UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em
Toxicologia e Análises Toxicológicas

Contaminação do ambiente com arsênio e seus efeitos na saúde
humana: uma revisão

Alexandra Lena Galetovic Carabantes

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Profa. Dra. Nilda A.G.G. de Fernícola

São Paulo
2003

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

G154c Galetovic Carabantes, Alexandra Lena
Contaminação do ambiente com arsênico e seus efeitos
na saúde humana : uma revisão / Alexandra Lena Galetovic
Carabantes. -- São Paulo, 2003.
124p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas
e Toxicológicas.

Orientador: Fernícola, Nilda Alicia Gallego Gandara

1. Arsênico : Toxicologia 2. Toxicologia ambiental 1.
T. II. Fernícola, Nilda Alicia Gallego Gandara, orientador.

615.925715 CDD

Alexandra Lena Galetovic Carabantes

Contaminação do ambiente com arsênio e seus efeitos na saúde
humana: uma revisão

Comissão Julgadora
da
Dissertação para a obtenção do grau de
Mestre

Profa. Dra. Silvia Berlanga de Moraes Barros
presidente

Profa. Dra. Elizabeth Souza de Nascimento
1º. examinador

Prof. Dr. Sérgio Colacioppo
2º. examinador

São Paulo, 12 de Fevereiro de 2004.

Dedicado:

À memória de meu amado Pai.

À minha amada Mãe e meus amados

Milton e Fangui.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Nilda A.G.G. de Fernícola pela orientação e acolhida e pelos conselhos durante a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Silvia Berlanga de Moraes Barros pela acolhida, oportunidade, ajuda e conselhos.

À Profa. Dra. Elizabeth Souza de Nascimento, ao Prof. Dr. Sérgio Colacioppo e Prof. Dr. Ricardo Hirata pela amabilidade, disponibilidade e valiosa ajuda na correção do trabalho.

À Biol. Maria Helena Roquetti Humaytá pela valiosa ajuda na correção do trabalho.

Aos Professores da Universidade de Antofagasta-Chile pela amizade, apoio incentivo e conselhos.

Ao Prof. Dr. Alex Quaas pelas dicas e valiosas informações sobre arsênio.

Ao Prof. Dr. Benito Gómez Silva pela ajuda concedida.

Ao Dr. Alex Arroyo pelas valiosas informações sobre arsênio.

À Biblioteca do Conjunto das Químicas da USP, especialmente à Leila Bonadio pela valiosa ajuda na correção das referências.

À Elaine e ao Jorge, da Secretaria de Pós-Graduação, pela ajuda e disposição em todo momento.

Aos professores, funcionários e colegas da Universidade de São Paulo pela acolhida, amizade e ajuda.

À Família Sepúlveda-Miranda pela acolhida, carinho e enorme ajuda durante minha estadia no Brasil.

Ao Milton pelo carinho, sacrifício, enorme ajuda, apoio e incentivo.

Aos meus primos Doris, José, Toño e Claudio pela preocupação, ajuda, carinho e apoio.

Ao Tio Pancho pela viagem-aventura realizada do Chile até minha chegada ao Brasil.

À minha mãe pelo carinho, apoio, sacrifício e constante ajuda financeira.

Ao Programa de Cooperação Internacional PEC-PG (Programa de Estudantes Convênio de Pós-Graduação) CAPES-CNPq entre Brasil e Chile.

E a todos àqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, e que não foram citados, muito obrigado pela sua colaboração.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS	XII
RESUMO	XIII
SUMMARY	XIV
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1:HISTÓRIA E PROPRIEDADES	2
Aspectos anteriores a 1920.....	2
O período 1920 - 2003	6
O elemento e seus compostos.....	8
CAPÍTULO 2:OCORRÊNCIA NO AMBIENTE.....	13
Presença natural do arsênio.....	13
Presença antropogênica do arsênio.....	17
Balanço do arsênio na geosfera.....	20
CAPÍTULO 3:TRANSPORTE, DISTRIBUIÇÃO E TRANSFORMAÇÃO NO MEIO AMBIENTE.....	23
Ar.....	23
Solo.....	24
Água.....	29
Meio biótico	36
Oxidação.....	37
Redução	37
Metilação	38
Bioconcentração	40
CAPÍTULO 4:TOXICOCINÉTICA.....	42
Absorção de arsênio inorgânico e orgânico segundo a via de exposição.....	42
Via respiratória.....	42
Via digestiva	43
Via cutânea.....	44
Distribuição.....	44
Distribuição do arsênio inorgânico e orgânico pelo sangue de animais e humanos	44
Distribuição do arsênio inorgânico e orgânico nos tecidos de animais e humanos	45

Biotransformação	47
Sítios e mecanismo de metilação de arsênio inorgânico em animais e humanos	47
Fatores que influenciam na metilação de arsênio inorgânico	50
Variações nos padrões de metilação de arsênio em humanos	51
Variações nos padrões de metilação de arsênio inorgânico em diferentes espécies	51
Excreção	53
Excreção de arsênio inorgânico e seus produtos de biotransformação em animais e humanos	53
Excreção de arseniais orgânicos de origem marinha	54
CAPÍTULO 5: TOXICODINAMICA.....	55
Ação de arsênio inorgânico sobre processos metabólicos	55
Respiração celular	55
Glicogênese	57
Reparação do ADN	58
Formação do grupo heme	59
Ação de arsênio orgânico sobre processos metabólicos	59
CAPÍTULO 6: TOXICIDADE.....	60
Intoxicação aguda	60
Intoxicação crônica	61
Tratamento da intoxicação	62
Diminuição dos efeitos tóxicos por agentes quelantes	62
Diminuição dos efeitos tóxicos do arsênio por meio da dieta	62
CAPÍTULO 7: EFEITOS NA SAÚDE.....	64
Efeitos genotóxicos: mutagênese e carcinogênese	64
Mutagênese	65
Carcinogênese	67
Mecanismos propostos na indução de câncer por arsênio	68
Mudanças nos padrões de metilação de ADN	68
Indução de radicais livres de oxigênio como mecanismo de indução de câncer por arsênio	69
Principais tipos de câncer	70
Câncer de pele, hiperpigmentação e hiperqueratose	70
Câncer interno	71
Efeitos teratogênicos e reprodutivos	75
Efeitos vasculares periféricos	76
Efeitos cardiovasculares	76
Fatores de risco associados às doenças cardiovasculares	77
Hipertensão	77
Diabetes melito	77
Efeitos neurológicos	78
Efeitos hematológicos	78

CAPÍTULO 8: AVALIAÇÃO DO RISCO PARA A SAÚDE.....	79
Estimativas do risco	79
Estimativa da ingestão diária segura de arsênio por alimentos.....	81
Dose de referência para arsênio.....	81
Obtenção de NOAEL e LOAEL	81
Obtenção da dose de referência	82
Arsênio como um micronutriente essencial.....	82
CAPÍTULO 9: BIOMARCADORES.....	83
Biomarcadores de exposição para arsênio	83
Análises na urina	83
Análises no sangue	84
Análises nos cabelos	84
Análises nas unhas.....	85
Biomarcadores de efeito para arsênio.....	89
Biomarcadores de suscetibilidade para arsênio.....	91
COMENTÁRIOS FINAIS	92
REFERÊNCIAS.....	93
APÊNDICE A: RESUMO EXECUTIVO	
APÊNDICE B: METODOLOGIA	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Símbolos alquímico e químico do arsênio.....	8
Figura 2.1: O arsênio no ambiente.....	20
Figura 3.1: Esquema do ciclo do arsênio na atmosfera.....	24
Figura 3.2: Biotransformação do arsênio no solo.....	27
Figura 3.3: Processos do ciclo do arsênio no solo.....	28
Figura 3.4: Diagramas pH – Eh.....	31
Figura 3.5: Esquema do ciclo de arsênio em água doce.....	33
Figura 3.6: Esquema do ciclo do arsênio em lagos.....	34
Figura 3.7: Esquema do ciclo do arsênio no oceano.....	35
Figura 3.8: Processo de metilação em microorganismos.....	38
Figura 3.9: O ciclo geológico do arsênio.....	39
Figura 4.1: Provável via de metilação para arsênio em humanos.....	48
Figura 5.1: Reações de arseniais trivalentes com grupos sulfidrilas na molécula do ácido lipóico.....	56
Figura 5.2: Ação do arsênio na glicólise.....	57
Figura 7.1: Mecanismo proposto para carcinogênese por arsênio.....	69
Figura B.1: Esquema seguido na presente pesquisa sobre aspectos da exposição aos compostos arseniais	

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1: Alguns compostos de arsênio e seus estados de valência.....	9
Tabela 1.2: Compostos inorgânicos de arsênio.....	10
Tabela 1.3: Compostos orgânicos de arsênio.....	12
Tabela 2.1: Concentrações de arsênio em material rochoso.....	14
Tabela 2.2: Descrição de fontes antropogênicas de arsênio.....	17
Tabela 2.3: Níveis de concentração de arsênio.....	19
Tabela 2.4: Balanço do arsênio no ecossistema.....	21
Tabela 4.1: Concentrações de produtos de transformação de arsênio e arsênio total em tecidos e órgãos de japoneses adultos	46
Tabela 4.2: Variação na excreção de arsênio e seus produtos de transformação na urina.....	52
Tabela 6.1: Dose letal (DL50) para alguns compostos arseniais.....	61
Tabela 7.1: Efeitos genotóxicos induzidos por arsênio.....	65
Tabela 7.2: Mutagenicidade induzida por arsênio.....	66
Tabela 7.3: Efeitos sobre a pele devido à exposição ao arsênio por via oral.....	74
Tabela 7.4: Diabetes melito em populações expostas ao arsênio por via oral.....	78
Tabela 8.1: Níveis de risco por concentração de arsênio na água potável	80
Tabela 9.1: Concentração de arsênio no sangue, urina, unha e cabelo em populações expostas.....	86
Tabela 9.2: Valores de referência no sangue, urina, unha e cabelo reportados na literatura em populações não expostas ao arsênio.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS

5-MEC	5-metilcitosina
ACGIH	<i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists</i>
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
BAL	<i>British anti-Lewisita</i> (2,3-dimercaptopropanol)
BCC	Carcinoma basal celular
BIREME	Biblioteca Regional de Medicina (ou Centro Latino-Americano e do Caribe)
CA	Aberrações Cromossômicas
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
Co-A	Coenzima A
DL50	Dose Letal 50
DMA	Ácido dimetilarsínico
DMPS	2,3-dimercapto-1-propano sulfonato de sódio
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FAD	Flavina adenindinucleótido
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
GS	Glutationa
GSH	Glutationa reduzida
HGPRT	Hipoxantina Guanina Fosforibosil Transferase
HSBD	<i>Hazardous Substances Data Bank</i>
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
LOAEL	Menor Dose com Efeitos Adversos Observáveis
MMA	Ácido monometilarsônico
MN	Micronúcleos
NAC/NRC	<i>National Academy of Sciences/ National Research Council</i>
NAD	Nicotinamida adenindinucleótido
NOAEL	Nível de Efeitos Adversos não Observáveis
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH _{pzc}	pH do ponto zero de carga
PROBE	Programa de Biblioteca Eletrônica
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SAM	S-adenosilmetionina
SCC	Carcinoma escamoso celular
SCE	Troca de Cromátides Irmãs
SCG	<i>Single Cell Gel</i>
SIBI	Sistema Integrado de Bibliotecas
TLV-TWA	<i>Threshold Limit Values-Time Weighted Average</i>
TMA	Trimetilarsina
TMAO	Óxido de trimetilarsina
TPP	Tiamina pirofosfato
UV	Ultravioleta
WHO	<i>World Health Organization</i>

RESUMO

O arsênio está amplamente distribuído no ambiente, sendo encontrado sob formas orgânicas e inorgânicas. É classificado como cancerígeno humano, com base em estudos epidemiológicos. Sua presença na água potável é relacionada com efeitos à saúde como hipertensão, diabetes, câncer de pele e de órgãos internos. Devido aos efeitos adversos observados em populações expostas ao arsênio é interessante dispor de uma revisão atualizada sobre os aspectos toxicológicos deste elemento. Para a revisão foram utilizadas 308 publicações do período 1920 a 2003, considerando quatro temas: presença de arsênio no ambiente, toxicologia do arsênio, efeitos na saúde humana e biomarcadores para arsênio. As informações compiladas mostram que são necessários mais estudos sobre as formas químicas e biodisponibilidade do arsênio, temas identificados como pontos críticos para um melhor entendimento da toxicologia do arsênio. Também é sugerido o desenvolvimento de biomarcadores validados e específicos para sua utilização no processo de avaliação de risco do arsênio para humanos.

SUMMARY

Arsenic is widely distributed in the environment in the form of organic and inorganic compounds. Based on epidemiological studies, arsenic is classified as a carcinogenic substance. Several disorders (e.g., hypertension, diabetes, skin cancer and internal cancer) have been related to arsenic in drinking water. Thus the adverse effects of arsenic on exposed populations supports the idea of preparing a review on its toxicology and 308 publications from 1920 to 2003 were revised for this purpose. The review is focused on four selected subjects: arsenic in the environment, toxicological aspects, effect on human health and biomarkers for arsenic. From this study, speciation and bioavailability were identified as critical topics requiring further research for improving our understanding on arsenic toxicology. The development of validated and specific biomarkers for using in arsenic risk assessment on humans beings is also an important suggestion.

INTRODUÇÃO

O arsênio é um elemento amplamente distribuído no planeta e é um problema toxicológico atual em países da América, Europa e Ásia. Os efeitos produzidos pelo arsênio começaram a ser de interesse para o mundo científico, provavelmente desde fins do século XIX, com muitas pesquisas realizadas, que vão desde estudos de casos clínicos até ensaios moleculares à procura de evidências sobre indução de câncer. A preocupação também tem sido muito ativa no campo ambiental com o objetivo de compreender seu comportamento.

A seguir é apresentada uma revisão bibliográfica da contaminação do ambiente por arsênio e seus efeitos na saúde humana realizada com a compilação de publicações desde 1920 a 2003. Este trabalho se compõe de nove capítulos que expressam aspectos ambientais e toxicológicos do arsênio.

No primeiro capítulo são apresentados os aspectos históricos e as propriedades do elemento com o fim que o leitor forme sua opinião a respeito do significado do arsênio. Os dois capítulos seguintes (2 e 3) apresentam uma abordagem ambiental em termos de ocorrência e ciclo que permite interpretar a biodisponibilidade dos compostos arseniais. Os próximos três capítulos (4, 5 e 6) abordam a toxicologia do arsênio e a seguir são apresentados os efeitos na saúde (capítulo 7) dando ênfase à compreensão da indução do câncer. O capítulo seguinte apresenta a avaliação do risco para a saúde e assuntos sobre a ingestão de arsênio como micronutriente. Por último são apresentados os biomarcadores para arsênio.

CAPÍTULO 1

HISTÓRIA E PROPRIEDADES

Aspectos anteriores a 1920

Acredita-se que o nome arsênio seja derivado dos compostos denominados *sandaraché* e *sandyx* (PARTINGTON, 1935), sendo posteriormente conhecido como ouro-pigmento (As_2S_3). No mundo árabe recebeu o nome de *Az-zernikh*, atribuído a Pedânios Dioscorides (50 d.C.) (SCHROEDER, BALASSA, 1966) e na Grécia, recebeu o nome *arsenikon* que significa “potente” (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a).

O uso e a obtenção do arsênio são conhecidos há muito tempo. Já no ano 3000 a.C. artefatos eram feitos à base de minerais sulfo-arseniatos de cobre e em 2000 a.C., o trióxido de arsênio era obtido em fundições de cobre (JOLLIFFE, 1993; SCHROEDER, BALASSA, 1966).

Hipócrates (460 – 377 a.C.) usou o ouro-pigmento e o realgar (As_2S_2) para o tratamento de úlceras, uma recomendação repetida muito depois por Galeno (138 – 201 d.C.). Aristóteles (384 – 322 a.C.), Plínio (23 – 79 d.C.) e Dioscorides escreveram sobre as propriedades tóxicas do arsênio (BUCHANAN, 1962; JOLLIFFE, 1993; SCHROEDER, BALASSA, 1966).

O natural poder venenoso do arsênio é conhecido há muitos séculos, sendo que no século VI a.C. os romanos enviavam os condenados à morte para minas que continham, entre outros metais, arsênio, matando-os nesse ambiente contaminado (PARTINGTON, 1935). Nero, no ano 55 d.C., envenenou Britannicus com arsênio para manter o trono de Roma (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a).

Outros usos do arsênio datam do século IX, época em que os chineses usavam sulfeto de arsênio no combate às pragas de insetos de

jardins. No século XI, três espécies de arsênio já eram bem conhecidas: branca (trióxido de arsênio), amarela (trisulfeto de arsênio) e vermelha (disulfeto de arsênio). Alberto Magnus, no ano de 1250, obteve experimentalmente arsênio metálico em solução aquosa (SCHROEDER, BALASSA, 1966).

Na Idade Média, o arsênio foi usado amplamente tanto por médicos quanto por assassinos. Paracelso (1493 – 1541) utilizou extensivamente o arsênio, diferenciando-o em dose correta e dose tóxica (BUCHANAN, 1962; JOLLIFFE, 1993; SCHROEDER, BALASSA, 1966). No século XVI, trabalhadores à procura de prata em Saxony (Alemanha) fundiram esmaltita (CoAs_2) e perceberam a formação de uma fumaça arsenial tóxica que corroía as mãos dos trabalhadores, obrigando-os a usar grandes luvas para sua proteção (JACKSON, 1996).

Em 1649, Schroeder publicou dois métodos para a preparação de trióxido de arsênio (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a; SCHROEDER, BALASSA, 1966). Na França, vários membros da corte de Luís XIV foram intoxicados com arsênio (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a).

No século XVIII, o arsênio foi classificado como um semimetal devido ao conhecimento que se tinha sobre suas propriedades químicas. Em 1786, um médico inglês, Thomas Fowler, relatou o uso de uma solução de trióxido de arsênio para curar febres e dores de cabeça (JOLLIFFE, 1993). Em 1809, a solução de Fowler (1% de arsenito de potássio, KAsO_2) foi oficialmente incluída na farmacopéia inglesa (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a).

Durante o século XIX foram mencionados vários casos de intoxicação arsenial principalmente relacionadas a atividades ocupacionais. Naquela época o arsênio era produzido principalmente pela Inglaterra e seus principais usos eram: melhoramento do vidro e sais de chumbo, pirotecnia e em curtumes. O arsênio era encontrado geralmente como um pigmento

extensamente utilizado na época, como o Verde Paris ($3\text{Cu}(\text{AsO}_2)_2$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), o Verde de Scheele (CuHAsO_3) e arsenito de sódio (Na_2HAsO_3) (JACKSON, 1996).

Na França e na Inglaterra no século XIX ocorreram vários casos de intoxicação causados por fumaça de compostos arseniais, muitos relacionados à exposição a pigmentos encontrados nos ambientes de trabalho ou em materiais de uso doméstico (JACKSON, 1996).

Um caso que ainda se discute é a morte de Napoleão, em 1821, atribuída à intoxicação causada por gases emitidos de um papel de parede com conteúdo arsenial (FORSHUFVUD *et al.*, 1961; JACKSON, 1996; JONES, LEDINGHAM, 1982).

Na segunda metade do século XIX, nos EUA, observou-se uma grande demanda no uso do arsênio na agricultura. O praguicida arsenial Verde Paris foi usado a partir de 1869, sendo rapidamente substituído, em 1878, pelo “London Purple” (arsenito de cálcio) (CHAIN, 2003).

Apesar dos relatos de muitos casos clínicos que permitiam suspeitar de uma relação entre arsênio e câncer, foi somente em 1888 que Hutchinson descreveu pela primeira vez cinco casos de câncer associados à administração crônica (medicamentos) de grandes doses de arsênio, evidenciando que a exposição ao arsênio induzia ao aparecimento de câncer (HUTCHINSON, 1888).

Outro fato importante foi a descoberta, realizada por Gosio em 1893, de que compostos arseniais colocados em contato com o fungo *Scopulariopsis brevicaulis* produziam um composto volátil altamente tóxico. Experiências posteriores, realizadas por Challenger, evidenciaram que o composto obtido por Gosio era a trimetilarsina ($(\text{CH}_3)_3\text{As}$) (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a).

Em 1901, ocorreu a intoxicação de uma multidão em Londres, por ingestão de cerveja com alto conteúdo arsenial, devido ao uso de glicose produzida com ácido sulfúrico contaminado com arsênio, utilizada no processo de fermentação da cerveja (BENTLEY, CASTEEN, 2002a; RENNKE *et al.*, 1971; REYNOLDS, 1901).

No início do século XX, diversos compostos arseniais foram usados como medicamentos, sendo que Paul Ehrlich e seus colaboradores, em 1907, introduziram o Salvarsan ou Preparado 606 (contendo 32% de arsênio), no tratamento da sífilis. Este médico acreditava que o medicamento poderia ser perigoso devido a sua potência e orientava para que houvesse muita precaução na sua administração intravenosa. Os anos 1940 testemunharam a introdução da penicilina em substituição aos compostos de Ehrlich no tratamento da sífilis (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a; JOLLIFFE, 1993; YOUNG, 1915).

Em 1912, a doença de Bowen, hoje a mais conhecida doença relacionada ao câncer de pele por exposição crônica ao arsênio, foi relacionada à administração de medicamentos com conteúdo arsenial (NEUBAUER, 1947).

As doenças de Bell Ville, registradas na Argentina em 1913, e de Reichenstein, na Silesia, são exemplos de efeitos similares causados por exposição ao arsênio em água potável (ASTOLFI *et al.*, 1982; NEUBAUER, 1947).

Em 1920 já eram utilizados três métodos para a determinação de arsênio: os testes de Reinsh, de Marsh e de Gutzeit. Nessa mesma época, os EUA deixaram de importar arsênio do Reino Unido e no meio científico se discutia a relação da tolerância do arsênio pelo organismo (BENTLEY, CHASTEEN, 2002a; SCHROEDER, BALASSA, 1966).

O período 1920 - 2003

A partir de 1920 foram descritos muitos casos que relacionavam o arsênio ao câncer, porém diferentemente dos anos anteriores, surgiu à relação com a fonte de exposição (composto, água e atividade ocupacional) e outros fatores tais como a duração da exposição, localização do câncer e estudos histológicos dos tecidos cancerosos. Também surgem os testes experimentais sobre biotransformação e câncer em animais, principalmente em camundongos (COULSON *et al.*, 1935), com o objetivo de evidenciar o processo da carcinogênese (NEUBAUER, 1947).

A descoberta realizada por Challenger e seus colaboradores, nos anos 1930, identificando o composto trimetilarsina, permitiu que, nos anos 1940, fosse descrito o processo de biometilação do arsênio em microorganismos. Esse processo vem sendo estudado até hoje, já que é a base para a compreensão do processo de biotransformação desse elemento em humanos (BENTLEY, CHASTEEN, 2002b; CHALLENGER, 1945).

Durante os anos 1940 descobriu-se que o arsênio competia por grupos sulfidrilas em sistemas enzimáticos, o que permitiu postular que o arsênio alterava os processos metabólicos onde atuavam essas enzimas (KING, LUDFORD, 1950; GORDON, QUASTEL, 1948). Desde então, muitos estudos realizados com animais tentam entender melhor esse processo (HEALY *et al.*, 1998).

Nos anos 1950, foram realizados estudos epidemiológicos visando relacionar doses de arsênio e seus efeitos, principalmente em casos de exposição ocupacional e ingestão de água potável. Assim, em 1958 a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendou pela primeira vez uma concentração máxima de 200 µg/L de arsênio na água potável (WHO, 2003).

Nos anos 1960, foram realizados estudos em diversas áreas para entender o processo de carcinogênese do arsênio, como a determinação de quantidades-traço em amostras biológicas (SCHROEDER, 1966), a determinação da dose de arsênio e seus efeitos em animais (GROSCH, 1963), a relação de compostos arseniais e mortalidade em humanos, além da relação do composto de arsênio e sua excreção em humanos. Tal foi a importância do tema que, em 1963, a OMS modificou a recomendação do teor de arsênio na água potável, estabelecendo um valor de 50 µg/L, que ainda é utilizado por alguns países como Índia e Bangladesh (WHO, 2003).

Nos anos 1970, o arsênio, reconhecido como um problema de saúde, foi avaliado sob diversos aspectos: compostos encontrados no meio ambiente, biotransformação, distribuição natural, produção antropogênica, usos, efeitos à saúde, entre outros. Em 1977, o tema arsênio mereceu uma publicação especial no volume 104 da revista *Environmental Health Perspectives*. LUNDE (1977), numa importante descoberta, identificou um composto orgânico de arsênio nos organismos marinhos, posteriormente caracterizado e isolado por Edmonds e Francesconi, denominado como arsenobetaina (EDMONDS, FRANCESCONI, 1987).

Os anos 1980 ficaram marcados pelo tema da carcinogênese do arsênio, principalmente porque foram estudados amplamente o papel da metilação no metabolismo do arsênio e as enzimas envolvidas nesse processo. Em 1987 a *International Agency for Research on Cancer-IARC*, com base em estudos epidemiológicos, classificou o arsênio no Grupo 1 - carcinogênico humano (FOWLER, 1994; GOYER, CHERIAN, 1995).

Atualmente, o arsênio segue sendo estudado, particularmente com a finalidade de aumentar o conhecimento sobre sua biotransformação, distribuição e toxicidade nos sistemas biológicos. Ainda não existe um modelo animal que demonstre que arsênio cause câncer, como acontece em humanos. O que justifica as pesquisas que visam desenvolver um modelo de

experimentação em animais para comprovar isto. Também é de interesse conhecer a cinética e os marcadores moleculares dos compostos orgânicos e inorgânicos do arsênio em tecidos, avaliar as enzimas envolvidas na metilação do arsênio inorgânico e estudar a relação entre dose e biomarcadores de exposição e efeito (GOYER, CHERIAN, 1995).

O elemento e seus compostos

O nome do elemento nos diferentes idiomas é derivado do latim *arsenicum* ou grego *arsenikon* e assim fica designado: arsênico ou arsênio (Brasil), arsênic (Portugal), arsénico (espanhol), arsen (alemão), arsenic (francês e inglês) e arsenico (italiano).

O arsênio tem seus correspondentes símbolos alquímico e químico, ilustrados na Figura 1.1.

Figura 1.1: Símbolos alquímico e químico do arsênio

A principal forma de arsênio é a cinza, muito frágil, apresentando-se nas formas de estruturas cristalinas romboédricas (BUCHANAN, 1962). No ar, quando aquecido o vapor, não tem cor e tem odor de alho (WEAST, 1989). Outras formas conhecidas são: amarela cristalina e preta amorfa.

O arsênio é um elemento localizado no grupo VA da Tabela periódica, com propriedades químicas não-metálicas e metálicas, de forma que é considerado um semimetal (JOLLIFFE, 1993; SCHROEDER, BALASSA, 1966). É também considerado um metal pesado, devido ao valor da sua densidade estimada em 5,7 g/ml e por suas características tóxicas (WHO, 1992b). Tem número atômico (Z) de 33 e massa atômica de 74,92.

O ponto de fusão é estimado em 817°C à pressão de 28 atm e sublima em 613°C a uma atmosfera, mas pode também sublimar lentamente a 100°C (BUCHANAN 1962; SCHROEDER, BALASSA, 1966; WHO, 2001c).

Em meios alcalinos e ácidos fortemente redutores ($< -0,25$ V) podem existir arsênio elementar (0) e arsina (3-). Sob condições de moderada redução (faixa de 0,25 V a $-0,25$ V) a forma dominante pode ser o arsenito (3+). O arseniato (5+) é geralmente estável em ambientes oxigenados ($> 0,25$ V) (WHO, 2001c; WALSH *et al.*, 1977; JAIN, ALI, 2000; FERGUSON, GAVIS, 1972; BOSE, SHARMA, 2002). Uma lista de compostos binários de arsênio e seus estados de valência é mostrada na Tabela 1.1.

TABELA 1.1: Alguns compostos de arsênio e seus estados de valência

Compostos	No CAS	Fórmulas	Valência
Fluoretos	7784-35-2	AsF ₃	3+
	7784-36-3	AsF ₅	5+
Cloretos	7784-34-1	AsCl ₃	3+
	22441-45-8	AsCl ₅	5+
Brometo	7784-33-0	AsBr ₃	3+
Iodetos	7784-45-4	AsI ₃	3+
Hidretos	7784-42-1	AsH ₃	3-
Óxidos	1327-53-3	As ₂ O ₃	3+
	1303-28-2	As ₂ O ₅	5+
Sulfetos	1303-33-9	As ₂ S ₃	3+
	1303-34-0	As ₂ S ₅	5+
Selenitos	1303-36-2	As ₂ Se ₃	3+
Telurito	12044-54-1	As ₂ Te ₃	3+

Fonte: Webelements, 2003.

As diferentes formas do arsênio são comumente designadas por compostos ou “espécies”, o que é conhecido por especiação. São diferenciados principalmente dois grupos, os compostos de arsênio inorgânico e orgânico.

TABELA 1.2: Compostos inorgânicos de arsênio

Nome	No CAS	Fórmula	Estrutura	Solubilidade (g/l)
Arsênio	7440-38-2	As ⁰	As	Insolúvel na água; Solúvel em HNO ₃ .
Óxido de arsênio (III)	1327-53-3	As ₂ O ₃		Solúvel na água fria (12), água quente (115), álcali e HCl.
Óxido de arsênio (V)	1303-28-2	As ₂ O ₅		Solúvel na água fria (1500); Solúvel em água quente (700).
Ácido arsênio	7778-39-4	H ₃ AsO ₄		Solúvel na água (3020) a 12,5 °C; Solúvel em álcool.
Arseniato de cálcio	7778-44-1	Ca ₃ (AsO ₄) ₂		Solúvel na água (0,13); Solúvel em ácidos diluídos.
Acetoarsenito cúprico	12002-03-8	C ₄ H ₈ As ₆ Cu ₄ O ₁₆		Insolúvel na água; Solúvel em ácidos.
Arsenieto de gálio	1303-00-0	AsGa	Ga:As	Insolúvel na água.
Arseniato de chumbo	7784-40-9	PbHAsO ₄		Insolúvel na água; Levemente solúvel na água quente; Solúvel em HNO ₃ e álcalis cáusticos.
Arseniato de potássio	7784-41-0	KH ₃ AsO ₄		Solúvel na água fria, (190); Muito solúvel na água quente; Levemente solúvel em glicerol; Solúvel em ácido e amônia.
Arsenito de potássio	10124-50-2	KH(AsO ₂) ₂		Solúvel na água, (389); etanol, e glicerol.
Arseniato de sódio	7778-43-0	AsH ₃ Na ₂ O ₄		Muito solúvel na água; Levemente solúvel em álcool; Insolúvel em éter.
Arsenito de sódio	7784-46-5	AsHO ₂ Na		Muito solúvel em água; Levemente solúvel em etanol.
Arsina	7784-42-1	AsH ₃		Solúvel na água (2,8) a 20 °C; Levemente em álcool e álcalis.

Fonte: WHO, 2001c; WHO, 1992b; WHO, 1981; ATSDR, 2000.

Compostos de arsênio inorgânico são muitas vezes instáveis e em muitos casos, não são materiais bem definidos (WHO, 1992b). Alguns compostos são mostrados na Tabela 1.2.

A maioria dos compostos apresentados na Tabela 1.2. tem cor branca ou é incolor, com exceção do acetoarsenito cúprico (verde paris) e arsenieto

de gálio (cinza). A forma dos compostos geralmente é cristalina e não tem odor, com exceção da arsina e do arsenieto de gálio que, em contato com umidade, expelem odor de alho.

A solubilidade em água dos compostos inorgânicos varia desde insolúvel no caso de arsênio metálico e arsenieto de gálio até bastante solubilidade, como a observado com o ácido de arsênio onde o valor alcança os 3.020 g/l a 12,5 °C, valor que é adotado pela *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR) e pelo *Hazardous Substances Data Bank* (HSBD). Outros solventes onde os compostos mostram-se solúveis são: ácidos, álcalis e etanol.

Nos minerais, o arsênio presente em altas concentrações encontra-se na forma de compostos como arseniato de cobre, chumbo, prata e ouro ou como sulfeto. O arsênio é volatilizado e oxidado durante os processos de calcinação, condensando-se como trióxido de arsênio nas tubulações das fundições (CULLEN, REIMER, 1989; WHO, 2001c).

O trióxido de arsênio (o mais importante composto comercial) é recuperado nas fundições de cobre como um subproduto da produção (NELSON, 1977). A combustão do carvão também produz trióxido de arsênio (SCHROEDER, BALASSA, 1966). A baixa pressão de vapor desse composto a temperatura ambiente, contribui para seu transporte e distribuição devido à difusão do arsênio que atinge a superfície do material fundido, para logo volatilizar-se (WHO, 2001c). Assim como o arsênio metálico, o trióxido de arsênio também sublima a 193 °C.

TABELA 1.3: Compostos orgânicos de arsênio

Nome	No CAS	Fórmula	Estrutura	Solubilidade (g/l)
Ácido metilarsônico	124-58-3	$\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$		Solúvel em água. Solúvel em etanol.
Ácido dimetilarsínico	75-60-5	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$		Muito solúvel em água (660) a 25 °C e etanol; Insolúvel em éter.
Cacodilato de sódio	124-65-2	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{ONa})$		Muito solúvel em água (830) a 22 °C; Solúvel em etanol. Insolúvel em éter.
Óxido de trimetilarsina	4964-14-1	$(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$	$(\text{CH}_3)_3\text{As}=\text{O}$	Solúvel em água.
Arsenobetaína	64436-13-1	$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$		Solúvel em álcool; Solúvel em água.
Arsenocolina	39895-81-3	$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$		Solúvel em água.

Fonte: WHO, 2001c; WHO, 1992a; WHO, 1981; ATSDR, 2000.

Os compostos orgânicos apresentados na Tabela 1.3. são de cor branca e estrutura cristalina. Devido à natureza orgânica destes compostos a maioria apresenta solubilidade em água, embora também possa apresentar solubilidade em etanol e insolubilidade em éter (ácido dimetilarsínico e cacodilato de sódio).

As pontes de arsênio-carbono são bastante estáveis sob várias condições ambientais de pH e potencial de oxidação (QUINN, MCMULLAN, 1995; WHO, 1981). Alguns compostos metilados são encontrados na natureza devido à atividade biológica. Junto a outros compostos orgânicos, como a arsenobetaína e arsecolina, são muito resistentes às degradações químicas (RUOKOLAINEN *et al.*, 2000; WHO, 1981; WHO, 2001c).

CAPÍTULO 2

OCORRÊNCIA NO AMBIENTE

O arsênio encontra-se naturalmente distribuído no ambiente (associado a uma variedade de minerais como enxofre, oxigênio e ferro) em quantidades-traço em rochas, solo e ar (JAIN, ALI, 2000; WHO, 1981; WHO, 2001c). É reconhecida sua participação em vários problemas ambientais, embora as atividades antropogênicas tenham um impacto adicional importante na exposição humana (CROSS *et al.*, 1979; LIU *et al.*, 2002; MORSE *et al.*, 1979; SMEDLEY, KINNBURGH, 2002).

Presença natural do arsênio

O arsênio é o principal constituinte de mais de 200 espécies minerais, das quais aproximadamente 60% são arseniatos, 20% sulfetos e sulfossais e os 20% restantes incluem arsenieto, arsenito, óxidos e arsênio elementar. Os principais minerais contendo arsênio são: arsenopirita (FeAsS), realgar (As_4S_4), ouro-pigmento (As_2S_3), niquelita (NiAs) e cobaltita (CoAsS) (BUCHANAN, 1962; WHO, 1981; WHO, 2001c).

O arsênio apresenta afinidade pelo enxofre, assim, é possível encontrá-lo em depósitos minerais de sulfeto como um mineral isolado ou como um constituinte-traço de outros minerais sulfetados (SMEDLEY, KINNBURGH, 2002; WHO, 2001c).

As concentrações nas rochas ígneas (Tabela 2.1) variam entre <1 a 15 mg As/kg, com um valor médio de 2 mg As/kg. Concentrações similares (<1 a 20 mg As/kg) foram encontradas em rochas arenosas e calcárias enquanto que concentrações mais altas podem ser encontradas em rochas sedimentares argilosas, incluindo folhelho, xisto limonoso e ardósia. Geralmente, a maior quantidade de arsênio é encontrada em rochas

sedimentares próximas a áreas mineralizadas. Até 200 mg As/kg podem estar presentes em rochas fosfatadas (WHO, 2001c).

Nos Estados Unidos, a concentração média de arsênio em carvão foi estimada entre 1 a 10 mg As/kg. Valores de até 1.500 mg As/kg foram encontrados numa mina na ex-Tchecoslováquia e níveis de 100 a 9.000 ppm foram encontrados na província de Guizhou, na China (LIU *et al.*, 2002; WHO, 1981).

TABELA 2.1: Concentrações de arsênio em material rochoso

Tipo de rocha	Concentrações (mg As/kg)
Rocha ígnea	
ultrabásica	0,3 – 16
basáltica	0,06 – 113
andesita	0,5 – 5,8
granítica	0,2 – 13,8
silícica, vulcânica	0,2 – 12,2
Rocha sedimentar	
calcária	0,1 – 20
arenosa	0,6 – 120
folhelho e argilosa	0,3 – 490
fosforita	0,4 – 188
Fonte: Modificado de WHO, 1981.	

O solo não pode ser visto como um meio homogêneo, o conteúdo de arsênio é variável, podendo alcançar altas concentrações (até 55 mg/kg). As camadas de húmus têm um papel importante, pois atuam como uma barreira geoquímica que suprime a percolação do arsênio com a filtração da água e, desta maneira, acumula fortemente o elemento. Altas concentrações de arsênio podem ser encontradas nos solos ricos em carbono devido à forte

ligação existente entre ambos. A quantidade média de arsênio é calculada em 7,5 mg/kg (solos dos EUA), para um intervalo entre 4,5 e 13 mg/kg, embora a estimativa mundial para solos seja de 5 mg/kg (MATSCHULLAT, 2000).

O arsênio é encontrado em corpos aquosos nas formas inorgânicas e orgânicas (WOOLSON, 1977). A relação entre o arsênio inorgânico trivalente e pentavalente em superfícies não poluídas está na faixa de 0,006 a 6,7. Os principais compostos orgânicos, MMA e DMA, estão presentes em pequenas quantidades quando comparadas às formas inorgânicas do arsenito e arseniato (WHO, 1981).

Nos oceanos foram constatadas concentrações médias de arsênio na faixa de 1 a 2 µg/L, e nas águas superficiais não poluídas entre 1 e 10 µg/L (WHO, 2001c). Concentrações mais elevadas são encontradas nas águas superficiais e subterrâneas, com valores entre 100 e 5.000 µg/L nas áreas de mineração de enxofre (QUEIROLO *et al.*, 2000a; WHO, 2001c). Concentrações superiores a 1 mg As/L foram observadas em fontes de água em Taiwan, Bengala Oeste, Vietnã e alguns distritos de Bangladesh (BERG *et al.*, 2001; CHATTERJEE *et al.*, 1995; CHEN *et al.*, 1985; FRISBIE *et al.*, 2002; MAZUNDER *et al.*, 1998; SMITH *et al.*, 2000b; TONDEL *et al.*, 1999).

Vários estudos relatam a presença de altas concentrações de arsênio na água, como no Chile (100 a 1.000 µg/L), no norte do México (até 620 µg/L) e em várias regiões de Argentina (até 11.500 µg/L) (BIAGINI, SALVADOR, 1983; BIGGS *et al.*, 1998; BORGOÑO *et al.*, 1977; BORGOÑO *et al.*, 1980; CONCHA *et al.*, 1998; FERRECIO *et al.*, 1998; FIGUEROA *et al.*, 1987; GÓMEZ – ARROYO *et al.*, 1997; GUATELLI, FERNÍCOLA, 1970; GUATELLI *et al.*, 1973; GUATELLI *et al.*, 1976; HOPENHAYN-RICH *et al.*, 1998; HOPENHAYN-RYCH *et al.*, 1996 a,b,c; JOSEPHSON, 2000; SANCHÁ *et al.*, 1992; TCHERNITCHIN, TCHERNITCHIN, 1991). Em algumas áreas

hidrotermais podem ser encontrados altos níveis de arsênio, como, por exemplo, no Japão (25,7 mg As/L) (WHO, 2001c).

Nos estuários (água, fauna e sedimento) além dos compostos arsenito e arseniato, são encontrados arsenoaçúcares e alguns compostos metilados, embora em baixas temperaturas esses últimos não sejam detectados (WHO, 2001c).

A concentração atmosférica de arsênio em diferentes áreas (remotas, rurais e urbanas) tem sido estudada, obtendo-se diferentes valores que dependem exclusivamente do local onde é realizada a medição. Geralmente, as áreas urbanas apresentam quantidades de arsênio muito superiores às outras duas áreas, devido às características do microclima urbano e à emissão industrial (WHO, 2001c; WHO, 1981). Nas áreas não poluídas, as concentrações de arsênio no ar estão ao redor de poucos nanogramas por metro cúbico (BRIMBLECOMBE, 1979).

A arsenobetaina, isolada e caracterizada em 1977 (LE *et al.*, 1994), é o principal composto arsenial presente em altas concentrações na maioria das espécies marinhas. É considerado um produto final do ciclo do ecossistema (MUNRO *et al.*, 1974; WHO, 2001c).

Em plantas marinhas (algas), a concentração de arsênio é estimada entre 1 e 36 mg/kg. Nos animais marinhos foram encontradas concentrações que variam entre <0,0036 e 166 mg/kg (MATSCHULLAT, 2000).

O conteúdo de arsênio em plantas terrestres de áreas não poluídas pode variar entre 0,01 e 5 mg/kg de peso seco (concentração média de 0,5 mg/kg), enquanto que aquelas que crescem em locais contaminados podem conter níveis mais elevados (> 1 mg/kg). Ainda não existem dados confiáveis sobre as concentrações de arsênio em animais terrestres (MATSCHULLAT, 2000; WHO, 2001c).

Presença antropogênica do arsênio

A presença de arsênio a partir de fontes antropogênicas é provocada por atividades que implicam na exploração de recursos naturais e na utilização de produtos arseniais. A descrição de algumas destas atividades está apresentada na Tabela 2.2.

TABELA 2.2: Descrição de fontes antropogênicas de arsênio

Atividades	Descrição
Combustão a altas temperaturas	O arsênio é capaz de volatilizar-se devido às altas temperaturas alcançadas no processo de combustão, logo após ser liberado à atmosfera ele retorna como cinza (ZENG, SAROFIM, 2001). Exemplos são: usinas geradoras de energia à base de petróleo e carvão, incineração de resíduos e indústrias de cimentos.
Resíduos da agricultura intensiva.	Os compostos metilados são utilizados como herbicidas seletivos para o cultivo de algodão, no tratamento da madeira e controle de pragas em florestas. Na preservação de madeira é conhecido o uso de arseniato de cobre cromatado (CCCA), arseniato de cobre amoniacal (ACA), sais de Wolman, osmossais, arseniato de zinco e cromo (MANDAL, SUZUKI, 2002). Como praguicidas são conhecidos o arseniato de chumbo, arseniato de cálcio, acetoarsenito de cobre, Paris Green, ácido de arsênio, MSMA (Metanoarsenato monossódio) e ácido cacodílico são usados na produção de algodão (MANDAL, SUZUKI, 2002). Atualmente, os praguicidas são produzidos com 50% de arsênio, dos quais 90% está representado por compostos orgânicos (WHO, 2001c).
Compostagem e esterco.	Rejeitos de animais contêm arsênio, uma vez que muitos compostos de arsênio são usados como aditivos em alimentos, tais como ácido de arsênio, 3 – nitro – 4 hidroxi ácido fenilarsônico e 4 - ácido nitro fenilarsônico (MANDAL, SUZUKI, 2002).
Resíduos domiciliares.	Na acumulação de resíduos domiciliares expostos à atmosfera toma contato com dióxido de carbono, possibilitando que o arsênio seja transportado para o solo ou ar (PALFY <i>et al.</i> , 1999).
Produção de vidro	Geração de efluentes líquidos com conteúdo arsenial ou volatilização durante o processo de produção devido a uso de As_2O_3 na manufatura do vidro, provocando exposição ocupacional (MATSCHULLAT, 2000).
Indústria eletrônica	A produção de semicondutores tendo o arsenieto de gálio como matéria-prima gera vapores de arsina, que devem ser controlados para não serem liberados para a atmosfera. Esse processo também produz efluentes líquidos (KAYASTH <i>et al.</i> , 1998).
Produção de minerais	O arsênio é liberado na atmosfera durante o processo metalúrgico de extração de metais não ferrosos (principalmente em minas de cobre). O processo de dissipação, principalmente dos processos primários e secundários de reciclagem, faz com que o arsênio ingresse no solo (HAN <i>et al.</i> , 2003; NELSON, 1977).
Tratamento de metais	O uso de arsênio neste processo produtivo gera efluentes líquidos e resíduos sólidos (HAN <i>et al.</i> , 2003). Exemplos são: a produção de bronze, ligação de cobre e chumbo, uso do pentóxido e trióxido de arsênio como aditivos.
Indústria farmacêutica	Várias preparações medicinais contêm arsênio, por exemplo, solução de Fowler (arsenito de potássio), solução Donovan (arsênio e iodo mercúrio), pílulas asiáticas (trióxido de arsênio e black pepper), solução de Valagin, cacodilato de sódio, Salvarsan, Neoarsfenamina, Mapharsan, Balarsan, Cabarsone entre outros (MANDAL, SUZUKI, 2002). O As_2O_3 tem sido usado no tratamento de leucemia promielocítica aguda.
Outras atividades antropogênicas	Atividades que podem gerar resíduos arseniais são: galvanoplastia, fabricação de munições (endurecimento e melhoramento das características do vó de projéteis) e queima de produtos arseniais (tintas, conservantes de madeiras, praguicidas, pirotecnia, agente secante do algodão, petróleo e reciclagem de dissolventes) (MATSCHULLAT, 2000).

As atividades de fundição geram significativa contaminação na atmosfera (NELSON, 1977). O ar é o principal meio de transporte das emissões de arsênio metálico e de seus sulfetos e óxidos. O tamanho da partícula de arsênio no ar, emitida por processos de combustão, é estimada em 1 μm . A emissão depende dos métodos de filtragem usados nas indústrias. Nas vizinhanças destas indústrias foram encontradas concentrações de arsênio ao redor de 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (WHO, 1981).

No solo, a presença do arsênio de origem antropogênica está relacionada principalmente à agricultura (uso de praguicidas e esterco) e as atividades de mineração e fundição (emissão de trióxido de arsênio das fundições e compostos de arsênio em efluentes líquidos e sedimentos). As emissões podem persistir como fontes secundárias de arsênio por décadas e séculos. O trióxido de arsênio nas camadas superficiais do solo pode afetar a raiz, o crescimento das plantas e causar a morte de minhocas.

São duas as principais formas de contaminação da água por atividades antropogênicas: uma direta, por descarga de efluentes nos corpos de água, aumentando a concentração do arsênio nesse meio e no sedimento e a outra indireta, por processos de lixiviação que ocorrem no solo, liberando arsênio nas águas subterrâneas. (WHO, 2001c).

O nível da concentração de arsênio encontrado no ambiente e nos locais de trabalho é variável, embora atualmente existam valores típicos adotados principalmente para locais onde se supõe que não existam evidências de contaminação antropogênica. Dados comparativos de concentrações naturais e antropogênicas são mostrados na Tabela 2.3.

TABELA 2.3: Níveis de concentração de arsênio em compartimentos terrestres

NATURAL		ANTROPOGÊNICA
Valor típico para áreas remotas 0,2-1,5 ng/m ³	Ar	Valor típico para áreas urbanas 0,5 – 3,0 ng/m ³ Valor típico para áreas industriais < 50 ng/m ³ Próximos a indústrias > 1.000 ng/m ³
Chuva em áreas rurais < 6 µg/L Chuva em sítios remotos < 1 µg/L Valor típico em oceanos 1 – 2 µg/L Valor aceito para lagos e rios < 10 µg/L Águas subterrâneas 1 – 2 µg/L Águas subterrâneas próximas a depósitos vulcânicos e minerais sulfetos até ~ 3.400 µg/L Sedimento por enriquecimento natural 15 – 50 mg/kg	Água	Chuva próximos a indústrias > 6 µg/L Rios e lagos próximos a indústrias ~ 5 µg/L até algumas dezenas de mg/L Águas subterrâneas com evidência de fonte industrial Algumas dezenas de mg/L Sedimentos água (doce e marinha) próximos a indústrias ~5 – 10.000 mg/kg Sedimentos de planta de tratamento (EUA) média 9,8 mg/kg
Valor típico 1 – 40 mg/kg	Solo	Resíduos de mineração ou fabricação de pesticidas Poucos mg/kg até ~ 30.000 mg/kg Agricultura Até ~ 150 mg/kg
Valor típico em plantas de água doce < 10 mg/kg Macroalgas marinhas em oceano ~ 5 – 75 mg/kg Plantas terrestres solos não contaminados 0,02 – 5 mg/kg Plantas terrestres sítios remotos ~ 100 µg/kg Áreas geotérmicas ~1 - < 1000 mg/kg	Flora	Flora terrestre próximo a indústrias ~ 1 – 6.700 mg/kg Plantas aquáticas água doce local descarga efluente < 2.500 mg/kg Macroalgas marinhas com sítios afetados por contaminação ~ 1 – 150 mg/kg
Peixes água doce próximo a vulcão ~ 0,30 mg/kg (peso úmido)	Fauna	Macrófitos (água doce) próximo a locais contaminadas ~ 150 – 3.700 mg/kg (peso seco) Bivalves (água doce) próximo a locais de descarga ~ 3 – 14 mg/kg (peso seco) Peixes de água doce próximo a fundições de cobre 0,05 – 0,24 mg/kg Bivalves (mar) ~ 1 – 1.000 mg/kg Valor típico peixes (mar) < 1 - < 10 mg/kg Minhocas (solo) < 10 mg/kg (peso úmido) Pássaros < 0,1 - < 17 mg/kg Mamíferos < 100 mg/kg
	Ocupacional	Fundição de cobre (Suécia, 1950) 0,06 – 2 mg/m ³ Fundição de cobre (Suécia, 1970) 0,002 – 0,23 mg/m ³ Fundição de cobre (EUA, 1976) 0,003 – 0,3 mg/m ³ Fundição de cobre (Suécia, 1986) 1 – 194 µg/m ³ Tratamento de madeira (1992) 0,54 – 3,1 µg/m ³ Geração de energia (1997) 0,17 – 375,2 µg/m ³

Padrões em relação à fonte podem ser adotados com respeito à magnitude da concentração de arsênio no local de estudo. Assim, por exemplo, a existência de uma fonte geotérmica, vulcânica ou industrial (zonas de mineração ou fabricação de produtos arseniais) pode gerar efluentes, resíduos e emissões atmosféricas, sendo explicada assim, a presença de altas concentrações de arsênio no meio ambiente.

Podem também ocorrer situações onde não se constata de forma clara a causa da presença do elemento; nesse caso é necessário pesquisar

a história do local e da sua vizinhança (procurar evidências sobre atividades industriais já abandonadas), como também as condições meteorológicas que podem trazer informações sobre a origem dessa contaminação.

Atualmente a exposição humana a arsênio é explicada principalmente pela intervenção antropogênica no meio, de maneira que a aplicação de tecnologias que ajudem a diminuir as concentrações dos compostos arseniais no ambiente provavelmente configurarão um cenário com uma concentração menor de arsênio minimizando seus efeitos nocivos.

Balanco do arsênio na geosfera

O trabalho feito por MASTCHULLAT (2000) mostrou como o arsênio fica distribuído entre os diferentes elementos do ecossistema (Figura 2.1). Os dados disponíveis para a quantidade estimada em cada elemento, os ingressos e egressos, são apresentados na Tabela 2.4.

Figura 2.1: O arsênio no ambiente¹

¹ Fonte: Adaptado de MATSCHULLAT, 2000

TABELA 2.4: Balanço do arsênio no ecossistema

	Quantidade Estimada	Ingressos (x 10 ⁷ kg/ano)	De	Egressos (x 10 ⁷ kg/ano)	De
Litosfera	Crosta terrestre 4,01 x 10 ¹⁶ kg	4,64 – 10,4	Sedimentação dentro da bacia marinha	1,715	Emissões e erupção vulcânicas
		3,82	Movimento das placas terrestres	0,487	Atividade vulcânica submarina
Solo	0,6 – 1,7 x 10 ¹² kg	2,84 – 9,4	Deposição de resíduos	1,8	Degradação e erosão para as águas superficiais e subterrâneas
				0,016 – 2,62	Volatilização dos compostos orgânicos de arsênio em baixa temperatura
Hidrosfera	Massa total de arsênio no mar é de 4,89 x 10 ¹² kg. (3,7 µg As/L)	0,487	Atividade vulcânica submarina	0,027	Aerossóis marinhos
		0,28 – 0,80	Emissão Atmosférica	4,64 – 10,4	Sedimentação dentro da bacia marinha
	Valores ajustados a 2,38 - 5,18 x 10 ¹² kg (1,7 µg As/L)	1,8	Degradação e erosão para as águas superficiais e subterrâneas	3,82	Movimentos das placas terrestres
		12,5	Efluentes Industriais		
Atmosfera	O valor médio do arsênio armazenado na atmosfera é de 1,74 x 10 ⁶ kg	0,016 – 2,62	Liberação devida à baixa temperatura de volatilização do arsênio nos solos	2 – 7,36	Deposição Hemisfério Norte
				0,76 – 4,3	Deposição Hemisfério Sul
	1,48 x 10 ⁶ kg (85%) está distribuído no hemisfério norte e 0,26 x 10 ⁶ kg (15%) no hemisfério sul	2,47	Fontes antropogênicas	0,22	Deposição Oceano Hemisfério Norte
		0,027	Aerossóis marinhos	0,06	Deposição Oceano Hemisfério Sul
		0,0125 – 0,3345	Desmatamento de florestas tropicais, incêndio de pradarias, uso de madeira como combustível e desmatamento de savanas e bosques	(0,2 - 0,5) (0,13 – 0,3)	Outra Fonte Deposição Oceano Arsênio dissolvido Arsênio particulado
Biosfera		1,715	Emissões e erupção vulcânicas	0,0125 – 0,3345	Desmatamento de florestas tropicais, incêndio de pradarias, uso de madeira como combustível e desmatamento de savanas e bosques
Fontes Antropogênicas		3,0453	produção anual (1995)	2,47	Fundição de metais não- ferrosos e a produção de energia com combustíveis fósseis, manufatura e uso de praguicidas arseniais e preservantes de madeira, fundição de chumbo e zinco, produção de vidro, incineração de resíduos e produção de aço
				2,84 – 9,4	Resíduos
				12,5	Efluentes

Fonte: MASTCHULLAT, 2000.

Na Tabela 2.4 pode-se notar que, em ordem decrescente, a massa de arsênio encontra-se na litosfera, hidrosfera, solo e atmosfera. Valores para a biosfera e fontes antropogênicas não estão disponíveis por carecerem de valor médio para a concentração de arsênio.

O contrabalanceamento entre os ingressos e egressos anuais deve-se, segundo MASTCHULLAT (2000), a subestimativa das emissões vulcânicas e desconhecimento da quantidade de arsênio liberado no solo por interperismo da litosfera e às diferentes estimativas da massa que ingressa por fontes naturais na atmosfera. Um ponto a ressaltar é a maior liberação anual de arsênio como resíduos e efluentes quando comparada à sua produção. Esta diferença existe porque muitas destas descargas estão associadas aos rejeitos produzidos por fontes de mineração indiretas como a do cobre.

CAPÍTULO 3

TRANSPORTE, DISTRIBUIÇÃO E TRANSFORMAÇÃO NO MEIO AMBIENTE

O arsênio apresenta um ciclo entre os diferentes componentes do meio ambiente. Sua mobilidade e transformação dependem de fenômenos naturais como vento, chuva, calor, sismos, presença de atividade biológica, elementos químicos e matéria orgânica, além das atividades antropogênicas. O transporte, distribuição e transformação de arsênio são revisados nos itens a seguir ar, solo, água e meio biótico.

Ar

A presença do arsênio na atmosfera deve-se principalmente aos processos de alta temperatura que acontecem na Terra (Figura 3.1). Estes processos derivam de erupções vulcânicas, combustão de floresta e atividades industriais relacionadas com a combustão de materiais ou minerais contendo arsênio. Outros processos que liberam arsênio para a atmosfera são: volatilização do solo (principalmente na forma de arsina) e os que acontecem nos oceanos, que liberam arsênio na forma de aerossóis (BRIMBLEMCOMBE, 1979; WHO, 2001c).

O arsênio é encontrado no ar principalmente como trióxido de arsênio (As_2O_3) e menos freqüentemente na forma de compostos voláteis. O arsênio encontra-se principalmente como material particulado e como uma partícula fina ($< 2,5 \mu\text{m}$). As análises realizadas em diferentes locais (principalmente urbanos) mostram que a quantidade de partícula fina no material particulado total varia de 68 a 75%. A proporção de As(III)/As(V) em partículas finas e grossas é 1 (WHO, 2001c).

O tamanho da partícula indica que o arsênio pode permanecer na atmosfera provavelmente por períodos de meia vida maiores devido a estar

principalmente como partícula fina. É importante levar em consideração este fato para setores afetados por emissões de arsênio devido ao potencial de inalação respiratória. A meia vida do arsênio no ar, para alguns autores, é de 7 a 10 dias (BRIMBLECOMBE, 1979; MATSCHULLAT, 2000).

O arsênio presente na atmosfera regressa à terra principalmente através da chuva e vento por deposição seca ou úmida (BRIMBLECOMBE, 1979; CULLEN, REIMER, 1989). Algumas estimativas feitas na Europa indicam que a deposição seca ocorre na faixa de 29-55% do total do arsênio que retorna. A concentração medida em alguns locais não ultrapassa $300 \mu\text{g}/\text{m}^2$, com uma velocidade de deposição (seca e úmida) calculada de $0,4 \text{ cm/s}$ (WHO, 2001c).

Figura 3.1: Esquema do ciclo do arsênio na atmosfera

Solo

A erosão devido a vento e a água permitem que o arsênio seja transportado através do solo. A mobilidade é controlada pela quantidade e qualidade de argila, presença de fosfato e molibdênio, óxidos de ferro, alumínio, cálcio e manganês e também pela matéria orgânica (WHO, 2001c).

Arseniato é o composto inorgânico predominante de arsênio no solo em condições de oxidação (MANNING, GOLDBERG, 1996). Os compostos inorgânicos que são encontrados em solução no solo incluem H_2AsO_4^- , HAsO_4^{2-} e AsO_4^{3-} (estado de valência 5+) e H_3AsO_3 , H_2AsO_3^- e HAsO_3^{2-} (estado de valência 3+). As formas orgânicas que podem ser encontradas no solo são: metilarsonato ($\text{CH}_3\text{AsO}_3^{2-}$) e dimetilarsonato ($(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2^-$), como resultado da atividade de metilação microbiana de arsênio inorgânico. A formação de arsinas também ocorre devido à atividade microbiana (ONKEN, ADRIANO, 1997).

Acredita-se que o arsênio está ligado principalmente ao ferro, depois ao cálcio ou ao alumínio e ao manganês. Portanto, em solos ácidos a sorção de arsênio será predominantemente por íons de ferro e alumínio ao invés do cálcio, enquanto em solos alcalinos (calcários) a sorção é devido aos íons de cálcio em vez do ferro e alumínio (ADRIANO, 1986; CULLEN, REIMER, 1989).

Devido à sua similaridade química, arsênio e fósforo comportam-se da mesma forma em solos, formando compostos insolúveis com alumínio, ferro e cálcio. Ambos pertencem ao mesmo grupo químico, apresentando constantes de dissociação comparáveis para seus ácidos e solubilidade de seus sais. O fósforo e molibdênio competem pelos sítios de adsorção de arsênio (ADRIANO, 1986; CULLEN, REIMER, 1989; MANNING, GOLDBERG, 1996).

Os compostos de arsênio no solo resultam de vários processos relacionados com o pH, o potencial de oxirredução (Eh) e atividade biológica (WOOLSON, 1977). Sabe-se que o pH permite diferenciação dos compostos do arsênio para Eh constante, e também desempenha um papel importante sobre a mobilidade do arsênio no solo, já que afeta a adsorção do arsênio com colóides (ferro, manganês, alumínio, argila, carbonato de cálcio ou matéria orgânica). Mudanças de pH podem provocar a liberação de

compostos de arsênio (ficando biodisponível) os quais podem ser biotransformados, adsorvidos ou até lixiviar-se (ADRIANO, 1986; HESS, BLANCHARD, 1976; WHO, 2001c).

O potencial de oxirredução limita a forma química do arsênio no solo segundo seu valor. No caso de meios oxidantes (aeróbicos – alto potencial de oxirredução) a presença de arseniato é predominante, não sendo assim em meios reduzidos (anaeróbicos – baixo potencial de oxirredução), onde predomina arsenito. Para uma faixa de Eh 0,2 – 0,5 V (alto potencial) a solubilidade de arsênio é baixa, enquanto que para a faixa de Eh 0 – 0,1 V a solubilidade estaria controlada pela dissolução de óxidos/hidróxidos de ferro, onde arsênio é liberado à solução. Em condições de – 0,2 V (baixo potencial) arsênio é solúvel (DEUEL, SWOBODA, 1972; WHO, 2001c).

Como resultado da atividade biológica (Figura 3.2) as formas de arseniato e arsenito podem ser reduzidas, oxidadas, biometiladas e convertidas para várias formas mais reduzidas (como arsinas). Vários estudos mostram que o arsênio volatilizado (arsina) a partir do solo, equivale a 12 – 35% do arsênio presente no solo (WHO, 2001c; WOOLSON, 1977). A atividade biológica pode chegar a influir fortemente na transformação de formas químicas e mobilização, mas os processos dependem muito da quantidade de microorganismos e nutrientes existentes no meio (TURPEINEN *et al.*, 1999).

Outro aspecto que deve ser considerado no momento de avaliar a mobilização e a disponibilidade dos compostos de arsênio é a presença de elementos. O ferro tem um papel importante devido a sua grande superfície de carga, permitindo a adsorção do arsênio ou a biodisponibilidade deste devido às mudanças no pH. SAKATA (1987) mostrou, em seu estudo sobre solos contaminados, no Japão, que a adsorção de arsenito é controlada por óxidos de ferro amorfo, fato também mostrado por BOWELL (1994), com a presença de óxidos e oxiidróxidos de ferro favorecida em pH neutro.

estudo, as fontes de contaminação e o tipo de textura do solo fazem com que a biodisponibilidade seja diferente em cada safra.

Com relação à matéria orgânica, esta afeta a adsorção de arsênio principalmente porque pode favorecer as reações de oxirredução entre compostos químicos. Como a matéria orgânica tem um comportamento similar ao fósforo, em presença de arsênio ela libera os sítios de adsorção para o arsênio (REDMAN *et al.*, 2002).

A meia vida do arsênio também varia com o tipo de solo, já que depende das propriedades físico-químicas e biológicas do meio. Dados indicam que a retenção pode variar de milhares de anos até curtos períodos (MATSCHULLAT, 2000; WHO, 2001c).

A Figura 3.3 apresenta um esquema dos processos que ocorrem no ciclo do arsênio no solo.

Figura 3.3: Processos do ciclo do arsênio no solo

Água

As águas que derivam de precipitações (chuva e neve) contribuem com pouco arsênio para os corpos de água superficial ou subterrânea, a menos que existam fontes industriais que contaminem o ar nessa zona e por consequência as águas de chuva.

Nos rios, a concentração de arsênio varia de acordo com a contribuição do fluxo e o leito. É possível que altas concentrações de arsênio possam ser encontradas em áreas onde existe uma contribuição de fontes geotérmicas e águas subterrâneas com alto conteúdo de arsênio e descarga desde efluentes industriais e domiciliares.

A presença de arsênio nos oceanos depende da deposição atmosférica, descarga dos rios (naturais ou antropogênica), transporte como arsênio dissolvido desde estuários e da mobilização posterior que se pode produzir a partir do sedimento marinho (BRIMBLECOMBE, 1979; WHO, 2001c).

No oceano, existe uma zona oxigenada e uma não oxigenada, sendo que na primeira encontra-se principalmente arseniato (HAsO_4^{2-}) e na segunda o arsenito (H_3AsO_3), mas arseniato também pode ser encontrado em zonas pouco oxigenadas, por exemplo o fundo do oceano (LE *et al.*, 1994; WHO, 2001c).

A distribuição do arsênio em lagos é diferenciada em arseniato para a zona epilimnio (zona oxigenada), na razão de arseniato:arsenito de 15:1, e arsenito para a zona hipolímnio (zona com pouco oxigênio), com uma razão para a concentração de arseniato:arsenito de 1:12 (WHO, 2001c).

O arsênio, por ter afinidade com o ferro e manganês, pode flocular e passar da água (rios, lagos, estuário e oceano) para o sedimento e vice-versa. Considera-se que o sedimento nos estuários acumula aproximadamente 30 a 55% do total de arsênio que ingressa e estima-se que a quantidade de arsênio mobilizada seja menor que 7% (AHMANN *et al.*, 1997; WHO, 2001c). Um trabalho, sobre mobilização do arsênio em sedimentos do mar do Japão, mostra que a degradação da matéria orgânica tem influência no comportamento do elemento no meio, e que o enriquecimento com Fe e Mn causou a acumulação de arsênio (MINAMI, KATO, 1997).

Na água intersticial do sedimento acredita-se que o arsênio está presente ligado a oxiidróxido férrico ou associado a óxidos de manganês (BRANNON, 1987; CULLEN, REIMER, 1989). No sedimento também existe o potencial para liberar o arsênio que vai para as águas subterrâneas na forma de arsenito (RUOKOLAINEN *et al.*, 2000; WHO, 2001c).

A presença dos compostos de arsênio na água e no sedimento depende do conteúdo de argila, matéria orgânica e elementos, tais como: ferro, alumínio e manganês. A distribuição dos compostos de arsênio na água se dá da seguinte forma: principalmente arseniato, quando existem condições aeróbicas, ou arsenito quando as condições são anaeróbicas; em ambas as condições há presença de MMA e DMA (WOOLSON, 1977; WHO, 2001c).

Os processos que afetam a transformação dos compostos de arsênio são as mudanças no estado de oxidação, que dependem das condições de pH e potencial de oxirredução (Eh). Os processos biológicos também influenciam na forma química e na distribuição do arsênio (CULLEN, REIMER, 1989; WOOLSON, 1977; WHO, 2001c).

Figura 3.4: Diagramas pH – Eh: a) As – H₂O (BOWELL, 1994) e b) As – H₂O – S (FERGUSON, GAVIS, 1972), os parêntese indicam fase sólida de arsênio e as linhas quebradas indicam os compostos insolúveis

O diagrama Eh – pH na Figura 3.4 representa o comportamento da forma química do arsênio em um sistema de água-arsênio (H₂O-As) e água-arsênio-enxofre (H₂O-As-S). O notável destes diagramas é que pode-se observar como o enxofre (S) é capaz de mudar a mobilidade do arsênio, gerando compostos mais insolúveis. Análises similares podem ser feitas com outros elementos (ferro, alumínio, manganês, cálcio). Os estados (3- e 0) não são considerados, uma vez que todas as mudanças esperadas no meio podem ser derivadas da análise dos estados 3+ e 5+, considerados termodinamicamente mais estáveis.

Assim, compostos inorgânicos do arsênio podem ser previstos conhecendo-se o valor do pH e Eh do meio. Os compostos organoarseniais são termodinamicamente instáveis, de maneira que é difícil prever sua transformação no meio (CULLEN, REIMER, 1989; FERGUSON, GAVIS, 1972; MASSCHELEYN *et al.*, 1991).

RUOKOLAINEN *et al.* (2000) verificaram as relações entre Eh e pH numa experiência de laboratório, demonstrando que o arseniato é o composto predominante em zonas aeróbicas do solo, água e sedimento (água intersticial do sedimento), mas não identificando arsenito nas zonas mais reduzidas da água. Porém, o sedimento apresentava uma concentração de arsenito muito mais alta que de arseniato. Isto, contudo, pode estar associado ao fato da experiência não ter reproduzido a situação real.

O Eh afeta a disponibilidade do arsênio, fazendo com que os compostos aniônicos pentavalentes ou trivalentes do arsênio no meio possam ser adsorvidos, precipitados ou co-precipitados. Sabe-se que as espécies trivalentes de arsênio são mais solúveis e se adsorvem menos que as pentavalentes (MAGALHÃES, 2002; MENG *et al.*, 2001). BOWELL (1994) e DEUEL e SWODOBA (1972) mostraram como a solubilidade do arsênio (As(III)) aumenta a medida que o Eh diminui. Outro estudo mostrou que em condições de moderada redução, as concentrações de arsênio na água subterrânea são controladas por adsorção e não por precipitação (CLEMENT *apud* MARINER *et al.*, 1996).

Mudanças no pH modificam os compostos de arsênio no mesmo estado de oxidação. Os principais compostos de arseniato (As (V)) estão unidos aos óxidos quando a superfície do mineral está positivamente carregada para $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$ (pH para o ponto zero da carga superficial que depende do mineral), sendo o mecanismo de adsorção a atração eletrostática ou troca iônica. DIXIT e HERING (2003) mostraram como a adsorção de arsenito e arseniato acontece nos minerais de óxido de ferro e caracterizaram limites de adsorção máxima para uma faixa de pH. Assim, evidenciaram que o arsenito tem mais mobilidade que o arseniato.

A presença de oxiidróxido férrico (FeOOH), $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$ e temperatura permitem controlar a adsorção do arseniato sobre elementos (ferro,

alumínio, manganês, cálcio) e matéria orgânica. Sabe-se que a adsorção aumenta com o aumento do pH até o pH_{pzc} , entretanto o aumento da temperatura faz com que a adsorção de arseniato diminua (WOOLSON, 1977; WHO, 2001c). Também foi observado que a adsorção dos compostos metilados diminui na presença de oxidróxido férrico e aumento de pH (WHO, 2001c). A adsorção afeta a disponibilidade do arsênio e é um processo importante para o desenho de tecnologias para a remoção do elemento. Um esquema das principais características do ciclo do arsênio na água doce é mostrado na Figura 3.5.

A variação sazonal tem efeito sobre a mobilidade de arsênio na água (SOHRIN, MATSUI, 1997). Foi visto que no verão a concentração de arsênio na água se eleva, pelo fato da atividade biológica aumentar devido à maior presença de luz e oxigênio, sendo que no inverno a quantidade de arsênio diminui, pela menor atividade biológica. Estima-se que no inverno no mar possa-se encontrar até 20% de arsênio dissolvido e cerca de 50% no verão (WHO, 2001c).

Figura 3.5: Esquema do ciclo de arsênio em água doce.

Nos lagos, a maior parte das formas reduzidas do arsênio (presentes no epilimnio) são oxidadas para arseniato que precipitam, co-precipitam ou se adsorvem em compostos de ferro ou alumínio. Logo passam através da zona termoclina (zona de transição entre o epilimnio e hipolimnio) por dispersão turbulenta ou por convecção, sofrendo uma redução a $HAsO_2$ e

AsS_2^- na zona hipolímnio, dependendo da concentração de enxofre e potencial de oxirredução (FERGUSON, GAVIS, 1972; WOOLSON, 1977; WHO, 2001c).

No sedimento de lagos ocorrem os seguintes processos: solubilização ou estabilização como sulfeto insolúvel ou como arsênio metálico, metilação microbiana e redução para arsina, processo que solubiliza o arsênio permitindo a difusão podendo derivar no reingresso do arsênio na água por simples mistura ou por intermédio da biota no sedimento (AHMANN *et al.*, 1997; FERGUSON, GAVIS, 1972; WHO, 2001c). Estes processos no sedimento dependem do tipo e características da biota e na qualidade da água. Um esquema do ciclo do arsênio em lagos é mostrado na Figura 3.6.

Figura 3.6: Esquema do ciclo do arsênio em lagos³

Nos estuários, a presença dos compostos de arsênio depende principalmente da quantidade de matéria orgânica e atividade biológica. A ação biológica pode gerar um ciclo de oxirredução, além dos compostos metilados (CULLEN, REIMER, 1989; JOHNSON, 1972; WHO, 2001c).

Nos oceanos o arsênio é transformado principalmente na zona fótica (presença de luz solar), devido à maior atividade biológica (fitoplâncton) que

³ Fonte: Adaptado de FERGUSON e GAVIS, 1972.

permite metilar e reduzir o arsênio. O arsênio é mobilizado para o sedimento marinho como rejeito biogênico, através de adsorção e precipitação com o oxihidróxido férrico (EDMONDS, FRANCESCONI, 1987; WHO, 2001c). No sedimento marinho, a presença de organismos invertebrados tem um papel importante para a liberação de arsênio de volta para a água, já que foi visto que em meios sem presença da fauna não existe liberação (WHO, 2001c). A Figura 3.7 apresenta um esquema para o ciclo do arsênio no oceano.

Figura 3.7: Esquema do ciclo do arsênio no oceano

Na água subterrânea os óxidos de ferro são os principais absorventes devido a sua grande abundância e forte afinidade por arsênio, contudo, óxidos de alumínio em grande quantidade podem ter um importante papel na adsorção.

As altas concentrações de arsênio em aquíferos estão associadas a três principais fatores:

i) à fonte de arsênio, geralmente de características geológicas ou industriais. Quando estas fontes são associadas a óxidos de ferro o arsênio encontra-se imobilizado, mas mudanças nas condições geoquímicas podem provocar sua mobilização.

ii) à mobilização, provocada por uma desorção devido a mudanças nas condições de oxirredução. Outros fatores de desorção têm relação com

a diminuição da área superficial ou dissolução dos óxidos minerais onde acontece a adsorção.

iii) ao transporte, refere-se à quantidade da água que toma contato com o arsênio liberado na fase sólida para o aquífero, de maneira a determinar a taxa de arsênio que não é adsorvido pelos outros elementos presentes no meio.

Altas concentrações em água subterrânea são encontradas nos poços de Bangladesh ($< 0,5$ a $3.200 \mu\text{g/L}$), onde as características geológicas e o ambiente reduzido favorecem a mobilização de arsênio. A mobilização acontece provavelmente por uma complexa combinação de mudanças de oxirredução devido a uma rápida carga desde o sedimento. Estas mudanças são explicadas pela redução de arsênio para As(III), desorção de As(III) de óxidos de ferro e dissolução dos óxidos de ferro que provocam uma adicional liberação de arsênio (SMEDLEY, KINNIBURGH, 2002).

Em meios mais oxidantes (México, Argentina e Chile) o arsênio presente na água subterrânea é predominantemente arseniato já que o pH neutro ou mais alto é acompanhado por alta salinidade (Chile e Argentina). No sedimento desses aquíferos o arsênio encontra-se associado a óxidos e hidróxidos de ferro e manganês (SMEDLEY, KINNIBURGH, 2002).

Meio biótico

A biotransformação dos compostos de arsênio ocorre principalmente por três processos. Primeiro oxirredução, onde, por exemplo, há bactérias aquáticas que são capazes de oxidar o arsenito. No entanto, o processo contrário ocorre freqüentemente, tanto em condições aeróbicas como anaeróbicas (JOHNSON, 1972). O segundo processo é a metilação, que é o mais conhecido e extensamente utilizado por microorganismos, bactérias, fungos, animais e seres humanos. É necessário que aconteça a metilação

para que ocorra o processo de biossíntese de compostos organoarseniais, característico de alguns organismos marinhos, bactérias e microorganismos (GOYER, CHERIAN, 1995; WHO, 2001c).

Outros processos interessantes que ocorrem na biota são a bioconcentração, que é a capacidade do organismo acumular arsênio nos tecidos, e a biomagnificação, que tem sido observada na cadeia alimentar de animais aquáticos, mas é pouco significativa (KUBOTA *et al.*, 2001).

a) Oxidação

Não é um processo comum (os primeiros casos foram descritos em 1918), porém foi observado em ambientes aquáticos. Embora as taxas de oxidação sejam geralmente baixas, estudos realizados com bactérias mostraram a oxidação do arsenito. Alguns exemplos são: *Pseudomonas fluorescens-arsenoxydans*, *Pseudomonas ácidovorans* – *arsenoxydans*, *Alcaligenes* (*Achromobacter*) isolada do solo. O mineral As_2S_3 é oxidado por *Ferrobacillus ferrooxidans*. No caso de água do mar, a presença de arseniato nas zonas que comumente apresentam arsenito (zonas anaeróbicas) indica a ocorrência dessa oxidação (CULLEN, REIMER, 1989; WHO, 2001c).

b) Redução

É um processo regularmente produzido por organismos presentes na água, no sedimento e no solo, resultando na produção de arsenito e arsina. Existem vários exemplos da redução do arseniato–arsenito e arsenito–arsina: cianobactéria (*Phormidium* sp.), bactéria (*Anabaena oscillaroides*), bactéria anaeróbica (*Chrysiogenes arsenatis*), macroalgas marinhas, fitoplâncton, fungos que produzem arsina no solo, *Pseudomonas fluorescences* em condições aeróbicas, flora intestinal de ratas, *Pseudomonas* e *Alcaligenes*,

que reduzem arsenito a arsina em condições anaeróbicas (AHMANN *et al.*, 1994; CULLEN, REIMEN, 1989; JOHNSON, 1972; WHO, 2001c).

c) Metilação

Em microorganismos, a metilação foi observada há 150 anos, porém os trabalhos pioneiros de Challenger e seus colaboradores demonstraram que os microorganismos poderiam metilar o arsênio produzindo espécies voláteis (CHALLENGER, 1945; CHALLENGER, 1951; CHALLENGER, ELLIS, 1935; CHALLENGER *et al.*, 1933; CHALLENGER, HIGGINBOTTOM, 1935).

Figura 3.8: Processo de metilação em microorganismos⁴

Exemplos de espécies de microorganismos que metilam arsênio são: fungos; *Scopulariopsis brevicaulix*, *Cândida humicola*, *Gliocadium roseum*, *Penicillium* sp., bactérias; *Methanobacterium*, *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Proteus* sp., *E. coli* sp., *Achromobacter* sp., *Aeromonas* sp., *Enterobacter* sp., *Norcardia*, *B. coli communis*, *B. lactis aerogenes*, *Veillonella alcalescens*, *Bacillus subtilis*, entre outros (CHALLENGER, HIGGINBOTTOM, 1935; CULLEN, REIMER,

⁴ Fonte: Modificado de MUKHOPADHYAY *et al.*, 2002.

1989; MCBRIDE, WOLFE, 1971). MUKHOPADHAYAY *et al.* (2002) resumiram o processo de metilação nos microorganismos (Figura 3.8).

No caso dos organismos marinhos, a metilação pode ser observada em algas e no fitoplâncton onde foram observadas a presença de MMA, DMA e óxido trimetilarsina (BENSON, 1989; COONEY *et al.*, 1978; IRGOLIC *et al.*, 1977). Em tecidos de lagosta foi observada a presença de trimetilarsina (EDMONDS, *et al.*, 1977; EDMONDS, FRANCESCONI 1977). A resultante da biossíntese dos compostos inorgânicos de arsênio são arsenolipídios e arsenoaçúcares (EDMONDS, FRANCESCONI, 1981; EDMONDS, FRANCESCONI, 1987; FRANCESCONI *et al.*, 1998; LUNDE, 1977; LE *et al.*, 1994). Um esquema complementar (Figura 3.9) é apresentado por MUKHOPADHYAY *et al.* (2002), nele pode-se notar como os compostos organoarseniais participam do ciclo do arsênio no oceano.

Figura 3.9: O ciclo geológico do arsênio⁵

Na biota, o processo de metilação ocorre sem evidências claras que modifiquem a mobilização do arsênio. O estudo de TURPEINEN (1999)

⁵ Fonte: Adaptado de MUKHOPADHYAY *et al.*, 2002; FRANCESCONI *et al.*, 1998.

mostra que os microorganismos melhoram a lixiviação, mas só na presença de uma fonte de carbono (glicose). Os processos de oxirredução interagem com o meio, mudando o equilíbrio em solução (quando há muita atividade) e liberando principalmente arsênio por volatilização (CULLEN, REIMER, 1989). A extração de arsênio do solo e da água pode ser conseguida por plantas ou macroalgas capazes de bioconcentrar o elemento.

A metilação do arsênio em animais de experimentação e humanos é apresentada no Capítulo 4.

d) Bioconcentração

Em microorganismos existem evidências de bioconcentração em cianobactérias (*Nostoc* sp., *Anabaena variabilis*), fitoplâncton (*Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudomonas*, *Dunaliella tertiolecta*) e algas (*Chlorella vulgaris*). A característica principal de todas estas espécies é que, dependendo da concentração a que estão expostas, conseguem acumular tudo ou só parte da concentração total do composto arsenial (CULLEN, REIMER, 1989; THIEL, 1988; WHO, 2001c).

Em macroalgas, as espécies como *Fucus vesiculosus*, alga filamentosa, planária, *Hydrilla verticillata*, *Phormidium* sp., acumulam arsênio (MATSUTO *et al.*, 1984). Observa-se que na *Hydrilla verticillata* a presença de fosfato inibe a ingestão do arsênio (WHO, 2001c).

Invertebrados aquáticos, como as ostras, apresentaram bioconcentração de arsênio após terem sido alimentadas com fitoplâncton contaminado. A concentração de arsênio no organismo aumenta na medida em que aumenta a concentração no fitoplâncton e parece que este alimento contribui mais que o arsênio dissolvido na água (BENSON, SUMMONS, 1981; KAISE *et al.*, 1998; SUÑER *et al.*, 1999). Foi observado também a bioconcentração em camarões (WHO, 2001c).

O arsênio transportado por algumas espécies marinhas, por meio da cadeia alimentar, é utilizado para biotransformação e produção da arsenocolina ou arsenobetaína (EDMONDS, FRANCESCONI, 1987; MUKHOPADYAY *et al.*, 2002).

Em peixes, a principal forma química de arsênio encontrada é a arsenobetaína, geralmente em altas concentrações. Estima-se que peixes e invertebrados marinhos acumulam 99% de arsênio na forma orgânica (CULLEN, REIMER, 1989; MUKHOPADYAY *et al.*, 2002).

Plantas terrestres podem acumular arsênio do solo, principalmente nas partes comestíveis (WALSH *et al.*, 1977). Cenoura, rabanete, espinafre, feijão e tomate são alguns exemplos de produtos agrícolas que acumulam arsênio nas partes comestíveis. Os estudos de SANCHÁ *et al.* (1992) e QUEIROLO *et al.* (2000b) mostraram que a batata, acumula arsênio, sendo que na casca da batata se concentra a maior quantidade do arsênio total.

Em geral, as plantas terrestres acumulam arsênio devido à exposição industrial, que atua diretamente no ambiente, embora a ação vulcânica também possa gerar este efeito (QUEIROLO *et al.*, 2000b). Algumas espécies são tolerantes e outras podem ser afetadas consideravelmente no crescimento, por exemplo o arroz (CHRISTEN, 2001a; EPPS, STURGIS, 1939).

Em aves, tratadas ou alimentadas com compostos arseniais, foi observado que os tecidos musculares e o fígado acumulam arsênio. Em ovos também se observou presença desse metal (CALESNICK *et al.*, 1966).

CAPÍTULO 4

TOXICOCINÉTICA

A toxicocinética do arsênio é o estudo da absorção, distribuição, biotransformação e excreção deste elemento no organismo. Tem sido bastante estudada, embora informações sobre o comportamento de arseniais orgânicos em geral são ainda escassas.

Absorção de arsênio inorgânico e orgânico segundo a via de exposição

Via respiratória

A exposição humana ao arsênio inorgânico pela via respiratória ocorre geralmente no ambiente de trabalho ou por meio da fumaça do tabaco. Tanto os estudos em humanos quanto os em animais confirmam que os compostos de arsênio pentavalente e trivalente são facilmente absorvidos pelos tratos respiratório e gastrointestinal (ASTOLFI *et al.*, 1982).

O arsênio é inalado principalmente na forma de aerossol. Admite-se que sua deposição é similar à do material particulado. Este é depositado nas passagens superiores (cavidade nasal, nasofaringe, laringe, traquéia e brônquios) e a absorção pode ocorrer diretamente no trato respiratório ou retido pela mucosa ciliar onde há deposição de partículas que são posteriormente absorvidas por via gastrointestinal. As partículas de diâmetro aerodinâmico inferior a 1 μm são absorvidas pelo pulmão, enquanto que as maiores, pelo movimento ciliar, são absorvidas pelo trato gastrointestinal (WHO, 1981).

A absorção do arsênio inalado não depende somente do tamanho das partículas, mas também da solubilidade dos compostos arseniais. Nos pulmões, os compostos solúveis na água (como óxidos e arsenitos) são

facilmente absorvidos, enquanto que os de baixa solubilidade são retidos no trato respiratório. Os compostos insolúveis (como o arseniato de chumbo) podem ingressar facilmente no organismo pela via respiratória (WHO, 1992b).

Os dados sobre a absorção de compostos de arsênio orgânico são escassos. Sabe-se que o ácido dimetilarsínico pode ser inalado e rapidamente absorvido quando utilizado como herbicida (ASTOLFI *et al.*, 1982).

Via digestiva

A absorção do arsênio inorgânico pela via digestiva ocorre pela ingestão de alimento, água, bebida ou medicamento contendo arsênio ou, como foi dito anteriormente, como resultado da inalação e subsequente liberação da mucosa ciliar (WHO, 1981). Os arseniais orgânicos ingressam ao organismo pelo consumo de peixes e frutos do mar (WHO, 1981).

Geralmente por esta via os compostos arseniais inorgânicos são facilmente absorvidos, não existindo muita diferença entre composto trivalente e pentavalente. Contudo, os arseniais orgânicos pentavalentes utilizados terapeuticamente são absorvidos com maior facilidade que os trivalentes (ASTOLFI *et al.*, 1982).

O ácido arsanílico, utilizado como aditivo para alimento de aves e suínos, pode ser ingerido em quantidades-traço pelo ser humano ao se alimentar da carne destes animais. Este tipo de composto arsenial não é absorvido pelo trato gastrointestinal e é facilmente eliminado, assim como o arsênio presente em peixes e crustáceos (WHO, 1981).

Via cutânea

Os dados referentes à via cutânea são limitados. Alguns estudos em camundongos demonstraram a ocorrência da absorção cutânea (WHO, 1981). Os compostos de arsênio inorgânico são pouco absorvidos através da pele, exceto os compostos do tipo corrosivo, como tricloreto de arsênio. A exposição ocupacional pela via dérmica geralmente é menos significativa que pela via respiratória (WHO, 1992b).

Em geral, a via oral é a responsável pela absorção dos compostos arseniais orgânicos. Entretanto, podem também penetrar na pele como consequência de processos irritativos após contatos repetidos. Exemplo disso é o ácido dimetilarsínico, que penetra na pele intacta e também pode atravessar a barreira placentária (WHO, 1992a).

Distribuição

Em geral, todo o arsênio absorvido está localizado inicialmente na fração eritrocitária do sangue. O arsênio deixa rapidamente a corrente sangüínea, para se depositar nos tecidos, e é armazenado no fígado, nos rins, nos pulmões e ossos. Também se deposita nos cabelos, sendo que esta deposição ocorre aproximadamente duas semanas após sua administração (LARINI, 1997; WHO, 2001c).

Distribuição do arsênio inorgânico e orgânico pelo sangue de animais e humanos

O arsênio inorgânico tem meia vida de duas horas no sangue humano. Assim, sua presença indica uma exposição recente. Os níveis de arsênio nos eritrócitos geralmente aumentam rapidamente chegando a ser três vezes mais elevados que no plasma depois de 10 horas de exposição (WHO, 2001b). Também o arsênio desaparece facilmente do sangue na

maioria dos animais (camundongos, coelhos e hamsters) com exceção do rato, uma vez que o arsênio apresenta alta afinidade pelos eritrócitos nesses animais (WHO, 1981). A principal forma de arsênio encontrada nos eritrócitos de rato é o DMA que se une à hemoglobina. Acredita-se que isto aumentaria a meia vida de arsênio em ratos (VATHER, 1981).

É importante salientar que estudos sobre a distribuição de arseniais orgânicos em humanos e animais, tanto em sangue quanto em tecidos, são escassos. YAMAUCHI e YAMAMURA (1985) mostraram que após administração de uma dose única por via oral de trióxido de arsênio em hamsters o arsênio inorgânico, MMA e DMA alcançaram picos de concentração no sangue total em 1, 12 e 24 horas, respectivamente. O arsênio inorgânico e o MMA estiveram presentes no sangue total, principalmente nos eritrócitos, enquanto que o DMA foi principalmente encontrado no plasma. Posteriormente, ZHANG *et al.* (1998) mostraram que as espécies predominantes no soro de pacientes com doença renal foram: DMA, arsenobetaina e arsênio inorgânico unido a proteínas de soro, porém o MMA não foi detectado.

Distribuição do arsênio inorgânico e orgânico nos tecidos de animais e humanos

Em animais, como camundongos, coelhos e hamsters, o arsênio trivalente ou pentavalente administrado por via oral ou parenteral é facilmente distribuído no organismo. O arsênio fica armazenado no coração, pulmões, baço, fígado, rins, cérebro, trato gastrointestinal, músculo esquelético, pele e ossos, sendo que o arsênio inorgânico é a principal forma encontrada (LARINI, 1997; WHO, 2001c; YAMAUCHI, YAMAMURA, 1985).

Em humanos, após exposição por longo prazo em baixas concentrações ou em casos de intoxicação aguda, o arsênio é amplamente distribuído no organismo. Como exemplo, a determinação de arsênio em

vários tecidos de indivíduos vítimas de um acidente em Bombaim (Índia), onde as concentrações mais elevadas de arsênio inorgânico ocorreram nos rins, pulmões e baço (DANG *et al.*, 1983, *apud* WHO 2001c). Nos casos de exposição crônica em baixos níveis de arsênio é comum encontrá-lo na pele devido a sua grande afinidade pelos grupamentos sulfidrilas (-SH) das proteínas, especialmente queratina. Os depósitos na pele são maiores nas camadas granulosas, basais e espinosas da epiderme (ASTOLFI *et al.*, 1982; WHO, 2001c).

No tecido cerebral de animais é possível encontrar arsênio pentavalente ou trivalente após da administração oral ou parenteral. A distribuição de arsênio no cérebro é relativamente menor que em outros tecidos, portanto admite-se que ele não atravessa facilmente a barreira hematoencefálica (HODGSON, LEVI, 1997, WHO, 2001c, YAMAUCHI, YAMAMURA, 1985). Em tecido cerebral de humanos o arsênio está distribuído principalmente na porção lipídica. A matéria branca do cérebro contém 2,7 vezes mais arsênio que a matéria cinza do córtex cerebral (LARSEN *et al.*, 1979).

TABELA 4.1: Concentrações de produtos de transformação de arsênio e arsênio total em tecidos e órgãos de japoneses adultos

Tecido/órgão	Concentração arsenial (média) em tecidos (ng/g peso úmido)			
	As inorgânico	MMA	DMA	As Total
Cérebro	76,8	<LD	<LD	76,3 ± 43,9
Rim	97,7	3,6	27,6	129 ± 72,3
Fígado	116	5,9	14,0	129 ± 39,7
Pulmão	96,9	<LD	7,6	104 ± 29,5
Músculo	88,1	<LD	18,9	106 ± 32,7
Pâncreas	139,7	<LD	14,7	154 ± 71,4
Pele	149,6	<LD	3,7	153 ± 97,7

Fonte: Adaptado de YAMAUCHI, YAMAMURA, 1983, *apud* WHO 2001c
 <LD indica menor que o limite de detecção, de 1 ng As/g para tecido, peso úmido

Em amostras de tecido humano (Tabela 4.1), obtidas de japoneses que morreram de câncer ou hemorragia cerebral, as maiores concentrações

de arsênio detectado em todos os órgãos estudados correspondem ao arsênio inorgânico, seguido pelo DMA (que não foi detectado no cérebro). O MMA apresentou níveis mais baixos, detectados somente no fígado e rins. Assim, admite-se que os sítios primários de metilação de arsênio são fígado e rins, uma vez que o MMA é um metabólito anterior a DMA (YAMAUCHI, YAMAMURA, 1983, *apud* WHO 2001c).

Biotransformação

A biotransformação de arsênio inorgânico em mamíferos e microorganismos acontece como consequência de processos de oxirredução e de metilação. Em humanos, como em animais de experimentação, o arsênio inorgânico é metilado a MMA e DMA. Enquanto que em fungos o arsênio é metilado a trimetilarsina (WHO, 1981; WHO, 2001c).

A metilação do arsênio em fungos e bactérias foi considerada como um mecanismo de destoxificação. Nos anos 1980 já se pensava que os produtos de biotransformação MMA e DMA observados em animais eram menos tóxicos que o arsênio inorgânico (BENCKO *et al.*, 1976; BUCHET *et al.*, 1984).

Sítios e mecanismo de metilação de arsênio inorgânico em animais e humanos

Nos anos 1980 postulou-se que em animais de experimentação e humanos o principal sítio de metilação do arsênio era o fígado, mas o mecanismo não estava totalmente claro (APOSHIAN, 1989). Não se sabia se as reações de metilação procediam sequencialmente do arsênio inorgânico para o MMA, e posteriormente para o DMA, ou se ambas as formas metiladas do arsênio são formadas independentemente. Assim, foi sugerido que a formação do DMA resulta da metilação do MMA, embora não

fosse descartada a hipótese de que pudessem ser duas vias independentes (BUCHET, LAUWERYS, 1985).

Somente no final dos anos 1990, quando as enzimas metiltransferase foram purificadas, postulou-se um mecanismo para a biotransformação de arsênio inorgânico. HEALY *et al.* (1998) propuseram um mecanismo para a metilação de arsênio inorgânico (Figura 4.1) em que três enzimas atuariam na biotransformação do arsênio inorgânico em mamíferos. A primeira arseniato redutase permite a redução de arseniato para arsenito e as outras duas (arsenito metiltransferase e MMA metiltransferase) metilam seqüencialmente o arsênio a MMA e DMA. Estas últimas transferem grupos metil desde S adenosil L- metionina (SAM) (APOSHIAN, 1997).

Figura 4.1: Provável via de metilação para arsênio em humanos⁶

A atividade de enzimas metiltransferases é maior no citosol de células de fígado, segundo é mostrado num experimento *in vitro* realizado com camundongos, já que se viu que existe insignificante atividade metilante no citosol das células vermelhas do sangue, cérebro, pulmão, intestino e rim. Enquanto que não foi encontrada atividade metilante nas frações nuclear, mitocondrial, lisossomal e microssomal do homogeneizado de fígado (BUCHET, LAUWERYS 1985). Isto contrasta com os dados obtidos em

⁶ Fonte: Adaptado de DHUBHGAILL, SADLER, 1991; HEALY *et al.* 1998.

humanos em que rins parecem ter uma atividade metilante tão alta quanto no fígado (Tabela 4.1). HEALY *et al.* (1998) mostraram que o arsenito é metilado tanto no fígado como no rim, sendo que o arseniato é metilado somente no rim e, portanto, este órgão seria um sítio primário da biotransformação do arseniato.

A metilação do arsenito é considerada como uma função hepática. O estudo realizado por HEALY *et al.* (1998) mostrou que ao medir atividade metiltransferase, em diferentes órgãos de camundongos, como rins, fígado, pulmões e testículo, foi detectada maior atividade específica de metiltransferase no testículo, cerca de 3,6 vezes maior que no fígado. De acordo com estes resultados, a biotransformação extra-hepática do arsênio pode ter importantes implicações toxicológicas para um tecido. Por exemplo, quando se trata de um composto de arsênio inorgânico cuja via de exposição é a inalatória o fato de contar com mecanismos enzimáticos, como as metiltransferase presentes no tecido pulmonar, ajuda a diminuir a toxicidade nesse local.

A biotransformação de arsênio inorgânico precisa da presença de enzimas metiltransferase, participação da glutatona reduzida, pH entre 7,5 e 8,0 e de (SAM), um doador de grupos metil. Isto foi demonstrado em um estudo *in vitro* com fígado de camundongo, observando-se que a atividade metilante estava localizada no citosol, sendo utilizado como substrato somente o arsênio trivalente que foi metilado a MMA e DMA (BUCHET, LAUWERYS, 1985).

O requerimento exclusivo da glutatona reduzida (GSH) como cofator para a metilação de espécies de arsênio foi questionado, porque enzimas purificadas mostraram que não existe a necessidade absoluta pelo GSH, já que alguns compostos como, por exemplo, cisteína e 2-mercaptoetanol são tão ou mais efetivos na metilação do que GSH (BUCHET, LAUWERYS, 1985).

Fatores que influenciam na metilação de arsênio inorgânico

Segundo VATHER *et al.* (1995b), alguns fatores que influenciam no padrão de metilação são:

- a) a dose: o aumento da dose diminui a metilação.
- b) a via de administração: existe uma maior metilação após a administração oral que a parenteral.
- c) a forma de arsênio administrada: arsênio trivalente é preferentemente metilado que sua forma pentavalente.
- d) o estado nutricional: ao existir baixo consumo de proteínas e do aminoácido metionina, acontece uma diminuição na eficiência da metilação.

O estudo de VATHER (1981) com camundongos expostos ao arsênio inorgânico (^{74}As) trivalente ou pentavalente mostrou que, após a exposição, o principal produto de biotransformação do arsênio na urina destes mamíferos foi o DMA. Este estudo teve por objetivo mostrar que as diferenças na metilação do arsênio dependem da via de administração e da dose. O arsênio trivalente foi mais metilado do que o arsênio pentavalente e também mais retido no corpo dos animais, sendo que o tempo de retenção aumentou com a dose. Também se observou que a injeção subcutânea de arsênio trivalente causou mais retenção que a administração oral da mesma forma de arsênio. A diferença na retenção reflete um alto grau de união do arsênio trivalente.

Estudos *in vitro* e *in vivo* com células de mamífero observaram que com aumento na dose de arsênio houve diminuição de produtos de biotransformação, especialmente de DMA, e aumento nas percentagens de arsênio inorgânico e MMA (FISCHER *et al.*, 1985; HUGHES *et al.*, 1999).

Variações nos padrões de metilação de arsênio em humanos

A grande variação interindividual na metilação do arsênio é também uma característica do metabolismo do arsênio. Fatores como dose, idade, gênero e hábito de fumar influenciam nessa variação. Também se especulou que grande parte da variação observada poderia ser explicada por diferenças genéticas (polimorfismo genético) das enzimas metiltransferase e dos co-fatores relacionados (WHO, 2001b).

Considerando o efeito da dose de exposição, foi proposto que existiria saturação das enzimas que metilam arsênio e que isto poderia ser utilizado como um limite de carcinogenicidade, embora não tenha sido possível demonstrar que exista um limite para a metilação do arsênio em humanos. É provável que uma parte do arsênio ingerido se acumule no organismo, unido às proteínas, para posterior metilação (HOPENHAYN-RICH *et al.*, 1993; HOPENHAYN-RICH *et al.*, 1996a).

Diferenças na biometilação foram encontradas entre mulheres andinas, do povoado argentino de San Antonio de los Cobres. Estas mulheres foram cronicamente expostas ao arsênio pela água potável e por alimentos. A excreção do MMA nessas mulheres era extremadamente baixa, por volta de 2%, comparada com valores de MMA de 10 a 20% encontrados em outras populações como as da Europa, do Japão e dos Estados Unidos (VATHER *et al.*, 1995b).

Variações nos padrões de metilação de arsênio inorgânico em diferentes espécies

No homem, macaco rhesus, coelho, rato, hamster, camundongo, cão, e vaca o arsênio inorgânico é metilado e seus produtos de biotransformação são excretados principalmente na urina. Entretanto, no sagüi, tamarin, cobaia e chimpanzé não é detectada metilação de arsênio (APOSHIAN,

1989; VATHER *et al.*, 1995a). A Tabela 4.2 apresenta dados da variação na excreção de arsênio e seus produtos de biotransformação.

Na urina humana a percentagem do MMA é mais alta em comparação com outras espécies animais, enquanto que a percentagem do DMA é similar à excretada por ratos. As maiores concentrações do DMA são encontradas em ratos e coelhos. O DMA é o principal produto da biotransformação do arsênio inorgânico em mamíferos e é mais facilmente eliminado do organismo que o arsênio inorgânico (VATHER, 2000).

No sagüi, as enzimas metiltransferases para arsênio são defeituosas ou ausentes. Foi sugerido que a deficiência destas enzimas no sagüi, tamarin, cobaia e chimpanzé pode ser um processo seletivo de sua evolução, necessário para sobreviver em ambientes onde existem parasitas, por exemplo, tripanossoma que causa a doença de Chagas ou a doença africana do sono (ZAKHARYAN *et al.*, 1996).

TABELA 4.2: Variação na excreção de arsênio e seus produtos de transformação na urina

Espécie	As inorgânico	MMA	DMA
Rato	+	---	+
Sagüi	+	---	---
Humano	+	+	+
Chimpanzé	+	---	---
Coelho	+	---	+
Hamster	+	---	+
Cão	+	---	+
Camundongo	+	---	+

Fonte: Adaptado de VATHER, 2000.

(---) não detectado na urina

(+) detectado na urina

DMA: Ácido dimetilarsínico

MMA: Ácido monometilarsínico

Excreção

A excreção de compostos arseniais contidos na água e alimentos acontece principalmente pela urina, sendo que outras formas de excreção como fezes, unhas, cabelos, suor, leite são de menor importância. Estudos em animais e humanos sobre a excreção de compostos arseniais que ingressam por via respiratória e cutânea são escassos (WHO, 1981; ATSDR, 2000).

Excreção de arsênio inorgânico e seus produtos de biotransformação em animais e humanos

Em humanos, o arsênio trivalente e pentavalente são excretados na urina principalmente como derivados metilados dentro de 5 horas após a ingestão. A excreção de arsênio e seu produto de biotransformação, na urina, se produz no intervalo de vários dias (ASTOLFI *et al.*, 1982). POMROY *et al.* (1980) viram que 62% da dose oral foi recuperada em 7 dias. TAM *et al.* (1979) mostraram que no quinto dia, depois da ingestão de arsênio inorgânico em humanos por via oral, 71% da dose do arsênio presente na urina estavam sob a forma dimetilada de arsênio. Dados de VATHER (2000) confirmam que os humanos em geral apresentam um padrão de excreção entre 10 e 30% para arsênio inorgânico, 10 e 20% para MMA e 60 e 70% para o DMA (para a ingestão de arsenito ou arseniato entre 0,01 a 1.000 µg).

Estudos com animais de laboratório e humanos mostram que arsênio é pouco excretado nas fezes (KLAASEN, 1974; POMROY *et al.*, 1980). YAMAUCHI e YAMAMURA (1985) mostraram que aproximadamente 59% da dose de trióxido de arsênio administrado aos hamsters foram eliminados na urina e 11% eliminados nas fezes, depois de 5 dias da administração do arsênio. Cerca da metade do total do arsênio excretado, tanto na urina como nas fezes, correspondeu ao arsênio inorgânico. DMA foi à forma de arsênio metilado encontrada em maior quantidade. Também foram detectadas na

urina destes animais pequenas quantidades de TMA (trimetilarsina) e TMAO (óxido de trimetilarsina).

É sugerida outra via de excreção, além da fecal e urinária. Sabe-se que indivíduos intoxicados com arsênio expelem forte odor de alho, e que o ácido trimetilarsínico possui este odor característico. TELOLAHY *et al.* (1995) detectaram este odor em diferentes cepas de camundongos, postulando que existe excreção por exalação de compostos voláteis de arsênio, o que precisa ser quantificado e caracterizado.

Excreção de arseniais orgânicos de origem marinha

A ingestão de compostos arseniais orgânicos ocorre pelo consumo de alimentos marinhos, como peixes e crustáceos. A principal forma arsenial orgânica identificada corresponde a arsenobetaína e foi encontrada em peixes, lagosta e outras espécies (WHO, 2001b). COULSON *et al.* (1935) mostrou que um composto orgânico extraído do camarão, que mais tarde seria identificado como arsenobetaína, não era biotransformado em camundongos. Atualmente, não existe evidência da biotransformação da arsenobetaína no organismo humano. Supõe-se que uma forma de eliminação seria pelo ar exalado como um metabólito volátil da arsenobetaína (BROWN *et al.*, 1990; BUTCHET *et al.*, 1994).

Em algas comestíveis, ostras e outros bivalves são encontrados principalmente arsenoaçúcares. Em humanos os arsenoaçúcares sofrem transformação a DMA e a outros compostos não caracterizados e de toxicidade desconhecida, que são facilmente excretados na urina durante dois a três dias após sua ingestão (FRANCESCONI *et al.*, 2001; MA, LE, 1998; WHO, 2001c).

CAPÍTULO 5

TOXICODINÂMICA

A toxicodinâmica do arsênio estuda os efeitos bioquímicos e os mecanismos de ação tóxica no organismo. A ação de arsênio acontece principalmente sobre enzimas envolvidas em processos metabólicos. Contudo, o modo de ação sobre ADN ainda não é bem entendido.

Ação de arsênio inorgânico sobre processos metabólicos

Respiração celular

Os mecanismos de ação tóxica do arsênio estão relacionados à sua valência trivalente ou pentavalente. O arsênio trivalente interage com proteínas que apresentam grupos tióis em sua estrutura química (APOSHIAN, 1989; KNOWLES, BENSON, 1983; WHO, 2001c).

Esses grupos tióis, presentes em enzimas, são afetados pelo arsenito interferindo na atividade das enzimas na glicólise, no ciclo dos ácidos tricarboxílicos ou na glicogênese. Algumas enzimas-alvos dos compostos arseniais são: α -cetoglutarato desidrogênase, β -hidroxibutirato desidrogênase, malato desidrogênase, o complexo enzimático da piruvato desidrogênase, citocromo oxidase e uréase (DHUBHGHAILL, SADLER, 1991; SCHILLER *et al.*, 1977).

O complexo enzimático da piruvato desidrogênase é formado por três enzimas (piruvato desidrogênase, dihidrilipoil transacetilase e dihidrolipoil desidrogênase), unidas por interações não covalentes que catalisam a conversão de piruvato a acetil-CoA. O complexo enzimático necessita da participação de cinco coenzimas diferentes: tiamina pirofosfato, ácido lipóico, coenzima A, FAD e NAD. A reação geral de descarboxilação oxidativa do piruvato a acetil CoA é:

A primeira enzima piruvato desidrogenase descarboxila o piruvato. O grupo acetil derivado da descarboxilação do piruvato é unido à tiamina pirofosfato (co-enzima) formando hidroxietil TPP. Na etapa seguinte, o grupo hidroxietil do composto hidroxietil-TPP se une covalentemente ao ácido lipóico (outra coenzima) produzindo um composto acilado do ácido lipóico (acetil dihidrolipoamida), reação catalisada pela segunda enzima do complexo da dihidrolipoil transacetilase. A disposição final do grupo acetil original proveniente do piruvato é transferida à CoA (co-enzima) para formar acetil-CoA. A transferência do grupo acetil para a CoA resulta na formação do ácido lipóico reduzido (ácido dihidrolipóico) com dois grupos sulfidrilas (-SH). Sabe-se que arseniais trivalentes reagem com grupos sulfidrilas como os presentes no ácido lipóico (ASTOLFI *et al.*, 1982; APOSHIAN, 1989). A reação geral de um composto arsenial trivalente com os grupos sulfidrilas do ácido lipóico é a seguinte:

Figura 5.1: Reações de arseniais trivalentes com grupos sulfidrilas na molécula do ácido lipóico⁷

⁷ Fonte: ASTOLFI *et al.*, 1982; LARINI, 1997.

A consequência da interação de compostos arseniais trivalentes com o ácido lipóico é o acúmulo do ácido pirúvico no sangue e alterações na formação de acetil-CoA, o qual afeta finalmente ao sistema nervoso central (LARINI,1997).

O arseniato é similar em estrutura ao fosfato inorgânico e pode substituí-lo em algumas reações metabólicas. O arsênio pentavalente interfere na respiração celular. A enzima que participa da glicólise, denominada gliceraldeído fosfato desidrogênase, possui um grupo sulfidríla no centro ativo da enzima. Na glicólise, gliceraldeído 3-fosfato é oxidado a 1,3-difosfoglicerato por esta enzima. A reação que catalisa a enzima pode ser alterada por ação do arseniato (AsO_4^{3-}). O arseniato é um bom substrato para esta reação, formando-se 1-arseno-3 fosfoglicerato, mas este composto é bastante instável e facilmente hidrolisado (Figura 5.2). A glicólise continua, porém não se forma a molécula do ATP a partir da fosfoglicerato quinase fazendo com que a célula não tenha energia suficiente para todos seus processos metabólicos (ASTOLFI *et al.*, 1982; CASARETT *et al.*, 1991; GARRET, GRISHMAN, 1999; MURRAY *et al.*, 1990).

Figura 5.2: Ação do arsênio na glicólise

Glicogênese

A glicogênese é um processo pelo qual o organismo é capaz de sintetizar glicose ou glicogênio a partir de substratos glicogênicos como aminoácidos glicogênicos, lactato ou glicerol. A glicogênese acontece em

tecidos que possuem as enzimas necessárias, como é o caso do fígado e rins. Nas mitocôndrias destes tecidos existe a piruvato carboxilase, uma enzima que converte piruvato em oxaloacetato na presença de biotina, ATP e CO_2 (GARRET, GRISHMAN, 1999).

Um estudo realizado no final dos anos 1980 sugere que a depleção de carboidratos resultante da inibição da glicogênese seria devido à ação tóxica do arsênio trivalente. Nesse estudo, o efeito de As_2O_3 sobre a glicogênese foi medido em tecido hepático e renal de camundongos. Uma diminuição no conteúdo de acetil-CoA e de glutatona reduzida foi observada nos tecidos incubados com As_2O_3 . A diminuição de acetil-CoA é devida à ação do arsênio trivalente sobre o complexo enzimático da piruvato desidrogenase. A diminuição de acetil-CoA influi na formação de equivalentes reduzidos e de fosfatos de alta energia no ciclo dos ácidos tricarboxílicos. Mudanças nos níveis de acetil-CoA, um modulador da enzima piruvato carboxilase, provocam finalmente a inibição da gliconeogênese. O esgotamento nos níveis de glicose seria devido à inibição da gliconeogênese pela ação de arsênio trivalente (SZINICZ, FORTH, 1988).

Reparação do ADN

A ação de arsênio trivalente foi observada nas enzimas relacionadas a ADN, como a enzima poli (ADP-ribose) polimerase (PARP), à qual foi atribuído um papel de reparação de ADN em células eucarióticas. A enzima PARP tem grupos ditióis vizinhos que são alvo de ação de arsenito. Esta enzima é inibida pelo arsenito, sendo a inibição dose dependente a uma baixa concentração ($10\mu\text{M}$) de arsenito. Supõe-se que o arsenito possa potencializar um dano genético já que reage com os grupos ditióis de proteínas reparadoras de ADN, como é o caso da PARP (YAGER, WIENCKE, 1997). O modo de ação e os efeitos tóxicos de arsênio sobre ADN serão tratados no Capítulo 7.

Formação do grupo heme

Uma longa exposição a baixos níveis de arsênio resulta numa alteração da regulação da biossíntese do grupo heme em animais. As enzimas afetadas são δ -aminolevulínico (ALA) sintetase e heme sintetase, a primeira e a última enzima envolvidas na via de síntese do heme. Ambas as enzimas diminuíram em atividade, entretanto foi observado um aumento nos níveis de excreção urinária de coproporfirina e uroporfirina. Assim, sugere-se que modificações nos padrões de excreção urinária de porfirinas podem ser um indicador de exposição inicial ao arsênio (WOODS, FOWLER, 1978).

Ação de arsênio orgânico sobre processos metabólicos

Com relação aos efeitos dos compostos orgânicos de arsênio sobre processos metabólicos existe pouca informação. Recentes informações da ação DMA (arsenial orgânico) sobre ADN serão apresentadas no Capítulo 7

Por outro lado, sabe-se que outros compostos de arsênio orgânico trivalente, tal como fenilarsenóxidos, são inibidores mais potentes que os arsenitos inorgânicos em estruturas protéicas que apresentem grupos tióis (GORDON, QUASTEL, 1948).

No final dos anos 1930 se sabia que algumas enzimas, como a urease, eram muito sensíveis aos compostos arseniais orgânicos, como fenilarsenóxidos. Notou-se que a toxicidade desses compostos podia ser reduzida pela presença de um excesso de grupos tióis presentes em compostos como cisteína ou glutatona ou com proteínas que tivessem grupos tióis competindo com a uréase pelos arsenóxidos orgânicos, assim evidenciando que arseniais orgânicos também interagem com grupos sulfidrilas (GORDON, QUASTEL, 1948).

CAPÍTULO 6

TOXICIDADE

Entende-se por toxicidade a capacidade inerente a uma substância química de produzir um efeito prejudicial sobre o organismo. A toxicidade do arsênio e seus compostos tem sido bastante estudada, sendo de grande interesse os efeitos adversos causados pela exposição em longo prazo.

Intoxicação aguda

A ingestão de 70-180 mg de arsênico produz dano gastrointestinal grave e pode ser fatal. Inicia-se com um sabor metálico ou hálito de alho, fortes vômitos e diarreia, vasodilatação, diminuição da pressão sanguínea, alteração de eletrólitos, dano renal glomerular e tubular (com redução do volume de urina e finalmente anúria, depressão e parada respiratória, perda dos movimentos voluntários, paralisia de origem central, hipotermia, contrações musculares e anomalias cardíacas (CASTRO, 1982; CASARETT *et al.*, 1991; GLAZENER *et al.*, 1968). Podem também ser observadas alterações no sistema hematopoético, incluindo anemia e leucopenia (ASTOLFI *et al.*, 1982; HODGSON, LEVI, 1997). O arsênio também causa irritação local na pele, provocando inflamação e ulceração, além de perfuração do septo nasal (LEONARD, LAUWERYS, 1980).

A Tabela 6.1 mostra valores de DL50 (dose que provoca a morte de 50% dos indivíduos e se expressa como mg de tóxico/Kg de peso do indivíduo) que permite comparar a toxicidade entre alguns compostos de arsênio. Os compostos de arsênio inorgânico trivalente são menos tóxicos que os pentavalentes e, por outro lado, os compostos orgânicos são menos tóxicos que os inorgânicos. Em camundongos administrados por via oral com arsenobetaína (arsenial orgânico) e trióxido de arsênio (arsenial inorgânico) apresentam valores de DL50 >10.000 e 34,1-52,25 mg

composto/Kg peso corporal respectivamente, mostrando a menor toxicidade do primeiro.

TABELA 6.1: Dose letal (DL50) para alguns compostos arseniais

Composto arsenial	Animal experimental	Via de administração	DL ₅₀ (mg composto arsenial/kg)
Trióxido de arsênio	Camundongo	oral	34,1-52,25
Trióxido de arsênio	Rato	oral	20
Arsenito de sódio	Rato	oral	42
Arsenito de sódio	Rato	oral	41
Arsenito de sódio	Rato	intraperitoneal	9,7-10,9
Arsenito de sódio	Camundongo	intramuscular	14
Arseniato de sódio	Camundongo	intramuscular	87
Arseniato de chumbo	Rato	oral	1050
Arseniato de chumbo	Rato	dérmica	>2400
Arseniato de cálcio	Rato	oral	298
Arseniato de sódio	ND	oral	600
Arseniato de cálcio	Rato	dérmica	>2400
MMA	Rato	oral	700
MMA	Rato	oral	1101
DMA	Rato	oral	2600
DMA	Rato	oral	1315
DMA	Rato	intraperitoneal	720
DMA	Camundongo	intraperitoneal	520
Óxido de trimetilarsina	Camundongo	oral	10600
Arsenobetaína	Camundongo	oral	>10000
Acetoarsenito de cobre (verde Paris)	ND	oral	100
Acetoarsenito de cobre (verde Paris)	Rato	dérmica	>2400

Fonte: adaptado de WHO, 2001c. ND: Dado Não Disponível.

Intoxicação crônica

Os efeitos adversos devidos à intoxicação crônica do arsênio são tratados no Capítulo 7.

Tratamento da intoxicação

Diminuição dos efeitos tóxicos por agentes quelantes

O tratamento da intoxicação utiliza agentes quelantes ou antagonistas. Um dos primeiros agentes quelantes usados foi a *British Anti-Lewisite-BAL* (2,3-dimercaptopropanol), composto desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial como um antagonista dos gases arseniais usados na guerra. BAL é um composto ditiol que contém dois átomos de enxofre que competem com sítios de união envolvidos no mecanismo de toxicidade do arsênio trivalente (HODGSON, LEVI, 1997; KREPPEL *et al.*, 1990).

Assim, BAL e o composto 2,3-dimercapto-1-propano sulfonato de sódio (DMPS) foram utilizados como agentes quelantes ditióis, com o objetivo de excretar arsênio do organismo (APOSHIAN, 1989). Num estudo realizado em San Pedro da Atacama (região norte do Chile) observou-se que a quantidade de arsênio total excretado na urina foi maior logo após a administração do DMPS, houve mudança nas porcentagens das formas do arsênio excretadas e notou-se um incremento na quantidade do arsênio total excretado. Isto demonstrou a efetividade do DMPS em mobilizar e aumentar a excreção do arsênio total. Além disso, o estudo demonstrou que o organismo acumula arsênio, considerando como evidência o aumento na quantidade de arsênio total excretado após a administração do DMPS (APOSHIAN *et al.*, 1997).

Diminuição dos efeitos tóxicos do arsênio por meio da dieta

Na Índia, um estudo *in vivo* realizado em ratos mostrou que a administração de selenito de sódio reduziu a toxicidade do arsênio. Assim, admite-se que o selênio na dieta por curtos períodos, como um suplemento nutricional, possa ser utilizado como um agente protetor contra a toxicidade do arsênio, principalmente nas populações altamente expostas (BISWAS *et al.*, 1999).

Um estudo similar em ratos mostrou que os efeitos clastogênicos (quebra de cromossomos) do arsênio diminuíram na presença de sulfato ferroso. A administração simultânea de sulfato ferroso, ou após a exposição ao arsenito de sódio, diminuiu os efeitos clastogênicos deste composto. Estudos da suplementação da dieta com sulfato ferroso, em longo prazo, estão sendo realizado na Índia (PODDAR *et al.*, 2000).

CAPÍTULO 7

EFEITOS NA SAÚDE HUMANA

O principal efeito da exposição crônica ao arsênio é o câncer, devido ao potencial genotóxico deste elemento. Outros efeitos incluem hipertensão e diabetes melito (ABERNATHY *et al.*, 1999; MALONEY, 1996; SMITH *et al.*, 1998; SMITH *et al.*, 2000a; SOMMERS, MCMANUS, 1953;).

Efeitos genotóxicos: mutagênese e carcinôgenese

Entende-se por genotoxicidade a capacidade de um agente tóxico causar dano no ADN da célula. O arsênio é considerado um agente genotóxico porque produz dano no ADN (COHEN, ELLWEIN, 1990; GONSEBATT *et al.*, 1992; WATERS *et al.*, 1999; WANG *et al.*, 2001). Em ensaios *in vivo* e *in vitro*, o arsênio interage indiretamente com ADN induzindo efeitos genotóxicos como aberrações cromossômicas (CA), troca de cromátides irmãs (SCE) e aumento de micronúcleos (MN) em populações expostas ao elemento (Tabela 7.1) (BASU *et al.*, 2001).

A genotoxicidade dos compostos metilados de arsênio trivalente é pouco conhecida. Um estudo sobre hepatócitos e tecido de bexiga, pele e pulmão de humano mostrou que MMA (na forma trivalente) foi a mais tóxica, quando comparada com outros compostos de arsênio pentavalente metilados e inorgânicos. O DMA (na forma trivalente) era tão tóxico quanto o arsênio inorgânico. Esses resultados mostram que os intermediários metilados trivalentes, produzidos durante a biotransformação, são mais genotóxicos e citotóxicos quando comparados ao arsenito, sendo potentes inibidores enzimáticos (MASS *et al.*, 2001; THOMAS *et al.*, 2001; STYBLO *et al.*, 2000).

Por outro lado, MOORE *et al.* (1997c) observaram que o arsênio inorgânico apresenta maior poder genotóxico que o MMA e DMA (ambos

pentavalente), sendo este último o composto com menor poder genotóxico. Recentes informações mostram que o DMA pentavalente é um promotor de câncer em vários órgãos de animais de experimentação (YAMAMOTO *et al.*, 1997). Uma provável explicação foi dada por KENYON e HUGHES (2001), que sugeriram que em animais e humanos o radical peroxila do DMA e a produção de radicais livres de oxigênio provocam dano oxidativo no ADN. Assim, isto faz duvidar que a biotransformação seja de fato um mecanismo de destoxificação que minimize efeitos adversos do arsênio.

TABELA 7.1: Efeitos genotóxicos induzidos por arsênio

Sistema testado	Forma química do arsênio	Parâmetro avaliado	Concentração mínima que induz efeito	Efeito
<i>Vicia faba</i>	Arsênio	SCE	0,267 mg/L	+
Células somáticas e germinais de camundongo	Trióxido de arsênio	CA	ND	-
Células de linfoma de rato	Arsenito	CA,MN	2,0 µg/mL	+
	DMA (V)	CA, MN	10000 µg/mL	+
	Arsenato	CA,MN	14,0 µg/mL	+
Fibroblastos humanos	Arsenito	CA	$0,8 \times 10^{-5}$ M	+
	Arsenato	CA	$1,16 \times 10^{-5}$ M	+
	DMA (V)	CA	$0,7 \times 10^{-4}$ M	+
	MMA (V)	CA	$1,4 \times 10^{-5}$ M	+
	TMAO	CA	$3,7 \times 10^{-2}$ M	+

Fonte: Modificado de BASU *et al.*, 2001.

DMA (V): ácido dimetilarsínico na forma pentavalente; MMA: ácido monometilarsínico na forma pentavalente; TMAO óxido de trimetilarsina; SCE: troca de cromátides irmãs; CA: aberração cromossômica; MN: micronúcleos; ND: dado não disponível; +:efeito positivo; -: efeito negativo.

Mutagenese

O arsênio demonstrou ser mutagênico, isto é, produz uma alteração do material genético que pode ser transmitida à descendência, evidenciado em estudos realizados em humanos e bactérias (Tabela 7.2), mas somente em altas concentrações ($> 0,25 \mu\text{M}$) (WANG *et al.*, 2001). Entretanto, a

maior parte dos estudos da atividade mutagênica do arsênio em células de mamíferos e bactérias mostra que o arsênio não é mutagênico a baixas concentrações. Contudo, em bactérias e humanos, o arsênio potencia a ação mutagênica de outros agentes, como a radiação ultravioleta, sendo considerado um agente co-mutagênico (BASU *et al.*, 2001; ROSSMAN *et al.*, 1977; RUDEL *et al.*, 1996; WIENCKE *et al.*, 1997). Supõe-se que o efeito co-mutagênico seja devido à inibição na reparação do ADN (JHA *et al.*, 1992; VOGT, ROSSMAN, 2001).

TABELA 7.2: Mutagenicidade induzida por arsênio

Sistema testado	Forma química do arsênio	Mutagenicidade Efeito	Concentração mínima que induz mutação
<i>Escherichia coli</i>	Arsenito	+	0,1 mM
<i>Escherichia coli</i> B	DMA (V)	+	10 mM
<i>Salmonella typhimurium</i>	Arsenobetaina	-	ND
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Arsenito	+	0,125 mg/mL
Células de camundongo germinais e somáticas	Trióxido de arsênio	-	ND
Células V79 (efeito co-mutagênico)	Trióxido de arsênio	+	0,5 µg/mL
	Arseniato	+	5,0 µg/mL
	Arsenito	+	5 µM
Fibroblastos humanos (mutação em gene tumor supressor)	Arsenito	+	5 µM

Fonte: Modificado de BASU *et al.*, 2001.

DMA (V): ácido dimetilarsínico na forma pentavalente; ND: dado não disponível; +: efeito positivo; -: efeito negativo.

A mutagenicidade do arsênio inorgânico em mamíferos tem sido de difícil de comprovação, pelo fato que se acredita que existe uma via não-genotóxica, responsável pela produção de câncer. Entretanto, foi visto que o arsênio induz mutagênese nas células de mamífero, mediado por radicais livres de oxigênio (HEI *et al.*, 1998).

Por outro lado, os arseniais orgânicos, como a arsenobetaina, mostraram ser não mutagênicas em testes com *Salmonella typhimurium* (Tabela 7.2). Este composto também não apresentou mutagenicidade no gene da hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase (HGPRT) em células de hamsters (BASU *et al.*, 2001). Enquanto que o ácido dimetilarsínico é mutagênico para *Escherichia coli*, mas somente em altas concentrações (Tabela 7.2) (KENYON, HUGHES, 2001).

Carcinogênese

O processo de carcinogênese é complexo e se acredita que possa envolver mutações em genes tumor-supressores e proto-oncogenes. Em termos didáticos, foram descritos três estágios para a carcinogênese: iniciação, promoção e progressão (OGA, 2003; WILKINSON, 1987). A progressão se caracteriza pela instabilidade cromossômica induzida por uma repetida exposição. Acredita-se que o arsênio atue como um promotor, facilitando a transição de tumores benignos para malignos (LEE *et al.*, 1988). YAMAMOTO *et al.* (1997) sugeriram que a explicação mais provável para a carcinogenicidade do arsênio é que este elemento seja um promotor de tumor e não um iniciador. Entretanto, LEE *et al.* (1988) e VOGT e ROSSMAN (2001) consideram que o arsênio não é iniciador e nem promotor de tumor. Esta contradição mostra que apesar da grande quantidade de estudos ainda não existe clareza nem consenso sobre o processo de carcinogênese para arsênio.

Em animais de experimentação não foi ainda possível provar que arsênio produza câncer como acontece no ser humano. Esses resultados contraditórios se devem provavelmente às diferenças no metabolismo de seres humanos e de animais (BARONI *et al.*, 1963; JAGER, OSTROSKY-WEGMAN, 1997; LEE *et al.*, 1988; MILNER, 1969). A IARC (*International Agency for Research on Cancer*) classifica o arsênio no Grupo 1, como carcinogênico para humanos, com base em estudos epidemiológicos (IARC,

2002). O arsênio também é considerado um co-carcinogênico devido aos efeitos inibidores sobre a reparação do ADN (CASTRO, 1982; LEONARD, 1980; MOORE *et al.*, 1997c; YAMANAKA *et al.*, 1997).

Os primeiros estudos que sugeriam uma relação entre a exposição ao arsênio e câncer de pele foram realizados na Inglaterra (HUTCHINGTON, 1888; LEITCH, KENNAWAY, 1922). Os estudos epidemiológicos em humanos demonstraram uma relação entre a exposição ao arsênio e câncer de pele e pulmão (LEONARD, LAUWERYS, 1980).

Resulta paradoxal que apesar da evidência da exposição ao arsênio induzir câncer, este elemento pode ser eficaz no tratamento desta doença quando atua em baixa concentração. O trióxido de arsênio produziu inibição do crescimento e apoptose em linfócitos malignos em uma concentração de 1 a 2 μ M. Acredita-se que o trióxido de arsênio possa ser útil no tratamento de leucemia promielocítica aguda (CHEN *et al.*, 1996; MILLER, 2002; ZHU *et al.*, 1999).

Mecanismos propostos na indução de câncer por arsênio

a) Mudanças nos padrões de metilação de ADN

Existe a hipótese que o processo de produção de câncer está relacionado à metilação do promotor do gene supressor p53. A metilação do arsênio inorgânico requer um doador de grupos metilo que corresponde ao SAM (S-adenosil metionina) e de metiltransferases. Admite-se que esta via de biotransformação de arsênio inorgânico esteja envolvida na manutenção e regulação da metilação de ADN que ocorre pela doação de grupos metilo do SAM para citosina no ADN, formando 5-metilcitosina (5-MeC). A regulação e expressão de muitos genes são controladas por regiões ricas em citosina, bem como em regiões promotoras (MASS, WANG, 1997).

MASS e WANG (1997) propuseram que o arsênio induz mudanças na metilação de ADN provocando uma hipermetilação ou uma hipometilação, o que levaria a uma fragilidade dos cromossomos. As vias propostas para a hipometilação e hipermetilação do arsênio são ilustradas na Figura 7.1.

Figura 7.1: Mecanismo proposto para carcinogênese por arsênio⁸

b) Indução de radicais livres de oxigênio como mecanismo de indução de câncer por arsênio

A indução de oxirradicais por arsênio é um dos mecanismos propostos para a genotoxicidade deste elemento. O arsenito aumenta os níveis de radicais hidroxilas nas células que estão envolvidas na genotoxicidade dos compostos do arsênio em células de mamíferos (HEI *et al.*, 1998; LIU *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2001).

WANG *et al.* (1997) observaram que a indução de radicais livres de oxigênio, derivados do processo de metilação do arsênio no organismo, é devido à diminuição na atividade da glutathione peroxidase e pela união de

⁸ Fonte: Modificado de MASS, WANG, 1997.

arsenito à glutathione (MYLONA *et al.*, 1998). Em células de ovário de hamsters e fibroblastos humanos foi verificado que as enzimas glutathione peroxidase e catalase diminuem a toxicidade do arsenito, supondo-se que estas enzimas estejam envolvidas num mecanismo de defesa contra a genotoxicidade de arsenito (LE, HO, 1995).

Principais tipos de câncer

O consumo de água contendo arsênio foi relacionado com doenças de pele, incluindo câncer de pele e de órgãos internos. A seguir são apresentados os principais tipos de câncer relacionados à exposição crônica por via oral e respiratória (ABERNATHY, 2003; SHANNON, STRAYER, 1989; GERMOLÉ *et al.*, 1998; SMITH *et al.*, 2000a).

a) Câncer de pele, hiperpigmentação e hiperqueratose

A hiperpigmentação é mencionada como a mudança mais comum na pele de pessoas expostas cronicamente ao arsênio. Por outro lado, a hiperqueratose ocorre na planta dos pés e palmas das mãos, e pode ser desenvolvida depois de quatro anos ou entre 20 a 30 anos após a exposição. A hiperqueratose e o carcinoma escamoso celular podem desencadear a formação de carcinoma invasivo (JACKSON, GRAINGE, 1975; SHANNON, STRAYER, 1989; MALONEY, 1996; MAZUMBER *et al.*, 1998). Na doença de Bowen se observa carcinoma escamoso celular, e esta doença é a forma mais comum de câncer de pele induzido por arsênio (MALONEY, 1996; YEH *et al.*, 1968). Na Tabela 7.3 são apresentados alguns casos citados na literatura que relacionam a exposição ao arsênio por via oral e doenças na pele.

SMITH *et al.* (2000a), no Chile, desenvolveram um estudo para comparar prevalência de lesões na pele com o fator de nutrição. Observou-se que para o gênero masculino a prevalência foi muito similar à observada

em Taiwan e na Índia, onde existem antecedentes de má nutrição. Este resultado é contrário à hipótese de que uma melhor dieta favorece o processo de metilação do arsênio inorgânico indicado como um mecanismo para a destoxificação.

b) Câncer interno

A exposição crônica pelo consumo de água com arsênio aumenta o risco para diversos cânceres internos. Câncer de fígado, rim e bexiga foram detectados em zonas que apresentavam altas concentrações de arsênio na água potável (BATES *et al.*, 1992; BROWN, CHEN, 1995; CHEN *et al.*, 1985; CHEN *et al.*, 1988; CUZICK *et al.*, 1992; HSUEH *et al.*, 1995; MORALES *et al.*, 2000; NEUBAUER, 1947; SMITH *et al.*, 1992). Os estudos epidemiológicos mostram que o consumo de água com uma concentração baixa de arsênio (50 µg/L) é associado com um aumento do risco de câncer, mas o estado nutricional e ingestão de arsênio pelos alimentos não foram considerados na estimativa de risco para câncer (MORALES *et al.*, 2000).

No Chile, os primeiros casos detectados de câncer interno ocorreram em 1939, com a doença conhecida como câncer dos salitreiros. O salitre (nitrato de sódio) é produzido da matéria-prima chamada "caliche", que contém arsênio (PRUNES, 1939). O primeiro caso de câncer dos salitreiros foi um homem de 22 anos, sendo o segundo caso documentado no continente americano. A autópsia deste jovem evidenciou um hemangioendotelioma maligno de fígado, associado ao alto teor de arsênio no local de trabalho e ao hidroarsenicismo (conteúdo de arsênio na água) da região onde morava. A análise do teor de arsênio no cabelo (20 µg/g) e no tumor (0,25 µg/g) mostrou níveis elevados (RENNKE *et al.*, 1971).

Nos anos 1960, um estudo de caso mostrou a presença de sarcoma hemangioendotelial em um homem que havia sido tratado com solução de Fowler (arsenito de potássio), durante 17 anos, contra psoríase (REGELSON

et al., 1968). Nos anos posteriores surgiram novos estudos que relacionavam a ingestão crônica de arsênio e o tratamento prolongado com solução de Fowler. Os pacientes apresentavam cirrose e fibrose hepáticas, além de câncer primário no fígado (COWLISHAW *et al.*, 1979).

A doença relacionada à exposição ao arsênio por via inalatória é o câncer de pulmão. Vários estudos relatam a relação entre câncer de pulmão e exposição ocupacional ao arsênio nas minas de cobre em diversas partes do mundo (ENTERLINE, MARSH 1982; JÄRUP *et al.*, 1989; RIVARA *et al.*, 1977; WHO, 2001c).

Na Suécia, um aumento na mortalidade por câncer de pulmão, doença cardiovascular e cirrose do fígado foi observado em trabalhadores expostos ao arsênio numa fundição de cobre (AXELSON *et al.*, 1978; BECKMAN *et al.*, 1977; LEE, FRAUMENI, 1969; OTT *et al.*, 1974; PERSHAGEN, 1985; RENCHER *et al.*, 1977; WELCH *et al.*, 1982). Outro caso apresentado na literatura é o de Tacoma (Washington, EUA) numa fundição de cobre, principal produtora de trióxido de arsênio. Neste local, bem como em outros lugares, se observou uma forte relação entre exposição dos trabalhadores ao arsênio e câncer de pulmão (ENTERLINE *et al.*, 1987; WELCH *et al.*, 1982).

Estudos realizados em minas de cobre mostraram dificuldades para avaliar a contribuição de outros agentes químicos presentes no local de trabalho, como dióxido de enxofre, ou saber qual é a influência do hábito de beber álcool ou fumar. Pode existir uma combinação de agentes atuando sinergisticamente com o arsênio na indução de câncer de pulmão e doença cardiovascular (ENTERLINE, MARSH, 1982; LEE, FRAUMENI, 1969; SNEGIREFF, LOMBARD, 1951).

Segundo OTT *et al.* (1974), outro grupo de trabalhadores expostos ao arsênio são aqueles que manufaturam e aplicam praguicidas contendo

compostos arseniais, principalmente arseniato de chumbo, arseniato de cálcio, acetoarsenito de cobre e arseniato de manganês. Viu-se que esses trabalhadores apresentaram um aumento do risco para câncer de pulmão.

TABELA 7.3: Efeitos sobre a pele devido à exposição ao arsênio por via oral

Local	Concentração de arsênio na água potável	Idade (tempo de residência aproximado) em anos População estudada -Gênero	Estimativa Ingestão diária de arsênio Estado nutricional	Doença (prevalência)	Referência
Taiwan	50 - >1.000 µg /L	<19 - >70 (~45) 21.152 mulheres 19.269 homens	ND	Câncer de pele (10,6/1.000) Hiperpigmentação (183,5/1.000) Queratose (71,0/1.000)	TSENG <i>et al.</i> , 1968
Bengala Oeste (Índia)	<50 - >800 µg /L	<9 - >60 4.093 mulheres 3.590 homens	3,2-14,9 (µg/kg/dia) má nutrição	Queratose mulheres (0,4-8,3/100) homens (1,5-10,7/100) Hiperpigmentação mulheres (0,3-11,5) Homens (0,4-22,7)	MAZUMDER <i>et al.</i> , 1998
Chiu-Chiu (Chile)	750-800 µg /L	11-38 (~20) 20 mulheres 25 homens	ND Boa nutrição	1 mulher (13 anos de idade) apresentou mudanças na pigmentação da pele. 4 homens (entre eles um homem de 19 anos de idade) apresentaram mudanças na pigmentação da pele e queratose nas mãos e pés.	SMITH <i>et al.</i> , 2000a
Bangladesh	<150->1.000 µg /L	30-60 578 mulheres 903 homens	ND	Queratose, hiperpigmentação, hipopigmentação 11,5/100 mulheres 22,7/100 homens (para 800µg /L)	TONDEL <i>et al.</i> , 1999
ND: dado não disponível					

Efeitos teratogênicos e reprodutivos

O arsênio e seus compostos demonstraram ter propriedades teratogênicas, isto é, produzem uma alteração estrutural (ou funcional) do desenvolvimento que impede a formação harmônica do indivíduo devido a mutações das células somáticas embrionárias, ou germinativas, como espermatozóide ou óvulo (CASTRO, 1982). O arseniato e o arsenito interferem no crescimento normal de embriões de camundongo e os efeitos observados foram retardo no crescimento, abertura do tubo neural e alterações na formação dos membros (CHAINEAU *et al.*, 1990).

Em hamsters, o arseniato de sódio provoca exencefalia, deformação das orelhas, anormalidades geniturinárias, fenda palatina e lábio leporino (FERM *et al.*, 1971). A administração de arseniato de sódio em hamsters com oito dias de gestação, em doses de 20 mg/kg de peso, por via intravenosa, mostrou que existe permeabilidade da placenta ao arsênio durante os primeiros estágios da embriogênese. O arsênio se distribui nos tecidos materno, placentário e embrionário (FERM, 1977).

Os dados sobre arseniais orgânicos são poucos, embora recentemente KENYON e HUGHES (2001) mostraram que DMA é fetotóxico e teratogênico nos estudos experimentais realizados em camundongos.

O arsênio tem sido associado com efeitos na reprodução. Tentou-se estabelecer a relação entre consumo de arsênio pela água e mortalidade fetal, neonatal e pós-natal, baixo peso ao nascer, abortos espontâneos, pré-eclampsia e má formação congênita. No entanto, existe fraca evidência a este respeito, não sendo possível afirmar que o arsênio provoca efeitos reprodutivos em humanos (HOPENHAYN-RICH *et al.*, 2000; WHO, 2001b).

Efeitos vasculares periféricos

No final dos anos 1960, um estudo epidemiológico retrospectivo realizado em Taiwan, em uma área de alta prevalência da desordem vascular periférica, sugeriu que a etiologia da doença do pé negro, que acarreta em gangrena e perda dos dedos e extremidades, era produzida pelo consumo de água de poço artesiano contendo arsênio (CH'I, BLACKWELL, 1968). Posteriormente, nos anos 1990, um estudo também mostrou uma correlação entre o consumo, por um longo período, de água contendo arsênio e desordem vascular periférica (TSENG *et al.*, 1996).

Efeitos cardiovasculares

O consumo da água contendo arsênio está associado com doenças cardiovasculares, mas não com acidente vascular cerebral e isto poderia ser explicado pelo fato do arsênio se distribuir em menor grau no cérebro (WU *et al.*, 1989).

Nos anos 1990 foram publicados dados de um estudo efetuado em uma fundição de cobre, perto de Washington, onde se estabeleceu uma relação entre a exposição ocupacional ao arsênio e doença cardiovascular. Estudos ocupacionais posteriores realizados no Japão não coincidem com os dados relatados nos Estados Unidos (WHO, 2001c).

Entretanto, em Taiwan, pacientes com a doença do pé negro mostraram significativas associações entre a concentração de arsênio na água de poço e a morte por doença cardiovascular (WHO, 2001b).

Fatores de risco associados às doenças cardiovasculares

Hipertensão

A ingestão crônica de arsênio e o desenvolvimento de hipertensão têm sido objeto de recentes estudos epidemiológicos. Em Bangladesh foi analisada a relação entre hipertensão e o consumo de água contendo arsênio. Os resultados obtidos sugerem que o arsênio pode induzir hipertensão em humanos. O mecanismo pelo qual o arsênio induz a hipertensão não é claro e necessita de futuras investigações (LUBIN, FRAUMENI, 2000; RAHMAN *et al.*, 1999).

Um estudo anterior, desenvolvido em Taiwan, também mostrou que o arsênio aumenta a prevalência de hipertensão em indivíduos expostos cronicamente ao arsênio presente na água. Acredita-se que a hipertensão seja resultado de defeitos neurológicos e renais induzidos pelo arsênio. Este elemento pôde induzir hipertensão por interação com proteínas estruturais ou funcionais envolvidas no controle da pressão sangüínea, embora estas hipóteses precisem ser mais estudadas (CHEN *et al.*, 1995).

Diabetes melito

LAI *et al.* (1994) realizaram um estudo em Taiwan e sugeriram que a exposição crônica ao arsênio pode induzir diabetes melito em humanos. Neste estudo foi observado um aumento da prevalência de diabetes melito com a idade. Não foram desenvolvidos estudos para desvendar o mecanismo pelo qual o arsênio induz diabetes melito. Na Tabela 7.4 são apresentados alguns estudos que relacionam o consumo de arsênio na água potável e a prevalência de diabetes melito.

TABELA 7.4: Diabetes melito em populações expostas ao arsênio por via oral

Local	Concentração de arsênio na água potável	Idade (tempo de residência aproximado) em anos Número da população estudada -Gênero	Estimativa da ingestão diária de arsênio Estado nutricional	Doença (prevalência)	Referência
Bangladesh	50-1.000 µg/L	30->60	ND	Diabetes melito 4,4%	RAHMAN <i>et al.</i> , 1998
Taiwan	700 a 930 µg/L	30->60 (~30) 510 mulheres 381 homens	ND	Diabetes melito Mulheres 1,7-20,5% Homens 2,2-12,8%	LAI <i>et al.</i> , 1994

ND: dado não disponível

Efeitos neurológicos

Admite-se que a exposição aguda ao arsênio causa dano neurológico, especialmente no sistema nervoso periférico. Entretanto, existem poucos estudos que demonstrando dano neurológico pela exposição crônica ao arsênio. Alguns dos efeitos relatados incluem redução na condução nervosa de trabalhadores expostos e neuropatia sensorial e motora por exposição ao arsênio na água (HEYMAN *et al.*, 1956; WHO, 2001b).

Efeitos hematológicos

A exposição crônica ao arsênio pela água potável é relacionada com alterações na medula óssea, com mudanças megaloblásticas, e às vezes, granulocitopenia grave, com diminuição da defesa contra infecções e anemia (ASTOLFI *et al.*, 1982; FEUSSNER *et al.*, 1979; KJELDSBERG *et al.*, 1972; KYLE, PEASE, 1965; TERADA *et al.*, 1962; WESTHOFF *et al.*, 1975).

CAPÍTULO 8

AVALIAÇÃO DO RISCO PARA A SAÚDE

Estimativas do risco

As estimativas de risco para arsênio são baseadas em estudos epidemiológicos. Os de Taiwan, nos anos 1968 e 1977, foram os escolhidos pela EPA (em 1988) para estimar o risco de câncer de pele pelo consumo de água potável contendo arsênio (BUCHET, LISON, 2000; MEEK, HUGHES, 1992).

Este estudo considerou 40.000 indivíduos expostos ao arsênio e a prevalência de câncer de pele foi determinada entre os habitantes. Os indivíduos foram classificados de acordo com o gênero e a idade em função do nível de exposição. As concentrações de arsênio foram medidas na água dos poços e agrupadas da seguinte forma: <300, 300 a 600, >600 $\mu\text{gAs/L}$, usando faixas etárias de 0 a 19, 20 a 39, 40 a 59, >60 anos (TSENG, 1977). Os dados sobre a prevalência de câncer de pele e as concentrações de arsênio na água dos poços foram utilizados para a construção da curva dose-resposta. A população de Taiwan tinha um longo tempo de exposição, provavelmente desde o nascimento. O consumo de água pelos homens foi estimado em 3,5 L ao dia, e em 2,0 L para as mulheres (MEEK, HUGHES, 1992).

Para o cálculo de risco de câncer a EPA utilizou o modelo multiestágios. Este foi ajustado para dados da população norte-americana, considerando que um adulto pesa 70 kg e consome 2 litros de água por dia. Ao se considerar uma ingestão diária de 1 $\mu\text{gAs/L}$ na água potável, pelo tempo de vida, obteve-se um valor estimado de excesso de risco de câncer de 5×10^{-5} (BUCHET, LISON, 2000).

De acordo com o modelo utilizado pela EPA, e considerando o valor provisório proposto pela WHO em 1993, de 10 µgAs/L na água potável, o excesso de risco de câncer na pele é de 6×10^{-4} (BUCHET, LISON, 2000).

Na Tabela 8.1 são apresentados os níveis de risco para câncer de pele por exposição oral a arsênio, obtidos a partir do modelo multiestágios e dados da população Taiwanesa (TSENG *et al.*, 1968; TSENG, 1977). Para obter um nível de risco de 1×10^{-4} (um caso por 10.000 habitantes) seria preciso que a água apresentasse uma concentração de 2 µg/L de arsênio, valor inferior ao limite de detecção da maioria dos laboratórios nos Estados Unidos, que é de 5 µg/L (BROWN *et al.*, 1997).

TABELA 8.1: Níveis de risco por concentração de arsênio na água potável

Nível de risco (1 caso por número de habitantes)	Concentração de arsênio (µg/L)
1×10^{-4} (1 em 10.000)	2
1×10^{-5} (1 em 100.000)	0,2
1×10^{-6} (1 em 1.000.000)	0,02

Fonte: EPA, 1988 *apud* EPA, 2003.

Em vista destes resultados, surgiram muitas discussões para diminuir o nível de arsênio na água potável fixado em 50 µgAs/L. A grande discussão nos EUA envolve importantes medidas econômicas implicadas na redução do limite de arsênio na água. Uma concentração de 2 µg/L de arsênio na água potável envolveria um custo de 6 trilhões de dólares ao ano (BROWN *et al.*, 1997; CHAPPELL *et al.*, 1997). Assim, em janeiro do ano 2002, a EPA promulgou a regulamentação do arsênio na água potável admitindo um valor máximo de 10 µg/L (ABERNATHY, 2003; BERGENSON, 2002).

O estudo realizado em Taiwan foi uma grande contribuição para o cálculo de risco de câncer de pele produzido por arsênio. Entretanto, surgiram várias razões para questionar o cálculo feito pela EPA. Uma das

razões é que existiria uma susceptibilidade particular para desenvolver câncer e doença do pé negro. A doença do pé negro poderia ser causada por outra substância presente na água, o ácido húmico (LU, 1990). Por outro lado, a dieta da população de Taiwan é baixa em proteínas, particularmente em metionina, o que poderia produzir uma diminuição no processo de metilação do arsênio inorgânico (BUCHET, LISON, 2000). Outra recomendação é considerar a ingestão de arsênio nos alimentos, no estudo de Tseng (1968) em Taiwan a contribuição de arsênio proveniente dos alimentos não foi considerada (CHAPELL *et al.*, 1997).

Estimativa da ingestão diária segura de arsênio por alimentos

Nos Estados Unidos, a média estimada para a ingestão diária de arsênio por alimentos é de 12 a 40 μg . Para a FAO/WHO a dose diária máxima aceitável é de 2 $\mu\text{gAs/kg}$. Os alimentos marinhos, grãos e cereais contribuem com a maior parte do arsênio na dieta (ABERNATHY, 1994; UTHUS, 1994).

A dose de referência (RfD) não considera em seu cálculo os efeitos cancerígenos e genotóxicos. Assim, câncer de pele não foi considerado no cálculo da dose de referência. Outros sinais como hipopigmentação, hiperpigmentação e queratose foram considerados (ABERNATHY, 1994).

Dose de referência para arsênio

a) Obtenção de NOAEL e LOAEL

Assim, baseando-se no estudo de Abernathy (1994), de exposição ao arsênio em Taiwan, foram estimados um NOAEL (Nível de efeitos adversos não observáveis) de 0,8 $\mu\text{g/kg/dia}$ e um LOAEL (Menor dose com efeitos adversos observáveis) de 14 $\mu\text{g/kg/dia}$. O cálculo destes parâmetros é o seguinte:

$$\text{NOAEL} = (0,009 \text{ mg As/L} \times 4,5 \text{ L/dia} + 0,002 \text{ mgAs/dia})/55\text{kg} \\ = 0,0008 \text{ mg/kg/dia} = 0,8 \text{ } \mu\text{g/kg/dia}.$$

$$\text{LOAEL} = (0,170 \text{ mg As/L} \times 4,5 \text{ L/dia} + 0,002 \text{ mg As/dia})/55 \text{ kg} \\ = 0,014 \text{ mg/kg/dia} = 14 \text{ } \mu\text{g/kg/dia}.$$

Considerações:

- Média aritmética da concentração de arsênio para o NOAEL = 0,009 mg As/L
- Média aritmética da concentração de arsênio para o LOAEL = 0,170 mg As/L
- Consumo de água estimada considerando preparação de alimentos = 4,5 L/dia
- A ingestão de arsênio através dos alimentos foi considerada como um sub-cenário de exposição e, por não contar com dados experimentais, considerando-se o consumo da batata e o arroz para a estimativa = 0,002 mg As/dia.
- O peso médio considerado para a população Taiwanesa = 55kg

b) Obtenção da dose de referência

A dose de referência é obtida a partir da divisão do NOAEL e fator (es) de incerteza (FI). Para o caso do arsênio, no estudo realizado em Taiwan, o FI considerado foi 3 obtendo-se um valor de Dose de Referência de 3×10^{-4} mg/kg/dia (0,3 $\mu\text{g/kg/dia}$). A decisão de adotar um FI de valor 3 foi do Grupo de Avaliação de Risco (*Risk Assessment Council - RAC*) da EPA, pela falta de consenso, derivada principalmente da escassez de estudos de toxicidade reprodutiva em humanos (ABERNATHY, 1994; EPA, 2003).

Arsênio como um micronutriente essencial

Alguns estudos realizados em animais, como ratos, hamsters, frangos e cabras, sugerem que o arsênio seja um elemento essencial. Acredita-se que o arsênio também seja um elemento essencial para humanos. Alguns autores consideram que para os seres humanos seria necessária uma ingestão de 10 a 30 $\mu\text{g/dia}$, dose comparável com o valor de referência estimado (0,3 $\mu\text{g/kg/dia}$), considerando uma pessoa adulta. Entretanto, os estudos que indicam que o arsênio inorgânico é um micronutriente essencial para humanos não são conclusivos (SMITH *et al.*, 1992; TOMBO *et al.*, 2001; UTHUS, 1994).

CAPÍTULO 9

BIOMARCADORES

O biomarcador ou marcador biológico é um indicador de um evento num sistema ou amostra biológica. Os biomarcadores foram classificados como de exposição, de efeito e susceptibilidade (NAS/NRC, 1989 *apud* ATSDR, 2000).

Biomarcadores de exposição para arsênio

Um biomarcador de exposição é a estimativa do nível de uma substância química ou seus metabólitos em tecidos e fluídos do corpo, que deve estar correlacionada com a concentração da substância química no ambiente (NAS/NRC, 1989 *apud* ATSDR, 2000; WHO, 1993). Os ensaios laboratoriais que permitem estimar estes biomarcadores são: análises da urina, do sangue, dos cabelos e das unhas.

Análises na urina

Na urina é medido o arsênio inorgânico e seus produtos de biotransformação (MMA e DMA). É importante que as pessoas avaliadas parem de ingerir alimentos marinhos pelo menos dois dias antes das determinações, uma vez que esses alimentos contêm arseniais orgânicos que afetam o resultado da análise (BUCHET *et al.*, 1996; WHO, 2001b). Estas estimativas proporcionam dados de uma recente exposição e são usadas para exposições ambientais e ocupacionais ao arsênio (HAKALA, PYY, 1995). Estas estimativas são correlacionadas com a concentração de arsênio na água potável (SMITH *et al.*, 1992).

Análises no sangue

As avaliações da exposição através de análises do sangue somente são usadas para exposição aguda e não se comprovou que a concentração do arsênio total no sangue esteja correlacionada com a exposição ao arsênio na água potável (WHO, 2001b).

Outro biomarcador de exposição usado corresponde à frequência de troca de cromátides irmãs (*Sister Chromatides Exchange-SCE*), que é uma manifestação citológica de quebra e uma nova união em sítios homólogos de dois cromossomos em um único cromossomo (CARRANO, NATAJARAN, 1988). Na província de Córdoba, na Argentina, foi efetuado um estudo com indivíduos expostos a arsênio na água potável. As pessoas estudadas tinham tempo de exposição estimado em vinte anos. Encontrou-se que existia uma associação entre os níveis de arsênio na água potável com a frequência de SCE em linfócitos (LERDA, 1994).

Análises nos cabelos

A determinação das concentrações de arsênio no cabelo é uma medida de uma exposição previa. Em um estudo realizado entre meninos expostos a uma alta concentração de arsênio por via inalatória, nas proximidades de uma indústria que queimava carvão, detectou-se um valor mais alto de arsênio no cabelo quando comparado com valores de arsênio no cabelo do grupo controle (CORRIDAN, 1974). Ao determinar as concentrações de arsênio em cabelo torna-se impossível diferenciar o arsênio que provém de uma contaminação externa com a possível união do arsênio aos grupos SH da queratina do cabelo, do arsênio inalado, ou o que provém da ingestão (ATALLA *et al.*, 1965; WHO, 2001b). Devido a isto, as medições de arsênio na urina são preferidas porque refletem as quantidades do arsênio inalado ou ingerido e dão uma visão mais verdadeira da ingestão diária (BENCKO, SYMON, 1977b).

Análises nas unhas

A medida da concentração de arsênio em unhas das mãos e pés é um biomarcador de exposição que representam uma exposição antiga ao arsênio, mas o uso das unhas dos pés é mais recomendado, uma vez que as unhas das mãos podem sofrer maior contaminação superficial (WHO, 2001b). A estimativa da concentração de arsênio em unhas dos pés apresenta uma boa correlação com a concentração de arsênio na água potável. Esta refletiria a carga de arsênio no corpo proveniente de todas as vias de ingresso deste elemento no organismo e também existe facilidade para a coleta das amostras. (KARAGAS *et al.*, 1996). Além disso, este biomarcador foi utilizado para avaliar a exposição em zonas onde existe baixa concentração de arsênio na água potável, mostrando também uma boa correlação (KARAGAS *et al.*, 2000). Arsênio em unhas das mãos mostrou boa correlação com exposição ocupacional por via inalatória (AGAHIAN *et al.*, 1990 *apud* WHO, 2001c).

Nas Tabelas 9.1 e 9.2 são apresentados dados de estimativas do arsênio no sangue, urina, cabelo e unhas em indivíduos expostos e valores de referência.

TABELA 9.1: Concentração de arsênio no sangue, urina, unha e cabelo em populações expostas

Concentração de arsênio	Idade anos (Gênero)	Local Principal fonte de exposição	Concentração do arsênio no sangue (µg/L)	Concentração do arsênio na urina (µg/L)	Concentração do arsênio nas unhas (µg/g)	Concentração do arsênio no cabelo (µg/g)	Referência
ND	10 (M)	Moradores das proximidades de uma planta de combustão de carvão, na Tchecoslováquia Ar	4,53 (alto) 1,45 (baixo) 1,88 (controle)	25,3 8,2 10,9	ND	3,261 (alto) 0,295 (baixo) 0,152 (controle)	BENCKO, SYMON 1977a,b
ND	ND	Trabalhadores de usinas de arsênio no Brasil Ar	200-400	50-150	ND	212-593 315-1012 ^a	ATALLA <i>et al.</i> , 1965
Água Potável (619 µg/L)	29,97±23,13 ^b (F,M)	Moradores de San Pedro de Atacama-Chile Água Potável	ND	636,3 (F) 734,5 (M)	ND	ND	SANCHI <i>et al.</i> , 1992
Água Potável (772 µg/L)	25,44±23,13 ^b (F,M)	Moradores de Chiu-Chiu -Chile Água Potável	ND	786,1 (F) 820,2 (M)	ND	ND	SANCHI <i>et al.</i> , 1992
Água Potável (240-1000 µg/L)	ND (tempo de exposição 10-60 anos)	Moradores da Comarca Lagunera (México) Água Potável	8 2 (controle)	300 10 (controle)	4,55 0,42 (controle)	1,24 0,06 (controle)	OLGUÍN <i>et al.</i> , 1983
ND	5-12 (F,M)	Moradores das proximidades de uma área com atividade de mineração- Irlanda Ar	ND	ND	ND	2,1 ± 2,25	CORRIDAN, 1974

F: feminino; M: masculino; a: cabelo do púbis; b: idade média da população; ND: dado não disponível.

TABELA 9.1: Concentração de arsênio no sangue, urina, unha e cabelo de populações expostas

Concentração de arsênio	Idade anos (Gênero)	Local Principal fonte de exposição	Concentração do arsênio no sangue (µg/L)	Concentração do arsênio na urina (µg/L)	Concentração do arsênio nas unhas (µg/g)	Concentração do arsênio no cabelo (µg/g)	Referência
Água Potável (328-462µg/L)	26±15 ^b (F, M)	Moradores de Edison –Estados Unidos Água Potável	1,8-55	ND	ND	0,36-4,31	VALENTINE <i>et al.</i> , 1979
Alto Baixo	47,6±16,1 ^b (F, M)	Moradores de New-Hampshire (EUA) Água Potável	ND	ND	0,39± 0,12 ° (alto) 0,14± 0,02 ° (baixo)	ND	KARAGAS <i>et al.</i> , 1996
Água Potável (80µg/L)	11-15 (F, M)	Moradores proximidades de uma mina de cobre, em Chuquicamata-Chile Água Potável	ND	152	11,79	3,49	BORGÑO <i>et al.</i> , 1980
Água Potável (560-670µg/L)	41,1 (F, M)	Moradores San Pedro de Atacama-Chile Água Potável	ND	582,4	ND	ND	BIGGS <i>et al.</i> , 1997
Água Potável (12-17µg/L)	40,9 (F, M)	Moradores Toconao-Chile Água Potável	ND	58,8	ND	ND	BIGGS <i>et al.</i> , 1997
ND	8-54 (F, M)	Moradores Monte Quemado, Santiago del Estero- Argentina ND	ND	ND	ND	0,4-20	ASTOLFI <i>et al.</i> , 1982

F: feminino; M: masculino; b: idade média da população; c: unhas dos pés; ND: dado não disponível.

TABELA 9.2: Valores de referência no sangue, urina, unha e cabelo reportados na literatura em populações não expostas ao arsênio

Sangue µg/L	Urina µg/L	Unhas µg/g	Cabelo µg/g	Referência
90 - 500	130 - 330	0,82-3,5 (mãos) 0,52-5,6 (pés)	0,51-0,21	SMALES, PATE, 1952 <i>apud</i> ATALLA <i>et al.</i> , 1965
ND	100	1	1	BORGONHO <i>et al.</i> , 1980
1,5	20	ND	0,08-0,28	ASTOLFI <i>et al.</i> , 1982
<10	<50	ND	<0,001	CASARETT <i>et al.</i> , 1991
ND: dado não disponível.				

Biomarcadores de efeito para arsênio

Um biomarcador de efeito é a medição de uma alteração bioquímica, fisiológica ou outra alteração no organismo que pode ser relacionada com deterioração da saúde e desenvolvimento de alguma doença (WHO, 1993; WHO, 2001a). Eles devem identificar efeitos bioquímicos precoces e reversíveis que podem ser preditivos de modo a evitar o desenvolvimento de uma doença (HENDERSON *et al.*, 1989). Os biomarcadores de efeito podem ser usados para propósitos de triagem a nível individual e para identificar grupos de risco na indústria e na população em geral (WHO, 1993).

As avaliações correspondentes a um biomarcador de efeito para arsênio são feitas a partir da presença de micronúcleos, de mutações, de dano no ADN, usando a técnica do ensaio do cometa e de alteração no metabolismo do grupo heme (BANU *et al.*, 2001; GOMEZ-ARROYO *et al.*, 1997; MOORE *et al.*, 1997b; SMITH *et al.*, 1993).

O ensaio do cometa (*Single-Cell Gel Electrophoresis-SCGE*) tornou-se uma técnica popular no estudo do ADN danificado por radiação e por vários agentes químicos genotóxicos. A fragmentação do cromossomo indica dano no ADN e o dano é proporcional ao comprimento da cauda do cometa (ANNAS *et al.*, 2000; BANU *et al.*, 2001). Um estudo para avaliar *in vivo* o potencial genotóxico do trióxido de arsênio (As_2O_3) foi realizado em leucócitos de ratos utilizando-se o ensaio do cometa. Várias doses de trióxido de arsênio produziram um significativo aumento no comprimento da cauda do cometa. Neste estudo comprovou-se que o trióxido de arsênio induziu quebra nas cadeias de ADN nessas células (BANU *et al.*, 2001).

Os micronúcleos (MN) são formados por condensação de fragmentos de cromossomos acêntricos ou por cromossomos inteiros durante a anáfase que não foram incorporados ao núcleo principal durante o processo de divisão celular (FENECH, MORLEY, 1985). Um estudo entre indivíduos cronicamente expostos ao arsênio pela água potável mostrou um incremento

na presença de micronúcleos em células de bexiga. O arsênio urinário total esteve associado positivamente com um incremento na prevalência de micronúcleo em células de bexiga. Os MN, segundo o estudo, foram produzidos principalmente por rompimento cromossomal via um evento clastogênico (MOORE *et al.*, 1997a).

Em alguns estudos realizados com o gene tumor-supressor p53 observou-se um aumento da proteína p53 em fibroblastos humanos depois da exposição ao arsenito. De acordo com os estudos, as mutações no gene p53, relacionadas ao câncer em humanos, seriam causadas por agentes mutagênicos químicos e físicos (GREENBLATT *et al.*, 1994; HARRIS, 1996). Se for possível comprovar que o arsênio produz mutações únicas no gene tumor-supressor p53, ou mesmo em outros genes importantes na produção de câncer em humano, seria possível o desenvolvimento de marcadores moleculares para carcinogênese em populações humanas (WIENCKE *et al.*, 1997; YIH, LEE, 2000).

A indução da proteína p53 foi utilizada como um teste *in vivo* de carcinogênese. O aumento da expressão da proteína p53 foi considerado como evidência de dano no ADN. Os resultados obtidos com células de mamíferos (fibroblastos de camundongos) foram comparados com resultados dos testes de carcinogenicidade *in vivo* com células de bactérias para uma série de agentes químicos. O teste para arsenieto de gálio não produziu a indução da proteína p53 em fibroblastos no tempo e doses testadas, portanto o resultado foi considerado negativo. Este resultado esteve de acordo com os obtidos pelo teste de carcinogênese *in vivo* para bactérias, mas não coincidiu com um teste praticado para células de hamsters (DUERKSEN-HUGHES *et al.*, 1996).

Atualmente, concorda-se que as mudanças no nível de excreção urinária de vários metabólitos do grupo heme são consideradas como um bom

indicador de efeito em animais, mas é preciso desenvolver estudos em humanos (WOODS, FOWLER, 1978; ATSDR, 2000).

O grande problema dos biomarcadores, atualmente, é a validação e a especificidade. Os biomarcadores de efeito para arsênio não são específicos, não sendo, portanto, possível atribuir somente ao arsênio um determinado efeito quando, na realidade, o ser humano está exposto a muitos agentes químicos e físicos presentes na água, solo, ar e alimentos que podem atuar sinergisticamente.

Biomarcadores de suscetibilidade para arsênio

O biomarcador de suscetibilidade é um indicador da habilidade de um organismo de responder frente a uma substância química de uma maneira inerente ou adquirida. Para o arsênio é considerado como biomarcador desta categoria o polimorfismo para algumas enzimas encarregadas do metabolismo ou outras mudanças nas proteínas implicadas na reparação de ADN (WHO, 2001a). O polimorfismo genético nas enzimas encarregadas da biometilação do arsênio inorgânico pode produzir diferenças na velocidade de biotransformação e, portanto, diferença na dose efetiva num órgão alvo, fazendo com que a resposta seja diferente entre indivíduos de uma mesma população exposta ao arsênio (HOPENHAYN-RICH *et al.*, KAISER, 1998; 1993; VAHTER, 2000).

Os biomarcadores de suscetibilidade para o arsênio não têm sido extensivamente desenvolvidos. Futuras investigações poderiam incluir estudos sobre genes que influenciam a diferenciação celular, apoptose, cinética do ciclo celular e reparação do ADN (ALBERTINI *et al.*, 1996; VATHER, 2000).

COMENTÁRIOS FINAIS

O interesse pelos efeitos adversos à saúde humana produzidos pela exposição crônica a arsênio permitiu que fosse desenvolvida grande quantidade de pesquisas científicas, avançando-se no conhecimento de variados aspectos deste elemento. Ainda assim, persistem pontos não esclarecidos como, por exemplo, a contradição que existe na indução de câncer entre humanos e animais. Até agora não foi possível demonstrar que o arsênio induz câncer em modelos de experimentação animal, enquanto muitos estudos epidemiológicos encontraram uma associação entre a exposição crônica de arsênio através da água potável e os diversos tipos de câncer.

Atualmente admite-se que o arsênio é um agente genotóxico e co-mutagênico, embora esses pontos ainda gerem controvérsia. Também se sabe que é um promotor de tumores porque favorece a transição de tumores benignos para malignos. Dessa forma novos estudos são necessários para entender o mecanismo que induz câncer e assim, desenvolver marcadores que sejam específicos para arsênio e que permitam sua detecção precoce.

Por outra parte, a maioria dos países adotou o valor de referência na água potável recomendado pela OMS (10 µg/L). Atualmente a atenção está dirigida a realizar estudos epidemiológicos que relacionem a indução de câncer a baixas concentrações de arsênio, considerando fatores como hábito de fumar, susceptibilidade, dieta e tempo de exposição.

A presença de arsênio no ambiente se deve a fontes naturais, antropogênicas e a biodisponibilidade deste elemento, desta forma uma maior compreensão do ciclo global do arsênio nos diferentes meios (água, ar, solo e alimentos) poderá ser um importante requisito para uma melhor avaliação dos efeitos do arsênio na saúde humana.

REFERÊNCIAS⁹

- ABERNATHY, C.; THOMAS, D.; CALDERON, R. Health effects and risk assessment of arsenic. **J. Nutr.**, Bethesda, v.133, n.5, p.1536s-1538s, 2003.
- ABERNATHY, C.O. The arsenic reference dose. In: MERTZ, W.; ABERNATHY, C.O.; OLIN, S.S., eds. **Risk assessment of essential elements**. Washington: ILSI Press, 1994. p.283-290.
- ABERNATHY, C.O.; LIU, Y.P.; LONGFELLOW, D.; APOSHIAN, H.V.; BECK, B.; FOWLER, B.; GOYER, R.; ROSSMAN, T.; THOMPSON, C.; WAALKES, M. Arsenic: health effects, mechanisms of actions and research issues. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.107, n.7, p.593-597, 1999.
- ACGIH. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. **2003 TLVs® and BEIs®. Baseados na documentação dos limites de exposição (TLVs®) para substâncias químicas e agentes físicos & índices biológicos de exposição (BEIs®)**. Edição em português por ABHO (Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais): São Paulo: ABHO, 2003. 219p.
- ACHARYYA, S.K.; CHAKRABORTY, P.; LAHIRI, S.; RAYMAHASHAY, B.C.; GUHA, S.; BHOWMIK, A. Arsenic poisoning in the Ganges delta. **Nature**, London, v.401, p.545, 1999.
- ADRIANO, D.C. **Trace elements in the terrestrial environment**. New York: Springer-Verlag, 1986.p.47-72.
- AGAHIAN, B.; LEE, J.S.; NELSON, J.H.; JOHNS, R.E (1990) Arsenic levels in fingernails as a biological indicator of exposure to arsenic. **Am. Ind. Hyg. Assoc.** *apud* WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 224: Arsenic and arsenic compounds**. 2.ed. Geneva: World Health Organization, 2001c. 521p.

⁹ As referências bibliográficas estão de acordo com a norma NBR 6023/2000 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e as abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI) 2002.

- AHMANN, D.; KRUMHOLZ, L.R.; HEMOND, H.F.; LOVLEY, D.R.; MOREL, F.M. Microbial mobilization of arsenic from sediments of Aberjona Watershed. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.31, p.2923-2930, 1997.
- AHMANN, D.; ROBERTS, A.L.; KRUMHOLZ, L.R.; MOREL, F.M. Microbe grows by reducing arsenic. **Nature**, London, v.371, n.6500, p.750-751, 1994.
- ALBERTINI, R.J.; NICKLAS, J.A.; O'NEILL, J.P. Future research directions for evaluating human genetic and cancer risk from environmental exposures. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.104, suppl.3, p.503-510, 1996.
- ANNAS, A.; BRITTEBO, E.; HELLMAN, B. Evaluation of benzo(a)pyrene-induced DNA damage in human endothelial cells using alkaline single cell gel electrophoresis. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.471, n.1/2, p.145-155, 2000.
- APOSHIAN, H.V. Biochemical toxicology of arsenic. **Rev. Biochem. Toxicol.**, New York, v.10, p.265-299, 1989.
- APOSHIAN, H.V. Enzymatic methylation of arsenic and other new approaches to arsenic toxicity. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, Palo Alto, v.37, p.397-419, 1997.
- APOSHIAN, H.V.; ARROYO, A.; CEBRIAN, M.E.; DEL RAZO, L.M.; HURLBUT, K.M.; DART, R.C.; GONZALEZ-RAMIREZ, D.; KREPPEL, H.; SPEISKY, H.; SMITH, A.; GONSEBATT, M.E.; OSTROSKY-WEGMAN, P.; APOSHIAN, M.M. DMPS-arsenic challenge test. I: increased urinary excretion of monomethylarsonic acid in humans given dimercaptopropane sulfonate. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Bethesda, v.282, n.1, p.192-200, 1997.
- ASTOLFI, E.; BESUSCHINO, S.C.; GARCIA, J.C.; GUERRA, C.; MACCAGNO, A. **Hidroarsenicismo crónico regional endémico**. Buenos Aires: Talleres Gráficos de la Cooperativa Gral Belgrano, 1982. 144p.

- ATALLA, L.T.; SILVA, C.M.; LIMA, F.W. Activation analysis of arsenic in human hair some observations on the problem of external contamination. **An. Acad. Bras. Cienc.**, Rio de Janeiro, v.37, n.3/4, p.433-441, 1965.
- ATSDR. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for arsenic**. Atlanta: ATSDR, 2000. 429p.
- AXELSON, O.; DAHLGREN, E.; JANSSON, C.D.; REHNLUND, S.O. Arsenic exposure and mortality: a case-referent study from a Swedish copper smelter. **Br. J. Ind. Med.**, London, v.35, n.1, p.8-15, 1978.
- BALCAVAGE, W.X.; KING, M.W. **Biochemistry**. Norwalk: Appleton & Lange, 1995. p.153-154. (Lange meedical book).
- BANU, B.S.; DANADEVI, K.; JAMIL, K.; AHUJA, Y.R.; RAO, K.V.; ISHAQ, M. *In vivo* genotoxic effect of arsenic trioxide in mice using comet assay. **Toxicology**, Oxford, v.162, n.3, p.171-177, 2001.
- BARONI, C.; VANESCH, G.J.; SAFFIOTTI, U. Carcinogenesis tests of two inorganic arsenicals. **Arch. Environ. Health**, Washington, v.7, n.6, p.668-674, 1963.
- BASU, A.; MAHATA, J.; GUPTA, S.; GIRI, A.K. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.488, n.2, p.171-194, 2001.
- BATES, M.N.; SMITH, A.H.; HOPENHAYN-RICH, C. Arsenic ingestion and internal cancers: a review. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.135, n.5, p.462-476, 1992.
- BECKMAN, G.; BECKMAN, L.; NORDERSON, I. Chromosome aberrations in workers exposed to arsenic. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.145-146, 1977.
- BENCKO, V.; BENES, B.; CIKRT, M. Biotransformation of As (III) to As (V) and arsenic tolerance. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.36, n.2, p.159-162, 1976.
- BENCKO, V.; SYMON, K. Health aspects of burning coal with a high arsenic content. **Environ. Res.**, Orlando, v.13, n.3, p.378-385, 1977a.

- BENCKO, V.; SYMON, K. Test of environmental exposure to arsenic and hearing changes in exposed children. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.95-101, 1977b.
- BENSON, A.A. Arsonium compounds in algae. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.86, n.16, p.6131-6132, 1989.
- BENSON, A.A.; SUMMONS, R.E. Arsenic accumulation in great barrier reef invertebrates. **Science**, Washington, v.211, n.30, p.482-483, 1981.
- BENTLEY, R.; CHASTEEN, T. Arsenic curiosa and humanity. **Chem Educ.**, New York, v.7, p.51-60, 2002.
- BENTLEY, R.; CHASTEEN, T. Microbial methylation of metalloids: arsenic, antimony, and bismuth. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, Washington, v.66, n.2, p.250-271, 2002.
- BERG, M.; TRAN, H.C.; NGUYEN, T.C.; PHAM, H.V.; SCHERTENLEIB, R.; GIGER, W. Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.35, n.13, p.2621-2626, 2001.
- BERGESON, L.L. EPA delivers on arsenic rule. **Pollut. Eng.**, Highlands Ranch, v.34, n.1, p.32-34, 2002.
- BIAGINI, R.E; SALVADOR, M. Arsenicismo crónico en la provincia de Salta. **Arch. Argent. Dermatol.**, Buenos Aires, v.33, n.4, p.193-197, 1983.
- BIGGS, M.L.; HAQUE, R.; MOORE, L.; SMITH, A.; FERRECCIO, C.; HOPENHAYN-RICH, C. Arsenic-laced water in Chile. **Science**, Washington, v.281, n.5378, p.785, 1998.
- BIGGS, M.L.; KALMAN, D.A.; MOORE, L.E.; HOPENHAYN-RICH, C.; SMITH, M.T.; SMITH, A.H. Relationship of urinary arsenic to intake estimates and a biomarker effect, bladder cell micronuclei. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.386, n.3, p.185-195, 1997.
- BISWAS, S.; TALUKDER, G.; SHARMA, A. Prevention of cytotoxic effects of arsenic by short-term dietary supplementation with selenium in mice *in vivo*. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.441, n.1, p.155-160, 1999.

- BORGOÑO, J.M.; VENTURINO, H.; VICENT, P. Estudio clínico epidemiológico de hidroarsenicismo en la II región. **Rev. Med. Chile**, Santiago, v.108, p.1039-1048, 1980.
- BORGOÑO, J.M.; VICENT, P.; VENTURINO, H.; INFANTE, A. Arsenic in the drinking water of the city of Antofagasta: epidemiological and clinical study before and after the installation of a treatment plant. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.103-105, 1977.
- BÖRZSÖNYI, M.; BERECKZY, A.; RUDNAI, P.; CSANADY, M.; HORVATH, A. Epidemiological studies on human subjects exposed to arsenic in drinking water in southeast hungary. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.66, n.1, p.77-78, 1992.
- BOSE, P.; SHARMA, A. Role of iron controlling speciation and mobilization of arsenic in subsurface environment. **Water Res.**, Oxford, v.36, p.4916-4926, 2002.
- BOWELL, R.J. Sorption of arsenic by iron oxides and oxyhydroxides in soils. **Appl. Geochem.**, Oxford, v.9, p.279-286, 1994.
- BRANNON, J.M. Fixation, transformation, and mobilization of arsenic in sediments. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.21, n.5, p.450-459, 1987.
- BRIMBLECOMBE, P. Atmospheric arsenic. **Nature**, London, v.280, n.5718, p.104-105, 1979.
- BROWN, K.G.; CHEN, C.J. Significance of exposure assessment to analysis of cancer risk from inorganic arsenic in drinking water in Taiwan. **Risk Anal.**, New York, v.15, n.4, p.475-484, 1995.
- BROWN, K.G.; GUO, H.R.; KUO, T.L.; GREENE, H.L. Skin cancer and inorganic arsenic: uncertainty-status of risk. **Risk Anal.**, New York, v.17, n.1, p.37-42, 1997.
- BROWN, R.M.; NEWTON, D.; PICKFORD, C.J.; SHERLOCK, J.C. Human metabolism of arsenobetaine ingested with fish. **Hum. Exp. Toxicol.**, London, v.9, n.1, p.41-46, 1990.
- BUCHANAN, W.D. **Toxicity of arsenic compounds**. London: Elsevier Publishing Company, 1962. 155p.

- BUCHET, J.P.; GEUBEL, A.; PAUWELS, S.; MAHIEU, P.; LAUWERYS, R.
The influence of liver disease on the methylation of arsenite in humans. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.55, n.3, p.151-154, 1984.
- BUCHET, J.P.; LAUWERYS, R. Study the inorganic arsenic methylation by rat liver *in vitro*: relevance for the interpretation of observations in man. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.57, n.2, p.125-129, 1985.
- BUCHET, J.P.; LISON, D. Clues and uncertainties in the risk assessment of arsenic in the drinking water. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v.38, p.S81-S85, 2000.
- BUCHET, J.P.; LISON, D.; RUGGERI, M.; FOA, V.; ELIA, G. Assessment of exposure to inorganic arsenic, a human carcinogen, due to the consumption of seafood. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.70, n.11, p.773-778, 1996.
- BUCHET, J.P.; PAUWELS, J.; LAUWERYS, R. Assessment of exposure to inorganic arsenic following ingestion of marine organisms by volunteers. **Environ. Res.**, Orlando, v.66, n.1, p.44-51, 1994.
- CAI, Y.; CABRERA, J.C.; GEORGIADIS, M.; JAYACHANDRAN. Assesment of arsenic mobility in the soils of some golf courses in south Flórida. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.291, p.123-134, 2002.
- CALESNICK, B.; WASE, A.; OVERBY, L.R. Availability during human consumption of the arsenic in tissues of chicks fed arsanilic-⁷⁴As acid. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.9, n.1, p.27-30, 1966.
- CARRANO, A.V.; NATARAJAN, A.T. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.204, n.3, p.379-406, 1988.
- CASARETT, L.J.; AMDUR, M.O.; DOULL, J.; KLAASSEN, C.D., eds. **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 4.ed. New York: Pergamon Press, 1991. 1033p.
- CASTRO, J.A. Efectos carcinogénicos; mutagénicos y teratogénicos del arsénico. **Acta Bioquim. Clin. Latinoam.**, La Plata, v.16, n.1, p.3-17, 1982.

- CHAIN. CORNWALL HERITAGE ACCESS INFORMATION NETWORK.
Commonly mined minerals: arsenic. Disponível em:
http://www.chain.org.uk/chain-theme/ind_com8.html. Acesso em: 10
 jun. 2003.
- CHABINEAU, E.; BINET, S.; POL, D.; CHATELIER, G.; MEININGER, V.
 Embriotoxic effects of sodium arsenite and sodium arsenate on mouse
 embryous in culture. **Teratology**, New York, v.41, n.1, p.105-112,
 1990.
- CHALLENGER, F. Biological methylation. **Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol.
 Biol.**, New York, v.12, p.429-491, 1951.
- CHALLENGER, F. Biological methylation. **Chem. Rev.**, Columbus, v.36, n.3,
 p.315-361, 1945.
- CHALLENGER, F.; ELLIS, L. The formation of organo-metalloidal
 compounds by microorganism. Part III. Methylated alkyl- and dialkyl-
 arsines. **J. Chem. Soc.**, London, v.1, p.396-400, 1935.
- CHALLENGER, F.; HIGGINBOTTOM, C. The production of trimethylarsine
 by penicillium brevicaulis (*Scopulariopsis brevicaulis*). **Biochem. J.**,
 London, v.2, p.1757-1778, 1935.
- CHALLENGER, F.; HIGGINBOTTOM, C.; ELLIS, L. The formation of organo-
 metalloidal compounds by microorganism Part I. Trimethylarsine and
 dimethylethylarsine. **J. Chem. Soc.**, London, v.1, p.95-101, 1933.
- CHAPPEL, W.R.; BECK, B.D.; BROWN, K.G.; CHANEY, R.; COTHERN,
 C.R.; IRGOLIC, K.J.; NORTH, D.W.; THORNTON, I.; TSONGAS, T.A.
 Inorganic arsenic; a need and opportunity to improve risk assessment.
Environ. Health Perspect., Research Triangle Park, v.105, n.10,
 p.1060-1067, 1997.
- CHATTERJEE, A.; DAS, D.; MANDAL, B.K.; CHOWDHURY, T.R.;
 SAMANTA, G.; CHAKRABORTI, D. Arsenic in ground water in six
 districts of west Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the
 world. Part I Arsenic species in drinking water and urine of the affected
 people. **Analyst**, Cambridge, v.120, n.3, p.643-650, 1995.

- CHEN, C.J.; CHUANG, Y.C.; LIN, T.M.; WU, H.Y. Malignant neoplasms among residents of a blackfoot disease-endemic area in Taiwan: high-arsenic artesian well water and cancers. **Cancer Res.**, Philadelphia, v.45, n.11, p.5895-5899, 1985.
- CHEN, C.J.; HSUEH, Y.M.; LAI, M.S.; SHYU, M.P.; CHEN, S.Y.; WU, M.M.; KUO, T.L.; TAI, T.L. Increased prevalence of hypertension and long-term arsenic exposure. **Hypertension**, Baltimore, v.25, n.1, p.53-60, 1995.
- CHEN, C.J.; KUO, T.L.; WU, M.M. Arsenic and cancers. **Lancet**, London, v.1, n.8582, p.414-415, 1988.
- CHEN, G.Q.; ZHU, J.; SHI, X.G.; NI, J.H.; ZHONG, H.J.; SI, G.Y.; TANG, W.; LI, X.S.; XONG, S.M.; SHEN, Z.X.; SUN, G.L.; MA, J.; ZHANG, P.; ZHANG, T.D.; GAZIM, C.; NAOE, T.; CHEN, S.J.; WANG, Z.Y.; CHEN, Z. *In vitro* studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As_2O_3 induces NB₄ cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR α /PML proteins. **Blood**, Washington, v.88, n.3, p.1052-1061, 1996.
- CHI, I.C.; BLACKWELL, R.Q. A controlled retrospective study of blackfoot disease; an endemic peripheral gangrene disease in Taiwan. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.88, n.1, p.7-24, 1968.
- CHRISTEN, K. A fern with an affinity for arsenic. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.35, n.13, p.278A-279A, 2001a.
- CHRISTEN, K. The arsenic threat. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.35, n.13, p.286A-291A, 2001b.
- COHEN, S.M.; ELLWEIN, L.B. Cell proliferation in carcinogenesis. **Science**, Washington, v.249, n.4972, p.1007-1011, 1990.
- CONCHA, G.; NERMELL, B.; VAHTER, M. Metabolism of inorganic arsenic in children with chronic high arsenic exposure in northern Argentina. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.106, n.6, p.355-359, 1998.

- COONEY, R.V.; MUMA, R.O.; BENSON, A.A. Arsoniumphospholipid in algae. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.75, n.9, p.4262-4264, 1978.
- CORRIDAN, J.P. Head hair samples as indicators of environmental pollution. **Environ. Res.**, Orlando, v.8, n.1, p.12-16, 1974.
- COULSON, E.J.; REMINGTON, R.E.; LYNCH, K.M. Metabolism in the rat of the naturally occurring arsenic of shrimp as compared with arsenic trioxide. **J. Nutr.**, Bethesda, v.10, n.3, p.255-270, 1935.
- COWLISHAW, J.L.; POLLARD, E.J.; COWEN, A.E.; POWEL, L.W. Liver disease associated with chronic arsenic ingestion. **Aust. N. Z. J. Med.**, Sidney, v.9, n.3, p.310-313, 1979.
- CRECELIUS, E.A. Changes in the chemical speciation of arsenic following ingestion by man. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.147-150, 1977.
- CROSS, J.D.; DALE, I.M.; LESLIE, A.C.D.; SMITH, H. Industrial exposure to arsenic. **J. Radioanal. Chem.**, Amsterdam, v.48, n.1/2, p.197-208, 1979.
- CULLEN, W.R.; REIMER, K.J. Arsenic speciation in the environment. **Chem. Rev.**, Columbus, v.89, n.4, p.713-764, 1989.
- CUZICK, J.; SASIENI, P.; EVANS, S. Ingested arsenic, keratoses and bladder cancer. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.136, n.4, p.417-421, 1992.
- DANG, H.S.; JAISIWAL, D.D.; SOMASUNDARAM, S (1983). Distribution of arsenic in humans tissues and milk. **Sci. Total Environ**, 29:171-175 *apud* WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 224: Arsenic and arsenic compounds**. 2.ed. Geneva: World Health Organization, 2001c. 521p.
- DEUEL, L.E.; SWOBODA, A.R. Arsenic solubility in a reduced environment. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, Madison, v.36, n.2, p.276-278, 1972.

- DHUBHGHAILL, O.M.; SADLER, P.J. The structure and reactivity of arsenic compounds: biological activity and drug desing. **Struct. Bonding**, Berlin, v.78, p.129-190, 1991.
- DIXIT, S.; HERING, J.G. Comparison of arsenic (V) and arsenic (III) sorption onto iron oxide minerals: implications for arsenic mobility. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.37, p.4182-4189, 2003.
- DUERKSEN-HUGHES, P.J.; YANG, J.; OZCAN, O. p53 induction as a genotoxic test for twenty-five chemicals undergoing *in vivo* carcinogenicity testing. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.107, n.10, p.805-812, 1996.
- EDMONDS, J.S.; FRANCESCONI, K.A. Arseno-sugars from brown kelp (*Ecklonia radiata*) as intermediates in cycling of arsenic in a marine ecosystem. **Nature**, London, v.289, n.5798, p.602-604, 1981.
- EDMONDS, J.S.; FRANCESCONI, K.A. Methylated arsenic from marine fauna. **Nature**, London, v.265, n.5593, p.436, 1977b.
- EDMONDS, J.S.; FRANCESCONI, K.A. Transformations of arsenic in the marine environment. **Experientia**, Basel, v.43, n.5, p.553-557, 1987.
- EDMONDS, J.S.; FRANCESCONI, K.A.; CANNON, J.R.; RASTON, C.L.; SKELTON, B.W.; WHITE, A.H. Isolation, crystal structure and synthesis of arsenobetaine, the arsenical constituent of the western rock lobster *Panulirus longipes cygnus* George. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v.18, p.1543-1546, 1977a.
- ENTERLINE, P.; MARSH, G.M. Cancer among workers exposed to arsenic and other substances in a copper smelter. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.116, n.6, p.895-911, 1982.
- ENTERLINE, P.E.; HENDERSON, V.L.; MARSH, G.M. Exposure to arsenic and respiratory cancer. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.125, n.6, p.929-938, 1987.
- EPA. ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY UNITED STATES. **Quantitative toxicological evaluation of ingested arsenic**. Washington, 1988. *apud* _____. Iris. **Arsenic inorganic**. Disponível em: <http://www.epa.gov/iris/subst/0278.htm>. Acesso em: 15 jun. 2003.

- EPPS, E.A.; STURGIS, M.B. Arsenic compounds toxic to rice. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, Madison, v.4., p.215-218, 1939.
- FENECH, M.; MORLEY, A.A. Measurement of micronuclei in lymphocytes. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.147, n.1/2, p.29-36, 1985.
- FERGUSON, J.F.; GAVIS, J. A review of the arsenic cycle in natural waters. **Water Res.**, Oxford, v.6, p.1259-1274, 1972.
- FERM, V. Arsenic as a teratogenic agent. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.215-217, 1977.
- FERM, V.H.; SAXON, A.; SMITH, B.M. The teratogenic profile of sodium arsenate in the golden hamster. **Arch. Environ. Health**, Washington, v.22, n.5, p.557-560, 1971.
- FERRECCIO, C.; GONZALEZ, C.; MILOSAVJLEVIC, V.; MARSHALL, G.; SANCHI, A.M. Lung cancer and arsenic exposure in drinking water: a case-control study in northern Chile. **Cad. Saúde Pública**, São Paulo, v.14, supl.3, p.193-198, 1998.
- FEUSSNER, J.R.; SHELBURNE, J.D.; BREDEHOEFT, S.; COHEN, H.J. Arsenic-induced bone marrow toxicity: ultrastructural and electron-probe analysis. **Blood**, Washington, v.53, n.5, p.820-827, 1979.
- FIGUEROA, L.; RAZMILIC, B.; ALLISON, M.; GONZÁLEZ, M. Quebrada Camarones habitat arsenical. **Creces**, Santiago, v.4, p.5-8, 1987.
- FISCHER, A.B.; BUCHET, J.P.; LAUWERYS, R.R. Arsenic uptake, cytotoxicity and detoxification studied in mammalian cells in culture. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.57, n.3, p.168-172, 1985.
- FORSHUFVUD, S.; SMITH, H.; WASSEN, A. Arsenic content of Napoleon I's hair probably taken immediately after his death. **Nature**, London, v.192, n.479, p.103-105, 1961.
- FOWLER, B.A. Nutritional and toxicological aspects of arsenic intake: an overview. In: MERTS, W.; ABERNATHY, C.O.; OLIN, S.S., eds. **Risk assessment of essential elements**. Washington: ILSI Press, 1994. p.269-272.
- FRANCESCONI, K.A.; GOESSLER, W.; PANUTRAKUL, S.; IRGOLIC, K.J. A novel arsenic containing riboside (arsenosugar) in three species of

- gastropod. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.221, n.2/3, p.139-148, 1998.
- FRANCESCONI, K.A.; TANGGAARD, R.; MCKENZIE, C.J.; GOESSLER, W. Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar. **Clin. Chem.**, New York, v.48, n.1, p.92-101, 2002.
- FRISBIE, S.H.; ORTEGA, R.; MAYNARD, D.M.; SARKAR, B. The concentrations of arsenic and other toxic elements in Bangladesh's drinking water. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.110, n.11, p.1147-1153, 2002.
- GARRETT, R.H.; GRISHAM, C.M. **Biochemistry**. 2.ed. Fort Worth, London: Saunders College, 1999. p.644-647.
- GEBEL, T. Confounding variables in the environmental toxicology of arsenic. **Toxicology**, Oxford, v.144, n.1/3, p.155-162, 2000.
- GERMOLEC, D.R.; SPALDING, J.; YU, H.S.; CHEN, G.S.; SIMEONOVA, P.P.; HUMBLE, M.C.; BRUCCOLERI, A.; BOORMAN, G.A.; FOLEY, J.F.; YOSHIDA, T.; LUSTER, M.I. Arsenic enhancement of skin neoplasia by chronic stimulation of growth factors. **Am. J. Pathol.**, Bethesda, v.153, n.6, p.1775-1785, 1998.
- GLAZENER, F.S.; ELLIS, J.G.; JOHNSONS, P.K. Electrocardiographic findings with arsenic poisoning. **Calif. Med.**, San Francisco, v.109, n.2, p.158-162, 1968.
- GÓMEZ-ARROYO, S.; ARMIENTA, M.A.; CORTÉS-ESLAVA, J.; VILLALOBOS-PIETRINI, R. Sister chromatid exchanges in *Vicia faba* induced by arsenic-contaminated drinking water from Zimapan; Hidalgo, Mexico. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.394, n.1/3, p.1-7, 1997.
- GONSEBATT, M.E.; MONTERO, R.; VEGA, L.; BARBA, H.; ESPINOSA, J.; GARCÍA-VARGAS, G.; DEL RAZO, L.M.; CEBRIAN, M.E.; OSTROSKY-WEGMAN, P. Genotoxic and "non genotoxic" effects in arsenic human exposure. In: INTERNATIONAL SEMINAR OF THE ARSENIC IN THE ENVIRONMENT AND ITS INCIDENCE ON HEALTH, 1, Santiago, 1992. **Proceedings**. Santiago: Universidad de Chile, 1992. p.15-19.

- GORDON, J.J.; QUASTEL, J.H. Effects of organic arsenicals on enzyme systems. **Biochem. J.**, London, v.42, n.3, p.337-350, 1948.
- GOYER, R.A.; CHERIAN, M.G., eds. **Toxicology of metals**. Berlin: Springer-Verlag, 1995. p.407-427. (Handbook of experimental pharmacology, v.115).
- GREENBLATT, M.S.; BENNETT, W.P.; HOLLSTEIN, M.; HARRIS, C.C. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. **Cancer Res.**, Philadelphia, v.54, n.18, p.4855-4878, 1994.
- GROSCH, D. Insect fecundity and fertility:chemically induced decrease. **Science**, Washington, v.141, p.732-733, 1963.
- GUATELLI, M.A.; FERNÍCOLA, N.A.; NEIRA, M.M.; FRANCHETTI, E.P. Agua de consumo contaminada con arsénico. **Rev. Asoc. Bioquim. Argent.**, Buenos Aires, v.41, n.224, p.9-19, 1976.
- GUATELLI, M.A.; FERNÍCOLA, N.A.; NEIRA, M.M.; FRANCHETTI, E.P. Contenido de arsénico en el agua de consumo de la localidad de Mattaldi. **Sem. Med.**, Buenos Aires, v.143, n.15, p.443-446, 1973.
- GUATELLI, M.A.; FERNÍCOLA, N.A.; NEIRA, M.M.; FRANCHETTI, E.P. El contenido de arsénico en el agua de consumo de la localidad de Monte Quemado (Provincia de Santiago del Estero; República Argentina). **Rev. Farm.**, Buenos Aires, v.112, n.314, p.69-72, 1970.
- HAKALA, E.; PYY, L. Assessment of exposure to inorganic arsenic by determining the arsenic species excreted in urine. **Toxicol. Lett.**, Shannon, v.77, p.249-258, 1995.
- HAN, F.X.; SU, Y.; MONTS, D.L.; PLODINEC, M.J.; BANIN, A.; TRIPLETT, G.E. Assesment of global industrial-age anthropogenic arsenic contamination. **Naturwissenschaften**, Berlin, v.90, p.395-401, 2003.
- HARRIS, C.C. p53 tumour suppressor gene: at the crossroads of molecular carcinogenesis, molecular epidemiology, and cancer risk assessment. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.104, suppl.3, p.435-439, 1996.

- HEALY, S.M.; CASAREZ, E.A.; AYALA-FIERRO, F.; APOSHIAN, H.V. Enzymatic methylation of arsenic compounds. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.148, p.65-70, 1998.
- HEI, T.K.; LIU, S.X.; WALDREN, C. Mutagenicity of arsenic in mammalian cells: role of reactive oxygen species. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.95, n.14, p.8103-8107, 1998.
- HENDERSON, R.F.; BECHTOLD, W.E.; BOND, J.A.; SUN, J.D. The use of biological markers in toxicology. **Crit. Rev. Toxicol.**, Lauderdale, v.20, n.2, p.65-82, 1989.
- HESS, R.E.; BLANCHARD, R.W. Arsenic stability in contaminated soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.40, p.847-852, 1976.
- HEYMAN, A.; PFEIFFER, J.B.; WILLETT, R.W.; TAYLOR, H.M. Peripheral neuropathy caused by arsenical intoxication. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.254, n.9, p.401-408, 1956.
- HODGSON, E.; LEVI, P.E. **A textbook of modern toxicology**. 2.ed. Stanford: Appleton & Lange, 1997. 496p.
- HOPENHAYN-RICH, C.; BIGGS, M.L.; FUCHS, A.; BERGOGLIO, R.; TELLO, E.E.; NICOLLI, H.; SMITH, A.H. Bladder cancer mortality associated with arsenic in drinking water in Argentina. **Epidemiology**, Baltimore, v.7, n.2, p.117-124, 1996c.
- HOPENHAYN-RICH, C.; BIGGS, M.L.; KALMAN, D.A.; MOORE, L.E.; SMITH, A.H. Arsenic methylation patterns before and after changing from high to lower concentrations of arsenic in drinking water. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.104, n.11, p.1200-1207, 1996a.
- HOPENHAYN-RICH, C.; BIGGS, M.L.; SMITH, A. Lung and kidney cancer mortality associated with arsenic in drinking water in Córdoba, Argentina. **Int. J. Epidemiol.**, London, v.27, n.4, p.561-569, 1998.
- HOPENHAYN-RICH, C.; BIGGS, M.L.; SMITH, A.H.; KALMAN, D.A.; MOORE, L.E. Methylation study of a population environmentally to arsenic in drinking water. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.104, n.6, p.620-628, 1996b.

- HOPENHAYN-RICH, C.; BROWNING, S.R.; HERTZ-PICCIOTTO, I.; FERRECCIO, C.; PERALTA, C.; GIBB, H. Chronic arsenic exposure and risk of infant mortality in two areas of Chile. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.108, n.7, p.667-673, 2000.
- HOPENHAYN-RICH, C.; SMITH, A.H.; GOEDEN, H.M. Human studies do not support the methylation threshold hypothesis for the toxicity of inorganic arsenic. **Environ. Res.**, Orlando, v.60, n.2, p.161-177, 1993.
- HSUEH, Y.M.; CHENG, G.S.; WU, M.M.; YU, H.S.; KUO, T.L.; CHEN, C.J. Multiple risk factors associated with arsenic-induced skin cancer: effects of chronic liver disease and malnutritional status. **Br. J. Cancer**, Sidcup, v.71, n.1, p.109-114, 1995.
- HUGHES, M.F.; KENYON, E.M.; EDWARDS, B.C.; MITCHELL, C.T.; THOMAS, D.J. Strain-dependent disposition of inorganic arsenic in the mouse. **Toxicology**, Oxford, v.137, n.2, p.95-108, 1999.
- HUTCHINSON, J. Disease, etc., of the skin. **Trans. Pathol. Soc. Lond.**, London, v.39, p.352-363, 1888.
- IARC. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Overall evaluations of carcinogenicity to humans**. Disponível em: <http://193.51.164.11/monoeval/crthgr01.html>. Acesso em: 22 agosto 2002.
- IRGOLIC, K.J.; WOOLSON, E.A.; STOCKTON, R.A.; NEWMAN, R.D.; BOTTINO, N.R.; ZINGARO, R.A.; KEARNEY, P.C.; PYLES, R.A.; MAEDA, S.; MCSHANE, W.J.; COX, E.R. Characterization of arsenic compounds formed by *Daphnia magna* and *Tetraselmis chuli* from inorganic arsenate. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.61-66, 1977.
- JACKSON, R.; GRAINGE, J.W. Arsenic and cancer. **Can. Med. Assoc. J.**, Ottawa, v.113, n.5, p.396-399, 1975.
- JACKSON, W.A. To die or not to dye. **Pharm. Hist.**, Madison, v.26, p.27-31, 1996.
- JAGER, J.W.; OSTROSKY-WEGMAN, P. Arsenic: a paradoxical human carcinogen. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.386, n.3, p.181-184, 1997.

- JAIN, C.K.; ALI, I. Arsenic: occurrence toxicity and speciation. **Water Res.**, Oxford, v.34, n.17, p.4304-4312, 2000.
- JARUP, L.; PERSHAGEN, G.; WALL, S. Cumulative arsenic exposure and lung cancer in smelter workers: a dose-response study. **Am. J. Ind. Med.**, New York, v.15, n.1, p.31-41, 1989.
- JHA, A.N.; NODITI, M.; NILSSON, R.; NATARAJAN, A.T. Genotoxic effects of sodium arsenite on human cells. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.284, n.2, p.215-221, 1992.
- JOHNSON, D.L. Bacterial reduction of arsenate in sea water. **Nature**, London, v.240, n.3, p.44-45, 1972.
- JOLLIFFE, D.M. History of use of arsenicals in man. **J. R. Soc. Med.**, London, v.86, n.5, p.287-289, 1993.
- JONES, D.E.H.; LEDINGHAM, K.W.D. Arsenic in Napoleon's wallpaper. **Nature**, London, v.299, n.5884, p.626-627, 1982.
- JOSEPHSON, J. Arsenic again: a continuing threat in Chile. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.108, n.7, p.A324-A325, 2000.
- KAISE, T.; SAKURAI, T.; SAITOH, T.; MATSUBARA, C.; TAKADA-OIKAWA, N.; HANAOKA, K. Biotransformation of arsenobetaine to trimethylarsine oxide by marine microorganisms in a gill of clam *Meretrix lusoria*. **Chemosphere**, Oxford, v.37, n.3, p.443-449, 1998.
- KAISER, J. Clues to unsolved arsenic case. **Science**, Washington, v.279, p.1850-1851, 1998.
- KARAGAS, M.; TOSTESON, T.; BLUM, J.; KLAUE, B.; WEISS, J.; STANNARD, V.; SPATE, V.; MORRIS, J. Measurement of low levels of arsenic exposure: a comparison of water and toenail concentrations. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.152, n.1, p.84-90, 2000.
- KARAGAS, M.R.; MORRIS, J.S.; WEISS, J.E.; SPATE, V.; BASKETT, C.; GREENBERG, E.R. Toenail samples as an indicator of drinking water arsenic exposure. **Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.**, Philadelphia, v.5, n.10, p.849-852, 1996.

- KAYASTH, S.; RAJE, N.; ASARI, T.P.S.; PARTHASARATHY, R. Trace element profile of semiconductor minerals: gallium and arsenic. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v.370, p.91-103, 1998.
- KENYON, E.M.; HUGHES, M.F.. A concise review of the toxicity and carcinogenicity of dimethylarsinic acid. **Toxicology**, Oxford, v.160, n.1/3, sp. iss., p.227-236, 2001.
- KING, H.; LUDFORD, R.J. The relation between the constitution of arsenicals and their action on cell division. **J. Chem. Soc.**, London, v.8, p.2086-2088, 1950.
- KJELDSBERG, C.R.; WARD, H.P. Leukemia in arsenic poisoning. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v.77, n.6, p.935-937, 1972.
- KLAASSEN, C.D. Biliary excretion of arsenic in rats; rabbits and dogs. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.29, n.3, p.447-457, 1974.
- KNOWLES, F.C.; BENSON, A.A. The biochemistry of arsenic. **Trends Biochem. Sci.**, Oxford, v.8, n.5, p.178-180, 1983.
- KREPPEL, H.; REICHL, F.X.; SZINICZ, L.; FICHTL, B.; FORTH, W. Efficacy of various dithiol compounds in acute As_2O_3 poisoning in mice. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.64, n.5, p.387-392, 1990.
- KUBOTA, R.; KUNITO, T.; TANABE, S. Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. **Environ. Pollut.**, Oxford, v.115, n.2, p.303-312, 2001.
- KYLE, R.A.; PEASE, G. Hematologic aspects of arsenic intoxication. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.273, n.1, p.18-22, 1965.
- LAI, M.S.; HSUEH, Y.M.; CHEN, C.J.; SHYU, M.P.; CHEN, S.Y.; KUO, T.L. WU, M.M.; TAI, T.Y. Ingested inorganic arsenic and prevalence of diabetes mellitus. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.139, n.5, p.484-492, 1994.
- LARINI, L. **Toxicologia**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1997. p.121-127.
- LARSEN, N.A.; PAKKENBERG, H.; DAMSGAARD, E.; HEYDORN, K. Topographical distribution of arsenic; manganêse and selenium in the normal human brain. **J. Neurol. Sci.**, Shannon, v.42, p.407-416, 1979.

- LE, X.C.; CULLEN, W.R.; REIMER, K.J. Speciation of arsenic compounds in some marine organism. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.28, n.9, p.1598-1604, 1994.
- LEE, A.M.; FRAUMENI, J. Arsenic and respiratory cancer in man: an occupational study. **J. Natl. Cancer Inst.**, Cary, v.42, n.6, p.1045-1052, 1969.
- LEE, T.C.; HO, I.C. Modulation of cellular antioxidant defense activities by sodium arsenite in human fibroblasts. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.69, n.7, p.498-504, 1995.
- LEE, T.C.; TANAKA, N.; LAMB, P.W.; GILMER, T.M.; BARRETT, J.C. Induction of gene amplification by arsenic. **Science**, Washington, v.241, n.4861, p.79-81, 1988.
- LEITCH, A.; KENNAWAY, E.L. Experimental production of cancer by arsenic. **Br. Med. J.**, London, s.v, p.1107-1108, 1922.
- LEONARD, A.; LAUWERYS, R.R. Carcinogenicity; teratogenicity and mutagenicity of arsenic. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.75, n.1, p.49-62, 1980.
- LERDA, D. Sister-chromatid exchange (SCE) among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.312, n.2, p.111-120, 1994.
- LIU, J.; ZHENG, B.S.; APOSHIAN, H.V.; ZHOU, Y.; CHEN, M.L.; ZHANG, A.; WAALKES, M.P. Chronic arsenic poisoning from burning high-arsenic-containing coal in Guizhou, China. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.110, n.2, p.119-122, 2002.
- LIU, S.X.; ATHAR, M.; LIPPAI, I.; WALDREN, C.; HEI, T. Induction of oxyradicals by arsenic: implication for mechanism of genotoxicity. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.98, n.4, p.1643-1648, 2001.
- LU, F.J. Arsenic as a promoter in the effect humic substances on plasma prothrombin time *in vitro*. **Thromb. Res.**, New York, v.58, n.6, p.537-541, 1990.

- LUBIN, J.H.; FRAUMENI, J.F. Does arsenic exposure increase the risk for circulatory disease?. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.152, n.3, p.287-293, 2000.
- LUNDE, G. Occurrence and transformation of arsenic in the marine environment. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.47-52, 1977.
- MA, M.; LE, X.C. Effect of arsenosugar ingestion on urinary arsenic speciation. **Clin. Chem.**, Washington, v.44, n.3, p.539-550, 1998.
- MAGALHÃES, M.C. Arsenic. An environmental problem limited by solubility. **Pure Appl.Chem.**, Oxford, v.74, n.10, p.1843-1850, 2002.
- MALONEY, M.E. Arsenic in dermatology. **Dermatol. Surg.**, Malden, v.22, n.3, p.301-304, 1996.
- MANDAL, B.K.; SUZUKI, K.T. Arsenic round the world: a review. **Talanta**, Amsterdam, v.58, p.201-235, 2002.
- MANNING, B.A; GOLDBERG, S. Modeling competitive adsorption of arsenate with phosphate and molybdate on oxide minerals. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.60, p.121-131, 1996.
- MARINER, P.E.; HOLZMER, F.J.; JACKSON, R.E.; MEINARDUS, H.W. Effects of high pH on arsenic mobility in a shallow sandy aquifer and on aquifer permeability along the adjacent shoreline, commencement bay superfund site, Tacoma, Washington. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.30, p.1645-1651, 1996.
- MARINER, P.E.; HOLZMER, F.J.; JACKSON, R.E.; MEINARDUS, H.W. Effects of high pH on arsenic mobility in a shallow sandy aquifer and on aquifer permeability along the adjacent shoreline, commencement bay superfund site, Tacoma, Washington. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.30, p.1645-1651, 1996.
- MASS, M.J.; TENNANT, A.; ROOP, B.C.; CULLEN, W.R.; STYBLO, M.; THOMAS, D.J.; KLIGERMAN A.D. Methylated trivalent arsenic species are genotoxic. **Chem. Res. Toxicol.**, Columbus, v.14, n.4, p.355-361, 2001.

- MASS, M.J.; WANG, L. Arsenic alters cytosine methylation patterns of the promoter of the tumor suppressor gene p53 in human lung cells: a model for a mechanism of carcinogenesis. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.386, p.263-277, 1997.
- MASSCHELEYN, P.H.; DELAUNE, R.D.; PATRICK, W.H. Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.25, p.1414-1419, 1991.
- MATSCHULLAT, J. Arsenic in the geosphere: a review. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.249, n.1/3, p.297-312, 2000.
- MATSUTO, S.; KASUGA, H.; OKUMOTO, H.; TAKAHASHI, A. Accumulation of arsenic in blue-green alga; *Phormidium* sp. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxford, v.78, n.2, p.377-382, 1984.
- MAZUMDER, D.N.; HAQUE, R.; GHOSH, N.; DE, B.K.; SANTRA, A.; CHAKRABORTY, D.; SMITH, A.H. Arsenic levels in drinking water and the prevalence of skin lesions in West Bengal, India. **Int. J. Epidemiol.**, London, v.27, n.5, p.871-877, 1998.
- MCBRIDE, B.C.; WOLFE, R.S. Biosynthesis of Dimethylarsine by Methanobacterium. **Biochemistry**, Washington, v.10, n.23, p.4312-4317, 1971.
- MEEK, M.E.; HUGHES, K. Arsenic in the general environment evaluation of risks to health. In: INTERNATIONAL SEMINAR OF THE ARSENIC IN THE ENVIRONMENT AND ITS INCIDENCE ON HEALTH, 1, Santiago, 1992. **Proceedings**. Santiago: Universidad de Chile, May 1992, p.173-181.
- MENG, X.; KORFIATIS, G.P.; JING, C.; CHRISTODOULATOS, C. Redox transformations of arsenic and iron in water treatment sludge during aging and TCLP extraction. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.35, p.3476-3481, 2001.
- MILLER, W. Molecular targets of arsenic trioxide in malignant cells. **Oncologist**, Miamisburg, v.7, suppl 1, p.14-19, 2002.

- MILNER, J.E. The effect of ingested arsenic on methycholanthrene-induced skin tumors in mice. **Arch. Environ. Health**, Washington, v.18, n.1, p.7-11, 1969.
- MINAMI, H.; KATO, Y. Remobilization of arsenic in sub-oxic sediments from the seafloor of the continental margin. **J. Oceanogr.**, Tokyo, v.53, p.553-562, 1997.
- MOORE, L.E.; SMITH, A.H.; HOPENHAYN-RICH, C.; BIGGS, M.L.; KALMAN, D.A.; SMITH, M.T. Micronuclei in exfoliated bladder cells among chronically exposed to arsenic in drinking water. **Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.**, Philadelphia, v.6, n.1, p.31-36, 1997a.
- MOORE, L.E.; SMITH, A.H.; HOPENHAYN-RICH, C.; BIGGS, M.L.; KALMAN, D.A.; SMITH, M.T. Decrease in bladder cell micronucleus prevalence after intervention to lower the concentration of arsenic in drinking water. **Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.**, Philadelphia, v.6, n.12, p.1051-1055, 1997b.
- MOORE, M.; HARRINGTON-BROCK, K.; DOERR, C.L. Relative genotoxic potency of arsenic and its methylated metabolites. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.386, n.3, p.279-290, 1997c.
- MORALES, K.H.; RYAN, L.; KUO, T.L.; WU, M.M.; CHEN, C.J. Risk of internal cancers from arsenic in drinking water. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.108, n.7, p.655-661, 2000.
- MORSE, D.L.; HARRINGTON, J.M.; HOUSWORTH, J.; LANDRIGAN, P.J. Arsenic exposure in multiple environmental media in children near a smelter. **Clin. Toxicol.**, New York, v.14, n.4, p.389-399, 1979.
- MUKHOPADHYAY, R.; ROSEN, B.P.; PHUNG, L.T.; SILVER, S. Microbial arsenic: from geocycles to genes and enzymes. **FEMS Microbiol. Rev.**, Amsterdam, v.26, n.3, p.311-325, 2002.
- MUNRO, I.C.; CHARBONNEAU, S.M.; SANDI, E.; SPENCER, K.; BRYCE, F.; GRICE, H.C. Biological availability of arsenic from fish. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.29, n.1, p.111, 1974.

- MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Harper: Bioquímica**. 6.ed. São Paulo: Atheneu, 1990. p.170-176.
- MYLONA, P.U.; POLIDOROS, A.N.; SCANDALIOS, J.G. Modulation of antioxidant responses by arsenic in Maize. **Free Radicals Chem., Biol. Med.**, London, v.25, n.4/5, p.576-585, 1998.
- NAS/NRC.1989. Report of the oversigth committee. In: Biologic markers in reproductive toxicology. Washington, DC: National Academy of Sciences, National Research Council, National Academy Press *apud* ATSDR. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for arsenic**. Atlanta: ATSDR, 2000. 429p.
- NELSON, K.W. Industrial contributions of arsenic to the environment. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.31-34, 1977.
- NEUBAUER, O. Arsenical cancer: a review. **Br. J. Cancer**, Sidcup, v.1, n.2, p.192-251, 1947.
- OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003. 474p.
- OLGUÍN, A.; JAUGE, P.; CEBRIÁN, M.; ALBORES, A. Arsenic levels in blood; urine; hair and nails from a chronically exposed human population. **Proc. West. Pharmacol. Soc.**, Seattle, v.26, p.175-177, 1983.
- ONKEN, B.M.; ADRIANO, D.C. Arsenic availability in soil with time under saturated and subsaturated conditions. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.61, p.746-752, 1997.
- OTT, M.G.; HOLDER, B.B.; GORDON, H.L. Respiratory cancer and occupational exposure to arsenicals. **Arch. Environ. Health**, Washington, v.29, n.5, p.250-255, 1974.
- PALFY, P.; VIRCIKOVA, E.; MOLNAR, L. Processing of arsenic wastw by precipitation and solidification. **Waste Manage.**, Oxford, v.19, p.55-59, 1999.

- PARTINGTON, J.R. **Origins and development of applied chemistry.** London, New York: Logmans Green, 1935. p.381-382.
- PEROBELLI, R.; RIBEIRO, B.; RAWLINS, B.; MASTCHULLAT, J. Arsenic in water and sediment in the iron quadrangle, state of Minas Gerais, Brazil. **Rev. Bras. Geocienc.**, São Paulo, v.30, n.3, p.558-561, 2000.
- PERSHAGEN, G. Lung cancer mortality among men living near an arsenic-emitting smelter. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.122, n.4, p.684-694, 1985.
- PODDAR, S.; MUKHERJEE, P.; TALUKDER, G.; SHARMA, A. Dietary protection by iron against clastogenic effects of short-term exposure to arsenic in mice *in vivo*. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v.38, n.8, p.735-737, 2000.
- POMROY, C.; CHARBONNEAU, S.M.; MCCULLOUGH, R.S.; TAM, G.K.M. Human retention studies with ^{74}As . **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.53, n.3, p.550-556, 1980.
- PONGRATZ, R. Arsenic speciation in environmental samples of contaminated soil. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.224, n.1/3, p.133-141, 1998.
- PRUNES, L. Cáncer de los salitreros o enfermedad del salitre. **Rev. Argent. Dermatosifilol.**, Buenos Aires, v.23, n.1, p.373-385, 1939.
- QUEIROLO, F.; STEGEN, S.; MONDACA, J.; CORTES, R.; ROJAS, R.; CONTRERAS, C.; MUÑOZ, L.; SCHWUGER, M.J.; OSTAPCZUK, P. Total arsenic; lead; cadmium; copper; and zinc in some salt rivers in the northern Andes of Antofagasta, Chile. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.255, n.1/3, p.85-95, 2000.
- QUEIROLO, F.; STEGEN, S.; RESTOVIC, M.; PAZ, M.; OSTAPCZUK, P.; SCHWUGER, M.J.; MUÑOZ, L. Total arsenic; lead and cadmium levels in vegetables cultivated at the Andean villages of northern Chile. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.255, n.1/3, p.75-84, 2000.
- QUINN, J.P.; MCMULLAN, G. Carbon-arsenic bond-cleavage by a newly isolated gram-negative bacterium; strain ASV2. **Microbiology**, Reading, v.141, part.3, p.721-727, 1995.

- RAHMAN, M.; TONDEL, M.; AHMAD, S.A.; AXELSON, O. Diabetes mellitus associated with arsenic exposure in Bangladesh. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.148, n.2, p.198-203, 1998.
- RAHMAN, M.; TONDEL, M.; AHMAD, S.A.; CHOWDHURY, I.A.; FARUQUEE, M.H.; AXELSON, O. Hypertension and arsenic exposure in Bangladesh. **Hypertension**, Baltimore, v.33, n.1, p.74-78, 1999.
- REDMAN, A.D.; MACALADY, D.L.; AHMANN, D. Natural organic matter affects arsenic speciation and sorption onto hematite. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.36, p.2889-2896, 2002.
- REGELSON, W.; KIM, U.; OSPINA, J.; HOLLAND, J.F. Hemangioendothelial sarcoma of liver from chronic arsenic intoxication by Fowler's solution. **Cancer**, New York, v.21, n.3, p.514-522, 1968.
- RENCHER, A.C.; CARTER, M.W.; MCKEE, D.W. A retrospective epidemiological study of mortality at a large western copper smelter. **J. Occup. Med.**, Chicago, v.19, n.11, p.754-758, 1977.
- RENNKE, H.; PRAT, G.; ETCHEVERRY, B.; KATZ, R.; DONOSO, S. Hemangioendotelioma maligno del hígado y arsenicismo crónico. **Rev. Med. Chile**, Santiago, v.99, n.9, p.664-668, 1971.
- REYNOLDS, E.S. An account of the epidemic out-break of arsenical poisoning occurring in beer-drinkers in the north of England and the midland counties in 1900. **Lancet**, London, s.v., s.n., p.166-170, 1901.
- RIVARA, M.I.; CEBRIAN, M.; COREY, G.; HERNANDEZ, M.; ROMIEU, I. Cancer risk in an arsenic-contaminated area of Chile. **Toxicol. Ind. Health**, London, v.13, n.2/3, p.321-338, 1977.
- ROSSMAN, T.G.; MEYN, M.S.; TROLL, W. Effects of arsenite on DNA repair in *Escherichia coli*. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.229-233, 1977.
- RUDEL, R.; SLAYTON, T.M.; BECK, B.D. Implications of arsenic genotoxicity for dose response of carcinogenic effects. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, Orlando, v.23, n.2, p.87-105, 1996.

- RUOKOLAINEN, M.; PANTSAR-KALLIO, M.; HAAPA, A.; KAIREALO, T.
Leaching; runoff and speciation of arsenic in a laboratory mesocosm.
Sci. Total Environ., Shannon, v.258, n.3, p.139-147, 2000.
- SAKATA, M. Relationship between adsorption of arsenic (III) and boron by
soil and soil properties. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.21,
n.11, p.1126-1130, 1987.
- SANCHA, A.M.; VEGA, F.; VENTURINO, H.; FUENTES, S.; SALAZAR,
A.M.; MORENO, V. ET AL. The arsenic health problem in northern
Chile evaluation and control. A case study preliminary report. In:
INTERNATIONAL SEMINAR OF THE ARSENIC IN THE
ENVIRONMENT AND ITS INCIDENCE ON HEALTH, 1, Santiago,
1992. **Proceedings**. Santiago: Universidad de Chile, May 1992,
p.187-202.
- SCHILLER, C.M.; FOWLER, B.A.; WOODS, J.S. Effects of arsenic on
pyruvate dehydrogenase activation. **Environ. Health Perspect.**,
Research Triangle Park, v.19, p.205-207, 1977.
- SCHROEDER, H.A.; BALASSA, J.J. Abnormal trace metals in man: arsenic.
J. Chronic Dis., Elmsford , v.19, n.1, p.85-106, 1966.
- SHANNON, R.L.; STRAYER, D.S. Arsenic-induced skin toxicity. **Hum.**
Toxicol., Basingstoke, v.8, n.2, p.99-104, 1989.
- SMALES, A.A.; PATE, B.D (1952) The Analyst, 77, 188 *apud* ATALLA, L.T.;
SILVA, C.M.; LIMA, F.W. Activation analysis of arsenic in human hair
some observations on the problem of external contamination. **An.**
Acad. Bras. Cienc., Rio de Janeiro, v.37, n.3/4, p.433-441, 1965.
- SMEDLEY, P.L.; KINNIBURGH, D.G. A review of the source, behaviour and
distribution of arsenic in natural waters. **Appl. Geochem.**, Oxford,
v.17, p.517-568, 2002.
- SMITH, A.; HOPENHAYN-RICH, C.; BATES, M.; GOEDEN, H.M.; HERTZ-
PICCIOTTO, I.; DUGGAN, H.M.; WOOD, R.; KOSNETT, M.J.; SMITH,
M.T. Cancer risk from arsenic in drinking water. **Environ. Health**
Perspect., Research Triangle Park, v.97, p.259-267, 1992.

- SMITH, A.H.; ARROYO, A.P.; GUHA, D.N.; KOSNETT, M.J.; HERNÁNDEZ, A.L.; BEERIS, M.; SMITH, M.M.; MOORE, L.E. Arsenic-induced skin lesions among atacameño people in northern Chile despite good nutrition and centuries of exposure. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.108, n.7, p.617-620, 2000a.
- SMITH, A.H.; GOYCOLEA, M.; HAQUE, R.; BIGGS, M.L. Marked increase in bladder and lung cancer mortality in a region of northern Chile due to arsenic in drinking water. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.147, n.7, p.660-669, 1998.
- SMITH, A.H.; HOPENHAYN-RICH, C.; WARNER, M.; BIGGS, M.L.; MOORE, L.; SMITH, M.T. Rationale for selecting exfoliated bladder cell micronuclei as potential biomarkers for arsenic genotoxicity. **J. Toxicol. Environ. Health**, Washington, v.40, n.2/3, p.223-234, 1993.
- SMITH, A.H.; LINGAS, E.O.; RAHMAN, M. Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency. **Bull. W. H. O.**, Geneva, v.78, n.9, p.1093-1103, 2000b.
- SNEGIREFF, L.S.; LOMBARD, O.M. Arsenic and cancer: observations in the metallurgical industry. **Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.**, Chicago, v.4, n.3, p.199-205, 1951.
- SOHRIN, Y.; MATSUI, M.; KAWASHIMA, M.; HOJO, M.; HASEGAWA, H. Arsenic biogeochemistry affected by eutrophication in lake Biwa; Japan. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.31, n.10, p.2712-2720, 1997.
- SOMMERS, S.C.; MCMANUS, R.G. Multiple arsenical cancers of skin and internal organs. **Cancer**, New York, v.6, n.2, p.347-359, 1953.
- STYBLO, M.; DELRAZO, L.M.; VEGA, L.; GERMOLÉ, D.R.; LECLUYSE, E.L.; HAMILTON, G.A.; REED, W.; WANG, C.; CULLEN, W.R.; THOMAS, D.J. Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.74, n.6, p.289-299, 2000.
- SUÑER, M.A.; DEVESA V.; MUÑOZ, O.; LOPEZ, F.; MONTORO, R.; ARIAS, A.M.; BLASCO, J. Total and inorganic arsenic in the fauna of the

- Guadalquivir estuary: environmental and human health implications. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.242, n.1/3, p.261-270, 1999.
- SZINICZ, L.; FORTH, W. Effect of As_2O_3 on gluconeogenesis. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v.61, n.6, p.444-449, 1988.
- TAM, G.K.H; CHARBONNEAU, S.M.; BRYCE, F.; POMROY, C.; SANDI, E. Metabolism of inorganic arsenic (^{74}As) in humans following oral ingestion. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.50, n.2, p.319-322, 1979.
- TCHERNITCHIN, A.N.; TCHERNITCHIN, N. Posibles efectos en la salud de la contaminación de aire; aguas y alimento con arsénico en Chile. **Rev. Chil. Nutr.**, Santiago, v.19, n.3, p.149-163, 1991.
- TELOLAHY, P.; MOREL, G.; CLUET, J.L.; YANG, H.M.; THIEFFRY, N.; CEAURRIZ, J. An attempt to explain interindividual variability in 24-h urinary excretion of inorganic arsenic metabolites by C57 BL/6J mice. **Toxicology**, Oxford, v.103, n.2, p.105-112, 1995.
- TERADA, H.; SASAGAWA, T.; SAITO, H.; SHIRATA, H.; SEKIYA, T. Chronic arsenical poisoning and hematopoietic organs. **Acta Med. Biol.**, Niigata, v.9, n.4, p.279-292, 1962.
- THIEL, T. Phosphate transport and arsenate resistance in the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. **J. Bacteriol.**, Washington, v.170, n.3, p.1143-1147, 1988.
- THOMAS, D.J.; STYBLO, M.; LIN, S. The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.176, n.2, p.127-144, 2001.
- TONDEL, M.; RAHMAN, M.; MAGNUSON, A.; CHOWDHURY, I.A.; FARUQUEE, M.H.; AHMAD, S.A. The relationship of arsenic levels in drinking water and the prevalence rate of skin lesions in Bangladesh. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.107, n.9, p.727-729, 1999.
- TSENG, C.H.; CHONG, C.K.; CHEN, C.J.; TAI, T.X. Dose response relationship between peripheral vascular disease and ingested inorganic arsenic among residents in blackfoot disease endemic

- villages in Taiwan. **Atherosclerosis**, Shannon, v.120, n.1/2, p.125-133, 1996.
- TSENG, W.P. Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.109-119, 1977.
- TSENG, W.P.; CHU, H.M.; HOW, S.W.; FONG, J.M.; LIN, C.S.; YEH, S. Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. **J. Natl. Cancer Inst.**, Cary, v.40, n.3, p.453-463, 1968.
- TURPEINEN, R.; PANTSAR-KALLIO, M.; HAGGBLOM, M.; KAIRESAALO, T. Influence of microbes on the mobilization; toxicity and biomethylation of arsenic in soil. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.236, n.1/3, p.173-180, 1999.
- UTHUS, E.O. Estimation of safe and adequate daily intake for arsenic. In: MERTZ, W.; ABERNATHY, C.O., OLIN, S.S., eds. **Risk assessment of essential elements**. Washington: ILSI Press, 1994. p.273-282.
- VAHTER, M. Biotransformation of trivalent and pentavalent inorganic arsenic in mice and rats. **Environ. Res.**, Orlando, v.25, n.2, p.286-293, 1981.
- VAHTER, M. Genetic polymorphism in the biotransformation of inorganic arsenic and its role in toxicity. **Toxicol. Lett.**, Shannon, v.112/113, p.209-217, 2000.
- VAHTER, M.; CONCHA, G.; NERMELL, B.; NILSSON, R.; DULOUT, F.; NATARAJAN, A.T. A unique metabolism of inorganic arsenic in native Andean woman. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, Amsterdam, v.293, n.4, p.455-462, 1995b.
- VAHTER, M.; COUCH, R.; NERMELL, B.; NILSSON, R. Lack of methylation of inorganic arsenic in the chimpanzee. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.133, n.2, p.262-268, 1995a.
- VALENTINE, J.L.; KANG, H.K.; SPIVEY, G. Arsenic levels in human blood; urine and hair in response to exposure via drinking water. **Environ. Res.**, Orlando, v.20, n.1, p.24-32, 1979.
- VOGT, B.; ROSSMAN, T.G. Effects of arsenite on p53, p21 and cyclin D expression in normal human fibroblasts: a possible mechanism for

- arsenite's comutagenicity. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.478, n.1/2, p.159-168, 2001.
- WALSH, L.M.; SUMNER, M.E.; KEENEY, D.R. Occurrence and distribution of arsenic in soils and plants. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.67-71, 1977.
- WANG, T.S.; HSU, T.Y.; CHUNG, C.H.; WANG, A.S.; BAU, D.T.; JAN, K.Y. Arsenite induces oxidative DNA adducts DNA-protein cross-links in mammalian cells. **Free Radicals Chem., Biol. Med.**, London, v.31, n.3, p.21-330, 2001.
- WANG, T.S.; SHU, Y.F.; LIU, Y.C.; JAN, K.Y.; HUANG, H. GLUTATHIONE peroxidase and catalase modulate the genotoxicity of arsenite. **Toxicology**, Oxford, v.121, p.229-237, 1997.
- WARREN, G.P.; ALLOWAY, B.J.; LEPP, N.W.; SINGH, B.; BOCHEREAU, F.J.; PENNY, C. Field trials to assess the uptake of arsenic by vegetables from contaminated soils and soil remediation with iron oxides. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.311, p.19-33, 2003.
- WATERS, M.; STACK, H.F.; JACKSON, M.A. Genetic toxicology data in the evaluation of potential human environmental carcinogens. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.437, n.1, p.21-49, 1999.
- WEAST, R.C. **Handbook of chemistry and physics**. 70. ed. Boca Raton: Crc Press, 1989. p.B-73.
- WEBELEMENTS. **Arsenic (Index of properties)**. Disponível em: <http://www.webelements.com/webelements/elements/text/As/index.html>. Acesso 17 jan. 2004.
- WELCH, K.; HIGGINS, I.; BURCHFIEL, C. Arsenic exposure; smoking and respiratory cancer in copper smelter workers. **Arch. Environ. Health**, Washington, v.37, n.6, p.325-335, 1982.
- WESTHOFF, D.D.; SAMAHA, R.J.; BARNES, A. Arsenic intoxication as a cause of megaloblastic anemia. **Blood**, Washington, v.45, n.2, p.241-246, 1975.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Health and Safety Guide No.70:**

- Dimethylarsinic acid, methanearsonic acid, and salts health and safety guide.** Geneva: World Health Organization, 1992a. 21p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Health and Safety Guide No 70: Inorganic arsenic compounds other than arsine.** Geneva: World Health Organization, 1992b. 32p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 155: Biomarkers and risk assessment: concepts and principles.** Geneva: World Health Organization, 1993. 82p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 18: Arsenic.** Geneva: WHO, 1981. 174p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 222: Biomarkers and risk assessment: vality and validation.** Geneva: World Health Organization, 2001a. 238p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 224: Arsenic and arsenic compounds.** 2.ed. Geneva: World Health Organization, 2001c. 521p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **United Nations Synthesis Report on Arsenic in Drinking Water: exposure and health effects.** Geneva, 2001b. 84p. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation-health/Arsenic/ArsenicUNReptoc.htm. Acesso em: 25 agos. 2002.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Water and Sanitation.** Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals/arsenic_hist.htm. Acesso em: 11 jun. 2003.
- WIENCKE, J.K.; YAGER, J.W.; VARKONYI, A.; HULTNER, M.; LUTZE, L.H. Study of arsenic mutagenesis using the plasmid shuttle vector pZ189

- propagated in DNA repair proficient human cells. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.386, n.3, p.335-344, 1997.
- WILKINSON, C.F. Being more realistic about chemical carcinogenesis. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.21, n.9, p.843-847, 1987.
- WOODS, J.S.; FOWLER, B.A. Altered regulation of mammalian hepatic heme biosynthesis and urinary porphyrin excretion during prolonged exposure to sodium arsenate. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.43, n.2, p.361-371, 1978.
- WOOLSON, E.A. Fate of arsenicals in different environmental substrates. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v.19, p.73-81, 1977.
- WU, M.M.; KUO, T.L.; HWANG, Y.H.; CHEN, C.J. Dose-response relation between arsenic concentration in well water and mortality from cancers and vascular diseases. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.130, n.6, p.1123-1132, 1989.
- YAGER, J.; WIENCKE, J.K. INHIBITION OF POLY (ADP-RIBOSE) POLYMERASE BY ARSENITE. **MUTAT. RES.**, AMSTERDAM, V.386, N.3, P.345-351, 1997.
- YAMAMOTO, S.; WANIBUCHI, H.; HORI, T.A.; YANO, Y.; MATSUI-YUASA, L.; OTANI, S.; CHEN, H.; YOSHIDA, K.; KURODA, K.; ENDO, G.; FUKUSHIMA, S. Possible carcinogenic potential of dimethylarsinic acid as assessed in rat *in vivo* models: a review. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.386, n.3, p.353-361, 1997.
- YAMANAKA, K.; HAYASHI, H.; TACHIKAWA, M.; KATO, K.; HASEGAWA, A.; OKU, N.; OKADA, S. Metabolic methylation is a possible genotoxicity-enhancing process of inorganic arsenics. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.394, n.1/3, p.95-101, 1997.
- YAMAUCHI, H.; YAMAMURA, Y (1983). Concentration and chemical species of arsenic in human tissue. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 31:267-277 *apud*, WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental**

Health Criteria 224: Arsenic and arsenic compounds. 2.ed.

Geneva: World Health Organization, 2001c. 521p.

- YAMAUCHI, H.; YAMAMURA, Y. Metabolism and excretion of orally administered arsenic trioxide in the hamster. **Toxicology**, Oxford, v.34, n.2, p.113-121, 1985.
- YEH, S.; HOW, S.W.; LIN, S.C. Arsenical cancer of skin. **Cancer**, New York, v.21, n.2, p.312-339, 1968.
- YIH, L.H.; LEE, T.C. Arsenite induces p53 accumulation through an ATM-dependent pathway in human fibroblasts. **Cancer Res.**, Philadelphia, v.60, n.22, p.6346-6352, 2000.
- YOUNG, W.J. The fixation of salvarsan and neosalvarsan by the blood after intravenous injection. **Biochem. J.**, London, v.9, p.479-484, 1915.
- ZAKHARYAN, R.A.; WILDFANG, E.; APOSHIAN, H.V. Enzymatic methylation of arsenic compounds. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, Orlando, v.140, n.1, p.77-84, 1996.
- ZENG, T.; SAAROFIM, A.F.; SENIOR, C.L. Processing of arsenic waste by precipitation and solidification. **Combust. Flame**, New York, v.126, p.1714-1724, 2001.
- ZHANG, X.R.; CORNELIS, R.; MEES, L.; VANHOLDER, R.; LAMEIRE, N. Chemical speciation of arsenic in serum of uraemic patients. **Analyst**, Cambridge, v.123, n.1, p.13-17, 1998.
- ZHU, X.H.; SHEN, Y.L.; JING, Y.K.; JIA, P.M.; HUANG, Y.; TANG, W.; SHI, G.Y.; SUN, Y.P.; DAI, J.; WANG, Z.Y.; CHEN, S.J.; ZHANG, T.D.; WAXMAN, S.; CHEN, Z.; CHEN, G.Q. Apoptosis and growth inhibition in malignant lymphocytes after treatment with arsenic at clinically achievable concentrations. **J. Natl. Cancer Inst.**, Cary, v.91, n.9, p.772-778, 1999.

APÊNDICE A

RESUMO EXECUTIVO

Meio Ambiente e arsênio

O arsênio é um semi-metal amplamente distribuído no planeta e sua concentração depende principalmente do local considerado e das fontes naturais e antropogênicas. É possível encontrar elevadas concentrações em áreas próximas a regiões vulcânicas, a atividades de mineração e a aplicação de praguicidas arseniais (WHO, 1981; WHO 2001c).

Os principais estados de oxidação de arsênio são -3, 0,+3,+5. Os compostos pentavalentes e trivalentes de arsênio podem ser encontrados como parte de outros compostos inorgânicos presentes no ar, solo e água; a proporção entre eles depende das propriedades físico-químicas e a atividade biológica nos meios (WHO, 2001c; WHO, 1981). Os compostos orgânicos são formados como resultado do processo de biotransformação das espécies inorgânicas, sendo que os metilados ocorrem comumente na flora, fauna e em humanos, enquanto que outros compostos, como arsenolipídios e arsenoaçúcares, são característicos dos organismos marinhos (EDMONDS, FRANCESCONI, 1981; LUNDE, 1977; WHO, 2001c; WHO, 1981).

Países que apresentam o problema da presença do arsênio

Devido aos efeitos adversos à saúde humana, numerosos e variados estudos sobre o tema do arsênio foram realizados por países como: Argentina, Bangladesh, Bélgica, Brasil, Canadá, Croácia, ex-Tchecoslováquia, Chile, China, Espanha, Estados Unidos, Finlândia, França, Holanda, Hungria, Índia, Itália, Irlanda, Japão, Inglaterra, México e Taiwan (BISWAS *et al.*, 1999; BÖRZSÖNYI *et al.*, 1992; BUCHET *et al.*, 1996; CORRIDAN, 1974; FERM, 1977; GEBEL, 2000; KENYON, HUGHES, 2001;

LEITCH, KENNAWAY, 1922; WATERS *et al.*, 1999; THOMAS *et al.*, 2001, entre outros). Em muitos destes países existe uma exposição crônica ao arsênio pelo consumo de água potável contendo teores variados de arsênio.

Na América, os primeiros casos publicados de hidroarsenicismo foram na Argentina, nas localidades de Monte Queimado, Bell Ville e Mattaldi (província de Córdoba) (GUATELLI *et al.*, 1973; GUATELLI, FERNÍCOLA, 1970). Em Bangladesh estima-se que milhões de pessoas consomem água de poço contendo arsênio. Outro país onde a contaminação natural da água subterrânea por arsênio produz lesões características na pele associadas ao hidroarsenicismo é o Vietnã (ACHARYYA *et al.*, 1999; BERG *et al.*, 2001; CHATTERJEE *et al.*, 1995; CHRISTEN, 2001b; FRISBIE *et al.*, 2002).

No Brasil, têm sido realizados estudos sobre a presença de arsênio nos solos, sedimentos e águas subterrâneas em regiões que tiveram alta atividade de mineração, por um período de 300 anos, como é o caso de Ouro Preto, Santa Bárbara e Nova Lima (no estado de Minas Gerais). Nestes locais já foi detectada a presença de arsênio no ambiente e também na urina das pessoas expostas, sendo que o potencial dano à saúde dessa população precisa ser avaliado (PEROBELLI *et al.*, 2000).

A exposição humana por longo prazo ao arsênio pela água potável foi relacionada a problemas cardiovasculares, hipertensão (CHEN *et al.*, 1995; RAHMAN *et al.*, 1999) e diabetes melito (LAI *et al.*, 1994; RAHMAN *et al.*, 1998). Outras doenças relacionadas são hiperqueratose e hiperpigmentação que são lesões dérmicas características produzidas pela exposição ao arsênio, bem como uma alteração vascular periférica (doença do pé negro) que provoca gangrena nas extremidades (TSENG *et al.*, 1968; TSENG, 1977). As populações expostas cronicamente a este elemento apresentam alta incidência de câncer de pele, pulmão, fígado e bexiga (CHEN *et al.*, 1985; COWLISHAW *et al.*, 1979; SMITH *et al.*, 1992).

Valores recomendados

Atualmente não se tem certeza dos efeitos adversos que podem ser produzidos pela exposição crônica a baixos níveis de arsênio na água (<50 µg/L). Este ponto é de especial controvérsia no momento de determinar os valores orientadores para a água potável (BERGENSON, 2002).

A OMS recomenda um valor de referência para água potável de 10 µgAs/L. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) revisou o padrão para arsênio na água potável e, em 2001, considerou a possibilidade de reduzir esse valor de 50 µg/L para 10 µg/L. Acredita-se que esta redução permitirá diminuir o número de vários tipos de câncer, diabetes e hipertensão (BERGENSON, 2002). O valor da dose diária aceitável para a ingestão diária de arsênio, calculado com os dados da população taiwanesa, foi estimado em 0,3 µg/kg/dia (ABERNATHY, 1994).

A IARC (*International Agency Research Cancer*) classifica o arsênio inorgânico e seus compostos como cancerígeno para humano, com base em estudos epidemiológicos que relacionam a exposição ao arsênio e câncer de pele, bem como estudos ocupacionais que relacionam a exposição com câncer de pulmão (FOWLER, 1994; IARC, 2002). Para ambientes ocupacionais a *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) propôs um valor limite ponderado no tempo TLV-TWA (Threshold Limit Values-TWA-Time-Weighted Average) de 0,01 mg/m³ no ar para o arsênio elementar e compostos inorgânicos, para uma jornada de trabalho de 8 horas diárias e 40 horas semanais (ACGIH, 2003).

Aspectos toxicológicos

Estudos toxicológicos mostram que a ingestão de arsênio inorgânico ocorre principalmente pelo consumo da água, enquanto que o orgânico pela ingestão de alimentos de origem marinha. Tanto os arseniais orgânicos

quanto os inorgânicos são quase que totalmente absorvidos no trato digestivo (ASTOLFI *et al.*, 1982).

Nos seres humanos, o arsênio é biotransformado a ácido monometilarsônico (MMA) e a ácido dimetilarsínico (DMA). O arsênio pentavalente deve ser reduzido à forma trivalente antes de ser metilado. Para que ocorra a metilação é necessária a presença de enzimas metiltransferases, glutatona reduzida (GSH), S-adenosilmetionina (SAM) que é um composto doador de grupos metilo (APOSHIAN, 1989; HEALY *et al.*, 1998).

Os produtos de biotransformação MMA e DMA, bem como o arsênio inorgânico, são encontrados na urina de pessoas expostas ao arsênio pela água potável. Estudos recentes mostram que as espécies metiladas de arsênio inorgânico, principalmente as que apresentam arsênio trivalente, são mais tóxicas que o arsênio inorgânico. Supõe-se que o processo de biometilação não contribui para a destoxificação e, sim para a ativação do arsênio no organismo (ABERNATHY *et al.*, 2003).

A excreção do arsênio absorvido ocorre principalmente por via urinária, inicialmente como arsênio inorgânico e depois como um derivado metilado. Nos humanos, aproximadamente de 50 a 80% do arsênio é excretado em 3 a 5 dias após a sua absorção (CRECELIUS, 1977; POMROY *et al.*, 1980).

Biomarcadores

O monitoramento humano é feito pelas determinações de arsênio em urina, cabelo e unhas utilizadas como biomarcadores de exposição. O melhor biomarcador de uma exposição recente ao arsênio é a urina. O arsênio tem uma meia vida curta no sangue, por isso esta medida é somente usada em casos de exposição aguda. As análises no cabelo e unhas são

realizadas em históricos de exposição ao arsênio, porém a principal objeção na sua utilização é a contaminação externa das amostras de cabelo (WHO, 2001b). Biomarcadores de susceptibilidade e de efeito específicos para o arsênio ainda não foram desenvolvidos. É necessário entender o mecanismo pelo qual o arsênio induz câncer para que esses ensaios possam ser desenvolvidos e possam contribuir na avaliação de riscos (ALBERTINI *et al.*, 1996; BIGGS *et al.*, 1997).

APÊNDICE B

METODOLOGIA

Objeto de estudo

Análise da bibliografia mundial, no período de 1920 a 2003, especialmente dos países dedicados à pesquisa do arsênio.

Levantamento bibliográfico

Compilação do material de consulta

Foram consultados os acervos das seguintes instituições:

- Biblioteca do Conjunto das Químicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – USP.
- Biblioteca do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- Biblioteca do Departamento de Engenharia Civil da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
- Biblioteca do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
- Biblioteca Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- Biblioteca Central da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.
- Biblioteca do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo.
- Biblioteca Central da Universidade Federal de São Paulo.
- Centro Latino Americano e do Caribe de Informação em Ciências de Saúde (BIREME).
- Biblioteca da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

- Bibliotecas chilenas da Universidad de Chile e Universidad da Antofagasta.
- Informações via Internet, PubMed – Medline, Web of the Science, Scirus, Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura técnico – científica em Ciências da Saúde na América Latina e Caribe (LILACS) e Portal de Revistas Eletrônicas da CAPES.

Os títulos das publicações que foram consultados são os seguintes:

Acta Bioquim. Clin. Latinoam.	Chemosphere
Acta Med. Biol.	Clin. Chem.
Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.	Clin. Toxicol.
Am. J. Epidemiol.	Combust. Flame
Am. J. Ind. Med.	Comp. Biochem. Physiol.
Am. J. Pathol.	Creces
An. Acad. Bras. Cienc.	Crit. Rev. Toxicol.
Anal. Chim. Acta	Dermatol. Surg.
Analyst	Environ. Health Perspect.
Ann. Intern. Med.	Environ. Pollut.
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.	Environ. Res.
Appl. Geochem.	Environ. Sci. Technol.
Arch. Argent. Dermatol.	Environ. Toxicol. Pharmacol.
Arch. Environ. Health	Epidemiology
Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.	Experientia
Arch. Toxicol.	FEMS Microbiol. Rev.
Atherosclerosis	Food Chem. Toxicol.
Aust. N. Z. J. Med.	Free Radicals Chem.
Biochem. J.	Hum. Exp. Toxicol.
Blood	Hum. Toxicol.
Br. J. Cancer	Hypertension
Br. J. Dermatol.	Int. J. Epidemiol.
Br. J. Ind. Med.	J. Agric. Food Chem.
Br. Med. J.	J. Am. Chem. Soc.
Bull. W. H. O.	J. Am. Diet. Assoc.
Cad. Saúde Pública	J. Anal. At. Spectrom.
Calif. Med.	J. Bacteriol.
Can. Med. Assoc. J.	J. Biotechnol.
Cancer Epidemiol.	J. Chem. Soc.
Cancer Res.	J. Chronic Dis.
Cancer	J. Natl. Cancer Inst.
Cell	J. Neurol. Sci.
Chem Educ.	J. Nutr.
Chem. Res. Toxicol.	J. Occup. Med.
Chem. Rev.	J. Oceanogr.

J. Pharmacol. Exp. Ther.	Rev. Chil. Nutr.
J. R. Soc. Med.	Rev. Farm.
J. Radioanal. Chem.	Rev. Med. Chile
J. Toxicol. Environ. Health	Risk Anal.
JAMA	Sci. Total Environ.
Lancet	Science
Microbiol. Mol. Biol. Rev.	Sem. Med.
Microbiology	Soil Sci. Soc. Am. J.
Mutagenesis	Soil Sci. Soc. Am. Proc.
Mutat. Res.	Struct. Bonding
N. Engl. J. Med.	Talanta
Nature	Teratology
Naturwissenschaften	Tetrahedron Lett.
Pharm. Hist.	Thromb. Res.
Pollut. Eng.	Toxicol. Appl. Pharmacol.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	Toxicol. Ind. Health
Proc. West. Pharmacol. Soc.	Toxicol. Lett.
Pure Appl. Chem.	Toxicology
Regul. Toxicol. Pharmacol.	Trans. Pathol. Soc. Lond.
Rev. Argent. Dermatofilol.	Trends Biochem. Sci.
Rev. Asoc. Bioquim. Argent.	Waste Manage.
Rev. Biochem. Toxicol.	Water Res.
Rev. Bras. Geocienc.	

Estruturação básica para a revisão bibliográfica

Busca em Bases de Dados

As pesquisas foram realizadas com base na palavra-chave “arsenic” ou “arsenico” disponíveis nos descritores MeSH e DeSC nos seguintes bancos de dados:

Base de dados do Chemical Abstract CD-Rom, utilizada para pesquisa de artigos para o período 1996 até 2003 (volume 8). Procurou-se por palavra-chave no título, obtendo-se um total 12.158 resultados.

Web of the Sciences, site que reúne literatura científica (artigos, livros, multimídia e outros documentos técnicos) em um banco de dados de 32.929.016 títulos, para todas as áreas da ciência e artes (2003). A pesquisa feita neste site, considerando o período entre 1945-1954 a 2003 e somente

artigos, em todos os idiomas, obtive 14.831 resultados. Foi possível obter artigos eletrônicos acessando estações de trabalho da rede da Universidade de São Paulo e da Universidade Federal de São Paulo.

Scirus, site que reúne vários bancos de dados, cujo navegador forma parte do banco de dados Europeu EMBASE, que indexa 150.000.000 páginas web. A pesquisa feita neste site, considerando o período 1930 a 2003 na busca avançada, considerando somente de artigos, gerou 10.971 resultados. Foi possível obter artigos por via eletrônica acessando estações de trabalho da rede da Universidade de São Paulo e da Universidade Federal de São Paulo.

PubMed, site da National Library Medicine, indexado por MedLine sobre 14.000.000 de citações, reunindo artigos na área das Ciências da Saúde. A pesquisa feita no período 1953-2003 por meio do descritor de assunto gerou 4.409 resultados. Foi possível obter artigos por via eletrônica acessando estações de trabalho da rede da Universidade de São Paulo e da Universidade Federal de São Paulo.

LILACS é o banco de dados de Literatura Técnico–Científica em Ciências da Saúde na América Latina e Caribe, desde 1982 até o 2003. A busca, por descritor de assunto, gerou 86 artigos, em espanhol, português ou inglês, realizados na América Latina. Esses artigos eletrônicos são de acesso livre de qualquer parte do mundo.

SciELO (Scientific Electronic Library Online) é um site da BIREME que reúne artigos eletrônicos da América Latina. A busca, limitada por todos os índices, resultou em 31 artigos eletrônicos. Os artigos eletrônicos são de acesso livre de qualquer parte do mundo.

Os artigos não disponíveis por meio eletrônico foram consultados pelo portal DEDALUS Global da Universidade de São Paulo e pelo portal da BIREME, para obter sua localização em papel.

Para o refinamento da busca foram utilizados outros descritores bibliográficos:

- Água
- Águas subterrâneas
- Atmosfera
- Solo
- Sedimentos
- Meio Ambiente
- Toxicologia
- Saúde
- Marcadores biológicos

Os artigos do período anterior a 1940 foram obtidos principalmente pela análise das referências de outros artigos.

Leitura e classificação do material segundo os seguintes temas:

- Arsênio na água, solo, sedimentos, ar e alimentos
- Toxicologia do arsênio
- Efeitos na saúde humana
- Biomarcadores para monitoramento humano

No presente trabalho foi utilizado um esquema geral de estudo (ilustrado na Figura B.1) que relacionou os diversos temas sobre arsênio, que foram objeto de revisão bibliográfica, com particular interesse nas publicações sobre meio ambiente, efeitos na saúde e toxicologia.

Cada fonte incorporada foi classificada em função principalmente da linha de investigação, com o objetivo de fazer um inventário, quando possível, de cada tema.

Figura B.1: Esquema seguido na presente pesquisa sobre aspectos da exposição aos compostos arseniais.

Análise da informação

Análise crítica da informação obtida, com especial ênfase nos efeitos do arsênio na saúde humana e biomarcadores.

Foi elaborado um documento atualizado sobre o arsênio sob a ótica toxicológica.