrajeron las muestras, para determinar la cantidad de arsénico que atravesaba la pared intestinal durante el experimento. La muestra se tomó a través del orificio (A).

MONTAJE DEL TEJIDO EN LA CAMARA DE ABSORCION.

Se tomaron 5 cm de cada sección de intestino invertido; se insertó aproximadamente 1 cm de tejido en la parte inferior de (A) y se

amarró con hilo de seda. El saco se formó amarrando el extremo libre del intestino, y se fijó en el gancho del soporte (B) (Crane & Wilson, 1958).

El intestino se llenó con 1.2 mL de solución Tyrode oxigenada, mientras que en la cámara intermedia el volumen fue mayor; generándose un gradiente de concentración de arsénico a través de la membrana, con lo cuál aseguramos el fenómeno de transporte a lo largo del experimento.

PREPARACION DEL EXPERIMENTO DE ABSORCION.

Se colocaron en la cámara intermedia 30 mL de solución Tyrode, y se agitó durante 30 minutos usando un agitador magnético, para que la solución adquiriese la misma temperatura del baño. Simultáneamente, se burbujeó la solución con gas carbógeno para oxigenar el tejido y asegurar un pH de 7.4 (Crane & Wilson, 1958).

Para realizar el estudio de absorción gastrointestinal en órgano aislado, fueron seleccionados los compuestos inorgánicos, arsenito de sodio [As(III)] y arseniato de sodio [As(V)], (que son las especies inorgánicas más comunes en agua. (Braman y Foreback, 1973).

Las soluciones arsenicales de diferente concentración (80, 240, 500, 1,000 y 2,000 ppm (mg/L)), se prepararon adicionando a la cámara intermedia el volumen necesario de una solución concentrada (1,000 ó 10,000 mg/L) de arsenito o arseniato de sodio, teniendo

la precaución de retirar el mismo volumen antes de la adición, para mantener constante el volumen de la cámara intermedia.

Después de preparar la solución arsenical, se homogenizó mediante agitación durante tres minutos, se tomaron de la cámara intermedia alícuotas por duplicado para determinar la concentración inicial de arsénico en la solución Tyrode.

Posteriormente, se sumergió el "saco inverido" en la cámara intermedia, burbujeando carbógeno y manteniendo constante la temperatura a 37°C durante todo el experimento (Bamford, 1967).

El muestreo se realizó en la cámara interior, tomando por duplicado alícuotas de 10 μ L a intervalos regulares de tiempo, (Esto corresponde a muestrear en el lado seroso del intestino, lo que nos ofrece una medida directa de la cantidad de arsénico que se ha transportado a través del intestino en los diferentes tiempos de muestreo) (Schanker, 1971).

La muestra se extrajo con una jeringa provista de aguja larga (13.4 cm) de punta roma, que se introdujo por el orificio (A) penetrando siempre a la misma profundidad. El volumen total muestreado fue de 0.2 mL en los experimentos de cinco horas de duración, y de 0.12 mL en los experimentos que se realizaron durante dos horas.

Al terminar el experimento, se tomaron de la cámara intermedia muestras alícuotas por duplicado, para determinar la concentración

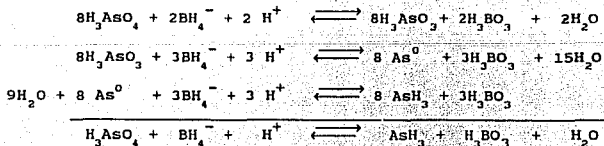
final de arsénico, este monitoreo se realiza en el lado mucoso del intestino.

Todos los experimentos se realizaron por duplicado, utilizando intestinos de animales diferentes con características similares.

DETERMINACION DE ARSENICO.

La determinación cuantitativa del arsénico se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica (AAS). Acoplada a un generador de hidruros; para producir el gas arsina (AsH_3) se usó borohidruro de sodio (NaBH_4), manteniendo una atmósfera inerte en la cámara del generador, pasando un flujo de nitrógeno. La arsina se descompone a 300°C , gracias a esta propiedad se determina el arsénico. Se usó una línea de resonancia de 193.7 nm, con lámpara de descarga sin electrodos (EDL).

REACCIONES DE REDUCCION DEL ARSENICO

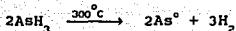


(CRC, 1985; Charlot, G., 1971).

Después de haberse formado la arsina, en la cámara de reacción del espectrofotómetro de absorción atómica; se descompone térmicamente al ser arrastrada por el flujo del gas inerte hasta

el tubo de cuarzo (localizado en el quemador), donde finalmente se obtiene arsénico elemental, (Demitras, et al., 1973; Nekrasov, B.V.; 1975)

DESCOMPOSICION TERMICA DE LA ARSINA



Determinación de arsénico en solución.

A las muestras alicuotas obtenidas de la cámara interior, no se les dió ningún tratamiento, se adicionó directamente al vaso de precipitados que las contenían, 5 mL de H_2O + 5 mL de HCl al 50%, a continuación se vertió esta mezcla en la cámara del generador de hidruros, agitándose durante 40 segundos y se dejó caer una pastilla de borohidruro de sodio. La concentración de arsénico en la muestra se determinó comparando el área de los espectros de absorción con las áreas de los espectros de una gráfica patrón.

Determinación de arsénico en tejido.

Se desmontó el fragmento de intestino de la cámara de absorción y se lavó. Previamente a la determinación de concentración de arsénico en tejido, se determinó la humedad, secando el fragmento de intestino a 50°C en estufa de vacío.

Posteriormente, se digirió el intestino seco con una mezcla de ácidos 1:2:4 en volumen de HClO_4 , H_2SO_4 y HNO_3 , respectivamente (Gorsuch, 1959); la determinación cuantitativa de As en el residuo

de la digestión, se realizó como se describe en el inciso anterior.

Sensibilidad del método analítico.

La sensibilidad del método analítico que se utilizó (espectroscopia de absorción atómica con generación de hidruros y lámpara de cátodo hueco), permite un intervalo de trabajo de 0.005-0.03 mg/L, con una concentración característica de 0.0002 mg/L (Varian, 1979).

DISEÑO EXPERIMENTAL

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ABSORCION.

Se investigó la absorción intestinal en yeyuno de rata de dos compuestos de arsénico inorgánico. Se incubó el yeyuno durante 5 horas en una solución de arsenito de sodio [As (III)] o arseniato de sodio [As (V)] a una concentración inicial de 80 mg/L, tomando muestras cada treinta minutos durante el transcurso del experimento.

ESTUDIO DE ABSORCION EN LAS TRES SECCIONES INTESTINALES.

Se incubaron por separado el duodeno, yeyuno e ileon, en soluciones de arsenito o arseniato de sodio a una concentración de 80 mg/L en solución Tyrode, muestreando cada 20 minutos durante las dos horas en que se realizó el experimento.

ESTUDIO DE VARIACION DE CONCENTRACIONES.

a) Duodeno. Se incubó esta sección intestinal en soluciones de arsenito o arseniato de sodio respectivamente, aumentando aproximadamente 6 veces la concentración, desde 80 hasta 500 mg/L, durante este experimento se tomaron muestras por duplicado de la cámara interior en períodos de veinte minutos durante 2 horas.

b) Yeyuno. Se incubó esta parte del intestino en soluciones de [As (III)] o [As (V)] aumentando 25 veces la concentración de las soluciones de arsénico inorgánico, desde 80 hasta 2 000 mg/L.

las soluciones de arsénico inorgánico, desde 80 hasta 2 000 mg/L.

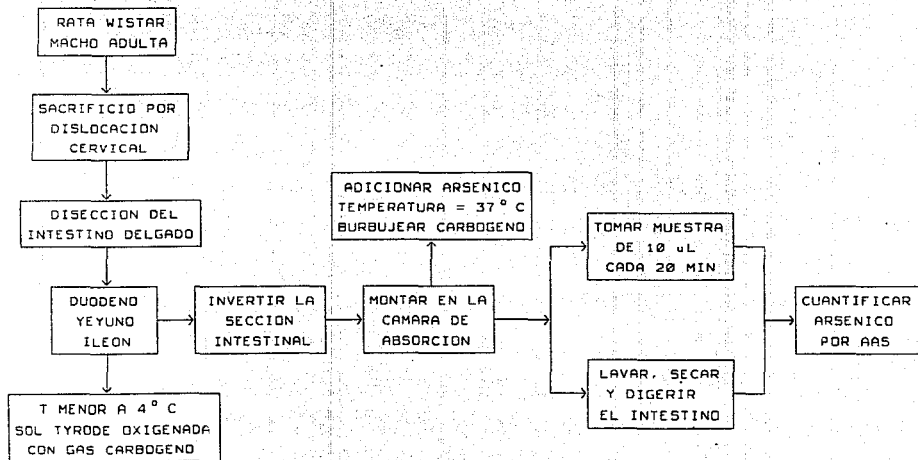
De la cámara interior, se tomaron muestras por duplicado cada veinte minutos.

CONCENTRACION DE ARSENICO EN TEJIDO.

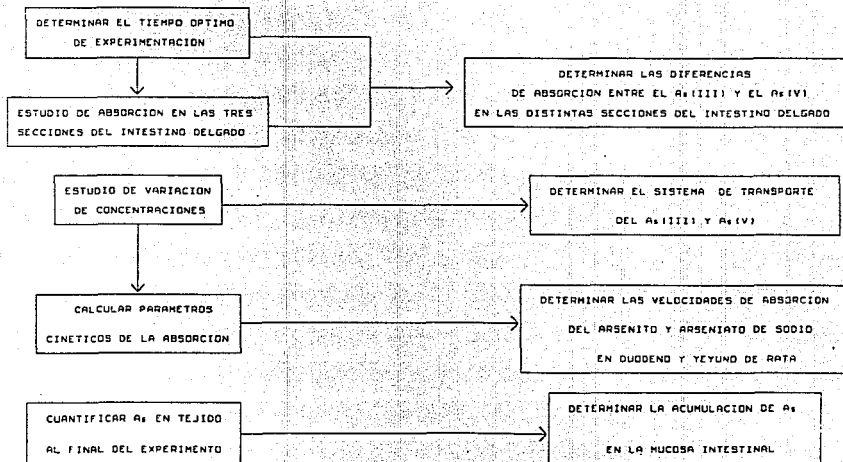
Después de concluir los experimentos anteriores, se tomaron los "sacos invertidos" y se determinó la concentración de arsénico en tejido. Los detalles experimentales para la determinación de la concentración de arsénico en tejido se describen en la página 69.

DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA EL ESTUDIO DE LA ABSORCION
INTESTINAL DE As_5 (III) Y As_5 (IV)

73



DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EL ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN



RESULTADOS Y DISCUSION

ESTIMACION DEL TIEMPO OPTIMO DE EXPERIMENTACION CON YEYUNO IN VITRO.

Para estimar la absorción de arsénico en el intestino, usamos el parámetro "porcentaje de absorción", que se define como:

$$\% \text{ de absorción} = (C_t/C_0) \times 100 \quad (4)$$

Donde

C_t = Concentración de As al tiempo t, (lado seroso).

C_0 = Concentración inicial de As.

En la tabla 1.1 se muestra el estudio de la absorción intestinal de arsenito y arseniato de sodio [As(III) y As(V)] en yeyuno de rata durante 5 horas. En esta tabla observamos que para el [As(III)], hasta los 120 minutos se mantiene un cambio apreciable en la absorción de este compuesto; en el intervalo de los 120 a los 180 minutos el incremento de absorción es constante. A los 180 minutos se inicia el equilibrio, permaneciendo constante la absorción desde los 240 minutos lo que implica que no existe un gradiente de concentración en la membrana.

La existencia del equilibrio de concentraciones en ambos lados del intestino se corroboró experimentalmente al final del experimento. En la tabla 1.2 se muestran las concentraciones de arsenito de sodio obtenidas a los 300 minutos, aquí se observa que

TABLA 1.1 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO EN YEYUNO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	36.2	38.6	37.4	17.5	21.0	19.2
60	40.9	43.4	42.1	23.0	27.7	25.3
90	56.2	54.7	55.4	38.7	43.0	40.8
120	61.9	60.8	61.3	51.2	55.7	53.4
150	73.3	68.4	70.8	59.4	63.9	61.6
180	79.0	75.8	77.4	65.9	69.8	67.8
210	83.6	81.0	82.3	70.6	72.6	71.6
240	87.5	85.1	86.3	71.7	73.9	72.8
270	87.6	85.3	86.4	72.6	74.4	73.5
300	87.6	85.3	86.4	72.9	74.7	73.8

PREPARACION DE YEYUNO EN SOLUCION TYRODE, ADICIONADA CON 80 μ g/L DE As (III) O As (V), T = 37°C.

TABLA 1.2 CONCENTRACION FINAL DE ARSENICO EN EL LADO SEROSO Y MUCOSO DE YEYUNO DE RATA

	ARSENICO (III)		ARSENICO (V)	
	CONCENTRACION FINAL DE ARSENICO EN (μ g/L)			
	EXPERIMENTO		EXPERIMENTO	
	1	2	1	2
LADO MUCOSO	74.6	68.7	63.3	59.7
LADO SEROSO	74.6	68.7	63.4	59.7

LAS CONCENTRACIONES EN AMBOS LADOS DEL INTestino FUERON DETERMINADAS A LOS 300 MINUTOS

la concentración de arsénico es la misma en ambos lados de la membrana biológica, con lo cual podemos asegurar que en el sistema ya no existía un gradiente de concentración.

La presencia del equilibrio se puede visualizar fácilmente al observar la figura 1, que muestra el porcentaje de absorción en yeyuno. En la curva que corresponde al As(III), vemos que el equilibrio inicia a los 180 minutos y la absorción del arsenito de sodio es prácticamente constante desde los 210 minutos.

En la misma tabla 1.1 observamos que para [As(V)], se mantiene una diferencia apreciable en la absorción del arsénico hasta los 180 minutos, posteriormente a los 210 minutos el sistema alcanza el equilibrio. En la tabla 1.2 se muestran las concentraciones de arsénico al final del experimento. Se encontró que también como en el caso del As(III), las concentraciones de As(V) en ambos lados de la membrana fueron las mismas, lo que permite asegurar que el sistema había llegado al equilibrio. Si observamos de nuevo la figura 1, en la curva que corresponde al As(V) se nota claramente que el equilibrio se alcanzó a los 210 minutos.

De las observaciones anteriores, podemos concluir que el equilibrio de concentraciones se alcanza a diferentes tiempos para cada estado de oxidación, siendo menor el tiempo que requiere el As(III) para llegar al equilibrio.

Ahora bien, cuando se absorbe un tóxico, atraviesa la membrana biológica, llega al torrente circulatorio y posteriormente se

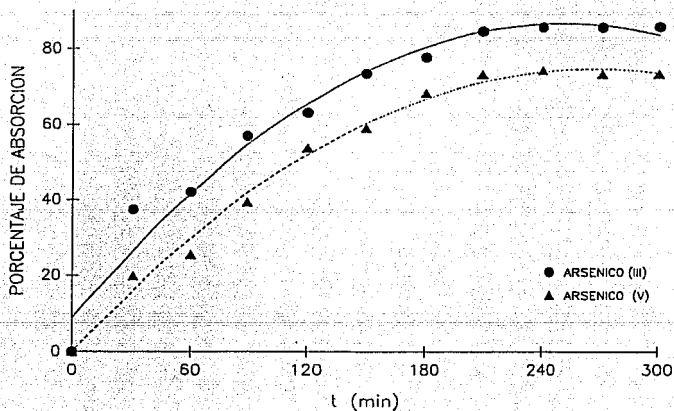


FIGURA 1 PORCENTAJE DE ABSORCION DE $As(III)$ Y $As(V)$ EN YEYUNO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO DURANTE 5 HORAS A $37^{\circ}C$, EN SOLN. TYRODE ADICIONADA CON 80 mg/L DE ARSENITO O ARSENIATO DE SODIO

distribuye, biotransforma y elimina; de manera que en realidad casi siempre existe un gradiente de concentración a lo largo de la membrana biológica, y podemos pensar que el tóxico se absorbe *ad infinitum*, siempre y cuando el sistema de transporte que utilice el tóxico para atravesar la membrana biológica sea un transporte no mediado, esto es, se transporte mediante difusión simple.

Dicho lo anterior, y simplificando el problema, esto es pensando que el sistema de transporte que utilizan los compuestos arsenicales estudiados es un transporte no mediado, resulta deseable mantener el sistema en estudio, en las condiciones más parecidas a la realidad, esto es en condiciones fuera del equilibrio de concentraciones, por lo que el tiempo útil del modelo experimental utilizado es aquél en el que el sistema se encuentra lejos del equilibrio de concentraciones.

De manera que con el modelo experimental que estamos utilizando para estudiar la absorción de los compuestos de arsénico inorgánico, el tiempo útil de experimentación es menor a 120 minutos para As(III) y menor a 180 minutos para As(V). De ahí que para realizar los estudios de absorción en ambos estados de oxidación, decidimos restringir a 120 minutos el tiempo de experimentación.

Es importante mencionar que observamos cambios macroscópicos de las características de la membrana biológica y también en la apariencia de la solución. Desde los 150 minutos la solución empezó a enturbiarse y el color del fragmento intestinal se tornó

más claro; posiblemente en este momento, la viabilidad de la membrana biológica era menor. A los 300 minutos, al finalizar el experimento, la estructura de la capa mucosa del intestino se había modificado, el tejido se notaba más turgente y parecía que el epitelio intestinal se estaba desprendiendo, posiblemente porque hubo cambios estructurales en el músculo de la mucosa que es el encargado de mantener la organización estructural del epitelio (Ham, 1970; Berns y Levy, 1988).

El determinar el tiempo útil del modelo experimental, nos permite asegurar que el sistema se encuentra fuera del equilibrio, permitiendo con esto mantener un gradiente de concentración y por tanto se favorece el transporte de material a través de la membrana biológica. Además, se está experimentando dentro del intervalo de tiempo en el que no se observaron cambios macroscópicos en el intestino, por ende se puede asegurar la viabilidad de la membrana biológica. De manera que el tiempo óptimo de experimentación para ambos estados de oxidación es de 120 minutos.

ESTUDIO DE ABSORCION EN LAS TRES SECCIONES INTESTINALES.

En esta parte del estudio de absorción, se describen las diferencias de absorción *in vitro* de dos compuestos de arsénico inorgánico en duodeno, yeyuno e íleon.

En las tablas 2 y 3, se muestran los resultados del estudio de absorción de las tres secciones de intestino delgado de rata. En la tabla 2 que corresponde a la absorción mostrada por el arsenito de sodio [As(III)], observamos que hasta los 60 minutos, la absorción de duodeno es marcadamente diferente a la absorción mostrada por yeyuno e íleon. A los 80 minutos, las diferencias de absorción entre las tres secciones intestinales son menores; a los 120 minutos persiste la diferencia de absorción entre duodeno y yeyuno y también entre duodeno e íleon; sin embargo, ya no existe una diferencia apreciable entre la absorción de yeyuno e íleon.

En la figura 2, se muestran las curvas experimentales de la absorción de arsenito de sodio, obtenidas para duodeno, yeyuno e íleon. Aquí observamos que la diferencia de absorción entre yeyuno e íleon es muy pequeña, mostrando curvas de absorción similares; sin embargo, en el caso de duodeno, se aprecia que la absorción es menor con respecto a yeyuno e íleon. Dicho de otra manera, el As(III) se absorbe más eficientemente en el yeyuno, y en forma parecida por el íleon, a diferencia del duodeno que muestra una absorción menos eficiente.

La tabla 3, muestra la absorción del arseniato de sodio

TABLA 2 ABSORCION DE ARSENITO DE SODIO, EN DUODENO, YEYUNO E ILEON DE RATA

t (min)	DUODENO			YEYUNO			ILEON		
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	19.8	25.3	22.6	33.7	39.4	31.6	32.1	---	33.1
40	36.0	41.1	38.6	50.5	45.1	47.8	50.0	---	50.0
60	44.2	49.5	46.8	57.9	56.2	57.1	57.8	---	57.8
80	59.3	61.1	60.2	69.5	62.1	65.8	68.8	---	68.8
100	72.1	70.8	71.5	72.6	54.9	63.8	70.8	---	70.8
120	74.4	72.3	73.4	83.2	68.0	75.6	75.3	---	75.3

PREPARACION DE DUODENO, YEYUNO E ILEON EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA DE 80 mg/L DE As (III). T = 37°C.

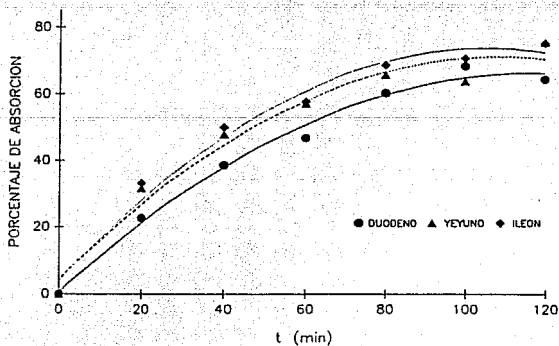


FIGURA 2 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) EN PREPARACION DE DUODENO, YEYUNO E ILEON DE RATA. LOS TEJIDOS SE INCUBARON 2 HORAS A 37°C. EN SOLN. TYRODE ADICIONADA CON 80 mg/L DE ARSENITO DE SODIO.

[As(V)] en las tres secciones de intestino delgado de rata. En esta tabla, observamos que yeyuno e ileon muestran absorciones similares hasta los 80 minutos, a los 100 y 120 minutos la absorción mostrada por yeyuno e ileon es ligeramente distinta. Sin embargo, la absorción que presenta el duodeno con respecto a yeyuno e ileon, es marcadamente inferior a lo largo de todo el experimento.

En la figura 3, se muestran los porcentajes de absorción de As(V) en las tres secciones del intestino delgado de rata. Se observa en esta gráfica que la absorción mostrada por yeyuno e ileon es similar, tornándose ligeramente mayor esta diferencia a partir de los 80 minutos. En el caso del duodeno, la absorción de este segmento intestinal es mucho menor con respecto a yeyuno e ileon en todo el intervalo de tiempo que duró el experimento.

Es importante destacar que la diferencia de absorción entre las tres secciones intestinales estudiadas, es notablemente mayor cuando se expone el tejido al arseniato de sodio. Obviamente, el As(V) sigue un patrón de absorción semejante al mostrado por el As(III), pero en el duodeno la absorción del arsenito de sodio es más eficiente.

Ahora bien, las diferencias de absorción observadas entre los dos experimentos independientes para ambos estados de oxidación [(III) y (V)], se deben muy probablemente a las diferentes absorciones que mostraban los tejidos. Aún cuando se usaron las mismas longitudes del tejido para realizar los experimentos,

TABLA 3 ABSORCION DE ARSENIATO DE SODIO, EN DUODENO, YEYUNO E ILEON DE RATA

t (min)	DUODENO			YEYUNO			ILEON		
	PORCENTAJE DE ABSORCION								
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	15.6	21.5	18.6	27.9	24.1	26.0	19.1	33.9	26.5
40	23.8	24.8	24.3	37.3	36.8	37.0	33.5	44.6	39.1
60	31.1	32.2	31.7	46.5	47.4	47.0	42.1	50.9	46.5
80	37.7	38.5	36.6	48.1	55.6	51.9	47.4	60.7	54.1
100	46.7	47.9	47.3	59.7	62.4	61.0	60.5	76.8	68.7
120	63.1	57.9	60.5	68.2	65.4	66.8	69.1	77.7	73.4

PREPARACION DE DUODENO, YEYUNO E ILEON EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 80 μ g/L DE As (V), T = 37°C.

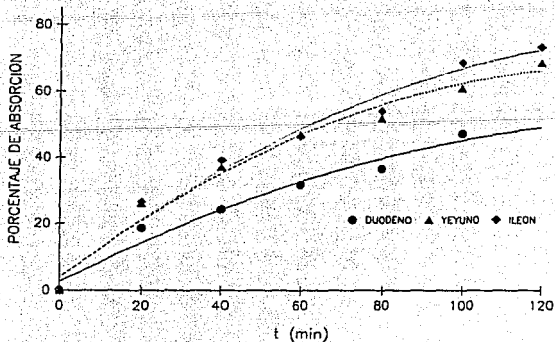


FIGURA 3 - PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(V) EN PREPARACION DE DUODENO, YEYUNO E ILEON DE RATA. LOS TEJIDOS SE INCUBARON 2 HORAS A 37°C, EN SOLN. TYRODE ADICIONADA CON 80 μ g/L DE ARSENIATO DE SODIO.

generalmente los fragmentos intestinales mostraban diámetros intestinales diferentes; recordemos que utilizamos tejidos de animales diferentes con características similares, y por tanto poseían diferentes capacidades de absorción. Por lo que además de medir el fragmento de intestino, sería conveniente también pesarlo y dividir la absorción entre el peso del fragmento intestinal, con el objeto de normalizar (minimizar las diferencias de absorción observadas) la absorción; o bien, estimar el área de absorción de cada fragmento intestinal.

Del análisis anterior, es claro que el duodeno es la parte del intestino delgado que presenta la absorción menos eficiente, esto puede explicarse debido a las diferencias morfológicas de los vellos a los largo del intestino. Generalmente los vellos en el duodeno proximal tienen forma de crestas, en el duodeno distal y en el yeyuno proximal tienen forma de hojas o dedos, de manera que en estas partes del intestino, los vellos presentan más invaginaciones, lo que da como resultado que la capacidad absorptiva del yeyuno sea mayor que la observada para el duodeno (Trier, 1968).

Ahora bien, en duodeno la absorción del arsenito de sodio es más eficiente que la observada para el arseniato de sodio. Lo anterior puede explicarse tomando en cuenta el modelo de membrana de mosaico fluido y mediante el mecanismo de la difusión iónica; este tipo de transporte ocurre a través de los canales de proteína presentes en la membrana. Ya que el $As(III)$ es capaz de formar

complejos con proteínas que presentan grupos sulfhidrilo -SH, posiblemente esto favorezca el transporte del arsenito de sodio, por tanto es factible que la diferencia de absorción entre los dos estados de oxidación observada en duodeno se debe posiblemente a la interacción del arsenito de sodio con las proteínas presentes en la membrana, y por esto se transporta más fácilmente este compuesto a través del epitelio intestinal (Berne & Levy, 1988).

Con respecto a la absorción mostrada por yeyuno e ileon, podemos considerar que prácticamente no existe diferencia, por lo que decidimos restringir las observaciones en el siguiente experimento de variación de concentraciones, y estudiamos los efectos de concentración utilizando únicamente duodeno y yeyuno.

ESTUDIO DE VARIACION DE CONCENTRACIONES.

A) DIFERENCIA DE ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO EN DUODENO.

Se estudió la absorción *in vitro* de arsenito y arseniato de sodio en duodeno de rata, aumentando hasta 6.5 veces la concentración inicial de los compuestos de arsénico.

En las tablas 4, 5 y 6, se muestran las absorciones de As(III) y As(V) en duodeno de rata a diferentes concentraciones iniciales de arsénico.

En las tablas 4 y 5 observamos que la absorción mostrada por As(III) es similar para las concentraciones iniciales de 80 y 240 mg/L; sin embargo, en la tabla 6 observamos que la absorción disminuye cuando la concentración inicial de arsénico es de 500 mg/L. En las tablas 4, 5 y 6 observamos que la absorción mostrada por As(V) es similar a las diferentes concentraciones iniciales.

Ahora bien, si comparamos la absorción que presenta el As(III) con respecto al As(V), es claro que cuando las concentraciones iniciales son de 80 y 240 mg/L, la absorción del As(III) es más eficiente. La diferencia de comportamiento se observa cuando la concentración inicial es de 500 mg/L, pues a esta concentración las absorciones que muestran ambos estados de oxidación son similares. Esta diferencia de comportamiento se debe a la disminución de absorción que muestra el arsenito de sodio.

TABLA 4 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENATO DE SODIO, EN DUODENO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	19.8	25.3	22.6	15.6	21.5	18.6
40	36.0	41.1	38.6	23.8	24.8	24.3
60	44.2	49.5	46.8	31.1	32.2	31.7
80	59.3	61.1	60.2	37.7	35.5	36.6
100	72.1	70.8	71.5	46.7	47.9	47.3
120	74.4	72.3	73.4	63.1	57.9	60.5

PREPARACION DE DUODENO EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 80 mg/L DE As(III) O As(V), T=37°C.

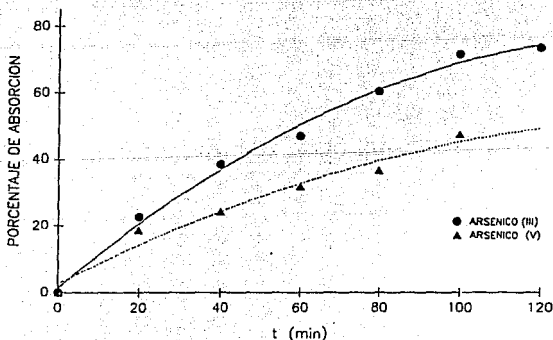


FIGURA 4 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) Y As(V), EN PREPARACION DE DUODENO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 80 mg/L DE As(III) O As(V)

TABLA 5 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO, EN DUODENO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	33.0	22.9	28.4	21.6	20.7	21.1
40	57.7	35.3	46.5	30.4	29.3	29.9
60	77.3	53.9	65.6	37.6	34.7	36.1
80	74.3	64.7	70.5	54.4	37.3	45.9
100	85.6	59.9	72.8	66.4	48.0	57.2
120	89.2	72.5	80.9	63.2	57.3	60.3

PREPARACION DE DUODENO EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 240 mg/L DE AS(III) O AS(V), T=37°C.

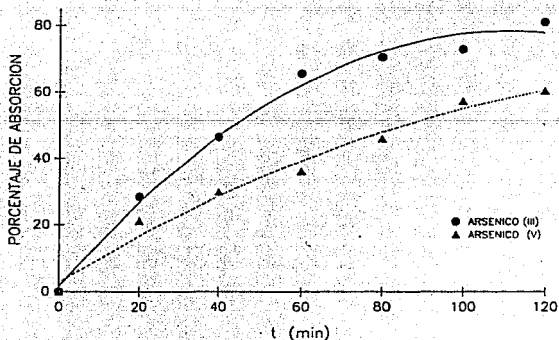


FIGURA 5 PORCENTAJE DE ABSORCION DE $As(III)$ Y $As(V)$, EN PREPARACION DE DUODENO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 240 mg/L DE $As(III)$ O $As(V)$.

TABLA 6 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO, EN DUODENO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	20.0	12.9	16.4	29.1	20.0	24.6
40	32.3	24.0	28.2	31.8	29.2	30.5
60	43.2	39.6	41.5	42.1	37.5	39.8
80	56.6	48.8	52.7	53.0	40.4	46.7
100	56.3	66.3	61.3	59.3	59.1	59.2
120	67.8	69.0	68.4	76.7	67.6	72.2

PREPARACION DE DUODENO EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 500 mg/L DE As(III) O As(V), T=37°C.

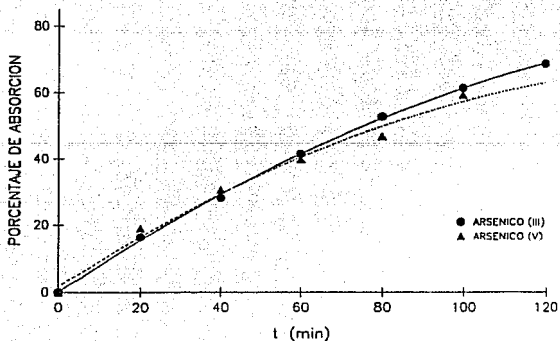


FIGURA 6 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) Y As(V), EN PREPARACION DE DUODENO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 500 mg/L DE As(III) O As(V)

Las figuras 4, 5 y 6, muestran el porcentaje de absorción de As(III) y As(V) en duodeno de rata.

En las figuras 4 y 5 se muestra la absorción del As(III) y As(V) a 80 y 240 mg/L, en estas gráficas observamos que el arsenito de sodio [As(III)] se absorbe de manera más eficiente que el arseniato de sodio [As(V)]. Sin embargo, en la figura 6 que muestra la absorción de las soluciones arsenicales cuando la concentración inicial es de 500 mg/L, observamos que la absorción de ambos estados de oxidación en el duodeno, es prácticamente la misma.

Para observar claramente porque a 500 mg/L se obtienen absorciones similares para ambos estados de oxidación en duodeno, se graficaron los porcentajes de absorción para cada estado de oxidación variando las concentraciones iniciales, estas gráficas se muestran en las figuras 6A y 6B.

En la figura 6A se muestra la absorción de As(III) en duodeno. Al observar esta gráfica vemos que la curva punteada corresponde a la concentración inicial de 500 mg/L, la curva de esta concentración se encuentra por debajo de las curvas de concentración menor, por lo cual ahora sí nos resulta claro que a 500 mg/L la absorción del arsenito de sodio se deprime.

Ahora analicemos lo que sucede con el arseniato de sodio. En la figura 6B, se muestra el porcentaje de absorción de As(V) en duodeno a diferentes concentraciones iniciales. Es claro que en

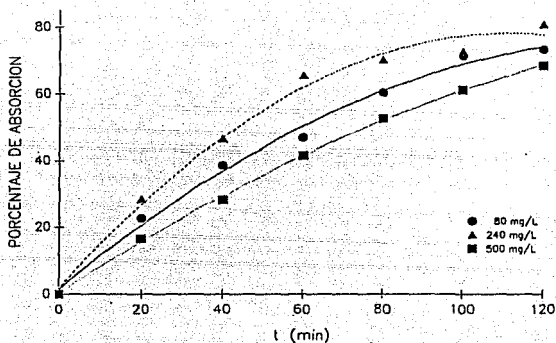


FIGURA 6A PORCENTAJE DE ABSORCIÓN DE $As(III)$ EN DUODENO DE RATA, A DIFERENTES CONCENTRACIONES. LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE 2 EXPERIMENTOS CON ANIMALES DIFERENTES DE CARACTERÍSTICAS SIMILARES

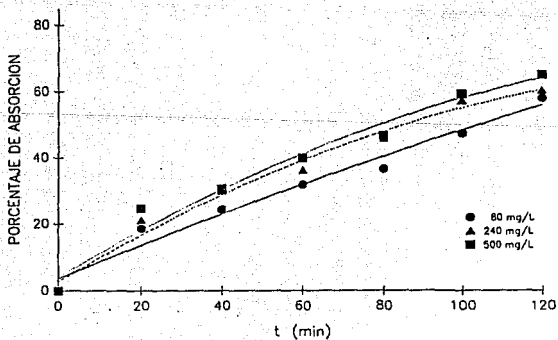


FIGURA 6B PORCENTAJE DE ABSORCIÓN DE $As(V)$ EN DUODENO DE RATA, A DIFERENTES CONCENTRACIONES. LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE 2 EXPERIMENTOS CON ANIMALES DIFERENTES DE CARACTERÍSTICAS SIMILARES

esta gráfica observamos que la absorción mostrada por el arseniato de sodio en duodeno, es similar a las tres concentraciones estudiadas; sin embargo, la pequeña diferencia en la absorción que se observa al aumentar la concentración del arseniato de sodio no muestra depresión en la absorción a 500 mg/L, ya que las tres curvas se encuentran en orden creciente de absorción al aumentar la concentración.

Del análisis de las gráficas anteriores, ahora sí resulta muy claro que las absorciones similares para $As(III)$ y $As(V)$ a 500 mg/L observado en la figura 6, se debe únicamente a la depresión de la absorción mostrada por el arsenito de sodio.

Es importante aclarar que el estudio de variación de concentraciones en duodeno, se realizó únicamente con tres concentraciones. En el estudio de variación de concentraciones realizado en yeyuno, se utilizaron cinco concentraciones.

El haber realizado el estudio de variación de concentraciones en duodeno sólo con tres concentraciones, se debió a la dificultad que presentaba el montaje del duodeno en la cámara de absorción. Esta sección intestinal es mucho más corta que el yeyuno, y si durante el montaje se perforaba la membrana intestinal, era necesario sacrificar otro animal, lo que implicaba perder un día de trabajo experimental, por esta razón el estudio de variación de concentraciones en duodeno se realizó únicamente con tres concentraciones diferentes.

B) DIFERENCIA DE ABSORCIÓN DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO EN YEYUNO.

Se estudió la absorción *in vitro* de arsenito y arseniato de sodio en yeyuno de rata, aumentando hasta 25 veces la concentración inicial de los compuestos de arsénico.

En las tablas 7, 8, 9, 10 y 11 se muestran las absorciones de As (III) y As (V) en yeyuno de rata a diferentes concentraciones iniciales de arsénico.

En las tablas 7, 8, 10 y 11 observamos que la absorción mostrada por el arsenito de sodio en yeyuno, es similar a 80, 240, 1,000 y 2,000 mg/L. Por lo que en general podemos decir que a las concentraciones mencionadas, la absorción mostrada por el As(III) es similar e independiente de la concentración inicial.

Sin embargo, al observar la tabla 9, notamos que a 500 mg/L se registra un comportamiento diferente en la absorción de este compuesto. A esta concentración observamos que la absorción en yeyuno se deprime, este fenómeno se observó anteriormente cuando analizamos la absorción mostrada por el duodeno.

Si ahora analizamos el patrón de absorción que presenta el arseniato de sodio mostrado en las tablas 7, 8, 9, 10 y 11, observamos que la absorción de este compuesto es similar a todas las concentraciones estudiadas, por lo que la absorción del As(V) es similar e independientemente de la concentración inicial.

TABLA 7 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO, EN VEYUNO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	33.7	29.4	31.6	27.9	24.1	26.0
40	50.5	45.1	47.8	37.2	36.8	37.0
60	57.9	56.1	57.1	46.5	47.4	47.0
80	69.5	62.1	65.8	48.1	55.6	51.9
100	72.6	54.9	63.8	59.7	62.4	61.0
120	83.2	68.0	75.6	68.2	65.4	66.8

PREPARACION DE VEYUNO EN SOLN. TYRRODE, ADICIONADA CON 80 mg/L DE As(III) O As(V), T=37°C.

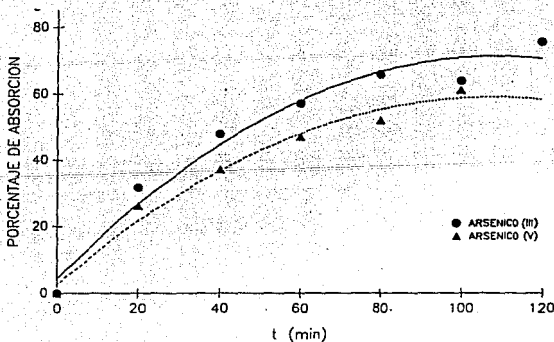


FIGURA 7 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) Y As(V), EN PREPARACION DE VEYUNO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRRODE, ADICIONADA CON 80 mg/L DE As(III) O As(V).

ii

TABLA 8 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO, EN YEYUNO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	55.4	27.3	41.4	31.6	24.2	28.9
40	63.7	35.2	49.5	44.3	27.8	36.1
60	68.4	47.7	58.1	57.0	39.7	48.4
80	77.4	58.6	68.0	63.1	46.4	54.8
100	85.1	71.9	78.5	65.8	53.1	59.5
120	80.4	82.0	81.2	79.2	68.0	72.6

PREPARACION DE YEYUNO EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 240 mg/L DE As(III) O As(V), T=37°C.

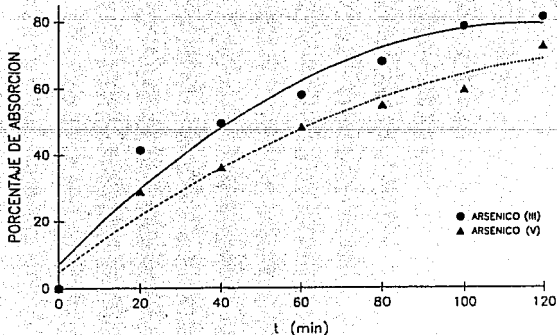


FIGURA 8 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) Y As(V), EN PREPARACION DE YEYUNO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 240 mg/L DE As(III) O As(V).

TABLA 9 ABSORCION DE ARSENIATO Y ARSENITO DE SODIO, EN YEYUNO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	23.5	18.1	20.8	22.2	23.7	23.0
40	37.9	25.2	31.6	25.2	25.6	25.4
60	52.7	32.4	42.6	41.3	33.8	37.6
80	62.7	51.9	57.3	49.5	52.5	51.0
100	58.0	54.2	56.1	56.3	66.0	61.2
120	75.5	66.2	70.9	69.0	73.1	71.0

PREPARACION DE YEYUNO EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 500 mg/L DE As(III) O As(V), T=37°C.

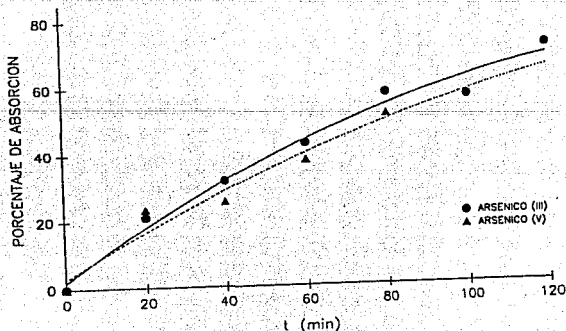


FIGURA 9 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) Y As(V), EN PREPARACION DE YEYUNO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 500 mg/L DE As(III) O As(V).

TABLA 10 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO, EN YEYUNO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM	1	2	PROM
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	22.8	25.8	24.3	11.2	21.9	16.6
40	41.2	37.3	39.3	20.2	35.5	27.9
60	55.9	48.4	52.2	29.7	49.0	39.4
80	56.3	61.8	59.1	44.3	68.5	56.4
100	74.7	65.6	70.2	53.7	73.0	63.3
120	76.6	72.5	74.6	63.2	85.7	74.5

PREPARACION DE YEYUNO EN SOLUCION TYRDE, ADICIONADA CON 1,000 mg/L DE As (III) O As (V), T = 37°C.

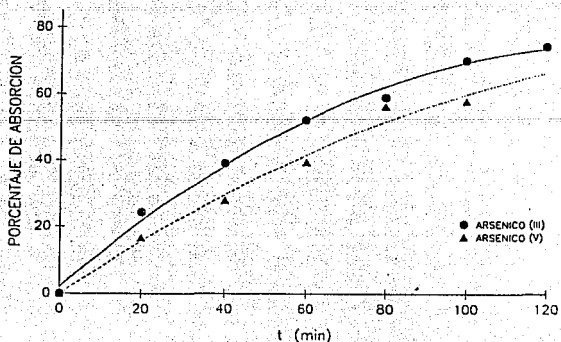


FIGURA 10 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) y As(V), EN PREPARACION DE YEYUNO DE RATA. EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRDE, ADICIONADA CON 1,000 mg/L DE As(III) O As(V).

TABLA 11 ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO, EN YEYUNO DE RATA

t (min)	ARSENICO (III)			ARSENICO (V)		
	PORCENTAJE DE ABSORCION					
	EXPERIMENTO			EXPERIMENTO		
	1	2	PROM.	1	2	PROM.
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	18.4	23.6	21.0	30.7	16.5	23.6
40	43.8	39.0	41.4	33.9	24.5	29.2
60	50.2	59.7	55.0	37.4	38.5	38.0
80	53.5	60.4	57.0	44.8	44.9	44.9
100	69.7	71.5	70.6	53.7	60.3	57.0
120	84.1	88.4	86.2	63.2	62.5	62.9

PREPARACION DE YEYUNO EN SOLUCION TYRODE, ADICIONADA CON 2,000 mg/L DE As (III) O As (V), T = 37°C.

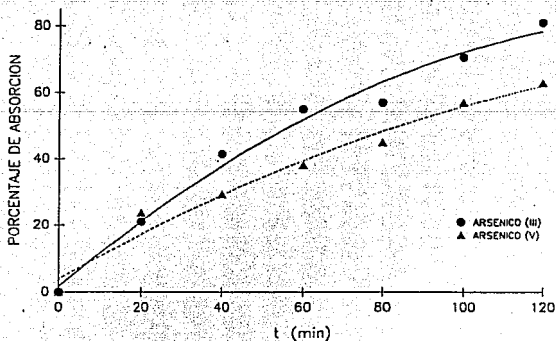


FIGURA 11 PORCENTAJE DE ABSORCION DE As(III) Y As(V), EN PREPARACION DE YEYUNO DE RATA, EL TEJIDO SE INCUBO 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON 2,000 mg/L DE As(III) O As(V)

En las figuras 7, 8, 10 y 11 observamos claramente que en yeyuno, el arsenito de sodio es el compuesto que se absorbe de manera más eficiente.

Sin embargo, al observar la figura 9 encontramos que a 500 mg/L, la absorción en yeyuno es similar para ambos estados de oxidación. Esta situación también se observó en duodeno para la misma concentración.

Con el objeto de aclarar porque a 500 mg/L la absorción en yeyuno es similar para ambos estados de oxidación, se graficaron los porcentajes de absorción para cada estado de oxidación a las diferentes concentraciones. Estas gráficas se muestran en las figuras 9A y 9B.

La figura 9A muestra el porcentaje de absorción de As(III) en yeyuno a diferentes concentraciones. En esta gráfica observamos que la curva de porcentaje de absorción a 500 mg/L (curva continua de símbolos cuadrados), está localizada por debajo de las curvas de concentraciones diferentes, ya sean de concentración mayor o menor. Por lo que el fenómeno de disminución de absorción de As(III) observado anteriormente en duodeno, ocurre a la misma concentración en yeyuno.

Al observar la figura 9B que muestra los porcentajes de absorción de As(V) en yeyuno a diferentes concentraciones, notamos que las curvas de absorción son similares e independientes de la concentración inicial.

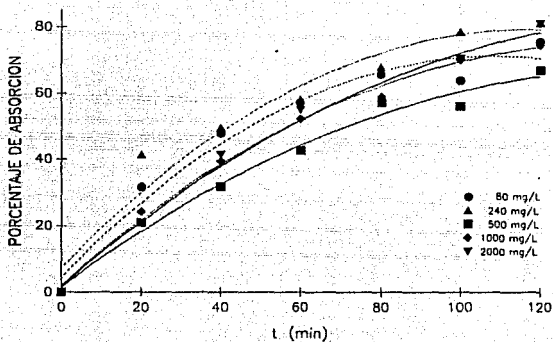


FIGURA 9A PORCENTAJE DE ABSORCION DE $As(III)$ EN YEYUNO DE RATA, A DIFERENTES CONCENTRACIONES. LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE 2 EXPERIMENTOS CON ANIMALES DIFERENTES DE CARACTERISTICAS SIMILARES

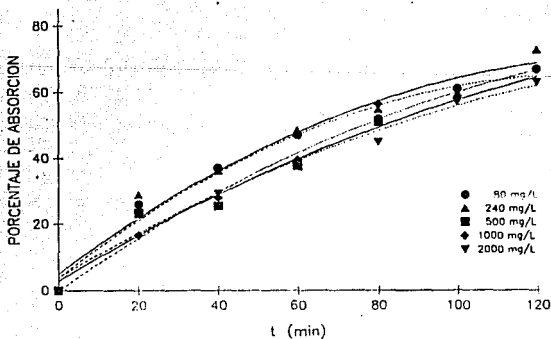


FIGURA 9B PORCENTAJE DE ABSORCION DE $As(V)$ EN YEYUNO DE RATA, A DIFERENTES CONCENTRACIONES. LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE 2 EXPERIMENTOS CON ANIMALES DIFERENTES DE CARACTERISTICAS SIMILARES.

Del análisis anterior es claro que las absorciones similares de As(III) y As(V) en yeyuno, mostradas en la figura 9 se deben exclusivamente a la disminución de absorción que presenta el As(III) en yeyuno a 500 mg/L.

Para explicar por qué se observa en duodeno y yeyuno un decremento en la absorción del arsenito de sodio, cuando la concentración inicial es de 500 mg/L, es necesario recordar que el As(III) es mucho más tóxico que el As(V); a continuación se muestra una tabla de la toxicidad relativa de As(III) y As(V).

TABLA DE TOXICIDAD RELATIVA

TOXICIDAD RELATIVA DE AS(III) Y AS(V) EN DIFERENTES SISTEMAS

Efecto	Dosis		Diferencia en potencia
	As(III)	As(V)	
Oral LD ₅₀ en ratas	10	100 mgKg ⁻¹	10
Intraperitoneal LD ₇₅ en ratas	4.5	14-18 mgKg ⁻¹	3.1-4.0
<i>Trypanosoma gambiense</i> LD ₅₀	0.15	8.9 mmolKg ⁻¹	59.3
ED ₅₀ Inhibición de crecimiento en células He La	0.13	2.0 mgL ⁻¹	15.4
ED ₅₀ Disminución en la síntesis de fosfoenol piruvato	2.0	12.0 mM	6.2
ED ₅₀ Disminución en la saturación del grupo hemo de la triptofano pirrolasa	75	200 molKg ⁻¹	2.6

Tomado de (Del Razo, et al., 1990) p.150.

Del análisis de esta tabla, es claro que el As(III) es más tóxico que el As(V), por lo que el decremento en la absorción que

se observó para el As(III) en duodeno y yeyuno, puede explicarse porque posiblemente cuando la concentración era de 500 mg/L, las células de la membrana biológica ya estaban intoxicadas, o simplemente el experimento 2 mostró valores bajos en el porcentaje de absorción en ambas secciones intestinales (ver tablas 6 y 9). El fenómeno de depresión de la absorción que hemos observado no se observa a concentraciones mayores, puesto que al aumentar la concentración del arsenito de sodio ya no se observa en yeyuno el decremento en la absorción. Para determinar si realmente esta depresión de absorción observada se debe a que uno de los experimentos resultó ser de absorción baja, es necesario realizar más repeticiones de este experimento.

* Las gráficas mostradas en las figuras 1 a 11, 6A, 6B y 9A y 9B, se construyeron con el paquete Sigmaplot versión 3.1 de Jandel Scientific Co. En estas figuras los puntos mostrados corresponden al promedio de dos experimentos independientes realizados con animales diferentes de características similares. Las curvas mostradas en estas graficas corresponden a la curva de mejor ajuste, calculadas a partir del método de mínimos cuadrados, utilizando la ecuación $y = ax^b$ donde $b = 2$. La fórmula anterior describe una curva parabólica.

SISTEMA DE TRANSPORTE DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO EN DUODENO Y YEYUNO IN VITRO.

Se encontró en los resultados descritos anteriormente, que el arsenito de sodio se absorbe en mayor proporción que el arseniato de sodio, siendo más eficiente la absorción en yeyuno y de manera similar en el ileon. Esto permite conocer únicamente la cantidad de material que ha cruzado la membrana biológica en un tiempo determinado.

Sin embargo, nuestro interés es conocer cómo se lleva a cabo el transporte de los compuestos de arsénico para absorberse en el intestino, por lo que es necesario determinar el sistema de transporte que utilizan el arsenito y arseniato de sodio para atravesar el epitelio intestinal.

En la tabla 12 se muestra el efecto de la concentración sobre la absorción de As(III) y As(V) en duodeno de rata. En esta tabla observamos que a cualquier tiempo la absorción mostrada por el arsenito de sodio es similar a 80 y 240 mg/L, disminuyendo ligeramente cuando la concentración inicial es de 500 mg/L. Si observamos la absorción que presenta el arseniato de sodio, vemos que para este compuesto, la absorción de As(V) a cualquier tiempo es similar a las tres concentraciones estudiadas.

En la figura 12.1 se muestra el porcentaje absorbido de arsenito de sodio a los 60 minutos en duodeno de rata a diferentes concentraciones. En esta gráfica observamos que aparentemente a

TABLA 12. EFECTO DE LA CONCENTRACION SOBRE LA ABSORCION DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO EN DUODENO DE RATA

t (min)	CONC. DE As(III) (mg/L)		
	80	240	500
	PORCENTAJE ABSORBIDO EN EL INTESTINO		
20	22.6	28.4	16.5
40	38.6	46.5	28.2
60	46.8	65.6	41.5
80	60.4	70.5	52.7
100	71.5	72.8	61.3
120	73.5	80.9	68.5

t (min)	CONC. DE As(V) (mg/L)		
	80	240	500
	PORCENTAJE ABSORBIDO EN EL INTESTINO		
20	18.6	21.1	24.6
40	24.3	29.9	30.6
60	31.7	36.1	39.8
80	36.6	45.9	46.7
100	47.3	57.2	59.2
120	60.5	60.3	72.2

LOS VALORES DE ABSORCION SON EL PROMEDIO PARA DOS ANIMALES DIFERENTES CON CARACTERISTICAS SIMILARES.

PREPARACION DE DUODENO EN SOLN. TYRODE, ADICIONADA CON As(III) O As(V) A DIFERENTES CONCENTRACIONES, T = 37°C.

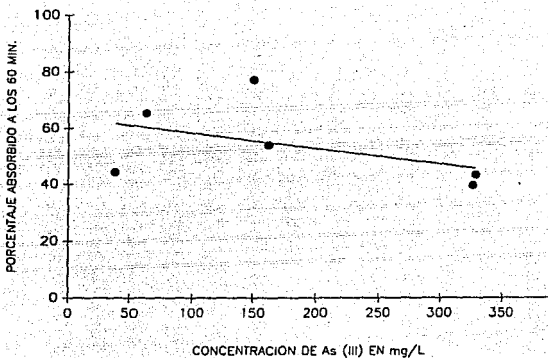


FIGURA 12.1 PORCENTAJE ABSORBIDO DE ARSENITO DE SÓDIO A LOS 60 MINUTOS EN DUODENO DE RATA. LOS TEJIDOS SE INCUBARON 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONANDO CONC. DIFERENTES DE As(III)

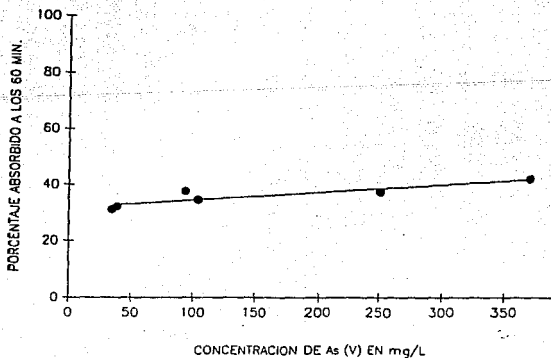


FIGURA 12.2 PORCENTAJE ABSORBIDO DE ARSENIATO DE SÓDIO A LOS 60 MINUTOS EN DUODENO DE RATA. LOS TEJIDOS SE INCUBARON 2 HORAS, A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONANDO CONC. DIFERENTES DE As(V).

500 mg/L, el porcentaje absorbido disminuye ligeramente; sin embargo, si observamos el primer y el cuarto punto de la gráfica (que corresponden a 80 y 240 mg/L respectivamente), vemos que muestran porcentajes similares a los correspondientes a 500 mg/L, por lo que probablemente el segundo y el tercer punto de la gráfica presentaron valores muy altos de porcentaje absorbido.

En la figura 12.2 se muestra el porcentaje absorbido de arseniato de sodio a los 60 minutos en duodeno de rata a diferentes concentraciones. En esta gráfica observamos que el porcentaje absorbido de As(V) es el mismo a cualquier concentración.

Del análisis anterior, podemos decir que en duodeno, la cantidad absorbida de As(III) y As(V) por unidad de tiempo se mantiene constante y la absorción no se modifica al aumentar la concentración inicial.

En la tabla 13 se muestra el efecto de la concentración sobre la absorción de arsenito de sodio en yeyuno de rata a diferentes concentraciones iniciales. En esta tabla se observa de nuevo que a 500 mg/L el porcentaje absorbido de arsenito de sodio muestra un ligero descenso; sin embargo, al analizar la figura 13 que muestra los datos del porcentaje absorbido de As(III) a los 60 minutos, a diferentes concentraciones iniciales observamos que obviamente el porcentaje absorbido de arsenito de sodio en yeyuno es constante e independiente de la concentración inicial.

TABLA 13 EFECTO DE LA CONCENTRACION SOBRE LA ABSORCION DE As (III) EN YEUENO DE RATA

t (min)	CONCENTRACION INICIAL DE As (III) EN (mg/L)				
	80	240	500	1 000	2 000
	PORCENTAJE ABSORBIDO EN EL INTESTINO				
20	31.6	41.4	20.9	24.2	21.0
40	47.8	49.5	31.6	39.3	41.4
60	57.1	58.1	42.6	52.2	55.0
80	65.8	68.0	57.3	59.1	57.0
100	63.8	78.5	56.1	70.2	70.6
120	75.6	81.2	70.9	74.6	81.0

LOS VALORES DE ABSORCION SON EL PROMEDIO PARA DOS ANIMALES DIFERENTES CON CARACTERISTICAS SIMILARES PREPARACION DE YEUENO EN SOLUCION TYRODE, ADICIONADA CON As(III) A DIFERENTES CONCENTRACIONES, T = 37°C.

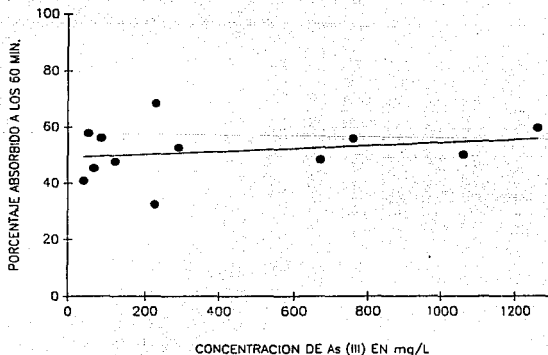


FIGURA 13 PORCENTAJE ABSORBIDO DE ARSENITO DE SODIO A LOS 60 MINUTOS EN YEUENO DE RATA. LOS TEJIDOS SE INCUBARON 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONANDO CONC. DIFERENTES DE As(III)

En la tabla 14 se muestra el efecto de la concentración sobre la absorción del arseniato de sodio en yeyuno de rata a diferentes concentraciones iniciales. En esta tabla observamos que el porcentaje absorbido de As(V) en el intestino se mantiene constante a cualquier concentración. Lo anterior se muestra claramente en la figura 14, en esta figura se observa que el porcentaje absorbido de As(V) a los 60 minutos en yeyuno es similar en todas las concentraciones estudiadas.

Ahora bien, con los resultados anteriores tenemos la evidencia de que la absorción del As(III) y el As(V) en el duodeno y el yeyuno ocurre mediante un proceso de transferencia no saturable, ya que a pesar de que la concentración inicial de los compuestos de arsénico se aumentó hasta 25 veces, se encontró que la cantidad de arsénico absorbida por unidad de tiempo siempre se mantuvo constante. El sistema de transporte no mostró en ningún momento evidencia de saturación ya que a pesar del aumento de concentración inicial, no se detectó una baja considerable del porcentaje absorbido de As(III) y As(V) en las dos secciones intestinales estudiadas.

Las figuras 15.1 y 15.2 muestran la concentración de As(III) y As(V) en duodeno, después de 60 minutos. En ambas gráficas se observa claramente que al aumentar la concentración inicial de arsénico, la cantidad absorbida se incrementa en la misma proporción del aumento de la concentración inicial, por lo que la absorción de As(III) y As(V) en duodeno es directamente

TABLA 14 EFECTO DE LA CONCENTRACION SOBRE LA ABSORCION DE As (V) EN YEYUNO DE RATA

t (min)	CONCENTRACION INICIAL DE As (V) EN (mg/L)				
	80	240	500	1 000	2 000
	PORCENTAJE ABSORBIDO EN EL INTestino				
20	26.0	28.9	23.2	16.6	23.6
40	37.0	36.1	25.4	27.9	29.3
60	47.0	48.4	37.6	39.4	38.0
80	51.9	54.8	51.0	56.4	44.9
100	61.0	59.5	61.2	63.3	57.0
120	68.7	72.6	73.0	74.5	62.9

LOS VALORES DE ABSORCION SON EL PROMEDIO PARA DOS ANIMALES DIFERENTES CON CARACTERISTICAS SIMILARES PREPARACION DE YEYUNO EN SOLUCION TYRODE, ADICIONADA CON As(V) A DIFERENTES CONCENTRACIONES, T = 37°C.

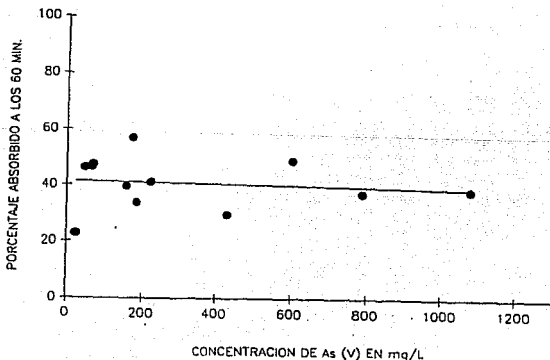


FIGURA 14 PORCENTAJE ABSORBIDO DE ARSENIATO DE SODIO A LOS 60 MINUTOS EN YEYUNO DE RATA LOS TEJIDOS SE INCUBARON 2 HORAS A 37°C EN SOLN. TYRODE, ADICIONANDO CONC. DIFERENTES DE As(V)

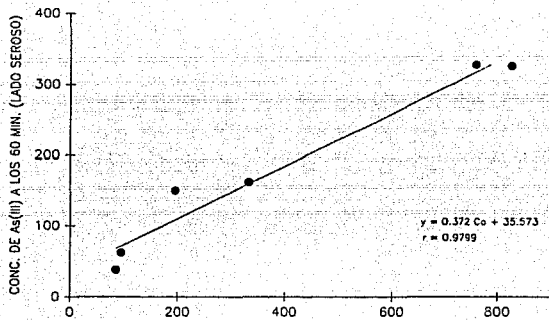


FIGURA 15.1 EFECTO DEL INCREMENTO DE CONCENTRACION DE ARSENITO DE SODIO EN DUODENO A 37°C. EL TEJIDO SE INCUBO EN SOLUCION TYRODE ADICIONANDO CONCENTRACIONES DIFERENTES DE As(III).

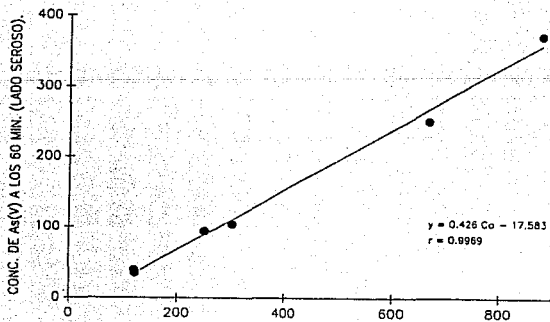


FIGURA 15.2 EFECTO DEL INCREMENTO DE CONCENTRACION DE ARSENIATO DE SODIO EN DUODENO A 37°C. EL TEJIDO SE INCUBO EN SOLUCION TYRODE ADICIONANDO CONCENTRACIONES DIFERENTES DE As(V).

proporcional a la concentración inicial de los compuestos arsenicales; exhibiendo una relación lineal que muestra correlaciones de $r = 0.98$ y $r = 0.99$ para arsenito de sodio y arseniato de sodio en duodeno respectivamente.

En las figuras 16.1 y 16.2 se muestra la concentración de As(III) y As(V) en yeyuno, después de 60 minutos. En ambas gráficas se observa nuevamente que la absorción de arsénico para ambos estados de oxidación, muestra una relación lineal entre la concentración inicial de los compuestos de arsénico y la cantidad absorbida, observándose correlaciones de $r = 0.99$ y $r = 0.98$ para As(III) y As(V).

Ahora bien, se mencionó que la absorción de As(III) y As(V) en duodeno y yeyuno muestran un sistema de transporte no mediado o pasivo, ya que al aumentar la concentración de arsénico no se presentó el fenómeno de saturación que es típico de los sistemas de transporte mediados.

En la figura 17 se muestra un sistema de transporte mediado, en el cual se observa claramente el efecto del incremento de concentración de glucosa en eritrocitos humanos. En esta gráfica se observa que la velocidad de transporte de la glucosa exhibe una cinética saturable, ya que la velocidad de transporte se incrementa hasta que la concentración de glucosa es de aproximadamente 15 mM, a partir de esta concentración ya no se observa incremento en la velocidad de transporte. En este punto se observa una meseta que indica que el sistema de transporte

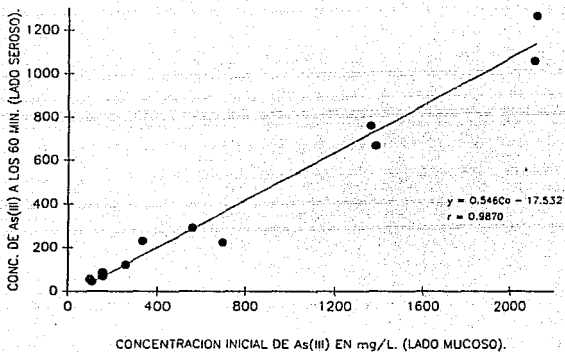


FIGURA 16.1 EFECTO DEL INCREMENTO DE CONCENTRACION DE ARSENITO DE SODIO EN YEYUNO A 37°C. EL TEJIDO SE INCUBO EN SOLUCION TYRDE ADICIONANDO CONCENTRACIONES DIFERENTES DE As(III).

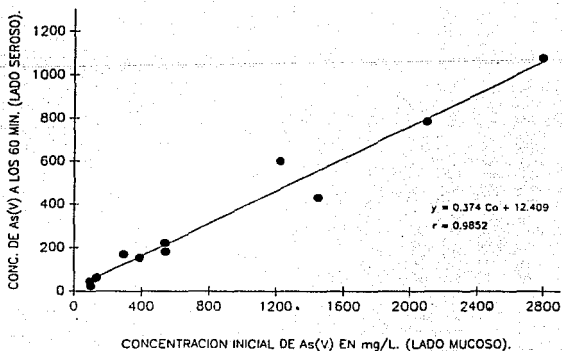


FIGURA 16.2 EFECTO DEL INCREMENTO DE CONCENTRACION DE ARSENIATO DE SODIO EN YEYUNO A 37°C. EL TEJIDO SE INCUBO EN SOLUCION TYRDE ADICIONANDO CONCENTRACIONES DIFERENTES DE As(V).

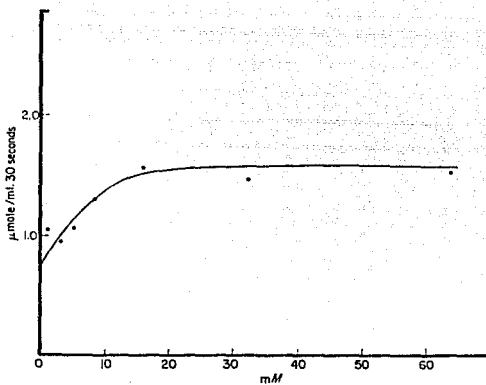


FIGURA 17 EFECTO DEL INCREMENTO DE CONCENTRACION DE GLUCOSA EN MEDIO EXTERNO, SOBRE EL FLUJO DE GLUCOSA MARCADA EN ERITROCITOS HUMANOS A 0°C, CONC. INICIAL DE GLUCOSA 2.6 mM

ASCISA: CONCENTRACION DE GLUCOSA EN EL MEDIO EXTERNO.
 ORDENADA: μ M DE GLUCOSA PERDIDA EN 30 SEG. POR ML DE CELULAS INCUBADAS.

TOMADA DE (STEIN, 1967) p. 151

(generalmente una proteína) se encuentra saturado con el compuesto transportado, y a partir de esa concentración, la cantidad de glucosa transportada es constante (Stein, 1967; Berne & Levy, 1988).

Ahora bien, es claro que los compuestos de arsénico inorgánico se absorben a través del intestino mediante difusión simple, ya que muestran una relación lineal entre la concentración inicial y la cantidad absorbida, además de que nunca se observó el fenómeno de saturación y por ende el sistema de transporte que utilizan el arsenito y el arseniato de sodio para permearse en el intestino es un sistema de transporte no mediado o pasivo, que corresponde a una difusión simple; por lo tanto la absorción está limitada exclusivamente por la concentración del compuesto a permearse y no depende de la presencia de una molécula transportadora.

* Las gráficas mostradas en las figuras 12.1, 12.2, 13, 14, 15.1, 15.2, 16.1 y 16.2 mostradas en esta sección, se construyeron con el paquete Sigmaplot versión 3.1 de Jandel Scientific Co. En estas gráficas cada punto corresponde a un experimento independiente. Las rectas trazadas muestran la línea de mejor ajuste, calculadas por el método de mínimos cuadrados utilizando la ecuación de una recta.

VELOCIDAD DE TRANSPORTE DE ARSENITO Y ARSENIATO DE SODIO EN DUODENO Y YEYUNO.

Se encontró que el arsenito y arseniato de sodio se absorban en el intestino principalmente a través de difusión simple. De manera que para calcular los parámetros cinéticos de la absorción utilizamos una cinética de primer orden, las ecuaciones que describen este tipo de transporte son las siguientes:

$$\ln (Co-X) - \ln Co = - Kt \quad (5)$$

$$\ln(Co/Co-X) = Kt \quad (6)$$

$$K = \frac{2.303}{t} \log \frac{Co}{Co-X} \quad (7)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K} \quad (8)$$

Donde

Co = Concentración inicial, al tiempo t_0 , (lado mucoso).

Co-X = Concentración al tiempo t, (lado mucoso)

X = Concentración absorbida al tiempo t, (lado seroso).

Los parámetros cinéticos de una difusión simple son la constante de velocidad de permeación K y el tiempo de vida media $t_{1/2}$; ya que estamos estudiando exclusivamente la absorción, la constante se conoce como constante de la velocidad de absorción K_a (Ritschel, 1982; 1984).

TABLA 15.1 ABSORCION DE As(III) EN DUDOENO EXPRESADA COMO Ln(Co/Co-X), A DIFERENTES CONC. INICIALES EN FUNCION DEL TIEMPO

CONC. INICIAL (mg/L)	80	80	240	240	500	500
t (min)	Ln (Co/Co-X) de As(III)					
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	0.2202	0.2912	0.4003	0.2738	0.2228	0.1377
40	0.4470	0.6220	0.8611	0.4358	0.3904	0.2748
60	0.5811	1.0574	1.4837	0.6637	0.5669	0.5036
80	0.8990	2.6079	1.4392	1.0404	0.8346	0.6692
100	1.2783	3.1676	1.9386	0.9133	0.8286	1.0865
120	1.3613	3.4553	2.2233	1.2693	1.1335	1.1729

TABLA 15.2 PARAMETROS CINETICOS DE LA ABSORCION DE As (III) EN DUDOENO DE RATA

EXPERIMENTO	CONC. INICIAL (mg/L)	K_a (h ⁻¹)	K STD	K_a	$T_{1/2}$ (h)	$T_{1/2}$ (min)	r	ECUACION
1	80	0.713	0.0413	0.972	58.34	0.9917	$y = -0.713 t + 1.0291$	
2	80	0.658	0.0349	1.053	63.18	0.9931	$y = -0.658 t + 0.9512$	
3	240	1.106	0.0868	0.827	37.67	0.9849	$y = -1.106 t + 0.9174$	
4	240	0.616	0.0670	1.125	54.58	0.9717	$y = -0.616 t + 0.9427$	
5	500	0.541	0.0350	1.280	77.02	0.9897	$y = -0.541 t + 0.9736$	
6	500	0.622	0.0471	1.113	46.65	0.9859	$y = -0.622 t + 1.0760$	

En la tabla 15.1 se muestra la absorción de As(III) en duodeno expresada como $\ln (C_0/C_0-X)$, a diferentes concentraciones iniciales en función del tiempo. A partir de los datos mostrados en esta tabla y utilizando la ecuación (6) se calcularon los parámetros cinéticos, mostrados en la siguiente tabla. La ecuación mencionada tiene la forma de una recta de manera que mediante la recta de regresión lineal, se obtiene de la pendiente el valor de la constante de la velocidad de absorción K_a ; finalmente a partir de este valor se calcula el $t_{1/2}$ mediante la ecuación (8).

En la tabla 15.2 se muestran los parámetros cinéticos de la absorción de As(III) en duodeno de rata a diferentes concentraciones. En esta tabla observamos que los valores de la constante de velocidad de absorción K_a y del $t_{1/2}$ son similares en todos los experimentos; sin embargo, los parámetros cinéticos del experimento 3 son los que muestran mayor dispersión ya que el error estándar de la constante K_a presenta el valor más grande.

La tabla 16.1 muestra la absorción de As(V) en duodeno expresada como $\ln (C_0/C_0-X)$, a diferentes concentraciones iniciales en función del tiempo; a partir de estos datos se calcularon los parámetros cinéticos que se muestran en la tabla siguiente.

La tabla 16.2 muestra los parámetros cinéticos de la absorción de As(V) en duodeno de rata. En esta tabla observamos que los parámetros cinéticos son similares para todos los experimentos. Sin embargo, los parámetros obtenidos del experimento 5 muestran

TABLA 16.1 ABSORCIÓN DE As(V) EN DUODENO EXPRESADA COMO $\ln(\text{Co}/\text{Co-X})$, A DIFERENTES CONC. INICIALES EN FUNCION DEL TIEMPO

CONC. INICIAL (mg/L)	80	80	240	240	500	500
t (min)	Ln (Co/Co-X) de As(V)					
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	0.1693	0.2419	0.2433	0.2315	0.3440	0.2231
40	0.2714	0.2849	0.3634	0.3472	0.3831	0.3661
60	0.3732	0.3891	0.4716	0.4257	0.5469	0.4694
80	0.4732	0.4391	0.7853	0.4673	0.7580	0.5183
100	0.6296	0.6526	1.0906	0.6539	0.9000	0.8941
120	0.9973	0.8640	1.2448	0.8517	1.4554	1.1274

TABLA 16.2 PARAMETROS CINÉTICOS DE LA ABSORCIÓN DE As(V) EN DUODENO DE RATA

EXPERIMENTO	CONC. INICIAL (mg/L)	K_a (h^{-1})	K STD K_a	$t_{1/2}$ (h)	$t_{1/2}$ (min)	r	ECUACION
1	80	0.441	0.0499	1.572	94.43	0.9692	$y = -0.441 t + 1.0248$
2	80	0.382	0.0390	1.814	108.81	0.9749	$y = -0.382 t + 0.9724$
3	240	0.548	0.0574	1.264	75.92	0.9756	$y = -0.548 t + 0.9836$
4	240	0.377	0.0339	1.838	110.37	0.9804	$y = -0.377 t + 0.9529$
5	500	0.627	0.0777	1.106	66.65	0.9636	$y = -0.627 t + 1.0004$
6	500	0.525	0.0528	1.321	79.31	0.9755	$y = -0.525 t + 1.0135$

mayor dispersión, ya que el error estándar de la K_a es más grande y el coeficiente de correlación r presenta el valor más pequeño.

La tabla 17.1 muestra la absorción de As(III) en yeyuno expresada como $\ln (C_0/C_0-X)$, a diferentes concentraciones iniciales en función del tiempo; con estos datos se calcularon los parámetros cinéticos que aparecen en la siguiente tabla.

En la tabla 17.2 se muestran los parámetros cinéticos de la absorción de As(III) en yeyuno de rata. Podemos observar en esta tabla que los experimentos 2, 3 y 10 muestran mayor dispersión, ya que sus coeficientes de correlación presentan los valores más bajos y el error estándar de la constante K_a muestra los valores más altos.

La tabla 18.1 muestra la absorción de As(V) en yeyuno expresada como $\ln (C_0/C_0-X)$, a diferentes concentraciones iniciales en función del tiempo; a partir de estos datos se calcularon los parámetros cinéticos que se presentan en la tabla siguiente.

En la tabla 18.2 se muestran los parámetros cinéticos de la absorción de As(V) en yeyuno de rata. En esta tabla observamos que los valores de la constante K_a y del $t_{1/2}$ son muy similares para todos los experimentos; sin embargo, en este grupo de datos los experimentos 6, 8 y 9 son los que presentan mayor dispersión, ya que son los experimentos que muestran los coeficientes de correlación más bajos y valores grandes en el error estándar de la constante K_a .

TABLA 17.1 ABSORCION DE As(III) EN YEUENO EXPRESADA COMO Ln(Co/Co-X), A DIFERENTES CONC. INICIALES EN FUNCION DEL TIEMPO

CONC. INICIAL (mg/L)	80	80	240	240	500	500	1000	1000	2000	2000
t (min)	Ln (Co/Co-X) de As(III)									
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	0.4107	0.3483	0.8065	0.3194	0.2465	0.2000	0.2587	0.2988	0.2032	0.2697
40	0.7037	0.5996	1.0131	0.4332	0.4758	0.2901	0.5306	0.4682	0.5761	0.4940
60	0.8650	0.8257	1.1537	0.6473	0.7490	0.3912	0.8183	0.6618	0.6979	0.9059
80	1.1866	0.9699	1.4866	0.8817	0.9857	0.7328	0.8284	0.9622	0.7659	0.9253
100	1.2958	0.7963	1.9051	1.2685	0.8668	0.7819	1.3746	1.0559	1.1930	1.2568
120	1.7813	1.1286	1.6274	1.7165	1.4083	1.0843	1.0843	1.4532	1.2911	1.4773

TABLA 17.2 PARAMETROS CINETICOS DE LA ABSORCION DE As(III) EN YEUENO DE RATA

EXPERIMENTO	CONC. INICIAL (mg/L)	K_n (h ⁻¹)	ESTD K_n	$T_{1/3}$ (h)	$T_{1/2}$ (min)	r	ECUACION
1	80	0.814	0.0526	0.852	31.12	0.9897	$y = -0.814 t + 0.9250$
2	80	0.502	0.0893	1.382	82.91	0.9290	$y = -0.502 t + 0.8464$
3	240	0.809	0.1462	0.856	31.42	0.9271	$y = -0.809 t + 0.7171$
4	240	0.803	0.0681	0.863	31.80	0.9825	$y = -0.803 t + 1.0520$
5	500	0.636	0.0719	1.090	65.45	0.9695	$y = -0.636 t + 0.9576$
6	500	0.521	0.0421	1.331	79.95	0.9840	$y = -0.521 t + 1.0238$
7	1000	0.724	0.0597	0.958	57.47	0.9834	$y = -0.724 t + 0.9630$
8	1000	0.632	0.0266	1.096	85.76	0.9956	$y = -0.632 t + 0.9559$
9	2000	0.823	0.1033	0.842	50.56	0.9628	$y = -0.823 t + 1.0722$
10	2000	0.950	0.1272	0.720	43.79	0.9579	$y = -0.950 t + 1.0957$

TABLA 18.1 ABSORCION DE As(V) EN YEYUNO EXPRESADA COMO Ln(Co/Co-X), A DIFERENTES CONC. INICIALES EN FUNCION DEL TIEMPO

CONC. INICIAL (mg/L)	50	80	240	240	500	500	1000	1000	2000	2000
t (min)	Ln (Co/Co-X) de As(V)									
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	0.2377	0.3752	0.4086	0.2774	0.2516	0.2711	0.1183	0.2472	0.3674	0.1806
40	0.4654	0.4595	0.5851	0.3261	0.2908	0.2957	0.2262	0.4386	0.4138	0.2813
60	0.6257	0.6418	0.8451	0.3057	0.5329	0.4120	0.3521	0.6738	0.4686	0.4857
80	0.6531	0.8128	0.9966	0.6235	0.6628	0.7445	0.5849	1.1547	0.5948	0.5953
100	0.9086	0.9783	1.0721	0.7570	0.8269	0.8802	0.7704	1.3080	0.7698	0.9242
120	1.1462	1.1768	1.2427	1.0782	1.1703	1.3130	0.9984	1.9426	0.9986	0.9796

TABLA 18.2 PARAMETROS CINETICOS DE LA ABSORCION DE As(V) EN YEYUNO DE RATA

EXPERIMENTO	CONC. INICIAL	K_a	E STD K_a	$t_{1/2}$	$T_{1/2}$	r	ECUACION
	(mg/L)	(h ⁻¹)		(h)	(min)		
1	80	0.513	0.0434	1.350	81.07	0.9826	$y = -0.513 t + 0.9924$
2	80	0.534	0.0292	1.297	77.88	0.9926	$y = -0.534 t + 0.9306$
3	240	0.691	0.0620	1.003	60.22	0.9901	$y = -0.691 t + 0.9123$
4	240	0.481	0.0396	1.441	86.53	0.9835	$y = -0.481 t + 0.9718$
5	500	0.541	0.0398	1.280	76.84	0.9868	$y = -0.541 t + 1.0049$
6	500	0.643	0.0655	1.077	64.66	0.9751	$y = -0.643 t + 1.0570$
7	1000	0.499	0.0335	1.389	83.41	0.9889	$y = -0.499 t + 0.0653$
8	1000	0.928	0.0783	0.746	44.80	0.9826	$y = -0.928 t + 1.1103$
9	2000	0.426	0.0497	1.625	97.53	0.9677	$y = -0.426 t + 0.9143$
10	2000	0.508	0.0323	1.365	81.93	0.9900	$y = -0.508 t + 1.0156$

En las tablas anteriores puede observarse que los parámetros cinéticos K_a y $t_{1/2}$ en duodeno y yeyuno, son similares en todas las concentraciones, y no dependen de la concentración inicial del compuesto de arsénico. Por ejemplo, los valores de la constante k_a para la absorción de As(III) son 0.713 h^{-1} a 80 mg/L y 0.622 h^{-1} a 500 mg/L en duodeno, y 0.814 h^{-1} a 80 mg/L y 0.823 h^{-1} a $2,000 \text{ mg/L}$ en yeyuno. Estos resultados muestran que efectivamente, la absorción del arsenito y arseniato de sodio en duodeno y yeyuno sigue una cinética de primer orden.

Sin embargo, el análisis de las tablas anteriores no permite observar si existen diferencias en las velocidades de absorción entre duodeno y yeyuno para cada uno de los compuestos de arsénico estudiados, por lo que en la tabla siguiente se muestran los promedios de la constante k_a y del tiempo de vida media $t_{1/2}$.

La tabla 19 muestra los parámetros cinéticos promedio de la absorción de As(III) y As(V), determinados en órgano aislado. En esta tabla vemos que el arsenito y el arseniato de sodio se absorben a velocidades diferentes en ambas secciones intestinales. En duodeno el tiempo de vida media promedio para la absorción de As(III) es de 59.57 minutos, mientras que para el As(V) el tiempo de vida media promedio es de 89.25 minutos, esto significa que en duodeno el arsenito de sodio se absorbe a velocidad mayor. En yeyuno el arsenito de sodio también se absorbe a mayor velocidad que el arseniato de sodio, ya que el As(III) tiene un tiempo de vida media promedio de 60.02 minutos, y el As(V) presenta un

TABLE 19. PARAMETROS CINETICOS PROMEDIO DE LA ABSORCION DE
As(III) Y As(V), DETERMINADOS EN ORGANO AISLADO

DUODENO

As(III)	K_a	$t_{1/2}$	$t_{1/2}$	As(V)	K_a	$t_{1/2}$	$t_{1/2}$
	(h^{-1})	(h)	(min)		(h^{-1})	(h)	(min)
PROM. n=6	0.710	1.028	59.57	PROM. n=6	0.483	1.486	89.25
(\pm DE)	(± 0.20)	(± 0.22)	(± 13.22)		(± 0.99)	(± 0.30)	(± 18.22)

ECUACION: $y = mt + b$

YEUENO

As(III)	K_a	$t_{1/2}$	$t_{1/2}$	As(V)	K_a	$t_{1/2}$	$t_{1/2}$
	(h^{-1})	(h)	(min)		(h^{-1})	(h)	(min)
PROM. n=10	0.721	1.000	60.02	PROM. n=10	0.577	1.257	75.50
(\pm DE)	(± 0.14)	(± 0.22)	(± 13.18)		(± 0.15)	(± 0.25)	(± 15.08)

ECUACION: $y = mt + b$

tiempo de vida media promedio de 75.50 minutos.

Ahora bien, en esta misma tabla observamos que en duodeno y yeyuno, el arsenito de sodio se absorbe prácticamente a la misma velocidad en ambas secciones intestinales. Si ahora comparamos las velocidades de absorción del arseniato de sodio en duodeno y yeyuno, observamos que se absorben a velocidades diferentes en las dos secciones intestinales, este compuesto muestra un tiempo de vida media promedio de 89.25 minutos en duodeno, y en yeyuno el tiempo de vida media promedio es de 75.50 minutos.

Es importante recordar que los experimentos se realizaron en órgano aislado, e *in vitro*, de manera que los parámetros cinéticos promedio nos dan una idea aproximada de lo que sucede en un organismo vivo o en un experimento *in situ*, esto es porque la permeabilidad de la membrana en un experimento de este tipo es diferente, en general bajo estas condiciones experimentales la permeabilidad de la membrana aumenta (Schanker, L, 1971).

Por tanto, los parámetros cinéticos promedio mostrados en la tabla 19 presentan valores más altos que si se hubieran determinado *in situ*, sin embargo son un buen indicador de las diferencias de absorción que existen en las dos secciones intestinales.

En la tabla anterior se mostraron los promedios de los parámetros cinéticos calculados a partir de cada experimento independiente.

TABLA 20 PORCENTAJE NO ABSORBIDO PROMEDIO DE As(III) Y As(V) EN DUCONGO.

D U O D E N O

t (min)	ARSENICO (III)		ARSENICO (V)	
	PORCENTAJE NO ABSORBIDO			
	PROMEDIO	(± D.E.)	PROMEDIO	(± D.E.)
0	100.00	(± 0.00)	100.00	(± 0.00)
20	77.52	(± 6.73)	78.59	(± 4.38)
40	62.25	(±11.28)	71.77	(± 3.21)
60	48.71	(±13.71)	64.13	(± 4.04)
80	38.88	(± 9.15)	56.93	(± 8.39)
100	31.52	(±10.36)	48.42	(± 8.15)
120	25.79	(± 7.72)	37.70	(± 7.17)

LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE 6 ANIMALES (± D.E.)

TABLA 21. PORCENTAJE NO ABSORBIDO PROMEDIO DE As(III) Y As(V) EN YUYUNO.

Y E Y U N O

t (min)	ARSENICO (III)		ARSENICO (V)	
	PORCENTAJE NO ABSORBIDO			
	PROMEDIO	(± D.E.)	PROMEDIO	(± D.E.)
0	100.00	(± 0.00)	100.00	(± 0.00)
20	71.69	(±10.63)	76.39	(± 6.49)
40	58.13	(±10.19)	68.88	(± 7.51)
60	47.04	(± 9.48)	57.97	(± 8.05)
80	38.59	(± 7.52)	48.23	(± 8.32)
100	32.18	(± 9.76)	39.60	(± 6.53)
120	22.32	(± 7.23)	30.42	(± 7.64)

LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE 10 ANIMALES (± D.E.)

Ahora bien, en las tablas que se muestran a continuación se presenta el porcentaje no absorbido promedio (\pm D.E.) de ambos compuestos de arsénico en duodeno y yeyuno respectivamente.

Las tablas 20 y 21 muestran el valor promedio de la absorción de arsenito y arseniato de sodio en duodeno y yeyuno respectivamente. Observe que en la tabla 20 los valores de porcentaje no absorbido son el promedio de 6 animales (\pm D.E.), mientras que en la tabla 21 los valores de porcentaje no absorbido son el promedio de 10 animales (\pm D.E.).

Con los datos de las tablas anteriores se construyeron gráficas semilogarítmicas del porcentaje no absorbido promedio de la concentración inicial de As(III) y As(V) para cada sección intestinal, en forma de nomogramas de cálculo.

En estas gráficas el tiempo de vida media se muestra con una línea punteada, este parámetro cinético se localiza gráficamente trazando una línea paralela al eje X en $Y = 50$ y se lee directamente el valor en el eje de las X; o bien, se calcula utilizando los parámetros del ajuste, e interpolando a $Y = \log 50$. La K_a se obtiene de la pendiente, a este valor se le hacen las conversiones de tiempo y las transformaciones logarítmicas pertinentes para tener la constante K_a en las unidades usuales (Ritschel, 1984). Estas gráficas son muy útiles ya que permiten comparar gráficamente las diferencias de absorción que presentan compuestos distintos.

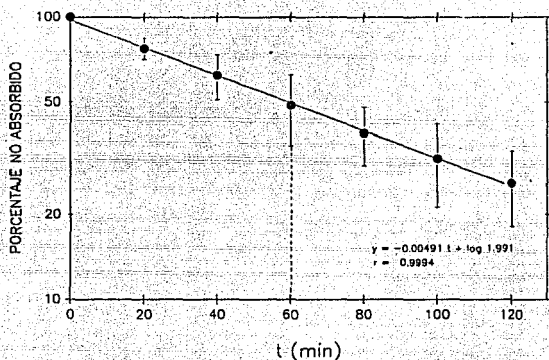


FIGURA 18.1 PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE $As(III)$ EN DUODENO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 6 ANIMALES \pm LA DESVIACION ESTANDAR (SDM) CORRESPONDIENTE.

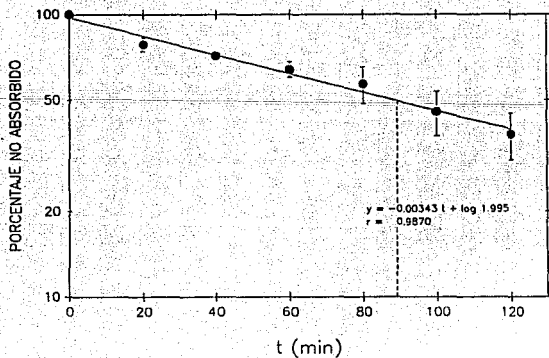


FIGURA 18.2 PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE $As(V)$ EN DUODENO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 6 ANIMALES \pm LA DESVIACION ESTANDAR (SMD) CORRESPONDIENTE.

En las figuras 18.1 y 18.2 se muestra el porcentaje no absorbido de la concentración inicial de As(III) y As(V) en duodeno de rata a diferentes tiempos. Al inspeccionar estas dos gráficas se aprecia inmediatamente que la absorción de ambos compuestos de arsénico sigue una cinética de primer orden, ya que el coeficiente de correlación de ambos ajustes es $r \approx 0.99$. También observamos que en duodeno el arsenito de sodio se absorbe a mayor velocidad que el arseniato de sodio, ya que el tiempo de vida media que presenta el As(III) es menor que el mostrado por el As(V).

En las figuras 19.1 y 19.2 se muestra el porcentaje no absorbido de la concentración inicial de As(III) y As(V) en yeyuno de rata a diferentes tiempos. En estas gráficas también observamos que la absorción de estos dos compuestos siguen una cinética de primer orden, ya que los coeficientes de correlación de estos ajustes muestran valores de $r \approx 0.99$. En yeyuno se repite nuevamente el patrón de absorción observado para duodeno, ya que el tiempo de vida media que muestra el arsenito de sodio es menor que el observado para el arseniato de sodio.

Al observar las cinéticas de absorción de As(III) y As(V) en duodeno y yeyuno, es evidente que las cinéticas de absorción del arseniato de sodio muestran menor dispersión de los valores promedio en ambas secciones intestinales.

Las constantes de velocidad de absorción, K_a mostradas en la tabla 19, son mayores que las constantes determinadas *in situ* para

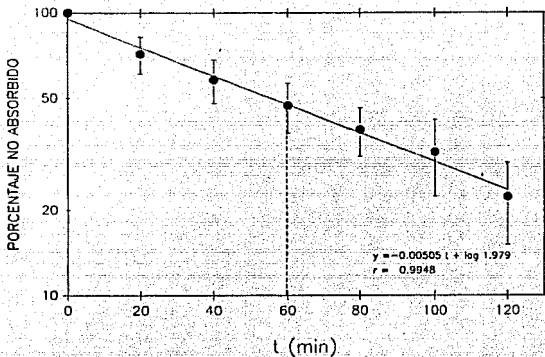


FIGURA 19.1 PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE $As(III)$ EN YEYUNO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 10 ANIMALES \pm LA DESVIACION ESTANDAR (SDM) CORRESPONDIENTE

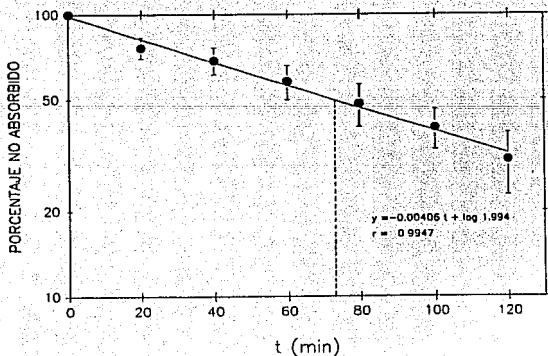


FIGURA 19.2 PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE $As(V)$ EN YEYUNO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 10 ANIMALES \pm LA DESVIACION ESTANDAR (SDM) CORRESPONDIENTE.

la absorción de tres compuestos organoarsenicales en intestino delgado de rata. Se informa que la velocidad de absorción intestinal es de $t_{1/2} = 87$ min y $K_a = 0.478$ h⁻¹ para carbasona, $t_{1/2} = 184$ min y $K_a = 0.226$ h⁻¹ para triparsamida y $t_{1/2} = 201$ min y $K_a = 0.207$ h⁻¹ para ácido cacodílico; estos compuestos se absorben principalmente por difusión simple (Hwang & Schanker, 1973).

Las constantes de velocidad K_a para la absorción de As(III) y As(V), determinadas experimentalmente en este trabajo son las siguientes: 0.709 y 0.483 (h⁻¹) en duodeno y 0.721 y 0.577 (h⁻¹) en yeyuno respectivamente. Estas constantes muestran que los compuestos de arsénico inorgánico que hemos estudiado se absorben más rápido que los compuestos organoarsenicales.

* Las gráficas mostradas en las figuras 18.1, 18.2, 19.1 y 19.2, se construyeron con el paquete Sigmaplot versión 3.1 de Jandel Scientific Co. En las gráficas que se presentan para duodeno cada punto es el promedio de 6 animales \pm la desviación estándar; en las gráficas que se muestran para yeyuno cada punto es el promedio de 10 animales \pm la desviación estándar. Todos los animales utilizados fueron diferentes con características similares.

Las rectas trazadas en las gráficas anteriores corresponden a la línea de mejor ajuste, y se calcularon por el método de mínimos cuadrados utilizando la ecuación de una recta.

DIFERENCIAS EN LAS VELOCIDADES DE ABSORCION.

Hemos observado que en duodeno y yeyuno existen diferencias en las velocidades de absorción para cada compuesto de arsénico; y que aparentemente el As(III) se absorbe a la misma velocidad en las dos secciones intestinales.

Sin embargo, para establecer si realmente existe diferencia en las velocidades de absorción de los compuestos de arsénico estudiados, es necesario comparar las rectas de ajuste del porcentaje no absorbido de la concentración inicial de As(III) y As(V) en cada sección intestinal, o de un solo compuesto en las dos secciones intestinales mediante una prueba de paralelismo. Esta prueba se utiliza para conocer si dos líneas obtenidas mediante regresión lineal son paralelas.

Este procedimiento compara las pendientes de dos líneas de regresión, $L(1)$ y $L(2)$ y usa los parámetros calculados de cada regresión lineal. Los parámetros que se requieren en la comparación son m (pendiente), s (desviación estándar), SS_x (suma de los cuadrados de x) y N (número de datos); la prueba usa la t de Student, calculada a partir de los parámetros mencionados anteriormente para las líneas (1) y (2). Si el valor calculado excede el valor tabular de t , la pendiente difiere significativamente y la hipótesis de paralelismo se rechaza (Tallarida & Murray, 1981).

En nuestro caso la información que brinda esta prueba nos

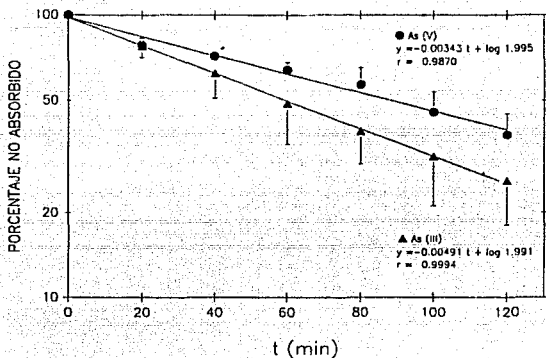


FIGURA 20.1 PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE As(III) Y As(V) EN DUODENO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 6 ANIMALES DIFERENTES CON CARACTERÍSTICAS SIMILARES, ± LA DESVIACION ESTANDAR (SDM).

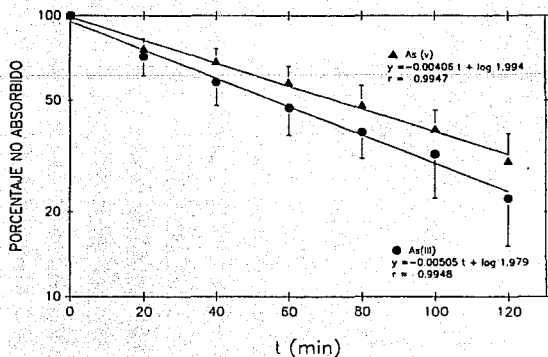


FIGURA 20.2 PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE As(III) Y As(V) EN YEYUNO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 10 ANIMALES ± LA DESVIACION ESTANDAR (SDM) CORRESPONDIENTE.

permitió determinar si el As(III) y el As(V) se absorben a velocidades diferentes en cada sección intestinal y también comparar la absorción de cada compuesto de arsénico en las dos secciones intestinales.

La figura 20.1 muestra las líneas de regresión del porcentaje no absorbido de la concentración inicial de As(III) y As(V) en duodeno de rata a diferentes tiempos. Al comparar las pendientes de las líneas de As(III) y As(V) en duodeno mediante la prueba de paralelismo, se encontró una diferencia significativa ($p < 0.01$) entre las pendientes, por lo que efectivamente en duodeno el arsenito y el arseniato de sodio se absorben a velocidades diferentes.

La figura 20.2 muestra las rectas de regresión del porcentaje no absorbido de la concentración inicial de As(III) y As(V) en yeyuno de rata a diferentes tiempos. Al realizar la prueba de paralelismo entre estas dos rectas de regresión, se encontró una diferencia significativa ($p < 0.01$) entre las pendientes de estas rectas, por lo que en yeyuno el arsenito y el arseniato de sodio presentan velocidades de absorción distintas.

Se observó anteriormente que el arsenito de sodio se absorbe prácticamente a la misma velocidad en duodeno ($t_{1/2} = 59.6$ min) y yeyuno ($t_{1/2} = 60.0$ min). En la figura 21.1 se muestran las líneas de regresión del porcentaje no absorbido de la concentración inicial de As(III) en duodeno y yeyuno de rata a diferentes tiempos. La prueba de paralelismo entre las pendientes de estas

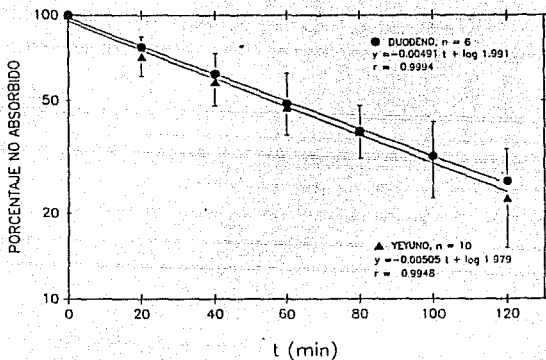


FIGURA 21.1. PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE $As(III)$ EN DUODENO Y YEYUNO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 6 Y 10 ANIMALES DIFERENTES CON CARACTERISTICAS SIMILARES, \pm LA (SDM) CORRESPONDIENTE.

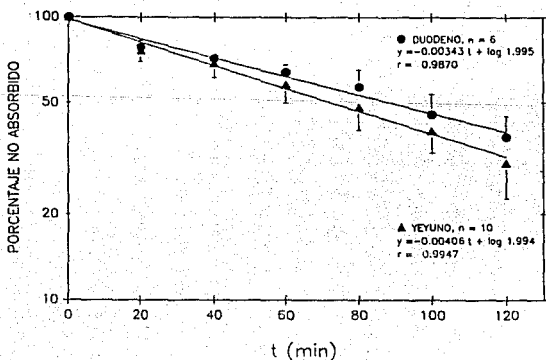


FIGURA 21.2. PORCENTAJE NO ABSORBIDO DE LA CONC. INICIAL DE $As(V)$ EN DUODENO Y YEYUNO DE RATA A DIFERENTES TIEMPOS. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE 6 Y 10 ANIMALES DIFERENTES CON CARACTERISTICAS SIMILARES, \pm LA (SDM) CORRESPONDIENTE.

líneas mostró que no hay diferencia significativa entre estas pendientes, por lo que efectivamente el arsenito de sodio se absorbe a la misma velocidad en las dos secciones intestinales.

La figura 21.2 muestra las rectas de regresión del porcentaje no absorbido de la concentración inicial de As(V) en duodeno y yeyuno de rata a diferentes tiempos. La prueba de paralelismo entre estas rectas mostró que hay una diferencia significativa ($p < 0.01$) entre las pendientes de estas rectas, de manera que el arseniato de sodio se absorbe a velocidades diferentes en duodeno y yeyuno.

* Las gráficas mostradas en las figuras 20.1, 20.2, 21.1 y 21.2, se construyeron con el paquete Sigmaplot versión 3.1 de Jandel Scientific Co. Las rectas de regresión mostradas en estas gráficas corresponden a las líneas de mejor ajuste, calculadas por el método de mínimos cuadrados utilizando la ecuación de una recta.

ACUMULACION DE ARSENICO EN TEJIDO.

En la tabla 22 se muestra la concentración de arsénico en yeyuno al final de los experimentos de 120 minutos. En esta tabla observamos que la acumulación de As(III) en la membrana es aproximadamente 3 veces mayor que la mostrada por el As(V).

Este resultado llama mucho la atención, porque el arsenito de sodio se absorbe a mayor velocidad que el arseniato de sodio, y por tanto sería lógico pensar que el As(V) se acumulara más que el As(III), ya que este último compuesto se transporta más rápido en la membrana y por tanto tiene una estancia más corta en el intestino.

Sin embargo, el fenómeno observado puede explicarse gracias a la habilidad del arsenito de combinarse con los grupos sulfhidrilo -SH, estos grupos pueden ser parte de una enzima, y dado que el intestino delgado posee en su lado mucoso una gran cantidad de enzimas (Harper, 1987; Gregory, 1965) probablemente la acumulación mostrada por el As(III) en yeyuno se deba a que este compuesto arsenical se coordina con un gran número de grupos -SH presentes en las enzimas intestinales.

El resultado anterior coincide con estudios de retención de As(III) y As(V) realizados en ratones, en los cuales se encontró que la retención en cuerpo entero fue de dos a tres veces más alta después de la exposición al As(III) comparada con el As(V) (Vahter & Norin, 1980).

TABLA 22. CONCENTRACION DE ARSENICO EN YEYUNO AL FINAL DE LOS EXPERIMENTOS DE 120 MINUTOS.

No. DE MUESTRA	ARSENICO (III)	ARSENICO (V)
	CONCENTRACION DE As EN YEYUNO	
	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)
1	134.3	33.6
2	139.0	39.0
3	139.7	39.6
4	140.0	43.0
5	143.0	45.0
6	143.0	47.0
7	151.0	48.1
8	164.0	51.5
9	170.5	51.8
10	170.5	57.8
PROMEDIO	149.5	45.6
(\pm D.E.)	(± 13.77)	(± 7.15)

LA CONCENTRACION DE ARSENICO EN TEJIDO SE DETERMINO EN BASE SECA

CONCLUSIONES

El tiempo útil del modelo experimental utilizado para el estudio de absorción fue de 120 minutos para ambos estados de oxidación del arsénico.

La absorción de los dos compuestos de arsénico inorgánico estudiados [As(III) y As(V)] fue más eficiente en yeyuno y de manera similar en íleon; mientras que en duodeno se observó una eficiencia menor.

Al incrementar hasta 25 veces la concentración de los compuestos de arsénico, se observó que el porcentaje de absorción del arsenito y arseniato de sodio en duodeno y yeyuno se mantuvo constante en todas las concentraciones estudiadas; sin embargo, cuando la concentración fue de 500 mg/L se observó una ligera disminución. Al utilizar como indicador de absorción la concentración de los compuestos de arsénico absorbida a los 60 minutos, se observó un aumento proporcional de la absorción con el incremento de la concentración, por lo que la absorción de estos dos compuestos en ambas secciones intestinales es independiente de la concentración inicial.

Estos resultados sugieren que el arsenito y el arseniato de sodio se absorben principalmente mediante un sistema de transporte no mediado o difusión simple, ya que la absorción no está limitada por el aumento de concentración.

El tiempo de vida media promedio (min) para la absorción de los compuestos arsenicales estudiados fue de 59.6 para As(III) y 89.2 para As(V) en duodeno y de 60.0 para As(III) y 75.5 para As(V) en yeyuno. En ambas secciones intestinales el 50% de la concentración inicial del As(III) se absorbe después de 1 hora.

Se realizaron pruebas de paralelismo para comparar las pendientes de las líneas de regresión correspondientes al porcentaje no absorbido de la concentración inicial de los compuestos de arsénico.

Al comparar la absorción de los dos compuestos de arsénico en cada sección intestinal, se encontró que en duodeno así como en yeyuno hay una diferencia significativa ($p < 0.01$) en las velocidades de absorción del arsenito y el arseniato de sodio.

Cuando se comparó la absorción de cada compuesto de arsénico en las dos secciones intestinales, se encontró que el arsenito de sodio no mostró diferencia significativa en las velocidades de absorción entre duodeno y yeyuno, de manera que este compuesto se absorbe a la misma velocidad en las dos secciones intestinales. Sin embargo, el arseniato de sodio sí mostró diferencia significativa ($p < 0.01$) en las velocidades de absorción entre duodeno y yeyuno.

Al determinar la concentración de As en yeyuno al final de los experimentos de 120 min, se encontró que la acumulación de As(III) fue aproximadamente 3 veces mayor que la observada para As(V).

BIBLIOGRAFIA

Albores, A., Cebrián, M.E., Téllez, I. y Valdéz, B. Estudio comparativo de hidroarsenicismo crónico en dos comunidades rurales de la Región Lagunera de México. Bol. Of. Sanit. Panam., 86, (3), 196-205, (1979).

Andreae, M.O. Determination of arsenic species in natural waters. Anal. Chem., 49, (6), 820-823, (1977).

Andreae, M.O. and Klumpp, D. Biosynthesis and release of organoarsenic compounds by marine algae. Environ. Sci. Tech., 13, 738-741, (1979).

Astolfi, E., Maccagno, A., García, J.C.F., Vaccaro, R. and Stimola, R. Relation between arsenic in drinking water and skin cancer. Biol. Trace Elem. Res., 3, 133-143, (1981).

Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H. The laboratory rat, Vol. I, Biology and diseases, Academic Press, USA (1979) p. 79-81.

Bamford, D.R. Studies *in vitro* of the passage of serum proteins across the intestinal wall of young rats. Proc. Roy. Soc., 166, 30-45 (1967).

Bencko, V., Symon, K., Chládek, V. and Pihrt, J. Health aspects of burning coal with a high arsenic content. II. Hearing changes in exposed children. Environ. Res., 11, 386-395, (1977).

Berne, R. M. and Levy, M.N., Physiology, 2nd Edition, The C.V. Mosby Company, Missouri, U.S.A. (1988), p. 5-21.

Borgoño, J.M., Vicent, P., Venturino, H. and Infante, A. Arsenic in the drinking water of the city of Antofagasta: epidemiological and clinical study before and after the installation of a treatment plant. Environ. Health Perspect., 19, 103-105, (1977).

Braman, R.S., Foreback, C.C. Methylated forms of arsenic in the environment. Science, 182, 1247-1249, (1973).

Brimblecombe, P. Atmospheric arsenic. Nature, 280, 104-105, (1979).

Cantellano, A.L., Viniegra, G., Eslava, G.R. y Alvarez, A.J. El arsenicismo en la Comarca Lagunera. Salud Publ. Mex., 6, (3), 375-385, (1964).

Carson, B.L., Ellis, H.U. III and McCann, J.L. Toxicology and biological monitoring of metals in humans. Lewis Publishers, Inc., USA, (1986).

Cebrián, M.E., Albores, A., Aguilar, M. and Blakely, E. Chronic arsenic poisoning in the north of México. Human Toxicol., 2, 121-133, (1983).

Chapman, A.C. On the presence of compounds of arsenic in marine crustaceans and shell fish, Analyst, 51, 548-563, (1926).

Charlot, G. Química analítica general. Soluciones acuosas y no acuosas, Toray-Masson, S.A., Barcelona, España (1971) p. 68-69.

Cotton, F.A. and Wilkinson, G. Advanced inorganic chemistry Interscience Publishers, John Wiley and sons, USA, (1964), capítulo 20.

Crane, R.K. and Wilson, T.H. In vitro method for the study of the rate of intestinal absorption of sugars. J. Appl. Physiol., 12, 145-146, (1958).

CRC Handbook of chemistry and physics, 65th Ed., CRC Press, USA (1984) p. D-156.

Crececius, E.A. Arsenite and arsenate levels in wine. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 18, (2), 227-230, (1977).

Del Razo, L.M., Arellano, M.A. and Cebrián, M.E., The oxidation states of arsenic in well-water form a chronic arsenicism area of northern México. Environ. Pollution, 64, 143-153, (1990).

Demitras, G.C., Reis, C.R., Salmon, J.F., Weber, J.H. y Weiss, G.S. Química inorgánica, Prentice Hall Internacional, Madrid, España (1973) p. 366, 380-381.

Edmonds, J.S., Francesconi, K.A., Cannon, J.R., Raston, C.L., Skelton, B.W. and White, A.H. Isolation, crystal structure and synthesis of arsenobetaine, the arsenic constituent of western rock lobster *Panulirus Longipes Cygnus George*, Tetrahedron Lett.,

18, 1543-1546, (1977).

Edmonds, J.S. and Francesconi, K.A., Arsenic-containing ribofuranosides: Isolation from brown kelp *Eklonia radiata* and N.M.R. spectra, J. Chem. Soc. Perkin Trans., I, 2375-2382, (1983).

Escobar, M.R., Borja, E.M., Viniegra, G., Cantellano, A.L., Antopia, D.L., Silva, R.F. Estudio epidemiológico de la metalúrgica "Peñoles". Salud Publ. Mex., 6, (3), 387-403, (1964).

Espinoza, G.E. Intoxicación colectiva por arsénico en Torreón, Coah., México. Bol. Epidemiológico, 4, 213-221, (1963).

Fowler, B.A., Ishinishi, N., Tsuchiya, K. and Vahter, M. Arsenic. In handbook on the toxicology of metals, Friberg, L., Nordberg, G.F. and Vouk, V.B. (editors), Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, (1980), p. 293-319.

Fowler, S.W. and Ünü, M.Y. Factors affecting bioaccumulation and elimination of arsenic in the shrimp *Lysmata seticaudata*. Chemosphere, 2, 711-720, (1978).

Fox, J.G., Cohen, B.J., Loew, F.M. (Editors). Laboratory animal medicine, Academic Press, Inc. USA (1984) p. 93.

Freeman, H.C., Uthe, J.F., Fleming, R.B., Odense, P.H., Ackman, R.G., Landry, G. and Musial, C. Clearance of arsenic ingested by man from arsenic contaminated fish. Bull. Environ. Contam. Toxicol, 22, 224-229, (1979).

Gabor, S. and Coldea, V. Some aspects of the environmental exposure to arsenic in Romania. Environ. Health Perspect., 19, 107-108, (1977).

Gorsuch, T.T. Radiochemical investigations on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials. Analyst. 84, 135-173, (1959).

Gregory, R.A. Secretory mechanisms of the digestive tract. In Ann. Rev. Physiol., 27, 395-412 (1965).

Haley, T.J., Absorption, distribution, biotransformation, conjugation and excretion of xenobiotics. In Handbook of Toxicology, Haley T.J. and Berndt, W.O. (editors), Hemisphere Publishing Corporation, USA (1987).

Ham, A. W., Tratado de Histología, 6a. edición, Interamericana, S.A., México, D.F. (1970) p. 689-698.

Hindmarsh, J.T., McLetchie, O.R., Hefferman, L.P.M., Hayne, O.A., Ellenberg, H.A., McCusdy, R.F. and Thieboux, H.J. Electromyographic abnormalities in chronic environmental arsenicalism. J. Anal. Toxcol., 1, 270-276, (1977).

Holland, R.H. and Acevedo, A.R. Current status of arsenic in american cigarretes. Cancer, 19, (9), 1248-1250, (1966).

Hwang, S.W. and Schanker, L.S. Absorption of organic arsenical compounds from the rat small intestine. Xenobiotica, 3, (6),

351-355, (1973).

Jelinek, C.F. and Corneliussen, P.E. Levels of arsenic in the United States food supply. Environ. Health Perspect., 12, 83-87, (1977).

Johnson, D.L. Bacterial reduction of arsenate in sea water. Nature, 240, 44-45, (1972).

Johnson; D.L. and Burke, R.M. Biological mediation of chemical speciation. II. Arsenate reduction during marine phytoplankton bloom. Chemosphere, 8, 645-648, (1978).

Klaassen, C.D., Absorption, distribution, and excretion of toxicants. In. Casarett and Doull's Toxicology, Doull, J., Klaassen, C.D. and Amdur, M.O. (editors), 2nd edition, Macmillan Publishing Co., Inc. N. York, USA (1980).

Kirk and Othmer, D.F. editors, Enciclopedia of chemical technology, Vol. 3, John Wiley and sons, USA, (1978) p. 243-250.

Klumpp, D.W. and Peterson, P.J., Chemical characteristics of arsenic in a marine food chain, Mar. Biol., 62, 297-305, (1981).

Lawrence, J.F., Michalik, P., Tam, G. and Conacher, H.B.S. Identification of arsenobetaine and arsenocholine in Canadian fish and shellfish by high performance liquid chromatography with atomic absorption detection and confirmation by fast atom bombardment mass spectrometry, J. Agr. Food Chem., 34, 315-318, (1986).

Leslie, A.C.D., and Smith, H. Napoleon Bonaparte's exposure to arsenic during 1816. Arch. Toxicol., 41, 163-167, (1978).

Levine, R.R., Pharmacology. Drug actions and reactions. Little Brown Co., USA, (1973), p. 71-82, 199-208.

Livingstone, Ch. Pharmacological experiments on isolated preparations, 2nd edition, Edinburg, London and New York (1970), p. 2.

Lunde, G. Separation and analysis of organic-bound and inorganic arsenic in marine organisms J. Sci. Food Agric., 24, 1021-1027, (1973).

Lunde, G. Isolation of an organoarsenic compound present in cod liver. J. Sci. Food Agric., 26, 1247-1255, (1975).

Lunde, G. Occurrence and transformation of arsenic in the marine environment. Environ. Health Perspect., 19, 47-52, (1977).

Luckey, T.D. and Venugopal, B. Metal toxicity in mammals, 1, Physiological and chemical basis for metal Toxicity, Plenum Press, N. York, USA (1977) p. 39-76.

Luten, J. B. and Riekwel-Booy, G. Identification of arsenobetaine in sole, lemon sole, flounder, dab, crab and shrimps by field desorption and fast atom bombardment mass spectrometry. Chemosphere, 12, 131-141, (1982).

Mack, R. B. Gee, honey, why does the iced tea have a garlic taste? Arsenic intoxication. NCJM, 44, (11), 753-755, (1993).

Murray, R.K.; Grannner, D.K.; Mayes, P.A. y Rodwell, V.W. Bioquímica de Harper, 10a. Edición, Edit. El Manual Moderno, S.A. de C.V., México, D.F. (1988). p. 157-175.

NAS. Medical and biologic effects of environmental pollutants. Arsenic. National Research Council, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1977).

Nekrasov, B.V. Química general, Mir, Moscú, Rusia (1975) p. 291-297.

Noble, A.C., Orr, B.H., Cook, W.B. and Campbell, J.L. Trace element analysis of wine by proton-induced X-ray fluorescence. J. Agric. Food Chem., 24, (3), 532-535, (1976).

Norin, H., Ryhage, R., Christakopoulos, A. and Sandstrom, M. New evidence for the presence of arsenocholine in shrimps (*Panalus borealis*) by use of pyrolysis gas chromatography -atomic absorption spectrometry/mass spectrometry, Chemosphere, 12, 299-315, (1983).

Norin, H., Christakopoulos, A., Sandstrom, M. and Ryhage, R., Mass fragmentographic estimation of trimethylarsine oxide in aquatic organisms, Chemosphere, 14, 313-323, (1985a).

Norin, H., Vahter, M., Christakopoulos, A. and Sandstrom, M.,

Concentration of inorganic and total arsenic in fish from industrially polluted water, *Chemosphere*, **14**, 325-324, (1985b).

Olds, R.J. and Olds, J.R. A color atlas of the rat -Dissection guide, John Wiley and Sons, New York, USA (1979), p. 28-31, 46-53.

Permezel, N.C. and Webling, D. D'A. The length and mucosal surface area of the small and large gut in young rats. *J. Anat.*, **102**, 2, 295-296, (1971).

Philipp, R. Arsenic exposure: health effects and the risk of cancer, *Rev. Environ. Health*. **5**, (1), 27-57, (1985).

Pinto, S.S. Mortality experience of arsenic-exposed workers. *Arch. Environ. Health*, **32**, 325-331, (1978).

Ritschel, W.A., Handbook of Basic Pharmacokinetics, 2nd edition, Drug Intelligence Publications, Inc., Illinois, USA, (1980). capitulo 6.

Ritschel, W.A., Graphic approach to clinical pharmacokinetics, 2nd edition, J.R. Prous Publishers, Barcelona, España, (1984), p. 1-6, 19-24.

Schanker, L. Drug absorption. In. La Du, B.N., Mandel, H.G. and Way, E.L. (editors), Fundamentals of drug metabolism and drug disposition, Williams and Wilkins, Co., Baltimore, USA, (1971), p. 22- 43.

Shu Yeh, How, S.W. and Lin, C.S. Arsenical cancer of skin. *Cancer*, **21**, 312-339, (1968).

Skinner, B. Arsenic contamination in Nova Scotia water wells, informe personal, (1982), 20 p.

Smith, D.H. and Taylor, C.B. Transfer of water and solutes by an *in vitro* intestinal preparation. *J. Physiol.*, **136**, 632-648, (1957).

Special report, Safewards for groundwater. *Environ. Sci. Tech.*, **14**, (1), 38-44, (1980).

Stein, W.D., The movement of molecules across cell membranes, Academic Press, N. York, USA (1967), p. 126-157.

Stryer, L., *Biochemistry*, 3rd edition, Freeman & Co, N. York, USA, (1988), p. 361-368, 949-961.

Tallarida, R.J. and Murray, R.B., *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*, Springer-Verlag, N. York, USA, (1981), p. 6-14.

Trier, J. S., Morphology of the epithelium of the small intestine. In *Handbook of phisiology*. Code, Ch. F. (Editor), Section 6: Alimentary canal. Vol. III: Intestinal Absorption. American Physiological Society, Washington, D.C., U.S.A. (1968) p. 1125-1216.

Trifonov, D.N. y Trifonov, V.D. Cómo fueron descubiertos los elementos químicos, Mir, Moscú, Rusia (1984) p. 39-40.

Tseng, W.P. Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. Environ. Health Perspect., 12, 109-119, (1977).

Tseng, W.P., Chu, H.M., How, S.W., Fong, J.M., Lin, C.S. and Shu Yeh. Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan, J. Nat. Cancer Inst., 40, (3), 453-463, (1968).

Tsuchiya, K. Various effects of arsenic in Japan depending on type of exposure. Environ. Health Perspect., 12, 35-42, (1977).

USEPA, 1975. U.S. Environmental Protection Agency. National interim primary drinking water regulations (40 FR 59566).

USEPA, 1980. U.S. Environmental Protection Agency. Ambient water quality criteria for arsenic. Springfield, UA: National Technical Information Service, No PB81-117327.

Vahter, M. E., Arsenic. In Biological monitoring of toxic metals, Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G.F. and Sager, P.R. (editors), Plenum Press, N. York, USA (1988), p. 303-321.

Vahter, M. and Norin, H. Metabolism of ⁷⁴As-labeled trivalent and pentavalent inorganic arsenic in mice. Environ. Res., 21, 446-457 (1980).

Vidal, L.A. y Abbud, O.A. Arsenicismo crónico. Bol. Med. Hosp. Infant., 26, (5), 849-861, (1979).

Viniegra, G., Escobar, M.R., Borja, E.M. y Caballero, P.J. La polución atmosférica e hidrica de Torreón, Coah. Salud Publ. Mex., 6, (3), 405-414, (1964).

Varian, Model 65 Vapor Generation Accesory, Operation Manual, Publication No. 85-100338-00, Varian Techtron Pty. Ltd. Springvale, Australia, (1979).

Wagner, S.L., Weswig, P., and Ore, C. Arsenic in blood and urine of forest workers. Arch. Environ. Health, 28, 77-79, (1974).

Walkiw, O. and Douglas, D.E. Health food supplements prepared from kelp-a source of elevated urinary arsenic. Clin. Toxicol., 9, (3), 325-331, (1975).

Whanger, P.D., Wesing, P.H. and Stoner, J.C. Arsenic levels in Oregon waters. Environ. Health Perspect., 19, 139-143, (1977).

Whitfield, F.B., Freeman, D.J. and Shaw, K.J. Trimethylarsine: An important off-flavour component in some prawn species, Chem. Ind., 20, 786-787, (1983).

Wilson, T.H., A modified method for study of intestinal absorption in vitro, J. Appl. Physiol., 2, 137-140 (1956).

Wilson, T.H. and Wiseman, G. The use of sacs of everted small

intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface, J. Physiol., 123, 116-125, (1954).

WHO, Arsenic, Environmental Health Criteria 18, WHO (World Health Organization), Geneva, (1981).

WHO, Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food, Environmental Health Criteria 70, WHO (World Health Organization), Geneva, (1987).