

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación ambiental del río San Juan de Santiago de Cuba por exposición bioacumulativa a metales pesados

Environmental evaluation of San Juan river in Santiago de Cuba due to bioaccumulative exposure to heavy metals

MsC. George Argota Pérez^I y Lic. Humberto Argota Coello^{II}

^I Laboratorio de Ecotoxicología. Centro de Toxicología y Biomedicina, Santiago de Cuba, Cuba.

^{II} Empresa Geominera Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

RESUMEN

Se evaluó la salud ambiental del río San Juan de Santiago de Cuba, expuesto a metales pesados, mediante la utilización de la especie biorreguladora *Gambusia punctata*. Se analizaron 271 individuos adultos clasificados por sexo, para lo cual se escogieron los intervalos de clases de edades 2,1-3,0 y 3,1-4,0 cm, según la longitud total, respectivamente. La mezcla ácida aplicada estuvo compuesta por ácido perclórico - ácido sulfúrico; (7:1)- ácido nítrico para determinar los niveles bioacumulados en hígado, branquias y cerebro como órganos diana. Los metales analizados: cobre, zinc, plomo y cadmio, se cuantificaron mediante espectrometría por plasma inductivamente acoplado con vista axial. Se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los valores bioacumulados entre los intervalos y sexos. Se concluyó que los niveles de metales pesados bioacumulados superaron los valores permisibles, de manera que representan un riesgo ambiental en la salud de esas aguas.

Palabras clave: salud ambiental, agua, río, metal pesado, bioacumulación, *Gambusia punctata*.

ABSTRACT

The environmental health of San Juan river in Santiago de Cuba, exposed to heavy metals was evaluated by means of the bioregulatory species *Gambusia punctata*. Two hundred and seventy five adults were analyzed and classified by sex, for whom the intervals of age classes 2.1-3.0 and 3.1-4.0 cm were chosen, according to the total longitude, respectively. The applied acid mixture was composed by perchloric acid - sulphuric acid; (7:1) - nitric acid to determine the bioaccumulated levels in liver, branchiae and brain as target organs. The analyzed metals: copper, zinc, lead and cadmium, were quantified by means of spectrometry by plasma inductively coupled with axial view. There were significant differences ($p < 0.05$) in the bioaccumulated values between intervals and sexes. It was concluded that the levels of bioaccumulated heavy metals overcame the permissible values, so that they represent an environmental risk in the quality of those waters.

Key words: environmental health, water, river, heavy metal, bioaccumulation, *Gambusia punctata*.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados son elementos presentes en el ecosistema, que generalmente se encuentran en condiciones naturales a bajas concentraciones;¹ sin embargo, las actividades humanas han liberado activamente estos agentes al medioambiente, de manera que influyen dentro de los ciclos geoquímicos de dichos metales, donde tienen gran relevancia los ecosistemas acuáticos.²

Al respecto, la contaminación de las aguas naturales por metales pesados llega a ser inevitable debido a la industrialización y urbanización. Entre los metales de mayor importancia toxicológica y ecotoxicológica en ambientes acuáticos figuran: mercurio (Hg), arsénico (As), cromo (Cr), plomo (Pb), cadmio (Cd), níquel (Ni) y zinc (Zn), pues para la mayoría de los organismos la exposición por encima de una concentración umbral puede ser extremadamente tóxica.³

Los iones de estos elementos suelen penetrar en la célula a través de los mismos sistemas de transporte que utilizan cationes fisiológicamente importantes como el calcio (Ca), el magnesio (Mg), el Cu y el Zn. Para considerar sus relaciones con la biota acuática se debe tener en cuenta: especiación del metal, interacciones con la membrana plasmática en la interfase organismo-ambiente, factores secundarios que pueden afectar los mecanismos funcionales básicos del individuo y partición del elemento en los compartimentos celulares, incluyendo los efectos biológicos resultantes de sus interacciones con los receptores en los sitios de acción, por lo cual realizar estudios multidisciplinarios referentes a la especiación química, brindarían valiosas informaciones sobre los daños que ocurren a nivel local y sistémico en los peces.⁴

La biomonitorización ecológica de los organismos o los cambios en sus órganos constituyen una herramienta fundamental en el conocimiento del estado ambiental en cualquier sistema acuático. La contaminación de las aguas puede provocar alteraciones estructurales, morfológicas y hasta la muerte celular en la biota. Entre los contaminantes más peligrosos se encuentran los de naturaleza química, tales como: plaguicidas y metales pesados.⁵

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la salud ambiental del río San Juan de Santiago de Cuba, expuesto a metales pesados, mediante la utilización de la especie biorreguladora *Gambusia punctata*.

MÉTODOS

Se utilizaron 125 organismos expuestos a contaminación por metales pesados. Se escogieron 2 intervalos de clases de edades (2,1-3,0 y 3,1-4,0 cm), dada la representatividad.⁶

También se emplearon órganos dianas de individuos adultos (diferenciados por sexos), los cuales fueron colocados, para su secado total, en una estufa a 70 °C durante 48 horas.

Las muestras fueron trituradas, homogenizadas⁷ y pesadas (0,50 g) para su digestión con 5 mL de una mezcla de ácidos: (HClO₄ - H₂SO₄; 7:1) y 15 mL de HNO₃, en plancha de calentamiento (80°C), hasta la evaporización total de dicha mezcla.

Se añadieron nuevamente 5 mL de HNO₃ concentrado hasta sales húmedas sin resecamiento, acompañado de disolución de estas sales con ácido nítrico 0,7 M, trasvasándose cuantitativamente a un volumétrico de 25 mL.

Los metales Cu, Zn, Pb y Cd se cuantificaron mediante la técnica de espectrometría, por plasma inductivamente acoplado con vista axial (ICP-AES).

Las curvas de calibración se establecieron según las muestras de referencias de peces no expuestos a contaminación para metales pesados (*certified values of standard reference material DOLT-3 dogfish Liver* (µg/g dry wt) y muestra de referencia de músculo DORM-2 (*dogfish muscle, certificated referente material for trace metals and elemental species*), que permiten el cálculo de los límites de detección y cuantificación en las muestras biológicas, precisión y veracidad del método.

Para la evaluación de los metales pesados se tuvo en cuenta la norma cubana: 38-02-06 (1984). Sistemas de normas sanitarias para alimentos. Contaminantes metálicos y otros elementos en alimentos (referida a organismo total).

El procesamiento de los resultados se realizó mediante el paquete estadístico *Statgraphics*, versión 5.0.

RESULTADOS

En la tabla 1 se observan los valores de concentraciones determinados en las muestras de referencias certificadas.

Tabla 1. Contenido de metales pesados. Muestras de referencias certificadas (mg/kg)

Metales	Valor certificado	
	DOLT - 3 (Número de réplicas 11)	DORM - 2 (Número de réplicas 7)
Cobre	31,2 ± 1,00	2,34 ± 0,16
Zinc	86,6 ± 2,4	25,6 ± 2,3
Plomo	0,319 ± 0,05	0,065 ± 0,01
Cadmio	19,4 ± 0,6	0,043 ± 0,01

En la tabla 2 se muestran los valores de concentración determinados por intervalos de clases de edades, diferenciados por sexo y en los órganos dianas para ambas especies. Se aprecia que la tendencia general es no encontrarse diferencias entre los intervalos en cada sexo, pero sí al compararse uno con otro; en este caso resultó menor para los machos.

Tabla 2. Contenido de metales pesados en peso seco (mg/kg)

Metales	NC	Órganos	Machos		Hembras	
			2,1- 3,0	3,1 - 4,0	2,1- 3,0	3,1 - 4,0
Cobre ± 0,017	10,0	hígado	42,29 ^a	42,30 ^a	44,57 ^b	44,71 ^c
		branquias	48,20 ^a	49,19 ^b	49,20 ^b	51,15 ^c
		cerebro	ND	ND	ND	ND
Zinc ± 0,045	50,0	hígado	79,19 ^a	79,42 ^b	79,46 ^{ab}	79,51 ^c
		branquias	50,66 ^a	50,71 ^b	51,76 ^c	52,38 ^d
		cerebro	ND	ND	ND	ND
Plomo ± 0,004	1,0	hígado	ND	ND	ND	ND
		branquias	0,026 ^a	0,029 ^a	0,035 ^b	0,039 ^b
		cerebro	ND	ND	ND	ND
Cadmio ± 0,012	0,05	branquias	18,51 ^a	18,52 ^a	19,69 ^b	19,70 ^b
		cerebro	ND	ND	ND	ND

p<0,05

Leyenda:

±: valor de incertidumbre

Valor ND: no detectado

NC: norma cubana

DISCUSIÓN

A juicio del autor, es importante mencionar que aunque el interés por el estudio de la contaminación metálica de los ecosistemas acuáticos se debe a la importancia de esta por su elevada toxicidad, alta persistencia y rápida acumulación en los organismos vivos, debe ser, igualmente, una preocupación para el cálculo de balance de masa y posibles transferencias hacia otras matrices ambientales en las cuales existe una exposición humana. Por tanto, reconocer la determinación de elementos bioacumulados en organismos, expresa que especies o formas químicas han estado biodisponibles ambientalmente; tal determinación es una razón relevante para la vigilancia y control de los recursos hídricos, máxime cuando los niveles de metales presentes pudieran encontrarse por debajo de los límites de detección analítica.

En este trabajo, el método de digestión ácido empleado para la determinación de metales pesados en las muestras biológicas, proporcionó excelentes resultados. Se observó que la tendencia general es no encontrarse diferencias entre los intervalos en cada sexo, pero sí al compararse uno con otro, lo cual fue menor para los machos, debido a que ecológicamente no existen diferencias entre la composición de su dieta, aunque sí en el contenido, ya que la alimentación no parece ser la principal función en su etología, sino el acoso sexual constante.⁸

La bioacumulación en los peces es el proceso por el cual los químicos entran a los organismos desde el agua, a través de las branquias y son acumulados.¹

La toxicidad de los metales pesados sobre los organismos vivos no solo depende de la concentración en la que se encuentren presentes, sino también de otros factores tanto intrínsecos a la naturaleza del propio organismo (familia y especie a la que pertenece,

mecanismos de regulación de metales, edad, estrés, entre otros) como a las características del hábitat, tiempos expuestos al metal (efectos agudos o crónicos) y grado de accesibilidad de estos por parte de los organismos vivos.⁹ En condiciones naturales, los factores abióticos y bióticos son sumamente diversos y varían constantemente en tiempo y espacio, donde la complejidad y la historia individual de cada uno de estos factores en el ecosistema, poseen únicas propiedades que no se reproducen a ningún otro sitio y en muchos casos no son iguales en el mismo lugar en momentos diferentes, de manera que son mucho más drásticos e impredecibles cuando existe contaminación de origen antropogénica.¹⁰ En este estudio solo se mencionan algunos de los efectos por metales pesados, dada la bioacumulación hallada en peces.

Por otra parte, las determinaciones realizadas permitieron conocer los niveles de biodisponibilidad ambiental por exposición a metales pesados en ambos ecosistemas. Se consideró que a pesar de que el cobre es un oligoelemento esencial para la biosfera, como elemento prostético de numerosas enzimas, y puede servir como cofactor para la activación enzimática, sobre todo de las enzimas asociadas con el metabolismo oxidativo, su mayor impacto medioambiental ocurre precisamente en los ecosistemas acuáticos.^{11, 12} En peces han sido descritas lesiones morfológicas en los órganos sensoriales y olfativos, inducidas por Cu; asimismo, se han observado cambios en las córneas, lo que sugiere un trastorno del sistema visual.

Este metal afecta a la actividad colinesterasa de los peces en el cerebro y músculo, de manera que disminuye su actividad y provoca un aumento en el contenido de acetilcolina en las terminaciones nerviosas, lo cual interrumpe la transmisión del impulso nervioso.¹³

Otros efectos negativos en peces debido a un exceso de cobre son el estrés oxidativo y los efectos nocivos sobre las branquias.¹⁴

La esencialidad del Zn se muestra en su actuación en un gran número de funciones fisiológicas, derivadas de su presencia como cofactor en más de 200 enzimas, lo que provoca que sus niveles en los tejidos animales sean muy similares.¹⁵ La toxicidad de este metal en los organismos acuáticos es mayor para valores bajos de pH, contenido de oxígeno disuelto y temperaturas elevadas. En estas condiciones se producen daños en las células epiteliales de las branquias, que pueden, incluso, ocasionar la muerte.

A nivel bioquímico, la intoxicación por Zn disminuye significativamente el contenido de glucógeno, proteína y lípidos en los tejidos, unido al descenso del valor calorífico, de modo que se afecta el valor nutritivo de los peces, donde el hígado es el tejido más dañado. Esta disminución en el contenido calorífico aumenta la tasa metabólica de los peces.¹⁶

El plomo, por su parte, es el metal tóxico más extendido y presente en casi todos los compartimentos ambientales. El envenenamiento subletal por este metal en vertebrados, se caracteriza por la aparición de fallos neurológicos, disfunción del riñón y anemia. Este bloquea la transmisión del impulso nervioso y la liberación de la acetilcolina. La anemia se produce como resultado de 2 efectos básicos: disminución de la longevidad de los glóbulos rojos e inhibición de numerosas enzimas que intervienen en la síntesis de hemoglobina. En este sentido, también inhibe el metabolismo de los nucleótidos de pirimidina, que causa una acumulación de Pb en los glóbulos rojos, así como efectos en el metabolismo del triptófano, que bloquea una de sus vías metabólicas. Induce la inhibición en la síntesis de proteínas y la reducción

reversible de los ácidos desoxirribonucleico (ADN) y ribonucleico (ARN) en cultivos celulares.

Al respecto, han sido descritos efectos sobre diversas enzimas como la disminución de la actividad de la ATPasa a nivel de la membrana de los hematíes, riñón e hígado y se ha reseñado un marcado aumento de enzimas en el suero acompañando a lesiones hepáticas. Este elemento posee gran afinidad por las mitocondrias, donde inhibe la fosforilación oxidativa.¹⁷

En peces, el plomo tiene efectos sobre el oscurecimiento de las aletas y curvatura espinal; ambos procesos normalmente son reversibles, excepto en casos muy agudos. También se ha podido demostrar una disminución de la toxicidad del plomo al aumentar la dureza del agua en estos.¹⁸

Para el cadmio, el modo de acción se basa en la competición con otros metales, especialmente con Zn, Fe, Cu y Ca. Desplaza al primero de estos como cofactor de ciertas reacciones enzimáticas y dificulta sus funciones normales. Compite de forma activa con el Ca en los sistemas enzimáticos implicados en la contracción muscular, sobre todo en las fibras musculares lisas vasculares, y ejerce una acción competitiva con el hierro y el cobre como cofactor del sistema enzimático de las monoaminooxidasas, lo cual disminuye su actividad.

A pesar de ello, esta competición puede desempeñar una función preventiva frente a la intoxicación. Además, presenta gran afinidad por los grupos tiol, interfiere el metabolismo de los aminoácidos sulfurados y el funcionamiento de numerosas enzimas (ATPasas, deshidrogenasa y anhidrasa carbónica, por citar algunas). El Cd inhibe la fosforilación oxidativa en las mitocondrias, desacopla las reacciones redox y también puede inhibir la omegaoxidación de los ácidos grasos.

Por otra parte, este metal aumenta el catabolismo de ciertas proteínas como la seroalbúmina y disminuye el de aquellas que son reabsorbidas por las células del túbulo proximal del riñón, de modo que se comprueba la disminución de la síntesis de proteínas y anticuerpos *in vitro*. En consecuencia, altera diversos procesos metabólicos y perturba la maquinaria energética celular. La toxicidad aguda en organismos acuáticos es variable, incluso entre especies estrechamente emparentadas. Interacciona con el metabolismo del calcio y provoca hipocalcemia en los peces; asimismo, se han observado efectos subletales, como malformaciones en la espina dorsal. Las fases biológicas más susceptibles a los efectos tóxicos de este metal son el embrión y la larva joven; los huevos son menos vulnerables. El Zn aumenta la toxicidad del cadmio en los invertebrados acuáticos en los que se han observado efectos subletales en el crecimiento y la reproducción, así como modificaciones estructurales en las branquias.²

Finalmente, cabe destacar que el presente artículo se encuentra entre los primeros en Cuba y es el primero en Santiago de Cuba, que trata el problema relacionado con la exposición a metales pesados en las aguas del río San Juan.

Los niveles de metales pesados determinados en los órganos dianas de la especie biorreguladora *Gambusia punctata*, permitieron evaluar el estado de salud ambiental de este río, referido a biodisponibilidad y efectos acumulativos de estos contaminantes de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hopkins W, Tatara CP, Brant HA, Jagoe CH.. Relationships between mercury body concentrations, standard metabolic rate and body mass in eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) from three experimental populations. *Environ Toxicol Chem.* 2003; 22: 586-90.
2. Savino VM, Gabrielsen GW, Sabinova TN. 2003. Cadmium, zinc, copper, arsenic, selenium and mercury in seabirds from the Barents Sea: levels, inter-specif and geographical differences. *Sci Total Environ.* 2003; 306(1-3): 133-58.
3. Castañé PM, Topalián ML, Cordero RR, Salibián A. Influencia de la especiación de los metales pesados en el medio acuático como determinante de su toxicidad. *Rev Toxicol.* 2003; 20:13-8.
4. Dawson DC, Ballatori N. Membrane transporters as sites of action and routes of entry for toxic metals. En: Goyer RA, Cherian G. *Toxicology of metals.* Berlin: Springer-Verlag; 1995.p. 53-76.
5. Doyle CT, Hanjavanit C, Mulcahy MF. Squamous cell carcinoma in fish, *Scardinius erythrophthalmus*, in an area of high mortality from oesophageal carcinoma. *J Pathol.* 1998; 152: 232.
6. Van den Broek JL, Gledhill KS, Morgan DG. Heavy metal concentrations in the mosquito Fish, *Gambusia holbrooki*, in the Manly Lagoon Catchment. En: UTS freshwater ecology report. Sydney: Department of Environmental Sciences, University of Technology; 2002.
7. EPA (United States Environmental Protection Agency). National Recommended Water Quality Criteria. EPA-822-r-02-047. Washington, DC: Office of Science and Tecnology; 2002.
8. Fong GA, Garcés GG. La alimentación de la *Gambusia puncticulata poey*. En un habitat marino. Santiago de Cuba:Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO); 1997.
9. Jurado González JA. Distribución y comportamiento biogeoquímico de metales pesados en ecosistemas costeros singulares del golfo de Cádiz: Ría de Huelva y Bahía de Cádiz. Metodología analítica para el análisis de cadmio en agua de mar por AdCSV (Tesis doctoral). Universidad de Cádiz; 2003.
10. Seitz A. The concept of ecological stability applied to aquatic ecosystems. In: Hill IR, Heimbach F, Leeuwangh P, Matthiessen P. *Freshwater field tests for hazard assessment of chemicals.* Boca Raton: Lewis Publishers; 1994; 3-18.
11. Chang LW. *Toxicology of metals.* Boca Ratón: CRC Press; 1996.
12. Wright D, Welbourn P. *Environmental toxicology.* Cambridge: University Press; 2001.
13. Baatrup E. Structural and functional effects of heavy metals of the nervous systme, including sense organs of fish. *Comp Biochem Physiol.* 1991; 100(1-2): 253-7.

14. Grosell M, McDonald MD, Walsh PJ, Wood CM. Effects of prolonged exposure in the marine gulf toadfish (*Opsanus beta*) II: copper accumulation, drinking rate and Na⁺/K⁺-ATPase activity in osmoregulatory tissues. *Aquat Toxicol.* 2004; 68:263-75.
15. Baird C. *Environmental chemistry*. 2th. New York: WH Freeman; 2001.
16. Palaniappan PLR, Renju VB. FT-IR study of the effect of zinc exposure on the biochemical contents muscle of *Labeo rohita*. *Infrared Phys Technol.* 2009; 52(1): 37-41.
17. Ferrer A. Intoxicación por metales. *An Sist San Navarra.* 2003; 26:141-53.
18. Crompton TR. *Toxicants in aqueous ecosystems*. Chichester (England): John Wiley-Sons; 1997.

Recibido: 1 de marzo de 2012.

Aprobado:

George Argota Pérez. Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED). Autopista Nacional, km 1 ½, Santiago de Cuba, Cuba. Correo electrónico: george@toxi.scu.sld.cu