

University of Nebraska - Lincoln

DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln

Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas

Parasitology, Harold W. Manter Laboratory of

2013

Determinación del efecto teratogénico en el desarrollo del tejido óseo en *Rattus norvegicus* cepa Wistar, inducido por la presencia de Arsénico a concentraciones encontradas en aguas de Zimapán, Hidalgo, México

Mireya Quiterio-Pérez

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Juan Carlos Gaytán-Oyarzún

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Scott Monks

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, monks.scott@gmail.com

Alberto José Gordillo-Martínez

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Francisco Prieto-García

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Follow this and additional works at: <https://digitalcommons.unl.edu/hidalgo>



Part of the [Toxicology Commons](#), and the [Zoology Commons](#)

Quiterio-Pérez, Mireya; Gaytán-Oyarzún, Juan Carlos; Monks, Scott; Gordillo-Martínez, Alberto José; and Prieto-García, Francisco, "Determinación del efecto teratogénico en el desarrollo del tejido óseo en *Rattus norvegicus* cepa Wistar, inducido por la presencia de Arsénico a concentraciones encontradas en aguas de Zimapán, Hidalgo, México" (2013). *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*. 14. <https://digitalcommons.unl.edu/hidalgo/14>

This Book Chapter is brought to you for free and open access by the Parasitology, Harold W. Manter Laboratory of at DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln. It has been accepted for inclusion in Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas by an authorized administrator of DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln.

Determinación del efecto teratogénico en el desarrollo del tejido óseo en *Rattus norvegicus* cepa Wistar, inducido por la presencia de Arsénico a concentraciones encontradas en aguas de Zimapán, Hidalgo, México

Mireya Quiterio-Pérez, Juan Carlos Gaytán-Oyarzún, Scott Monks, Alberto José Gordillo-Martínez, y Francisco Prieto-García

Resumen

En el presente trabajo se evaluaron los posibles efectos teratogénicos del Arsénico (As) de las mismas concentraciones registradas en aguas de Zimapán, Hidalgo, empleando ejemplares de *Rattus norvegicus* de la cepa Wistar, preñadas. Las cuales se sometieron a diferentes concentraciones de Arsenato de Sodio (1887.91 mg/l, 943.95 mg/l y 0.5 mg/l), la concentración 0.5 mg/l corresponde a la registrada en agua de Zimapán, Hidalgo, así como Trióxido de Cromo (166.0 mg/l) utilizado como control positivo y Sacarosa al 5% como un control negativo. Los ejemplares se expusieron del día 7º al 15º de gestación, y se sacrificaron el día 19º de gestación por inhalación de cloroformo. Se analizó el daño reproductor en la madre, así como alteraciones y falta de osificación del tejido óseo del feto. La dosis más alta probada (1887.91 mg/l), produjo mayor daño reproductor en madre, ocasionado por las reabsorciones que impedían la continuación del desarrollo embrionario. Las concentraciones de 0.5 mg/l hasta 943.95 mg/l, produjeron falta de osificación en costillas, esternones, metacarpos, falanges anteriores, metatarsos, falanges posteriores y vértebras sacras.

Palabras clave: Arsenato de sodio, teratogéno, daño reproductor, falta de osificación

Introducción

La contaminación de las aguas naturales, tanto por contaminantes químicos (policlorobifenilos (PCB), metales pesados, dioxinas, agroquímicos, etc.) como por biológicos, es un problema a nivel mundial. Realmente, son pocas las áreas pobladas, en países desarrollados y subdesarrollados, que no estén sujetas a la contaminación (Baird, 2001).

La acumulación de los metales pesados en el ambiente y en los sistemas biológicos, bien sea por adsorción, precipitación u otras formas de asociación natural, incluida la bioacumulación, constituyen un modo de minimizar su transporte y propagación.

No obstante, esto puede acarrear consecuencias negativas para el entorno ecológico, debido al proceso de lixiviación de especies químicas en cantidades significativamente elevadas, son accesibles a los sistemas acuáticos. Por consecuencia pueden incorporarse al hombre por la ingestión de agua y/o a través de las cadenas alimenticias (Lechuga-Vargas *et al.*, 2003).

El Arsénico (As) no es un metal, sin embargo tiene propiedades de los metales pesados, su efecto tóxico es similar al del Mercurio (Hg) y el Plomo (Pb). Las formas As (III) o arsenitos, son de las más tóxicas (Patnaik, 1992). El As se encuentra altamente distribuido en la naturaleza y está presente en muchas ac-

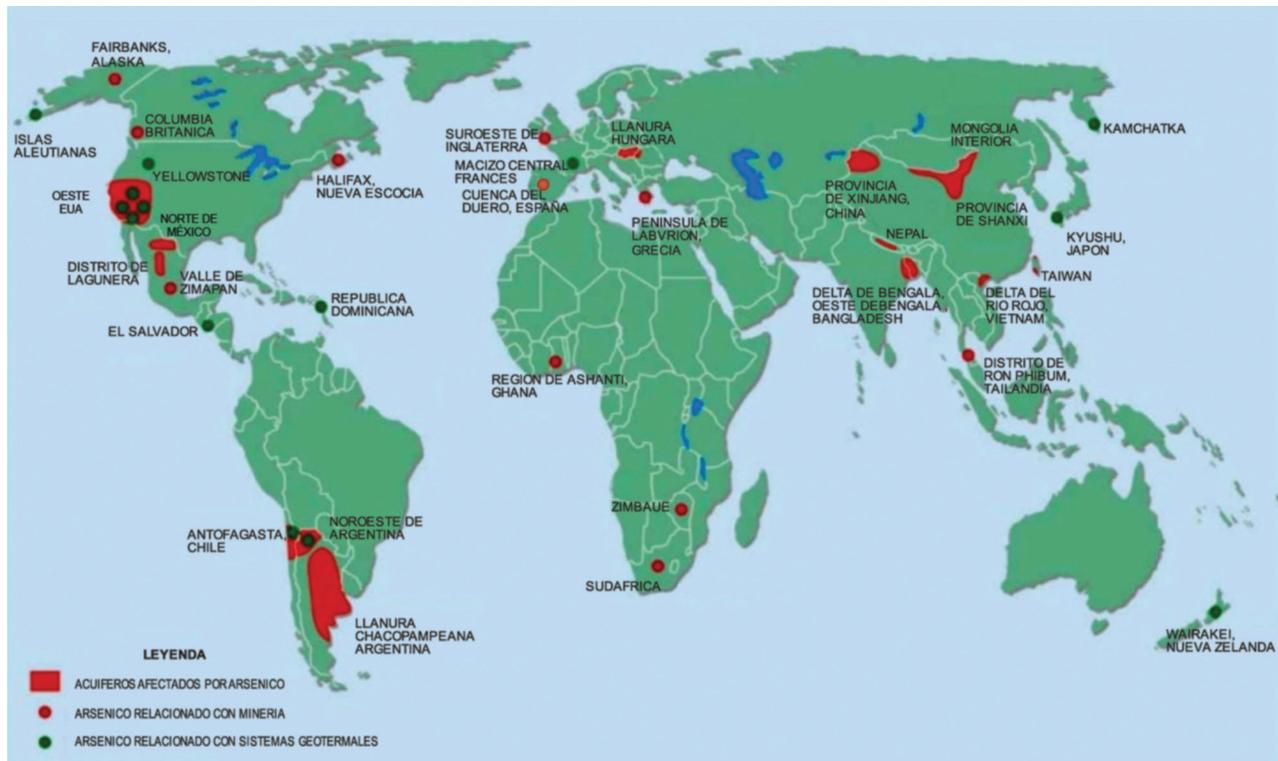


Figura 1. Distribución mundial de mantos acuíferos con altos contenidos en As (Lillo, 2005).

tividades laborales. Con el crecimiento de las actividades industriales, las fuentes de contaminación del medio con éste elemento y otros metales pesados se han incrementado significativamente (Lippmann, 1992). El lixiviado de minas, jales de oro y de otros minerales abandonadas en décadas y siglos anteriores, son una fuente significativa de contaminación por As en sistemas acuíferos subterráneos, como es el caso del Estado de Hidalgo, que tiene una larga tradición de actividad minera (Baird, 2001).

El As encontrado en los océanos presenta valores muy bajos, próximos a 0.001 mg/l - 0.008 mg/l. En los ríos su concentración es muy variable y se ha identificado desde 0.1 mg/l hasta 1 mg/l (Galvao y Corey, 1987), el contenido medio de As en el agua de bebida es aproximadamente de 2.4 mg/l. El As en el agua, se encuentra comúnmente como el ácido de As (V), H_3AsO_4 o en sus formas desprotonadas, el cual, es una de sus formas menos tóxicas (Baird, 2001). También, se encuentra el As en forma de As (V) (como H_2AsO_4 y $[HAsO_4]^{*2}$) de carácter menos tóxicos que el As (III) (Pérez-Moreno *et al.*, 2003).

Se ha documentado que la ingesta de As en pequeñas cantidades por tiempos prolongados provoca malformaciones a nivel de médula ósea y se almacena en placenta y tejido óseo. Además se ha

asociado a diversos procesos carcinogénicos y teratogénicos en varios bioensayos (Ramos-Morales y Rodríguez-Arnaiz, 1995). En algunas regiones se ha identificado el hidroarsenismo crónico regional endémico, reportado a concentraciones de 0.21 mg/l hasta 12.6 mg/l. Concentraciones suficientes para provocar a largo plazo intoxicaciones en la población humana (Galvao y Corey, 1987).

Se han identificado un gran número de zonas naturales con aguas subterráneas, las cuales presentan contenidos de As superiores a 50 $\mu g/l$ en distintos lugares del planeta (Fig. 1). Los problemas más importantes citados en la literatura se sitúan en Argentina, Bangladesh, Nepal, Chile, China, Hungría, India (Bengala Oeste), México (Comarca Lagunera y el Valle de Zimapán), Rumania, Taiwán, Vietnam y EUA, siendo en este último país y en Bangladesh donde han sido objeto de estudios más profundos. Además se encuentran otras áreas, directamente relacionadas con procesos hidrotermales en Argentina, Chile, Japón, Nueva Zelanda, E.U.A., Islandia, Francia, República Dominicana y Kamchatka. Áreas con problemas de As en relación a depósitos minerales y minería han sido reconocidas en numerosas partes del mundo, siendo los casos más sobresalientes los de Ghana, Grecia, Tailandia, Chile y E.U.A. (Lillo, 2005).

En Hidalgo, la Gerencia Estatal de la Comisión Nacional del Agua, tiene conocimiento de la presencia de altos contenidos de As en el agua que es suministrada por los pozos a la ciudad de Zimapán (Fig. 2). Un estudio sobre las concentraciones de este elemento durante el periodo marzo 1992 a marzo 1993, confirmó la presencia de As en estos pozos (Pérez-Moreno *et al.*, 2003). Las concentraciones registradas rebasaron los límites máximos permisibles para el 2005, que es de 0.025 mg/l, según la Normativa Mexicana en el 2000 (Secretaría de Salud, 2000). Así mismo, se realizaron varios monitoreos de As hasta 1998, concluyendo con la clausura del pozo No. 4 (el Muhí) por presentar una concentración de 1.5 mg/l de As. Resultados de un análisis de las muestras de agua de Zimapán (septiembre, 2002), muestran que el contenido de As se presenta en concentraciones que fluctúan de 0.30 mg/l a 0.50 mg/l, de 12 a 20 veces más de lo que marca la NOM-127-SSA1-1994 (Lechuga-Vargas *et al.*, 2003).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha concluido que 1/10,000 habitantes tienen riesgo de adquirir cáncer de piel, ocasionado por la ingestión diaria de agua con As en concentraciones de 0.002 mg de As/l. Por consiguiente, los límites máximos de As para el agua destinada al consumo humano en algunos países de la Unión Europea como por ejemplo España, se ha reducido a valores de 0.010 mg/l (Pérez-Moreno *et al.*, 2003).

Es esencial de evaluar las causas y efectos ocasionados por la contaminación ambiental. Esto lleva a que el monitoreo ambiental sea absolutamente necesario para identificar riesgos en la salud humana y en el ecosistema (de Fernícola, 1992a). El monitoreo de la contaminación ambiental puede realizarse básicamente a través de un análisis químico. Sin embargo, debe ser reforzado con una evaluación biológica a través de la toxicología, evaluando los efectos que las sustancias xenobióticas sobre los ecosistemas e individuos utilizando bioindicadores o biomonitores, lo cual de manera conjunta aportan una evaluación integral del ambiente y los sistemas biológicos (de Fernícola, 1992b).

Los bioensayos son un tipo de bioindicadores que pueden ser desde virus hasta cultivo de tejidos humanos, que en condiciones controladas (*in vivo* e *in vitro*) permiten correlacionar el efecto del agente físico y/o químico a nivel biológico (Markert *et al.*, 1997). Existen diferentes niveles donde se puede expresar el daño a nivel biológico, estos pueden ser, morfológicos, fisiológicos y/o conductuales. De éstos, los efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos son de importancia, debido a su frecuencia

y los efectos que repercuten en problemas sociales, económicos y de salud (Reyes y Waldemar, 1992).

Una gran cantidad de bioensayos se utiliza para valorar la calidad ambiental, uno de los más utilizados es el de *Rattus norvegicus*. Este bioensayo tiene muchas ventajas para ser utilizado en el laboratorio, permite valorar el efecto genotóxico y/o teratogénico inducido por diversos agentes contaminantes. Además, se trata de un mamífero, lo que permite correlacionar los resultados entre ratas y el hombre (Gad y Chengelis, 1998).

La técnica de transparentado en fetos permite observar el sistema óseo, tal como está en otros organismos, por que no hay desarticulación del mismo. Una de las ventajas que presenta esta técnica es que los organismos se preservan por mucho tiempo, lo que permite revisarlos con detenimiento las ocasiones que sea necesario. Esta técnica es utilizada en ratas para observar malformaciones en el esqueleto, para identificar los centros de osificación del mismo y/o retraso en el desarrollo, entre otros, inducidas de manera natural o por la exposición a un agente xenobiótico (Kaufman, 1992; Acuña *et al.*, 2005).

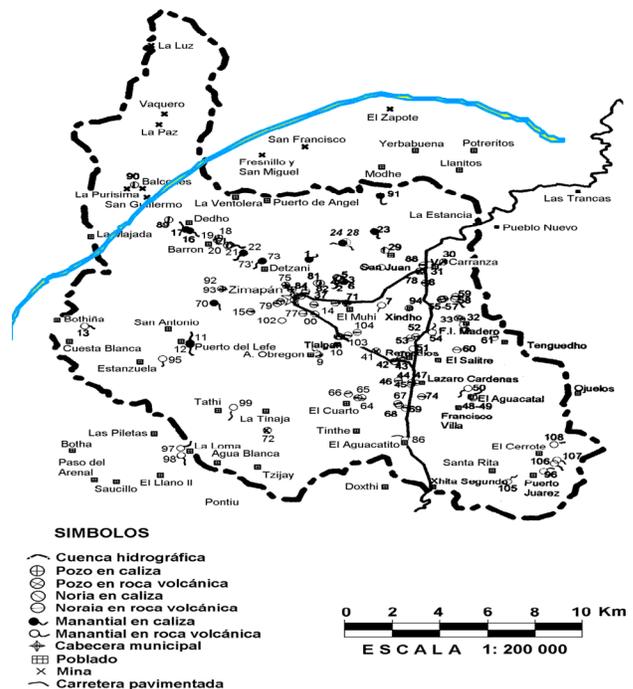


Figura 2. Ciudad de Zimapán, Hidalgo, pertenece a la región hidrológica RH-26 del Pánuco, parte Norte de la Cuenca del Valle de México, Sub-cuenca del Río Moctezuma. Línea azul: Zona limítrofe en la parte Norte de la Cuenca del Valle de México. (Pérez-Moreno, 2004).

Material y Métodos

Establecimiento de lotes experimentales: Se utilizó 50 ejemplares (hembras preñadas) de *R. norvegicus* que se encontraban en su primer día de gestación. Se distribuyeron aleatoriamente en 5 grupos de tratamiento con 10 ejemplares cada uno:

- Lote 1: Sacarosa al 5%, concentración correspondiente a un control negativo concurrente.
- Lote 2: 166.00 mg/l de Trióxido de Cromo (CrO_3) (García-Rodríguez *et al.*, 2002), concentración correspondiente a un control positivo concurrente.
- Lote 3: 0.5 mg/l de Arseniato de Sodio (Na_2HAsO_4), concentración correspondiente de aguas de Zimapán, ya que es de interés para el presente trabajo el conocer sus efectos teratogénicos en el sistema óseo de *R. norvegicus*.
- Lote 4: 943.95 mg/l de Na_2HAsO_4 , concentración correspondiente a la cuarta parte de la concentración subtóxica CL_{15} .

- Lote 5: 1887.91 mg/l de Na_2HAsO_4 , concentración correspondiente a la mitad de la concentración subtóxica CL_{15} .

La administración del compuesto para todos los lotes experimentales se realizó por vía oral con una exposición crónica. La administración se realizó durante la organogénesis de *R. norvegicus*, del 7° al 15° día de gestación. Los ejemplares se examinaron todos los días para detectar signos notorios de toxicidad, aborto inminente o parto prematuro. En los últimos dos casos, los ejemplares se sacrificaron antes del día 19° de gestación.

Sacrificio: Los animales de todos los lotes se sacrificaron el día 19° de gestación por inhalación de cloroformo (García, 1999).

Histerectomía y registro de daño reproductor en la rata progenitora: Después del sacrificio de ejemplares, se practicó una histerectomía a cada ejemplar preñado, valorando el daño reproductivo a través de la evaluación del número de fetos, número de implantaciones, reabsorciones tempranas y tardías. De forma independiente, se extrajeron los fetos, re-

Tabla I. Técnica de transparentado de Dawson modificada por Staples (García, 1999).

Anormalidades Esqueléticas	Tratamientos experimentales				
	Control				
	Sacarosa %	CrO_3 mg/l	Na_2HAsO_4 mg/l		
	5	166	0.5	943.95	1887.91
Total de fetos analizados	85	85	85	85	85
*Costillas					
No. Supernumerarias	0	1 / 1.17	0	2 / 2.35	2 / 2.35
Falta de Osificación #/%	0	43 / 50.58*	21 / 24.70*	17 / 20.00*	5 / 5.88
*Estérnebras					
No. Fusionadas	0	0	0	0	0
Falta de osificación #/%	0	70 / 82.35*	49 / 57.64*	32 / 37.64*	50 / 8.82*
*Metacarpos					
No. Ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación #/%	0	40 / 7.05*	30 / 35.29*	32 / 37.64*	8 / 9.41
*Falanges Anteriores					
No. Ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación #/%	0	66 / 77.64*	56 / 65.88*	65 / 76.47*	48 / 56.47*
*Metatarsos					
No. Ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación #/%	0	40 / 47.05*	31 / 36.47*	32 / 37.64*	8 / 9.41
*Falanges Posteriores					
No. Ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación #/%	0	76 / 89.41*	75 / 88.23*	69 / 81.17*	66 / 77.64*
Vértebra Sacra					
No. Ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación #/%	1 / 1.17	71 / 83.52*	76 / 89.49*	70 / 82.35*	69 / 81.17*

* Diferencia significativa respecto al lote testigo, prueba de Dunnett, $p < 0.05$

gistrando el número de éstos y colocándolos en alcohol al 96% para evaluar posteriormente el daño teratogénico en estos.

Transparentado de fetos: Para evaluar daño teratogénico a través de anomalías esqueléticas, y falta de osificación del tejido óseo, se realizó el análisis del tejido óseo según la técnica de Dawson modificada por Staples, con el fin de detectar daño inducido por el tratamiento (Tabla 1) (García, 1999).

Análisis y registro de alteraciones en el tejido óseo en fetos: Para el registro de las alteraciones esqueléticas presentes se tomaron en cuenta el número y condición de costillas, esternebrias, metacarpos, falanges, metatarsos y vértebras sacras debido a que son los principales centros de osificación (Fig. 3) recomendados para su análisis (Kaufman, 1992; García, 1999).

- Costillas: Se registró si hay falta de osificación (según la tinción de las esternebrias); así como si son numerarias o no.
- Esternebrias: Se registró si hay falta de osificación (según la tinción de las esternebrias); así como si se presentan o no fusionadas.
- Metacarpos: Se registró si hay falta de osificación (según la tinción de los metacarpos), así como la ausencia o no de metacarpos.
- Falanges de las extremidades anteriores: Se registró si hay falta de osificación (según la tinción de las falanges), así como la ausencia o no de falanges.
- Metatarsos: Se registró si hay falta de osificación (según la tinción de las falanges metatarsos), así como la ausencia o no de metatarsos.
- Falanges de las extremidades posteriores: Se registró si hay falta de osificación (según la tinción de las falanges), así como la ausencia o no de falanges.
- Vértebras sacras: Se registró si hay falta de osificación (según la tinción de las falanges), así como la ausencia o no de estas.

Análisis estadístico: Se realizaron dos pruebas estadísticas una prueba no paramétrica y una paramétrica; porque no se puede determinar previamente si los datos presentan o no una distribución normal.

1. Análisis Kruskal-Wallis: una prueba no paramétrica para determinar si existe uno o más tratamientos diferentes al testigo, que se aplica a datos que no siguen una distribución normal.

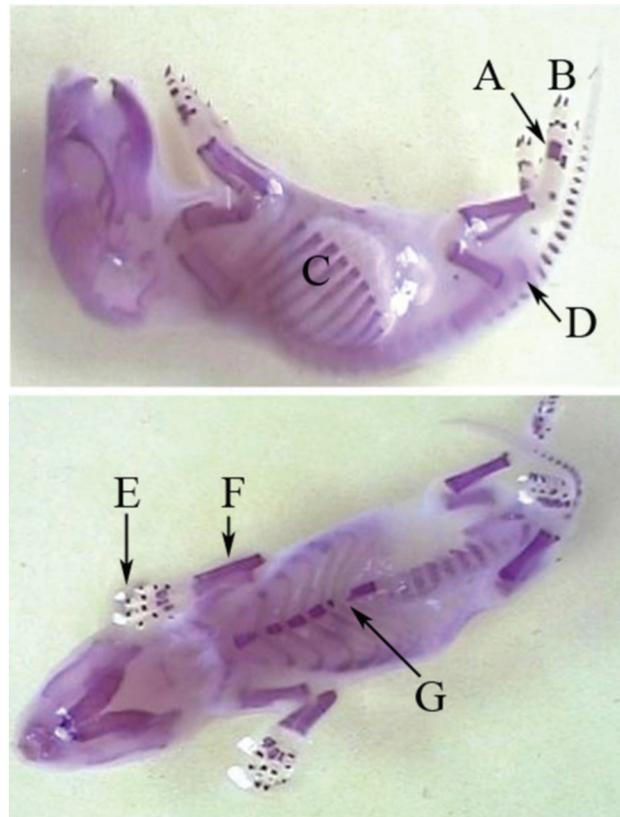


Figure 3. Principales centros de osificación en ratas. A. metatarsos; B. falanges posteriores; C. costillas; G. esternebrias; D. vértebras sacras; E. falanges anteriores; F. metacarpos.

2. Análisis de Varianza (ANOVA): una prueba paramétrica para determinar si existe uno o más tratamientos diferentes al testigo, que se aplica a datos que siguen una distribución normal.
3. Prueba de Dunnett: una prueba *a posteriori* de "comparación múltiple" para determinar que un tratamiento es diferente al control negativo, la cual sirve para determinar las diferencias significativas entre el lote testigo y el resto de los tratamientos (Ronald, 1999; Infante-Gil y Zárate de Lara, 2000).

Resultados

Análisis de daño reproductor en la rata progenitora: En la Tabla 2, se presenta el efecto de los tratamientos y el nivel de daño reproductor en ejemplares hembras de *R. norvegicus*. El número total de fetos (134) e implantaciones (89) en la concentración 0.5 mg/l es estadísticamente significativo, independiente del

Tabla 2. Efecto de Arseniato de Sodio (Na_2HAsO_4) y Trióxido de Cromo (CrO_3) a nivel de daño reproductor en *Rattus norvegicus*.

Variable	Control (-)		Tratamientos experimentales		
	Sacarosa (%)	CrO_3 (mg/l)	Na_2HAsO_4 (mg/l)		
	5	166	0.5	943.95	1887.91
No. hembras gestantes	10	10	10	10	10
No. total de fetos	88	111	134*	119	85
Relación fetos/ madre *	8.8±2.4	11.1±3.4	13.4±2.71	11.9±4.2	8.5±3.2
No. total de implantaciones	89	113	136*	119	113
Relación implantaciones /madre *	8.9±2.2	11.2±3.25	13.6±2.9	11.9±4.2	11.3±2.0
No. total de reabsorciones tempranas	1	1	2	0	25**
Relación reabsorciones tempranas/madre *	0.1±1.3	0.1±1.3	0.2±0.4	0	2.5±2.46
No. total de reabsorciones tardías	0	1	0	0	3
Relación reabsorciones tardías/madre *	0	0.1±0.3	0	0	0.3±0.9

Nota: * = promedio \pm la desviación estandar; ** = diferencia significativa respecto al lote testigo, prueba de Dunnett, $p < 0.05$.

tratamiento, debido a que no se ve reflejado un aumento en el número de reabsorciones. Así mismo, en Tabla 2 se presenta la diferencia estadísticamente significativa en el total de reabsorciones tempranas en la concentración más alta (1887.91 mg/l), lo que indica que hay un efecto tóxico al inicio del desarrollo embrionario, el cual se ve reflejado en el número total de fetos obtenidos en dicha concentración. Particularmente es importante resaltar que el teratógeno de referencia CrO_3 , que se ha reportado en ratones, no presenta ningún daño estadísticamente significativo en hembras preñadas de *R. norvegicus* a la concentración evaluada.

Análisis de alteraciones en el tejido óseo en fetos: El efecto teratogénico en fetos (Tabla 2), de los siete marcadores de anomalías esqueléticas con sus dos variables cada uno, se determinó estadísticamente a través de la prueba de Dunnett. La falta de osificación en la variable relevante, siendo no significativas las variables de costillas supernumerarias, esternebrias fusionadas, ausencia de metacarpos, de falanges anteriores, de metatarsos, de falanges posteriores y de vértebras sacras.

Para el 166.00 mg/l de CrO_3 (Fig. 4B), el 0.5 mg/l Na_2HAsO_4 (Fig. 4C) y el 943.95 mg/l Na_2HAsO_4 (Fig. 4D), las variables significativas estadística-

Figura 4. Efecto de los tratamientos en el proceso de osificación. A. Testigo. B. Falta de osificación en costillas, esternebrias, metacarpos, falanges anteriores, metatarsos, falanges posteriores y vértebras sacras, producidas por administración de Trióxido de Cromo (CrO_3). C. Falta de osificación en costillas, esternebrias, metacarpos, falanges anteriores, metatarsos, falanges posteriores y vértebras sacras, producidas por administración de 0.5 mg/l de Arseniato de Sodio (Na HAsO). D. Falta de osificación en costillas, esternebrias², meta⁴carpos, falanges anteriores, metatarsos, falanges posteriores y vértebras sacras, producidas por administración de 943.95 mg/l de Arseniato de Sodio (Na HAsO). E. Falta de osificación en esternebrias, falanges² anteriores, falanges posteriores y vértebras sacras, producidas por administración de 1887.91 mg/l de Arseniato de Sodio (Na HAsO). Nota: magnificación no es igual en cada foto; flechas⁴ indican puntos sin osificación.

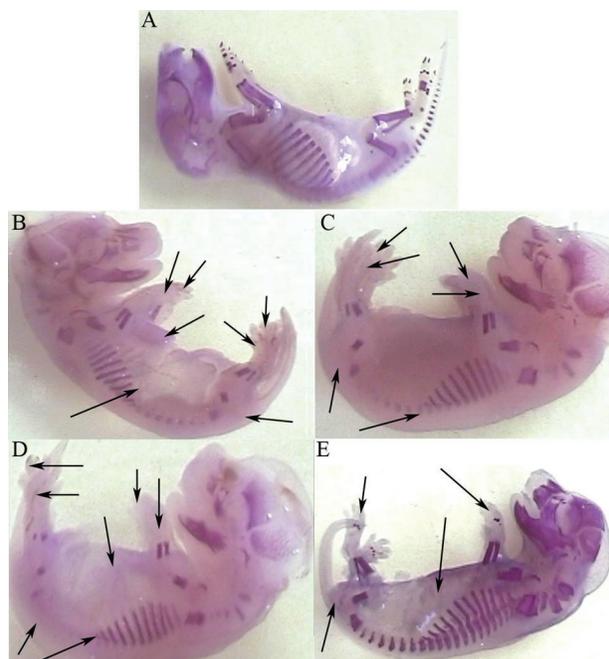


Tabla 3. Efecto de Arseniato de Sodio (Na_2HAsO_4) y Trióxido de Cromo (CrO_3) en el desarrollo del sistema óseo de fetos tratados en periodo prenatal.

Anormalidades esqueléticas	Control -	Tratamientos experimentales			
	Sacarosa (%)	CrO_3 (mg/l)	Na_2HAsO_4 (mg/l)		
	5	166	0.5	943.95	1887.91
Total de fetos analizados	85	85	85	85	85
*Costillas					
No. supernumerarias	0	1 / 1.17	0	2/2.35	2/2.35
Falta de osificación (#/%)	0	43/50.58*	21/24.70*	17/20.00*	5/5.88
*Esternebros					
No. fusionadas	0	0	0	0	0
Falta de osificación (#/%)	0	70/82.35*	49/57.64*	32/37.64*	50/8.82*
No. ausencia	0	0	0	0	0
*Metacarpos					
Falta de osificación (#/%)	0	40/7.05*	30/35.29*	32/37.64*	8/9.41
*Falanges anteriores					
No. ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación (#/%)	0	66/77.64*	56/65.88*	65/76.47*	48/56.47*
*Metatarsos					
No. ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación (#/%)	0	40/47.05*	31/36.47*	32/37.64*	8/9.41
*Falanges posteriores					
No. ausencia	0	0	0	0	0
Falta de osificación (#/%)	0	76/89.41*	75/88.23*	69/81.17*	66/77.64*
No. ausencia	0	0	0	0	0
Vértebra sacras					
Falta de osificación (#/%)	1/1.17	71/83.52*	76/89.49*	70/82.35*	69/81.17*

Nota: * = diferencia significativa respecto al lote testigo, prueba de Dunnett, $p < 0.05$; # = número de ejemplares.

mente fueron las faltas de osificación en las costillas, esternebros, metacarpos, falanges anteriores, metatarsos, falanges posteriores y en vértebras sacras (Tabla 3). Para la concentración más alta de Na_2HAsO_4 (1887.91 mg/l) (Fig. 4E), las variables que mostraron significancia estadística fueron la falta de osificación en esternebros, falanges anteriores, falanges posteriores y vértebras sacras (Tabla 3).

Discusión

Con base en los resultados obtenidos, se determinó que el Na_2HAsO_4 induce daño reproductivo en hembras progenitoras de *R. norvegicus* y daño teratogénico en fetos, debido a que presenta toxicidad estadísticamente significativa en la rata madre a la concentración más alta de 1887.91 mg/l, lo cual se estableció con base en la relación de el número de implantaciones y el número de fetos obtenidos. Además, se determinó que el efecto tóxico actúa en las primeras etapas del desarrollo embrionario, lo cual indica que una de las posibles causas de estas reabsorciones es el Na_2HAsO_4 y no un metabo-

lito de este, y que actúa a nivel tóxico. Así mismo, se demuestra que existe una diferente sensibilidad en cada una de las etapas del desarrollo embrionario.

El daño teratogénico en fetos causado por Na_2HAsO_4 es estadísticamente significativo en el proceso de osificación en los siete marcadores analizados en dos de las tres concentraciones probadas (0.5 mg/l y 943.95 mg/l), que son las concentraciones más baja e intermedia probadas. Siendo de relevante importancia mencionar que la concentración más baja es la encontrada en el agua utilizada para consumo humano en Zimapán, Hidalgo. Por lo que el efecto provocado por el Na_2HAsO_4 puede estar asociado a una problema social y de salud en éste municipio. Con base en estos resultados, se recomienda realizar más estudios utilizando Na_2HAsO_4 y probarlo en diferentes clases de organismos y niveles tróficos.

Lo anterior sustenta los diferentes mecanismos y factores previamente descritos que pueden afectar la expresión de un efecto teratogénico y por lo tanto la dificultad de sus evaluación. Los resultados pueden variar de un organismo experimental

a otro, por la susceptibilidad genética de cada organismo; por la influencia del genoma materno porque éste puede interactuar de manera distinta con el metabolismo de los compuestos que lleguen de la madre al feto. Así como participar en la resistencia a infecciones, procesos bioquímicos y moleculares que pueden incidir sobre el producto. Otro factor que puede afectar la respuesta teratogénica es la susceptibilidad de los organismos, la cual puede variar entre las diferentes etapas de desarrollo embrionario en el momento de la exposición. Además, hay que contemplar los diferentes mecanismos de acción que pueden presentarse en células y tejidos por diferentes tipos de agentes teratogénicos; de ahí la importancia de la selección de un buen bioensayo, la concentración, la vía de administración y el tiempo de exposición (Sadler, 2000).

En cuanto al CrO_3 , se comprobó su efecto en el testigo positivo a nivel de falta de osificación en el tejido óseo a la concentración probada, lo que permite corroborar la sensibilidad de este bioensayo ante un agente químico. Esto enfatizó el potencial del CrO_3 para inducir, al menos, falta de osificación en el tejido óseo y sirve como índice de comparación con otros agentes químicos con efecto por determinar (García-Rodríguez *et al.*, 2002).

El Na_2HAsO_4 a la concentración más alta usada, causa daño reproductor en ratas progenitoras. Su efecto en la osificación solo fue significativo en cuatro de los siete marcadores (falta de osificación en las esternibras, falanges anteriores, falanges posteriores y vértebras sacras). Con lo que se evidencia que estos marcadores, también llamados centros de osificación, son sensibles al Na_2HAsO_4 a las concentraciones probadas; los otros tres marcadores (falta de osificación en las costillas, metacarpos y metatarsos) no son sensibles a este compuesto, lo que evidencia una diferente sensibilidad aparente de acuerdo al compuesto químico y/o su concentración. Lo anterior apoya los reportes de algunos metales pesados que, a pesar de manifestar un efecto fetotóxico a altas concentraciones, a concentraciones bajas son capaces de inducir diversas alteraciones a nivel del desarrollo embrionario (Earl y Vish, 1979; Vega-G., 1985). Por lo que se recomienda realizar más experimentos a diferentes concentraciones y con otros compuestos para evaluar el nivel del riesgo de las poblaciones humanas.

Conclusiones

El Na_2HAsO_4 a concentraciones altas (1887.91 mg/l), es capaz de inducir daño reproductor en ratas madres. En concentraciones desde 0.5 mg/l hasta 943.95

mg/l, provoca falta de osificación en costillas, esternibras, metacarpos, falanges anteriores, metatarsos, falanges posteriores y vértebras sacras. La concentración de 0.5 mg/l, encontrada en el agua de consumo humano en Zimapán, Hidalgo, es capaz de inducir falta de osificación en costillas, esternibras, metacarpos, falanges anteriores, metatarsos, falanges posteriores y vértebras sacras en *R. norvegicus* por administración oral. Estos resultados son una llamada de atención importante, por el potencial de un riesgo para los pobladores de la región.

Es importante resaltar que el As no es el único elemento en el agua de Zimapán; pudiendo existir efectos sinérgicos o antagónicos. Independientemente de que, el As es un elemento que sobrepasa los límites máximos permisibles por la Norma Oficial Mexicana (Secretaría de Salud, 2000). Por lo tanto, es necesario realizar investigación con otros compuestos encontrados en el agua de Zimapán para probar efectos sinérgicos y/o antagónicos.

Agradecimientos

Los autores agradecen el Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) para financiamiento del proyecto colaborativo "Calidad Ambiental y Desarrollo Sustentable: Inventario Ambiental y Establecimiento de Indicadores Regionales".

Literatura citada

- Acuña, O., G. Silva, D. Lemus, M. Fuenzalida, D. Román, Y. Rivera, y H. Varela. 2005. Intoxicación con el ion cobre en ratas preñadas y su efecto en la formación de centros de osificación en fetos. *Revista Chilena de Anatomía* 17:217-224.
- Baird, C. 2001. *Química ambiental*. Reverté, S. A., Barcelona, España. 622 p.
- de Fernícola, N. A. G. G. 1992a. Evaluación de riesgo. En Reyes, F. G. R., y A. Waldemar. *Toxicología prospectiva y seguridad química: Programa internacional de seguridad de las sustancias químicas (PISSQ/PNUMA-OIT-OMS)*. El Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud (ECO/OPS/OMS). Metepec, Estado de México, México. pp. 53-63.
- de Fernícola, N. A. G. G. 1992b. Evaluación Biológica de la Exposición Humana. En Reyes, F. G. R., y A. Waldemar. *Toxicología prospectiva y seguridad química: Programa internacional de seguridad de las sustancias químicas (PISSQ/PNUMA-OIT-OMS)*. El Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud (ECO/OPS/OMS). Metepec, Estado de México, México. pp. 23-34.
- Earl, F. y T. Vish. 1979. Teratogenicity of heavy metals. En Oehme, F. *Toxicity of heavy metals in the environment*. Part. 2. Marcel Dekker. New York, E.U.A. pp. 617-637.

- Gad, S. y P. Chengelis. 1998. Acute toxicology testing. Academic Press, San Diego, CA, E.U.A. 534 p.
- Galvao, L. A. C. y G. Corey. 1987. Arsénico. Serie Vigilancia N° 3. CPEHS-PPS-OMS. Metepec, México, 70 p.
- García, A. 1999. Interacción teratogénica de la 4-hidroxi, 4-etil, 4-fenil butiramida (HEPB) y homólogos inferiores con carbamazepina y difenilhidantoina en ratón. Tesis de Maestría en Ciencias con especialidad en Toxicología. Instituto Politécnico Nacional, México 85 p.
- García-Rodríguez, M., V. López-Santiago y M. Altamirano-Lozano. 2002. Estudio del efecto genotóxico y teratogéno del CrO₃ durante el desarrollo fetal del ratón *in vivo*. Congreso Nacional de Genética. Unidad de Investigaciones en Genética y Toxicología ambiental, FES-Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México.
- Infante-Gil, S. y G. P. Zárate de Lara. 2000. Métodos estadísticos un enfoque interdisciplinario. Editorial Trillas S.A. de C.V., México. 643 p.
- Kaufman, M. 1992. The atlas of mouse development. Academic Press, San Diego, CA, E.U.A. 512 p.
- Lechuga-Vargas, M. Á., F. Prieto-García, J. C. Gaytán-Oyarzún, E. Barrado-Esteban y L. del Razo-Jiménez. 2003. Estudio de acumulación y daños genotóxicos en tejidos celulares sensibles por presencia de Arsénico en aguas y suelos de Zimapán, Hidalgo, México. Bio-Press 7:1-13.
- Lillo, J. 2005. Peligros geoquímicos: Arsénico de origen natural en aguas. Página en red: http://www.ucm.es/info/crismine/Ambiente_Serena/Tema_As.htm (consultada el 1 de mayo del 2009).
- Lippmann, M. 1992. Environmental toxicants: Human exposures and their health effects. Van Nostrand Reinhold, New York, E.U.A. 699 p.
- Markert, B., J. Oehlmann y M. Roth. 1997. General aspects of heavy metal monitoring by plants and animals. *En* Subramanian, K. y G. Iyengar. Environmental biomonitoring: Exposure assessment and specimen banking. American Chemical Society. Washington, D.C., E.U.A. pp. 19- 29.
- Patnaik, P. 1992. A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances. Van Nostrand Reinhold, New York, E.U.A. 763 p.
- Pérez-Moreno, F., F. Prieto-García, A. Rojas-Hernández, C. A. Galán-Vidal, Y. Marmolejo-Santillán, C. Romo-Gómez, A. Castañeda-Ovando, J. A. Rodríguez-Ávila y E. Barrado-Esteban. 2003. Caracterización química de aguas subterráneas en pozos y un distribuidor de agua de Zimapán, Estado de Hidalgo, México. *Hidrobiológica* 13:95-102.
- Pérez-Moreno, F. 2004. Dinámica del arsénico en aguas subterráneas de pozos y sedimentos del distribuidor general de agua potable de Zimapán, Hidalgo. Tesis Doctorado en Ciencias Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México. 132 p.
- Ramos-Morales, P. y R. Rodríguez-Arnaiz. 1995. Genotoxicity of two arsenic compounds in germ cells and somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 25:288-299.
- Reyes, F. y A. Waldemar. 1992. Toxicología prospectiva y seguridad química: Programa internacional de seguridad de las sustancias químicas (PISSQ/PNUMA-OIT-OMS). El Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud (ECO/OPS/OMS). Metepec, Estado de México, México. 231 p.
- Ronal, W. 1999. Probabilidad y estadística para ingenieros. Prentice-Hall, Hispanoamericana S.A., México. 739 p.
- Sadler, T. 2000. Langman: Embriología médica. Editorial Médica Panamericana, D.F., México. 424 p.
- Secretaría de Salud. 2000. Modificación a la Norma Oficial NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial, 20 de octubre de 2000, Distrito Federal, México, Primera sección. pp. 73-79.
- Vega-G., S. 1985. Evaluación epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales. *Toxicología V: Genotoxicidad y daño reproductor al sistema reproductor*. El Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud (ECO/OPS/OMS). Metepec, Estado de México, México. 47 p.