



Determinación de tóxicos metálicos y no metálicos en cabello y su aplicación en la evaluación de la exposición a metales y semimetales tóxicos, en niños del Asentamiento Aquiles Lanza, Montevideo

TESIS DE MAESTRÍA

Lic. FIORELLA IAQUINTA MÉNDEZ

Facultad de Química, UdelaR

Tutoras: Dra. Nelly Mañay y Dra. Adriana Cousillas

Montevideo, Junio 2017



RG-SGC-039

ACTA DE EXAMEN

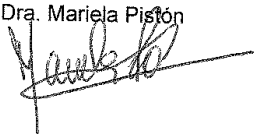

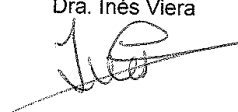
v.01
2015/08/20

0 D.D.D.	6 B.B.B.
1 D.D.R.	7 B.B.MB.
2 R.R.D.	8 MB.MB.B.
3 R.R.R.	9 MB.MB.MB.
4 R.R.B.	10 MB.MB.S.
5 B.B.R.	11 S.S.MB.
	12

FECHA 5 de junio de 2017	
CARRERA	Magister en Química
PLAN	2004
ASIGNATURA	Defensa de tesis
PERIODO	

S.S.S.	LUGAR	FECHA	HORA
EXAMEN			
ESCRITO/PRACTICO			
ORAL			

TRIBUNAL:

Dra. Mariela Pistón 	Dr. Horacio Riojas Rodriguez 	Dra. Inés Viera 
---	--	---

ESTUDIANTE		CALIFICACION	
APELLIDO Y NOMBRE	Cédula de Identidad	NUMERO	SIMBOLO
IAQUINTA, Fiorella	4.682.944-8	12	555

TOTAL DE ESTUDIANTES	APROBADOS	APLAZADOS	EXAMINADO

OBSERVACIONES: Tesis: "Determinación de tóxicos metálicos y no metálicos en cabello y su aplicación en la evaluación de la exposición a metales y semimetales tóxicos, en niños del Asentamiento Aquiles Lanza, Montevideo"

Montevideo 5 de junio de 2017

Reunido el tribunal que actuó en la defensa oral de la Maestría de Fiorella laquinta se emite la siguiente evaluación.

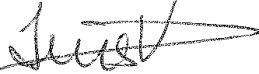
La presentación fue clara y concisa apuntando a los puntos clave del trabajo, mostrando el carácter multidisciplinario de la investigación.

En la instancia de preguntas sus respuestas fueron claras demostrando un fluido conocimiento de lo preguntado. El trabajo tiene un aporte significativo en varias áreas dentro de las Ciencias Químicas y también a nivel social.


En base a esto este tribunal califica esta Maestría como EXCELENTE.



Dr. Horacio Rojas Rodríguez



Dra. Inés Viera



Dra. Mariela Pistón

Agradecimientos

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación. El proyecto ha recibido el financiamiento por el Fondo María Viñas y sin este apoyo, no hubiera sido posible su realización.

A mis tutoras, por permitirme realizar este proyecto, por escucharme, apoyarme y defenderme cuando más lo precisé.

A Cristina Alvarez, por tener la paciencia de explicarme todo lo que se.

A mis compañeras de CEQUIMTOX, por estar siempre dispuestas a ayudarme y apoyarme.

A las organizaciones SOCAT, Gurises Unidos y Julana, por querer participar en el proyecto y trabajar en él.

A Antonio Menezes, y el equipo del Labotox, por enseñarme lo que hacen y recibirme afectuosamente.

A mis compañeros del Área Analítica con quienes he contado con su apoyo estos últimos meses.

A mi familia y amigos, por confiar más en mí que yo misma.

A mi mamá, papá y hermano, por enseñarme a ser mejor, por hacerme quién soy.

Índice

Índice	5
Índice de Figuras	7
Índice de Tablas.....	9
Resumen	11
1.- Introducción.....	12
1.1.- Metales y semimetales	12
1.1.1.- <i>Conceptos generales</i>	12
1.1.2.- <i>Biomarcadores</i>	13
1.1.3.- <i>Toxicocinética de metales y semimetales</i>	14
1.1.4.- <i>Toxicodinamia de metales y semimetales</i>	18
1.2.- Elementos de estudio	19
1.2.1.- <i>Plomo (Pb)</i>	19
1.2.2.- <i>Mercurio (Hg)</i>	23
1.2.3.- <i>Manganeso (Mn)</i>	27
1.2.4.- <i>Arsénico (As)</i>	29
1.3.- Determinación de biomarcadores	32
1.3.1.- <i>Generalidades</i>	32
1.3.2.- <i>El cabello como matriz</i>	33
1.4.- Metodologías analíticas	34
1.4.1.- <i>Validación de los procesos analíticos</i>	34
1.4.2.- <i>Espectrometría de absorción atómica</i>	35
1.4.3.- <i>Aspectos generales de la preparación de muestras</i>	39
1.5.- Población de estudio: Antecedentes del asentamiento Aquiles Lanza (Montevideo).....	40
1.6.- Ecosalud.....	42
1.6.1.- <i>Lineamientos de la Ecosalud</i>	43
1.6.2.- <i>Uruguay y Ecosalud - Antecedentes</i>	45
2.- Objetivos	48
2.1.- Objetivos generales	48
2.2.- Objetivos específicos	48
3.- Materiales y métodos	49
3.1.- Reactivos	49
3.2.- Equipos.....	50
3.3.- Materiales	51
3.4.- Población estudiada.....	52
4.- Metodología	53
4.1.1.- <i>Descontaminación del material</i>	53
4.1.2.- <i>Toma y acondicionamiento de muestras</i>	53
4.1.3.- <i>Lavado de la muestra</i>	53
4.1.4.- <i>Digestión asistida con microondas</i>	54
4.1.5.- <i>Evaluación de linealidad: Modelo de mejor ajuste</i>	55
4.1.6.- <i>Estudio de efecto matriz</i>	56
4.1.7.- <i>Optimización</i>	56
4.1.8.- <i>Validación</i>	58
5.- Resultados y discusión.....	62
5.1.- Determinación analítica	62
5.1.1.- <i>Protocolo de descontaminación del material para digerir</i>	62
5.1.2.- <i>Plomo</i>	62

5.1.3.- Mercurio.....	66
5.1.4.- Manganeso.....	69
5.1.5.- Arsénico.....	72
5.2.- Estudio poblacional.....	75
5.2.1.- Toma de muestra.....	75
5.2.2.- Análisis de las muestras.....	76
5.2.3.- Análisis estadístico.....	79
5.2.4.- Abordaje Ecosistémico (Ecosalud).....	80
6.- Conclusiones.....	84
7.- Perspectivas a futuro.....	85
Producción científica.....	86
Publicaciones científicas.....	86
Presentación del proyecto en modalidad póster.....	86
Presentación del proyecto en modalidad oral.....	86
Bibliografía.....	87
ANEXO 1 – Curvas de calcinación y atomización.....	93
ANEXO 2 – Modelo del mejor ajuste.....	95
ANEXO 3 – Efecto matriz.....	99
ANEXO 4- Precisión intermedia.....	101
ANEXO 5- Estudio estadístico poblacional.....	102
ANEXO 6- Encuesta.....	106
ANEXO 7: Producción científica.....	107

Índice de Figuras

Figura 1- Diagrama de Bertnard

Figura 2- Esquema de la toxicocinética de los metales

Figura 3- Estructura de las membranas biológicas

Figura 4- Usos del plomo

Figura 5- Ciclo biogeoquímico del Hg

Figura 6- Sistema de flujo continuo comercial (VGA77)

Figura 7- Sistema con trampa de Hg

Figura 8- Determinantes de la salud

Figura 9- Digestor de microondas

Figura 10- Espectrofotómetro de Absorción Atómica con atomización electrotérmica

Figura 11- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Varian 55B de llama con sistema acoplado de generación de hidruros y vapor frío

Figura 12- Curva de calcinación del Pb

Figura 13- Curva de atomización del Pb

Figura 14- Curva de calcinación y atomización del Mn

Figura 15- Trompeta de Horwitz

Figura 16- Evaluación de la eficiencia de descontaminación del material de digestión

Figura 17- Curva de calibración de Pb en cabello

Figura 18- Estudio de residuales para evaluar el modelo de mejor ajuste para plomo

Figura 19- Curva de calibración de Pb en HNO₃ 0,2%

Figura 20- Curva de calibración de Hg en cabello

Figura 21- Estudio de residuales para evaluar el modelo de mejor ajuste para mercurio

Figura 22- Curva de calibración del Hg en HNO₃ 0,2%

Figura 23- Curva de calibración de Mn en cabello

Figura 24- Estudio de residuales para evaluar el modelo de mejor ajuste para manganeso

Figura 25- Curva de calibración de Mn en HNO₃ 0,2%

Figura 26- Curva de calibración de As en cabello

Figura 27- Estudio de residuales para evaluar el modelo de mejor ajuste para arsénico

Figura 28- Curvas de calibración de As en cabello y en HNO₃ 0,2% v/v, utilizadas para evaluar efecto matriz

Figura 29- Prueba F para varianzas de pool de cabello

Figura 30- Prueba t para pool de cabello suponiendo varianzas iguales

Figura 31- Toma de muestras de cabello

Figura 32- Taller de capacitación a padres y niños del asentamiento, organizado por Julana

Índice de Tablas

Tabla 1- Compuestos de mercurio

Tabla 2- DL50 de las principales especies de As

Tabla 3- Concentración de las especies de As en frutos de mar (ng/g peso húmedo, n=4)

Tabla 4- Programa de temperaturas utilizado para la digestión de cabello asistida por microondas

Tabla 5- Concentraciones y volúmenes necesarios para el estudio del modelo del mejor ajuste y el rango lineal

Tabla 6- Programa de temperaturas para la determinación de Pb en cabello por ETAAS

Tabla 7- Programa de temperaturas para la determinación de Mn en cabello por ETAAS

Tabla 8- Evaluación de linealidad la determinación de Pb

Tabla 9- Evaluación de la veracidad y estudio de posibles interferencias para la determinación de Pb

Tabla 10-, Test de Chow para evaluación de posible efecto matriz entre diferentes muestras de cabello

Tabla 11- Parámetros estadísticos para la determinación de precisión intermedia, primer criterio

Tabla 12- Parámetros estadísticos para la determinación de precisión intermedia, segundo criterio

Tabla 13- Evaluación de linealidad para la determinación de Hg

Tabla 14- Evaluación de la veracidad y estudio de posibles interferencias para la determinación de Hg

Tabla 15- Evaluación de linealidad para la determinación de Mn

Tabla 16- Evaluación de la veracidad y estudio de posibles interferencias para la determinación de Mn

Tabla 17- Evaluación de linealidad para la determinación de As

Tabla 18- Cifras de mérito de las metodologías validadas

Tabla 19- Datos más relevantes de la población de estudio

Tabla 20- Resultados de la determinación de metales, en niños de Aquiles Lanza

Tabla 21- Estudio estadístico poblacional

Resumen

El presente proyecto tiene como objetivo optimizar las metodologías analíticas para evaluar la presencia de metales y semimetales tóxicos en la matriz cabello a los efectos de ser utilizado como matriz biológica para la determinación de elementos tóxicos, evaluando su desempeño como posibles biomarcadores de exposición en población presuntamente expuesta. Para ello, en primera instancia, se puso a punto una metodología para el monitoreo y tratamiento de tóxicos metálicos y semimetálicos en una matriz compleja como lo es el cabello. Se optimizaron las metodologías para el tratamiento de la muestra y para las determinaciones de los elementos en estudio se utilizó la técnica de espectroscopía de absorción atómica. Se logró desarrollar un protocolo de digestión para determinación de cuatro elementos, plomo, mercurio, arsénico y manganeso, en forma simultánea y su posterior validación. Luego se realizó un estudio en población presuntamente expuesta a los tóxicos estudiados en el asentamiento Aquiles Lanza, con un enfoque basado en los pilares de investigación de la Ecosalud: transdisciplinaridad, participación social, pensamiento sistémico, equidad social y de género, sustentabilidad y acción. En el estudio poblacional, se encontraron niveles de plomo cuantificables, mientras que del resto de los analitos, si bien se detectaron, los niveles estuvieron por debajo de los límites de cuantificación. Del análisis estadístico, surge que podrían existir correlaciones con el sexo de los niños entre otras variables estudiadas.

El estudio realizado, ha contemplado una integración global, utilizando los principios de la Ecosalud. Es el primer proyecto en Uruguay que plantea desde un comienzo, la integración de factores ambientales, sociales, toxicológicos y analíticos sentando las bases para futuros proyectos.

Palabras clave: Contaminación, Metales, Semimetales, Niños, Ecosalud

1.- Introducción

1.1.- Metales y semimetales

1.1.1.- Conceptos generales

A lo largo de la evolución, los seres vivos han incorporado elementos químicos inorgánicos de la naturaleza, a sus sistemas biológicos. Dado que la función de muchos de estos sistemas biológicos dependen de la presencia de estos elementos, los mismos se han considerado como esenciales para el desarrollo de la vida. Dependiendo de la cantidad necesaria de éstos, por parte de los organismos, se clasifican en elementos mayoritarios, traza o ultratrazas. Los mayoritarios son generalmente aquellos que se encuentran en gran cantidad en la corteza terrestre y participan en muchos procesos biológicos, como por ejemplo el sodio, potasio o calcio. Los elementos traza, son aquellos que son necesarios en dosis bajas como el zinc, cobre, o flúor. Por último los elementos ultratrazas, son aquellos que se requieren en muy pequeñas cantidades como el manganeso, cobalto o molibdeno (*Baran, E. J., 1995*).

Un elemento es considerado esencial cuando su ausencia o defecto produce problemas en el desarrollo del organismo, pero que una vez incorporado, generalmente se revierten. La presencia de estos elementos debe ser equilibrada en el organismo, ya que su exceso puede resultar tóxico para la salud. Este equilibrio es representado en el diagrama de Bertrand, (Figura 1) que muestra la relación entre la dosis de un elemento y su efecto (*Baran, E. J., 1995*).

Los metales y semimetales se han utilizado por el ser humano, desde la prehistoria. El arsénico y sus sales, era utilizado para decorar tumbas egipcias y era un veneno muy conocido en la Edad Media. El mercurio era un metal de gran estudio en la alquimia, formaba parte de las pinturas, e incluso fue utilizado en un medicamento para la sífilis. El manganeso se utilizaba para la fabricación de vidrio. El plomo era utilizado en la manufactura de utensilios, en el vino se usaba para quitar la acidez y para endulzarlo. Sin embargo el uso generalizado de los metales tuvo su auge en la revolución industrial. No obstante, los efectos tóxicos de varios de estos elementos, son conocidos por el ser humano desde la antigüedad. Ya en el año 370 A.C, Hipócrates asoció la aparición de cólicos a la exposición ocupacional de metales

(Tokar, E. J.; et al, 2013; Bastos Paoliello M.M, Mello De Capitani E., 2003; Acevedo, F. A., et al, 2003; Martins, I., 2003; MomoyoSakuma, A., et al., 2003).

1.1.2.- Biomarcadores

Los biomarcadores son sustancias químicas, sus metabolitos, o el producto de interacción entre una sustancia y una célula o molécula, que se encuentra en el ser humano. Éstos nos permiten evaluar la exposición, mediante la determinación de su concentración, en una muestra biológica. Las muestras biológicas pueden ser: sangre, cabello, orina, líquido céfalo raquídeo, saliva, etc. Dado que los metales no sufren grandes modificaciones, la determinación de los mismos en estas muestras, confirman su presencia en el organismo (WHO, 2001).

Los biomarcadores se pueden clasificar como de efecto, de exposición y de susceptibilidad. Los biomarcadores de exposición son sustancias químicas, su metabolito o el producto de interacción entre un químico y alguna molécula o célula encontrada en el ser humano. Los de efecto, son una alteración bioquímica, fisiológica, conductual, que puede ser medible en un organismo. Dependiendo de la magnitud, puede ser asociado a una enfermedad. Los biomarcadores de susceptibilidad son indicadores de la capacidad inherente o adquirida de un organismo para actuar frente a la exposición de una sustancia específica (WHO, 2011).

Los metales y algunos semimetales generalmente no se metabolizan, por lo que su concentración en sangre, orina o cabello constituye generalmente un biomarcador muy válido de exposición presente o pasada. Permanecen en el organismo antes de su eliminación durante un largo tiempo, por lo que varios aspectos particulares pueden ser considerados:

- Su control biológico es fiable para confirmar su exposición.
- La concentración del metal o su metabolito en sangre y orina suele constituir un parámetro bien correlacionado con la exposición reciente al metal.
- La concentración del metal en el cabello suele indicar la carga corporal, producto de las exposiciones a lo largo del tiempo (Casarett, L. J.; Doull, J., 2005).

En el presente estudio de tesis, únicamente se consideraran los biomarcadores de exposición por ser los más representativos de cada metal a los efectos de los objetivos propuestos.

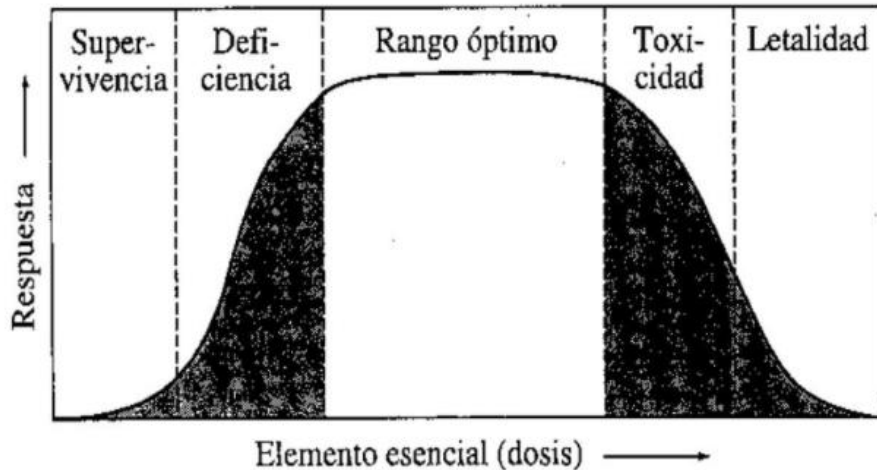


Figura 1. Diagrama de Bertrand. Baran, E. J., 1995.

1.1.3.- Toxicocinética de metales y semimetales

La toxicocinética estudia los cambios que ocurren con un tóxico, desde que el mismo ingresa al organismo hasta que es eliminado, es decir que estudia la absorción, distribución, biotransformación y eliminación del mismo. En la Figura 2 se presenta un esquema de la toxicocinética de los metales y semimetales.

La vía de ingreso es importante en la determinación de la toxicidad de un elemento. Las principales vías por las que un elemento puede entrar en el organismo son: la respiratoria, la dérmica, la digestiva, la hemodiálisis, las prótesis metálicas, la transferencia placentaria y la leche materna (López, J.L., 2003). En las personas no ocupacionalmente expuestas, es decir que su trabajo u ocupación no requieren estar en contacto con el tóxico, la vía principal de exposición es la digestiva, favorecida por la ingestión de alimentos contaminados. En las personas ocupacionalmente expuestas, la vía de ingreso principal es la respiratoria.

La absorción de una sustancia, es el ingreso de la misma a la circulación del organismo, para ello, las sustancias deben atravesar las membranas biológicas.

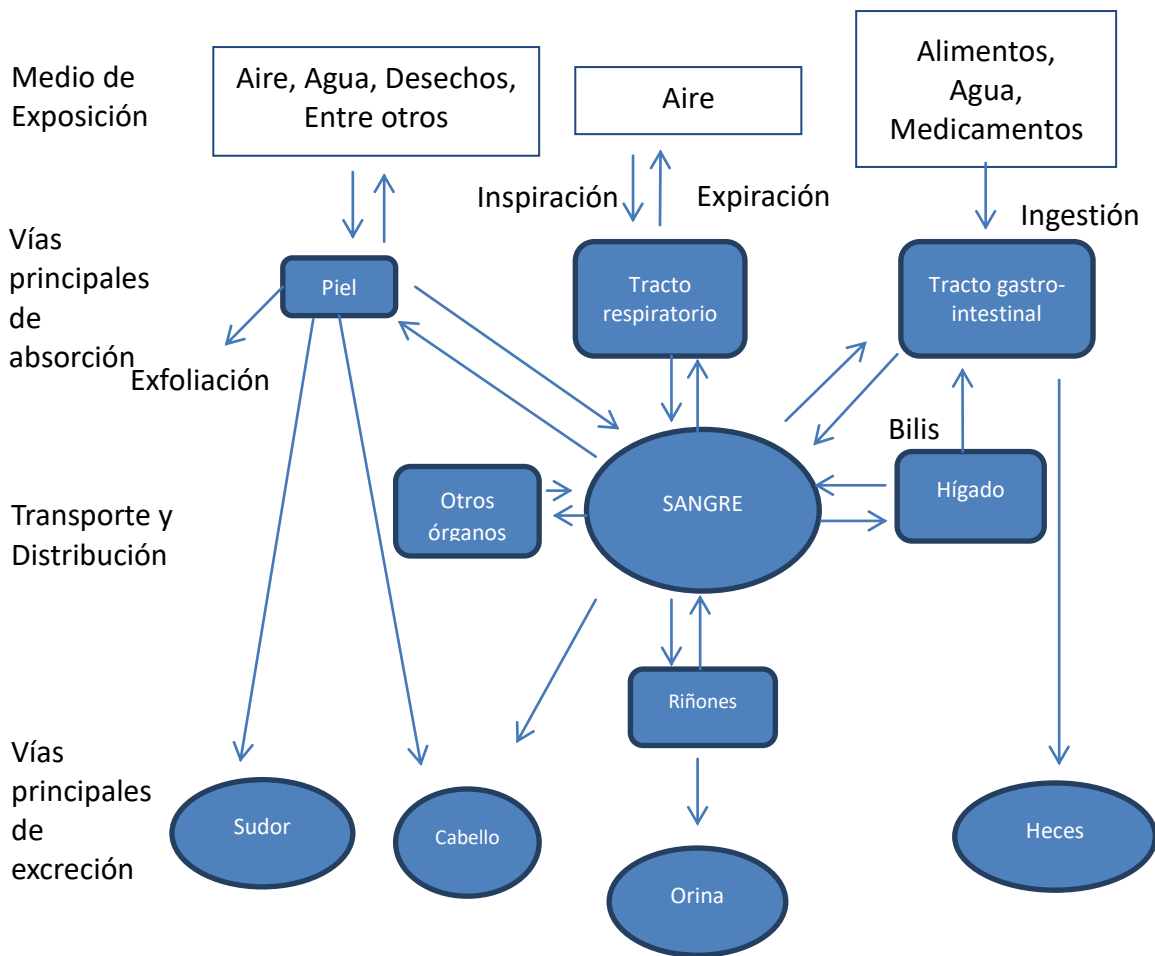


Figura 2. Esquema de la toxicocinética de los metales. Rojas Martini, M., 2013.

La función de la membrana es crear una barrera, para controlar el paso de las sustancias externas a la célula. La estructura de la misma cuenta con dos capas de moléculas lipídicas, los fosfolípidos que tienen un extremo hidrofílico y una cola hidrofóbica. En las membranas celulares, los fosfolípidos se unen, mediante las colas hidrofóbicas, por lo que la membrana celular, en las caras externa e interna es hidrofílica (Figura 3). Conociendo la estructura de las membranas observamos que las mismas permiten el paso de compuestos apolares y lipídicos, siendo como barrera fundamental para las moléculas polares (Lehninger, 2001).

De todas formas, las membranas tienen proteínas encargadas del transporte de compuestos, desde el exterior al interior de la célula. Es así que la difusión de las moléculas puede ser en forma pasiva, facilitada o activa.

La difusión simple, se da con los compuestos que son liposolubles, una vez que entran en contacto con la membrana con capacidad de traspasar las membranas. Esto

es debido a la diferencia de gradiente de concentración, entre el interior y exterior de la membrana por parte del compuesto.

La difusión facilitada se da en compuestos que no son liposolubles, pero se unen a moléculas que se ubican en la membrana, capaces de facilitar su penetración. Una vez que el compuesto es transportado, se libera y la molécula transportadora vuelve a la membrana.

El transporte activo, es similar al facilitado, solo que requiere de energía para poder llevarse a cabo. Este tipo de transporte lo usan moléculas hidrosolubles, iones o con alto peso molecular. Muchos compuestos tóxicos, inhiben este mecanismo (*Lehninger, A., 2001; Rojas Martini, M., 2013*).

Luego de que la sustancia es absorbida y entra en el torrente sanguíneo, se distribuye a los tejidos. Cuando la concentración del compuesto es elevada, y ya la membranas celulares no cumplen la función de barrera, los compuestos tienen tendencia a fijarse en los órganos con mayor flujo sanguíneo, como el encéfalo, riñón e hígado (*Rojas Martini, M., 2013*).

La biotransformación consiste en la transformación del compuesto extraño, en un derivado del mismo, para poder eliminarlo del organismo (como su metabolito). No todas las sustancias químicas sufren el proceso de biotransformación, algunas son eliminadas de la misma forma que fueron absorbidas. La biotransformación se realiza a través de las enzimas, como oxidasas y reductasas, entre otras, que son capaces de incorporar grupos funcionales, como OH^- , NH_2^+ , COO^- , etc, a los compuestos químicos. Este proceso se realiza principalmente en el hígado. Una vez que el compuesto sufre la biotransformación, es eliminado por la orina, bilis, heces, sudor, saliva, leche, entre otros (*Rojas Martini, M., 2013*).

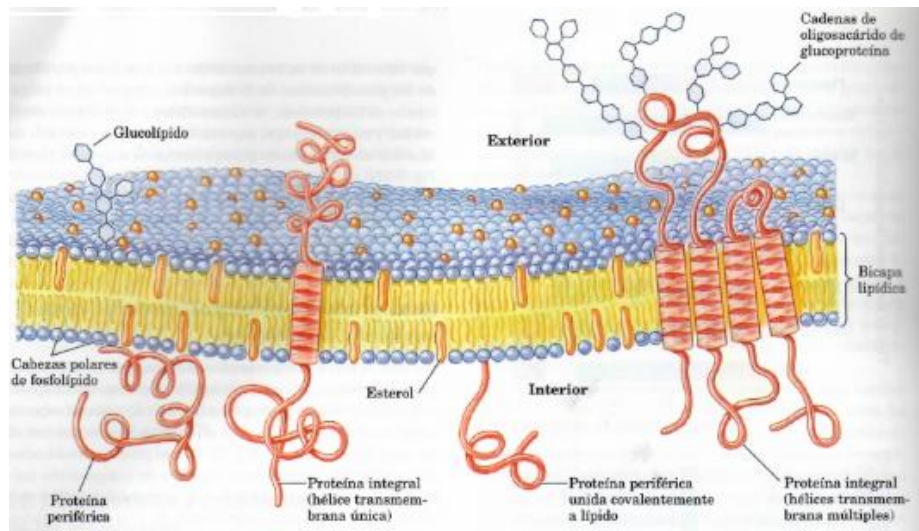


Figura 3. Estructura de las membranas biológicas. Lehninger, 2001.

En el caso de los compuestos metálicos y semimetálicos, los inorgánicos, son más hidrosolubles que los orgánicos, aunque existen algunas sales como el carbonato de plomo que es insoluble. Asimismo, existen distintos grados de liposolubilidad entre los compuestos orgánicos, siendo ésta una característica importante, principalmente para la absorción del compuesto.

Es así que desde el punto de vista toxicocinético de metales y semimetales podemos resumir los siguientes aspectos:

- La absorción es, principalmente por vía digestiva y cutánea. En el caso del mercurio la vía respiratoria es importante, debido a la volatilidad de este metal.
- Los compuestos orgánicos que contienen metales, son fácilmente absorbidos, por su liposolubilidad. Esto también lleva a que sean almacenados en tejidos ricos en lípidos, como el sistema nervioso y al no ser hidrofílicos, no se excretan por la orina.
- Son compuestos bioacumulables, es decir que su vida media en el organismo es prolongada, principalmente, por su acumulación en el tejido óseo, como en el caso del plomo, o en los grupos SH de las uñas y cabello, en el caso de arsénico y mercurio.
- La excreción del metal depende si compuesto o metabolito, es hidro o liposoluble (*Ferrer, A., 2003*).

1.1.4.- Toxicodinamia de metales y semimetales

La toxicodinamia estudia la acción de una sustancia sobre los sitios de acción en el organismo.

Algunas de estas acciones, en el caso de los metales y semimetales, son:

- Inhibición enzimática: es causada por los metales, cuando se encuentran en forma iónica ya que interaccionan con el ión S^{-2} , de los grupos SH^{-} de las proteínas. Estos complejos son altamente estables, por lo que su acción es irreversible, inactivando o inhibiendo la acción enzimática. Muchas de estas enzimas realizan funciones vitales, por lo que su incorrecto funcionamiento puede derivar en diferentes patologías e incluso ser letal. (*Rojas Martini, M., 2013*)
- Reacciones de hipersensibilidad: la afinidad por los grupos SH^{-} , puede dar lugar a reacciones de hipersensibilidad, inmunodepresión o trastornos de autoinmunidad. En una primera exposición, el organismo genera anticuerpos contra el tóxico o su metabolito, por lo que en una segunda exposición al mismo el organismo genera una reacción inmunitaria contra el compuesto. (*Rojas Martini, M., 2013*)
- Inhibición de la transferencia de oxígeno: la unión en la citocromo-oxidasa, con algunos metales, como el Hg, no permite la fijación del oxígeno, impidiendo la formación de ATP, provocando la muerte celular. (*Rojas Martini, M., 2013*)
- Estrés oxidativo: Consiste en la formación de especies altamente reactivas, (radicales libres) que provocan la muerte celular. Algunos elementos, como el plomo, arsénico, mercurio y cadmio, aumentan la producción de radicales libres, este efecto también se observa con el arsénico. Disminuyen así, las capacidades antioxidantes del organismo, y estimulan el estrés oxidativo (*Martínez, S.A., et al, 2011*).

1.2.- Elementos de estudio

1.2.1.- Plomo (Pb)

1.2.1.1 Generalidades

Tiene dos estados de oxidación +2 y +4, pero el plomo inorgánico, de mayor importancia toxicológica, se encuentra en estado +2. En el ambiente, el plomo se encuentra principalmente como material particulado en suspensión. En el agua, se deposita debido a las corrientes de aire, la lixiviación de los suelos y de fuentes antropogénicas, como la industria de baterías.

Las fuentes de exposición naturales son las emisiones volcánicas y el desgaste geológico. Sin embargo, la principal fuente de exposición es la contaminación ambiental de origen antropogénico. El uso del plomo es variado, ya que tiene propiedades que lo hacen muy útil, como la maleabilidad, el bajo punto de fusión, la alta resistencia a la corrosión, y su estabilidad química, entre otras.

El Pb era muy utilizado en las cañerías de agua, gracias a sus propiedades de resistencia a la corrosión y a su maleabilidad; también es un metal que forma parte de las soldaduras y se utiliza en la producción de baterías. Las sales de plomo, han sido utilizadas como tintas y pinturas. En la Figura 4, se muestran los principales usos del metal.

El agua de grifo, por ejemplo, puede contener plomo proveniente de las tuberías de este metal. Si bien el plomo tiene poca acumulación en los alimentos, la contaminación exógena de los mismos es otra fuente de exposición. El aporte de Pb al ambiente de los vapores liberados de los vehículos, ya a través de la combustión de nafta, con el agregado de antidetonantes a base de plomo, tetraetilo de plomo, por ejemplo, también ha sido históricamente, una fuente muy importante de contaminación (López, J.L., 2003).

En la década del 60, se declaró la exposición a este metal, como un problema de salud pública, siendo un problema prevenible, mediante el monitoreo biológico de la población (Cousillas, A. Z., 2013).

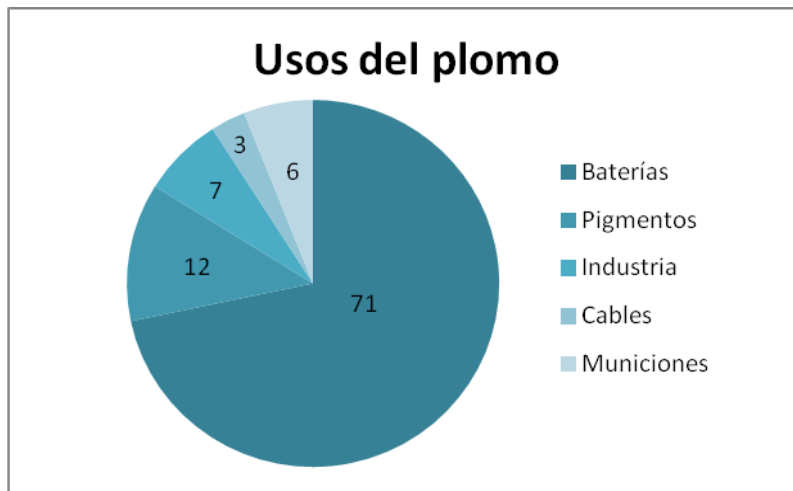


Figura 4. Usos del plomo. *Bastos Paoliello M.M, Mello De Capitani E., 2003*

1.2.1.2 Toxicocinética del Plomo

Las principales vías de ingreso suelen ser la respiratoria y digestiva. En la respiratoria, la absorción se da fácilmente, ya que las partículas presentes en los humos son muy pequeñas. Sin embargo en la digestiva, la absorción depende muchos factores como la dieta, especie química del metal, o estado nutricional del afectado.

Una vez en el torrente sanguíneo, se distribuye al hígado, riñón, cerebro y huesos. En la sangre se une a los grupos fosfato, formando un compuesto de plomo, soluble, una vez llegado a los órganos mencionados, se vuelve menos soluble. La distribución no es homogénea entre los tejidos, siendo los órganos diana principales, la sangre, huesos y tejidos blandos.

El Pb, sigue las mismas rutas metabólicas que el calcio en los animales, gracias a su similitud de tamaño y carga iónica. Se han encontrado altos niveles del metal en sangre, riñones, hígado y huesos (*Bastos Paoliello, M.M, Mello De Capitani E., 2003*). La fijación del plomo se da en los huesos, donde sustituye al fosfato de calcio, una vez allí sufre la misma fisiología que el calcio.

El Pb es capaz de atravesar la barrera placentaria, y también se excreta por la leche, por lo que en las mujeres lactantes y embarazadas, el movimiento del plomo de los huesos a la sangre, puede afectar gravemente al niño.

Su principal vía de excreción es la orina y las heces. Cerca del 60% del plomo absorbido queda retenido, el restante 40% es el eliminado. Otra vía de excreción es la leche materna, que está directamente relacionada con la cantidad de plomo en sangre de la madre. (*Bastos Paoliello M.M, Mello De Capitani E., 2003; Cousillas, A. Z., 2013*).

1.2.1.3 Toxicodinamia del Plomo.

Se une a proteínas que generalmente están unidas al calcio, pudiendo desencadenar o desactivar procesos que son mediados por él. Inhibe enzimas por su afinidad por los grupos sulfhidrilo (SH⁻), y amino. Es capaz de producir cambios morfológicos, pudiendo causar la muerte.

El ejemplo más estudiado de la inactivación enzimática es el de la síntesis del grupo hemo, donde se inhibe la acción las enzimas, δ -aminolevulínico deshidratasa y ferroquelatasa (*Bastos Paoliello M.M, Mello De Capitani E., 2003; Cousillas, A. Z., 2013*).

1.2.1.4 Efectos de intoxicación al Plomo

La exposición constante a lo largo del tiempo, se conoce como exposición crónica y en el caso del plomo, saturnismo. Algunos síntomas del mismo son: insomnio, cefaleas, sabor dulce y metálico, pérdida de apetito, dolor muscular, diarrea (*Ramírez, A. V., 2005*). Los cólicos, también son un síntoma muy común a la exposición crónica del Pb.

El Pb interfiere en la síntesis del grupo Hemo. Esta afectación no solo impide formación de hemoglobina, sino que también aumenta la cantidad de ácido δ -aminolevulínico, en orina, ocasionando problemas neurológicos. La anemia es otro síntoma característico, y se conoce como anemia saturnina. Causa insuficiencia y nefropatías renales, y puede afectar el sistema reproductor masculino y femenino.

El plomo es un tóxico que atraviesa la barrera placentaria, causa abortos y expone al feto, a altas concentraciones del Pb, desde temprana edad. En el caso de los niños, causa alteración en el comportamiento, retardo mental, hiperactividad, sordera, entre otros, ya que el plomo atraviesa barrera hematoencefálica más fácil en niños que en adultos (*Cousillas, A. Z., 2013; Casarett, L. J.; Doull, J., 2005*).

Existen estudios epidemiológicos que sugieren la relación entre la exposición crónica al Pb, y cáncer de pulmón cerebro y vejiga. Es capaz de formar tumores en el sistema digestivo y respiratorio (Casarett, L. J.; Doull, J., 2005). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), determinó que el Pb inorgánico, probablemente sea cancerígeno, pero aún no hay estudios que lo comprueben (ATSDR, 2016).

1.2.1.5 Biomarcadores de Plomo

La concentración de plomo en sangre, es el biomarcador de exposición más utilizado, y se establecen niveles de riesgo para la salud. El plomo en huesos es considerado como biomarcador de exposición acumulativa al metal, ya que éste se deposita en él. La determinación de plomo en la orina, luego de una inyección de agente quelante, se considera que es una medida fiable de la fracción potencialmente tóxica. La cuantificación de la enzima ALAD y la protoporfirina en eritrocitos, han resultado buenos biomarcadores de efecto, entre otros (ATSDR (1), 2007).

El cabello es el tejido que concentra mayor cantidad de plomo por unidad de peso. Esto se asocia a la alta actividad metabólica de las células de la matriz de cabello. La concentración del metal indica el grado de exposición crónica con relación a la edad donde el individuo estuvo en contacto con el metal (Salinas, J. M., Rosile, R., 1995).

El cabello está compuesto por queratina, una proteína muy rica en azufre, y como se mencionó anteriormente, el Pb, tiene gran afinidad por estos grupos, lo que hace del cabello un buen marcador de exposición al mismo (Cousillas, A. Z., 2013).

Los niveles de Pb total en cabello son muy variados. En Chile se han encontrado niveles entre 0,92-5,28 µg/g; en Venezuela se ha encontrado una media de 7,7 µg/g del metal, mientras que en áreas donde la población está expuesta se han encontrado valores de hasta 313 µg/g (Valdebenito, G. A. ,2008; Marcano, E. et all, 2009; Fergusson, J.E., 1990).

1.2.2.- Mercurio (Hg)

1.2.2.1 Generalidades

El mercurio tiene tres estados de oxidación 0, +1 y +2. Cada estado, así como cada especie orgánica, provoca efectos característicos para la salud. En la Tabla 1 se muestran los compuestos que forma el Hg. Es el único metal líquido a temperatura ambiente. El estado de vapor de este metal es la forma más tóxica en la que se puede encontrar.

Las fuentes de exposición naturales, son la desgasificación de la corteza terrestre, emisiones volcánicas y evaporación de masa acuática. También los combustibles fósiles tienen altas concentraciones de Hg, siendo una de las principales fuentes de contaminación ambiental. Las fuentes antropogénicas, suelen estar dadas por la quema y uso de los combustibles fósiles (Acevedo, F. A., et al, 2003).

Tabla 1. Compuestos que forma el mercurio.

Orgánico	Metil mercurio	CH_3HgX
	Dimetil mercurio	CH_3Hg_2
Inorgánico	Elemental (metálico)	Hg^0
	Ión monovalente	Hg^{+1}
	Ión divalente	Hg^{+2}

Al ser un metal de gran movilidad, y dada su estabilidad en la atmósfera, es considerado un problema mundial. En la Figura 5 se presenta el ciclo biogeoquímico del Hg, el cual muestra su gran capacidad de movilización. Gracias a su gran volatilidad, es capaz de transportarse con las corrientes de aire. El otro mecanismo de transporte, es la vía acuática, y es debido al mercurio orgánico que se forma gracias a las emisiones antropogénicas, que una vez que llegan al mar, es convertido por las bacterias en mercurio orgánico, principalmente metil-mercurio. Este compuesto lo consumen los peces, y así se va distribuyendo al resto de la especies acuáticas. Este tipo de mecanismo es más lento, y más local. El metil-mercurio permanece en los peces durante largo tiempo y la cantidad del compuesto que se encuentra, es dependiente de la especie (Acevedo, F. A., et al, 2003).

El mercurio se utiliza en la producción de celdas electrolíticas, en lámparas eléctricas, interruptores, termostatos, instrumentos de presión y calibrado. Su uso también es abundante en los laboratorios analíticos, como objetivo de estudio, en

amalgamas dentarias, catalizador en reacciones poliméricas, entre otros. En el sector industrial se sigue utilizando para el tratamiento de oro y plata, en la producción de ácido acético a partir de acetileno, en la fotografía y en la producción de seda.

Existen muchos medicamentos registrados que son en base al Hg, se utilizan principalmente como conservantes en vacunas, inyectables, soluciones nasales y oftálmicas.

La bioacumulación del Hg se da en plantas acuáticas, invertebrados, peces y mamíferos. La concentración del mismo aumenta, a medida que aumenta la cadena trófica. Se han observado diferencias de concentración entre los peces carnívoros y los herbívoros, mostrando mayores niveles en los primeros. Esto evidencia la bioacumulación del metal a lo largo de la cadena trófica (Acevedo, F. A., et al, 2003). Debido a la capacidad mencionada, la principal fuente de exposición al metal, por el ser humano, suele ser el consumo de pescados y frutos del mar.

Actualmente hay programas para la eliminación del uso de este metal. Por ejemplo, se han eliminado termómetros y tensiómetros a base de Hg (Colangelo, C. H., 2013).

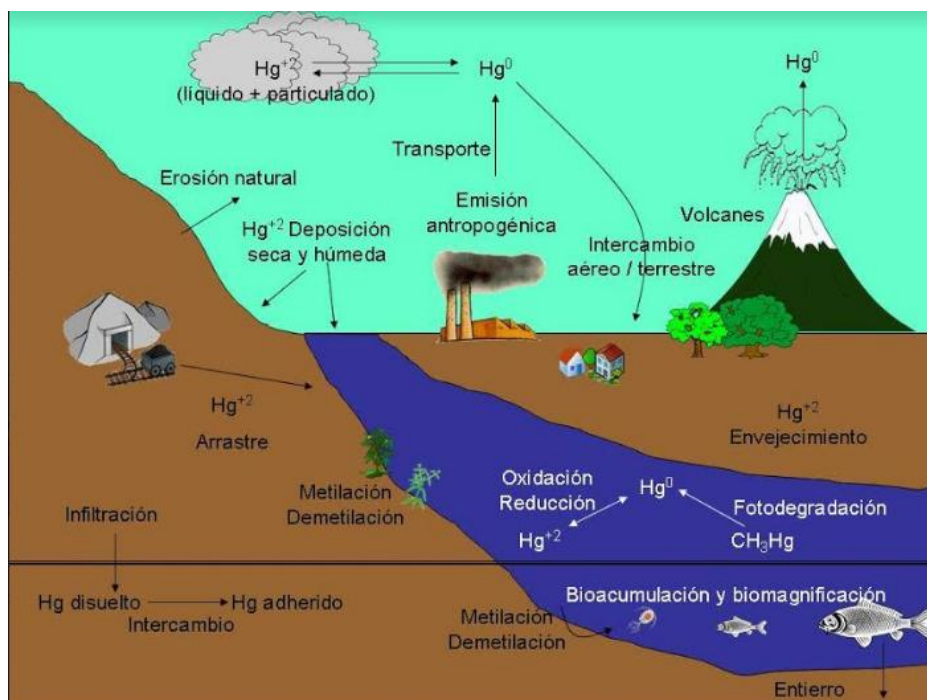


Figura 5. Ciclo biogeoquímico del Hg. Q.F Cristina Alvarez.

1.2.2.2 Toxicocinética del Mercurio

La vía respiratoria es una de las principales vías de ingreso al organismo, ya que el Hg es muy volátil. Por esta vía, el mercurio suele estar en su estado elemental, lo que lo hace fácilmente absorbible. Al absorberse el metal, el mismo se transporta a los órganos y se oxida a ión mercurio (+2) y se une a los grupos sulfhidrílicos de las proteínas.

Asimismo, el Hg inorgánico, y el metil-mercurio, suelen ingresar por vía digestiva, y al absorberse, ya se encuentran en forma iónica, por lo que se unen a las células plasmáticas. Los compuestos orgánicos, se transforman en ión Hg^{+2} , una vez absorbido. Tienen una gran absorción, gracias a su carácter lipofílico.

La distribución del metal se realiza a través de las proteínas plasmáticas en el torrente sanguíneo. El Hg metálico, es decir el elemental, es muy liposoluble y llega al cerebro, pero rápidamente se oxida al ión Hg^{+2} , por lo que se fija en el mismo, ya que éste es menos liposoluble que el metálico. También se deposita en el riñón. El Hg orgánico, se deposita en tejidos ricos en lípidos, como cerebro, hígado y riñón.

Este metal es capaz de atravesar la barrera placentaria. La acumulación del metal se da en el cerebro del feto, y puede llegar a concentraciones similares a la de la madre.

El mercurio presenta varias reacciones de biotransformación: el Hg metálico, se puede oxidar a ión +2; también se puede producir la reacción inversa a la anterior, mediante una reducción; el mercurio inorgánico se puede metilar, convirtiendo el Hg inorgánico en orgánico, y viceversa.

El mercurio se secreta por la bilis, y su eliminación se da principalmente por la orina y heces (Acevedo, F. A., et al, 2003; Colangelo, C. H., 2013).

1.2.2.3 Toxicodinamia del Mercurio

El Hg tiene afinidad, al igual que el plomo, a los grupos sulfhidrilos pertenecientes a proteínas plasmáticas e histónicas, y a enzimas, provocando su inactivación. También se une a otros compuestos como amidas, amia, carboxilos y fosfatos, que son grupos con varias funciones biológicas.

Bloquea la bomba de sodio, disminuyendo el potencial eléctrico de membrana y es capaz de dañar los nervios motores y sensoriales y (Colangelo, C. H., 2013, Acevedo, F. A., et al, 2003).

1.2.2.4 Efectos de intoxicación al Mercurio

Algunos de los síntomas adversos de exposición al mercurio son: gusto metálico, irritabilidad, náusea, cefaleas, visión borrosa y encefalopatías. Puede provocar insuficiencia renal y pulmonar, hasta la muerte. La intoxicación crónica causa delirios, alucinaciones y tendencias suicidas (López, J.L., 2003).

La exposición a largo plazo causa gingivitis, causa úlceras en la mucosa bucal, causa hiperqueratosis, y puede llegar a perforar el tabique nasal. Causa lesiones en el cristalino comprometiendo la identificación de colores, y causa una macha amarilla-marrón, típica de la exposición al metal (Acevedo, F. A., et al, 2003)

También se encuentra la pérdida de memoria, insomnio, temblores, nefrotoxicidad, dificultad de coordinación (ataxia), entre otros (Colangelo, C. H., 2013).

En cuanto al sistema reproductor femenino, tiene efectos nocivos como abortos espontáneos, y es un tóxico teratogénico ya que es capaz de atravesar la barrera placentaria, produciendo malformaciones en el feto (Barán, E. J., 1995).

El Hg tiene propiedades de mutagénesis. Existen estudios que correlacionan la exposición al metal, con aberraciones cromosómicas (Acevedo, F. A., et al, 2003).

1.2.2.5 Biomarcadores de Mercurio

El Mercurio total en cabello y orina, son los biomarcadores de exposición más comúnmente utilizados. En el caso del metilmercurio, el mercurio en cabello es un buen biomarcador a utilizar. Como biomarcador de efecto, se han realizado varios estudios, principalmente en riñón, pero los resultados no han sido concluyentes. El Mercurio en orina, es el biomarcador al que se le han relacionado más efectos de intoxicación (ATSDR, 1999).

El mercurio en el cabello indica la carga corporal del tóxico, y es útil para la determinación de una posible exposición a mercurio, ya sea por dieta o intoxicación oral, sin relacionarse con la contaminación ambiental materna (López, J.L., 2003).

Debido a la afinidad del Hg por los grupos SH⁻, al igual que el plomo, su determinación en cabello suele ser un biomarcador de exposición al metal.

Según el programa ambiental de las Naciones Unidas, la concentración de Hg total en cabello es de 1 a 2 µg/g para personas que no consumen pescado contaminado. Se esperan niveles de 10 µg/g de cabello para aquellos que lo consumen habitualmente (*Naciones Unidas, 2011*).

1.2.3.- Manganeseo (Mn)

1.2.3.1 Generalidades

Tiene varios estados de oxidación 0, +2, +3, +4, + 6, +7. Es un elemento natural que se encuentra en las rocas. Las zonas con alto contenido del metal son utilizadas para explotación de manganeseo para la producción de aceros y producción de baterías, aunque también se utiliza el manganeseo en suplementos dietéticos, plaguicidas, abonos, ingredientes de cerámicas, entre otros (*Martins, I., 2003*).

Las principales fuentes de exposición al metal son los alimentos y el agua, en personas no expuestas ocupacionalmente, mientras que los trabajadores expuestos al mismo, se intoxican por el contacto directo (*Tokar, E. J.; et all, 2013*).

El manganeseo es un metal esencial para la salud, a niveles ultratraza, ya que algunas enzimas lo incorporan en su sitio activo, como la superóxidodismutasa o la catalasa y también es un cofactor enzimático. (*Barán, E. J., 1995, Tokar, E. J.; et all, 2013*).

En cuanto a la bioacumulación del Mn, existen estudios que muestran que se concentra principalmente en organismos inferiores. Estudios en peces han mostrado que el mismo se acumula en huesos, tracto digestivo, cabeza, aletas y branquias. Luego de la excreción, el metal continúa en grandes concentraciones, en los huesos, cabeza, aletas y piel (*Martins, I., 2003*).

1.2.3.2 Toxicocinética del Manganeseo

La principal vía de ingreso es la respiratoria, y la absorción del Mn se da a nivel alveolar. Asimismo, una porción del metal que entre por vía respiratoria, puede llegar al tracto gastrointestinal. La absorción aquí depende de la cantidad de hierro presente en la dieta, la molécula introducida, la edad y el consumo de bebidas alcohólicas.

Existe una competencia entre el Mn y el hierro por lo que una menor ingesta del último, en la dieta, favorece la absorción del Mn. Ambos tienen un sistema de difusión facilitada y la escasa presencia de hierro, estimula el transporte del Mn. Existen estudios, que muestran que la capacidad de absorción del Mn depende de la edad. Los jóvenes pueden absorber un 70% del mismo, mientras que los adultos un 2%. También se ha estudiado en ratones la absorción del Mn, en función de la ingesta de alcohol, mostrando que la absorción en presencia de alcohol, puede ser hasta dos veces mayor que sin él.

Luego de la absorción, el Mn en el torrente sanguíneo, se une a las proteínas plasmáticas. Una vez en el organismo se ve favorecida la oxidación a +3, en el intestino delgado. Luego en esta forma iónica es transportado a los tejidos. Los lugares de mayor fijación, son el hígado, páncreas, riñones e intestino, órganos ricos en mitocondrias, que son el organelo de fijación preferido.

El Mn es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, donde el hipotálamo es el que presenta mayores concentraciones, en exposición crónica. También es capaz de atravesar la barrera placentaria y puede ser secretado por la leche. La excreción puede ser urinaria, por uñas, cabellos, sudor, secreción biliar y heces (*Martins, I., 2003; Tokar, E. J.; et all, 2013*).

1.2.3.3 Toxicodinamia del Manganeso

Como el Mn es un cofactor enzimático, la deficiencia del mismo está asociada a anomalías reproductivas y esqueléticas.

Aún así, su toxicidad está relacionada con alteraciones en las enzimas involucradas en la síntesis de dopamina. Dada la gran cantidad de números de oxidación del Mn, es posible que juegue un papel en el control de óxido-reducción en el cerebro. El Mn puede fomentar la autooxidación de la dopamina, generando radicales libres (*Martins, I., 2003*).

1.2.3.4 Efectos de intoxicación al Manganeso

La exposición a grandes concentraciones, causa inflamaciones en los pulmones, causando, neumonitis, bronquitis, e incluso neumonía y necrosis pulmonar. También se han observado efectos como fatiga, náuseas, dolor de cabeza, disnea, es decir ahogo o falta de aire y fatiga en la exposición crónica al metal (*Martins, I., 2003*).

La intoxicación por manganeso afecta el sector del cerebro que ayuda a controlar los movimientos del cuerpo, afectando las funciones motoras, llegando a causar un síndrome semejante al de Parkinson. Se han hecho estudios relacionando al metal con el cáncer y la reproductividad en las hembras, pero los mismos no han sido concluyentes (ATSDR, 2000; José Vaz, A.; Videira de Lima, I., 2003, Tokar, E. J.; et al, 2013).

1.2.3.5 Biomarcadores de Manganeso

Si bien aún no hay un consenso, los biomarcadores de exposición utilizados, suelen ser manganeso en la orina y la sangre. En cuanto a los biomarcadores de efecto, no se ha encontrado alguno que indique la exposición a largo plazo a exceso manganeso (ATSDR, 2012).

La concentración de manganeso en cabello suele ser baja. Uno de los motivos es que altos niveles de hierro, fósforo o calcio facilitan la eliminación, reduciendo la concentración en el cabello. Al igual que el Pb y Hg, el Mn se excreta por el cabello, gracias a su afinidad por los grupos SH⁻.

En un estudio realizado por Miekeley se determinó que los valores normales de Mn en cabello, para adultos brasileros, son de 0,15 a 1,2 µg/g. Dada la escasez de estudios en nuestro país del metal y la matriz, tomaremos como referencia dichos valores (Menezes-Filho, J.A. et al, 2009).

1.2.4.- Arsénico (As)

1.2.4.1 Generalidades

Es un semimetal, con cuatro estados de oxidación -3, 0, +3 y +5, los cuales dependen del medio donde se encuentra. Los compuestos de arsénico presentan diferentes grados de toxicidad, dependiendo de la especie química. En condiciones reductoras se encuentra en estado +3, y +5 en oxidantes. El As puede formar compuestos orgánicos e inorgánicos, siendo estos últimos los más tóxicos, en la Tabla 2 se presentan las especies y el grado de toxicidad, presentada como Dosis Letal₅₀ en ratas.

Tabla 2. DL₅₀ de las principales especies de As. *Tesina de grado Lic. Fiorella laquinta*

Tipo de especie	Especies Químicas de As	DL50 en ratas (mg/kg)
Inorgánica	Arsina (AsH ₃)	3
	Arsenito (As III)	14
	Arsenato (As V)	20
Orgánica	Ácido Monometilarsónico (MMA)	700 – 1800
	Ácido Dimetilarsínico (DMA)	700 – 2600
	Arsenocolina	> 10000
	Arsenobetaína	> 10000

El uso del arsénico es muy variado, desde los productos para la preservación de la madera hasta herbicidas, y también se han usado compuestos inorgánicos del arsénico para el tratamiento de la leucemia, asma crónica así como medicamento para el tratamiento de la sífilis y la tuberculosis (*Momoyo Sakuma, A., et al., 2003*).

La principal fuente de exposición al arsénico inorgánico, en poblaciones no expuestas ocupacionalmente, es el agua de bebida en la cual, las concentraciones del arsénico pueden ser muy variables dependiendo de su origen, ya que puede ser: superficial, de lluvia, o subterránea. Esta última es de mayor riesgo, ya que lo puede contener de forma natural por su origen geológico, (*Mañay, N. (2), 2013*). También el consumo de frutos del mar, puede provocar niveles elevados de As en el organismo, debidos fundamentalmente a la arsenobetaína, que es poco tóxico. En la Tabla 3, se muestra algunos frutos de mar, en relación a la cantidad y tipo de compuesto que forma el semimetal.

Tabla 3. Concentración de las especies de As en frutos de mar (ng/g peso húmedo, n=4). *Momoyo Sakuma, A., et al., 2003*

Tipo	As total	As inorgánico	DMA	MMA
Pez de agua salada (asado)	466-6080	<1	<1-5	<0,5
Atún enlatado	156-770	<1	1-6	<0,5
Camarón (cocido)	473-2820	1-3	21-57	<0,5
Pez de agua dulce (asado)	25-555	<1-2	<1-4	<0,5

1.2.4.2 Toxicocinética del Arsénico

Las vías principales de entrada del arsénico son la vía digestiva y la respiratoria. En el agua de bebida, el arsénico se encuentra en forma de arseniato, siendo fácilmente absorbido por el tracto gastrointestinal (*Frederick, P., et al., 1994*). Una vez ingerido, las formas solubles del arsénico inorgánico son absorbidas por el tracto gastrointestinal. Luego de absorbidos, los compuestos son distribuidos a los órganos

como hígado, riñones, músculos, corazón, bazo, páncreas, pulmones, cerebro, piel y sangre, en ese orden jerárquico. El As, también es capaz de atravesar la barrera placentaria. En las células hepáticas se da un proceso de metilación con la producción de dos metabolitos, ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsónico (DMA), como productos de detoxificación, facilitando su excreción por la orina. También el As^{+5} puede sufrir una reducción a As^{+3} , el cual luego de acumularse se prepara para la metilación (*Momoyo Sakuma, A., et al., 2003*).

Una vez ingerido es distribuido en los tejidos y eliminado en la orina, como MMA y DMA. Si la ingesta de arsénico es mayor a su excreción, el mismo se acumula en cabello y uñas, unido a los grupos sulfhidrilo de la queratina (*Mañay, N. (2), 2013*).

1.2.4.3 Toxicodinamia del Arsénico

El As inhibe la respiración celular, debido a la acumulación del semimetal en la mitocondria, provocando el desacople de la fosforilación oxidativa. Su interacción con la succínico deshidrogenasa, no permite la producción de ATP, y la sustitución del fosfato, por el semimetal, no permite la reducción del NAD. Además de impedir la formación de energía y la respiración celular, aumenta la formación de radicales de oxígeno (*Casarett, L. J.; Doull, J., 2005*).

Se pueden presentar alteraciones en la expresión génica de proteínas e inactivación de las mismas y de enzimas, debido a su afinidad por los grupos sulfhidrilo.

La arsina es capaz de unirse al glutatión, pudiendo afectar la integridad de la bomba de sodio y potasio, de la misma (*José Vaz, A.; Videira de Lima, I., 2003*).

También se cree que el arsénico es un co-cancerígeno, o un promotor de tumores, en vez de un iniciador, pudiendo afectar la expresión de genes que controlan la proliferación celular (*Momoyo Sakuma, A., et al., 2003; Da Matta, A., 2003*).

1.2.4.4 Efectos de intoxicación al Arsénico

Entre los efectos de exposición al As se encuentran las enfermedades vasculares, neurotóxicas, efectos en la piel y sistema nervioso.

Pueden existir efectos gastrointestinales, náuseas, diarrea, cólicos anemia y pérdida de apetito, entre los más comunes.

El más común de los efectos es el cambio de pigmentación y espesor de la piel, de hecho, por estos síntomas se lo utilizaba como medicamento para la soriasis, bajo el nombre Licor de Fowler.

La enfermedad conocida como “pie negro”, es propia de la exposición crónica del Arsénico, mediante el agua de bebida. Esta enfermedad afecta el sistema circulatorio, derivando en gangrena. Asimismo hay varios estudios que correlación la exposición del As inorgánico, con el desarrollo del cáncer de piel y de pulmón (*Momoyo Sakuma, A., et al., 2003; Mañay, N. (2), 2013*).

1.2.4.5 Biomarcadores de Arsénico

El biomarcador de exposición más usado, es el arsénico inorgánico y sus especies toxicológicamente relevantes o el arsénico en la orina que incluye el aporte dietario de arsenobetaína. La hiperqueratosis e hiperpigmentación, indican la exposición a este semimetal. El arsénico suele interferir en la síntesis de varias enzimas, éstas podrían ser utilizadas como biomarcadores de efecto (ATSDR (2), 2007).

El cabello puede ser considerado como una vía de excreción del arsénico, ya que una vez incorporado a él, no está biológicamente disponible. La arsenobetaína, el principal compuesto orgánico de arsénico en pescados y mariscos, menos tóxica que el arsénico inorgánico, no se acumula en el cabello. Esto implica que sólo el arsénico en su forma inorgánica puede ser incorporado al cabello, cuando la ingesta de mismo supera los 0,50 mg diarios (*Mariani, D.D., et al, 2010*), debido a la afinidad de los grupos SH⁻ y el As. Los niveles normales de As en cabello son de hasta 1 µg/g (ATSDR (2), 2007).

1.3.- Determinación de biomarcadores

1.3.1.- Generalidades

Las metodologías de determinación de los metales y semimetales en las diferentes matrices, son ampliamente utilizadas, y están bien descritas. No obstante, cada vez que un laboratorio desea determinar un metal, semimetal su metabolito (en el caso del As) en una matriz biológica, debe realizar una optimización, bajo las características y condiciones del mismo. Estas metodologías, para ser confiables, necesitan ser validadas, (*Iaquinta, F., Mañay, N., 2014; Mañay, N., 2013*). En esta

tesis se desarrolló y optimizó la metodología analítica para la determinación de Pb total, Hg total, As total y Mn total en cabello.

1.3.2.- El cabello como matriz

Como se mencionó el análisis de los elementos en cabello es una herramienta de identificación de exposición pero también es una herramienta clínica, que nos habla de una exposición a lo largo del tiempo.

La Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) especifica las siguientes características, en el uso del cabello como matriz biológica para la determinación de elementos:

- Desde la perspectiva de la exposición, el análisis del cabello sirve para identificar o simplemente confirmar la exposición. De todas formas es difícil distinguir entre la contaminación interna y externa. Se recomienda que para utilizar los datos se asegure un correcto tratamiento previo de la muestra. Para utilizar los datos obtenidos como herramienta clínica de exposición actual, se sugieren otros tipos de análisis, no solamente de cabello.
- De acuerdo con la ciencia actual, la utilidad principal de análisis de metales y semimetales en cabello es conocer la exposición histórica. El enfoque de la investigación tiene que estar en la búsqueda de datos que establecen relaciones dosis-respuesta.
- Desde una perspectiva clínica, para que el análisis de cabello sea considerado como un medio fiable para medir una sustancia en particular: la concentración de la misma se debe correlacionar con los órganos del cuerpo, tejidos o fluidos y si existe dicha correlación, ésta será predictiva.
- Debido al crecimiento del cabello en general y los patrones de corte, para las exposiciones anteriores a un año o muy recientes, el análisis del cabello no es útil.
- Dependiendo de la prueba o elemento objeto de estudio, un resultado negativo puede ayudar a descartar una exposición y cualquier problema potencial.

- Antes de considerar el análisis del cabello, un aspecto práctico es investigar si existen laboratorios disponibles que proporcionen servicios eficaces y resultados fiables (*ATSDR, 2001*).

1.4.- Metodologías analíticas

1.4.1.- Validación de los procesos analíticos

Los estudios poblacionales que buscan monitorear o estudiar la exposición a un cierto compuesto, tóxico o no, requieren de un método analítico confiable. Para lograr esta confiabilidad, el laboratorio debe realizar una serie de pruebas, con el objetivo de estudiar el desempeño de los métodos por medio de la evaluación de algunas las cifras de mérito y, realizar la validación del método.

Las guías Eurachem, definen el proceso de validación como un requerimiento analítico, que confirma que el método considerado cumple con las capacidades que requiere su aplicación. Para evaluar el desempeño de nuestro método es necesaria la evaluación de las conocidas cifras de mérito o de performance (*Eurachem, 2014*).

Las cifras de mérito son parámetros o características de desempeño del método. Las evaluadas en este trabajo son: rango de trabajo y modelo del mejor ajuste, límites de detección y cuantificación, veracidad y precisión.

El rango de trabajo es el intervalo en el cual el método presenta valores aceptables. De ser posible, se busca encontrar un rango de trabajo que se comporte de forma lineal, pero pueden existir casos en que no sea así. Para la determinación del modelo de mejor ajuste, existen varios criterios: inspección visual, coeficiente de determinación, cálculo de residuales, análisis de prueba de falta de ajuste (LOF).

El límite de detección (LOD) corresponde al valor mínimo detectable por el método. Las guías Eurachem, plantean la determinación del mismo, basándose en el criterio 3s. Es decir, la desviación estándar (s) del blanco de muestra (muestra sin analito), medida 10 veces.

Límite de cuantificación (LOQ) es el nivel mínimo en el cual es confiable el desempeño del método y a partir del cual se puede informar un resultado con su incertidumbre. Se calcula de la misma forma que el LOD, pero en este caso es 10s.

La veracidad es una expresión que corresponde a la cercanía de los resultados obtenidos con el método, realizada infinitas veces, con respecto a un valor de referencia. La forma de estimar la veracidad de un método es mediante el cálculo del sesgo, o mediante el porcentaje de recuperación.

$$\%R = \text{promedio/valor de referencia} * 100$$

El valor de referencia está dado por un material de referencia certificado de la matriz en estudio, o en caso de no contar con uno, se puede utilizar el método de fortificación de muestra. El mismo consiste en adicionar una cantidad conocida de analito, en la misma especie que se encuentra en una muestra, y con las concentraciones obtenidas con y sin la adición, calcular el %R, en donde el valor de referencia será la cantidad exactamente conocida adicionada.

La precisión se refiere al grado de dispersión de los resultados obtenidos por un método analítico. Ésta se puede evaluar en tres niveles: repetitividad, precisión intermedia y reproducibilidad. La repetitibilidad consiste en la dispersión de estos resultados obtenidos en una corta medida de tiempo, con los mismos analistas, equipos y reactivos. La precisión intermedia nos da una estimación de la variación de los resultados, pero en períodos de tiempo más largos e incluso realizando alguna modificación, como los reactivos o el analista. La reproducibilidad corresponde a la variabilidad entre laboratorios.

El método elegido puede haber sido previamente descrito por otro laboratorio, pero debemos cerciorarnos de que el mismo cumple con los parámetros requeridos, en las condiciones de nuestro laboratorio.

En nuestro caso, al tratarse de elementos traza, en cabello, debemos tener un especial cuidado con la contaminación. Esta puede ser del ambiente del laboratorio, como del material y reactivos o sustancias a utilizar. Para los elementos traza se recomienda la utilización de material de vidrio, previamente descontaminado con ácido nítrico (HNO_3), la utilización de reactivos puros para análisis y agua deionizada o ultrapura (*Augusto Pitta G. Cotta, T., 2003*).

1.4.2.- Espectrometría de absorción atómica

La absorción atómica es una técnica espectroscópica basada en la atomización del elemento de interés, es decir, que para la determinación cualitativa y cuantitativa de

uno o varios elementos de la muestra, es necesario volatilizar los componentes de la misma y transformarlos posteriormente en átomos gaseosos. De esta forma, cuando la radiación atraviesa la zona donde se encuentran estos átomos en estado gaseoso, se produce su absorción en frecuencias definidas. Estas frecuencias están relacionadas con el tipo de átomo, y la absorción de la radiación se corresponde con la cantidad del elemento presente (*Skoog et al, 2000*).

1.4.2.1 Determinación de mercurio por vapor frío (CV-AAS)

Es la técnica de atomización más utilizada para la detección de Hg, recomendada por la United States Environmental Protection Agency (EPA), the National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) y Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) (*Augusto Pitta G. Cotta, T., 2003*).

Consiste la generación de vapor atómico de mercurio. Este vapor se produce por la acción de un reductor, en nuestro caso se utilizó borohidruro de sodio (NaBH_4), favorecida en un medio ácido. El ácido clorhídrico (HCl), es quien proporciona este medio.

Mediante el proceso de digestión asistida por microondas, el mercurio presente en la muestra se oxida a Hg^{+2} , sin importar si formaba parte de un compuesto orgánico o no. Luego todo el mercurio es reducido a Hg elemental, en un sistema cerrado. Gracias a la volatilidad de éste, es convertido rápidamente en vapor, el cual es arrastrado por un gas portador (inerte al Hg) y es determinado espectrofotométricamente. Por esto, la determinación es del Hg total.

Los sistemas utilizados para la determinación de Hg, pueden ser en batch o en flujo. En nuestro caso, como muestra la Figura 6, el sistema utilizado es un módulo comercial de flujo continuo. En este tipo de sistema, el reductor, la muestra y el ácido, son transportados a través de tubos, por acción de una bomba peristáltica, a una bobina de reacción. Luego el gas y el líquido serán separados en un separador de fases. Una vez separado el líquido del gas el vapor es dirigido al espectrofotómetro, y a la celda, mientras que el líquido se descarta. Luego de la vaporización, el mercurio se concentra en una celda de cuarzo, que está alineada con el haz del espectrofotómetro y se obtiene la señal analítica. El caso de este sistema en flujo, no se obtiene una señal transitoria sino que se obtiene una señal que luego de alcanzado el equilibrio se mantiene constante mientras se mantenga el

suministro de muestra. Ésta señal se relaciona con la concentración de mercurio total en la muestra (Welz, B.; Sperling, M., 1999).

Dada la toxicidad del vapor de este metal, se utiliza una trampa con permanganato para retenerlo, Figura 7.

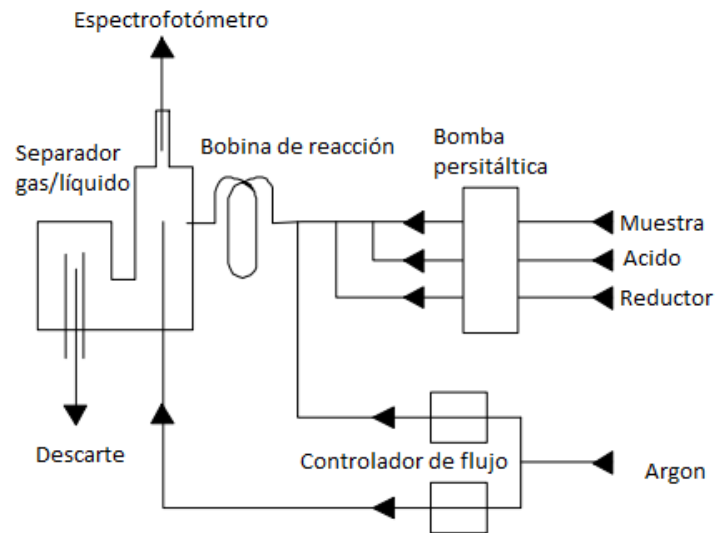


Figura 6. Sistema de flujo continuo del VGA77.

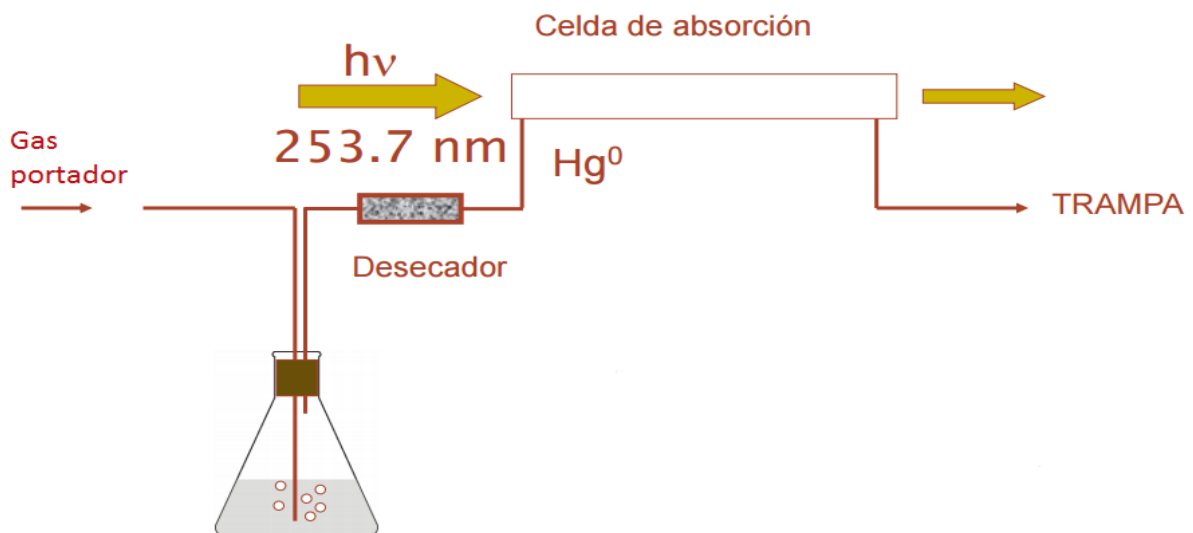


Figura 7. Sistema con trampa de Hg. I.Q. Isabel Dol.

1.4.2.2 Determinación de arsénico por generación de hidruros (HG-AAS)

Consiste en la generación de especies volátiles, en el caso del As siendo la especie reactiva la arsina (AsH_3) (Tabla 2). Esta generación se realiza con un reductor, en

nuestro caso el NaBH_4 , y se ve favorecida en un medio ácido. Que en este caso fue HCl en concentraciones de 0,5 a 5 M %.

Típicamente las concentraciones del reductor para sistemas de inyección continua, entre 0,5 y 1%. En este trabajo utilizando una concentración de 0,6 % (m/m) se obtuvieron resultados satisfactorios.

El As que se encuentra en forma pentavalente (+5), no se comporta de igual forma que el trivalente (+3), en la formación de hidruros. Las mismas condiciones en ambos, suelen dar señales poco definidas y muy bajas para el caso de las especies pentavalentes. Por esto, para la determinación total de As, se recomienda una pre-reducción de las especies presentes de forma tal de ingresar al sistema el elemento en sus formas trivalentes. Los reductores más utilizados en la literatura son ioduro de potasio (KI) o ioduro de sodio (NaI).

En el caso de este trabajo, la muestra se digiere para eliminar la materia orgánica utilizando una digestión asistida con microondas y ácido nítrico, por lo cual las especies de As luego de este proceso se encuentran en un medio oxidante, desfavorable para la generación de hidruros lo que hace imprescindible la etapa de pre-reducción.

El módulo del sistema en flujo continuo fue el mismo que para la determinación de Hg, como se muestra en la Figura 6. En esta oportunidad, se requiere de un atomizador y el vapor generado (hidruros de As) llega a la celda de atomización transportado por un gas inerte (nitrógeno). La celda de atomización de cuarzo es calentada exteriormente por una llama, favoreciendo la atomización.

La espectrometría atómica con generación de hidruros es una técnica que tiene como ventaja que el analito que forma el hidruro es arrastrado de la matriz minimizando así posibles interferencias generadas por ésta. En general los límites de detección son adecuados para muchas aplicaciones en muestras biológicas sin necesidad de pre-concentración, llegando a trabajar en rangos de concentración de ng mL^{-1} (Dedina, J.; Tsalev, D.L., 1995).

1.4.2.3 Determinación de plomo y manganeso por absorción atómica con atomización electrotérmica (ET-AAS)

La determinación mediante atomización electrotérmica, consiste en colocar un volumen pequeño de la muestra en un tubo de grafito, y someterla a un programa de

temperaturas. Este programa depende del analito y la matriz que se estén analizando.

Los programas de temperatura consisten en varias etapas en las que se va aumentando la temperatura efectuándose primero el secado de la muestra, pasando luego por la pirólisis, etapa donde se elimina la matriz y, terminando con la atomización, etapa de mayor temperatura. En esta etapa de atomización una señal transitoria que está directamente relacionada con la concentración del analito en esa matriz.

En este tipo de atomización es crítico el volumen de inyección, la optimización de las rampas de temperatura, los tiempos de mantenimiento de cada etapa, el gas portador utilizado y su flujo. Todas estas variables deben ser optimizadas, para lograr una correcta determinación.

Muchas veces, es necesaria la incorporación de modificadores químicos, que son sustancias químicas, que no afectan la determinación de la concentración del analito, y que nos permiten llegar a mayores temperaturas de pirólisis y/o de atomización. La adición de los mismos, cuáles utilizar y en qué concentración, también forman parte de la optimización del método (*Beatty, R. D.; Kerber, J.D., 1993*).

1.4.3.- Aspectos generales de la preparación de muestras

La espectrometría atómica cuenta con algunos métodos de análisis directo. No obstante la mayoría de los métodos requieren que el analito esté en solución. Para lograr esto, la muestra debe ser sometida a ciertos tratamientos, lo que se conoce como preparación de la muestra. Este proceso consiste de operaciones físicas y/o químicas, que permiten la introducción de la muestra al instrumento de medida, para mejorar la determinación de los analitos.

El uso de las microondas para la digestión de muestras es muy frecuente. Actualmente es de los más utilizados, y se le conocen amplias aplicaciones. La digestión asistida por microondas se basa en dos fenómenos: la migración iónica y la rotación de polos. Estos dos procesos son estimulados por la frecuencia de las microondas, donde en calentamiento de la solución, favorece la descomposición de la matriz donde se encuentra el analito (*Krug, F.J., Piovezani Rocha, F.R, 2016*)

1.5.- Población de estudio: Antecedentes del asentamiento Aquiles Lanza (Montevideo)

La población de estudio fueron niños del Asentamiento Aquiles Lanza. El mismo se encuentra ubicado en las inmediaciones del complejo Euskal Erría, Malvín Norte, Montevideo y cuenta con 246 viviendas, construidas de diversas combinaciones de varios materiales. Según los datos del censo 2011, Aquiles Lanza tiene una población de 890 personas, de las cuales 344 son menores a 14 años (38,6% de la población total).

Según la información brindada por los referentes del asentamiento, la condición sanitaria de las viviendas es muy diversa. Existen algunas sin conexión a agua potable, pudiéndose encontrar la conexión más cercana a 100 metros. Si bien hay viviendas que tienen un baño y una evacuación de desechos sanitarios, también hay algunas que no lo tienen. Esto ha generado problemas higiénicos, donde se destaca el trabajo de las Doctoras Ana Acuña y Estela Skapino, 2009, quienes estudiaron la parasitosis de los niños de dicho asentamiento. El nivel educativo máximo alcanzado en el asentamiento es la primaria y, si bien en 2011 el 96,8% de los niños y adolescentes de 5 a 14 años asistía a un establecimiento de enseñanza, los niveles de asistencia a partir de los 15 años disminuyeron dramáticamente a un 25,5% (censo, 2011). Esto trae consecuencias directas en el acceso de la población del barrio al mercado laboral, presentando un alto porcentaje de desocupación y acceso a condiciones de trabajo formal (*Nodo familia, 2015*).

El bajo nivel educativo y el escaso acceso a servicios de protección social del lugar, han obligado a la población a idear estrategias de trabajo informales, por ejemplo la recolección y clasificación de residuos, la venta callejera, la limpieza de jardines y obras, el comercio en ferias y servicio doméstico, entre otras. Dicha estrategia tiene como objetivo la supervivencia familiar, ya que gran cantidad de tareas recaen principalmente sobre los seres humanos jóvenes que componen los hogares, ocasionando una clara diferencia en torno al género (*Nodo familia, 2015*).

La población es muy consciente de los problemas causados por la exposición al plomo en el asentamiento, y es muy protectora con sus niños. Generalmente la policlínica del lugar así como las organizaciones sociales, recibían consultas y quejas, sobre la situación, por parte de las madres de familia, quienes son las que

más contacto tienen con sus hijos. Declaraban que en muchas de las casas de familia, los esposos, son recolectores y tienen como estrategia de sobrevivencia, la quema de cable ya que sin esta actividad, la economía de estos hogares, no existiría. Por parte de los esposos, si bien saben de la problemática del plomo, la contaminación y su vinculación con la quema de cable, aseguran que dicha actividad es el único sustento familiar (*Nodo familia, 2015*).

En el año 2013, se aprobó una ley de regulación de la exportación de cobre, Ley N° 19.138, ya que en esos años Uruguay era el segundo país exportador de cobre mundial entre los países no productores de ese mineral. Esta situación se origina gracias a estas “estrategias”, como la quema de cable (*Nodo familia, 2015*).

Existen antecedentes del año 2011, en el que se realizó un estudio poblacional en los niños y los suelos del asentamiento, estos estudios mostraron concentraciones de plomo considerables (*Nodo familia, 2015*).

La quema de cable para la extracción de cobre, puede estar directamente relacionada con las altas concentraciones del metal, ya que la realización de esta actividad se realiza en los suelos. Si éstos tienen plomo, el movimiento de las partículas del metal, se ve favorecido por la quema. Estas partículas tienen acceso al organismo por vía respiratoria fácilmente.

Dados los niveles de riesgo del metal, encontrados en suelos y en sangre de los niños, y conociendo sus efectos nocivos para la salud, se propuso realizar un trabajo de investigación en el Área de Toxicología de Facultad de Química, que estudiara con mayor profundidad esta problemática con un abordaje transdisciplinario, en el marco de los pilares de la Ecosalud. Esto llevó a realizar un proyecto conjunto con la Organización Gurises Unidos que realiza acciones de apoyo trabajando con las familias para mejorar la calidad de vida de los niños, en el marco de los pilares de la Ecosalud.

Asimismo, para realizar una evaluación más completa de la exposición de los niños, además del Pb se planteó el estudio de As, Hg y Mn. Los tres primeros por su importancia toxicológica, siendo las primeras tres sustancias de la lista prioritaria de sustancias peligrosas según la ATSDR (*ATSDR, 2015*). El Mn, si bien se encuentra en el puesto 139, es interesante su estudio, ya que a nivel nacional no existen

valores basales, y es un metal ampliamente estudiado en la región (*Menezes-Filho, J.A. et al, 2009; Riojas, H., Rodriguez, S., 2014; Mora, M., et al, 2014*).

1.6.- Ecosalud

La Ecosalud es un campo de investigación, educación y práctica que tiene como meta la mejora de la salud humana. Es decir que, esta metodología de investigación utiliza la educación como una herramienta para promover comunidades prósperas, robustas y ambientalmente sustentables, llevando a la acción o a la práctica, cambios que hagan esto posible. Es un tipo de investigación innovadora, que busca lograr un cambio sustentable y equitativo en la salud y bienestar humano a través de mejores interacciones con el medio ambiente (*Charron, D. F., 2014*).

La OPS y OMS definen a los determinantes de la salud, como propiedades que se basan en el estilo de vida que puede ser afectada por las fuerzas sociales, económicas y políticas que influyen en la calidad de la salud de las personas. Aquí se incluyen, también factores como la educación, empleo, nivel socio-económico-cultural, género, raza, nutrición, trabajo y ambiente (*Figura 8*). Estos factores no se pueden estudiar por separado cuando nos enfrentamos un problema de salud, ya que están estrechamente vinculados entre ellos. Esta unión, también se ve asociada al desarrollo de enfermedades, esperanza de vida y mortandad (*OPS, OMS, 2016*).



Figura 8. Determinantes de la salud. OPS. OMS, 2016.

Dentro de un enfoque ecosistémico para la salud humana o Ecosalud, los humanos son colocados en el centro de las consideraciones sobre el desarrollo, al tiempo que se busca asegurar la durabilidad del ecosistema del cual ellos son una parte integral. A efectos de desarrollar intervenciones adecuadas, se hace hincapié en el diseño y ejecución de soluciones intersectoriales basadas en una gestión alternativa de recursos naturales, en lugar de acciones exclusivas del sector salud. Ya que la mejora de la misma es promovida por la interacción que tienen las personas con el ambiente. No puede existir un desarrollo sustentable a menos que las intervenciones tomen en cuenta tanto el bienestar de los humanos y la sobrevivencia de los ecosistemas.

La Ecosalud investiga la relación entre todos los componentes de un ecosistema, es decir, los determinantes de la salud y las interacciones dinámicas que se dan entre ellos, para definir y evaluar problemas prioritarios que afectan la salud de la población y la sustentabilidad de sus ecosistemas. Es capaz de reconocer la interacción dinámica entre los diferentes componentes del ecosistema y el bienestar y la salud humana.

La Ecosalud, considera qué proyectos interdisciplinarios (con análisis de género y métodos participativos) pueden resultar en mejores investigaciones y mejoras de la salud humana y medio ambiente. Requiere nuevas metodologías que integren el bienestar y salud humana en evaluaciones de impacto. Es capaz de generar nuevos conocimientos que sirven de evidencia para lograr cambios.

Esta metodología se basa en seis pilares o lineamientos: transdisciplinaridad, pensamiento sistémico, participación social, equidad de género y social, sustentabilidad y acción. Los tres primeros pilares hacen énfasis en el proceso de estudio, mientras que los últimos tres son metas de los proyectos basados en Ecosalud (*Charron, D. F., 2014*).

1.6.1.- Lineamientos de la Ecosalud

1.6.1.1 *Pensamiento sistémico*

Consiste en aceptar la complejidad de los sistemas e intentar comprender los vínculos del ecosistema, las relaciones entre las personas, el ambiente, la cultura, la salud. El pensamiento sistémico permite ordenar la realidad de los ecosistemas, y visualizar los vínculos entre la salud, la sociedad, la economía y la cultura. También

nos permite establecer los límites, escala, dinámicas y jerarquía de los problemas presentados. Este tipo de pensamiento ayuda a los investigadores en la comprensión de los agentes que promueven ciertos contextos y problemas (*Charron, D. F., 2014*).

1.6.1.2 *Transdisciplina*

La transdisciplina no consiste solamente en formar un grupo de trabajo con diferentes disciplinas, sino que también involucra la integración de metodologías y herramientas de investigación de las mismas. Al involucrar varias disciplinas, se logra un mejor entendimiento del ecosistema y sus vínculos con la salud. Estas disciplinas pueden ser ambientales, sociológicas, culturales, económicas, de la salud, etc. La combinación de todas, funcionando como una unidad colectiva, un grupo funcional, aumenta las posibles estrategias de investigación para la mejora de la salud. Un equipo transdisciplinario de Ecosalud, no involucra solamente a la academia, sino que también a otros actores sociales, como representantes de las comunidades afectadas (*Charron, D. F., 2014*).

1.6.1.3 *Participación social*

Como se mencionó anteriormente, la población afectada debe estar involucrada en el proyecto de investigación. Es necesario que la población cuente con un representante, que estará en el equipo de investigación. La participación de personas que viven en el ecosistema de estudio, contribuye a información que generalmente se obtiene solamente si se está inmerso en ese entorno. Asimismo, estos representantes de la población pueden influenciar a la comunidad y estimular los cambios de hábito, para la mejora de la salud humana. (*Charron, D. F., 2014*).

1.6.1.4 *Sustentabilidad*

La investigación en Ecosalud, tiene como uno de sus objetivos, la sustentabilidad. Como nos basamos en que la mejora del ambiente, repercute en la mejora de la salud, se plantea el bienestar de los mismos, a través de las generaciones. La búsqueda de la sustentabilidad implica cambios estables en el tiempo, que sean éticos, ambiental y socialmente sostenibles (*Charron, D. F., 2014*).

1.6.1.5 *Equidad social y de género*

La OPS define a la equidad de género como “una distribución justa de los beneficios, el poder, los recursos y las responsabilidades entre las mujeres y los seres

humanos. El concepto reconoce que entre hombres y mujeres hay diferencias en cuanto a las necesidades en materia de salud, al acceso y al control de los recursos, y que estas diferencias deben abordarse con el fin de corregir desequilibrios entre ser humanos y mujeres. La inequidad de género en el ámbito de la salud se refiere a las desigualdades injustas, innecesarias y prevenibles que existe en la población considerando el estado de la salud, la atención de salud y la participación en el trabajo sanitario. Las estrategias de equidad de género se utilizan para finalmente lograr la igualdad. La equidad es el medio, la igualdad es el resultado.”(OPS, 2016)

Podemos extrapolar el mismo concepto a la equidad social, y definir la equidad como la condición de dar a cada uno lo que se merece según sus méritos y condiciones.

La distribución de los bienes es desigual e injusta en muchos casos, esto lleva a un desequilibrio en lo ecosistema, que abarca el acceso a la salud, educación trabajo y vivienda. La inequidad es considerada como factor clave de la salud, según la Comisión sobre los Factores Sociales Determinantes de la Salud, y su reducción es un deber ético (CSDH, 2008). Es así que la Ecosalud propone realizar estudios de investigación de calidad ambiental, que fomenten la equidad social y de género.

1.6.1.6 Acción

La creación de conocimiento por parte de la investigación y la ciencia, es y debe ser utilizada para la mejora de la salud y bienestar del ambiente y consecuentemente del ser humano. Por ello, una vez creado el conocimiento teórico, es fundamental para la Ecosalud, el ponerlo en práctica. Debe realizarse una traducción del conocimiento generado, en una acción: políticas de acción, políticas que requieren nuevos conocimientos o intercambios colaborativos entre públicos (Charron, D. F., 2014).

1.6.2.- Uruguay y Ecosalud - Antecedentes

Uruguay participa en la Comunidad de Práctica del Enfoque Ecosistémico en América Latina y el Caribe (CoPEH-LAC), desde el año 2005. La CoPEH-LAC, es “un grupo transdisciplinario de investigadores de varios países de América Latina, el Caribe y Canadá para formar una Comunidad de Práctica, estableciéndonos en 6 centros regionales de excelencia en investigaciones e intervenciones en Ecosistemas, localizados en diferentes regiones: México, América Central y el Caribe, Región Andina, Brasil, Cono Sur y Canadá” (CoPEH-LAC, 2017).

Desde el Área de Toxicología, se comenzó a participar en este grupo, estudiando las bases de la Comunidad de Práctica, participando en diferentes actividades:

- 1er Taller de Integración, Cuernavaca- México, 2006
- 2do Taller Nodo Cono Sur, Montevideo, 2007
- Curso “introducción al enfoque ecosistémico para la salud humana: ecosalud” Apoyado por la Unidad de Educación Permanente de Facultad de Química, la IDRC y el Nodo Cono Sur de Copeh-LAC, 2008
- Encuentro para la Difusión del Foro Internacional de ECOSALUD – 2008
- Curso para la formación y asistencia técnica en Proyectos de Investigación sobre contaminantes metálicos y otros tóxicos en América Latina, Montevideo, 2009
- Taller de capacitación para grupos de investigación en metales con un enfoque en Salud, Ambiente y Sociedad, Montevideo, 2010
- Jornada de la Comunidad de Práctica sobre el Enfoque Ecosistémico en Salud Humana, en la Facultad de Química, Montevideo, 2011
- Segundo Taller de capacitación para grupos de investigación en metales con un enfoque en Salud, Ambiente y Sociedad, Montevideo, 2012
- Taller sobre metales, ambiente y salud, con Enfoque Ecosistémico, Oruro, Bolivia. 2013
- Ecohealth Conference 2014, Montréal, Canadá. Presentación de trabajos.
- Taller de diálogo “Integración y difusión del enfoque ecosistémico utilizando como ejemplo el proyecto: “Evaluación a la exposición de metales tóxicos en el asentamiento Aquiles Lanza – Montevideo, Uruguay” Noviembre 2014.
- Ecosystem Approaches to Health: Summer Workshop and Field School - CoPEH-Canada Université du Québec à Montréal, Canada, 2015
- The 4th International One Health Congress and 6th Biennial Congress of the International Association for Ecology and Health, 2016
- Curso: Herramientas para una metodología de investigación integral en salud: un Enfoque Ecosistémico, a realizar en junio de 2017.

Hasta la fecha se ha integrado el tema en los cursos curriculares del Área de Toxicología de las carreras que se dictan en la Facultad de Química (Grupo CSIC: Ecosalud, n° 797725).

En el año 2012, la responsable de este estudio, ha participado en el mencionado taller, realizado en Montevideo, mostrando interés en el área, y participando en las últimas cinco actividades mencionadas. Se ha presentado a becas de apoyo para especializarse en el área, siendo aprobadas las siguientes:

2014 - Beca del Nodo Cono Sur de CoPEH - LAC de para participar de "Ecohealth Conference 2014"

2014 - Taller de Diálogo: Integración y difusión del enfoque ecosistémico utilizando como ejemplo el proyecto: "Evaluación a la exposición de metales tóxicos en el asentamiento Aquiles Lanza - Montevideo, Uruguay". Realizado en Montevideo, Facultad de Química.

2015 - Ecosystem Approaches to Health: Summer Workshop and Field School
CoPEH-Canada Université du Québec à Montréal, Canada - June 3-16, 2015.

2016 - Fellowship award to attend the 4th International One Health Congress & 6th Biennial Congress of the International Association for Ecology and Health, en Melbourne, Australia, 2016

Asimismo, desde el año 2015, colabora con el Área de Toxicología, en el dictado de los teóricos de los temas de Ecosalud.

2.- Objetivos

2.1.- Objetivos generales

Desarrollar una metodología para la determinación de Pb, Hg, Mn y As en cabello, con un solo paso de preparación de muestras.

Evaluar la exposición a metales y arsénico de los niños de un asentamiento de Montevideo utilizando el cabello, mediante un abordaje transdisciplinario teniendo en cuenta los aspectos de género y participación social.

Difundir la información del problema de contaminación de la zona, así como la capacitación a las familias involucradas través de talleres y otras formas de divulgación.

2.2.- Objetivos específicos

Los objetivos específicos de este trabajo fueron:

- Evaluar metodologías disponibles para la determinación de plomo, manganeso, mercurio y arsénico, en cabello de acuerdo a bibliografía de referencia
- Elaborar un protocolo de muestreo y preparación de las muestras para la determinación de los metales y semimetales seleccionados en cabello
- Optimizar las condiciones analíticas para determinar niveles de tóxicos metálicos y semimetálicos en cabello
- Validar los métodos analíticos en las condiciones optimizadas
- Realizar un estudio de la exposición en población infantil presuntamente expuesta a los metales y semimetales seleccionados, del asentamiento Aquiles Lanza
- Divulgar los resultados y realizar una capacitación de las familias que allí viven

3.- Materiales y métodos

3.1.- Reactivos

- Ácido clorhídrico (HCl) pa. J. T. Baker. Lote: 9535-05
- Ácido nítrico (HNO₃) ACS. Concentración 65% m/v. Macron. Lote: 0000032603
- Ácido nítrico (HNO₃) ultrapur. Concentración 69% m/v. J.T. Baker ultrapur. Lote: C30061
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) pa. Carlo Erba. Lote: 410301
- Agua deionizada
- Borohidruro de sodio (NaBH₄). Aldrich. Lote: STBC2667V
- Estándar de Arsénico 999 mg L⁻¹. Fulka. Lote: BCBP4276V.
- Estándar de Manganeseo 1000 mg L⁻¹. Merck. Lote: HC383248.
- Estándar de Mercurio 1000 mg L⁻¹. SCP Science. Lote:S140917012
- Estándar de Plomo 1000 mg L⁻¹. Merck. Lote: HC5669876.
- Fosfato de amonio monobásico (NH₄H₂PO₄). Carlo Erba. Lote: V3B429113F
- Hidróxido de sodio (NaOH) pa. Panreac. Lote: 131687
- Ioduro de sodio (NaI). Dolder Lote: 24811
- Permanganato de potasio (KMnO₄). Mallinckrodt. Lote: 7056G
- Tritón X-100 Merck. Lotes: K35190503642// K38559703836
- Material de referencia certificado NIES nº 13 Human Hair. National Institute for Environmental Studies, Japón.

3.2.- Equipos

- Balanza analítica Radwag As 60/220/C/2
- Baño de ultrasonido Branson 5510
- Digestor de microondas Marca CEM. Modelo Mars 6 (Figura 9)
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica con atomización electrotérmica (horno grafito) Thermo iCE 3000 series (Figura 10)
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Varian 55B de llama con sistema acoplado de generación de hidruros y vapor frío (Figura 11)

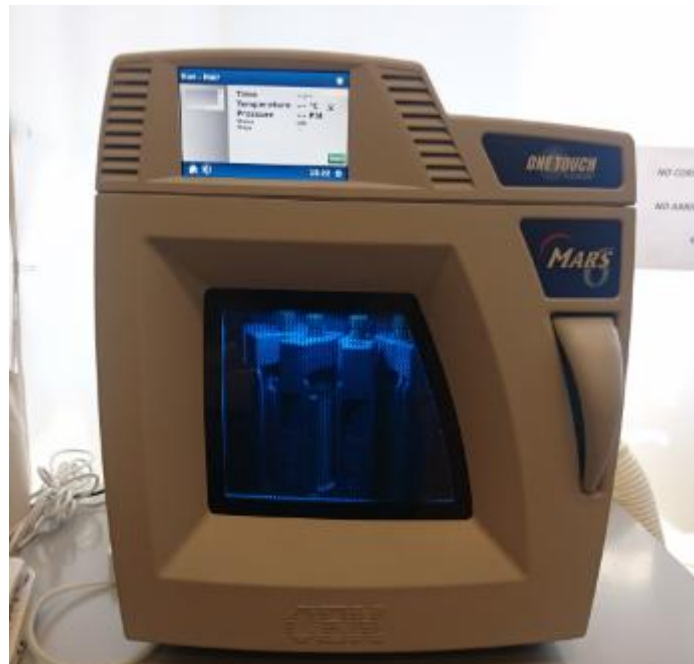


Figura 9. Digestor de microondas.



Figura 10. Espectrofotómetro de Absorción Atómica con atomización electrotrémica

3.3.- Materiales

- Celda de cuarzo para Generaci3n de Hidruros para VGA 77 Agilent. Part No. 9910040000
- Celda de cuarzo para Vapor Frío para VGA 77 Agilent. Part No. 9910040700
- Horno de grafito para atomizaci3n electrotrémica Thermo. Part No. 942339395041
- Lámpara de cátodo hueco de Arsénico (193,6 nm). Varian. Lote: 5610122200
- Lámpara de cátodo hueco de Manganeso (279,5 nm). Thermo. Lote: 13442568
- Lámpara de cátodo hueco de Mercurio (253,7 nm). Varian. Lote: 5610125300
- Lámpara de cátodo hueco de Plomo (283,3 nm). Thermo. Lote: 13392252



Figura 11. Espectrofotómetro de Absorción Atómica Varian 55B de llama con sistema acoplado de generación de hidruros y vapor frío

3.4.- Población estudiada

Se realizó una convocatoria, a las familias de la zona, con la ayuda de la ONG Gurises Unidos, el CAIF y algunas madres del asentamiento. La toma de muestra de cabello se realizó en dos días, en el local del CAIF “El Coyote”, ubicado dentro del asentamiento. Al momento de realizar la toma de muestra, el responsable del niño, firmó un consentimiento informado, se le entregó información acerca de los riesgos de exposición y se le realizó una encuesta (ANEXO 6). Con los resultados de las determinaciones de los metales y los datos proporcionados por los participantes se evaluaron las principales fuentes de contaminación, a través de un estudio estadístico, utilizando el programa Excel 2007.

4.- Metodología

4.1.1.- Descontaminación del material

Para establecer un protocolo de lavado de los tubos de digestión se plantearon tres formas de lavado: 3 horas con HNO₃ 10% v/v, 3 horas con HNO₃ 20% v/v y 2 horas con detergente + 3 horas con HNO₃ 20% v/v. Posteriormente se realizó un programa de digestión con concentraciones de 0; 0.5; 1 y 2 µg L⁻¹ de Mn y HNO₃ concentrado. Se evaluó la eficiencia del lavado midiendo la señal de Mn, la discusión de la elección se verá en la sección 5.1, concluyendo que para la descontaminación del material se usará HNO₃ 20% v/v.

4.1.2.- Toma y acondicionamiento de muestras

La toma de muestra debe ser lo más cercana al cuero cabelludo, y en la zona de la nuca del individuo. Esto debe ser así ya que en esa zona la contaminación ambiental es menor.

Se debe utilizar una tijera de acero inoxidable, para asegurarse de no contaminar la muestra. Para realizar el corte, se toma un mechón de cabello de aproximadamente 0,5 cm de diámetro, y se le realiza un nudo con hilo dental, lo más cercano al cuero cabelludo que sea posible. Con el hilo dental nos aseguramos que no contaminamos la muestra y nos facilita el corte del cabello manteniendo al mechón unido, y también se lo “marca” ya que el extremo más cercano al hilo, será el más cercano al cuero cabelludo, que es nuestra zona de interés.

Luego de que se corta, se lo guarda en una bolsa plástica, con cierre hermético y se la rotula correctamente. Las bolsas se almacenan a temperatura ambiente, en el laboratorio, hasta el análisis de la muestra. Éste protocolo de toma de muestra es adaptado al utilizado por el Dr. Antonio Menezes-Filho, en el Laboratorio de Toxicología Analítica de la Universidad Federal de Bahía, Labotox, donde la tesista ha realizado una pasantía en el año 2015.

4.1.3.- Lavado de la muestra

Para eliminar toda contaminación exógena de la muestra, se trabajó con el protocolo de lavado que se utiliza en Labotox. El mismo consiste en cortar un centímetro de la muestra, del lado del cuero cabelludo, es decir de donde el hilo dental se encuentra

más cerca. Se coloca la muestra en un vaso de bohemia y se le agrega Tritón 1% m/m, hasta cubrir todo el cabello. Se deja en baño ultrasonido durante 20 minutos. Luego se lo enjuaga con agua deionizada hasta retirar toda la espuma, se agrega HNO₃ 1N hasta cubrir el cabello y se deja en baño ultrasonido durante otros 10 minutos. Una vez finalizado este proceso, se enjuaga tres veces con agua deionizada y se coloca en un papel libre de tinta. Se deja 24 hs en la estufa a 70°.

4.1.4.- Digestión asistida con microondas

Se probaron tres concentraciones de HNO₃ para la digestión del cabello: HNO₃ concentrado, al 50% v/v y al 25% v/v. Como resultado de las tres digestiones se obtuvieron soluciones lípidas y sin material en suspensión, por lo que acorde con los principios de la Química Verde, se estableció utilizar HNO₃ al 25% (v/v), ya que es el menos concentrado y el menos dañino tanto para manipular, como para la generación de residuos.

Se pesan exactamente 25 mg de cabello en balanza a la centésima de mg y se coloca en los tubos de digestión. Luego de realizadas las adiciones del patrón necesarias, se completa hasta 10 mL con HNO₃ al 25% v/v y se hace una pre-digestión de 15 minutos, dejando durante este tiempo los vasos de digestión, tapados a temperatura ambiente. Simultáneamente se trata un blanco de digestión, que consiste en 10 mL de HNO₃ al 25% v/v. La muestra es sometida a un programa de temperatura según se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Programa de temperaturas.

Etapa	Tiempo (minutos)	Temperatura
Rampa de calentamiento	15	Hasta 180°C
Mantenimiento	15	180°C
Enfriamiento	15	40-50°C

Una vez finalizado el programa, se espera una hora antes de la apertura de los vasos. Se colocan las soluciones en matraces de 25,00 mL y se lleva a volumen con agua deionizada. Para asegurarse de que el trasvase ha sido cuantitativo, se enjuaga tres veces con agua deionizada cada tubo digestor, y luego se enrasa.

En el caso del material de referencia certificado, la toma mínima recomendada en base seca es de 120 mg. A esta toma se agregan 10 mL de HNO₃ 25% v/v y 3

gotas de HF (sugerido por el proveedor). La digestión se realiza de igual forma que con las muestras, obteniendo una solución límpida y sin material en suspensión.

4.1.5.- Evaluación de linealidad: Modelo de mejor ajuste

Para la determinación del modelo del mejor ajuste para las curvas de calibración de cada uno de los analitos, se realizó una digestión de 25 mg cabello, proporcionado por adulto no expuesto ocupacionalmente, previamente lavado. Se trabajó de la forma que indica la Tabla 5. En el tubo 1 no se colocó muestra, sino que es el blanco de digestión.

Solución estándar de 250 $\mu\text{g L}^{-1}$: Se toman 50 μL de solución patrón de los analitos de aproximadamente 1000 mg L^{-1} y se lleva a un volumen de 10 mL, con agua deionizada. Esta solución intermedia es de 5 mg L^{-1} y se puede conservar en heladera, 4°C, una semana.

Se toman 500 μL de la solución intermedia de 5 mg L^{-1} y se llevan a un volumen de 10 mL con agua deionizada. Esta nueva solución es la de 250 $\mu\text{g L}^{-1}$, se recomienda preparar esta solución a cada vez que sea necesaria.

Solución estándar de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$: Se coloca en un matraz de 25 mL, 2,5 mL de la solución de 250 $\mu\text{g L}^{-1}$, y se completa con agua deionizada.

Preparación de modificador fosfato de amonio (2 g L^{-1}): Tomar 0,2 mL de HNO_3 ultrapur, colocar en un matraz de 100 mL, junto con un gramo de tritón X-100 y 0,2 g de fosfato de amonio monobásico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$). Completar con agua deionizada.

Tabla 5. Concentraciones y volúmenes necesarios para el estudio del modelo del mejor ajuste y el rango lineal.

Tubo	1*	2**	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Vol. Estándar 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ (mL)			0,125	0,250	0,375	0,500	0,625	0,750	0,875	1,000	1,125	1,250
Vol. HNO_3 25% (mL)	10,00	10,00	9,875	9,750	9,625	9,500	9,375	9,250	9,125	9,000	8,875	8,750
Conc. de analito esperada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,00	0,00	1,25	2,5	3,75	5,00	6,25	7,50	8,75	10,00	11,25	12,50

*blanco de reactivo, ** blanco de muestra

4.1.6.- Estudio de efecto matriz

Se utilizó un material de referencia certificado NIES n°13, Human Hair. Éstos son materiales con propiedades y homogeneidad definidas que se utilizan para el control y evaluación del desempeño de las metodologías desarrolladas. Tienen concentraciones de analitos ya determinadas, y uno puede comprar el valor obtenido con su metodología, frente al valor proporcionado por el fabricante. De esta forma se evalúa si la metodología es válida para ese analito o no (*Krug, F.J., Piovezani Rocha, F.R. ,2016*).

Para el estudio del efecto matriz, se realizó una curva de calibración, utilizando un estándar de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn, Hg y Pb en HNO_3 0,2% v/v. Para el Hg, Mn y Pb, se digirió el material de referencia certificado y a la disolución obtenida se le realizaron distintas diluciones al 5,00%, 6,67%, 10,00%, 11,11%, 12,50%, 14,29%, 16,67% y 20%. Estas diluciones se interpolaron en la curva de calibración para evaluar el efecto matriz, a través de los porcentajes de recuperación. Esta dilución se realizó para el material de referencia y para el blanco de digestión.

El material certificado que se utilizó contiene niveles de As inferiores a los que se pueden determinar por nuestro método, por lo que el efecto matriz se evaluó comparando estadísticamente las pendientes de las curvas de calibración del As en cabello y en HNO_3 0,2% v/v.

4.1.7.- Optimización

4.1.7.1 Plomo

La determinación de plomo se realizó mediante Espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ET-AAS).

Se estudiaron las temperaturas de calcinación y atomización para esta matriz y el Pb, Figura 12 y 13, Anexo 1. El volumen utilizado fue de $15 \mu\text{L}$ de muestra y $7 \mu\text{L}$ de modificador fosfato 2 gL^{-1} . El mejor resultado evaluado a nivel de la señal Área.s, se obtuvo aplicando el programa de temperaturas que se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Programa de temperaturas para la determinación de Pb en cabello

T (°C)	Tiempo (s)	Rampa	Flujo de gas portador (L/min)	Etapa
95	10	4	0,2	Secado
100	20	4	0,2	
130	5	2	0,2	
450	30	84	0,2	
800	5	50	0,2	Pirólisis
2200	2	0	Apagado	Atomización
2300	1	170	0,2	Limpieza

4.1.7.2 Mercurio

Para el estudio del comportamiento del Hg en cabello, se realizó la digestión como indica la Tabla 5.

La determinación de Hg se realizó por Espectrometría de absorción atómica mediante vapor frío (CV-AAS). Se evaluaron las mismas condiciones operativas que utiliza el CEQUIMTOX, para la determinación de Hg en orina. Al obtener señales estables y con buena sensibilidad, es decir la mayor pendiente de las curvas de calibración evaluadas, se mantuvieron las mismas condiciones.

Condiciones operativas:

- Flujo de la muestra: 6 mL/min
- HCl: 40% v/v
- NaBH₄ 0,6% m/v en NaOH 0,5% m/v

4.1.7.3 Manganeso

La determinación de manganeso se realizó mediante Espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ET-AAS).

Al igual que con el Pb, se estudiaron las temperaturas de calcinación y atomización, Figura 14, Anexo 1. El volumen de muestra en este caso, es de 20 µL, sin modificador. El resultado basado en la señal obtenida Área.s, fue el programa de temperaturas que se muestra en la Tabla 7.

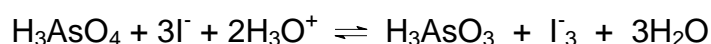
Tabla 7. Programa de temperaturas para la determinación de Mn en cabello.

T (°C)	Tiempo (s)	Rampa	Flujo de gas (L/min)	Etapa
100	30	10	0,2	Secado
800	20	150	0,2	Pirólisis
1900	3	0	Apagado	Atomización
2000	3	0	0,2	Limpieza

4.1.7.4 *Arsénico*

La determinación de As, se realizó por Espectrometría de absorción atómica, mediante generación de hidruros (HG-AAS). El As debe estar en su estado de oxidación +3 para poder determinarlo, por lo que a la muestra se le debe realizar una reducción. De esta forma todo el As que se encuentra en la misma especie y se reduce a +3. Esta reducción se realizó agregando 1 mL de NaI 27% m/v y 1 mL de HCl conc., a 10 mL de muestra digerida.

La reacción involucrada es la siguiente:



Al igual que con el Hg, tanto la reducción de la muestra, así como las condiciones para la generación de hidruros se evaluaron primeramente realizando el protocolo que se utiliza en el CEQUIMTOX para la determinación de As total en orina. Al obtener señales estables y con buena sensibilidad se mantuvieron las mismas condiciones.

Condiciones de para la generación de hidruros:

- Flujo de la muestra: 6 mL/min
- HCl 5N
- NaBH₄ 0,6% m/v en NaOH 0,5% m/v

4.1.8.- Validación

Las cifras de mérito fueron evaluadas de acuerdo al procedimiento de validación de metodologías analíticas (PLB05), del CEQUIMTOX:

Modelo de mejor ajuste y rango de trabajo: mediante inspección visual, coeficiente de determinación (R^2), test de lack-of-fit (LOF) y evaluación de los residuales respecto al modelo de mejor ajuste.

Límite de detección: utilizando el criterio 3s, mediante la determinación de la señal de blanco, con un n=10. Se calcula la desviación estándar (s) de 10 muestras sin el analito, se multiplica por 3 y se la divide entre la pendiente de la curva.

Límite de cuantificación: utilizando el criterio 10s, mediante la determinación de la señal de blanco, con un n=10. Se calcula la desviación estándar (s) de 10 muestras sin el analito, se multiplica por 10, y se la divide entre la pendiente de la curva.

Precisión a nivel de repetibilidad e intermedia: en ambos casos con un n=10, a tres niveles de concentración diferentes, se calcula la desviación estándar.

- Repetibilidad: se calcula con el coeficiente de variación, donde:

$$CV = \frac{s}{\text{promedio}} \times 100$$

- Precisión intermedia: La variable a modificar es el tiempo. Para evaluar si los promedios son comparables se debe analizar primeramente la comparación de las desviaciones estándar.

La misma se calcula con el estadístico F, según

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

Las desviaciones estándar, se deben elegir de forma que F1. Los grados de libertad son n_1-1 y n_2-1 , respectivamente. Se compara F obtenido con el valor F establecido para un contraste de dos colas, $P=0,05$. Si $F < F_{\text{crit}}$, no existe diferencia significativa entre las s.

Si las desviaciones estándar son iguales, se calcula el t estadístico según:

$$t = \frac{(x_1 - x_2)}{s \sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}$$

donde s se calcula:

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

En el caso en que el t estadístico sea mayor a t crítico, se evaluará la precisión intermedia con el coeficiente de variación según:

$$CV = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\bar{x}_{1-2}} \times 100$$

donde \bar{x}_1 , es el promedio de la primer serie de medidas, \bar{x}_2 , es el promedio de la segunda serie de medidas, y \bar{x}_{1-2} es el promedio de los promedios anteriores. En este caso, para el criterio de evaluación utilizaremos la Trompeta de Horwitz (Figura 15), con el objetivo de obtener un CV de 15%, como valor máximo.

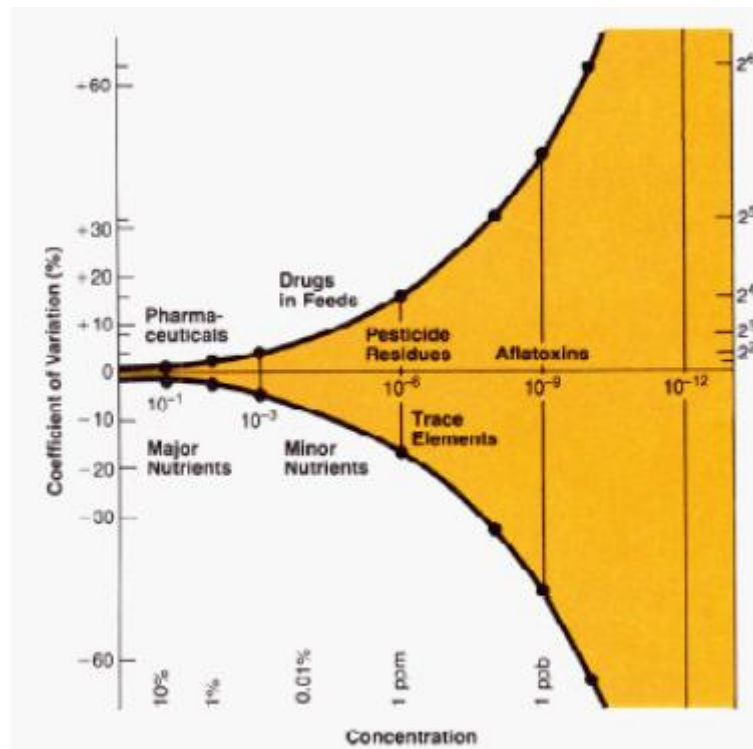


Figura 15. Trompeta de Horwitz. Jurado, J. M., 2008.

Veracidad

La veracidad del método de determinación para el Hg y Mn, se evaluó utilizando un material de referencia certificado de cabello a $n=8$, se calculó el porcentaje de recuperación, y el mismo debe estar entre 70 y 120%.

Como los límites de detección y cuantificación de nuestro método fueron mayores a la cantidad de As que contiene el material de referencia por lo que, para determinar la veracidad se fortificaron muestras de cabello, antes de ser digeridas, una con $3 \mu\text{g L}^{-1}$ y la otra con $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de una solución de As. Este procedimiento se realizó por duplicado. Se evaluó el porcentaje de recuperación y la aceptación del mismo es de 70 a 120%.

Para ello se colocaron 0,3 mL y 0,6 mL de una solución de $250 \mu\text{g L}^{-1}$, junto con los 25 mg de cabello, previamente pesados en los tubos del digestor de microondas, y

se completa con HNO₃ 25% v/v los 10 mL, es decir se le agregan 9,7 y 9,4 mL, respectivamente. Luego se le realizó la digestión, descrita anteriormente.

En el caso del Pb, la toma mínima de CRM, contiene niveles que sobrepasan el rango de trabajo, y al realizar la dilución se produce un efecto matriz. Por ello la veracidad fue evaluada de la misma forma que para As.

En el caso del Pb, las fortificaciones fueron de 6,25µL y 12,5µL y el procedimiento se realizó por duplicado, con los mismos criterios de evaluación y aceptación que para As.

En este caso los volúmenes de solución de 250 µg L⁻¹, fueron de 0,625 mL y 1,250 mL, junto con los 25 mg de cabello, completando los 10 mL con HNO₃ 25%, para luego digerir la muestra en el microondas. Una vez finalizado se coloca la solución en un matraz de 25 mL, completando con agua deionizada.

Incertidumbre: se estimó según el protocolo de validación utilizado en el CEQUIMTOX. El mismo establece el uso de los datos de precisión intermedia y de ensayos interlaboratorio. Al no contar con datos de ensayos interlaboratorio, se evaluará solamente la precisión intermedia. La misma será estimada:

$$U = 2 \times s_{\text{inter}}$$

5.- Resultados y discusión

5.1.- Determinación analítica

5.1.1.- Protocolo de descontaminación del material para digerir

Como se observa en la Figura 16, la señal obtenida con el HNO₃ 10% (v/v), es mayor a la observada con los otros lavados, por lo que se descarta esta concentración del ácido, ya que una mayor señal sugiere que el material no está bien descontaminado. No se observan mayores diferencias en el lavado con jabón y sin el mismo, por lo que se optó por el lavado con HNO₃ 20%(v/v), para la descontaminación del material. Al no utilizar del jabón, se contribuye con los principios de la Química Verde, ya que se genera menos residuo, y a su vez genera menos gasto económico al laboratorio.

Por esto, cada vez que se utilice el digestor de microondas, se deben descontaminar los tubos 24 horas antes con HNO₃ 20%.

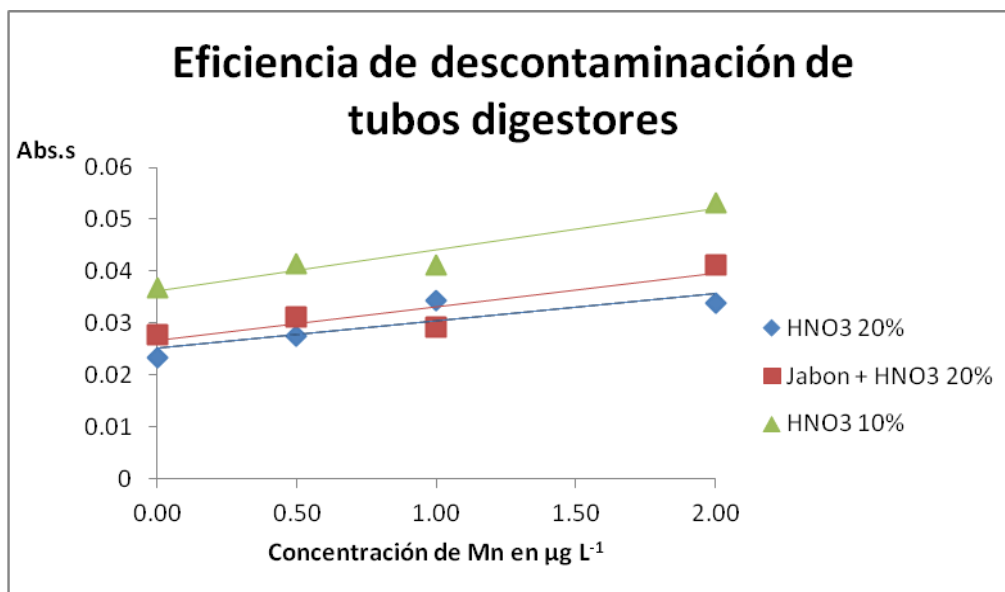


Figura 16. Evaluación de la eficiencia de descontaminación del material de digestión.

5.1.2.- Plomo

Rango de trabajo y modelo de mejor ajuste

Luego de establecidas las condiciones experimentales óptimas, se realizó una curva de calibración en cabello digerido, para evaluar el modelo del mejor ajuste. El rango

de estudio fue hasta $16 \mu\text{g L}^{-1}$, ya que si bien no existen valores de referencia para el plomo a nivel internacional, los valores de la región, de 6 a $8 \mu\text{g g}^{-1}$ de cabello, se encuentran contemplados en el rango seleccionado. En la Figura 17 podemos evaluar mediante inspección visual, que el mismo tiene un comportamiento lineal. De todas formas, para su validación se realizó el test de lack-of-fit (LOF) (Tabla 8 Anexo 2), y evaluación de los residuos respecto al modelo de mejor ajuste (Figura 18, Anexo 2) y se estudió su coeficiente de determinación R^2 . Si bien la linealidad se evaluó hasta $16 \mu\text{g L}^{-1}$, el rango de trabajo definido será hasta $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$, a efectos prácticos de realizar las diluciones correspondientes.

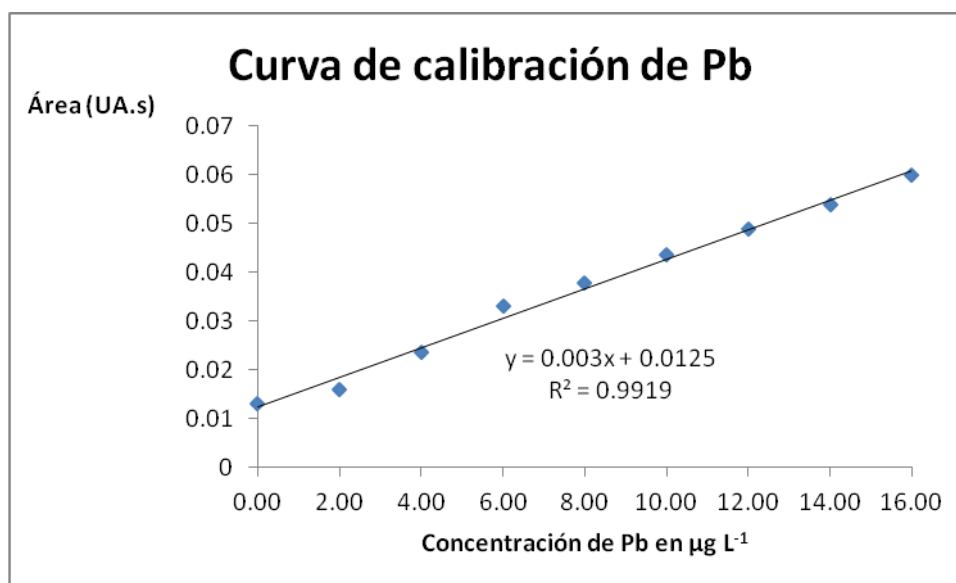


Figura 17. Curva de calibración de Pb en cabello.

Efecto matriz

El efecto matriz se evaluó con el material de referencia certificado, el mismo se analizó por duplicado. En la Figura 19 se observa la curva de calibración para el Pb en HNO_3 0,2%, mientras que en la Tabla 9 se muestran los resultados. Como el criterio de evaluación es el porcentaje de recuperación, podemos observar que los valores obtenidos no entran dentro de nuestro rango de aceptación, por lo que se evidencia el efecto de matriz.

Se estudió si existe efecto matriz entre los cabellos, ya que si lo hubiera, deberíamos realizar adiciones estándar para la cuantificación del Pb en cada muestra.

Se realizó un estudio estadístico para evaluar el efecto matriz entre muestras. Se utilizó el test de Chow que permite establecer si dos regresiones lineales en dos sets

de datos son iguales. Para ello se realizaron 7 curvas de calibración, de muestras diferentes, con tres puntos cada una, ya que la linealidad estaba determinada, y se realizaron dos grupos, uno con 3 curvas de calibración y el otro con 4. Esta separación estuvo determinada por los días en que se realizaron las digestiones y análisis del Pb.

El test de Chow está determinado por los cuadrados de los residuales, y se lo relaciona con el estadístico F. La relación está dada por:

$$F_{(k, n_1 + n_2 - 2k)} = \frac{(e'e - (e_1'e_1 + e_2'e_2)) / k}{(e_1'e_1 + e_2'e_2) / (n_1 + n_2 - 2k)}$$

Los resultados de presentan en la Tabla 10 (ANEXO 3), y muestran que no hay diferencia entre ambas regresiones, por lo que no hay efecto matriz entre cabellos.

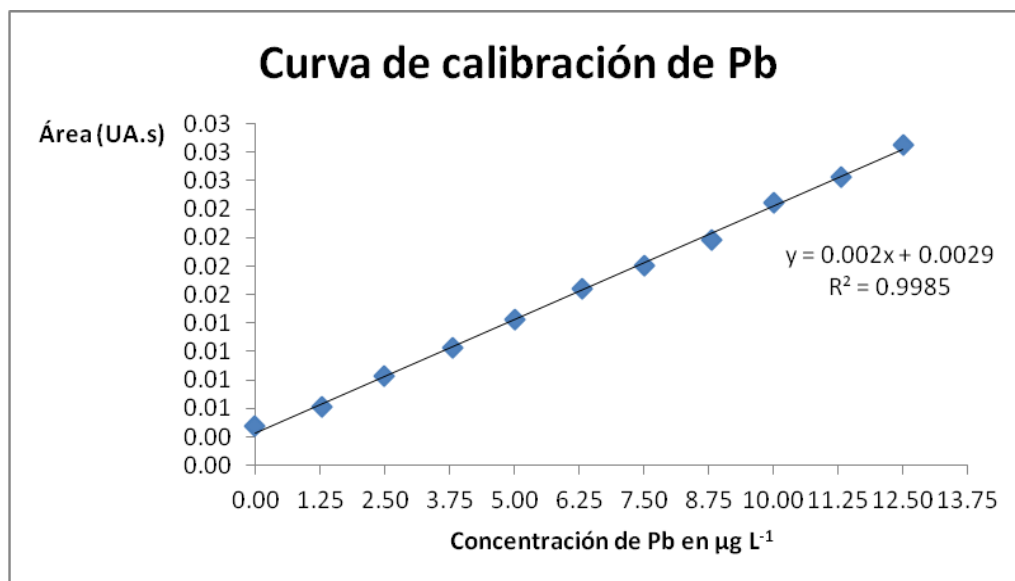


Figura 19. Curva de calibración de Pb en HNO₃ 0,2%.

Tabla 9. Porcentaje de recuperación de la concentración del material certificado obtenido para Pb, interpolada en una curva de calibración de HNO₃ 0,2%, para la evaluación del efecto matriz.

Dilución	% Recuperación NIES 1	% Recuperación NIES 2
5,00%	-597,77	-485,49
6,67%	40,71	45,55
10,00%	41,33	50,15
11,11%	25,08	61,11
12,50%	38,94	59,54
14,29%	52,75	74,65
16,67%	37,14	67,05
20,00%	32,90	60,46

Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ):

Se utilizó el criterio 3s y 10s, definidos en la sección de validación. Dado que en el caso del plomo existe efecto matriz, se debió realizar la curva de calibración sobre la matriz. El pool de cabello utilizado para la determinación de plomo de las muestras fue el mismo que se usó para curva de calibración en la validación. Para la determinación de los LOD y LOQ, se digirieron 10 muestras de un pool de cabello utilizado para la realización de la curva, sin agregado de fortificación. Los valores obtenidos fueron:

LOD: 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$

LOQ: 3,2 $\mu\text{g g}^{-1}$

Los valores de referencia utilizados fueron los niveles basales encontrados en población no expuesta ocupacionalmente en Venezuela y Chile. Los mismos eran de Pb total en Chile de entre 0,92-5,28 $\mu\text{g/g}$; y en Venezuela se de 7,7 $\mu\text{g/g}$ del metal. (Valdebenito, G. A. ,2008; Marcano, E. et all, 2009). Los límites obtenidos en nuestra metodología nos permiten realizar estas evaluaciones ya que se encuentran dentro de los valores de referencia.

Precisión:

La repetibilidad se evaluó en dos niveles (6 y 9 $\mu\text{g L}^{-1}$) con un $n=7$. La precisión fue evaluada con el coeficiente de variación antes mencionado.

Precisión a:

6 $\mu\text{g L}^{-1}$: 10,9%

9 $\mu\text{g L}^{-1}$: 6,4%

En la Tabla 11 (ANEXO 4) se muestra el estadístico de la precisión intermedia, y se muestra que los promedios son iguales en el tiempo.

Veracidad:

Como se mencionó anteriormente, debido al efecto matriz presente entre el cabello y el material de referencia, se evaluó la veracidad fortificando a distintos niveles (6,25 y 12,50 $\mu\text{g L}^{-1}$) y evaluando su porcentaje de recuperación. El porcentaje de recuperación fue del 94,9%.

Incertidumbre: Como se mencionó anteriormente, la misma se estimó según lo establecido en el procedimiento utilizado en CEQUIMTOX, PLB 05, en este caso:

Incertidumbre (U):

6 $\mu\text{g L}^{-1}$: 2,3 $\mu\text{g g}^{-1}$

9 $\mu\text{g L}^{-1}$: 2,6 $\mu\text{g g}^{-1}$

5.1.3.- Mercurio

Rango de trabajo y modelo de mejor ajuste

Se realizó una curva de calibración, para evaluar el modelo del mejor ajuste, en un rango hasta 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Se seleccionó este rango ya que los niveles de referencia están contemplados. En el Figura 20 podemos evaluar mediante inspección visual, que el mismo tiene un comportamiento lineal. De todas formas, para su validación se realizaron otras pruebas, como LOF, residuales (Tabla 13, Figura 21, Anexo 2) y coeficiente de determinación.

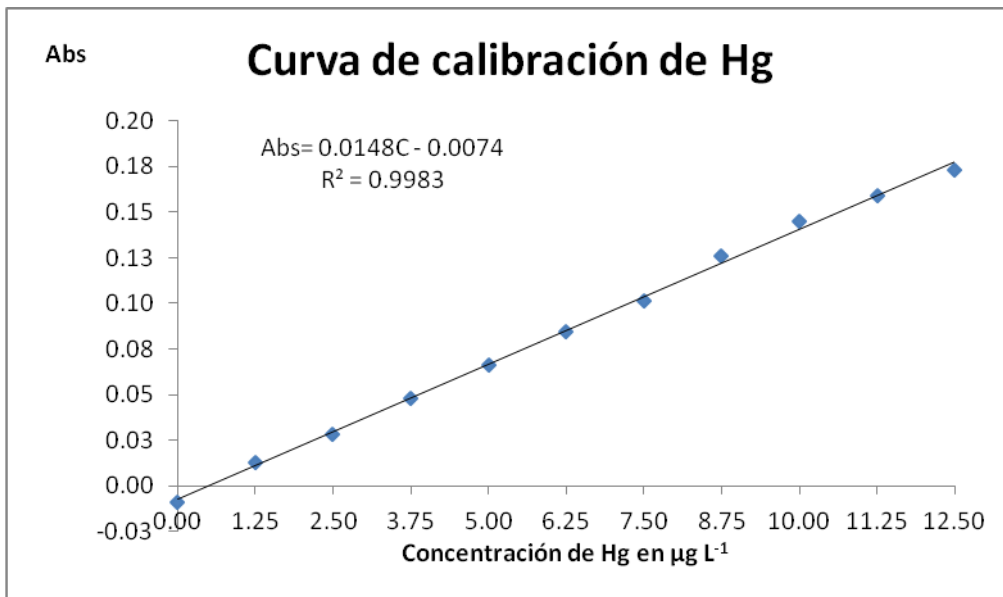


Figura 20. Curva de calibración del Hg en cabello.

Efecto matriz

Como se mencionó anteriormente, el efecto matriz del Hg se evaluó con el material de referencia certificado hasta una concentración de 15 12,5 µg L⁻¹. Se realizó por duplicado y se interpoló en una curva de calibración en HNO₃ 0,2%, que se observa en el Figura 22. En la Tabla 14 se pueden ver los porcentajes de recuperación de las diferentes diluciones, donde NIES 1 y NIES 2 corresponden a las soluciones del material de referencia. Si bien el porcentaje de recuperación de la dilución el 5% no es de los esperados, entre el 70 y 120%, esa dilución está cercana al límite de detección del método, por lo que, no es representativa para tomar decisiones.

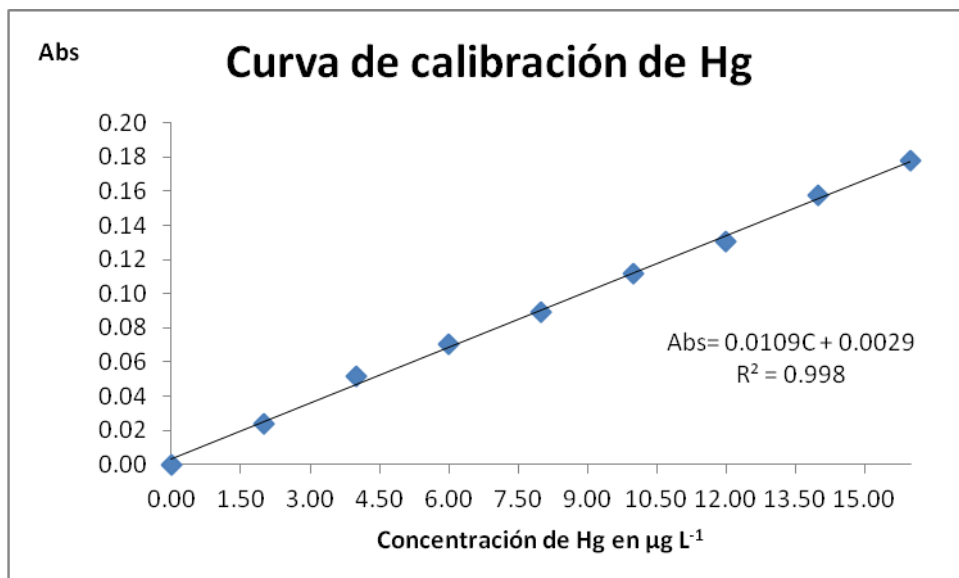


Figura 22. Curva de calibración del Hg en HNO₃ 0,2%.

Tabla 14. Porcentaje de recuperación de la concentración del material certificado obtenido para Hg, interpolada en una curva de calibración de HNO₃ 0,2%, para la evaluación del efecto matriz.

Dilución	% Recuperación NIES 1	% Recuperación NIES 2
5,00%	50,72	93,84
6,67%	86,81	99,40
10,00%	95,04	108,83
11,11%	112,01	118,84
12,50%	113,19	121,11
14,29%	116,38	122,23
16,67%	122,05	121,79
20,00%	129,58	116,97

Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ):

Se utilizó el criterio 3s y 10s, definidos en la sección de validación. Los valores obtenidos fueron:

LOD: 0,2 µg g⁻¹

LOQ: 0,8 µg g⁻¹

Los valores de referencia de Hg total en cabello, están establecidos según el programa ambiental de las Naciones Unidas, y es de 1 a 2 µg/g para personas que no consumen pescado contaminado. Se esperan niveles de 10 µg/g de cabello para aquellos que consumen habitualmente (*Naciones Unidas, 2011*). La metodología desarrollada nos permite determinar esos valores, permitiendo discriminar la población expuesta y la que no.

Precisión:

La repetibilidad se evaluó en tres niveles con un n= 10 mediante coeficiente de variación.

Precisión a:

3 µg L⁻¹: 5,8%

6 µg L⁻¹: 7,8%

9 µg L⁻¹: 4,9%

En la Tabla 11 a Anexo 4 se muestra el cálculo de la precisión intermedia, donde se demuestra que a $6 \mu\text{g L}^{-1}$, no existe diferencia entre los promedios, durante el correr de los días. Sin embargo, para los otros dos niveles si hay una diferencia, por lo que se procede al siguiente criterio de evaluación según el PLB 05. En la Tabla 12, ANEXO 4, se muestra el cálculo de CV según el criterio de Horwitz. Si bien el CV obtenido es menor que el de Horwitz, nuestro objetivo de un CV máximo de 15%, a $9 \mu\text{g L}^{-1}$ se cumple, no así en $3 \mu\text{g L}^{-1}$.

Veracidad:

El criterio de aceptación es de 70 a 120% de recuperación. Se evaluó analizando el material de referencia a $n=8$ por duplicado, y el promedio fue de 108,1%, como muestra la Tabla 14.

Incertidumbre: Estimada como el procedimiento PLB 05:

Incertidumbre (U):

$3 \mu\text{g L}^{-1}$: $0,3 \mu\text{g g}^{-1}$

$6 \mu\text{g L}^{-1}$: $3,7 \mu\text{g g}^{-1}$

$9 \mu\text{g L}^{-1}$: $0,9 \mu\text{g g}^{-1}$

5.1.4.- Manganeseo

Rango de trabajo y modelo de mejor ajuste

Una vez optimizadas las condiciones de calcinación y atomización, se realizó una curva de calibración para evaluar el modelo de mejor ajuste, en un rango hasta $13,5 \mu\text{g L}^{-1}$. En el Figura 23 podemos evaluar mediante inspección visual, que el mismo tiene un comportamiento cuadrático, evaluando el coeficiente de determinación, así como los residuales (Figura 24, Anexo 2). El test de LOF, se encuentra en la Tabla 15, ANEXO 2. Si bien el rango se estudió hasta $13,5 \mu\text{g L}^{-1}$, el rango de trabajo será de $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$, por el mismo motivo que en el plomo.

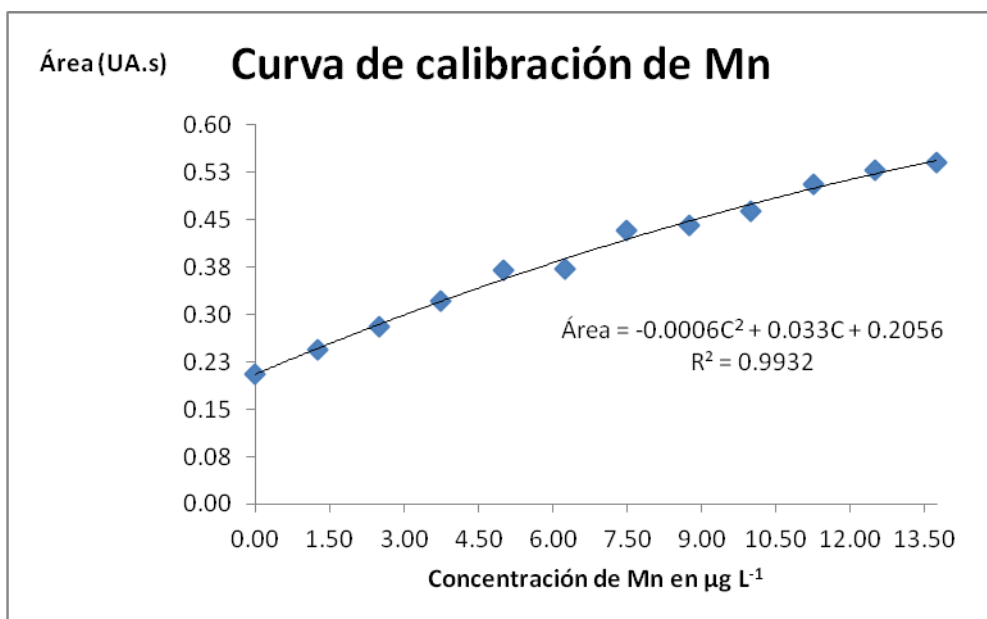


Figura 23. Curva de calibración del Mn en cabello.

Efecto matriz

El efecto matriz se evaluó de la misma forma que con el Hg y el Pb. La curva de calibración en HNO_3 0,2% se muestra en la Figura 25, mientras que los porcentajes de recuperación del material certificado, se encuentran en la Tabla 16. En este caso, al igual que en el Hg, tampoco se hay efecto matriz.

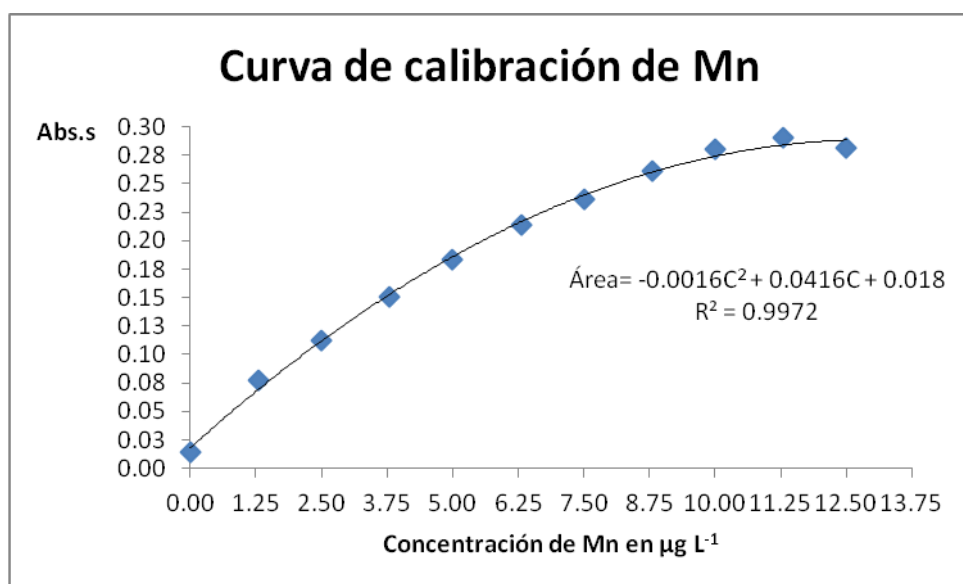


Figura 25. Curva de calibración del Mn en HNO_3 0,2%.

Tabla 16. Porcentaje de recuperación de la concentración del material certificado obtenido para Mn, interpolada en una curva de calibración de HNO₃ 0,2%, para la evaluación del efecto matriz.

Dilución	% Recuperación NIES 1	% Recuperación NIES 2
5,00%	87,80	96,15
6,67%	131,71	115,38
10,00%	97,56	105,77
11,11%	96,59	108,17
12,50%	109,27	115,38
14,29%	105,85	111,06
16,67%	105,37	98,08
20,00%	100,00	105,77
20,00%	129,58	116,97

Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ):

Se utilizó el criterio 3s y 10s, definidos en la sección de validación. Los valores obtenidos fueron:

LOD: 1,32 $\mu\text{g g}^{-1}$

LOQ: 3,86 $\mu\text{g g}^{-1}$

Si bien los límites de cuantificación del Mn están por encima de lo que se han encontrado efectos adversos en niños de Montreal (3 $\mu\text{g g}^{-1}$ de cabello), disminuir esta cifra de mérito queda planteado como para las perspectivas a futuro, ya que, no existen datos de este metal en cabello en nuestro país, por lo que no sabemos si estos valores son anómalos o no (*Menezes-Filho, J.A. et al, 2009*).

Precisión:

La repetibilidad se evaluó en dos niveles (6 y 9 $\mu\text{g L}^{-1}$) con un n= 10 mediante coeficiente de variación.

Precisión a:

6 $\mu\text{g L}^{-1}$: 4,9%

9 $\mu\text{g L}^{-1}$: 4,1%

La precisión intermedia se pudo calcular para los niveles de 6 y 9 $\mu\text{g L}^{-1}$, Tabla 11 Anexo 4, para la concentración 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ se comprueba que el promedio no varía en el tiempo. Sin embargo para de 9 $\mu\text{g L}^{-1}$, se debe calcular el CV según el criterio de

Horwitz. En la Tabla 12 se muestra que en este nivel, se cumple con el CV de Horwitz y con el fijado como objetivo.

Veracidad:

El criterio de aceptación de veracidad es de 70 a 120% de recuperación. Se evaluó con el material de referencia a n=8, y el promedio fue de 105,6%, los datos se encuentran en la Tabla 16.

Incertidumbre: Se calculó según el procedimiento PLB 05, por lo que:

Incertidumbre (U):

$$6 \mu\text{g L}^{-1}: 0,59 \mu\text{g g}^{-1}$$

$$9 \mu\text{g L}^{-1}: 0,85 \mu\text{g g}^{-1}$$

5.1.5.- Arsénico

Rango de trabajo y modelo de mejor ajuste

Una vez establecidas las condiciones experimentales óptimas, se realizó una curva de calibración para evaluar el modelo de mejor ajuste, en el rango hasta $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$. En la Figura 26 podemos evaluar mediante inspección visual y determinación del coeficiente de determinación que el mismo tiene un comportamiento lineal. De todas formas, para su validación se realizó el estudio de residuales, el LOF (Figura 27 y Tabla 17, Anexo 2).

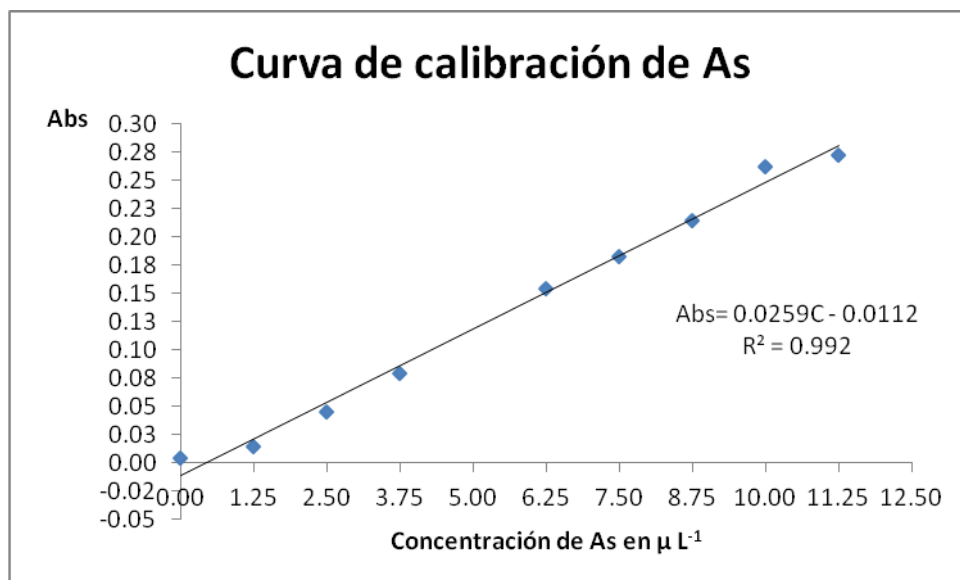


Figura 26. Curva de calibración del As en cabello.

Efecto matriz

Como se mencionó anteriormente, en el caso del As, dadas las bajas concentraciones del analito, presentes en el material de referencia, no es posible determinarlo mediante nuestra tecnología. Por ello, para evaluar el efecto matriz de este semimetal, se realizó una comparación estadística de las pendientes de la curva de calibración de HNO₃ 0,2% v/v, y la de cabello. Se realizaron tres curvas de calibración en cabello y tres curvas en HNO₃ 0,2% v/v (Figura 28, ANEXO 3). El test estadístico utilizado es la prueba *t*-Student para muestras independientes. Para poder aplicarlo, previamente se tuvo que realizar un análisis de varianzas, para ver si eran iguales.

En la Figura 29 del Anexo 3 podemos ver que la prueba F, nos afirma que estadísticamente las varianzas son homogéneas, por lo que a continuación realizamos la prueba *t*-Student para muestras independientes. En la Figura 30 del Anexo 3 se comprueba que las pendientes son estadísticamente iguales, por lo que no existe efecto matriz, para el As.

Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ):

Se utilizó el criterio 3s y 10s, definidos en la sección de validación. Los valores obtenidos fueron:

$$\text{LOD: } 0,1 \mu\text{g g}^{-1}$$

$$\text{LOQ: } 0,4 \mu\text{g g}^{-1}$$

Los niveles normales de As en cabello son de hasta 1 $\mu\text{g/g}$ (ATSDR (2), 2007). La metodología desarrollada en este proyecto nos permite la determinación y discriminación de esos niveles, haciendo posible la utilización de As total en cabello como biomarcador de exposición.

Precisión:

Se evaluó el nivel de repetibilidad en tres niveles con un n= 10 mediante coeficiente de variación.

Precisión a:

3 $\mu\text{g L}^{-1}$: 8,8%

6 $\mu\text{g L}^{-1}$: 9,0%

9 $\mu\text{g L}^{-1}$: 6,0%

En la Tabla 11 del ANEXO 4 se presenta la Tabla correspondiente al cálculo de la precisión intermedia, donde se muestra que el promedio, para los tres niveles analizados, no es el mismo, en el correr de los días. Por lo que se debió utilizar el criterio de Horwitz que se presenta en la Tabla 12, ANEXO 4. Si bien en todos los niveles se cumplió con el criterio. En el caso del As no se logró con el objetivo de un CV menor a 15%, sino que los resultados afirman la necesidad de seguir optimizando el método.

Veracidad:

El criterio de veracidad es de 70 a 120% de recuperación. Se evaluó utilizando muestras fortificadas con un n=4, a dos niveles de concentración cuantificables y el promedio fue de 106,5%.

Incertidumbre: Al igual que los otros analitos, se calculó según el procedimiento PLB05.

Incertidumbre (U):

3 $\mu\text{g L}^{-1}$: 0,4 $\mu\text{g g}^{-1}$

6 $\mu\text{g L}^{-1}$: 0,7 $\mu\text{g g}^{-1}$

9 $\mu\text{g L}^{-1}$: 1,3 $\mu\text{g g}^{-1}$

En la Tabla 18 se encuentran resumidas las cifras de mérito para cada analito.

Tabla 18. Cifras de mérito.

		Pb	Hg	Mn	As
Rango de trabajo ($\mu\text{g L}^{-1}$)		3,2- 12,5	0,8 - 12,5	3,86 - 12,50	0,1 - 12,5
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$) 3s; n=10		1,0	0,2	1,32	0,1
LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$) 3s		1,0	0,2	1,32	0,1
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$) 10 s; n=10		3,2	0,8	3,86	0,4
LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$) 10 s		3,2	0,8	3,86	0,4
Precisión (%) (Repetibilidad) n=10	3 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	5,8	-	8,8
	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	10,9	7,8	4,9	9,0
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	6,4	4,9	4,1	6,0
Precisión (%) (intermedia) n=10	3 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	16,2	-	20,7
	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	-	-	17,0
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	8,3	13,6	15,4
Veracidad (%)		94,9 **	108,1 *	105,6 *	106,5 **
Incertidumbre ($\mu\text{g L}^{-1}$)	3 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	0,3	-	0,4
	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,3	3,7	0,59	0,7
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,6	0,9	0,85	1,3

*CRM Number 13 Hair, NIES ; ** Spike sample

5.2.- Estudio poblacional

5.2.1.- Toma de muestra

Luego de la aprobación del comité de ética, de Facultad de Química, así como el aval del Servicio de Atención a la Salud de la Intendencia de Montevideo, la toma de muestra fue realizada en dos días. Los voluntarios se acercaron al centro CAIF,

ubicado en el asentamiento. En las dos jornadas se les dio una capacitación de la importancia del estudio y los analitos de interés. A los tutores, padres o madres de las familias participantes se les realizó una encuesta (Anexo 6), y se les entregó un consentimiento por escrito que debieron firmar.

Se tomaron 38 muestras de niños y adolescentes (Figura 31) . De acuerdo a la encuesta, en la población no hubo diferencias en el consumo de agua. Todas las familias declararon beber agua de OSE y tener instalación sanitaria con el mismo tipo de agua. Solamente en dos de los niños se reportó haberse realizado un estudio de plombemia anterior sin conocer el resultado. De acuerdo a estos resultados de la encuesta y otros, los factores estudiados con una posible relación a la concentración de los analitos, son los presentes en la Tabla 19, sin considerar aquellos datos que no se diferenciaban en la población.

Tabla 19. Datos más relevantes de la población de estudio.

Sexo		Edad		Familiar practica quema		Cercanía de Quema				Se lava las manos antes de comer			
M	F	≤5 años	>5 años	Si	No	Al lado	10 casas	30 casas	NC	Si	No	NS	NC
15	23	23	15	21	17	19	6	2	11	21	8	3	6

NC corresponde a “no contesta”, mientras que NS corresponde a “no siempre”.

5.2.2.- Análisis de las muestras

Luego de la toma, las muestras se lavaron, digirieron y analizaron según lo mencionado anteriormente. Los resultados se presentan en la Tabla 20.

Para el As y Hg, los valores obtenidos se encuentran por debajo del límite de detección. Sin embargo, para el caso del Mn y Pb, se encontraron valores por encima de los esperados.

En el caso del Pb, 5 niños (13%) se encuentran por encima de $9 \mu\text{g L}^{-1}$, valor superior al encontrado en Venezuela o Chile (*Valdebenito, G. A. ,2008; Marcano, E. et all, 2009*). Aún con estos valores no podemos confirmar la exposición de estos niños a los metales, ya que este es el primer estudio poblacional en niños utilizando estos metales en cabello como biomarcador, por lo que estos valores en nuestro país podrían ser aceptables. Cousillas et at, en el año 2005, han encontrado que, a nivel latinoamericano, los valores de Pb en sangre son más elevados que otro

países latinoamericanos, al igual que sucedió en el caso del cabello. Para evaluar si los valores encontrados en los niños de Aquiles Lanza, elevados o, no se deberá realizar un estudio en una población control. De todas formas, dados los antecedentes de la población de niños con exposición a este metal, deberíamos esperar altas concentraciones del mismo y en gran parte de la población. Por este motivo, es necesario el estudio del Pb en sangre, de esa forma, podríamos obtener mejores resultados, para poder decidir si el Pb en cabello es un buen biomarcador de exposición o no.



Figura 31. Toma de muestra.

En cuanto al Mn, hay 10 casos entre el LOD y el LOQ. Esto no permite determinar la concentración exacta del metal, y podemos tener algunos valores que estén por arriba de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$, valor tomado como máximo admisible (*Menezes-Filho, J.A. et al, 2009*). Estos límites de cuantificación deben mejorarse, y de esta forma poder discriminar los valores de riesgo. De todas formas, como este es un estudio piloto, y al no existir estudios de Mn en población en Uruguay, no podemos saber si estos resultados son normales en esta población o no. Para ello se debe realizar un estudio en una población control. A efectos prácticos, estos niveles serán tomados

como normales, y se dará una capacitación de como disminuir la absorción del metal.

Tabla 20. Resultados de la determinación de metales, en niños de Aquiles Lanza.

Participante	Hg $\mu\text{g/g}$	As $\mu\text{g/}$	Pb $\mu\text{g/g}$	Mn $\mu\text{g/g}$
1201	ND	ND	ND	ND
1202	ND	ND	ND	ND
1203	ND	ND	ND	ND
1204	ND	ND	ND	ND
1205	ND	ND	ND	ND
1206	ND	ND	<3,2	ND
1207	ND	ND	ND	ND
1208	ND	ND	ND	ND
1209	ND	ND	ND	ND
1210	ND	ND	ND	ND
1211	ND	ND	ND	ND
1212	ND	ND	ND	ND
1213	ND	ND	ND	ND
1214	ND	ND	ND	ND
1101	ND	ND	<3,2	ND
1102	ND	ND	ND	<3,86
1103	ND	ND	23,7	<3,86
1104	ND	ND	ND	ND
1105	ND	ND	ND	<3,86
1106	ND	ND	ND	ND
1701	ND	ND	ND	ND
1702	<0,8	ND	<3,2	ND
19.1	ND	ND	<3,2	ND
19.2	ND	ND	<3,2	ND
19.3	<0,8	ND	9,4	<3,86
19.4	ND	ND	16,1	ND
19.5	ND	ND	ND	ND
19.6	ND	ND	<3,2	<3,86
19.7	ND	ND	ND	<3,86
19.8	ND	ND	3,4	<3,86
19.9	ND	ND	10,1	ND
1910	ND	ND	<3,2	<3,86
19.11	ND	ND	6,2	<3,86
19.12	ND	ND	27,8	<3,86
19.13	ND	ND	ND	ND
19.14	ND	ND	ND	ND
19.15	ND	ND	ND	ND
19.16	ND	ND	<3,2	ND

5.2.3.- Análisis estadístico

Se realizó un estudio de correlación entre los factores sexo, edad, práctica de la quema por parte de la familia y cercanía del hogar a una fuente de quema de cable, junto con la concentración de Pb, ya que fue el único analito que mostró valores cuantificables, los resultados se encuentran en la Tabla 21.

La correlación con el lavado de manos no se pudo realizar, ya que todos los valores cuantificables, contestaron que sí lo hacían.

Para el estudio estadístico de la edad se utilizó en test de Pearson, dado que el mismo relaciona dos variables cuantitativas. Como se observa, en caso de haber una correlación está sería inversa ya que el resultado es -0,18, sin embargo, como la misma es del 3% ($r^2 \times 100$), por lo que podemos establecer que no existe correlación significativa entre la cantidad de Pb en cabello encontrado y la edad.

En el caso del sexo, la práctica de quema y la cercanía del hogar, se realizó una prueba *t* independiente, para varianzas iguales en caso del sexo, y desiguales en los otros dos casos. El estudio de varianzas se realizó con la prueba F. En el caso del sexo si existe una diferencia estadística, es decir que la variable estaría relacionada al mismo. En 1984, Schutz encuentra evidencia de que pueden existir diferencias según el sexo, presentando los varones, valores de Pb en sangre algo más elevados que las niñas. Schutz plantea que esta diferencia puede deberse a la diferencia de actividades recreativas entre los niños y niñas, ya que los primero estarían más en contacto con el suelo, que las niñas (*Schutz et al, 1984*). En nuestro caso, las niñas mostraron mayores niveles de plomo en cabello, pero el número de muestras estudiado fue muy bajo, ya que solamente 7 de las mismas pudieron ser cuantificadas. Asimismo, cabe recordar que hoy en día tales diferencias de actividades recreativas, son casi inexistentes, por lo que también se puede dar un cambio en la relación Pb en sangre y sexo.

Se debería realizar un estudio poblacional con más cantidad de niños para confirmar o no, esta relación.

En el caso de las otras dos variables, no se muestra correlación. En el Anexo 5 se presenta el estudio estadístico poblacional.

Tabla 21. Estudio estadístico poblacional

Variable		
Edad	R	R²
	-0,18	0,03
	t_{crítico}	t_{estadístico}
Sexo	2,78	3,89
Práctica de quema	12,71	0,08
Cercanía	3,18	-1,82

5.2.4.- Abordaje Ecosistémico (Ecosalud)

Es así que, en el marco de la Ecosalud, y basándonos en sus pilares, realizamos este proyecto en el asentamiento de Aquiles Lanza.

Dada la complejidad de la problemática, y con los antecedentes de la población, es decir, con su falta de credibilidad a las autoridades que antes estudiaron el problema, y los elevados niveles de plomo en sangre encontrados anteriormente, no difundidos, la estrategia de trabajo, consistió principalmente en acercarse a la población y escucharla.

De allí surgió que la principal solución, que notoriamente, era suspender con la quema de cable, o buscar lugares lejanos a las casas. Pero esto, no podría ser llevada a cabo, porque era la principal fuente de ingresos económicos. También había que tener en cuenta que el plomo, no representa el único problema de Aquiles Lanza, como se mencionó anteriormente, también es una zona propensa a la parasitosis, violencia de género, y social, desigualdad, y abandono, entre otras, por lo que era de esperar que el plomo, no sea fuera la principal preocupación de estas familias.

Los proyectos basados en Enfoque Ecosistémico, suelen traer este tipo de desafíos. Algunos de los que se pueden presentar son por ejemplo, el trabajar de forma transdisciplinaria, implica una articulación de saberes, que muchas veces se dificulta, ya que por ejemplo podemos no utilizar el mismo lenguaje técnico. Pero este no es el único desafío, es necesaria la participación de los involucrados, de esta forma podemos entender mejor el problema, e incluso llegar a mejores resultados, ya que a la población se la empodera. No siempre la población comunidad está dispuesta a participar, ya sea porque no se quiere involucrar, o porque luego de

varias propuestas frente a la problemática, nunca se llegó a concretar una solución (Nguyen, V. et al, 2014).

No obstante, el trabajar con este tipo de enfoque, es un aprendizaje constante para los investigadores y para la población. Muchos son los proyectos que presentan los distintos obstáculos presentados en este abordaje, pero concluyendo en que el aprendizaje y los resultados merecen el esfuerzo (Arroyo, R.; Luján, A., 2015)

Por lo antes mencionado, la mejor forma de encarar este estudio fue formar un equipo de trabajo transdisciplinario, que contaba con las ONG: Gurises Unidos, y Julana, que es una ONG que trabaja desde la Educación Ambiental acompañando procesos que problematizan la relación sociedad- naturaleza, haciendo especial énfasis en la participación activa de todos los involucrados. Ellos buscan fomentar la curiosidad a través de metodologías lúdico-recreativas con diversos niveles de abstracción, entendiendo que éstas facilitan la conexión con las emociones humanas básicas y por ende del humano con su entorno (Julana, 2017).

También fueron parte de este equipo el CAIF El Coyote, y la población de Aquiles Lanza e investigadores de Toxicología de Facultad de Química. Este equipo fomentó el desarrollo de un proyecto presentado y aprobado ante ANII, estimulando a las familias, principalmente a las madres, logrando generar un gran interés en su desarrollo.

La ONG Gurises Unidos, así como el CAIF, estaban en comunicación con la población del asentamiento, quienes eran los más interesados en realizar un estudio de estas características. Cada consulta, era informada al equipo de trabajo que se reunía una vez al mes, en los llamados, "Nodos de familia", que tenían lugar en el Centro de Barrio, Malvín Norte. En estas reuniones, no solamente asistía el equipo de profesionales, sino que también algunos padres que tenían consultas particulares. De esta forma durante todo el proceso se mantuvo en contacto con la comunidad, dándole la oportunidad de participar del proyecto, ya sea consultando, y a veces hasta ofreciendo ayuda, por ejemplo, en la convocatoria.

Hay estudios que muestran que los niños que presentaban altas concentraciones de plomo en sangre y que no se los retira de sus casas, con la capacitación en ciertos cuidados de higiene, y una buena alimentación, se disminuye la absorción de metal, bajando considerablemente los niveles del metal en sangre (Cousillas et al, 2008).

Por ello, se realizó una actividad donde se mostró la importancia de la participación en el estudio, para generar conciencia del problema en el que viven, y poder pensar en estrategias para disminuir la absorción de los metales, llevando nuestra investigación a una acción.

La actividad tuvo lugar en el mismo centro CAIF, donde se tomaron las muestras, y se pidió la colaboración de Julana. Es así que, en octubre de 2016, se realizó el taller, en el cual participaron 10 padres y 7 niños. La dinámica del taller quedó en manos de Julana y constó de cuatro partes:

- Dramatización de contaminación de plomo
- Ejemplificación de las etapas de exposición a metales y semimetales mediante el uso de fotografías
- Preguntas frecuentes sobre Pb, Hg, Mn y As, y presentación del estudio llevado a cabo
- Búsqueda de estrategias para la disminución de la absorción de los metales

Si bien esta fue la primera instancia de participación colectiva, los presentes eran conscientes del problema y de la posible intoxicación por estos elementos. Se generó un espacio en el cual se habló abiertamente de la situación del asentamiento y de los niños afectados. Los participantes mostraron su preocupación y hasta propusieron ideas para prevenir la absorción de los tóxicos. Estas ideas fueron escritas en una hoja que se les repartió a los presentes y que, también quedaron en el Centro de Barrio, para seguir entregando en el asentamiento como inquietudes registradas de la actividad. Si este material, con sus ideas, es seguido por las familias, se puede esperar que si bien, no se limita la exposición a los metales, la absorción de los mismos disminuirá, creando una posible sustentabilidad para mejorar el problema.

Para nuestra gratificación, uno de los presentes era un padre, quién de hecho, fue de los participantes más activos, y que mayor preocupación mostró. Esto nos muestra que si bien, como se sospechó al principio, existe una diferencia bien marcada por el sexo y el cuidado de los niños, existen algunas excepciones, que nos permiten creer en una equidad futura. En la Figura 32, se presentan fotos de este taller.

La mejor estrategia de acción en el ámbito de la Ecosalud, es crear espacios y normas que amparen de mejor forma la sustentabilidad y fomenten la equidad social y de género y para ello se invita a participar a algún actor político. En este proyecto lamentablemente no hemos podido lograr esta instancia, por lo que con los resultados del taller, y tomando a éste como estrategia de acción, quedamos muy conformes, sabiendo que debemos obtener la participación política para favorecer las acciones de mejora en futuros proyectos.



Figura 32. Taller de capacitación a padres y niños del asentamiento, organizado por Julana.

6.- Conclusiones

El presente estudio ha contemplado una integración global, utilizando los principios de la Ecosalud. Es el primer proyecto en Uruguay, que plantea desde un comienzo, la integración de factores ambientales, sociales, toxicológicos y analíticos.

Los resultados de los elementos de estudio en cabello de los niños (población presuntamente expuesta), presentaron niveles de plomo acordes a lo esperado ya que dados los antecedentes de contaminación del lugar, se podría incluso obtener valores superiores a los encontrados. Si estos resultados son importantes como se vislumbra, se deberán realizar estudios sistemáticos incorporando el diseño de muestreo más apropiado.

El estudio mostró una posible relación entre la cantidad de Pb en cabello y el sexo, si bien existen estudios que evidencian esta correlación, para poder confirmarla se debería realizar un estudio poblacional mayor.

Desde el punto de vista analítico, el resultado de este trabajo es muy importante ya que se logró desarrollar y validar un método de digestión y de determinación de cuatro elementos en un solo paso de preparación de la muestra.

Este proyecto, que buscaba una primera aproximación a la determinación de cuatro analitos en cabello (Pb, As, Hg Mn), siendo el primer estudio realizado en población presuntamente expuesta, ha cumplido con los objetivos planteados.

Los elementos de estudio en cabello son ampliamente utilizados a nivel internacional como biomarcadores de exposición por lo cual debemos seguir avanzando e intentar, optimizar estos límites de detección y cuantificación, principalmente de Pb y Mn. Asimismo, se establecer valores propios basales de estos elementos en cabello de población de nuestro país.

7.- Perspectivas a futuro

Desde el punto de vista analítico se pueden seguir mejorando las condiciones, para obtener límites de cuantificación y de detección más bajos de Mn, así como mejorar la precisión intermedia, por ejemplo utilizando una concentración menor de HNO_3 para la digestión de la muestra.

Se plantea como continuación de esta investigación, realizar el biomonitoreo de esta población, controlando no solo a los niños ya estudiados, sino ampliando el estudio al resto de los niños del asentamiento, e incluyendo a una población control.

Sería necesario poder realizar un estudio poblacional, donde aparte del cabello, se cuente con otras matrices biológicas, que son utilizadas para determinar la exposición reciente a los elementos, como son la determinación de plomo y manganeso en sangre y de arsénico y mercurio en orina. De esta forma se podrían evaluar correlaciones con la matriz de estudio y evaluar su desempeño como posible matriz biológica de *screening* e incluso su la utilización de los analitos estudiados en cabello, como biomarcadores de exposición reciente si corresponde.

Es de gran importancia seguir con el trabajo con enfoque ecosistémico e involucrar actores políticos para lograr mejores acciones preventivas y correctivas.

Producción científica

Publicaciones científicas

- 2014- Iaquinta, Fiorella; Mañay Nelly. “El cabello como matriz para análisis de metales tóxicos”. ALDEQ N° XXIX, p. 136-140.

Presentación del proyecto en modalidad póster

- 2016- Desarrollo y optimización de metodologías para la determinación de tóxicos metálicos y semimetálicos de importancia toxicológica en cabello, en el XII Congreso Regional Latinoamericano de Toxicología Forense, San José de Costa Rica.

Presentación del proyecto en modalidad oral

- 2014- Advances in the assessment of exposure toxic metals in children from Aquiles Lanza ghetto-Montevideo, Uruguay, en The 5th Biennial Conference of International Association for Ecology & Health (Ecohealth), Ecohealth 2014, Montreal, Canadá.
- 2014- Evaluación a la exposición de metales tóxicos en el asentamiento Aquiles Lanza – Montevideo, Uruguay en el Taller de diálogo “Integración y difusión del enfoque ecosistémico utilizando como ejemplo el proyecto: “Evaluación a la exposición de metales tóxicos en el asentamiento Aquiles Lanza – Montevideo, Uruguay”.
- 2016- Desarrollo y optimización de metodologías para la determinación de tóxicos metálicos de importancia toxicológica en cabello, en el 4to Congreso Uruguayo de Química Analítica, Montevideo, Uruguay.
- 2016- Assessment Of Exposure To Toxic Metals In Children From Aquiles Lanza Ghetto-Montevideo, Uruguay, en el 4th International One Health Congress & 6th Biennial Congress of the International Association for Ecology & Health, Melbourne, Australia.

Bibliografía

- Acuña, A.; Skapino, E. (2009). “Vinculación entre infecciones parasitarias intestinales y estado nutricional en escolares de la escuela 317 (zonal 6 de Montevideo)”.
- Arroyo, R.; Luján, A. (2015). Proyecto con enfoque Ecosalud en trabajadores recicladores: una experiencia de aprendizaje para el cambio y la incidencia. Deciso Mayo-Agosto 2015, p. 45-50.
- ATSDR (1) (2007). Toxicological profile for lead <https://www.atsdr.cdc.gov/>
Fecha de acceso: Abril de 2012
- ATSDR (1999). Toxicological profile for mercury <https://www.atsdr.cdc.gov/>.
- ATSDR (2) (2007). Toxicological profile for arsenic <https://www.atsdr.cdc.gov/>
Fecha de acceso: Abril de 2012
- ATSDR (2000). Resumen de Salud Pública, Manganese <https://www.atsdr.cdc.gov/es/> Fecha de acceso: Abril de 2012.
- ATSDR (2001). Summary Report- Hair Analysis Panel Discussion: Exploring the State of Science <https://www.atsdr.cdc.gov/> Fecha de acceso: Abril de 2012.
- ATSDR (2012). Toxicological profile for manganese <https://www.atsdr.cdc.gov/> Fecha de acceso: Abril de 2012
- ATSDR (2015). Priority List of Hazardous Substances <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html> Fecha de acceso: March de 2017
- ATSDR (2016). Hoja informativa del Plomo. https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts13.html Fecha de acceso: Mayo de 2017.
- Augusto Pitta G. Cotta, T. (2003). Aspectos analíticos. En: Metais Gerenciamento da toxicidade. Editorial Atheneu, San Pablo, Brasil. Cap. 12, p.399-414

- Azevedo, F.A.; de Souza Nascimento, E.; de MattaChasin, A. A. (2003). Mercurio. En: Metais gerenciamento da toxicidade. Editorial Atheneu, San Pablo, Brasil. Cap. 11, p. 299-352.
- Baran, E. J. (1995). Química Bioinorgánica. ed. Madrid, España. Ed. Mc Graw-Hill/ Interamericana.
- Bastos Paoliello, M. M.; Mello de Capitani, E. (2003). Chumbo. En: Metaisgerenciamento da toxicidade. Editorial Atheneu, San Pablo, Brasil. Cap. 12, p. 353-398.
- Beaty, R. D.; Kerber, J. D. (1993). Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry. The Perkin-Emner Corporation, Norwalk, CT, U.S.A.
- Casarett, L. J.; Doull, J. (2005). Fundamentos de toxicología. Ed. Mc Graw-Hill e Interamericana, Santiago de Compostela, España.
- Charron, D. F. (2014). Ecosalud: orígenes y enfoque. En: La investigación de Ecosalud en la práctica. Charron, D.F. ed. Ottawa, Madrid, México D.F. Ed: Plaza y Valdez en coedición con IDRC, 2014 pg. 29-67
- Colangelo, C. H. (2013). Mercurio. En: Toxicología ambiental y ocupacional. Ed. Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.
- Copeh-LAC. Comunidad de Práctica sobre el Enfoque Ecosistémico en Salud Humana <http://www.copehlac.una.ac.cr/> Fecha de acceso: Mayo 2017.
- Cousillas, A. Z. (2013). Plomo. En: Toxicología ambiental y ocupacional. Ed. Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.
- Cousillas, A. Z., Pereira, L.; Alvarez, C., Heller, T.; De Mattos, B.; Piastra, C., Viapiana, P.; Rampoldi, O.; Mañay, N. (2008). Comparative studt of blood lead levels in uruguayan children 1994-2004. Biological Trace Elements Research, Springer vol 122, pag 19-25.
- Cousillas, A. Z.; Mañay, N.; Pereira, L.; Alvarez, C.; Coppes, Z. (2005). Evaluation of Lead Exposure in Uruguayan Children. Environmental Contamination and Toxicology, 75:629–636.

- CSDH (Commission on Social Determinants of Health) (2008). Closing the Gap in a Generation: Health Equity through Action on the Social Determinants of Health. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43943/1/9789241563703_eng.pdf
Fecha de ingreso: Febrero de 2017
- Dedina, J.; Tsalev, D. L. (1995). Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. Ed. Wiley & sons Ltd. West Sussex, Inglaterra.
- Eurachem (2014). The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second Edition.
- Fergusson, J.E. (1990). The heavy metals: chemistry, environmental impact and health effects. Pergamon Press, Oxford.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por metales. ANALES Sis San Navarra, Vol. 26, Suplemento 1, p. 141-153.
- Frederick, P.; Kenneth, B; Chien-Jen (1994). Health implications of arsenic in drinking water. Journal AWWA 86(9):52-63.
- <https://legislativo.parlamento.gub.uy/temporales/leytemp8387994.htm> Fecha de acceso: Enero de 2017
- laquinta, F.; Mañay, N. (2014). "El cabello como matriz para análisis de metales tóxicos". ALDEQ N° XXIX, p. 136-140.
- José Vaz, A.; Videira de Lima, I. (2003). Imunotoxicologia dos metais. En: Metais gerenciamento da toxicidade. Editorial Atheneu, San Pablo, Brasil. Cap. 12, p.399-414.
- Julana. (2017). <http://julana.org/>. Fecha de acceso: Enero 2017
- Jurado, J. M. (2008). Aplicación de Microsoft Excel a la Química Analítica: validación de métodos analíticos. Departamento de Química Analítica. Universidad de Sevilla, España.
- Krug, F.J., Piovezani Rocha, F.R. (2016). Métodos de Preparo de Amostras Para Análise Elemental. Sociedade Brasileira de Quimica, San Pablo, Brasil.

- Leningher, A.; Nelson, D.L.; Cox, M. M. (2001). Lehninger Principios de la Bioquímica. Traducción Cuchillo, C. M. Tercer ed. Ed. Omega, Barcelona, España.
- López Colón, J. L. (2003). Determinación de mercurio como contaminante laboral. Departamento de Inorgánica y Bioinorgánica-Facultad de Farmacia, Madrid, España.
- Mañay, N. (2). (2013). Arsénico y Cadmio. En: Toxicología ambiental y ocupacional. Ed. Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.
- Mañay, N. (2013). Generalidades sobre metales y metaloides de importancia ambiental y ocupacional. En: Toxicología ambiental y ocupacional. Ed. Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia
- Marcano, E.; Labady, M.; Gomes, C.; Aguiar, G.; Laine, J. (2009). High levels of Mercury and Lead detected by hair analysis in two Venezuelan environments. Acta Amazonica vol. 39(2) p. 315 – 318.
- Mariani, D.D.; Rodríguez, I.; Soma, V. A.; Heck, A.; Dalmaso, G. (2010) Investigación de Arsénico en cabellos de habitantes de General Pico, La Pampa. 3er Congreso Pampeano del Agua, La Pampa, Argentina.
- Mariani, D.D.; Rodríguez, I.; Soma, V. A.; Heck, A.; Dalmaso, G. (2010) Investigación de Arsénico en cabellos de habitantes de General Pico, La Pampa. 3^{er} Congreso Pampeano del Agua, La Pampa, Argentina.
- Martínez, S. A.; Cancela, L. M.; Virgolini, M. B. (2011). El estrés oxidativo como mecanismo de acción del plomo. Implicancias terapéuticas. Acta Toxicología Argentina, Vol. 19 número 2, p. 61-79
- Martins, I. (2003). Manganês. En: Metaisgerenciamento da toxicidade. Editorial Atheneu, San Pablo, Brasil. Cap. 3, p. 67-99.
- Menezes-Filho, J.A.; Paes, C.R, de Pontes, A.; Moreira J.C; Sarcinelli, P.N; Mergler, D. (2009). High levels of hair manganese in children living in the vicinity of a ferro-manganese alloy production plant. Elsevier NeuroToxicology n° 30 p. 1207–1213.

- Momoyo Sakuma, A.; Mello de Capitani, E.; Tiglia, P. (2003). Arsênio. En: Metais gerenciamento da toxicidade. Editorial Atheneu, San Pablo, Brasil. Cap. 8, p. 203-239.
- Mora A.M., van Wendel de Joode B, Mergler D, Córdoba L, Cano C, Quesada R, Smith DR, Menezes-Filho JA, Lundh T, Lindh CH, Bradman A, Eskenazi B. (2014). Blood and hair manganese concentrations in pregnant women from the infants' environmental health study (ISA) in Costa Rica. Environmental science & technology 48(6), p. 3467-76.
- Naciones Unidas (2011). Preparación de un instrumento jurídicamente vinculante a nivel mundial sobre el mercurio. http://www.unep.org/hazardoussubstances/Portals/9/Mercury/Documents/INC2/INC2_6_s.pdf Fecha de acceso: Agosto de 2015.
- Nguyen, V.; Nguyen-Viet, H.; Pham-Duc, P.; Stephen, C.; Mc Ewen, S. A. (2014). Identifying the impediments and enablers of ecohealth for a case study on health and environmental sanitation in Hà Nam, Vietnam. Infectious Diseases of Poverty 3:36.
- Nodo Familia (2015). Asentamiento Aquiles Lanza, comunicación personal.
- OPS, (2016) Género y salud. http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2680%3Agender-and-health&catid=3344%3Agender&Itemid=4017&lang=es Fecha de ingreso: Febrero de 2017
- OPS, OMS (2016). Determinantes de salud. http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5165%3A2011-determinants-health&catid=5075%3Ahealth-promotion&Itemid=3745&lang=es Fecha de ingreso: Febrero de 2017
- Ramírez, A. V. (2005). El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. Revisión Anual de la Facultad de Medicina- Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. ISSN 1025 – 5583, p. 57-70.
- Riojas-Rodriguez, H., Rodriguez-Dozal, S. (2014). Estudio ecosistémico de la extracción de manganeso en Molango (México). En: La investigación de

Ecosalud en la práctica. Charron, D.F. ed. Ottawa, Madrid, México D.F. Ed: Plaza y Valdez en coedición con IDRC, 2014 pg. 29-67

- Rojas Martini, M. (2013). Fases de la acción tóxica. En: Toxicología ambiental y ocupacional. Ed. Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.
- Salinas Madrigal, J. M.; Rosiles Martínez, R. (1995). Análisis comparativo de los niveles de plomo en cabello de trabajadores de talleres mecánicos y cabello de sus perros. Departamento de Patología- Universidad Autónoma de México. D.F, México.
- Schutz, A.; Ranstam, J.; Skerfving, S.; Tejning, S. (1984). Blood-lead levels in school children in relation to industrial emission and automobile exhausts. *Ambio* 13: 115-17.
- Skoog, D. A.; Leary, F. J.; Nieman, T. A. (2000). Análisis Instrumental. 5ta edición. Editorial Mac Graw Hill/ Interamericana, Madrid, España.
- Tokar, E. J.; Boyd, W. A.; Freedman, J. H., Waalkes, M. P. (2013). Toxic effects of metals. En: Toxicology. The Basic Science of Poisons. 8va edición. Ed. McGraw-Hill. Cap. 5, p.981-1032.
- Valdebenito, G. A. (2008). Desarrollo de un método para la determinación directa de Pb mediante Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica (ETAAS) en suspensiones de cabello y uña ("slurries") como biomarcadores de exposición. Departamento de Química Inorgánica y Analítica Laboratorio de Química Vegetal, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- Welz, B.; Sperling, M. (1999) Atomic Absorption Spectrometry. Ed Wiley-VCH, Alemania.
- WHO (2011) Biomarkers & Human Biomonitoring. Children's Health and the Environment, WHO Training Package for the Health Sector.

ANEXO 1 – Curvas de calcinación y atomización

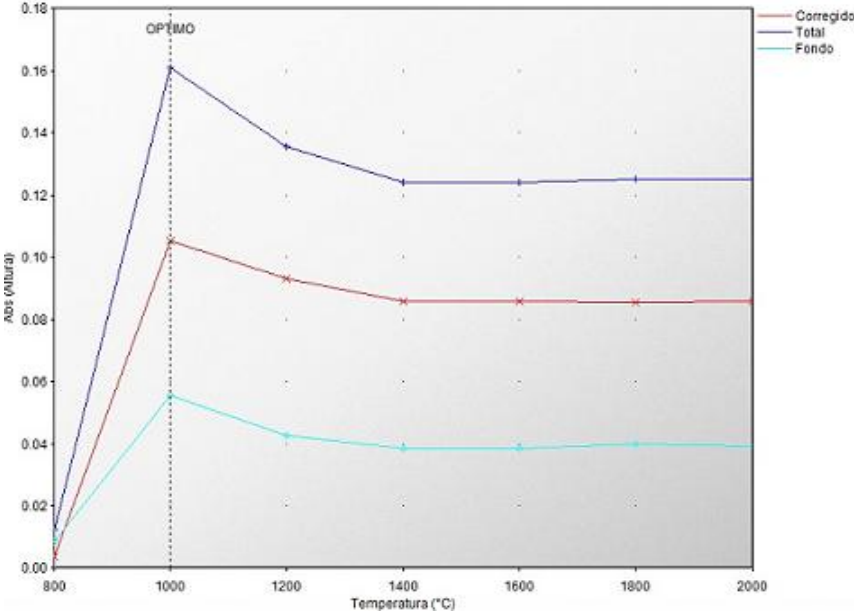


Figura 12. Curva de calcinación Pb.

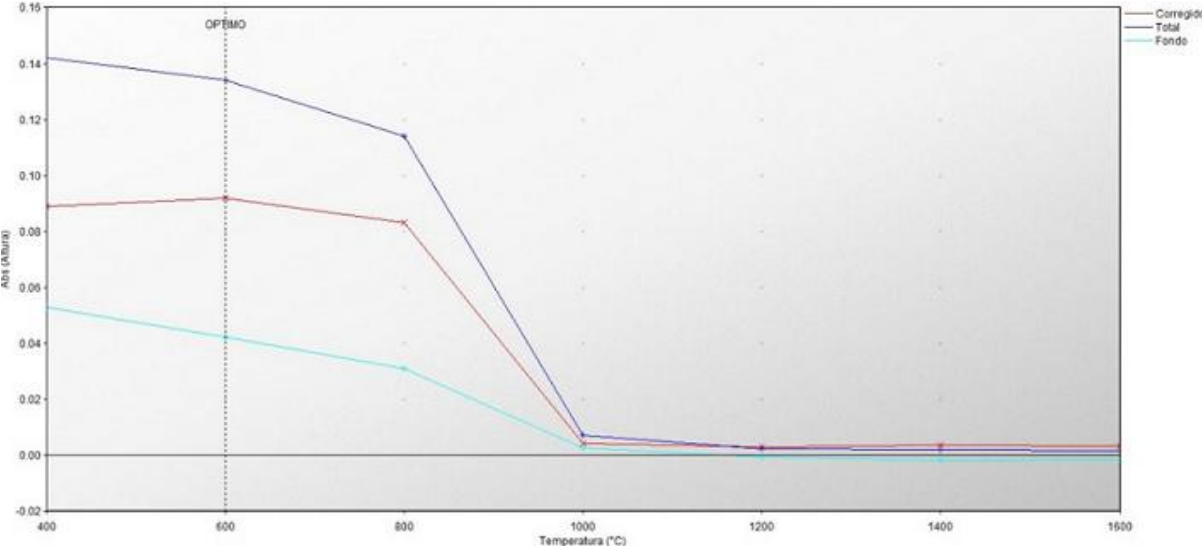


Figura 13. Curva de atomización del Pb.

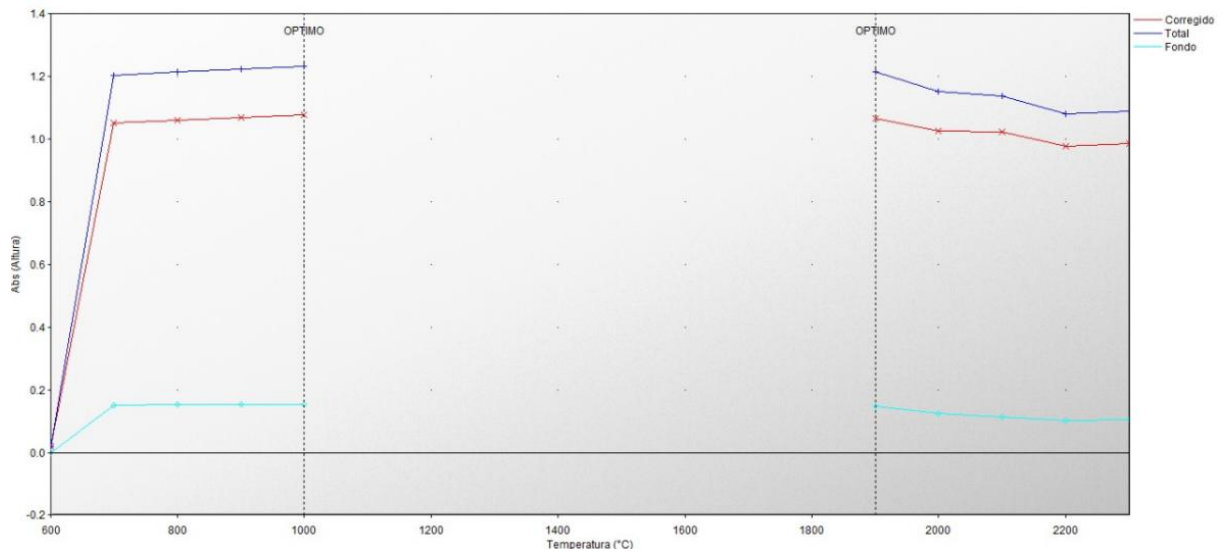


Figura 14. Curva de calcinación y atomización del Mn.

ANEXO 2 – Modelo del mejor ajuste

Para realizar este test de lack-of-fit, es necesario realizar anteriormente un test de homogeneidad de varianzas. Antes de presentar los resultados del test se muestra el estudio de homogeneidad de las mismas.

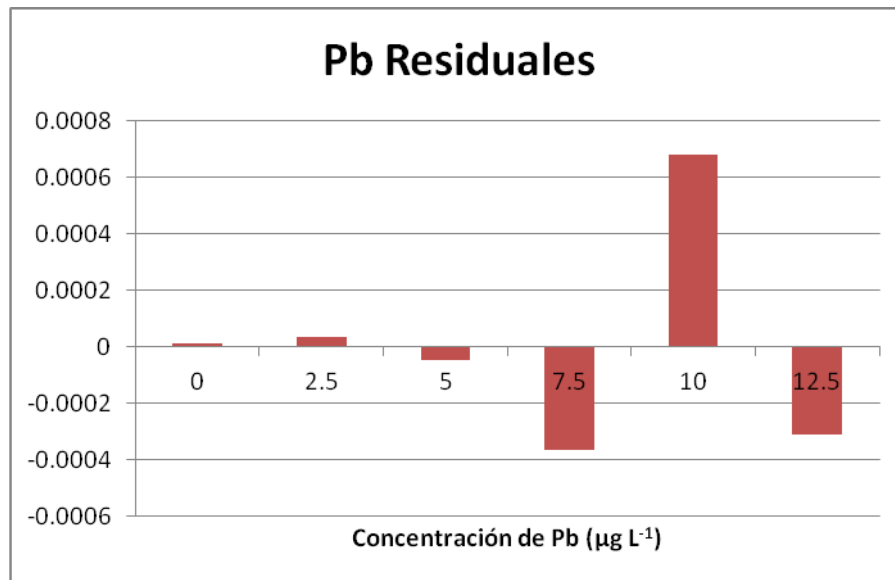


Figura 18. Residuales del Pb.

Prueba F para varianzas de dos muestras de Pb en cabello.

	Variable 1	Variable 2	
Media	0.02035667	0.01975444	
Varianza	0.00104181	0.00096398	
Observaciones	9	9	
Grados de libertad	8	8	
F	1.08073611		} Varianzas homogéneas ya que F estadístico menor a F crítico
P(F<=f) una cola	0.45762447		
Valor crítico para F (una cola)	3.43810123		

Tabla 8. LOF del Pb

U	2,571
F _{0,95(3,18)}	3,160

LOF del Pb como $U < F$, el modelo es lineal.

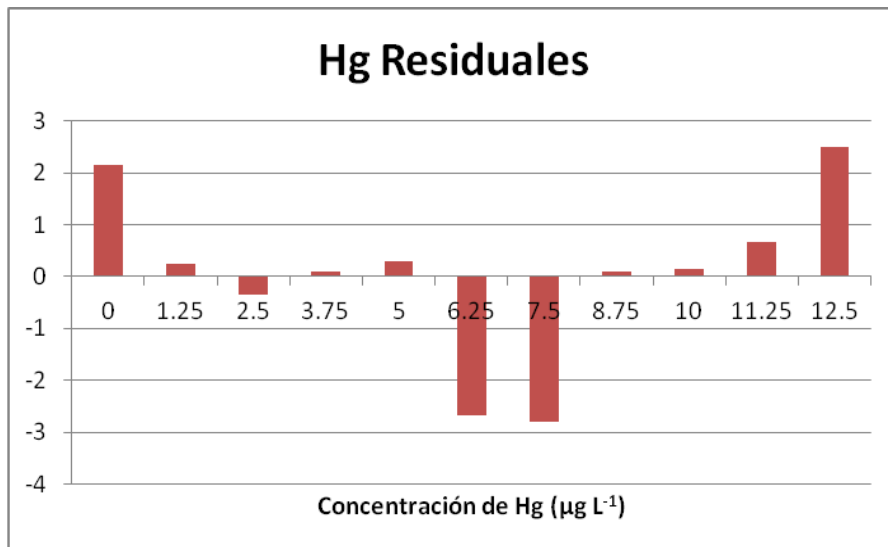


Figura 21. Residuales del Hg.

Prueba F para varianzas de dos muestras de Hg en cabello.

	Variable 1	Variable 2
Media	106.708333	85.8
Varianza	5269.57765	3779.60988
Observaciones	12	10
Grados de libertad	11	9
F	1.39421205	
P(F<=f) una cola	0.31400014	
Valor crítico para F (una cola)	3.10248541	

Varianzas homogéneas ya que F estadístico menor a F crítico

Tabla 13. LOF del Hg

U	2,333
F _{0,95(3,22)}	3,049

LOF del Hg como $U < F$, el modelo es lineal.

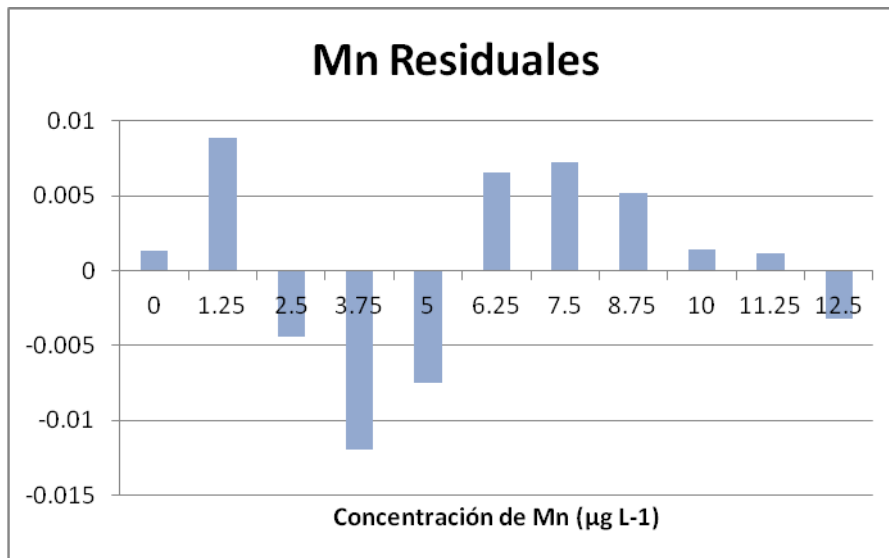


Figura 24. Residuales del Mn.

Prueba F para varianzas de dos muestras de Mn en cabello.

	Variable 1	Variable 2
Media	0.50259	0.68053182
Varianza	0.08061027	0.03119609
Observaciones	11	11
Grados de libertad	10	10
F	2.58398657	
P(F<=f) una cola	0.07514165	
Valor crítico para F (una cola)	2.97823702	

Varianzas homogéneas ya que F estadístico menor a F crítico

Tabla 15. LOF del Mn

U	2,750
F _{0,95(3,22)}	3,049

LOF del Hg como $U < F$, el modelo es cuadrático.

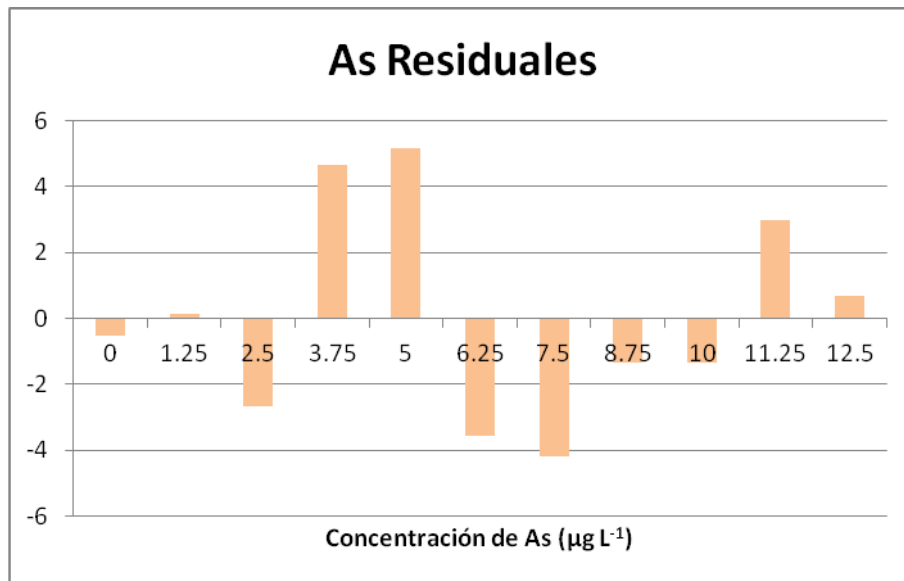


Figura 27. Residuales del As.

El análisis de homogeneidad de varianzas se encuentra en la Figura 29, ANEXO 2.

Tabla 17. LOF del As

U	2,444
F _{0,95(3,22)}	3,049

Como $U < F$, el modelo del mejor ajuste para el As, es lineal.

ANEXO 3 – Efecto matriz

Tabla 10. Estadístico de Chow, para la evaluación de efecto matriz de Pb entre distintas muestras de cabello.

e'e	e1'e1	e2'e2	k	n ₁	n ₂	F	F _{crit}
6,7E-06	1,6E-06	5,05E-06	2	9	12	1,08E-15	2,8

Figura 28. Curvas de calibración de As en cabello y en HNO₃ 0,2% v/v, utilizadas para evaluar el efecto matriz.

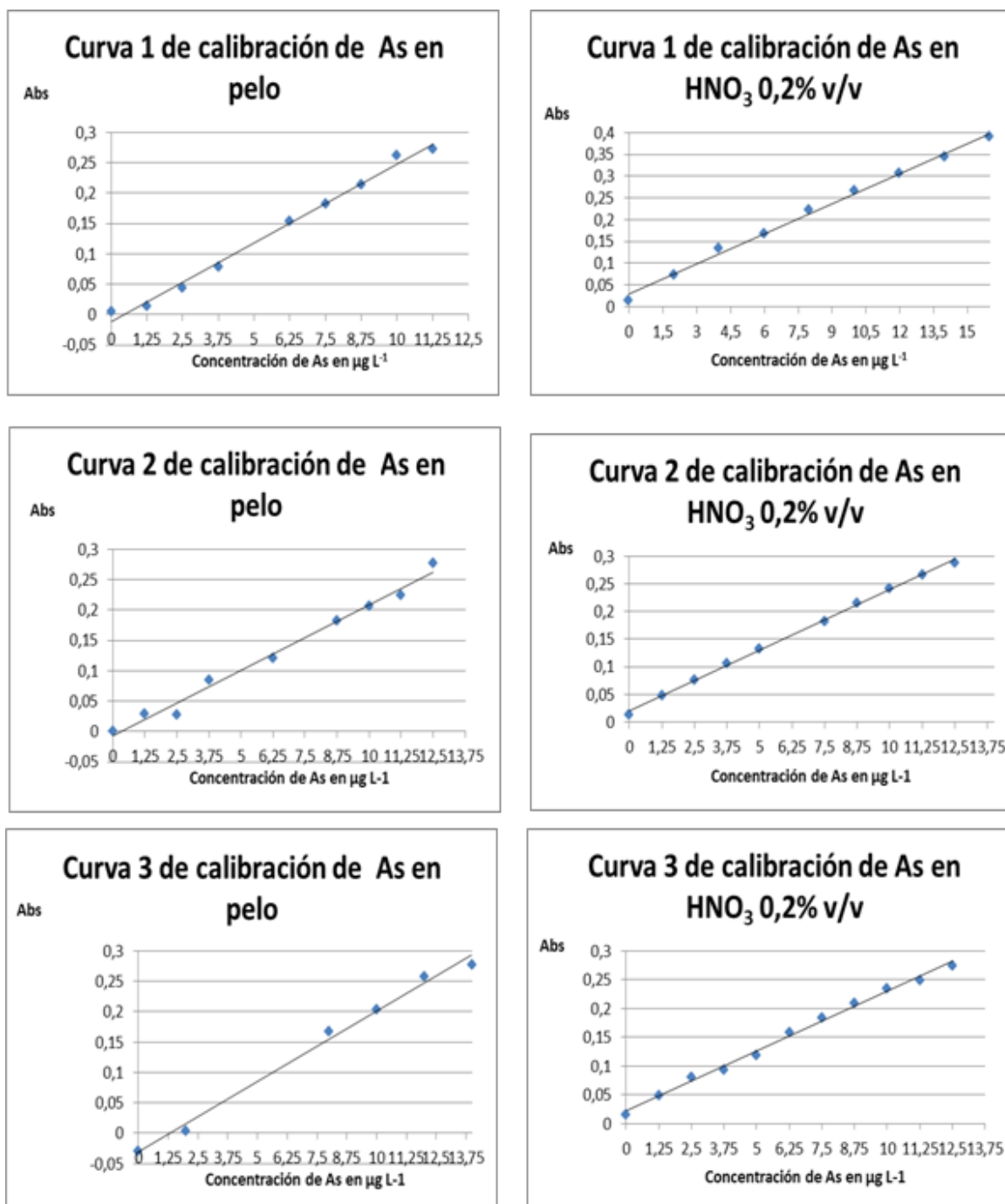


Figura 29. Prueba F para varianzas de dos muestras.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	0,02356329	0,02193778
Varianza	4,8985E-06	1,2389E-06
Observaciones	3	3
Grados de libertad	2	2
F	3,95377655	
P(F<=f) una cola	0,20186619	
Valor crítico para F (una cola)	19	

} Varianzas iguales y homogéneas ya que F estadístico menor a F crítico

Figura 30. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	0,02356329	0,02193778
Varianza	4,8985E-06	1,2389E-06
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	3,0687E-06	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1,13646784	
P(T<=t) una cola	0,1596137	
Valor crítico de t (una cola)	2,13184679	
P(T<=t) dos colas	0,31922739	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

} t estadístico menor a t crítico, las variables son iguales

ANEXO 4- Precisión intermedia

Tabla 11. Parámetros estadísticos para la determinación de precisión intermedia, primer criterio.

		s_1^2	s_2^2	F	F _{crítico}	s^2	s	t	t _{crítico}
Pb	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,68	0,85	0,80	7,15	1,38	1,18	0,19	2,78
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,34	1,15	0,30	7,15	1,68	1,29	1,89	2,78
Hg	3 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,03	0,02	1,72	4,03	0,02	0,15	7,70	2,26
	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,11	6,69	0,02	4,03	3,40	1,84	0,05	2,26
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,24	0,20	1,18	4,03	0,22	0,47	3,76	2,26
Mn	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,07	0,11	1,61	4,03	0,09	0,30	0,61	2,26
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,08	0,28	3,43	4,03	0,18	0,43	5,80	2,26
As	3 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,04	0,03	1,34	4,03	0,04	0,19	3,41	2,26
	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,13	0,11	1,23	4,03	0,12	0,34	4,36	2,45
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,47	0,35	1,35	4,03	0,41	0,64	5,69	2,26

Tabla 12. Parámetros estadísticos para la determinación de precisión intermedia, segundo criterio.

		CV %	CV% _{horwitz}
Hg	3 $\mu\text{g L}^{-1}$	16,2	38,3
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	8,3	32,5
Mn	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	13,6	32,5
As	3 $\mu\text{g L}^{-1}$	20,7	38,3
	6 $\mu\text{g L}^{-1}$	17,0	34,5
	9 $\mu\text{g L}^{-1}$	15,4	32,5

ANEXO 5- Estudio estadístico poblacional

Relación entre la cantidad de Pb en cabello y la edad,

Se utilizó el coeficiente de Pearson, con el programa Excel, Los resultados se presentan abajo, en caso de existir correlación positiva o directa, el R debe ser cercano a 1, de lo contrario, si es -1, será negativa o indirecta, En nuestro caso presenta una correlación indirecta, El R^2 establece qué tan estrecha es esa relación al multiplicarlo entre 100, en este caso, un 3% sería la relación, por lo que podemos establecer que no existe dicha relación, no influye la edad en la concentración de Pb en cabello,

R	-0,18
R^2	0,03

Relación entre la cantidad de Pb en cabello y el sexo,

Primeramente se realizó un estudio de homogeneidad de varianzas con el estadístico F, de los valores cuantificables, Una vez establecida la relación de varianzas (igual o desigual) se realizó el t estadístico independiente.

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	
Media	22,55333333	8,55333333	
Varianza	34,5449333	4,26253333	
Observaciones	3	3	
Grados de libertad	2	2	
F	8,10431981		} Varianzas iguales ya que F estadístico menor a F critico
P(F<=f) una cola	0,10983797		
Valor crítico para F (una cola)	19		

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	Variable 1	Variable 2	
Media	22,5533333	8,55333333	
Varianza	34,5449333	4,26253333	
Observaciones	3	3	
Varianza agrupada	19,4037333		
Diferencia hipotética de las medias	0		
Grados de libertad	4		
Estadístico t	3,89252147		} t estadístico mayor a t crítico, las variables son diferentes
P(T<=t) una cola	0,00882643		
Valor crítico de t (una cola)	2,13184678		
P(T<=t) dos colas	0,01765286		
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511		

Relación entre la cantidad de Pb en cabello y la práctica de quema por algún familiar.

Primeramente se realizó un estudio de homogeneidad de varianzas con el estadístico F, de los valores cuantificables, Una vez establecida la relación de varianzas (igual o desigual) se realizó el t estadístico independiente,

Prueba F para varianzas de dos muestras

	Variable 1	Variable 2	
Media	14,428	13,54	
Varianza	64,16352	207,2648	
Observaciones	5	2	
Grados de libertad	4	1	
F	0,30957268		} Varianzas desiguales ya que F estadístico mayor a F crítico
P(F<=f) una cola	0,14669993		
Valor crítico para F (una cola)	0,12972444		

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	Variable 1	Variable 2	
Media	14,428	13,54	
Varianza	64,16352	207,2648	
Observaciones	5	2	
Diferencia hipotética de las medias	0		
Grados de libertad	1		
Estadístico t	0,08228394		} t estadístico menor a t crítico, las variables son iguales
P($T \leq t$) una cola	0,47386708		
Valor crítico de t (una cola)	6,31375151		
P($T \leq t$) dos colas	0,94773417		
Valor crítico de t (dos colas)	12,7062047		

Relación entre la cantidad de Pb en cabello y la cercanía a una quema de cable,

Primeramente se realizó un estudio de homogeneidad de varianzas con el estadístico F, de los valores cuantificables, Una vez establecida la relación de varianzas (igual o desigual) se realizó el t estadístico independiente,

Prueba F para varianzas de dos muestras

	Variable 1	Variable 2	
Media	8,13	16,4333333	
Varianza	7,4498	51,3137333	
Observaciones	2	3	
Grados de libertad	1	2	
F	0,14518141		} Varianzas desiguales ya que F estadístico mayor a F crítico
P($F \leq f$) una cola	0,2601498		
Valor crítico para F (una cola)	0,00501253		

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	8,13	16,4333333
Varianza	7,4498	51,3137333
Observaciones	2	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	-1,81933754	
P(T<=t) una cola	0,08321532	
Valor crítico de t (una cola)	2,35336343	
P(T<=t) dos colas	0,16643064	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824463	

} *t* estadístico menor a *t* crítico,
las variables son iguales

ANEXO 6- Encuesta

Encuesta - Cuestionario:

Número Participante: _____

Datos del niño/a,

Nombre: _____

Apellido: _____

Sexo: _____ Edad: _____

Datos de padre/madre/tutor:

Ocupación _____ Edad: _____ Sexo: _____

¿En qué consiste su trabajo? _____

Alguien de su familia practica la quema de cable? SI/NO ¿Quién/es? _____

¿A cuánto vive de la fuente de quema? Al lado, 10 casas, 20 casas, 30 casas, más,

El niño/a ¿a qué escuela va? _____

¿Cuál es su horario? _____

¿Come en la escuela? _____

¿De dónde saca el agua que toman? _____

¿Y la que usa para cocinar? _____

Cuando el niño/a llega de jugar ¿se lava las manos? SI/NO

El niño/a ¿se hizo un estudio de plomo en sangre? SI/NO ¿Cuándo? _____

¿Quién se lo mando? _____ ¿le dieron el resultado? SI/NO

¿Le comunicaron si tiene plomo en sangre? SI/NO

¿Alguien de su familia se lo hizo? SI/NO ¿Cuándo? _____

¿Le comunicaron si tiene plomo en sangre? SI/NO

Fecha recepción muestra -----

Observaciones:

ANEXO 7: Producción científica

- Presentación en modalidad poster
- Presentación en modalidad oral
- Publicaciones científicas



21 de octubre de 2016

DRA.

Fiorella Iaquina

Facultad de Química, Universidad de la República

Uruguay

Reciba un cordial saludo de parte del Comité Organizador del XII Congreso Latinoamericano de Toxicología Forense, TIAF-2016. De la manera más cordial le indicamos que su trabajo titulado Desarrollo y optimización de metodologías para la determinación de tóxicos metálicos y semimetálicos de importancia toxicológica en cabello, autores: Iaquina, Fiorella, Alvarez, Cristina, Pizzorno, Paulina, Cousillas, Adriana, Mañay, Nelly, fue aceptado para ser presentado en modalidad de Poster.

Le indicamos que los posters deberán ser escrito en inglés y presentarse impreso durante el congreso, en alta calidad, con tamaño de letra mínimo de 24. El poster debe tener un tamaño máximo de 100 cm. de alto y 70 cm. de ancho. Adicionalmente debe enviarlo por medio de correo electrónico previo al Congreso en formato PDF o JPG antes del 1 de noviembre de 2016.

El o los autores deberán estar frente a su poster durante las sesiones del día destinadas para la visita a esta área. El Comité Científico hará una selección de posters que serán presentados oralmente en sesiones programadas.

Agradeciendo su participación en el evento, suscribe



Dr. Freddy Arias Mora.
Organizador

XII Congreso Latinoamericano de Toxicología Forense, TIAF-2016

ECOHEALTH 2014

August 11-15, 2014, Université du Québec à Montréal, Canada
Co-hosted by Cinbiose and CoPEH-Canada

The 5th Biennial Conference of the International Association for Ecology and Health

ABSTRACT BOOK

Conference detailed programme

You can consult the programme from your computer: <http://ecohealth2014.sched.org>

Or you can use your smart phone or tablet: <http://ecohealth2014.sched.org/mobile>

Connections for health ecosystems and society
Tisser des liens pour la santé, les écosystèmes et la société



ECOHEALTH
INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR ECOLOGY & HEALTH



F6.6: Advances in the assessment of exposure to toxic metals in children from Aquiles Lanza ghetto-Montevideo, Uruguay

Fiorella laquinta, University of the Republic, Uruguay; Nelly Mañay, University of the Republic; Adriana Cousillas, University of the Republic

In 2011 a study was performed on blood samples in Aquiles Lanza ghetto's children, which showed high concentrations of lead. Gurises Unidos NGO takes action to support this ghetto working with the families that live there to improve their children's quality of life. Because of this organization's concern for the results obtained in the study mentioned above, the Department of Toxicology poses a project in conjunction with the organization, based on the EcoHealth parameters. The aim of this project was to assess the exposure to lead and other metals of toxicological relevance, such as manganese, arsenic and mercury, being the first time in Uruguay that the manganese was involved in a toxicological study. The biological evaluation was made on children's hair samples, which is challenging for this kind of studies. In this paper we present the progress of this study (based on the EcoHealth parameters from its beginning) as an innovating approach to this kind of environmental health problems in Uruguay. As a part of a master's thesis, the analytical methodologies are being developed in hair matrix. We have also been in contact with Gurises Unidos which works with doctors, social workers and teachers. We are altogether preparing didactic materials to present in workshops. These workshops are organized with a multidisciplinary approach training in order to reduce metals exposure. Once we have developed the analytical methodologies and analyzed every sample we have collected, a comparative study with a control group will be done. The results obtained will be presented to the families in the workshops where we will show the differences and similarities between both populations. We will also give the families some tools in order to improve their children's quality of life.



TALLER DE DIÁLOGO - 2014

Integración y difusión del enfoque ecosistémico utilizando como ejemplo el proyecto:

**"Evaluación de la exposición a metales tóxicos en el asentamiento Aquiles Lanza-
Montevideo, Uruguay."**

Realización: jueves 6 y viernes 7 de noviembre 2014, de 14 a 18 hs.

Lugar: Facultad de Química, Sala Piriz Mc Coll

PROGRAMA

Jueves 6 de noviembre

- **14:00 – 14:15 hs Presentación del taller y organizadores**
- **14:15 - 14:45 hs Presentación de la disciplina Ecosalud**
- **14:45 – 15:45 hs Ecosalud en Uruguay**
 - Fiorella laquinta – Proyecto de trabajo en Aquiles Lanza, FQ
 - Soledad Nion - Revisión de casos a partir del enfoque de Ecosalud, FCS
- **15:45 -16:15 hs Coffee Break**
- **16:15 – 17: 45 hs. DISCUSIÓN:** ¿de qué forma este enfoque aporta a mejorar la calidad de vida del ser humano? ¿son necesarios este tipo de enfoques (ecosistémicos)? ¿existen barreras para la realización de estudios y/o programas utilizando esta forma de trabajo? ¿es un beneficio o una dificultad trabajar de esta forma?

Viernes 7 de noviembre

- **14:00 – 16:00 hs Herramientas de la Ecosalud**
 - Nelly Mañay - Laboratorio: importancia de resultados confiables, FQ
 - Graciela Castellano – Aporte de la Epidemiología al enfoque de Ecosalud, FM
 - Gabriella Feola – Gobierno, actor diligente en la Ecosalud- Caso práctico: recuperación de áreas contaminadas, IM
 - Soledad Nión - Construcción social del riesgo, FCS
- **16:00 -16:15 Hs Coffee Break**
- **16:15 – 17:00 hs. Herramientas de la Ecosalud (Continuación)**
 - Transdisciplinaridad, equidad de género y social: Julia Medel**
- **17:00 – 17:45 hs TALLER DE DIÁLOGO**, con las herramientas presentadas, y la información brindada, los participantes realizaran sus aportes en el tema.
- **17:45 cierre y agradecimientos**



Libro de resúmenes del
4º Congreso Uruguayo de Química Analítica
25 al 29 de setiembre de 2016
Montevideo – Uruguay



O TOX 01

Desarrollo y optimización de metodologías para la determinación de tóxicos metálicos de importancia toxicológica en cabello

Injuinta, Floreña; Álvarez, Cristina; Pizzorno, Paulina; Cousillas, Adriana; Mañay, Nelly

Área de Toxicología, DEC, Facultad de Química - UdelaR

El cuerpo humano tiene cantidades muy pequeñas de la mayoría de los elementos. Muchos de ellos son esenciales para la vida, pero otros, que se suponían exclusivamente tóxicos, se han encontrado necesarios y en algunos casos fundamentales para funciones fisiológicas [1].

Los metales generalmente no sufren metabolizaciones, por lo que su concentración en sangre, orina o cabello constituye un biomarcador válido de exposición presente o pasada.

La ATSDR especifica que el análisis del cabello puede ser útil [2]:

- Desde la perspectiva de la exposición, el análisis del cabello sirve para identificar o simplemente confirmar la exposición.
- De acuerdo con la ciencia actual, la utilidad principal de análisis del cabello es una medida de la exposición histórica. El enfoque de la investigación tiene que estar en la búsqueda de datos que establecen relaciones dosis-respuesta.
- Desde una perspectiva clínica, el cabello contiene una concentración de la sustancia que se correlaciona con los órganos del cuerpo, tejidos o fluidos; las correlaciones existen y son predictivas desde un punto de vista clínico y / o forense.

Los objetivos de este trabajo fueron:

- Evaluar metodologías disponibles para el análisis de tóxicos metálicos, específicamente plomo, mercurio, arsénico y manganeso, en cabello de acuerdo bibliografía de referencia.
- Poner a punto una metodología de muestreo y tratamiento de muestras para análisis de los metales seleccionados en cabello.
- Optimizar las condiciones analíticas para medir niveles de tóxicos metálicos en cabello.

Se estudió el arsénico, mercurio y plomo, dada su conocida toxicidad, y problemas de salud ocasionados por la exposición a los mismos. Pero además, se estudió el manganeso debido a la escasez de estudios poblacionales que existen en el país, en relación a este metal por tratarse de un oligoelemento esencial para la salud, pero sin considerar que la exposición ambiental en exceso del mismo, afecta el sector del cerebro que ayuda a controlar los movimientos del cuerpo, afectando las funciones motoras [3].

Para optimizar las condiciones de tratamiento de muestra se utilizó cabello proporcionado por adultos voluntarios sanos, no expuestos ocupacionalmente.

La digestión de las muestras se realizó en horno microondas y la determinación de la concentración se realizó por espectroscopia de absorción atómica (AAS).

Se desarrolló un protocolo de lavado de la muestra, utilizando Tritón, HNO_3 y ultrasonido, y un protocolo de lavado con HNO_3 de los tubos a utilizar en la digestión.

Se optimizaron las metodologías de cuantificación de los cuatro metales en estudio. El comportamiento del plomo, arsénico y mercurio es lineal, mientras que el del manganeso es de forma cuadrática.



One Health EcoHealth 2016

3–7 December 2016 • Melbourne, Australia

The 4th International One Health Congress & 6th Biennial Congress of the International Association for Ecology and Health



216

Assessment Of Exposure To Toxic Metals In Children From Aquiles Lanza Ghetto- montevideo, Uruguay.

Fiorella Iaquina¹

Nelly Mañay¹, Adriana Cousillas¹, Cristina Alvarez¹

¹Toxicology Department, Universidad de la República, Facultad de Química

Recently a children's health survey showed blood lead levels of concern in Aquiles Lanza's ghetto. The families were not well advised about this environmental problem and they were worried about their children. These families showed their concern to an NGO, Gurises Unidos that takes care of this ghetto working with the families living there, by taking actions to improve their children's quality of life. Owing to this children's lead health risks issues, families' demanded urgent solutions, so the Toxicology Area of Chemistry Faculty, proposed a joint project with the NGO, based on EcoHealth pillars. This project's aims were to assess lead and other toxic metals exposure, such as manganese, arsenic and mercury in children's hair samples and their possible correlations with health, social and environmental status. Physicians, social workers, teachers, biologists, chemical toxicologists and a biochemist integrated the research team. This team prepared didactic materials to present in several workshops with this community in order to inform and prevent toxic metals exposure. In the meantime, hair samples and individual interviews were taken and laboratory analysis were carry out afterwards. We present the analytical results and statistical processing data with our conclusions and learnings to continue working on Ecohealth approach within these environmental health problems in Uruguay.

EL CABELLO COMO MATRIZ PARA ANÁLISIS DE METALES TÓXICOS

Iaquinta, Fiorella; Mañay, Nelly

CEQUIMTOX - Cátedra de Toxicología e Higiene Ambiental,
Facultad de Química - UdelaR, Uruguay
e-mail: fiorellaiaquinta@gmail.com

Resumen

Es sabido de la importancia de los metales a nivel toxicológico, debido a los efectos nocivos que causan en el organismo humano. Es por ello que es necesaria su evaluación, para poder llevar a cabo un control y un seguimiento de la exposición ambiental u ocupacional. Este control se puede realizar analizando los metales absorbidos en varias matrices biológicas, entre las cuales se destacan la sangre y la orina que son las más utilizadas. Actualmente en muchos países se utiliza el cabello como matriz biológica para el estudio de la exposición a tóxicos. Esta matriz tiene una serie de ventajas con respecto a las otras dos, entre las cuales se destaca la sencillez de la toma de muestra y el beneficio de que sea una matriz que nos permite evaluar la exposición presente y pasada. El objetivo de esta revisión es demostrar que el cabello debe ser tenido en cuenta para la evaluación a la exposición de metales tóxicos, y que en ciertos estudios puede ser mejor su uso como muestra biológica, en comparación con las tradicionales.

Abstract

In toxicology it is well known the importance of the metals because of their effects on the organism. For this reason the evaluation of these metals is necessary, in order to control and follow up the exposure. This control is commonly done analyzing metals levels in blood and urine as the main used biological samples. Nowadays, in many countries the hair is used as a biological sample to perform the evaluation to toxicological chemicals. The use of the hair as biological sample has many advantages on the other ones. The most remarkable advantages are the simplicity of the sampling and the benefit to evaluate the present and the past exposure. The aim of this review is to demonstrate that in the exposure assessment to toxicological metals the hair is a biologic sample to take into account and as a point of fact, in some cases the use this sample can be better than the traditional ones.

Los metales y el ser humano

El cuerpo humano necesita, e incorpora cantidades muy pequeñas de la mayoría de los elementos presentes en la naturaleza. Muchos de ellos son esenciales para la vida y se conocen bien sus funciones en los ciclos biológicos, mientras que otros se ha demostrado que son necesarios en determinadas funciones fisiológicas y en algunos casos son esenciales para la vida en cantidades "traza" mientras que pueden resultar tóxicos en concentraciones mayores (López Colón, 2003).

Dentro de los elementos esenciales una gran proporción son metálicos donde encontramos el Fe, Mn, Ni, Zn, Co, Cu, Mg, Ca, K, entre otros. Algunos de estos elementos como el Mg, K y Na, son necesarios en grandes cantidades para llevar a cabo las funciones biológicas. Sin embargo otros como el Mn, Ni, Zn, son elementos traza u oligoelementos, es decir que son esenciales pero en bajas cantidades, por lo que si estos elementos se absorben en mayor cantidad que la necesaria, pueden producir efectos tóxicos. Un ejemplo como el manganeso (Mn), es un elemento necesario para el funcionamiento de algunas enzimas, pero la intoxicación por el mismo afecta el sector del cerebro que ayuda a controlar los movimientos del cuerpo, alterando las funciones motoras (ATSDR, 2000).

En cambio, aquellos que no cumplen ninguna función biológica reconocida, generalmente van a producir efectos adversos a la salud, como por ejemplo, el plomo, el cadmio y el mercurio que son categorizados como tóxicos (Selinus O, 2004).

Un ejemplo es el manganeso (Mn), que es un elemento necesario para el funcionamiento de algunas enzimas, pero la intoxicación por el mismo afecta el sector del cerebro que ayuda a controlar los movimientos del cuerpo, afectando las funciones motoras (ATSDR, 2000).

Dentro de los elementos metálicos tóxicos encontramos el Pb, Hg y As, que cuando ingresan al organismo, intervienen en ciertos procesos biológicos, provocando efectos nocivos para la salud del individuo expuesto. Por ejemplo el plomo (Pb) produce efectos neurológicos, gastrointestinales y hematológicos donde se une a la hemoglobina, afectando su síntesis, también inhibe enzimas y produce cambios severos, pudiendo causar la muerte a altas concentraciones. Algunos de los síntomas adversos de la exposición al mercurio (Hg) son: gusto metálico, irritabilidad, náuseas, temblores en las manos, cefaleas, visión borrosa, encefalopatías. Puede provocar insuficiencia renal y pulmonar, hasta la propia muerte (López Colón, 2003). En cuanto a los efectos del arsénico (As) se ha observado la inhibición de la respiración celular, alteraciones en la expresión génica de proteínas e inactivación de las mismas y de varias enzimas. También se ha descrito al arsénico como co-cancerígeno, pudiendo afectar la expresión de genes que controlan la proliferación celular (Iaquinta, 2012).

Actualmente la exposición a los metales tóxicos se da directamente en la población expuesta laboralmente, por ejemplo en las fábricas de baterías, los trabajadores están expuestos al plomo, plomo con riesgos de intoxicación crónica de no mediar un correcto control y prevención. En los procesos de electrólisis se los encuentra expuestos al mercurio, entre otros. Así mismo las personas que laboralmente no están involucradas con estos tóxicos, se encuentran expuestas a los mismos, por medio del agua, alimentos y el ambiente, gracias a la actividad antropogénica y los ciclos hidrogeológicos (Ferrer, 2003).

La vía de ingreso es importante en la determinación de la toxicidad de un elemento. Las principales vías por las que un elemento puede ingresar al organismo son: la inhalatoria, la dérmica, la digestiva, la hemodiálisis, la intravenosa, las prótesis metálicas, la transferencia placentaria y la leche materna (López Colón, 2003). Las vías dérmica y digestiva favorecen la absorción del As y Pb. Por su parte Hg en su forma metálica es un elemento volátil, y la vía inhalatoria es la de mayor importancia.

Monitoreo y Biomarcadores

El monitoreo biológico mide la cantidad de analito de interés absorbido por el organismo, en este caso los metales, independientemente de su vía de ingreso. Para poder realizar este proceso, se debe tener en cuenta el analito de interés, el método de análisis, la estrategia de medición y la interpretación de los resultados (Ramírez, 2006).

El analito debe estar presente en algún tipo de tejido o fluido y debe ser cuantificable. El método de análisis debe ser validado y de uso práctico. La estrategia de evaluación y medición, se refiere a la toma de muestra, la misma debe ser representativa y tomada en correctas condiciones. Para esto se requiere se realice un protocolo de toma de muestra y métodos de procesamiento y análisis químico. En cuanto a la interpretación de los resultados, los mismos deben ser capaces de ser estadísticamente representativos.

Los biomarcadores son los analitos de interés, sustancias químicas o metabolitos, que al determinar su concentración nos permiten evaluar la exposición. Los metales generalmente, no sufren metabolizaciones, por lo que su concentración en sangre, orina o cabello constituye un indicador muy válido de exposición presente o pasada y de evolución. Por lo tanto, la mayoría de los biomarcadores de exposición para estos tóxicos metálicos son los propios metales tóxicos analizados en las muestras biológicas donde están presentes (Paustenbach, 2006)

Si bien las técnicas de detección y cuantificación de una gran variedad de metales tóxicos, ya están bien desarrolladas, y ampliamente utilizadas, cada laboratorio analítico debe desarrollar y optimizar

las metodologías analíticas de acuerdo a las condiciones de trabajo de su laboratorio y la disponibilidad de equipamiento adecuado.

Las técnicas de detección y cuantificación de metales, requieren rigurosos procedimientos analíticos y estrictos protocolos de muestreo, tratamiento de muestra y medida. En cuanto a la extracción del metal de la matriz biológica, son necesarios tratamientos agresivos con ácidos o complejantes, de acuerdo al metal que se determine y obtener una recuperación adecuada. La cuantificación requiere además de materiales de referencia disponibles para la verificación (Leermarkers, 2005).

La relevancia del desarrollo de estas metodologías analíticas a nivel toxicológico está dada porque, el cuerpo humano puede absorber e incorporar a la mayoría de los elementos químicos. Los tóxicos metálicos permanecen en el organismo antes de su eliminación durante un largo tiempo, por lo que:

- Suelen admitir un control biológico.
- La concentración del metal en sangre suele constituir un parámetro bien correlacionado con la exposición total al metal.
- La concentración del metal en orina y en el cabello suele indicar la carga corporal, producto de las exposiciones a lo largo del tiempo.

El cabello como matriz

El cabello es un producto final metabólico que incorpora metales en su estructura a medida que se da su crecimiento. Es por esto que esta matriz tiene relevancia a la hora de hacer una evaluación de metales tóxicos. De hecho, los resultados obtenidos se utilizan como monitoreo biológico, en el impacto de la contaminación de comunidades de estudio (Rivai, 2001).

El análisis en cabello es una herramienta de identificación de exposición y también es una herramienta clínica.

La ATSDR 2001 especifica en que el análisis del cabello puede ser útil en los siguientes aspectos:

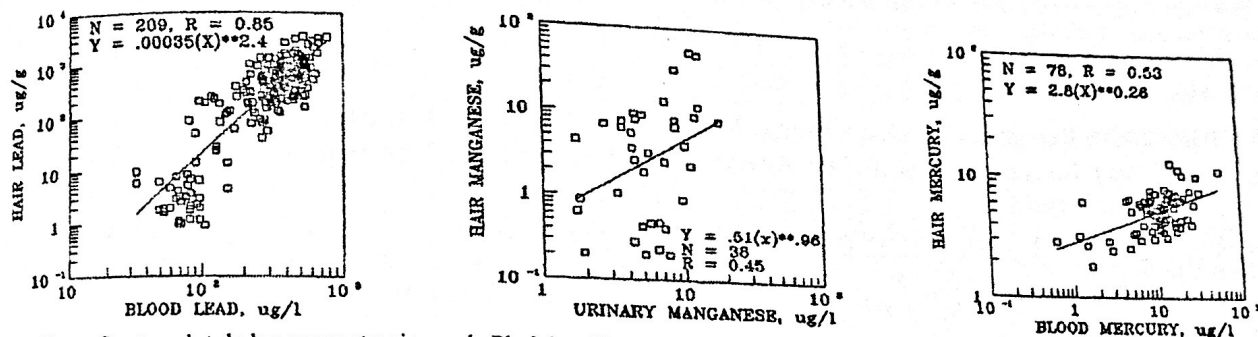
- Desde la perspectiva de la exposición, el análisis del cabello sirve para identificar o simplemente confirmar la exposición. De todas formas es difícil distinguir entre la contaminación interna y externa. Se recomienda que para utilizar los datos se asegure un correcto tratamiento previo de la muestra. Para utilizar los datos obtenidos como herramienta clínica se sugieren otros tipos de análisis, no solamente de cabello.
- De acuerdo al conocimiento actual, la utilidad principal de análisis del pelo es como una medida de la exposición histórica. El enfoque de la investigación tiene que estar en la búsqueda de datos para establecer relaciones dosis-respuesta.
- Desde una perspectiva clínica, las siguientes condiciones deberían cumplirse para que el análisis de cabellos sea visto como un medio fiable para medir una sustancia en particular:
 - el cabello contiene una concentración de la sustancia que se correlaciona con los órganos del cuerpo, tejidos o fluidos
 - las correlaciones existen y son predictivas desde un punto de vista clínico y / o forenses
 - el cabello se puede utilizar de forma fiable en los individuos de la muestra, grupos y / o poblaciones para medir la sustancia.
- Debido al crecimiento del cabello en general y los patrones de corte, puede no resultar de utilidad para las exposiciones muy recientes o anteriores a un año.
- Dependiendo de la prueba o elemento objeto de estudio, un resultado negativo puede ayudar a descartar una exposición y cualquier problema potencial.

Antes de considerar el análisis del cabello, debe tenerse en cuenta si existen laboratorios disponibles que proporcionen servicios rentables y resultados fiables.

Algunos autores han planteado que en la evaluación del riesgo ambiental de exposición a metales tóxicos, la matriz de preferencia es el cabello, ya que puede proporcionar una estimación de exposición a largo plazo para la población en general, en comparación con los niveles de sangre (Foo, 1993; Paustenbach, 2006).

A nivel internacional, el cabello es una matriz ampliamente utilizada, y de preferencia para algunos autores ya que es una muestra biológica que se obtiene de forma no invasiva, inerte y sencilla (Mehra, 2004). Asimismo es una muestra que no requiere de un mantenimiento particular, sino que se puede analizar luego de un periodo considerable de tiempo, una vez obtenida la muestra ya que sufre una degradación muy lenta. Otra de las ventajas de trabajar con esta muestra en toxicología de los metales, es que su concentración en cabello resulta mayor a la que presenta en el resto de los tejidos (Rivai, 2001).

Existen varios estudios que demuestran la correlación entre el cabello, la sangre y la orina, concluyendo que el uso del cabello puede ser comparable al de las restantes muestras biológicas. A modo de ejemplo el trabajo de Foo et. al (Foo, 1993), que estudia la correlación entre el Hg y el Pb en sangre y el de cabello, así como la correlación entre el Mn urinario y el del cabello. En los tres metales se obtuvo una correlación entre las dos muestras biológicas utilizadas.



Gráficos. Scatter plot de las concentraciones de Pb, Mn y Hg, respectivamente en las distintas muestras biológicas (sangre y orina) y las concentraciones obtenidas en cabello. Resultados obtenidos del estudio de Foo et al (Foo, 1993).

De acuerdo a lo anterior, la matriz cabello es de utilidad para el monitoreo de metales tóxicos, ya que existen varios estudios que avalan la correlación de los metales en otras muestras. Por otra parte la utilización de esta matriz permite trabajar de una forma más cómoda, ya que tiene beneficios tanto para el individuo en estudio como para el laboratorio. Es una muestra no invasiva, que no requiere de un mantenimiento estricto y que gracias a su gran concentración de analitos permite que desde el punto de vista analítico sea más sencilla su detección.

Por último, otro gran beneficio es que esta matriz es la que permite tener una idea del progreso de la toxicidad ya que es una muestra que puede representar no solo la exposición al presente sino que al pasado.

No obstante, las dificultades analíticas que presenta esta matriz biológica, así como la incertidumbre de la utilización de los niveles de metales en cabello con fines de diagnóstico y evolución terapéutica continúan siendo temas de discusión y controversias en la comunidad científica internacional. En general, aunque el análisis del cabello presenta varias ventajas potenciales sobre otras técnicas de muestreo biológico, se han puesto de manifiesto las limitaciones asociadas con el análisis químico toxicológico en el pelo. Por ejemplo, existen muchas limitaciones en cuanto a la toma de muestras y análisis en especial porque no se han establecido los procedimientos protocolizados en forma estándar para indicar el lugar de corte o el largo del cabello, la influencia de las técnicas de lavado y descontaminación así como la técnicas de análisis químico más adecuadas para determinados elementos tóxicos en las muestras de cabello. Sin embargo, el análisis del cabello se ha realizado para un número

limitado de sustancias de riesgo ambiental, principalmente metales y ha sido muy difundido para evaluar la exposición a compuestos organo-metálicos como el metil-mercurio metilo (ATSDR, 2003).

Debido a los escasos conocimientos sobre la cinética de transferencia de contaminantes en el cabello, no se ha logrado desarrollar modelos que permitan utilizar un resultado de análisis de cabello para predecir las concentraciones de contaminantes en otros medios biológicos como la sangre por ejemplo. Por lo tanto, según ATSDR, 2003 no se recomienda la utilización del análisis de cabello para estimar una carga corporal o dosis interna como dato significativo para una evaluación o diagnóstico de estado de salud (ATSDR, 2003).

En suma, las autoras han puesto en consideración diversos elementos de juicio sobre la utilización del cabello como muestra biológica alternativa para monitoreo biológico de metales tóxicos, en vista de que varios estudios han demostrado sus ventajas comparativas con respecto a las muestras tradicionales de sangre y orina. De acuerdo a los estudios más recientes revisados y a la luz del conocimiento actual, el uso de análisis de cabello destinado a caracterizar la exposición a metales en poblaciones expuestas representa un área de investigación y desarrollo en química analítica y toxicología muy necesaria, para avanzar en su aplicación práctica, con fines de prevención y diagnóstico en salud ambiental u ocupacional.

Bibliografía

- ATSDR (2000) Resumen de Salud Pública, Manganeso <http://www.atsdr.cdc.gov/es>
- ATSDR(2001) Summary Report-Hair Analysis Panel Discussion:Exploring the State of Science <http://www.atsdr.cdc.gov>
- TSDR (2003) http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/hair_analysis/03-0330HairSampleTesting-Scientific.pdf
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por metales. ANALES Sis San Navarra, Vol. 26, Suplemento 1, p. 141-153.
- Foo, S.C., Khoo, N.Y., Heng, A., Chua, L.H., Chia, S. E., Ong, C.N., Ngim, C.H., Jeyaratnam, J. (1993). Metals in hair as biological indices for exposure. Internatioanl Archives of Occupational and Environmental Health n°65 p. S83-S86.
- Iaquinta, F., Alvarez, C., Pistón, M., Gómez, E., Mañay, N. (2012). Evaluación de niveles de referencia de arsénico en orina de población adulta no expuesta ocupacionalmente. Estudio Preliminar. ALDEQ n° XXVII, p. 230-235.
- Leermakers, M.; Baeyens, W.; Quevauviller, P.; Horvat, M. (2005). Mercury in environmental samples: Speciation, artifacts and validation. Trends in analytical chemistry, Vol. 24, No. 5.
- López Colón, J. L. (2003). Determinación de mercurio como contaminante laboral. Departamento de Inorgánica y Bioinorgánica-Facultad de Farmacia, Madrid, España.
- Mehra, R., Juneja, M. (2004). Biological monitoring of lead and cadmium in human hair and nail and their correlations with biopsy materials, age and exposure. Indian Journal of Biochemistry & Biophysics. Vol. 41 p. 53-56.
- Paustenbach, D., Galbraith, D. Biomonitoring and Biomarkers: Exposure Assessment Will Never Be the Same. Environ Health Perspect 114:1143-1149 (2006)
- Ramírez, A. (2006). Biomarcadores en monitoreo de exposición a metales pesados en metalurgia. An Fac Med Lima 2006; 67(1) p.49-58
- Rivai, I.F. (2001). Heavy Metals in Human Hair Related to Age Groups and Automotive Pollution Levels of Bandarlampung City, Indonesia. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. n° 66, p.443-448
- Selinus O, (2004) Medical Geology: An Emerging Specialty. TERRÆ. 1(1):8-15.