Universidad de Alcalá
COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO

ACTA DE EVALUACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Año académico 2016/17

DOCTORANDO: **RIZO PASCUAL, JUANA Mª**

PROGRAMA DE DOCTORADO: **D420 CIENCIAS DE LA SALUD**
DEPARTAMENTO DE: **MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS**
TITULACIÓN DE DOCTOR EN: **DOCTOR/A POR LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

En el día de hoy 06/09/17, reunido el tribunal de evaluación nombrado por la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado de la Universidad y constituido por los miembros que suscriben la presente Acta, el aspirante defendió su Tesis Doctoral, elaborada bajo la dirección de ALFONSO CAÑETE DÍAZ // JOSÉ Mª RIESCO LÓPEZ.

Sobre el siguiente tema: *ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN DIETÉTICA AL ARSÉNICO INORGÁNICO EN POBLACIÓN INFANTIL CELÍACA*

Finalizada la defensa y discusión de la tesis, el tribunal acordó otorgar la CALIFICACIÓN GLOBAL[4] de (**no apto**, **aprobado, notable** y **sobresaliente**): SOBRESALIENTE

Alcalá de Henares, 6 de Septiembre de 2017

EL PRESIDENTE — Fdo.: A. ALFELOT

EL SECRETARIO — Fdo.: M. ISABEL POLANCO

EL VOCAL — Fdo.: ÁNGEL CARBONELL

Con fecha 14 de septiembre de 2017 la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado, a la vista de los votos emitidos de manera anónima por el tribunal que ha juzgado la tesis, resuelve:

- [x] Conceder la Mención de "Cum Laude"
- [ ] No conceder la Mención de "Cum Laude"

La Secretaria de la Comisión Delegada

FIRMA DEL ALUMNO,

Fdo.: Juana M. Rizo

[4] La calificación podrá ser "**no apto**" "**aprobado**" "**notable**" y "**sobresaliente**". El tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude" si la calificación global es de sobresaliente y se emite en tal sentido el voto secreto positivo por unanimidad.

INCIDENCIAS / OBSERVACIONES:

Universidad de Alcalá
COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES
DE POSGRADO Y DOCTORADO

En aplicación del art. 14.7 del RD. 99/2011 y el art. 14 del Reglamento de Elaboración, Autorización y Defensa de la Tesis Doctoral, la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado, en sesión pública de fecha 14 de septiembre, procedió al escrutinio de los votos emitidos por los miembros del tribunal de la tesis defendida por *RIZO PASCUAL, JUANA Mª*, el día 6 de septiembre de 2017, titulada *ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN DIETÉTICA AL ARSÉNICO INORGÁNICO EN POBLACIÓN INFANTIL CELÍACA*, para determinar, si a la misma, se le concede la mención "cum laude", arrojando como resultado el voto favorable de todos los miembros del tribunal.

Por lo tanto, la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado **resuelve otorgar** a dicha tesis la

MENCIÓN "CUM LAUDE"

Alcalá de Henares, 21 de septiembre de 2017
EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ESTUDIOS
OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO

Firmado digitalmente por
VELASCO PEREZ JUAN
RAMON - DNI 03087239H
Fecha: 2017.09.22
11:17:06 +02'00'

Juan Ramón Velasco Pérez

Copia por e-mail a:
Doctorando: RIZO PASCUAL, JUANA Mª
Secretario del Tribunal: ISABEL POLANCO ALLUÉ.
Directores de Tesis: ALFONSO CAÑETE DÍAZ // JOSÉ Mª RIESCO LÓPEZ

Universidad de Alcalá

ESCUELA DE DOCTORADO
Servicio de Estudios Oficiales de Posgrado

DILIGENCIA DE DEPÓSITO DE TESIS.

Comprobado que el expediente académico de D./Dª JUANA Mª.RIZO PASCUAL reúne los requisitos exigidos para la presentación de la Tesis, de acuerdo a la normativa vigente, y habiendo presentado la misma en formato: ☐ soporte electrónico ☒ impreso en papel, para el depósito de la misma, en el Servicio de Estudios Oficiales de Posgrado, con el nº de páginas: 164 se procede, con fecha de hoy a registrar el depósito de la tesis.

Alcalá de Henares a 21 de ABRIL de 2017

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ SERVICIO DE ESTUDIOS OFICIALES DE POSGRADO

Aurora Juárez Abril

Fdo. El Funcionario

Universidad de Alcalá

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN DIETÉTICA AL ARSÉNICO INORGÁNICO EN POBLACIÓN INFANTIL CELÍACA

Tesis Doctoral presentada por

JUANA Mª RIZO PASCUAL

Directores:

DR. ALFONSO CAÑETE DÍAZ

DR. JOSÉ MARÍA RIESCO LÓPEZ

Alcalá de Henares, 2017

A Chema

A Julia y a Sergio

"Nada es veneno, todo es veneno: sólo depende de la dosis."

Paracelso (siglo XVI)

Universidad de Alcalá

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Campus Científico Tecnológico
Ctra. Madrid-Barcelona, km.33,600
28805 Alcalá de Henares (Madrid)
Teléfono: 918854533 – 4707 - 4790
e.mail: dpto.medesp@uah.es

D. Melchor Alvarez de Mon Soto, Director del Departamento de Medicina y Especialidades Médicas de la Universidad de Alcalá,

CERTIFICA: que el trabajo titulado "*ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN DIETÉTICA AL ARSÉNICO INORGÁNICO EN POBLACIÓN INFANTIL CELIACA*", ha sido realizado por *Dª Juana Mª Rizo Pascual,* en el Departamento de Medicina y Especialidades Médicas de la Universidad de Alcalá, y reúne los requisitos científicos de originalidad y rigor metodológicos suficientes para ser defendido en calidad de Tesis Doctoral ante el tribunal que corresponda.

Y para que así conste, expide y firma el presente certificado en Alcalá de Henares, a tres de abril de dos mil diecisiete.

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ - DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS

Los Dres. D. ALFONSO CAÑETE DÍAZ, Jefe de Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Infanta Sofía y Profesor Titular de la Universidad Europea y D. JOSE MARÍA RIESCO LÓPEZ, Facultativo Especialista de Área de Aparato Digestivo del Hospital Universitario del Sureste y Profesor Colaborador Clínico de la Universidad Europea, en el cumplimiento del Real Decreto 99/2011, de 28 de enero (BOE, 10 de febrero de 2011), que regula las enseñanzas oficiales de doctorado y establece las normas básicas que deben regular el desarrollo y defensa de las tesis doctorales; y de acuerdo al reglamento de la Universidad de Alcalá, para la elaboración, autorización y defensa de la tesis doctoral, modificado en sesión ordinaria de Consejo de Gobierno el 28 de septiembre de 2016:

CERTIFICAN

Que la Tesis titulada **"Estimación de la exposición dietética al Arsénico inorgánico en población infantil celíaca"**, realizada por Dª. Juana Mª Rizo Pascual bajo nuestra dirección, cumple los requisitos científicos establecidos de originalidad y rigor metodológicos y **autorizan** su presentación para su defensa ante un tribunal.

Alcalá de Henares, 30 de marzo de 2017.

Fdo. Dr. D. Alfonso Cañete Díaz

Fdo. Dr. D. José María Riesco López

AGRADECIMIENTOS

A todos los que habéis hecho posible esta tesis, porque también es vuestra.

A mis compañeros, por las facilidades, la comprensión y el apoyo. A todo el personal del Hospital Universitario Infanta Sofía que ha colaborado, desde extracciones, las enfermeras de la consulta, hasta el personal del laboratorio. En especial gracias a Rosa y a Ana, porque me han empujado y centrado en muchas ocasiones.

A todos los que me han ayudado en el diseño, a Miguel de la Fuente de Demométrica, y a Rosa Mª Ortega Anta. A Ángel Carbonell por reforzar mi interés por la investigación y por este tema en concreto. A la unidad de estadística de la Universidad Europea, por el asesoramiento y por el esfuerzo in extremis.

A las Asociaciones de Celiacos, en especial a Nacho Serrano, y a todos los participantes en las distintas partes del estudio. A sus familias. Sin ellos no habría sido posible. Gracias por el interés en el estudio.

Gracias a Alfonso, por el apoyo desde el primer momento, la confianza, las recomendaciones siempre oportunas y el optimismo, además de las gestiones.

A mis amigas por entender el “modo avión” y seguir a pesar de todo ahí.

A Pepe, por la paciencia y las correcciones como sólo un buen y experimentado docente sabe hacer, un aliento desde antes de empezar. A Tere por su preocupación en el buen sentido, desde el cariño. A Juan Fran por los intensivos claves y la disposición.

A mi hermana, porque soy como soy en parte gracias a ella.

A mis padres, por todo: las horas regaladas, las facilidades para lo cotidiano, la logística, el cariño, la comprensión. Por todo eso que no se ve, por tanto amor, gracias.

A mis hijos, porque me habéis dado la fuerza para completar este proyecto. Por vuestra alegría y vuestro amor incondicional.

A Chema, por el camino compartido y el que nos queda, por cuidarme, porque me complementas y me haces ser mejor. Eres mi apoyo fundamental.

Glosario, abreviaturas y acrónimos

AB	Arsenobetaína
AECOSAN	Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición
As	Arsénico
As-i	Arsénico inorgánico
As III	Arsenito
As-t	Arsénico total
As V	Arsenato
ATSDR	Agencia para las Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades
BMDL	Benchmark Dose
BOE	Boletín Oficial del Estado
CFC	Cuestionario de Frecuencia de Consumo
COTAM	Comisión Técnica Científica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria
DD	Dieta Duplicada
DMA	Ácido Dimetilarsínico
DMA III	Ácido Dimetilarsenioso
DMAB	Dimetilarsenobetaína
DSG	Desviación estándar
DSG	Dieta sin gluten
DMA V	Arsenato de dimetilo
EC	Enfermedad celíaca
ECC	Estudio de Cesta de la Compra
EDT	Estudio de Dieta Total
EFSA	European Food Safety Authority
ENALIA	Encuesta Nacional de Alimentación en Población Infantil y Adolescente
FACE	Federación de Asociaciones de celíacos de España
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	Food and Drug Adminsitration
FI-HG-AAS	Espectrometría de absorción atómica acoplada a generación de hidruros mediante inyección de flujo
H3BO3	Ácido Bórico
HLA	Human Leukocyte Antygen
HG-AAS	Espectrometría de absorción atómica acoplada a generación de hidruros
HPLC-ICP-MS	Espectrometría de masa de plasma acoplada inductivamente y cromatografía de alta resolución líquida
IMC	Índice de Masa Corporal
IARC	Agencia Internacional para el estudio del Cáncer
JEFCA	Comité Mixto FAO-OMS de expertos en aditivos y contaminantes alimentarios (Joint Expert Commitee on Food Aditives)
LI	Límite inferior
LM	Límite intermedio
LS	Límite superior

µg/kg p.c/d	Microgramo por kilogramo de peso corporal y día
MAPAMA	Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente
MMA	Ácido monometilarsónico
MMA III	Ácido monometilarsenioso
MOE	Margen de exposición
NaBH4	Sodio Boro Hidruro
NAHNES	National Health and Nutrition Examination Survey
Ns	No significativo
OMS	Organización Mundial de la Salud
RIQ	Rango Intercuartílico
PTWI	Ingesta Semanal Tolerable Provisional
SEGHNP	Sociedad Española de Gastroenterología Hepatología y Nutrición Pediátrica
TMAO	Óxido de trimetilarsina
UE	Unión Europea

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Formulación del problema

El arsénico se presenta de forma natural en bajas concentraciones en el medio ambiente (plantas, aguas subterráneas o suelo), así como en productos manufacturados utilizados habitualmente en agricultura (insecticidas o herbicidas) o sustancias diseñadas para la preservación de madera (actualmente prohibidas en la Unión Europea)(Hughes y cols., 2011) .

El arsénico inorgánico (As-i) es un tóxico con potenciales efectos adversos carcinogénicos (IARC 2009), teratogénicos y neurológicos, que se relaciona con la aparición de lesiones cutáneas, enfermedades cardiovasculares y alteración del metabolismo de la glucosa, entre otros efectos nocivos (European Food Safety Authority - EFSA- 2009).

La fuente dietética con mayor cantidad de As en España y en Europa es el arroz y sus derivados (EFSA, 2014).

La población infantil está más expuesta a la ingesta de As-i, dado que tiene una mayor ingesta en relación con el peso corporal (EFSA, 2014)(Hojsak y cols., 2015). En concreto la población celíaca es considerada de más riesgo, puesto que, al eliminar el gluten de sus dietas, pueden emplear derivados de arroz como sustitutos.

La Unión Europea en 2015 ha legislado de manera provisional los límites máximos de arroz, con especial consideración al arroz destinado a la elaboración de alimentos de lactantes y niños de corta edad. Así mismo insta a los países miembros a recabar todo el conocimiento científico disponible antes de enero de 2018 (Reglamento de la UE 2015/1006 y Recomendación de la UE 2015/1381).

1.2 Recorrido histórico del problema y legislación actual

El interés sobre el contenido de arsénico en la dieta no es reciente. A continuación se muestra un cronograma tanto de la estimación del riesgo como de la gestión de riesgo llevado a cabo por agencias nacionales, europeas e internacionales.

Tabla 1. *Recorrido histórico del problema (inspirado en http: //www.luciaredondo.com/arsenicoyarroz, consultado en enero de 2017)*

1989 **JECFA** **(FAO/OMS)**	Se establece una Ingesta Semanal Tolerable Provisional (PTWI) de 15 µg/kg peso corporal y día (µg/kg p.c/d).
2004 **UNION EUROPEA (UE)**	***Tarea SCOOP 3.2.11 "Valoración de la exposición al arsénico, cadmio, plomo y mercurio en la población de los estados miembros de la UE"*** Se identificó el pescado como la principal fuente de exposición dietética al arsénico para la población adulta media. Pero este estudio está centrado en arsénico total (As-t) y actualmente sabemos que el arsénico está presente en el pescado en sus formas orgánicas (menos tóxicas).
2009 **EFSA (UE)**	Recopila más de 100.000 determinaciones de arsénico en alimentos y agua (98% datos de As-t). Concluye que el valor de la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (PTWI) de 15 µg/kg p.c/ establecida por JECFA (1989) se encuentra desfasada. Identifica un rango de posibles exposiciones totales a la dieta de los estudios epidemiológicos claves ($BMDL_{01}$= 0,3-8 µg/kg peso corporal al día (kg p.c /d) y adoptó el enfoque del margen de exposición (MOE). Este margen de exposición supone que hay un 1% de riesgo para cáncer de pulmón, piel y vejiga así como lesiones en la piel si se superan estas dosis diarias.
2010 **JEFCA** **(FAO/OMS)**	Evaluación sobre arsénico en alimentos. La PTWI de 15 µg/kg p.c. (JECFA 1989) no es apropiada para proteger la salud. Establece que el $BMDL_{0.5}$ (margen de exposición donde hay un 0.5% de riesgo para el cáncer de pulmón) es de 2-7 µg/kg p.c/d.

	Señala la necesidad de: - Recopilar datos de arsénico y sus especies químicas en alimentos para refinar el cálculo de exposición. - Validación de métodos de análisis de las especies de arsénico. - Incorporación de medidas apropiadas para evaluar la exposición total al As-i en estudios epidemiológicos, incluyendo el aporte de los alimentos y del agua usada en el cocinado y en el procesado de alimentos.
2011-2016 **FDA**	Examina muestras en toda su geografía (EEUU) de As-i en arroz y otros alimentos.
2014 **EFSA**	***Informe de exposición dietética al arsénico inorgánico en la población europea.*** El grupo de alimentos que contiene cereales (distintos del arroz), en concreto el pan de trigo, es el que más contribuye a la exposición al As-i en la dieta, seguido del arroz, la leche y derivados lácteos, y el agua del grifo. El arroz contribuye a la exposición debido a su contenido relativamente alto de As-i y el resto del grupo de alimentos por su alto consumo en la dieta habitual. Los datos estudiados se refieren a la cantidad de As-t detectado en los alimentos en su mayoría, pero hacen estimación posterior del As-i. Exposición estimada en adultos: 0,14-0,64 µg/kg p.c/d. Exposición estimada en niños: 0,36 – 2,09 µg/kg p.c/d.
2015 **UE**	***Reglamento (UE) 2015/1006 (CE) nº 1881/2006*** en cuanto al contenido máximo de As-i que deben contener los productos alimenticios. A partir del 1 de enero de 2016 se establecen por primera vez en Europa los límites máximos de As-i del arroz y sus derivados (µg/kg de producto) que se exponen en la siguiente tabla

<table>
<tr><td></td><td>
<table>
<tr><td>«3.5</td><td>Arsénico (inorgánico) (50) (51)</td><td></td></tr>
<tr><td>3.5.1</td><td>Arroz elaborado (arroz pulido o blanco), no sancochado</td><td>0,20 200 µg/kg</td></tr>
<tr><td>3.5.2</td><td>Arroz sancochado y arroz descascarado</td><td>0,25 250 µg/kg</td></tr>
<tr><td>3.5.3</td><td>Tortitas, obleas, galletitas y pasteles de arroz</td><td>0,30 300 µg/kg</td></tr>
<tr><td>3.5.4</td><td>Arroz destinado a la producción de alimentos para lactantes y niños de corta edad (3)</td><td>0,10» 100 µg/kg</td></tr>
</table>
</td></tr>
<tr><td>2015

Suecia</td><td>Swedish National Food Agency

Recomiendan que no se den tortitas de arroz ni bebida de arroz a niños menores de 6 años y recomiendan consumo de arroz menos de 4 veces a la semana.</td></tr>
<tr><td>2015

Cataluña</td><td>Contaminantes químicos. Estudio de dieta total en Cataluña.

Estudia arsénico total e inorgánico. Estiman una ingesta de As-i en adultos de 2,56-4,42 µg/día, procediendo la mayoría del grupo pan y cereales. En niños estiman una ingesta de 3,37 µg/día (0,14 µg/kg p.c/d), varones adolescentes de 4,12 µg/día (0,074 µg/kg p.c/d) y mujeres adolescentes de 3,23 µg/día (0,061 µg/kg/día).

Comparan sus resultados con el estudio ENIDE a nivel nacional y con otros estudios a nivel mundial.</td></tr>
<tr><td>2016

Reino Unido</td><td>Aconsejan que los bebés y niños (hasta los 4,5 años) no consuman bebidas de arroz.</td></tr>
<tr><td>2016

FDA

(Food & Drug Administration)</td><td>“Arsenic in rice and rice products risk assessment report”

Establecen una estimación de la incidencia de cáncer (de vejiga y de pulmón) secundaria a exposición crónica al As-i procedente del arroz y derivados.

Incidencia: 10 casos/10^6 habitantes para cáncer de vejiga y 29 casos/10^6 habitantes para el de pulmón.
Propone un nivel (no vinculante) para el arroz destinado a productos infantiles de 100 µg/kg. En población general señala que un límite de 150 µg/kg puede reducir el riesgo de cáncer entre 0-23%, el límite de 100 µg/kg entre 2-47% y si el límite fuera de 75 µg/kg se reduciría entre 17-79%.</td></tr>
</table>

En el punto 6 de la regulación actual vigente en Europa (Reglamento UE 2015/1006) de la Comisión del 25 de junio de 2015 se cita textualmente "La información científica sobre la necesidad de establecer el contenido máximo en el arroz elaborado sancochado es muy reciente. Por este motivo, los Estados miembros deben recoger datos adicionales antes del 1 de enero de 2018 sobre el contenido de arsénico inorgánico de este producto, a fin de confirmar la necesidad de establecer un contenido máximo específico y reevaluar el límite máximo".

En el momento actual y siguiendo las recomendaciones de EFSA para recopilar más información sobre la presencia de arsénico y sus diferentes formas químicas en los alimentos que más contribuyen a la exposición, se ha establecido un programa a nivel europeo que abarcará los años 2016, 2017 y 2018 mediante la Recomendación (UE) 2015/1381 de la Comisión, de 10 de agosto de 2015, sobre el control del arsénico en los alimentos.

Por otra parte, a nivel del Codex Alimentarius se está trabando de forma paralela a la UE de cara a establecer límites máximos de arsénico en arroz desde el año 2010, con unos límites provisionales en vigor en Europa desde enero de 2016 y con unas recomendaciones en Estados Unidos.

Además, está en desarrollo un código de prácticas para la prevención y reducción de arsénico en el arroz, que será clave para los países productores de este cereal.

Según expertos en la materia, como el Dr. Ángel Carbonell (Universidad Miguel Hernández, Alicante) o el Dr. Meharg (Queen´s University, Belfast) los niveles pueden ser todavía elevados, y un nivel de 100 µg/kg de producto sería más seguro, sobre todo en población más susceptible a su exposición como el colectivo celíaco.

En este contexto nacional y europeo surge nuestro interés y estudio sobre una población especialmente expuesta (los niños celíacos), queriendo valorar si estos límites provisionales son seguros en este grupo poblacional.

1.3 El arsénico

1.3.1 El arsénico en la naturaleza

Los compuestos arsenicales pueden ser clasificados en 3 grupos principales: inorgánicos, orgánicos y gaseosos, siendo las formas inorgánicas más tóxicas que las orgánicas. De hecho, a la hora de valorar la toxicidad relativa de un compuesto arsenical se debe tener en cuenta si es un compuesto orgánico o inorgánico, su valencia, su solubilidad, su estado físico y pureza, así como sus porcentajes de absorción y eliminación.

En general los compuestos arsenicales se pueden clasificar de mayor a menor toxicidad en: gas arsina, compuestos trivalentes inorgánicos, compuestos trivalentes orgánicos, compuestos pentavalentes inorgánicos, compuestos pentavalentes orgánicos y As elemental, con la excepción de los compuestos metilados: ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsínico (DMA), compuestos que en sus formas trivalentes son más tóxicos que los compuestos inorgánicos trivalentes. Estudios en vivo han demostrado efectos secundarios, tras la administración oral, en vejiga, riñón, tiroides y desarrollo fetal para el DMA, y para el aparato digestivo, riñón, tiroides y sistema reproductor para el MMA (US FDA 2016)(US FDA 2016). Los datos en humanos no son concluyentes o lo que están clasificadas las formas metiladas como posiblemente carcinogénicas (GRUPO 2B) (IARC 2012).

En el medio ambiente el arsénico se encuentra generalmente en su forma pentavalente (As (V)) y trivalente (As (III)), ambos en forma inorgánica y orgánica. En agua subterránea predominan generalmente las formas inorgánicas de As (III) y As (V), siendo excepcionales las formas orgánicas dado que son fruto de actividad biológica.

Especies arsenicales orgánicas (combinadas con carbono e hidrógeno) como la arsenobetaína y distintos arsenoazúcares son las formas más frecuentes en los animales marinos (pescados, moluscos y crustáceos), mientras que en los alimentos de origen terrestre son de nuevo las formas inorgánicas (ambas As (III) y As (V)) las especies arsenicales metiladas simples (metilarsonato, metilarseniato y DMA). El arsénico entra en contacto con la comida a través de agua y terreno contaminado (Francesconi, 2005).

1.3.2 El arsénico en el cuerpo humano: absorción, metabolismo y excreción

1.3.2.1 Absorción del arsénico

El As-i se absorbe por todas las vías (digestiva, cutánea y pulmonar) y los compuestos orgánicos se absorben mejor que los inorgánicos. Tanto el As (III) y As (V) se absorben de forma masiva desde el tracto gastrointestinal. El As-i se elimina por el riñón y se sabe que tiene capacidad para traspasar la barrera transplacentaria (TSENG, 2007).

El arsénico en alimentos se une a grupos tiol de péptidos y proteínas. Probablemente su absorción sea menor (Cubadda y cols., 2017) dependiendo del tipo de alimento, concentración de FE $^{3+}$, de otros nutrientes o de la presencia de otros alimentos.

Sin embargo, existen datos controvertidos, y en muchas ocasiones se considera que el As-i procedente tanto de la dieta como del agua, contribuye de igual modo a la ingesta total (EFSA 2009).

A continuación se muestra una tabla modificada de Cubadda y colaboradores (2017), donde se analiza el porcentaje de bioaccesibilidad in vitro.

***Tabla 2**. Estudios de bioaccesibilidad in vitro en arroz (modificado de Cubadda y cols., 2017)*

Tipo de comida	Características específicas	Condición	% As-i solubilizado[a]	Referencia
Arroz	8 tipo de variedades diferentes	Cocinado	>90% (63-99)[b]	Laparra y cols. 2005
Arroz	Grano largo (3), extralargo (2), grano largo vaporizado 6), integral(7)	Cocinado	80(53-102)[c]	He y cols.2012
Arroz	Arroz blanco de grano largo vaporizado y no vaporizado	Cocinado	89 (64-99)[d]	Signes-Pastor y cols.2012
Arroz	Pulido, Basmati, vaporizado	Cocinado	80(78-81)	Alava y cols. 2013

[a] Media (min-máx.).
[b] El % de As-i fue del 80 % en arroz cocido.
[c] As-t (El As-i es el 52% del total solubilizado). El As en el arroz integral fue en general, menos bioaccesible.
[d] Resumen de las 2 concentraciones más elevadas de As en agua de cocción (el As en el arroz se asume que es principalmente As-i).

1.3.2.2 Metabolismo y eliminación del arsénico

El metabolismo del As en el cuerpo humano se lleva a cabo en dos fases: en un primer momento se reducen las especies pentavalentes a nivel celular a formas trivalentes, produciéndose compuestos de mayor toxicidad a los de su formulación original y a continuación la mayor parte del As III se distribuye por los tejidos y se transforma en MMA III y DMA III, mediante adición de uno o dos grupos metilo, respectivamente (Vahter 2001; Vahter 2002). El hígado es el principal órgano metilador aunque puede realizarse en distintos tejidos. Estos compuestos son rápidamente excretados por la orina, así como el compuesto orgánico final arsenobetaína, que se excreta de forma inalterada. Aunque el DMA es el principal metabolito del As-i, es también un metabolito de arsenoazúcares y arsenolípidos (Lai 2004).

Se estima que el As-i se elimina en un 10-30% como As-i, en un 10-20% como MMA y en un 60-80% como DMA (EFSA 2009). La suma de As-i y sus metabolitos, refleja la exposición procedente de todas las fuentes, no sólo la dietética. Pero si consideramos que no existe riesgo de contaminación ambiental (por aire o por tabaco) podríamos equiparar la excreción en orina con la ingesta, sabiendo que sobre todo el DMA puede verse afectado como se ha comentado previamente, por la ingesta de pescado y marisco.

Se ha relacionado una mayor excreción de MMA con una mayor prevalencia de cáncer de vejiga y de piel, así como otros efectos indeseables cutáneos, cardiovasculares y con alteraciones cromosómicas. Probablemente, una mayor excreción de MMA en orina sea consecuencia de una menor capacidad de metilación a DMA y a una mayor retención de arsénico en el organismo (Vahter y cols., 2007).

Este metabolismo difiere entre especies, razas e individuos; también se ha visto que el metabolismo es distinto en niños y en adultos (Löveborn y cols., 2012; Shen y cols., 2016).

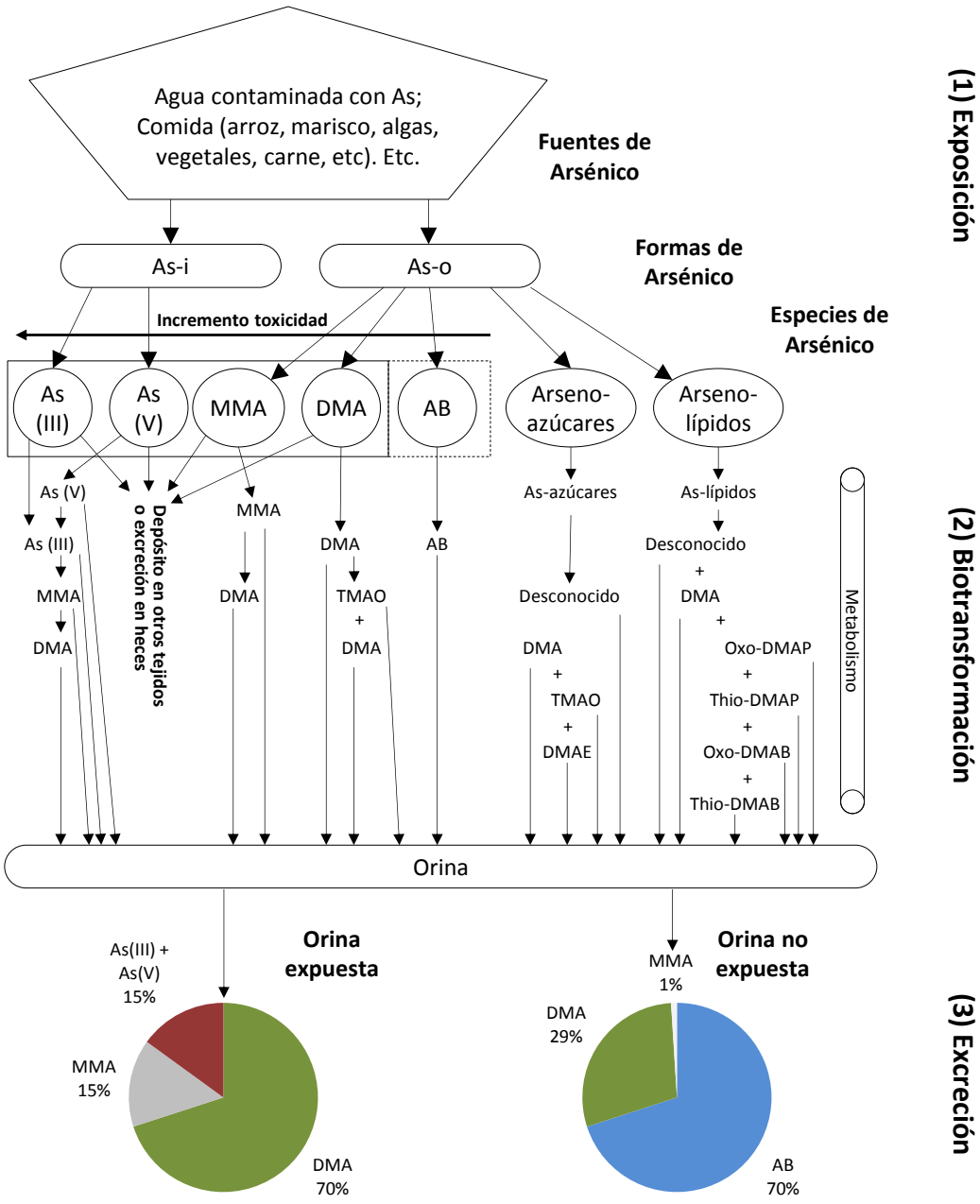
Recientemente se ha realizado una revisión sistemática en la que se evidencian una serie de factores que dificultan la metilación y por tanto pueden resultar más nocivos para la salud en este sentido: el consumo de tabaco, la edad avanzada y dosis elevadas de exposición; por el contrario se han descrito otros factores considerados protectores que favorecerían dicho proceso metilador: el ácido fólico, la cobalamina, un adecuado estado

nutricional o el sexo femenino (Hall y cols., 2007; Melkonian y cols., 2013; Shen y cols., 2016).

El arsénico no eliminado se acumula en tejidos ricos en queratina, por lo que el pelo y las uñas son empleados para su determinación en relación a una exposición pasada (en torno a un año), pudiendo detectarse a las 30 horas post-exposición. Por el contrario, el arsénico en sangre (debido a su rápido metabolismo y corta vida media de 10 horas) sólo permite detectar intoxicaciones agudas; por último, la determinación de arsénico en orina y sus metabolitos arsenicales son típicamente empleados para el estudio de una exposición reciente (no aguda) ya que tarda en eliminarse entre 4 y 5 días por esta vía (ATSDR 2007).

La siguiente figura, modificada de Brima y colaboradores (2006), es un excelente resumen del mecanismo de absorción, metabolismo y eliminación del arsénico.

***Gráfico 1**. Metabolismo del As-i en el cuerpo humano (modificado de Brima y cols., 2016)*



As-i: Arsénico inorgánico; As-o: Arsénico orgánico; MMA: Ácido monometilarsonico DMA: Ácido Dimetilarsínico; AB: Arsenobetaína; TMAO: Oxido de trimetilarsina; DMAE:Dimetilarsenoiletanol; Oxo/ Thio-DMAP: Ácido oxo/tio- dimetelilarsenopopanóico; Oxo/thio-DMAB: Ácido oxo/tio-dimetilarsenobutanóico;

1.3.3 Efectos tóxicos de la exposición crónica al arsénico

Las alteraciones dérmicas son de los primeros signos derivados de la exposición crónica al As-i: en primer lugar suele presentarse hiperpigmentación difusa o aislada, seguida de hiperqueratosis palmo-plantar después de 6 a 13 meses de ingestas de dosis altas de arsénico (0,04 mg/kg p.c /d) o de 5 a 15 años de dosis bajas (0,01 mg/kg p.c /d).

Sin embargo, la principal preocupación sobre la exposición al As-i se debe a que es un potente agente tóxico y carcinogénico (ATSDR 2007, IARC 2012, EFSA 2014), siendo considerado por la Agencia Internacional para el estudio del cáncer (IARC) como "carcinogénico para los humanos" (grupo 1). Esta organización también ha clasificado el DMA y el MMA como posible carcinogénico (grupo 2B) y la arsenobetaína y otros compuestos orgánicos no metabolizados en humanos como no clasificables; la preocupación en este sentido es creciente durante los últimos ya que algunos estudios han demostrado toxicidad in vitro e incluso se ha demostrado que el propio tracto digestivo humano produce arsenoazúcares tiolados que son reabsorbidos inmediatamente (Carlin y cols., 2016; Chávez-Capilla y cols., 2016; Taylor y cols., 2017).

Como se ha referido con anterioridad, el As-i se ha relacionado con la aparición en población adulta de cáncer de pulmón, de piel y de vejiga así como de lesiones cutáneas.

La Comisión Técnica Científica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (COTAM) establece un límite de confianza inferior de la dosis de referencia ($BMDL_{01}$) situado entre 0,3 y 8 µg/kg de peso corporal al día para los cánceres de pulmón, piel y vejiga, también para las lesiones cutáneas, así como un límite de confianza inferior a la dosis de referencia que incrementa 0.5 % de cáncer de pulmón ($BMDL_{0.5}$) de 3 µg/kg peso/día (EFSA 2009, EFSA 2014).

Además, el As-i puede estar relacionado con la aparición de enfermedades cardiovasculares (Alamolhodaei y cols., 2015) y diabetes en adultos (no en adolescentes) (Peng y cols., 2015). Un documento realizado por el Nacional Research Council (2014) pone de manifiesto efectos adversos durante el embarazo para el feto, así como en su neurodesarrollo posterior (Council 2014, Tsuji y cols., 2015, FDA 2016).

Los mecanismos de lesión son de momento desconocidos. Por un lado se especula que el daño puede deberse a la inducción de estrés oxidativo, por mecanismos de genotoxicidad o modulación de la señal de traducción y apoptosis. Algunos estudios demuestran que la toxicidad produce un cambio epigenético, afectando a los telómeros ya desde el desarrollo prenatal, que induce un cambio en la expresión génica (Rojas y cols., 2015; Lee y Yu 2016; Borghini y cols., 2016).

El comité de expertos de Alimentos de la OMS (JECFA) concluye que la comida puede ser la principal fuente de exposición al arsénico en aquellos lugares donde el nivel de As-i en agua es < 10 µg/L; Kurzius-Spencer y colaboradores (2014) estiman que la dieta aporta 54-85% del total del As-i en estas regiones con menor contenido de As-i en agua.

1.3.4 Factores modificadores de la exposición al arsénico

1.3.4.1 Co-exposición

Sabemos que la exposición al As-i es compleja y que se puede ver influenciada por la exposición a otros contaminantes como el plomo, el cadmio o el fluoruro, siendo el resultado de la exposición variable según el efecto tóxico estudiado: en ocasiones es sinérgico y en ocasiones antagónico (Carlin y cols., 2016). En este punto, todavía queda un amplio campo de estudio, existiendo diferentes líneas de investigación para elaborar modelos de exposición agregada.

1.3.4.2 Preparación de los alimentos

Tanto el procesamiento de los alimentos como su preparación culinaria y cocinado afectan los niveles de As-i en la comida (Bundschuh y cols., 2012).

El descascarillado en los cereales reduce significativamente el contenido de arsénico en los alimentos. Por el contrario, los productos elaborados con grano completo o integral, aumentan su cantidad. También los alimentos manufacturados (como el arroz vaporizado o sancochado) tienen más cantidad de arsénico, dado que se elabora con el grano completo, previo a su eliminación.

En el ámbito doméstico influyen factores variados como el medio de cocción, fundamentalmente el agua o caldo empleado, y en concreto el contenido en arsénico del

mismo. El agua con menor cantidad de As-i restará en alimentos con mayor As-i y al revés (Cubadda y cols., 2017). Hay que tener en cuenta que estas prácticas culinarias también disminuyen el enriquecimiento de hierro, folato, tiamina y niacina (considerados protectores, como expondremos a continuación).

El empleo de sal afecta a la cantidad de arsénico, así como las técnicas de cocción: el pre-lavado, la cocción con abundante agua (descartándola posteriormente), disminuyen el As-i.

Sin embargo para otros alimentos como el bacalao desalado y otros productos marinos, la cocción en microondas o en aceite, disminuye su peso y aumenta la concentración de arsénico.

1.3.4.3 Factores protectores

Existe una estrecha correlación entre estado nutricional y toxicidad arsenical.

Basándonos en estudios epidemiológicos, se han identificado factores que podrían resultar protectores como el selenio, el folato, la homocisteína o la vitamina B12 (Hall y cols., 2009). Estos autores encuentran que la concentración en orina de MMA es inversamente proporcional al folato y directamente proporcional a la homocisteína.

Por el contrario, el porcentaje del DMA está directamente relacionado con los niveles plasmáticos de ácido fólico (Hata 2012).

Existen algunos estudios en los que se basan en suplementación con ácido fólico para disminuir la cantidad de As-i en sangre (Peters y cols., 2015)

Asimismo un peor estado nutricional o una dieta baja en proteínas pueden hacer al individuo más susceptible a presentar efectos nocivos secundarios a la exposición al As-i por empeorar su metabolismo (Vahter y cols., 2007).

1.4 El arroz

Aunque inicialmente la preocupación y el conocimiento de la toxicidad derivada del As-i provenía de poblaciones con agua contaminada, motivo por el que se reguló inicialmente sólo en agua la cantidad máxima de As-i, se ha evidenciado que la principal fuente de ingesta de As-i proviene del arroz (EFSA 2014, Kordas y cols., 2016).

El arroz y los productos derivados del arroz se identificaron como las principales fuentes de As-i, particularmente en el Sureste asiático, donde este producto es la principal fuente de alimento (IARC 2012, EFSA 2014). Existe una fuerte correlación entre la cantidad de As-i urinario y el consumo de arroz (Melkonian y cols., 2013; Meharg y cols., 2014).

En aquellos lugares donde el arsénico en agua es muy bajo, el arroz es, de lejos, la principal fuente de exposición al arsénico (Kippler y cols., 2016).

El arsénico como hemos visto es ubicuo, si bien la sistemática diseñada para el cultivo de arroz con campos anegados de agua favorecen un entorno anaerobio que moviliza el As-i al agua intersticial (Lu y cols., 2009), permitiendo que éste incorpore en su grano el As-i de una manera mucho más elevada que en otros cereales. Al contrario que otros alimentos, las especies arsenicales predominantes en el arroz son el As-i, así como el DMA (Lu y cols., 2009, EFSA 2009, Meharg y cols., 2014).

El contenido de As-i en arroz es muy variable, pero en general se encuentran en torno 100 -130 µg/kg de arroz, y hay que tener en cuenta que la proporción de As-i puede variar entre un 30 a un 90%, siendo el resto de la fracción predominantemente DMA (EFSA 2009, Cubadda y cols., 2017).

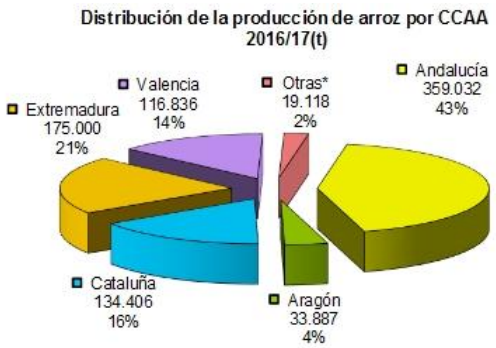
1.4.1 Producción y comercio de arroz en España

1.4.1.1 Superficies y producciones

En España se prevé para esta campaña (2016/17) una superficie de arroz cosechada de 109.411 hectáreas (siendo el 55% de variedad japónica y un 45% índica) según los datos

de Avances de superficies y producciones del Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). La distribución de la producción de arroz por comunidades autónomas se detalla en el gráfico 2.

Gráfico 2. *Producción de arroz en España distribuido por CCAA*



Fuente: Elaboración de la SGCHI a partir de datos de la S.G.T. (Avances de superficies y producciones julio 2016)

1.4.1.2 Comercio exterior

El comercio mundial de arroz se caracteriza por escasos excedentes nacionales y la existencia de un grupo limitado de países productores que lideran su comercio mundial (India, Paquistán, Tailandia, EEUU y Vietnam); de hecho, el 75% de su producción mundial se concentra exclusivamente en diez países.

España es una nación predominantemente exportadora de arroz con unas exportaciones medias en las últimas 5 campañas de 240.077 toneladas frente a unas importaciones de 79.449 toneladas; el 44% son de arroz elaborado. El 85% de las exportaciones se destinan a la UE siendo el 52% de arroz elaborado.

1.4.2 Consumo de arroz en España en población general

El consumo de arroz en la dieta de los hogares españoles, según los datos recogidos en el último año (Julio 2015- Julio 2016) se exponen en la tabla 3.

Tabla 3. *Consumo de arroz y derivados en España*

COMUNIDAD: Total nacional

PERIODO DESDE: 2015 - Julio - HASTA: 2016 - Julio

Datos de consumo

GRUPO DE PRODUCTOS: Arroz					
Producto	Volumen (miles de kg)	Valor (miles de €)	Precio medio kg	Consumo per capita	Gasto per capita
Arroz	185.661,40	278.799,28	1,50	4,16	6,24
Largo	27.868,42	22.291,77	0,80	0,65	0,49
Normal	95.377,81	91.729,64	0,96	2,14	2,06
Vaporizado	14.069,68	17.989,06	1,28	0,29	0,4
Platos preparados conserva arroz	5.803,20	34.130,48	5,88	0,13	0,75
Platos preparados congelado arroz	18.271,19	51.346,48	2,81	0,4	1,15
Platos preparados arroz resto	2.063,24	17.619,28	8,54	0,01	0,39
Otros tipos arroz	22.207,87	43.692,69	1,97	0,47	0,99

Consultado el 8 de febrero de 2017

http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/consulta.asp

1.4.3 Consumo de arroz, derivados y otros productos que influyen en la ingesta del As-i en población infantil española

Para conocer el consumo de los alimentos que más influyen en la ingesta de As-i en población infantil, utilizaremos como referencia la Encuesta Nacional de Alimentación de la población Infantil y Adolescente (ENALIA) desarrollada por la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) entre noviembre de 2012 y noviembre de 2015 (acorde a la metodología europea). La población de estudio es la población entre 6 meses y 17 años de todas las Comunidades Autónomas, y es una encuesta individual que conoce con exactitud el tipo de alimentos y las cantidades de consumo, lo que permite valorar la ingesta de nutrientes y la exposición a sustancias potencialmente peligrosas como la que nos ocupa.

Los datos completos están disponibles en la página web de la AECOSAN (AECOSAN 2016).

Se estima que el consumo medio de la población menor de 3 años es de 39,48 gr/día con un P95 de consumo de 82,54 g/día. Los niños entre 3 y 9 años consumen una media de 49,68 gr/d (P95: 104,2 g/día) y el grupo entre 10 y 18 años una media de 63,54 g/día (P95:106,21g/día).

1.4.4 El arsénico en el arroz de la península Ibérica

En un reciente estudio elaborado por Signes-Pastor y colaboradores (2016b) se analiza el arroz (tanto el procedente de los campos de cultivo como el comercial) consumido en la península ibérica. Encuentran que las principales especies arsenicales son el As-i y el DMA (coincidiendo con lo descrito previamente en la literatura) y confirman que el arroz integral tiene más cantidad de As-i que el blanco.

Entre los resultados destacan que un 26% de las muestras comercializadas superan el nivel permitido para el arroz destinado a la población infantil (no para el nivel de arroz blanco pulido). En la tabla 4, modificada de dicho artículo, se muestran sus principales resultados.

Tabla 4. *Determinación en arroz comercializado de la península ibérica de As-i, DMA y ΣAs (Modificada de Signes-Pastor y cols., 2016b)*

Tipo de Arroz	N	As-i (mg/kg)	DMA (mg/kg)	ΣAs especies
Integral	20	0.0157 (0.053-0.247)	0.084 (0.006-0.386)	0.302 (0.083-0.619)
Vaporizado	11	0.083 (0.022-0170)	0.079(0.015-0.237)	0.201(0.039-0.407)
Pulido	113	0.071(0.027-0.175	0.055(0.003-0.333)	0.143(0.037-0.433)
P valor		<0.001	0.461	0.001

1.4.5 El arroz y las poblaciones susceptibles

La EFSA (2014) consideró que la exposición alimentaria estimada al As-i que correspondía a un nivel de consumo medio o alto de arroz en Europa se situaba dentro del rango de valores del $BMDL_{01}$ establecido, por lo que el margen de exposición es reducido o inexistente y por tanto esto puede suponer un riesgo para algunos consumidores.

Este mismo organismo indica que la población infantil es más susceptible porque consume más arroz en general y más arroz por kg/p.c/día. A esto hay que añadir que el daño es crónico y acumulativo pudiendo comenzar en la infancia.

Se han encontrado niveles significativamente altos de As-i en productos realizados a base de arroz y destinados a población infantil, una población especialmente susceptible tanto por su grado de desarrollo, como por su mayor consumo en función de su peso corporal (Signes-Pastor y cols., 2016c).

Otra población considerada de riesgo es la celíaca, dado que al excluir el gluten de la dieta, existe una tendencia al mayor consumo de arroz y derivados del mismo. Se ha reportado un caso de intoxicación aguda pero secundaria a la dieta por arsénico en una paciente celíaca (Hasanato y Almomen 2015) y se han publicado dos estudios de estimación de ingesta en población celíaca adulta (Munera-Picazo y cols., 2014b) y pediátrica (Munera-Picazo y cols., 2014a), que se detallan posteriormente.

Recientemente (julio de 2015) se ha propuesto un límite máximo de As-i en el arroz blanco, en arroz vaporizado, tortitas, obleas y arroz destinado a alimentos infantiles, así como la cantidad admisible en productos destinados para bebés y niños de corta edad (Reglamento de la comisión europea 2015).

Se han publicado varios algoritmos que determinan el riesgo de patología secundaria a la exposición de arsénico en la infancia, el más reciente y completo es el publicado por la FDA en abril de 2016 (FDA 2016).

Este documento de la FDA indica que el riesgo de cáncer secundario a una exposición infantil al arsénico por consumo de arroz aumenta de manera proporcional por cada ración de arroz y con la frecuencia semanal de consumo de 0-6 años. En los gráficos 3 y 4, extraídos del citado documento (FDA 2016), podemos ver la relación lineal entre aumento

de riesgo y número de raciones semanales de arroz durante toda la infancia y con la restricción de 0 a 6 años.

Gráfico 3. *"Arsenic in Rice and Rice Products Risk assesment report." (FDA 2016) que correlaciona riesgo total de desarrollar cáncer tras exposición durante la infancia exclusivamente*

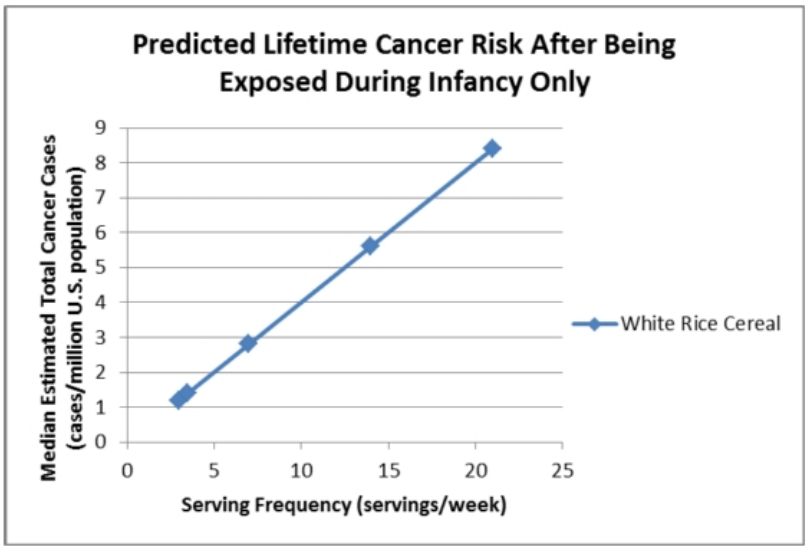
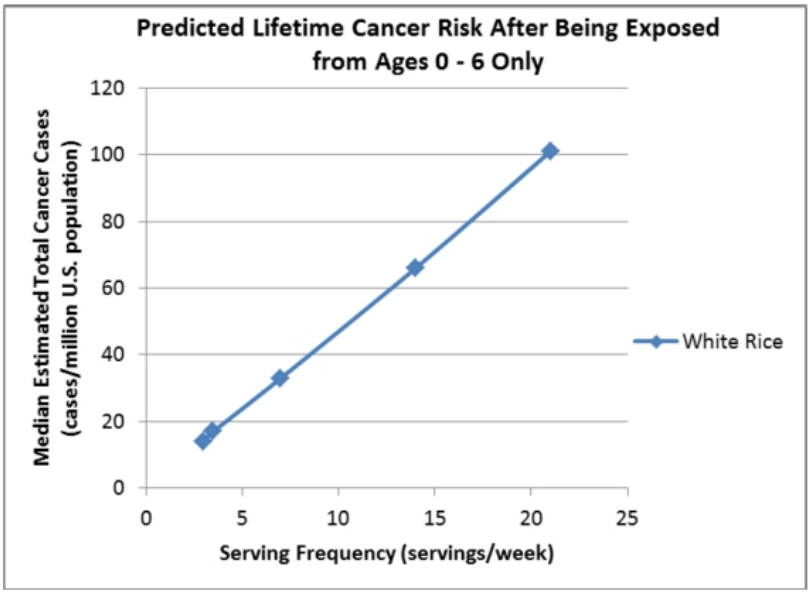


Gráfico 4. *"Arsenic in Rice and Rice Products Risk assesment report." (FDA 2016) que correlaciona riesgo total de desarrollar cáncer tras exposición durante los 6 primeros años de vida exclusivamente*



1.5 La enfermedad celíaca

1.5.1 Concepto y epidemiología

La enfermedad celíaca (EC) es una patología inmunomediada y sistémica que se desencadena por la ingesta de gluten en individuos genéticamente predispuestos (Husby y cols., 2011).

Los criterios diagnósticos se sustentan en 4 pilares:

1.- Manifestaciones clínicas que pueden ser digestivas (diarrea, fallo de medro o distensión abdominal) o extra-digestivas (ferropenia, cefaleas, trastornos del sueño y abortos de repetición entre otras), todas ellas relacionadas con la ingesta de gluten.

Si bien la gran mayoría de los pacientes diagnosticados manifiestan síntomas, hay un porcentaje cada vez mayor de personas asintomáticas que se detectan por cribado familiar o por padecer condiciones que se asocian a la enfermedad celíaca como el Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH), el déficit de IgA, procesos autoinmunes (diabetes tipo 1 y tiroiditis) o síndrome de Down, entre otros.

2.- Determinación de anticuerpos específicos: Anticuerpos antitrasglutaminasa tisular, anticuerpos antiendomisio y anticuerpos frente al péptido deaminado de la gliadina (estos últimos sobre todo en menores de dos años).

3.- Genética predisponente: HLA-DQ2 y/o DQ8.

4.- Enteropatía detectada mediante biopsia intestinal (bulbo y/o segunda porción duodenal) que muestra un grado de lesión variable, desde el más leve e inespecífico (grado I de la clasificación de Marsh) hasta el grado IV o atrofia total vellositaria.

Evolutivamente la retirada del gluten y sus prolaminas de la dieta supone una mejoría clínica, una negativización progresiva de los anticuerpos así como una normalización de la arquitectura intestinal.

Un estudio realizado en España por el grupo de Cilleruelo (Cilleruelo y cols., 2014) determinan una incidencia total de 7,9 casos de EC por cada 1.000 nacidos vivos y de 54

casos por cada 100.000 personas-año, con una mediana de edad al diagnóstico de 2,3 años y más de la mitad con un estatus nutricional adecuado.

Actualmente se considera posible el diagnóstico sin biopsia en pacientes pediátricos que cumplan 3 de los 4 criterios arriba mencionados (síntomas característicos de EC, anticuerpos antitrasglutaminasa > 10 veces el valor normal del laboratorio con anticuerpos antiendomisio positivos y con HLA de riesgo para EC).

1.5.2 Características de la dieta de la población celíaca

La dieta recomendada en la actualidad para la población celíaca es una dieta exenta de gluten (DSG) de por vida.

El gluten se encuentra de manera natural en el trigo, la cebada, la avena así como el kamut y el triticale, entre otros, así como en sus derivados.

En la tabla 5 (modificada de Penagini y cols., 2013) se clasifican los cereales y otros alimentos en función de su contenido de gluten.

La dieta de la población infantil celíaca en España sigue un patrón similar al de la dieta de población infantil general. Los niños celíacos tienen un menor consumo de alimentos constituidos por cereales como es el caso del pan (Marugán de Miguelsanz y Alonso Vicente 2015). Analíticamente se ha encontrado un déficit de vitamina D, Zinc, así como una dieta rica en grasas y deficiente en fibra. Estos hallazgos concuerdan con los desequilibrios en la población general pediátrica, con la salvedad de que los celíacos tienen mayor consumo de ácidos grasos saturados (Salazar Quero y cols., 2015).

Respecto a los niveles de vitamina B12 y ácido fólico citados en la literatura son bastante variables, con un déficit reportado de vitamina B12 de entre un 11-41% y de ácido fólico entre un 4,7-31%; sin embargo otras publicaciones indican que pueden no tener déficits vitamínicos. En dos estudios realizados en población infantil celíaca española, no encuentran diferencias significativas entre ingesta diaria de vitamina B12 y ácido fólico.

Los déficits nutricionales en adultos se mantienen en general estables durante toda la duración de la dieta sin gluten (Shepherd y Gibson 2013).

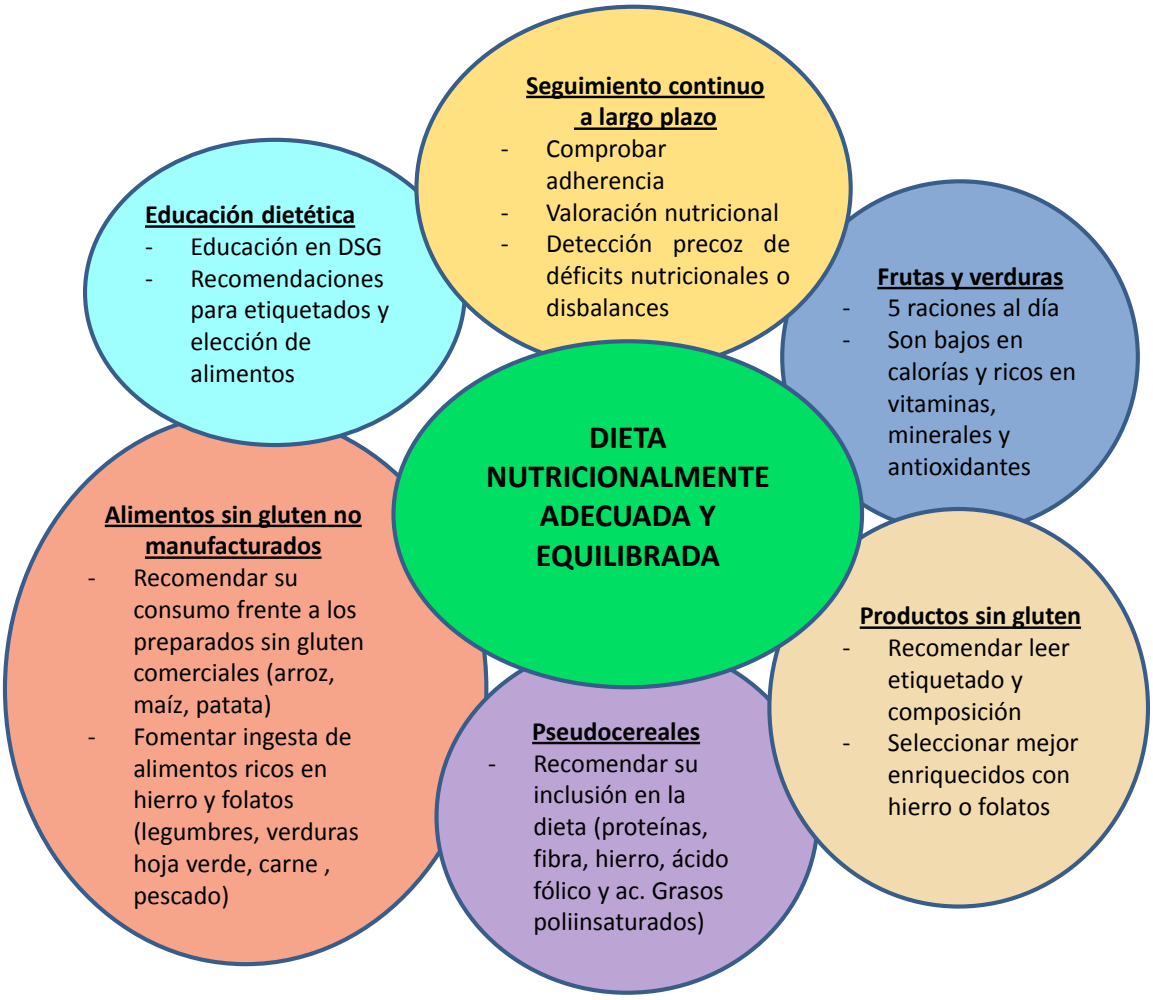
Tabla 5. *Clasificación de los cereales y otros alimentos en función de su contenido de gluten (modificado de Penagini y cols., 2013)*

SIN GLUTEN	CON GLUTEN
Cereales y cereales menores	
Maíz	Trigo
Arroz	Cebada
Sorgo	Centeno
Avena (controvertido)	Kamut
Teff	Malta
Mijo	Triticale
Pseudocereales	
Amaranto	Pan
Quinoa	Pasta
Trigo sarraceno	Snacks
	Galletas
Vegetales, frutas y hortalizas **Frutos secos** **Legumbres, soja** ***Derivados animales (huevos, leche, carne, pescado)***	Cualquier producto manufacturado es susceptible de contener gluten salvo que indique lo contrario en su etiquetado

El enfoque nutricional de una dieta equilibrada se resume en el gráfico 5, modificado de Penagini y colaboradores (2013).

En resumen, y en relación al tema que nos ocupa, podríamos decir que la población infantil celíaca, tiene a priori un riesgo de mayor exposición al arsénico, puesto que es susceptible de consumir más arroz y de ser deficitaria en cofactores que modifican el metabolismo del arsénico como son el ácido fólico y la vitamina B12.

Gráfico 5. *Recomendaciones para una dieta sin gluten saludable (Modificado de Penagini y cols., 2013)*



Por último, se sabe que la flora de los pacientes celíacos está modificada con respecto a la de la población general. Si bien no hay una huella microbiótica definitiva ni una relación de causalidad entre el disbalance bacteriano y el desarrollo de la EC (Verdu y cols., 2015), sí que sabemos que existe un predominio de Gram negativos y flora pro-inflamatoria y que los cambios en el microbioma persisten incluso a pesar de realizar una dieta sin gluten (Nadal y cols., 2007; Cenit y cols., 2015).

La flora condiciona el cambio metabólico del arsénico a nivel intestinal, si bien queda por dilucidar si esta flora puede interferir de manera determinante. Sabemos que el microbioma (especialmente el del tubo digestivo) influye en el metabolismo del arsénico y además la flora genera metabolitos tiolados arsenicales cuya toxicidad se desconoce en el momento actual (Carlin 2016).

1.6 Estimación de la exposición dietética al arsénico

1.6.1 Métodos de exposición del As-i en la dieta

Existe bastante controversia en lo referente a los métodos de estudio para estimar el As-i en la dieta. Basándonos en los datos de ingesta dietética, los alimentos que más contribuyen a la exposición al As-i son: el arroz y productos derivados de arroz, cereales distintos del arroz (especialmente trigo), algunas hortalizas, fruta y productos marinos, así como la leche / derivados lácteos y los refrescos (EFSA 2014, Cubadda 2017). Estos alimentos se clasifican en dos grupos: los que tienen una gran concentración de As-i (arroz y derivados, productos marinos) y los alimentos que, teniendo concentraciones relativamente bajas de As-i (la mayoría con < 20 µg/kg) contribuyen a la exposición por sus niveles de consumo frecuentes. Dentro de este grupo destaca el trigo, la leche y el agua.

Las referencias de contenido de arsénico en los alimentos inicialmente se referían al arsénico total, no específicamente al inorgánico, haciendo posteriormente la inferencia del mismo.

El cálculo de la exposición secundaria a la dieta se determinaba por distintos métodos (Cubadda 2017):

1. Asumiendo que un porcentaje definido del As-t se corresponde con As-i.
2. Seleccionando referencias fijas para algunos alimentos.
3. Combinando datos medidos reales con estimaciones basadas en diferentes asunciones (EFSA 2009, 2014).

Los tres métodos tienen limitaciones:

- Existe variabilidad entre el contenido de As-i en un mismo alimento procedente de distinta región.
- Para prevenir una infraestimación, se realizan asunciones conservadoras, que pueden sobreestimar la exposición (EFSA 2014).

Actualmente se tiende a medir la concentración de As-i en los alimentos, y a realizar estudios de exposición usando los estudios de cesta de consumo (Cubadda 2017). Según estos estudios la estimación varía entre 0,02-0,26 µg/kg p.c/d.

Este tipo de estimaciones todavía tiene sus limitaciones, como el tratamiento de las muestras con As-i indetectable o la variabilidad según el procesamiento del producto (cocinado). Los estudios de dieta duplicada son los más fiables, y también los más costosos para valorar la estimación al arsénico, si bien es una exposición individual.

En la tabla 6, modificada de Cubadda y colaboradores (2017), se muestran las estimaciones de estos últimos estudios más específicos.

Tabla 6. *Estudios de exposición al As-i con determinación directa en los alimentos (modificado de Cubadda y cols., 2017)*

As-i en comida	Técnica analítica	Exposición media		Diseño estudio	País	Año	Población interés	Referencia
		µg/día	µg/kg/día					
Población expuesta								
M			0,08-0,10	EDT	España	2010-2011	>6 años	Marín y cols., 2016
M	HPLC-ICP-MS	2.1-5.6	0.067-0.215	EDT	Italia	2012-14	Todas edades	Cubbada y cols., 2016
M	HPLC-HEPO-HG-ICP-MS	24	0.40	ECC	Japón	2011	Adultos	Oguri y cols., 2014
M,ns	HG-ICP-MS	13.4	0.22	EDT	Hong Kong	2010-11	Adultos	Wong y cols., 2013
M, ns	HR-ICP-MS	1.4-7	0.024-0.246	EDT	Reino Unido	2006	Todas edades	Rose y cols., 2010
M, ns	ICP-MS	6.1-18.5	0.09-0.26	ECC	España	2002-03	Adultos	Fontcuberta y cols., 2011
Exposición individual								
M	HPLC-HEPO-HG-ICP-MS	6.5	0.13	DD (n=25)	Japón	2009	Adultos, mujeres	Oguri et al., 2012
M	HPLC-HEPO-HG-ICP-MS	27	0.45	DD (n=29)	Japón	1997-98	Adultos	Oguri et al., 2012
M, ns	HG-AAS	10	0.17	DD (n=4)	Japón	1989	Adultos	Mohri et al., 1990

M= medida, ns: método analítico no específico, EDT = estudio de dieta total, ECC = estudio de cesta de la compra, DD = dieta duplicada. HPLC-ICP-MS: Espectrometría de masa con plasma de acoplamiento inducido y cromatografía de alta resolución liquida, HR-ICP-MS: espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inducido de alta resolución, HG-AAS: Espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros.

1.6.2 Estimación de la exposición por la dieta de la población infantil al As-i publicada en la literatura

<u>En Europa</u>:

En el informe de la EFSA 2014 (que realiza una mezcla entre niveles de As-i analizados y estimados), se refiere una exposición en niños que varía entre 0,2- 1,37 µg/kg p.c/d, con un percentil 95 entre 0,36 y 2,09 µg/kg pc/d.

En la tabla 7, extraída del documento, se detallan por rangos etarios.

Tabla 7. *Resumen de resultados de la exposición crónica al As-i a través de encuestas dietéticas europeas (Modificado de EFSA 2014). Resultados expresados en µg/kg p.c/d*

	Mean dietary exposure (µg/kg b.w. per day)								
	Lower bound (LB)			Middle bound (UB)			Upper bound (UB)		
	Min	Median	Max	Min	Median	Max	Min	Median	Max
Infants (2 surveys)	0.24	-[a]	0.43	0.56	-[a]	0.87	0.88	-[a]	1.37
Toddlers (9 surveys)	0.32	0.39	0.45	0.59	0.68	0.81	0.91	1.00	1.17
Other children (17 surveys)	0.20	0.30	0.36	0.33	0.51	0.61	0.47	0.71	0.87
Adolescents (12 surveys)	0.12	0.18	0.23	0.22	0.29	0.36	0.31	0.42	0.48
Adults (15 surveys)	0.11	0.13	0.17	0.18	0.23	0.28	0.24	0.33	0.38
Elderly (7 surveys)	0.09	0.11	0.15	0.16	0.20	0.24	0.24	0.29	0.34
Very Elderly (6 surveys)	0.09	0.12	0.16	0.17	0.20	0.26	0.25	0.28	0.36
	95th dietary exposure (µg/kg b.w. per day)								
	Lower bound (LB)			Middle bound (UB)			Upper bound (UB)		
	Min	Median	Max	Min	Median	Max	Min	Median	Max
Infants (2 surveys)	0.54	-[c]	-[c]	1.07	-[c]	-[c]	1.66	-[c]	-[c]
Toddlers (9 surveys)	0.61	0.86	1.04	1.03	1.38	1.42	1.48	1.82	2.09
Other children (17 surveys)	0.36	0.53	0.63	0.59	0.83	1.00	0.81	1.15	1.41
Adolescents (12 surveys)	0.23	0.31	0.43	0.39	0.51	0.61	0.52	0.68	0.84
Adults (15 surveys)	0.18	0.22	0.32	0.31	0.39	0.47	0.44	0.54	0.64
Elderly (7 surveys)	0.14	0.17	0.26	0.25	0.31	0.39	0.35	0.45	0.53
Very Elderly (6 surveys)	0.16	0.24	0.29	0.26	0.35	0.40	0.37	0.47	0.54

LB: Límite inferior, MB: Media; UB: Límite superior, considerando los niveles mínimos, medios y máximos de As-i en los alimentos. Cálculos para una exposición media y para una exposición elevada (percentil 95).

Cubadda y colaboradores realizan una estimación nacional de exposición por ingesta al As-i en Italia (2016). La estimación media en población infantil italiana es la siguiente: en niños < 3 años una ingesta de 0.19-0.21 µg/kg p.c/d, niños de 3 a 10 años: 0.52-0.179 µg/kg p.c/d y en el grupo de 10 a 18 años: 0,089-0.105 µg/kg pc/d.

El percentil 95 para cada grupo fue de 0.549-0.645 µg/kg p.c/d (de 3 a 10 años) y de 0.306-0.361 (de 10 a 18 años).

El principal alimento implicado en la ingesta en preescolares fue el agua, seguido de otras bebidas (37% en conjunto), cereales (35%, dentro de los cuales el arroz es el responsable del 18% y la pasta del 7%) y en último lugar fruta y leche (8% cada una).

En el grupo de 3 a 10 años los cereales y derivados aportan el 41% del As-i a la dieta (14% arroz, 9% pan y 8% pasta), agua y otras bebidas no alcohólicas el 25% (agua el 17%), resultados similares a los del grupo de edad entre los 10 y los 18 años.

En EEUU:

Yost y cols. (2004) estiman una ingesta en población infantil de 1 a 6 años de 3,2 µg/kg p.c/d con un rango de 1,6 a 6,2 µg/kg p.c/d (correspondientes al percentil 10 y percentil 95 respectivamente).

Xue y cols. (2010) calculan una exposición en población general de 0,05 µg/kg p.c/d (1,6 µg/día).

En España:

El estudio nacional más reciente es el realizado en Valencia (Marín y cols., 2016). Estima para el grupo de 6 a 15 años en un escenario favorable (con los menores niveles de As-i que detectan en cada alimento), una exposición dietética de 0,16 (0,14-0,18) µg/kg p.c/d para un consumo intermedio y de 0,85 (0,64-1,19) µg/kg p.c/d para un consumo en percentil 99. Considerando un escenario más pesimista (con los niveles máximos de As-i que detectan), estos valores para una consumo medio son de 0,19 (0,17-0,21) µg/kg p.c/d y en el nivel superior de consumo de 0,86 (0,68-1,26) µg/kg p.c/d.

En este interesante trabajo queremos destacar que el 10,47% de la población entre 6 y 15 años de edad tiene una ingesta estimada de As-i por encima de límite inferior del $BMLD_{01}$ (0,3 µg/kg p.c/d), en el escenario más optimista. Esto se corresponde con 52.219 niños según la demografía actual de la Comunidad Valenciana. Para el escenario pesimista, un 13,39% presentaría ingestas superiores a dicho límite (66.650 niños).

Previamente se había publicado el estudio de Contaminantes Químicos realizado en Cataluña sobre el estudio de dieta total en 2012 y publicado en 2015 (Agència de Salut Pública de Catalunya. 2015). En este estudio analizan las concentraciones en el año 2012

de metales en alimentos consumidos en Cataluña, mediante el estudio de dieta total y se comparan con las revisiones previas y los datos en el ámbito nacional e internacional. En niños determinan una ingesta de 3,32 µg/día, en varones adolescentes 4,12 µg/día (el grupo de todo el estudio con mayor ingesta de As-i) y en chicas adolescentes de 3,23 µg/día.

Referenciados por kilo de peso corporal, encontramos unos valores de 0,14 µg/kg p.c/d, en varones adolescentes; de 0,074 del µg/kg p.c/d, en mujeres adolescentes de 0,061 µg/kg p.c/d, y en varones adultos de 0,05 µg/kg p.c/d, con un valor para mujeres adultas de 0,56 µg/kg p.c/d.

1.6.3 Estimación de la exposición de As-i mediante la dieta en la población celíaca

1.6.3.1 Estimación del As-i en población adulta celíaca

Dos recientes artículos (Raehsler y cols., 2017; Bulka y cols., 2017) evalúan la exposición al arsénico y otros metales pesados en estadounidenses que siguen una dieta sin gluten (no necesariamente celíacos). Observan una mayor concentración de metales pesados y arsénico en orina (aproximadamente el doble de arsénico total frente a una dieta con gluten). Bulka y colaboradores realizaron dos estimaciones de exposición dietética por dos métodos distintos en individuos mayores de 12 años que participaron en el estudio NHANES (Nacional Health and Nutrition Examination Survey), si bien en población > 20 años, con ajuste adicional por ingresos y nivel educativo no fue significativo.

En España, el grupo de Munera-Picazo y Carbonell Barrachina (Universidad Miguel Hernández) cuantifica el As-i en diversos alimentos específicos sin gluten para población adulta; posteriormente hace una estimación utilizando los pesos medios de población adulta según la OMS y un escenario de consumo lo más desfavorable posible: un menú elaborado con los alimentos que más As-i tienen de cada grupo y con las porciones medias recomendadas por los organismos nacionales (valores medios), siendo el resultado de la estimación para varones de 0,45 µg/kg p.c/d y 0,46 µg/kg p.c/d para mujeres (Munera-Picazo y cols., 2014b).

1.6.3.2 Estimación del As-i en la dieta de la población infantil celíaca

Este mismo grupo evalúa inicialmente con similar metodología la determinación del As-i en varios ejemplares de alimentos destinados a población infantil celíaca. Posteriormente, para el cálculo por kg de peso corporal y día utilizan los percentiles 10 y 50 de los niños de 2-5 años de la Comunidad Valenciana (territorio del estudio)(Munera-Picazo y cols., 2014a).

El diseño del menú semanal se realiza según las recomendaciones de la AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición), empleando también los niveles máximos de As-t y As-i para reflejar el peor de los escenarios.

En este caso los valores que obtuvieron fueron:

Para niños de 2 y 3 años: 0,6- 0,84 µg/kg pc/d.

Para niños de 4 y 5 años: 0,61-0,78 µg/kg pc/d.

Estos valores se encuentran dentro del $BMDL_{01}$ de 0,3-8 µg/kg pc/d establecido por la EFSA.

Si los comparamos con:

- Adultos celíacos (0,46 µg/kg pc/d): la ingesta es mayor en población infantil.

- Población infantil europea no celíaca (3-10 años) según EFSA 2014: se encontrarían dentro de la población infantil con un consumo elevado (percentil 95). En este grupo los límites inferiores fueron: 0,36-0,63 µg/kg pc/d y si consideramos los límites superiores: 0,81-1,41 µg/kg pc/d.

1.6.3.3 Estudio piloto sobre la estimación As-i en la dieta de la población infantil celíaca en la Comunidad de Madrid

Realizamos en diciembre de 2015 un primer estudio piloto, en colaboración con la Asociación de celíacos y Sensibles al gluten de la Comunidad de Madrid y dirigido a población infantil celíaca. En dicho estudio se realizó una encuesta on-line mediante la plataforma Google Forms® con un cuestionario de frecuencia de consumo dirigido a los

alimentos de ingesta más frecuente (leche y derivados, agua y refrescos), así como los de mayor contenido de arsénico (arroz y derivados y productos sin gluten que contengan arroz, almidón de arroz o sirope de arroz entre sus ingredientes).

Obtuvimos un total de 596 respuestas. La mediana de la ingesta destinada de As-i en nuestra muestra es de 0.32 µg/kg p.c / d con un rango de 0.0001- 4.71 µg/kg p.c / d.

1.7 Niveles de arsénico inorgánico en orina

1.7.1 Métodos de determinación de As-i en orina

Existen diversos métodos para valorar la exposición al As-i. Para exposiciones crónicas pueden emplearse distintas matrices biológicas: orina, pelo y uñas.

El arsénico en orina es un importante biomarcador y se ha demostrado un claro aumento tras ingesta de arroz en poblaciones con distinto rango de edad (Cascio y cols., 2011; Meharg y cols., 2014; Kordas y cols., 2016).

De los diferentes métodos existentes para la determinación de arsénico en orina destacan la espectrometría de absorción atómica acoplada a generación de hidruros mediante inyección de flujo (FI-HG-AAS) y la espectrometría de absorción atómica/ generador de hidruros (GF-AAS).

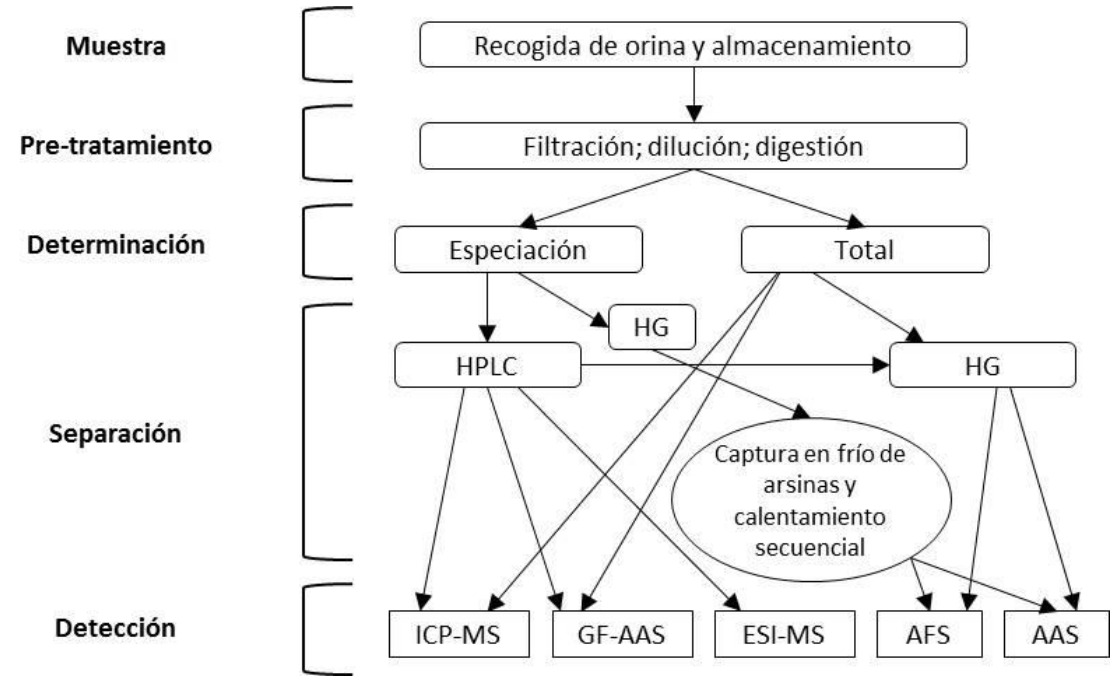
La primera (FI-HG-AAS) permite el análisis de arsénico total, inorgánico y diferentes especies arsenicales, incluidas las orgánicas. Esta técnica ostenta un límite de detección menor y es la más habitual en los estudios recientes. Se considera que es la prueba de referencia, siendo una técnica realizada en laboratorios específicos y de coste más elevado.

La espectrometría de absorción atómica / generador de hidruros determina las especies arsenicales metiladas y el As-i en su conjunto (excluyendo del análisis las especies orgánicas); esta técnica es más económica y es la considerada de referencia para exposiciones ambientales y de tipo laboral, pero tiene la limitación de que es pH dependiente (Brima y cols., 2006).

Bühl y colaboradores (2015) publican un trabajo en el que comparan ambas técnicas para su población de estudio (Uruguay), encontrando una correlación adecuada, pudiendo emplear la GF-AAS como método de cribado y biomonitorización.

En gráfico 6 (modificado de Brima y cols., 2006) podemos ver las diferencias entre estos dos y otros métodos de detección de arsénico en orina.

Gráfico 6. *Métodos de detección de As-i en orina (Modificado de Brima y cols., 2006)*



HPLC: Cromatografía líquida alta resolución. ICP-MS: Espectrometría de masa por plasma de acoplamiento inductivo. HG-AAS: Espectrometría de absorción atómica con generador de hidruros. HG-AFS: Espectrometría atómica de flurorescencia con generación de hidruros. ESI-MS: espectrometría por electrospray. GF-AAS: Espectrometría de absorción atómica de horno de grafito.

Otro punto de controversia en el estudio del arsénico en orina es la obtención de la muestra, si bien lo recomendable es que se recojan orinas durante 24 horas aunque éstas resulten más dificultosas de conseguir. Por ello, muchos de los estudios se realizan con una muestra única de orina (Rivera-Núñez y cols., 2010; Kordas y cols., 2016; Signes-Pastor y cols., 2016a) en la que se ajustan los niveles por diversos parámetros como: creatinina, osmolalidad o por densidad relativa (Nermell y cols., 2008).

En población infantil parece que el ajuste por densidad relativa es el que mejor se correlaciona con la excreción real (Carlin y cols., 2016).

1.7.2 Referencias de As-i en orina

- POBLACION ADULTA:

Destacamos tres artículos, dos en población que sigue una dieta sin gluten y uno en población del área de Madrid, que consideramos relevante por su proximidad geográfica.

En la cohorte NHANES (EEUU) Raehsler y colaboradores (2017) determinan que el 3.8% de la población que realiza dieta sin gluten tiene niveles en orina por encima de 35 µg/L de la suma de As-i y sus metabolitos metilados.

En la misma cohorte, Bulka y colaboradores (2017) encuentran en las personas con dieta sin gluten una determinación de As total en orina de 12,1 µg/L y de DMA de 5.3 µg/L.

Navarro Serrano y colaboradores (2016) incluyen un total de 124 pacientes de la zona de Madrid con edades entre 20-76 años. Se analizaron muestras de orina de 12 horas que ajustaron por creatinina para determinar el arsénico total, la arsenobetaína, el DMA, MMA, As-i II y As-i V; además se realizó una encuesta de hábitos dietéticos (frecuencia de consumo de pescado) y de consumo de alcohol / tabaco. La fracción inorgánica + MMA + DMA en este estudio tuvo une media geométrica de 10,9 µg/g de creatinina (95% CI 8,7-13.7 µg/g) con una fracción inorgánica de 10 µg/g.

- POBLACIÓN INFANTIL:

Piñol y colaboradores (2015), en niños residentes en España (57 nacidos en España y 57 inmigrantes) encuentran unos niveles de As total en orina de 1,8 µg/L de As-t y de 0,4 µg/L de As-i.

El estudio más extenso realizado en España por Signes-Pastor y cols (2016a) parte de un proyecto prospectivo poblacional con una cohorte al nacimiento en diferentes localidades de la geografía española (para más información: www.proyectoinma.org). Analiza el As-i en orina en niños de 4 años en Asturias, País Vasco, Sabadell y Valencia (incluyendo a 100 individuos por área).

En la población valenciana, comparan la orina de los 100 participantes a los 4 y a los 7 años de edad y los relaciona con las muestras de sus madres en el primer trimestre del embarazo.

Rodríguez-Barranco y colaboradores (2016) relacionan el As-i con el trastorno de déficit de atención en niños de edad escolar. En una población de 261 niños, determinan el As-i en orina asociado a un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos para ajustar posteriormente los factores de confusión.

En la tabla 8 se resumen los datos de As-i publicados en población infantil española y mundial.

***Tabla 8**. As-i en población infantil española y mundial*

	Localización	Edad	Determinación	Niveles (µg/L)
Aguilera 2010	Huelva	6-9 años	As-t	1.17
Piñol 2015	Barcelona	2 meses- 16 años (Nativos e inmigrantes)	As-i	0.4
Peng 2015	EEUU	12-15 años	As-i DMA	5,6 3,6
		16-19 años	As-i DMA	6,6 3,97
Kippler 2016	Bangladesh	10 años	As-i	58
Rodríguez-Barranco 2016	Andalucía	5-17 años	As-t	1.72
Kordas 2016	Montevideo	5-8 años	As-i MMA DMA	1.01 0.95 7.9
Signes-Pastor 2016b	Asturias	4 años	As-i MMA DMA	0.38 0.35 3.76
	Guipuzkoa	4 años	As-i MMA DMA	0.22 0.52 4.23
	Sabadell	4 años	As-i MMA DMA	0.39 0.49 3.73
	Valencia	4 años	As-i MMA DMA	0.44 0.36 4.19
		7 años	As-i MMA DMA	0.4 0.35 4.14

1.8 Recomendaciones para disminuir la exposición al As-i en la dieta

1.8.1 Disminuir el arsénico en el arroz en origen

El arroz representa una fuente de alimentación importante para más de un tercio de la población mundial, por lo que existe una estrategia que intenta modificar la concentración de arsénico en los arrozales mediante biología y genética, intentando conseguir plantaciones que no precisen de inundación. Hasta el momento estas condiciones sin embargo resultan en un aumento de la absorción de cadmio de dichas plantas (Carlin y cols., 2016), por lo que se considera una alternativa en vías de desarrollo.

Existen unas especies de arroz que acumulan menos arsénico que otras, una opción razonable sería promover las especies con menos arsénico para consumo humano.

Finalmente, mediante estudios de genética se está intentado seleccionar los genes implicados en la acumulación de arsénico para modificarlos y obtener variedades con menos cantidad de As-i.

Otra opción es modificar el contenido de As-i del agua de irrigación mediante filtrado u otras técnicas depurativas en función del terreno de cultivo (Wang y cols., 2016).

1.8.2 Disminuir el arsénico en el arroz durante la preparación

Como se ha comentado previamente, cocinar el arroz con exceso de agua disminuye hasta un 40% el As-i en arroz blanco, un 60 % en el arroz vaporizado y un 50% en arroz integral, así como el contenido de hierro, folato, tiamina y niacina entre un 50-70% (Gray y cols., 2016). Además un lavado previo con agua desionizada elimina un gran porcentaje de la fracción bioaccesible tanto de arsénico, como de cobre, hierro y zinc (Horner y Beauchemin 2013).

1.8.3 Disminuir la ingesta de arroz (FDA)

Según el informe de la FDA de 2016, un límite de 200 µg/kg de As-i en el arroz no modifica el resultado de la exposición. Un límite de 150 µg de As-i por kg de arroz, disminuye el riesgo entre 0% y 23 %. Si el límite se establece en 100 µg de As-i por kg de

arroz, la reducción del riesgo es de 2 – 47% y en el caso de limitar a 75 µg/kg de arroz, la reducción del riesgo se encuentra entre un 17-79 %, siendo el porcentaje variable en función del producto.

Estos límites reducirían la disponibilidad en los comercios de manera significativa, estimándose en EEUU una reducción entre un 4 y un 93% en función del tipo de arroz.

En este mismo estudio, sugieren que la eliminación del arroz de la dieta de los niños menores de 6 años podría suponer una reducción entre un 6 y un 23% del riesgo de padecer cáncer a lo largo de la vida.

1.8.4 Favorecer la ingesta de alimentos protectores

Un adecuado estado nutricional, con una dieta balanceada en proteínas, con adecuada ingesta de vitamina B12 y ácido fólico podrían mejorar la metilación y excreción del As-i (Vahter 2007; Peters y cols., 2015).

Favorecer una dieta variada, introduciendo nuevos cereales y pseudocereales, disminuye la ingesta semanal de arroz y aumenta la cantidad de vitamina B 12 y fólico.

1.8.5 Legislar el contenido máximo de arsénico y difundir recomendaciones públicas sobre el consumo de ciertos alimentos

Nachman y colaboradores (2017), realizan una excelente revisión acerca de las medidas que se pueden llevar a cabo para disminuir la exposición al As-i. Si bien se refiere principalmente a los cambios en la legislación estadounidense, propone medidas que son aplicables al ámbito mundial. Describen un proceso para priorizar la exposición según las distintas etapas de la vida y recomendaciones específicas para cada edad. En concreto, en la primera infancia se recomienda dar a conocer los beneficios de un consumo racional y limitado de zumo de manzana así como de cereales de arroz, con lo que se limita significativamente la exposición en lactantes entre 6 y 12 meses de edad.

En la tabla 9 se resume la actualidad legal del As-i en el ámbito internacional.

Tabla 9. *Legislación internacional sobre el As-i. (Modificado de Nachman y cols., 2017)*

País	Tipo de regulación	Contenido regulado	Referencia
Unión Europea	Límite máximo de As-i en arroz y productos que lo contengan	Arroz blanco: 0.2 mg kg^{-1} Arroz sancochado: 0.25 mg kg^{-1} Tortitas, galletas y pasteles de arroz: 0.3 mg kg^{-1} Arroz destinado a alimentación infantil: 0.1 mg kg^{-1}	http://faolex.fao.org/docs/pdf/eur146756.pdf
Francia	Límite de As-i en algas	Algas: 3mg kg^{-1}	CEVA (2010) Régelementation algues alimentaires Synthése CEVA au 1/04/2010. France.
China	Límite máximo de As-i y As total	Ejemplos Grano: 0.5 mg kg^{-1} Arroz: 0.2 mg kg^{-1} Vegetales: 0.5 mg kg^{-1} Pescados: 0.1 mg kg^{-1}	MInistry of Health of the People´s Republic of China (2012) National Food Safety Standard. Maximum Levels of Contaminants in Food. BG 2762-2012.
Canadá	Límite máximo de As-i	Proteínas de pescado: 0.5 mg kg^{-1} Harina de hueso comestible: 1 mg kg^{-1} Zumos de frutas y bebidas. 0.1 mg kg^{-1}	CFIA (2014) Food and Drugs Act Regulations (FDAR). Section B. 15.001 Tables I and III.
Australia y Nueva Zelanda	Límite máximo de As-i en comida	Cereales 1 mg kg^{-1} de As total Pescado, algas marinas y marisco: 1-2 mg kg^{-1}	Australia New Zealand Food Standards Code: Standard 1.4.1: Contaminants and Natural Toxicants http://www.comlaw.gov.au/Details/F2011C00121

2. HIPÓTESIS Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

2.1 Hipótesis de trabajo

La exposición estimada de origen dietético al As-i en población infantil celíaca española es inferior a los márgenes de exposición establecidos como seguros.

2.2 Pregunta de investigación

¿Los niños celíacos, por su dieta sin gluten, tienen una ingesta de arsénico inorgánico por debajo de los márgenes de exposición recomendados?

3. OBJETIVOS

3. Objetivos

El objetivo principal es conocer si los niños celíacos por su dieta tienen una exposición al As-i dentro de los límites establecidos como seguros ($BMDL_{01}$) e identificar áreas de mejora para disminuir esta disminuir esta exposición estimada, como puede ser un cambio en la legislación provisional vigente que regula el contenido máximo de As-i en arroz.

Como objetivos específicos complementarios al objetivo principal planteamos los siguientes:

1.- Estimar la exposición dietética al As-i en una muestra infantil (celíacos y no celíacos) en el Hospital Universitario Infanta Sofía por dos métodos distintos: cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos con soporte telemático y recuerdo de 24 horas durante 5 días.

2.- Determinar en orina la suma de As-i+ MMA+ DMA en dicho grupo de estudio.

3.- Valorar la exposición al As-i en celíacos frente a no celíacos en el Hospital Universitario Infanta Sofía.

4.- Realizar una estimación de la exposición al As-i dietético de la población infantil celíaca con respecto a la estimación de población infantil general.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1 Marco asistencial

El estudio se realizó en el Hospital Universitario Infanta Sofía de San Sebastián de los Reyes. Es uno de los hospitales incluidos en el Plan de desarrollo de Infraestructuras Sanitarias para el período 2004-2007 de la Comunidad de Madrid, al objeto de lograr una mejora y modernización de la red sanitaria pública. Dicho hospital se dimensionó de acuerdo con las previsiones de la evolución demográfica y de las tasas de utilización por los ciudadanos de las diferentes líneas de servicios sanitarios. Tiene una superficie construida de 84.290 metros y un número de camas de hospitalización convencional de 238.

El ámbito de influencia del Hospital Universitario Infanta Sofía lo configura el distrito sanitario de Alcobendas. Se trata de un ámbito compuesto por dos ciudades integradas en la Corona Metropolitana de Madrid, San Sebastián de los Reyes y Alcobendas y 53 municipios. El distrito tiene una extensión de 1.844 km^2 y es el más extenso de la Comunidad de Madrid.

La población infantil del área de influencia del hospital, según los datos del padrón continuo del INE a fecha 1 de enero de 2016, es de 73.418 menores de edad. La distribución pediátrica por grupos de edad es la siguiente: 7.462 niños menores de 2 años, 7.953 entre 2 y 3 años, 25.245 entre 4 y 9 años y de 10 a 18 años de 32.758.

El Servicio de Pediatría cuenta con un área de Urgencias, un área de hospitalización pediátrica con 18 camas, un área de neonatología con 13 puestos y un área de consultas externas. La actividad pediátrica en el año 2016 fue de 30.148 asistencias en urgencias, 988 ingresos en el área de hospitalización pediátrica y 272 en hospitalización neonatal, 2.192 partos y 7.973 pacientes atendidos en consultas externas.

4.2 Revisión Bibliográfica

Se consultaron buscadores generales y bibliográficos (Pubmed y EMBASE) y se llevaron a cabo búsquedas en ResearchGate por autor. En los motores de búsqueda general (Yahoo, Google) los descriptores utilizados fueron: “arsénico y arroz” “enfermedad celíaca y arsénico”. En los buscadores bibliográficos se emplearon principalmente “rice and arsenic”, “urinary arsenic”, “inorganic arsenic”, “celiac disease and arsenic”, “children and urinary arsenic”.

4.3 Diseño del estudio

El estudio consta de tres partes que describiremos a continuación de manera independiente:

4.3.1.- Estimación nacional de la exposición dietética al As-i en población infantil celíaca.

4.3.2.- Estimación de la exposición dietética al As-i en niños celíacos y no celíacos del Hospital Universitario Infanta Sofía. Determinación en orina en dicha población del As-i y metabolitos metilados.

4.3.3.- Estimación nacional de la ingesta dietética de As-i en población infantil no celíaca y comparación con la población infantil celíaca.

4.3.1 Estimación nacional de la exposición dietética al As-i en población infantil celíaca

4.3.1.1 Tipo de estudio

Estudio descriptivo tipo encuesta transversal.

4.3.1.2 Población de estudio

Se incluyeron en el estudio todos aquellos individuos que respondieron de forma voluntaria y anónima una encuesta *on-line* distribuida a través de la lista de correos electrónicos de FACE (Federación de Asociaciones de Celíacos de España) y asociaciones regionales (fundamentalmente en Madrid y Cataluña). Los criterios de inclusión fueron: niños de entre 2 y 18 años de edad diagnosticados de enfermedad celíaca con adecuado cumplimiento de dieta sin gluten y que se encontrasen en la lista de distribución de las asociaciones de celíacos. En caso de ser menores de 14 años respondieron sus padres o tutores y en caso de tener entre 14 y 18 años podían responder tanto el menor como el tutor.

4.3.1.3 Protocolo de estudio

Se realizó una encuesta tipo cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFC) *on-line* mediante la plataforma *Survey – Monkey*®.

Esta encuesta se difundió a través de la FACE (Federación Asociación Celíacos España) y asociaciones regionales por vía telemática. En el *mail* se incluyó un enlace con carta de presentación y descripción del estudio que incluía acceso a la encuesta mediante un *link* de respuesta anónima y voluntaria.

En la encuesta se preguntaron datos básicos epidemiológicos (edad, peso, municipio de residencia), así como de consumo de alimentos implicados en la exposición de As-i bien por su frecuencia (ejemplo: agua, leche…) o bien por la cantidad de As-i en su composición (arroz, derivados…). Existía un apartado específico para alergias (alimentarias y generales), así como un campo de observaciones en el que si existieran condicionantes de la dieta, podrían reflejarse para una mejor interpretación de los resultados.

Se emplearon como apoyo imágenes del atlas ENALIA (desarrollado por la AECOSAN y Demométrica y cedidas por Demométrica para este estudio). Este atlas se utilizó a nivel nacional en población de edad similar a nuestra población diana para cuantificar visualmente cantidades de arroz, pasta (tipo pasta seca, lasaña, pizza), bollería (tipo bizcochos, magdalenas), pan y marisco (AECOSAN).

El esquema básico de la encuesta telemática está basado en el formato papel que se empleó en el proyecto ENALIA (Marcos y cols., 2015).

Para el cálculo de las cantidades, raciones y tamaños de los alimentos no incluidos en el atlas, se empleó el programa DIAL (ALCE Ingeniería).

En el siguiente enlace electrónico se accede a una visión demostrativa (no participativa) de la encuesta:
https://www.surveymonkey.net/r/Preview/?sm=6zmO8cijtVuqHubXc7vW2jIdb7zyjMyzjsRxfcuHM230KOzxjbB85lU2Rj8u6knxo6he2x2TchO5GbnJ3ZmE8d7JiaWcQ7B4nCOqwRM6VEI_3D

La encuesta se mantuvo activa durante 2 meses, desde el 1 de diciembre de 2016 hasta el 31 de enero de 2017.

4.3.1.4 Estimación de la exposición de dietética al As-i en la población celíaca

En un primer lugar se analizaron exclusivamente las encuetas completas (>80% de respuestas).

En un segundo momento se excluyeron los pacientes que no incluyeron su peso corporal del análisis por kg peso y día, pero no del de la ingesta total de arsénico).

En tercer lugar, se valoraron individualmente aquellos participantes que no habían contestado datos que podrían infraestimar la ingesta de arsénico como agua o bebidas. Sus respuestas parciales se incluyeron en el resto del análisis si era un alimento aislado. Así mismo se estudiaron las anotaciones en el campo de alergias alimentarias y observaciones, sin que encontráramos en esta población motivos de exclusión (p.ej. dietas vegetarianas o muy restrictivas desde el punto de vista alérgico).

Finalmente se revisaron los valores mínimos y máximos encontrados, buscando datos anómalos para excluirlos del estudio. Las respuestas en blanco se equiparon a una ausencia de consumo.

Para la estimación de As-i, se empleó el contenido en los distintos alimentos publicado según la EFSA (2014), según los artículos del grupo de la Universidad Miguel Hernández de Elche (Munera- Picazo y cols., 2014a y b), así como el estudio de arroz comercializado en España (Signes-Pastor 2016b). En el Anexo 1 se incluyen las referencias de As-i así como las fuentes bibliográficas. Además se convirtieron los resultados en consumo diario mediante un prorrateo estimando hasta dos decimales.

Para cada alimento se calculó su contribución a la dieta en tres escenarios de exposición: mínima, media y máxima. La exposición mínima se calculó multiplicando la cantidad de alimento consumido expresado en kg/d por su referencia mínima (LI), exposición media es el producto de la cantidad de alimento consumida por su referencia intermedia (LM) y la máxima, siguiendo las mismas directrices que en el caso anterior (LS). Cuando sólo existieron publicadas dos referencias para un alimento, el valor inferior se utilizó para estimar el nivel mínimo e intermedio de exposición y el superior para el máximo. En caso de existir en la literatura un solo valor de As-i para un determinado alimento, éste se empleó en los tres análisis (exposición mínima, media y máxima).

Analizamos la ingesta diaria para cada participante por su peso referido. Los resultados se expresan en µg/kg p.c /día.

El análisis se realizó por grupos de edades: de 2 y 3 años; de 4 a 9 años y de 10 a 18 años. Estos grupos son los mismos que los empleados en otros estudios internacionales de exposición al As-i en la dieta.

Estudiamos la contribución de cada grupo de alimentos a la dieta de manera independiente para cada rango edad en el escenario de exposición intermedia (niveles intermedios de As-i en la literatura (LM)).

Se calculó el margen de exposición (MOE) para el límite inferior y superior del rango de referencia $BMDL_{01}$= 0,3-8 µg/kg peso corporal y día (kg p.c /d).

4.3.1.5 Variables analizadas

- Datos generales de filiación (código postal, sexo, edad, peso, altura y año de diagnóstico de la enfermedad celíaca).

- Encuesta de hábitos de consumo (encuesta de frecuencia de consumo de alimento).

- Cantidad consumida (prorrateo a cantidad diaria) de los siguientes alimentos:

- Bebidas: agua, leche, refrescos, cerveza.
- Derivados lácteos.
- Arroz (blanco, integral, harina de arroz) y derivados (tortitas de arroz).
- Productos específicos para celíacos (insistiendo en contabilizar sólo en los que constaba arroz en el etiquetado): cereales desayuno, pan tipo barra, pan tipo molde, galletas, tarta/bizcocho, bollería, pasta tipo macarrones, lasaña, pizza, sopa.
- Alimentos no específicos para celíacos que, de manera natural, no llevan gluten pero son grupos implicados en la ingesta de As-i: pescado, marisco, cefalópodos, bivalvos, verduras y hortalizas, fruta, tubérculos y bulbos.

- As-i aportado por cada alimento a la dieta (µg/día).

- As-i total (µg/día) y por kg de peso corporal (µg/Kg p.c/d) para los valores mínimos, medios y máximos de los alimentos.

4.3.1.6 Consideraciones éticas

Este estudio fue aprobado por el Comité de Investigación del Hospital Universitario Infanta Sofía.

La participación fue voluntaria y anónima tras recibir una carta explicativa en la que se incluía teléfono de contacto y dirección de correo electrónico de contacto en caso de dudas. Por este motivo, no hemos considerado necesario requerir el consentimiento informado.

4.3.2 Estimación de la exposición dietética al As-i en niños celíacos y no celíacos del Hospital Universitario Infanta Sofía. Determinación en orina del As-i y metabolitos metilados

4.3.2.1 Tipo de estudio

Estudio observacional analítico prospectivo de Casos y Controles en población infantil celíaca y no celíaca en la misma zona sanitaria de la Comunidad de Madrid.

4.3.2.2 Población de estudio

Se incluyeron pacientes pediátricos valorados en consultas externas del Hospital Universitario Infanta Sofía y pacientes que acudieron a Extracciones Centrales de dicho centro.

Las extracciones y parámetros estudiados en la analítica de sangre constituyen práctica habitual de seguimiento de pacientes celíacos, así como la analítica de orina en la mayoría de los mismos. En el grupo de controles, la necesidad de realizar un análisis de sangre fue un criterio de inclusión.

En sangre se determinaron niveles de vitamina B12 y ácido fólico dado que pueden alterar el metabolismo del As-i y se consideran deficitarias en población celíaca.

4.3.2.3 Criterios de inclusión y de exclusión

Criterios de inclusión:

- Edad: 2-16 años (ambos inclusive).

- Firma de consentimiento informado de los tutores legales y que accedan a participar los niños.

Para el grupo de casos:

- Sujetos del Hospital Universitario Infanta Sofía diagnosticados de enfermedad celíaca que precisaron analítica de control durante el periodo de inclusión de pacientes y con negativización de los anticuerpos antitransglutaminasa en la última analítica. Para

asegurar una adecuada adherencia a la dieta como mínimo debían llevar un año de dieta sin gluten.

Para el grupo de controles:

- Sujetos de nuestro centro que precisaron una analítica por otro motivo (reclutados en extracciones o en consultas externas).

Criterios de exclusión:

- Enfermedad grave asociada.
- Desnutrición.
- Proceso infeccioso o inflamatorio activo.
- Alergia alimentaria múltiple (más de 3 grupos de alimentos).
- Diabetes mellitus.
- Dietas alternativas por consideraciones culturales o personales (vegetarianos).

4.3.2.4 Protocolo de estudio

Los pacientes fueron reclutados en consultas de Gastroenterología Infantil del Hospital Universitario Infanta Sofía u otras consultas o en extracciones de dicho centro.

Se explicó el estudio y entregó el consentimiento informado y se procedió a la valoración de peso, talla y petición de analítica.

Se solicitó una dirección de correo electrónico para proceder al envío del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos *on-line* mediante la plataforma *Survey-monkey* (con el mismo formato y preguntas que el detallado anteriormente pero con un análisis de resultados independiente).

El enlace a la demostración de esta encuesta específica es el siguiente:

https://www.surveymonkey.net/r/Preview/?sm=Q08MssqXABuEhENBfTYIMRtORlMr2N_2FP9kts51hKmBW9kvaBWgXH4Jcq39BQvGZ3Ym1QYaCuseYrC2_2F4eOC2KtWouisyBbBCcuhM_2BJi3pTY_3D

Se recogieron también datos de aspectos socio-sanitarios: año de nacimiento, año de diagnóstico, motivo de realización de la analítica y patología concomitante. Además se entregó y explicó la encuesta dietética tanto a los niños como a sus padres o tutores.

Dicha encuesta consistía en un recuerdo de 24 horas durante 5 días consecutivos (2 festivos y 3 laborables). El modelo empleado es el mismo utilizado en la encuesta ENALIA y en la Nutriguía previa autorización de los autores (ver Anexo 2).

Se ofreció la posibilidad de entregar la encuesta de manera física en consultas externas o bien vía telemática a una dirección de correo creada a tal efecto (desde la cual también se enviaron los *mails* de recuerdo de participación). Asimismo se ofreció y recomendó la posibilidad de fotografiar envases y raciones y adjuntarlos al correo electrónico para un análisis más detallado.

Dos semanas después del reclutamiento, se realizó un recordatorio vía *mail* para fomentar su contestación y resolver problemas al respecto. En caso de dudas en el momento del análisis del registro se contactó con los participantes por vía telemática.

El sexto día, tras completar el registro, se recogió la orina de primera hora de la mañana y se entregó en extracciones centrales donde se procesó y llevó al laboratorio.

La muestra de orina se congeló a -20ºC y posteriormente se envió al laboratorio Reference (Barcelona) donde se determinó el nivel de As en orina.

La muestra de sangre se obtuvo en extracciones centrales siguiendo el circuito habitual y se procesó en el laboratorio del centro.

4.3.2.5 Estimación de la exposición dietética al As-i

- CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO ON-LINE

Se procedió igual que en la encuesta on-line realizada a nivel nacional pero con dos salvedades:

1. El acceso a la encuesta es individual con el código de participación en el estudio para poder hacer el análisis (no fue anónima).

2. Dado que nuestro método de analizar las muestras de orina no permitió distinguir entre As-i y DMA, para el alimento arroz se empleó la suma del valor As-i + DMA.

Se realizó el cálculo individual de la estimación de As-i mediante prorrateo de consumo (µg/kg p.c/d).

- RECUERDO DIETÉTICO DE 24 HORAS (x 5 DÍAS)

Se analizó la ingesta diaria de cada alimento específicamente indicado en el registro. En caso de no referirse el peso de la cantidad consumida, se emplearon los valores estandarizados del programa de valoración nutricional DIAL de ALCE ingeniería. Para al cálculo de la composición y de los alimentos de platos preparados (por ejemplo paella) se utilizaron las bases de datos del mismo programa.

Realizamos la estimación diaria de alimentos consumidos multiplicando la cantidad de cada alimento por la referencia de As-i media publicada salvo para el arroz (As-i medio + DMA).

La exposición crónica se calculó mediante la suma del As-i total para cada día (µg/día) y posteriormente se realizó la media dividiendo entre los 5 días y se relacionó con el peso corporal del individuo (µg/kg p.c/d).

Se correlacionó finalmente la ingesta estimada para cada paciente con la determinación en orina así como la estimación de la encuesta on-line.

4.3.2.6 Determinación del As-i y sus metabolitos metilados en orina

El laboratorio Reference (Barcelona) realizó el análisis de la orina para determinación de As-i y especies arsenicales, dando como resultado la suma de las mismas (As-i, MMA y DMA).

El método empleado para la determinación es el de referencia para estudio de exposición laboral (Espectrofotometría de absorción atómica / Generador de hidruros), que permite valorar sólo las especies tóxicas (arsénico inorgánico y metabolitos metilados) pero no las orgánicas. La muestra se mezcla con una solución ácida y se agrega un reductor potente (borohidruro sódico), que reduce el arsénico ionizado a arsénico elemental y el gas arsina generado en la reacción se detecta por absorción atómica. Según se explica en el texto de Brima (2006): *"Se utiliza una corriente de argón para barrer el hidruro y el exceso de hidrógeno en una llama de difusión de hidrógeno. El hidruro es entonces transportado por un flujo de gas portador a un horno de cuarzo caliente para atomización por descomposición térmica. Los átomos resultantes son detectados por espectrometría de absorción atómica (AAS)".*

"El principio que rige la generación de hidruros es el siguiente:

NaBH4 + 3H2O + HCl− → H3BO3 + NaCl + 8H Em+ − → EHn + H2 (exceso), donde "E" es el elemento a analizar y "m2" puede ser o no ser igual a "n".

El resultado es la suma de las especies metiladas y de As-i, es decir As (III), As (V), MMA y DMA, sin conocer los valores individuales".

Este tipo de análisis se ha empleado en muestras de orina tanto en estudios de exposición ambiental como dietética (Yamauchi y cols., 1992; Hakala y Pyy 1995).

Dentro de las limitaciones de esta técnica encontramos que los arsenoazúcares y arsenolípidos pueden formar compuestos volátiles y pueden ser detectados por la HG-AAS, pudiendo originar una sobreestimación de la concentración de As-i (Heitland y Kisster 2008; Lovreglio y cols., 2012). Además, esta técnica depende de la calibración y concentraciones de los reactivos empleados.

Sin embargo, esta técnica ha sido validada en algunas poblaciones (Bühl y cols., 2015) y se ha empleado en varios estudios (Le y cols., 2000; Steinmaus y cols., 2005).

En nuestro caso se empleó un espectrofotómetro de llama de absorción atómica Perkin-Elmer Aanalyst 400 con Sistema MHS-10 para la generación de hidruros, lámpara de arsénico de descarga sin electrodos y fuente de energía adicional EDL. Como reactivos se empleó el Borohidruro de hidrógeno (Merck®), Hidróxido sódico 1 NM (NaOH) (J.T. Baker®), St. As 1 g/L (Merck®), Ácido clorhídrico (HCl) 35 % (J.T. Baker®) y 1-Octanol (Merck®).

Estos reactivos se conservaron a temperatura ambiente, a excepción del agua oxigenada, que se conservó en la nevera a 2-8ºC. Tanto la solución ácida como la mezcla se prepararon justo en el momento de emplearse.

Para el procesamiento se emplearon: 500 µL de muestra (orina) y 100 µL de 1-Octanol y se mezclaron con los reactivos.

Posteriormente se leyó la absorbancia en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica con las condiciones Longitud de onda 193.7 nm, 2.7/2.3 nm (Slit ancho/alto) y 10 seg de tiempo de integración.

4.3.2.7 Ajuste del As-i por densidad relativa

Existen varios métodos para ajustar la determinación de As-i en muestra de orina única frente a otras recogidas más precisas pero más laboriosas como la orina de 24 horas.

Se sabe que la muestra aislada es un recurso válido para el análisis de la exposición al As-i (Rivera-Núñez y cols., 2010). Entre los métodos más empleados de ajuste se encuentran el ajuste por creatinina (Bertolucci y cols., 2001; Yassine y cols., 2012; Peters y cols., 2014), el ajuste por densidad relativa (Nermell y cols., 2008; Yassine y cols., 2012), osmolalidad y filtrado glomerular (Middleton y cols., 2016).

En nuestro estudio seleccionamos el ajuste por densidad relativa porque parece más apropiado para población infantil, por tener menor IMC.

4.3.2.8 Variables de estudio

Se recogieron los siguientes datos:

1. De la historia clínica: edad, antecedentes personales médicos, tiempo de diagnóstico de enfermedad celíaca en el grupo de casos y motivo de realización de analítica en controles.

2. Peso y talla y cálculo de IMC empleando la herramienta de valoración nutricional de la SEGHNP. Como referencia en menores de 5 años los parámetros empleados fueron los de la OMS y en mayores de 5 años los de Carrascosa de 2010.

3. Datos analíticos que incluyeron: ácido fólico, vitamina B12, anticuerpos antitransglutaminasa y densidad de orina.

4. Determinación el As-i en orina y distintas especies arsenicales expresado como suma de As-i, MMA y DMA. Los resultados se expresan en µg/L.

5. Estimación de As-i en la dieta mediante el cuestionario de frecuencia de consumo *on-line.* Valores de As-i total (µg/d) y por peso (µg/kg p.c/d)

6. Estimación del As-i en la dieta mediante el recuerdo de 24 horas.

4.3.2.9 Consideraciones éticas

Este estudio es parte de un proyecto de investigación titulado: "Arsénico inorgánico en población celíaca", que fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica GAE Ramón y Cajal 4, el 21 de julio de 2016, y posteriormente por la Comisión de Investigación del Hospital Universitario Infanta Sofía.

La participación fue voluntaria, previa información por escrito a los padres o tutores del menor y firma del consentimiento informado.

Todos los datos recogidos se obtuvieron de la historia clínica y exploraciones indicadas en el protocolo de estudio. El paciente continuó con su proceso asistencial habitual independientemente de su inclusión o no en el estudio.

Los datos se asociaron a un código y su utilización se realizó cumpliendo lo establecido en la Ley Orgánica de Protección de Datos 15/1999 del 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal que garantiza el poder de control sobre los datos personales ARCO (con acceso, rectificación, cancelación y oposición). El estudio cumple las normas de la Declaración de Helsinki.

4.3.3 Estimación nacional de la ingesta dietética de As-i en población infantil no celíaca. Comparación con estimación del estudio ENALIA

4.3.3.1 Tipo de estudio

Estudio descriptivo retrospectivo transversal.

4.3.3.2 Población de estudio

- Se incluyeron los datos obtenidos en el proyecto ENALIA.

- Dicho proyecto se basa en una encuesta individual dirigida a población infantil y adolescente entre 6 meses y 17 años de edad de todas las Comunidades Autónomas. Esta encuesta ha permitido conocer el tipo de alimentos y las cantidades que se consumen. El proyecto ENALIA se ha desarrollado por la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) y por la empresa privada Demométrica, entre noviembre 2012 y noviembre de 2015, dentro del marco europeo y ha sido cofinanciado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

- El diseño de los cuestionarios y el material de ayuda se elaboró siguiendo metodología europea y las recomendaciones contenidas en los proyectos piloto de EFSA: PANCAKE y PANEU.

- La encuesta ENALIA se desarrolló entre la primavera de 2013 y 2014. Se seleccionó una muestra representativa nacional que incluyó a 1.862 niños, niñas y adolescentes, que permite extrapolar los resultados a toda la población infantil residente en España.

- Todos los detalles del diseño, objetivos y demás datos de interés se encuentran disponibles en el artículo publicado por Suárez y colaboradores (2015).

4.3.3.3 Datos de estudio y variables analizadas

Los datos de consumo para cada grupo de edad se obtuvieron de la página web de la AECOSAN (AECOSAN 2016).

Se analizaron e incluyeron en la determinación de As-i los alimentos con más de 100 ocasiones de consumo en cada rango de edad. Los alimentos estudiados fueron:

- Bebidas: agua (considerada como agua corriente), leche y refrescos.
- Derivados lácteos.
- Arroz, cereales distintos del arroz y sus derivados (pan, pasta, bollería, cereales de desayuno)
- Pescado
- Verduras y hortalizas, fruta, tubérculos y bulbos.

Estos grupos de alimentos se han demostrado en otros estudios de dieta total que son los principales implicados en la exposición al As-i en la dieta en población infantil (EFSA 2014; Cubadda 2016). Asimismo son la gran mayoría de los que hemos valorado en nuestro estudio de frecuencia de consumo de alimentos en población infantil celíaca a nivel nacional (apartado 4.3.1).

4.3.3.4 Análisis de los resultados

Se realizó el análisis según estimación de ingesta en los distintos grupos etarios (menores de 3 años, de 4 a 9 años y de 10 a 18 años). Se diferenció entre consumo en percentil 50 y consumo en percentil 95. Los valores de referencia de As-i en los alimentos se obtuvieron del documento de la EFSA de 2014, empleando en esta ocasión el valor medio y el máximo del contenido de As-i. En este apartado, los resultados de algunos alimentos como los cefalópodos y otros productos marinos, la harina de arroz o los fideos de arroz no se tuvieron en cuenta por su menor frecuencia de consumo, que sobreestimaría los datos del análisis.

4.4 Estudio estadístico

El estudio estadístico se realizó con el asesoramiento del equipo de estadística de la Universidad Europea.

Las variables de estudio se describieron como mediana ([RIQ; rango intercuartílico]) o media ± desviación estándar (DE) para las variables continuas (en función del comportamiento paramétrico de las mismas). Para las variables cualitativas se utilizaron las frecuencias absolutas y relativas.

Para el análisis estadístico, se utilizó el test de prueba Chi cuadrado para variables cualitativas y el test T de Student o U de Mann Whitney para analizar la existencia de diferencias significativas entre las variables cuantitativas, en función de la normalidad de las variables analizadas.

Para la correlación entre variables cuantitativas se llevó a cabo un análisis mediante el coeficiente de correlación de Spearman (r).

La significación estadística se estableció en $p<0,05$. Todos los cálculos estadísticos se realizaron utilizando un programa estadístico SPSS (versión 21.0 IBM Corp®; EE.UU.).

4.5 Elaboración del documento de la Tesis Doctoral

Se empleó Mendeley ® como gestor bibliográfico, siguiendo las normas de citación del estilo Harvard. Para la redacción, recogida de datos, elaboración de tablas y gráficos, así como maquetación se utilizó el paquete Office 2010®.

5. RESULTADOS

5.1 Estimación nacional de la exposición dietética al As-i en población infantil celíaca

Se obtuvieron un total de 736 respuestas completas y tras realizar la limpieza de los datos se incluyeron un total de 713 individuos.

Los participantes residen principalmente en Madrid y Barcelona, las dos principales ciudades españolas en población. La distribución detallada por comunidades autónomas se expone en el gráfico 7.

Los participantes fueron predominantemente mujeres (n= 426, mayoría en todos los grupos etarios). No hemos encontrado diferencias entre ambos sexos en los valores antropométricos ni en el tiempo de dieta sin gluten en el global de la muestra, únicamente hemos encontrado diferencias en la exposición en el nivel medio al As-i, sin que tenga relevancia. Ver tabla 10.

Gráfico 7. *Distribución de los participantes por Comunidades Autónomas*

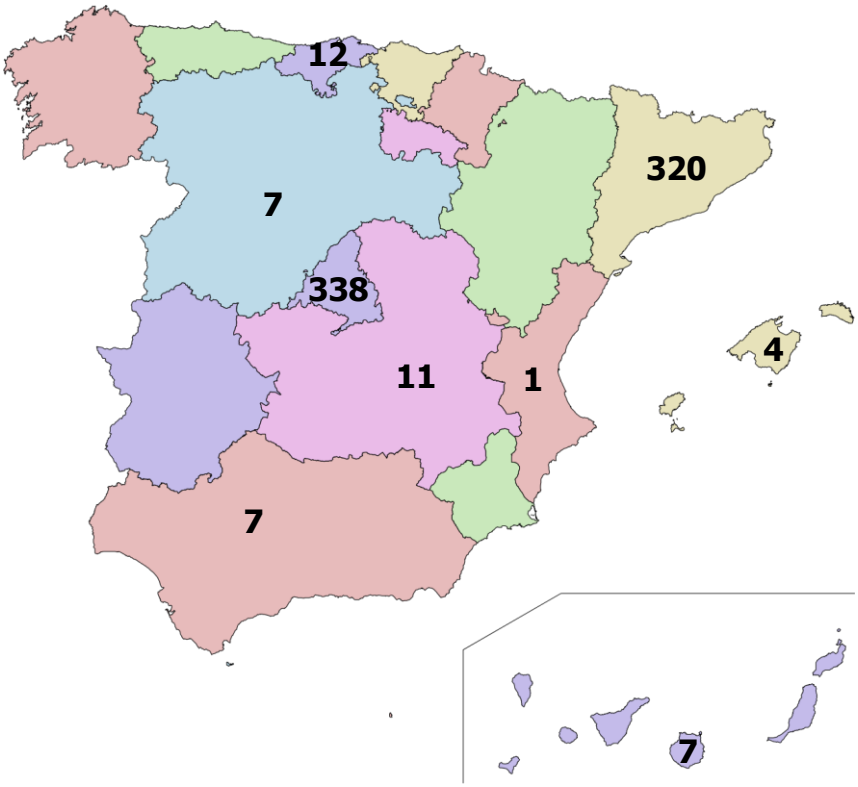


Tabla 10. *Características y resultados principales en el total de niños celíacos encuestados*

	Femenino (n=426)	Masculino (n=287)	p valor
Edad (años)	11 [7]	11 [7]	ns
Peso (kg)	35 [25,5]	35 [27]	ns
IMC (kg/m^2)	17,36 [4,45]	17,30 [3,34]	ns
Tiempo de dieta sin gluten (años)	2 [3]	2 [4]	ns
Estimación As-i (LI)[¶] (µg/dia)	10,48 [6,39]	11,07 [7,25]	ns
Estimación As-i (LM)[¥] (µg/dia)	18,34 [7,7]	18,51 [10,3]	0,023
Estimación As-i (LS)[#] (µg/dia)	26,88 [12,26]	28,27 [15,65]	ns
Estimación As-i (LI)[¶] (µg/kg p.c /d)	0,32 [0,28]	0,33 [0,27]	ns
Estimación As-i (LM)[¥] (µg/kg p.c/d)	0,51 [0,41]	0,53 [0,4]	ns
Estimación As-i (LS)[#] (µg/kg p.c/f)	0,79 [0,62]	0,8 [0,6]	ns

[¶]LI: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
[¥]LM: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
[#] LS: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
ns: No significativo.

5.1.1 Estimación de la exposición al As-i en la dieta de población infantil celíaca de 2 y 3 años de edad

En el grupo de menor edad obtuvimos un total de 35 respuestas de participantes menores de 4 años, con un discreto predominio de mujeres.

Podemos considerar que ambos grupos tienen un adecuado peso e IMC para su edad y sexo (empleadas las tablas de referencia de la OMS). Los datos descriptivos de la muestra se exponen en la tabla 11.

Tabla 11*. Descripción general de la muestra de 2 y 3 años*

	Total general (n=35)	Femenino (n=19)	Masculino (n=16)
Edad (años)	2 [1]	2	2
Peso (kg)	14,04 [1,9]	14	14
IMC (kg/m^2)	15,56 [1,96]	15,53	15,97
Tiempo de dieta sin gluten (años)	1 [1]	1	1

- *Exposición estimada al As-i de origen dietético en el grupo de niños de 2 y 3 años*

En este grupo calculamos tres escenarios posibles de exposición, si consideramos el escenario más benévolo, con las menores referencias de As-i para cada alimento publicadas en la literatura, encontramos una estimación de exposición de 7,18 µg/d [RIQ: 4,4], y en la estimación individual por kg de peso corporal encontramos una estimación de 0,52 µg/kg p.c/d [0,26].

En el escenario intermedio de riesgo la estimación de la exposición dietética media fue de 13,16 µg/d [5,99], con un resultado de 0,95 µg/kg p.c/d [0,42].

En el escenario más conservador, asumiendo los valores máximos publicados de exposición el resultado diario fue de 16,17 µg/d [10,66], con un resultado de 1,38 µg/kg p.c/d [0,61]. Ver tabla 12.

Tabla 12. *Estimación de As-i en la dieta de la población celíaca de 2 a 3 años*

	As-i µg/d (LI) ¶	**As-i µg/d (LM) ¥**	**As-i µg/d (LS) #**	**As-i µg/kg p.c/d (LI) ¶**	**As-i µg/kg p.c/d (LM) ¥**	**As-i µg/kg p.c/d (LS) #**
p25	4,96	10,18	13,93	0,39	0,74	1,07
p50	7,18	13,18	19,26	0,52	0,95	1,38
p75	9,40	16,17	24,59	0,65	1,16	1,69

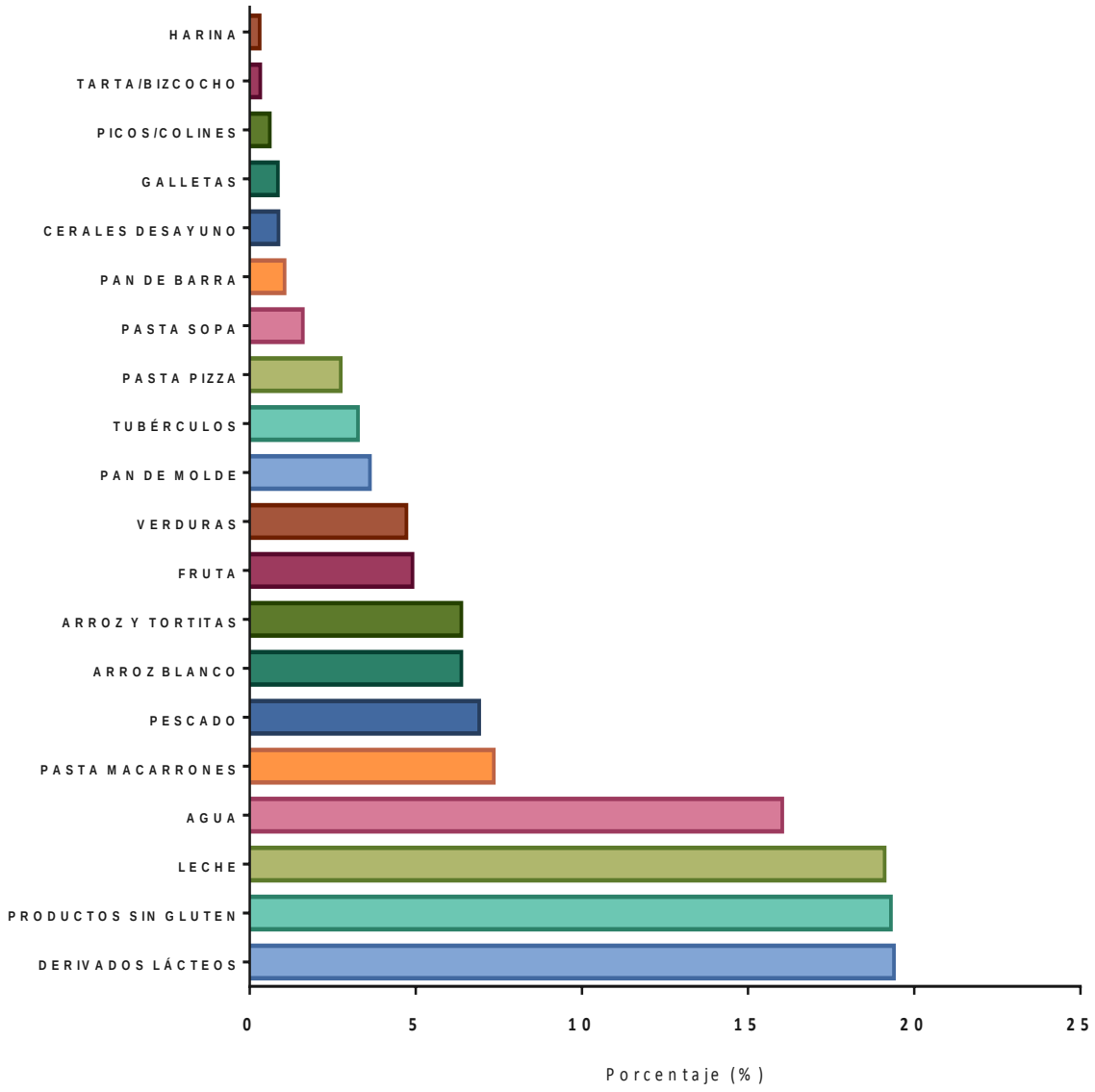
¶LI: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
¥LM: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
LS: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.

- *Contribución de los distintos grupos de alimentos a la exposición del As-i en niños celíacos de 2 y 3 años*

En la dieta de los niños de 2 y 3 años, los alimentos más relacionados con la exposición dietética al As-i fueron los derivados lácteos, la leche y los productos sin gluten (en los que englobamos el pan, la pasta, los cereales, galletas, bollería y harina). Dentro de los productos sin gluten, fue la pasta alimentaria la que más peso tiene, por su mayor contenido de As-i medio más que por su frecuencia de consumo.

En este grupo, la exposición al arroz y derivados (arroz blanco, integral, vaporizado y tortitas de arroz), se equiparó al consumo de arroz blanco, ya que el resto de productos no son habituales en esta muestra.

Gráfico 8. *Contribución de los alimentos a la exposición diaria de As-i en los niños celíacos de 2 y 3 años*



5.1.2 Estimación de As-i en la dieta de población infantil celíaca entre 4 y 9 años de edad

En este rango de edad se encontraron un total de 243 participantes, con predominio de mujeres. En este grupo también encontramos variables antropométricas en la media de la población.

Queremos señalar respecto a los hábitos de consumo que el 34% de los encuestados utilizan arroz de procedencia ecológica con una frecuencia variable; además 7 sujetos de este grupo consumen leche de arroz, con un máximo de 600 ml al día (media de 400 ml diarios). Ver tabla 13.

***Tabla 13**. Descripción de los participantes entre 4 y 9 años*

	Total general (n=243)	**Femenino (n=150)**	**Masculino (n=92)**
Edad (años)	7 [3]	7	6
Peso (kg)	22 [9]	22	21,5
IMC (kg/m^2)	15,7 [3,09]	15,5	16
Tiempo de dieta sin gluten (años)	2 [2]	2	2

- Exposición estimada al As-i de origen dietético en niños celíacos con edades entre 4 y 9 años

Aunque nos encontramos con una estimación de exposición global diaria superior al grupo previo, cuando ajustamos por unidad de peso corporal las cantidades de As-i referidas fueron menores.

De este modo el nivel medio de exposición (LM) se correspondió con una estimación de exposición de 16,06 µg/d [7,13], y en la estimación individual por kg de peso corporal encontramos una estimación de 0,72 µg/kg p.c/d [0,47].

El resto de escenarios se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. *Estimación de As-i en la dieta de la población celíaca de entre 4 y 9 años*

	As-i µg/d (LI) ¶	As-i µg/d (LM) ¥	As-i µg/d (LS) #	As-i µg/kg p.c/d (LI) ¶	As-i µg/kg p.c/d (LM) ¥	As-i µg/kg p.c/d (LS) #
p25	6,64	12,49	19,37	0,30	0,48	0,77
p50	9,27	16,06	25,03	0,44	0,72	1,13
p75	11,91	19,62	30,70	0,58	0,95	1,50

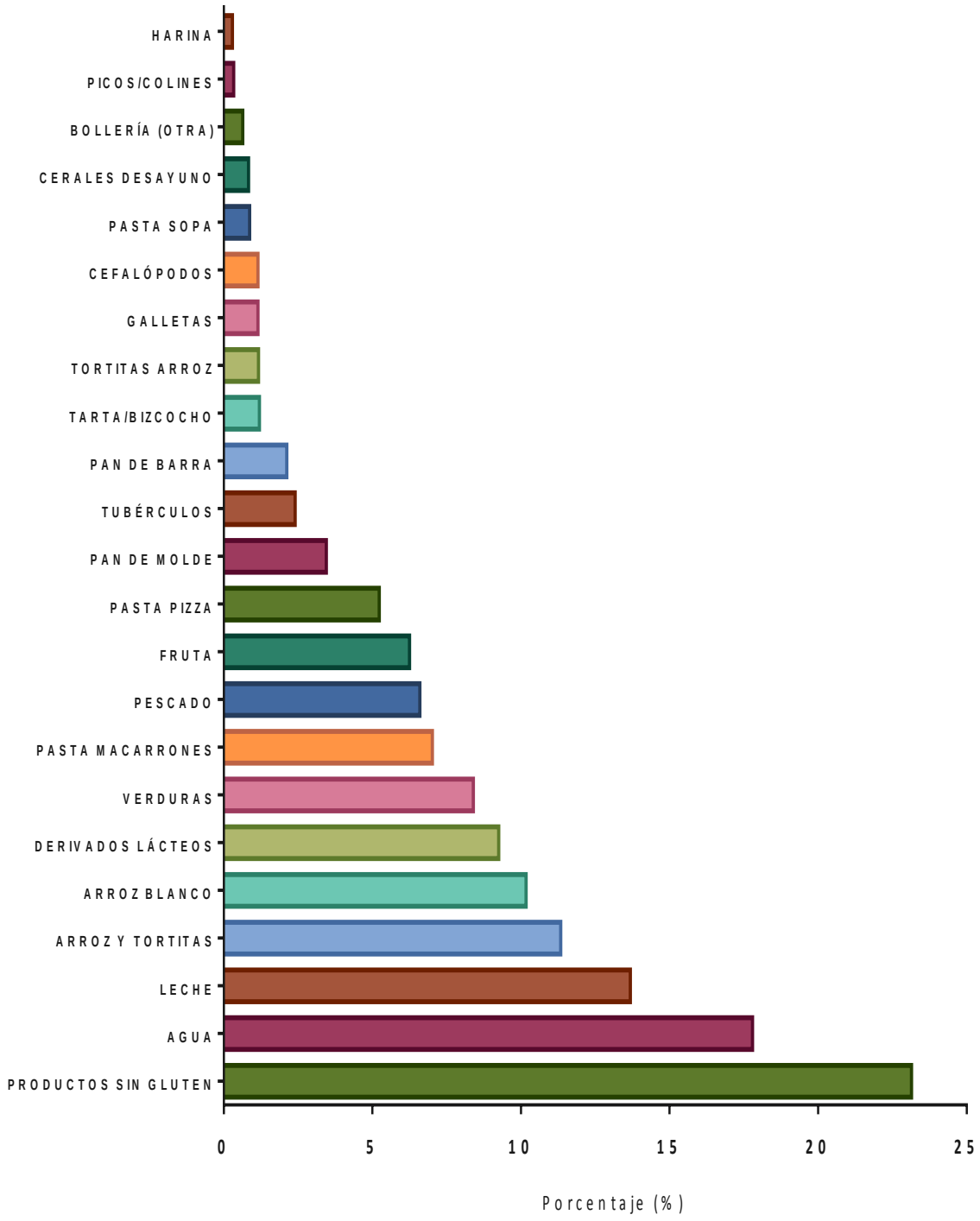
¶LI: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
¥LM: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
LS: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.

- *Contribución de los distintos grupos de alimentos a la exposición del As-i en el grupo de niños entre 4 y 9 años de edad*

En este rango etario, los productos sin gluten fueron claramente el principal factor de exposición al As-i. Dentro de este grupo, la pasta alimentaria destacó como el alimento más implicado (7%).

Las bebidas (agua y leche) fueron los siguientes alimentos en la contribución a la exposición dietética.

***Gráfico 9**. Contribución de los alimentos a la exposición diaria de As-i en los niños celíacos con edad entre 4 y 9 años*



5.1.3 Estimación de As-i en la dieta de población infantil celíaca de 10 a 18 años de edad

El grupo de mayor edad es en el que encontramos la mayoría de los encuestados, también con predominio de mujeres. La descripción antropométrica se refleja en la tabla siguiente.

***Tabla 15**. Características de la muestra con edad comprendida entre los 10 y los 18 años*

	Total general (n=436)	**Femenino (n=257)**	**Masculino (n=179)**
Edad (años)	13 [4]	13	13
Peso (kg)	45 [18]	45	47
IMC (kg/m^2)	18,5 [3,66]	18,61	18,42
Tiempo de dieta sin gluten (años)	2 [2]	2	3,5

En este grupo, el consumo de leche de arroz fue idéntico al grupo anterior (7 individuos, con un máximo de 600 ml), sin embargo el porcentaje que empleó arroz ecológico es menor, sólo el 30% lo consumía en alguna ocasión.

- Exposición estimada al As-i de origen dietético en niños celíacos con edades entre 10 y 18 años

Los preadolescentes y adolescentes fueron los pacientes que menor estimación de exposición al As-i de origen dietético tienen por kg de peso corporal, aunque los valores de ingesta media diaria fueron mayores que en los otros grupos.

De este modo, el nivel inferior de exposición (LM) se correspondió con una estimación de exposición de 19,05 µg/d [9,56], encontrando por unidad de masa corporal una estimación de 0,422 µg/kg p.c/d [0,25]. Ver tabla 16.

Tabla 16. *Estimación de la exposición dietética al As-i en preadolescentes y adolescentes celíacos*

	As-i µg/d (LI) ¶	As-i µg/d (LM) ¥	As-i µg/d (LS) #	As-i µg/kg p.c/d (LI) ¶	As-i µg/kg p.c/d (LM) ¥	As-i µg/kg p.c/d (LS) #
p25	8,47	14,27	23,02	0,16	0,30	0,47
p50	12,01	19,05	30,48	0,26	0,42	0,67
p75	15,55	23,83	37,94	0,35	0,54	0,87

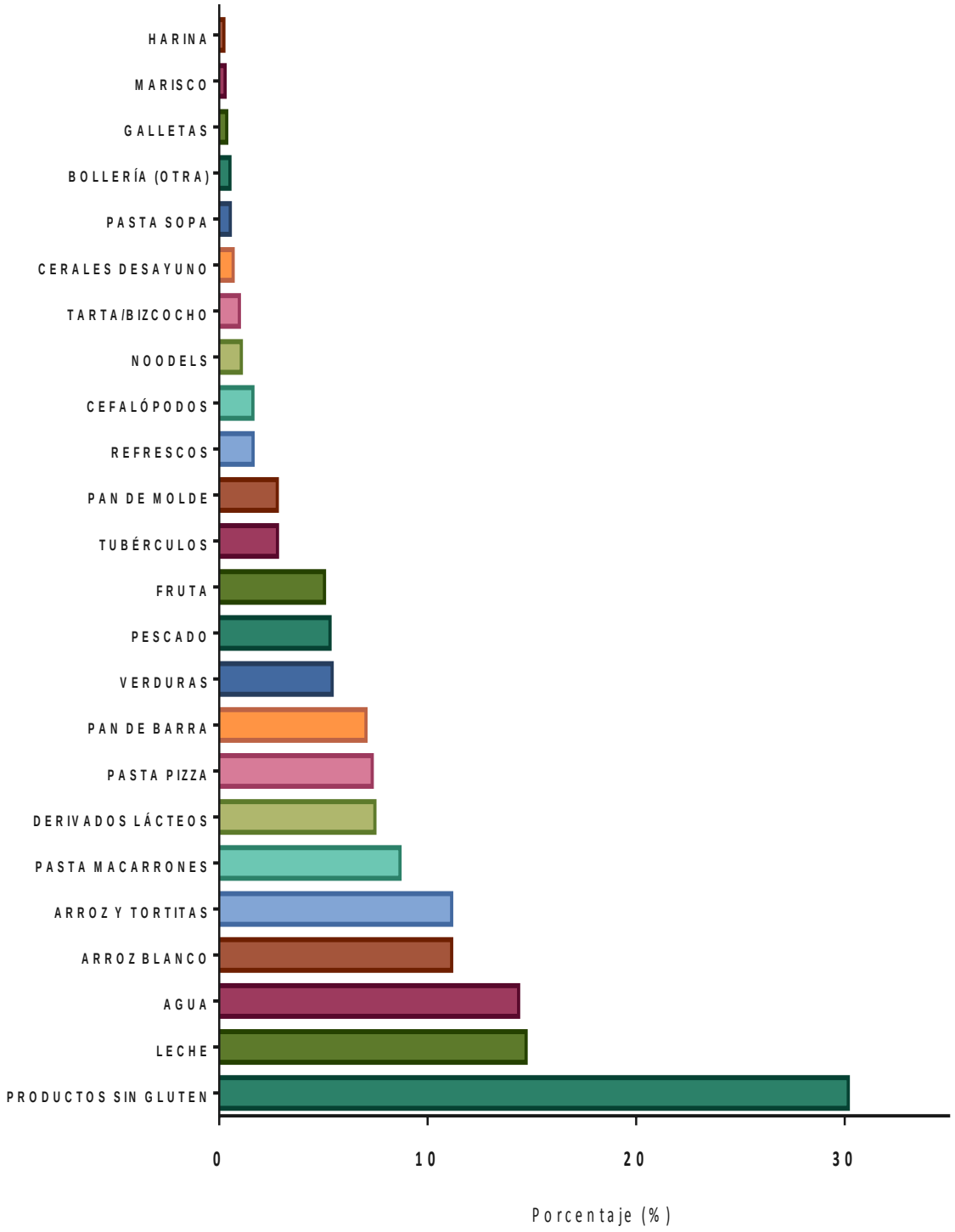
¶LI: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
¥LM: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
LS: Cálculo con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.

- Contribución de los distintos grupos de alimentos a la exposición del As-i en el grupo de participantes con edades entre 10 y 18 años

Los productos sin gluten en general influyeron en un tercio de la exposición dietética al As-i en esta población. De nuevo, dentro de este grupo, la pasta (8,67%), fue el principal factor influyente.

Entre los preadolescentes y adolescentes, el arroz aumentó su importancia en la dieta por un mayor consumo respecto a los grupos previos (11% de la estimación del As-i).

Gráfico 10. *Contribución de los distintos grupos de alimentos a la exposición estimada en la dieta de los celíacos de 10 a 18 años de edad*



5.1.4 Evaluación del riesgo

Según las recomendaciones de la EFSA, para evaluar riesgo asociado a la exposición de sustancias genotóxicas y cancerígenas se empleó el margen de exposición (MOE). El MOE es el cociente de riesgo y se calcula dividiendo la $BMDL_{01}$ entre la dosis que se quiera evaluar. Es deseable tener un valor de MOE tan alto como sea posible. Si el MOE es > 1 se puede descartar que exista riesgo para la población y es deseable un valor de MOE tan alto como sea posible.

Si consideramos el límite superior del $BMDL_{01,}$ todos los grupos etarios estudiados se encontrarían en la franja de seguridad por exposición dietética al As-i. Sin embargo, si el dintel lo ponemos en el límite inferior del $BMDL_{01}$ solamente la población adolescente se encontraría en un rango estimado de seguridad para la aparición de efectos secundarios por la exposición dietética al As-i.

En las tres siguientes tablas (17, 18 y 19) se indican los MOE calculados con los distintos escenarios de valores de As-i.

Tabla 17. *MOE para el As-i en población infantil celíaca estimado con los niveles menores de As-i en los alimentos*

$BMDL_{01}$	2-3 años	4-9años	10-18 años
Límite inferior: 0,3 kg p.c/d	0,58	0,68	1,15
Límite superior: 8 kg p.c/d	15,38	18,18	30,77

Tabla 18*. MOE para el As-i en población infantil celíaca estimado con los niveles intermedios de As-i en los alimentos*

$BMDL_{01}$	2-3 años	4-9años	10-18 años
Límite inferior: 0,3 kg p.c/d	0,32	0,49	0,71
Límite superior: 8 kg p.c/d	8,42	11,11	19,05

Tabla 19. *MOE para el As-i en población celíaca estimado con los niveles superiores de As-i en los alimentos*

$BMDL_{01}$	2-3 años	4-9años	10-18 años
Límite inferior: 0,3 kg p.c/d	0,22	0,27	0,45
Límite superior: 8 kg p.c/d	5,8	7,08	11,94

5.2 Estimación de la exposición dietética al As-i en niños celíacos y no celíacos del Hospital Universitario Infanta Sofía. Determinación en orina de As-i y metabolitos metilados

5.2.1 Descripción de la muestra

Reclutamos un total de 26 pacientes (16 niños celíacos), con predominio de varones en toda la muestra. En dos casos (uno en cada grupo) se perdió la muestra de orina, analizando sólo el registro de 24 horas. El grupo de no celíacos las diferencias entre edad y peso de los participantes fue mayor que en el grupo de celíacos.

Se reclutaron a varios hermanos que acudían a consulta con el paciente o que venían simultáneamente por procesos distintos (cuatro familias en total: dos familias con 2 hermanos en el grupo control, una familia con un caso y dos controles y la última familia con un caso y un control).

En la tabla 20 se muestran las características de cada grupo así como los resultados principales.

5.2.2 Correlación entre la estimación calculada por cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y registro de 24 horas

Hemos encontrado una adecuada correlación entre la mediana del Cuestionario de Frecuencia de Consumo (CFC) en el escenario de exposición media y la mediana del recuerdo de 24 horas (calculado con los niveles intermedios de As-i en los alimentos) con un coeficiente de correlación de Spearman de 0,695 (significación bilateral de 0,000).

Estos resultados son extrapolables a los cálculos de exposición de As-i por unidad de peso y día (µg /kg p.c/ día), con un coeficiente de correlación de 0,645 (significación bilateral de 0,001).

El análisis por subgrupos alcanzó significación estadística sólo para el grupo de celíacos con un coeficiente de correlación de 0,51 (significación de 0,05).

En el Anexo 3 pueden consultarse los datos obtenidos mediante el cuestionario de frecuencia de consumo y el registro de 24 horas para cada grupo de pacientes.

5.2.3 Estimación de As-i en población infantil celíaca y no celíaca en nuestro centro

Encontramos diferencia significativa entre el grupo celíaco y el grupo no celíaco respecto a la estimación de la exposición dietética al As-i por día calculado mediante el registro de 24 horas (12,78 µg/d vs 9,12 µg/d); sin embargo esta diferencia no fue significativa cuando nos referimos a la exposición por kg de peso corporal y día (0,48 µg/kg p.c/d vs 0,44 µg/kg p.c/d).

5.2.4 Determinación de As-i y metabolitos metilados en orina de población infantil celíaca y no celíaca del Hospital Universitario Infanta Sofía

Se calculó la media de la cantidad de As-i y metabolitos metilados en las dos poblaciones ajustando los resultados por densidad relativa.

Aunque observamos unos valores superiores en la orina en el grupo de celíacos con respecto a la determinación de los no celíacos, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Ver tabla 20.

Se realizaron ajustes independientes por consumo de pescado y por consumo de arroz (en valores absolutos y con respecto a dos o más consumos), sin encontrar tampoco diferencias significativas.

Los anexos 4.1 y 4.2 incluyen las tablas correspondientes a la estimación para cada día del registro de 24 horas y la determinación del ∑As-i + MMA+DMA para cada sujeto del estudio.

Tabla 20. *Características y resultados principales de los niños celíacos y no celíacos estudiados en el Hospital Universitario Infanta Sofía*

	Celíaco (n=16)	No celíaco (n=10)	p valor
Sexo (M/H)	5/11	2/8	
Edad (años)	7 [3,88]	6 [2,75]	
Peso (kg)	24,1 [14,9]	20,5 [20,9]	
IMC (kg/m^2)	15,95 [3,08]	15,92 [2,52]	
Tiempo de dieta sin gluten (años)	3 [1,61]		
Niveles vitamina B12 (pg/ml)	637 [302]	655 [275]	
Niveles ácido fólico (ng/ml)	18,34 [5,8]	7,5 [3,4]	
Estimación As-i Registro 24h (µg/d)	12,76 [4,75]	9,12 [1,58]	0,007
Estimación As-i Registro 24h (µg/kg p.c /d)	0,48 [0,33]	0,44 [0,243]	0,14
∑As-i + MMA+DMA en orina (µg/L)	16,63 (13,04)	10,1 (6,06)	0,154
Media geométrica*	11,94	7,86	

*Nota: La media geométrica se indica a título informativo, para comparación con otros estudios similares, no con fines estadísticos.

5.3 Estimación nacional de la ingesta dietética de As-i en población infantil no celíaca. Comparación con estimación del estudio ENALIA

La población general española menor de 18 años, según los resultados del último estudio de dieta total, tiene unos valores para cada grupo de edad similares a los de la población celíaca en todos los rangos de edad de nuestra muestra nacional.

Los resultados se detallan en la tabla 21.

***Tabla 21**. Estimación del As-i total en la dieta de la población infantil española celíaca y no celíaca*

	INFANTIL CELÍACA NACIONAL		ENALIA			
	P50 consumo (µg/d)		P50 consumo (µg/d)		P95 consumo (µg/d)	
	As-i medio	As-i max	As-i medio	As-i max	As-i medio	As-i max
< 3 años	13,18	19,26	11,96	22,35	28,84	51,82
4-9 años	16,06	25,03	15,78	27,49	40,44	68,74
10-18 años	19,05	30,48	18,4	27,39	45,69	71,62

6. DISCUSIÓN

6.1.- Consideraciones generales:

El As-i es un metaloide con múltiples efectos tóxicos ampliamente demostrados como se ha mencionado en la introducción. En países como España, donde el contenido de As-i en agua está controlado, la principal fuente de exposición es la dieta y el alimento con mayor contenido de As-i es el arroz en contraposición a los países donde no está regulado su contenido en agua.

Recientemente se ha modelado la relación entre su exposición durante la infancia y el riesgo de padecer distintos tipos de cáncer durante toda la vida. La población infantil en general está más expuesta, por su mayor consumo de arroz y su menor peso corporal.

En concreto, la población celíaca puede estar incluso más expuesta, ya que al realizar una dieta sin gluten, y por lo tanto sin trigo, puede consumir más arroz como parte de productos manufacturados sin gluten. Resulta por tanto relevante, estudiar cómo se encuentra la exposición al As-i procedente de la dieta en esta población con respecto a los márgenes de exposición establecidos.

La población celíaca está muy concienciada sobre este problema, gracias por un lado a la difusión realizada a través de las asociaciones de pacientes, y por otro a la divulgación general que está teniendo en los últimos meses en los medios de comunicación.

Existen muy pocos estudios que versen sobre la exposición al As-i en población celíaca. En este año, se han publicado dos estudios en EEUU en relación a la dieta sin gluten (no específicamente en población celíaca), considerando que los individuos que la realizan tienen una mayor exposición al As (Bulka y cols., 2017; Raehsler y cols., 2017); en ellos se analizan el As-total o ∑As-i+ MMA+ DMA en orina. Cabe reseñar que ambos estudios encuentran una exposición aumentada a otros metales pesados (cadmio y plomo), que pueden incrementar la toxicidad del As-i por el efecto de co-exposición.

En población celíaca y centrándonos en la estimación de As-i secundaria a la dieta, sólo existen dos publicaciones, una en adultos y otra en niños, realizadas en población residente en España (Munera-Picazo y cols., 2014 a y b).

Este grupo de investigación analiza el As-i en productos específicos sin gluten. Posteriormente realizan una estimación con valores hipotéticos de ingesta y de peso

corporal, considerando principalmente la exposición secundaria al consumo de productos sin gluten (basados en datos generales de población infantil y recomendaciones dietéticas, lo cual supone una limitación a la hora de interpretar los resultados).

Nuestro trabajo no es un estudio de Dieta Total, pero creemos que complementa a la evidencia que existe hasta la fecha y es un cribado y punto de partida para determinar la necesidad de profundizar en este campo.

La legislación actual en la Unión Europea sobre el contenido del As-i en arroz es reciente y provisional. Desde Europa se insta a los estados miembros a investigar el contenido de As-i en el arroz y en los productos que lo contienen según el punto 5 del reglamento (UE) 2015/1006 de la comisión de 25 de junio de 2015: *"Es preciso fijar el contenido máximo de arsénico inorgánico en el arroz y los productos basados en este, ya que el análisis del arsénico inorgánico en estos y en el arroz es fiable. Deben proponerse distintos contenidos máximos de arsénico"*. En el punto 6 y 7 determina la necesidad de recoger datos adicionales antes del ***1 de enero de 2018***, considerando un límite especial para tortitas, obleas, galletitas y pasteles de arroz destinados a lactantes y niños de corta edad.

En la recomendación (UE) 2015/ 1381 de la Comisión del 10 de agosto de 2015, el punto 1 de la recomendación dice así: "*Que los Estados miembros hagan en 2016, 2017 y 2018 un seguimiento del arsénico en los alimentos. Para poder hacer un cálculo preciso de la exposición, debe abarcarse una gran variedad de productos alimenticios que refleje los hábitos de consumo: granos de cereales, productos a base de cereales (incluidos el salvado y el germen), zumos de frutas y verduras, agua potable (también la embotellada), café, hojas de té desecadas, cerveza, pescado y mariscos, hortalizas, productos derivados de algas (incluida la hijiki), leche y productos lácteos, preparados para lactantes y niños de corta edad, alimentos para usos médicos especiales y complementos alimenticios*."

Creemos que nuestro trabajo puede enmarcarse en las directrices europeas de los próximos años, completando un campo que no se contempla.

6.2 Limitaciones y observaciones al estudio

6.2.1 Las referencias empleadas

En nuestro trabajo no se realizó medición específica de As-i en alimentos, pero conocemos su frecuencia referida de consumo y el peso concreto de cada individuo del estudio.

Es cierto que con el modelo de encuesta empleado, podríamos infraestimar el consumo de algunos alimentos como el agua o el pan; para intentar soslayar este problema, intentamos diseñar un cuestionario de frecuencia de consumo que fuera más preciso incluyendo incluso fotografías de algunos alimentos.

Cada vez hay más variedad de productos y de marcas disponibles en el mercado nacional, sin embargo la mayoría de productos sin gluten se fabrican y comercializan por un número limitado de compañías distribuidoras.

En el estudio piloto que realizamos con niños pertenecientes a la Asociación de celíacos de Madrid (presentado en el XXIII Congreso Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica en mayo de 2016 en Gijón), se objetivó un consumo de los mismos productos y/o marcas en más de la mitad de encuestados, con un porcentaje variable de alimentos fabricados en el domicilio. En dicho trabajo, un 56.8% nunca preparaban el pan en casa, el 28,8% lo hacían ocasionalmente y el resto de manera frecuente o siempre. Con respecto a la repostería, sólo un 18,6% no realizaba repostería casera frente a un 37,7% que la realizaba de manera habitual. Interrogamos también a los participantes sobre si el etiquetado de los productos manufacturados incluía el porcentaje empleado de arroz, sirope de arroz y la procedencia del mismo; casi el 75% de los encuestados respondieron que no lo miraban habitualmente frente a un 12 % que aunque lo miraban no estaba indicado.

Consideramos por tanto, que para los productos sin gluten (pan, pasta, galletas y bollería) las referencias que hemos utilizado en el estudio actual son sólidas al igual que para el arroz.

Para el resto de alimentos, las referencias provienen del informe de la EFSA del año 2014. En este informe se emplean referencias directas (con determinación directa del As-i

en el alimento: pescado y arroz sobre todo) y referencias indirectas (por extrapolación desde datos de As total publicados). Seleccionamos esta fuente por ser la que consideramos más uniforme y porque en dicho reporte aparecen más variedad de alimentos que en otras publicaciones.

En el caso del pescado, la EFSA hace determinación directa. En el estudio español de Fontcuberta, el pescado presentaba unos valores medios de As-i de 4 µg/kg (próximos al LI que hemos usado nosotros). En el estudio de dieta total de Valencia (EDTV) detecta As-i en el 99% de las muestras estudiadas, con unos valores medios de 10,56 µg/kg de producto (que se asemejan al LM que hemos empleado). (Fontcuberta y cols., 2011; Marín y cols., 2016).

Para crustáceos los valores de la EFSA son superiores a los de Fontcuberta (36,2 vs 20 µg/kg). En esta caso consideramos poco significativas las diferencias entre ambos, ya que aunque la penetrancia de los crustáceos en la dieta es menor del 15% en el grupo de 2 y 3 años, del 35 % en el grupo intermedio y del 55% en la dieta de los mayores, las cantidades consumidas son muy pequeñas. Al haber usado los datos de referencia de la EFSA en nuestro estudio, la sobreestimación en la que pudimos haber incurrido es inferior a 1 µg/kg en la ingesta diaria y aún menor cuando lo relacionamos con kg de peso corporal y día.

Para los cefalópodos la EFSA sí que determina unos niveles de 43 µg/kg; sin embargo, el grupo de Fontcuberta no detecta niveles, y el de Marín agrupa todos los productos marinos en la misma categoría. Igualmente los cefalópodos no constituyen un pilar significativo en la alimentación de ningún grupo de edad (con una penetrancia similar al marisco) y con cantidades de consumo pequeñas.

Respecto a la leche, en el informe EFSA los valores son de 4,1 µg/kg (con un valor mínimo encontrado de 1,6 µg/kg, que es el que nosotros empleamos en el cálculo de la exposición del LI). Fontcuberta no investiga el As-i en la leche, y en el estudio de Marín (que agrupa leche y derivados lácteos) encuentra niveles entre 1,13 y 1,18 µg/kg.

Para las verduras y hortalizas la EFSA estima unos niveles medios de 7,6 µg/kg (4,5 en el límite inferior) de producto y el estudio de Fontcuberta de 5 µg/kg.

Por último, en el trabajo de Fontcuberta las frutas presentan niveles de As-i inferiores a los límites de detección de la técnica utilizada. La EFSA los estima en 4,5 µg/kg (el límite inferior de 1,15). El EDTV, determina unos niveles de As-i en el grupo de fruta y verduras de entre 2,42 y 2,44 µg/kg de producto.

En resumen, cabría esperar que entre los límites inferiores (LI) de As-i y los medios (LM) empleados en nuestro estudio para calcular la estimación de exposición en el escenario de riesgo más optimista y el de riesgo intermedio, se encuentren los valores reales del As-i en los alimentos consumidos por nuestra población encuestada.

6.2.2 Estimación nacional de la exposición dietética al As-i en población infantil celíaca

Los estudios nutricionales tienen varias fortalezas e inconvenientes. Algunos elementos especiales como el pan, el agua y las bebidas son difíciles de cuantificar (Aranceta y cols., 2015). La utilización en nuestro CFC de modelos fotográficos, validados y empleados por la AECOSAN, disminuye esta posible limitación.

Las ventajas del CFC son que puede ser auto-administrado y permite representar mejor los patrones de ingesta de alimentos menos frecuentes y ser difundido por vía telemática como en nuestro caso. Por otro lado, los CFC pueden ser mejorados a la hora de recoger con mayor precisión los datos encuestados incorporando fotos de modelos y cantidades de alimentos. Entre las limitaciones, podemos reseñar que es recomendable validar los cuestionarios por otros métodos como el registro de 24 horas, ya que las frecuencias de consumo y los tamaños de raciones pueden no representar la ingesta habitual del encuestado (Pérez Rodrigo y cols., 2015).

El estudio se restringió a los alimentos que contribuyen en mayor proporción a la exposición dietética al As-i en población general (EFSA 2014), así como los específicos para celíacos que podían contener arroz entre sus ingredientes.

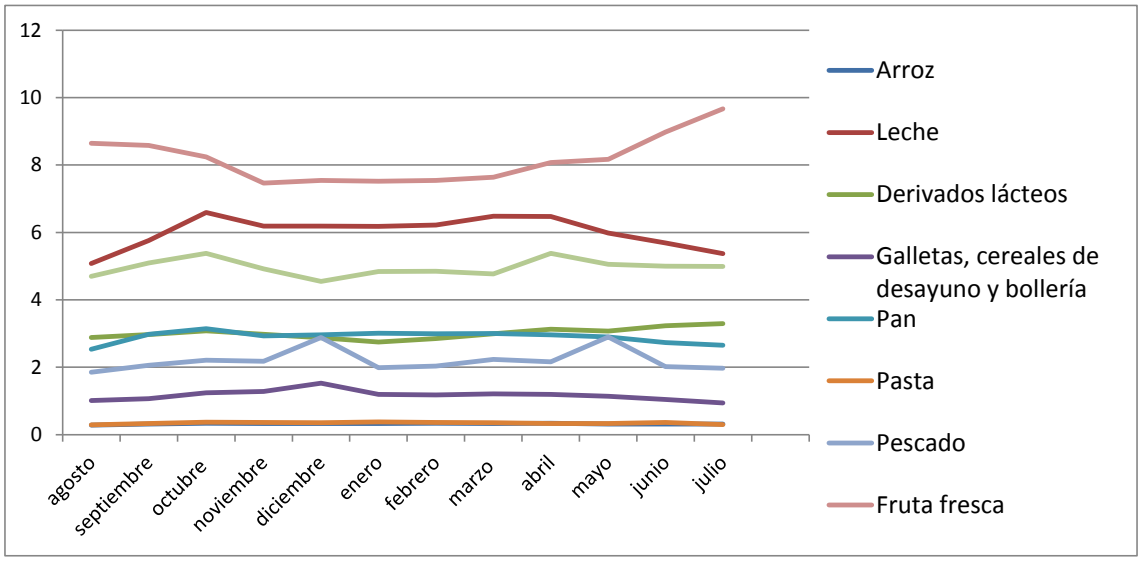
Los productos sin gluten en los que se determinó el As-i en los estudios de Munera-Picazo y colaboradores (2014) no tienen por qué ser los mismos que los que consumen nuestros encuestados. No obstante, son datos procedentes del mercado nacional y, en general, los alimentos sin gluten están fabricados por marcas de amplia distribución en

nuestro país. Todo ello hace probable que, salvo comidas preparadas en domicilio, puedan coincidir los valores estimatorios de As-i en los productos sin gluten con los consumidos.

En la encuesta *on-line* se insistía en cada página en la importancia del etiquetado para no contabilizar los productos sin gluten y sin arroz. Hicimos hincapié en ello ya que los estudios de Munera-Picazo y colaboradores (2014 a y b) demostraron que los niveles de As-i en los productos que no contenían arroz se encontraban por debajo de los límites de detección.

La estacionalidad de la dieta podría suponer un factor de confusión, pero esta variación sobre todo afecta a los tipos de variedades de frutas consumidas, agua, leche, zumo y helados. Podemos observar en el gráfico 11 los datos obtenidos del MAPAMA donde se indica que el arroz, pan, galletas y la pasta no presentan oscilaciones importantes de consumo estacional (MAPAMA, consultado en marzo de 2017).

***Gráfico 11**. Consumo (kg) per cápita en España desde agosto de 2015 hasta julio de 2016*



En definitiva, no creemos que la estacionalidad haya sido un sesgo para el presente estudio, ya que los alimentos que más contribuyen a la estimación de As-i en la dieta (pan, galletas, pasta con o sin gluten), así como arroz permanecen estables en su consumo a lo largo de todo el año. Otros productos que también influyen en la exposición dietética al As-i tienden a equilibrarse como es el caso de las bebidas (la leche con los derivados lácteos y el agua). En el caso de las frutas, consideramos que aunque existe un mayor

consumo en verano, este no tiene en cuenta la fracción comestible de la pieza, por lo que no interfiere con nuestros resultados.

Otra limitación que podría haber afectado los resultados de nuestro estudio, sería el hecho de que los entrevistados reconociesen una gran variedad de alimentos en su dieta habitual. Sin embargo, hemos comprobado en el recuerdo de 24 horas de nuestro centro que la dieta no suele ser especialmente variada.

La población diana del presente estudio es de ámbito nacional, si bien somos conscientes del sesgo de selección que supone el enviar la encuesta vía mail utilizando las plataformas de las asociaciones de celíacos. Esta metodología nos ha permitido acceder a un número importante de pacientes, pero existen muchos otros celíacos que no forman parte de estas asociaciones, por lo que puede no ser representativa del total de celíacos. Además en los últimos años las asociaciones de celiacos han emitido recomendaciones para el uso racional de arroz y derivados; esto implica que nuestra población de estudio pueda tener ya unos hábitos dietéticos modificados que no posean el resto de celíacos.

6.2.3 Estimación de la exposición dietética al As-i en una muestra de población infantil celíaca y no celíaca del Hospital Universitario Infanta Sofía. Determinación en orina de dicha población del As-i y metabolitos metilados

El recuerdo de 24 horas es un instrumento exhaustivo, amplio y completo, si bien está limitado por la capacidad de descripción y tiende a subestimar la ingesta. Hemos utilizado el modelo de recuerdo empleado en el proyecto ENALIA para limitar sesgos de recolección. Asimismo ofrecíamos a los participantes la posibilidad de enviar fotos por correo electrónico para poder aclarar las cantidades / etiquetados de los productos consumidos, hecho que facilitó la estimación de As-i en los recuerdos de 24 horas (Castell y cols., 2015).

La principal limitación del estudio es que empleamos para el análisis las referencias publicadas en vez de realizar estudio de dieta duplicada. Si bien creemos que combinar un recuerdo de 5 días y un CFC de alimentos limita los sesgos a la vez que facilita el cumplimento.

La gran mayoría de nuestros pacientes (y muchos de los niños en general) realizan la comida en el comedor escolar. Para tener en cuenta también este aspecto, recomendamos a los padres / tutores que nos lo indicaran también en la encuesta y así lo registraron.

Solicitamos también que nos indicaran las marcas y en muchos casos fotografías de los etiquetados de los productos sin gluten, dada la enorme variabilidad de composición entre distintas marcas e incluso entre diferentes productos de la misma marca. En caso de no contener arroz, no consideramos dicho alimento para el estudio (al no contar con una referencia fiable). Otro factor a considerar a la hora de interpretar nuestro resultados es el número de raciones de arroz (FDA 2016) y el consumo de pescado (Gil 2006; Navarro Serrano y cols., 2016). Estas variables se han intentado controlar con un análisis específico.

Otros sesgos posibles son los inherentes a los estudios de casos y controles como se detallan a continuación: el de selección se asocia a la voluntariedad de la participación. Hemos obtenido una participación del 85% en ambos grupos. Los casos celíacos están claramente implicados y motivados con la investigación. El grupo control fue reclutado en extracciones centrales y en consultas externas. La participación en el estudio no supuso una visita extraordinaria al hospital, ya que tenían que acudir a realizarse la extracción o al control en la consulta. Hemos reclutado a varios hermanos que acudían a consulta con el paciente o que venían simultáneamente por procesos distintos. Consideramos que la familiaridad no supone un sesgo ya que en la mayoría de las ocasiones la comida se realizaba en el comedor escolar, con distintas cantidades de ingesta referidas.

Respecto a la extrapolación de los resultados de la dieta en la población general, convendría resaltar que el área de influencia de nuestro hospital atiende a una población de nivel socio-cultural medio y medio-alta. Todos los participantes pertenecían a la misma área sociodemográfica, por lo que no consideramos que pudiera ser un factor de confusión para el análisis entre casos y controles. Este factor podría necesitar un ajuste por nivel sociocultural en otro contexto, ya que la dieta está claramente ligada al nivel de estudios y socioeconómico de los progenitores.

Finalmente, el sesgo de memoria se intenta minimizar insistiendo que el registro se complete el mismo día al que se refiere y el sesgo de medición se neutraliza ya que todas las muestras son analizadas por el mismo laboratorio y siguen el mismo circuito.

6.2.4 Estimación nacional de la ingesta dietética de As-i en población infantil no celíaca y comparación con la población infantil celíaca

El proyecto ENALIA está diseñado principalmente para valoración del estado nutricional de la población pediátrica, dando prioridad al estudio de la energía y desviaciones nutricionales. Sin embargo, y acorde a lo que la misma AECOSAN informa en su página web, al ser un estudio de dieta total tiene el potencial para detectar riesgos de exposición toxicológica.

Calculamos la exposición de la población general y de la población celíaca con los mismos valores referenciados para los alimentos que comparten en su dieta, por ello creemos que los niveles de As-i por día pueden compararse.

Para el cálculo contabilizamos sólo aquellos alimentos que tenían un número de ocasiones de consumo superior a 100 en cada grupo de edad, en orden a no sobreestimar la exposición de la población infantil general.

6.3 Exposición al As-i derivada de la dieta en población infantil celíaca en el ámbito nacional

La única referencia de estimación de exposición al As-i de origen dietético en población infantil celíaca es la de Munera-Picazo y colaboradores (2014a). Estos autores reportan una ingesta de As-i para una población de 2 y 3 años de 0,60-0,84 µg/kg p.c/d y de 0,61-0,78 µg/kg p.c/d para niños entre 4 y 5 años.

Si consideramos los límites superiores (LS) de la referencia de As-i en los alimentos (planteándonos marco más pesimista al igual que en dicho trabajo), encontramos unos valores de exposición al As-i superiores a los publicados en todos los grupos etarios.

En el grupo de 2 y 3 años obtuvimos una mediana de 1,38 µg/kg p.c/d (1,07- 1,69 µg/kg p.c/d, correspondientes al percentil 25 y 75 respectivamente), y para el grupo de 4- 9 años de 1,13 µg/kg p.c/d (0,77- 1,5 µg/kg p.c/d).

El grupo de 10 a 18 años, que no se considera en otros estudios, tuvo unos valores de exposición en global menores: 0,67 µg/kg p.c/d (0,47- 0,87 µg/kg p.c/d).

Queremos destacar que este planteamiento es conservador, ya que además de utilizar los límites superiores, pudimos sobreestimar el As-i que proviene de algunos productos como la leche o los derivados lácteos.

Lo más probable es que la exposición real se encuentre entre los valores mínimos o intermedios detallados previamente.

Precisamente estos valores inferiores (mediana y percentil 5) coinciden con los reportados para la población infantil general con consumos en percentil 95 por la EFSA en 2014. Aunque nuestras estimaciones de valores superiores están discretamente por encima de los máximos de la población europea menor de 18 años, se encuentran por otro lado muy alejados del límite superior establecido, recordemos: $BMDL_{01}$ (0,3-8 µg/kg p.c/d).

Sin embargo, si consideramos el límite inferior del $BMDL_{01}$, los niños menores de 10 años, y en especial los menores de 3 años, podrían tener un riesgo aumentado en todos los escenarios planteados. Esto supone que existen áreas de mejora para disminuir la exposición al As-i en este colectivo.

Investigando los valores máximos de cada grupo del estudio, nos parece importante reseñar que:

- En el grupo de 2-3 años los valores máximos se atribuyeron sobre todo a la ingesta referida de 500 ml de leche de arroz diaria.

- En el grupo de los 4 a los 9 años el máximo venía determinado por la ingesta abundante de derivados lácteos (aproximadamente 500 ml) y de arroz.

La diferencia entre el estudio de Munera-Picazo y el nuestro reside principalmente en que en dicho estudio se centran en la estimación de la exposición secundaria a los productos sin gluten de la dieta.

En nuestro trabajo estos grupos de alimentos fueron los responsables en el grupo de 2-3 años del 25,67% de la estimación de la exposición al As-i (6,37% arroz y 19,3 % productos sin gluten: harina, pan, bollería, galletas, cereales sin gluten y pasta). Entre 4 y 9 años de edad, los productos sin gluten y el arroz pueden explicar el 34,48% de la exposición al As-i (el arroz del 10,17%). En el grupo de mayor edad todavía tienen más peso: los productos sin gluten 30,17% y el arroz 11,15%. Dentro de los alimentos sin gluten, la pasta es la que más contribuye a la exposición; no porque fuera el alimento más consumido, sino porque tiene mayor cantidad de As-i que otros productos sin gluten y con arroz entre sus ingredientes. Este conjunto de alimentos (sin gluten y arroz) fueron los principales implicados, pero el resto de As-i lo aporta a la dieta otros alimentos consumidos por la población infantil en general.

Nuestros resultados son consistentes con los publicados en la literatura.

La EFSA (2014) señala en el grupo de 2 a 3 años que la leche (17%) y el de derivados de cereales distintos del arroz (11%) y agua (10%) son las principales fuentes de As-i en la dieta; La contribución del arroz a la dieta es del 7-14%. En el grupo de 4 a 9 años los derivados de cereales son también la principal fuente (17%), seguidos de leche y derivados (12%) y agua (8%).

En Italia, Cubadda y colaboradores (2016) detectan para menores de 3 años que las bebidas (agua y otras bebidas no alcohólicas, que incluyen zumos) son las más determinantes en la estimación de As-i en la dieta (37%) y otros grupos con aporte

significativo fueron la fruta (8%) y la leche y derivados (8%). Al arroz le atribuyen el 18% de la estimación de exposición por la ingesta y la pasta del 7%. En el grupo entre 3 y 10 años encuentran que los derivados de cereales contribuyen en un 41% a la exposición (dentro de este grupo, el arroz contribuye con un 14% y la pasta con 8%), en segundo lugar contribuyen las bebidas (agua y otras bebidas, con un 25%). Estos resultados son muy similares en el grupo de adolescentes y preadolescentes.

Teniendo en cuenta la contribución por grupo de alimentos a la ingesta de As-i, los productos sin gluten son los que mayor porcentaje aportan a la exposición en todos los rangos etarios en nuestro estudio. Esto es lógico ya que son los equiparables a los productos con trigo y derivados, que en otras encuestas han demostrado ser los principales implicados en la ingesta de As-i en población no celíaca (EFSA 2014, Cubadda y cols., 2016).

Para concluir este apartado, podríamos inferir que hemos detectado áreas de vulnerabilidad en este colectivo celíaco que deberían estudiarse con métodos más específicos (Dieta duplicada o Dieta total). A priori, interpretamos que podría reducir la exposición de As-i en la dieta limitando los niveles permitidos de As-i en el arroz destinado a la fabricación de productos sin gluten o bien incluyendo en ellos ingredientes alternativos al arroz (tipo maíz, leguminosas o pseudocereales), en especial en la pasta sin gluten. Asimismo una dieta variada mejoraría los márgenes de exposición para estos niños.

6.4 Estimación de la exposición al As-i en una muestra de niños del Hospital Universitario Infanta Sofía

La exposición estimada en nuestra población local está fuera de los límites máximos de exposición ($BMDL_{01}$: 0,3-8 µg/kg p.c/d) independientemente del método de cálculo empleado (cuestionario de frecuencia de consumo o recuerdo de 24 horas). Creemos importante señalar que en 4 casos (1 celíaco y 3 no celíacos) están incluso fuera del margen inferior, con otros dos casos muy próximos al límite inferior (no celíacos).

Si profundizamos en el análisis del sujeto del estudio que presenta una mayor estimación de ingesta, comprobamos que coincide con la mayor determinación de As en orina (51 µg/L). En su recuerdo de 24 horas se objetivó una ingesta de arroz en cuatro ocasiones (dos como guarnición y otras dos como plato principal), además de los productos sin gluten inherentes a su condición de celíaco. Según refiere la familia este consumo se atribuye a su tradición cultural (familia originaria de Latinoamérica) más que a su patología relacionada con gluten. Un mes después de aplicar algunas recomendaciones dietéticas para disminuir la exposición al As-i, se recogieron 3 muestras consecutivas de orina. Observamos un descenso en niveles de As-i y metabolitos metilados (16, 15 y 14 µg/L respectivamente).

Se ha publicado que la dieta sin gluten puede ser deficitaria en vitamina B12 y ácido fólico (Vahter y cols., 2007; Hall y cols., 2009). En nuestro caso no hemos documentado estas carencias en población celíaca ni en el grupo control. En todos los casos se encontraban normonutridos, por lo que estos factores no parecen alterar el metabolismo del As-i en este trabajo.

En los estudios realizados en EEUU (Raehsler y cols., 2017; Bulka y cols., 2017) señalan que la dieta sin gluten se correlaciona con unos niveles en sangre más altos de mercurio, plomo y cadmio. Esta co-exposición, que no hemos estudiado, sí puede modificar tanto el metabolismo como los efectos tóxicos del As-i.

Es importante señalar que el cuestionario *on-line* de frecuencia de consumo infraestima la exposición en el grupo control de nuestro trabajo. Sólo se investigan productos derivados de arroz, y en esta población, una de las principales fuentes de As-i son los

cereales con gluten, principalmente el trigo y sus derivados (EFSA 2014; Cubadda y cols., 2016). Por eso se ha excluido del análisis comparativo con respecto al grupo celíaco.

Podemos concluir por los recuerdos de 24 horas, que hay una mayor estimación de la exposición derivada de la dieta de As-i en población celíaca que en población infantil no celíaca en nuestro área de influencia. Sin embargo, esta exposición está fuera de los márgenes de riesgo máximos establecidos.

6.5 Relación entre cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y recuerdo de 24 horas en los niños del Hospital Universitario Infanta Sofía

En nuestra muestra total (población celiaca y no celiaca) y en los celíacos en particular, hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre la estimación de As-i diaria en la dieta en ambos métodos de estimación.

El cuestionario de frecuencia de consumo no incluía los productos con gluten, con lo cual en la población no celíaca se infraestimó la exposición al As-i. Sin embargo, el hecho de que en la muestra aparezcan hermanos de celíacos (que también consumen ocasionalmente productos sin gluten) ha podido contribuir a que se equiparen los resultados de la exposición dietética al As-i calculados por ambos métodos (frecuencia de consumo y recuerdo de 24 horas).

No hemos encontrado significación estadística cuando en la estimación de As-i se calculó por kg de peso corporal. Esto puede deberse al pequeño tamaño muestral o bien a la heterogeneidad de los grupos.

6.6 Niveles de As-i y metabolitos metilados en orina en la población infantil celíaca y no celíaca del Hospital Universitario Infanta Sofía

La técnica empleada para el análisis del As-i en orina (HG-AAS) es una técnica que detecta el As-i y sus metabolitos metilados, excluyendo del análisis las especies orgánicas arsenicales.

Bühl y colaboradores (2015) validan esta técnica en su población, con resultados similares a los obtenidos por la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente asociado a la cromatografía líquida de alta resolución con generación de hidruros.

Con este procedimiento detectamos DMA, que puede proceder de distintas fuentes: As-i de la dieta, DMA de la dieta o como metabolito de especies arsenicales orgánicas.

El DMA procedente del arroz se puede eliminar por la orina sin metabolizar e incluso se ha observado que el 90% del As en orina tras ingerir arroz con DMA y AS-i en relación 1:1 es DMA (Meharg y cols., 2014). Además se sabe que el DMA puede proceder del metabolismo de arsenolípidos y arsenoazúcares (Navas-Acien y cols., 2011).

Thomas y Bradham (2016) realizan una revisión del papel de estos metabolitos metilados en la exposición al arsénico. Resaltan que su metabolismo origina DMA potencialmente tóxico, así como la toxicidad in-vitro de dichas sustancias.

Taylor y colaboradores (2017) advierten del riesgo de la exposición al arsénico orgánico procedente de productos marinos; estas especies arsenicales se habían considerado tradicionalmente inocuas.

El DMA es por tanto un marcador tanto de ingesta de As-i como de As orgánico.

Las especies potencialmente tóxicas (MMA y DMA) también se encuentran en otros alimentos de manera significativa, siendo responsables del 89% del contenido total de arsénico en algas, del 20% en frutas y 45% en mariscos.

En nuestro trabajo es posible que se sobreestime la exposición al As-i. Para la estimación mediante el registro de 24 horas, como no podíamos diferenciar entre As-i y DMA urinario, hemos incluido el DMA del arroz estimado en sus cálculos (referencia aplicada para arroz = valor medio de As-i + DMA). No obstante esta determinación es menor que si hubiéramos empleado exclusivamente los valores máximos de As-i en arroz de Signes-Pastor y colaboradores (2016b). Ver anexo 4.

Sólo en dos casos hemos encontrado niveles de arsénico por debajo del límite de detección (<3 µg/L), un individuo celíaco y un control no celíaco. El resto de población estudiada tiene niveles por encima de dicho límite.

Estos hallazgos coinciden con otros estudios como el de Signes-Pastor y colaboradores (2016a) en el que detectan especies arsenicales (As-i, DMA y MMA) en más del 96% de las muestras.

Los niveles de As-i en orina tanto en población celíaca como no celíaca de nuestro estudio se encuentran por encima de la suma de As-i y metabolitos metilados del reciente estudio español realizado por Signes-Pastor y colaboradores (2016a) en los que el grupo de 4 años tiene una media de 4,76 µg/L y un percentil 75 de 7,45 µg/L y para el grupo de 7 años de 4,89 µg/L de media (percentil 75 de 7,56 µg/L); éstos a su vez son muy superiores a los de Aguilera (2010) de 1,17 µg/L y Rodríguez-Barranco y colaboradores (2016) 0.70 µg/L (0,58-0,85 µg/L).

Con respecto al estudio de Rodríguez-Barranco y colaboradores (2016), la diferencia con nuestros resultados es todavía mayor. La determinación de As-i en orina se realiza por la misma técnica que en nuestro estudio (HG-AAS), con un modelo de espectrofotómetro posterior de la misma marca comercial que el empleado en el presente estudio.

En nuestro grupo de pacientes celíacos, la media de detección de As-i y sus metabolitos metilados es superior a la del grupo de pacientes no celíacos, sin embargo, no alcanza la significación estadística. Hemos analizado los hábitos de consumo en población infantil (celíaca y no celíaca) que podrían influir en estos resultados. En los niños incluidos, salvo un caso celíaco, el arroz forma parte de su dieta en alguno de los 5 días de registro. El caso celíaco que no toma arroz, toma 2 vasos de bebida a base de arroz en estos días. El consumo de arroz se realiza en los primeros tres últimos días del estudio en 13 de 15

celíacos y en 9 de los 10 no celíaco. Además toda la muestra del estudio ha tomado pescado o productos marinos durante el periodo de estudio en mayor o menor medida. En los últimos 3 días de registro ingieren pescado 13 de los 16 celíacos y 8 de los 10 controles no celíacos.

Rodríguez-Barranco y colaboradores (2015) también incluyen en su investigación un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos. No encuentran diferencias significativas entre niveles de As en orina discriminando entre mayores o menores de percentil 75 con los distintos alimentos estudiados.

Un trabajo previo publicado por dicho grupo compara la exposición a metales pesados, en población infantil y adulta de un área minera del sur de España, con población general andaluza. En este caso, sí se encontró una relación entre consumo de determinados alimentos (mejillones y sardinas) y niveles superiores de As en orina (Gil y cols., 2006), aunque los niveles de As-i y metabolitos metilados en orina también eran significativamente inferiores a los referidos en la literatura y los que encontramos nosotros.

En nuestra muestra, tanto en el grupo de celíacos como el de no celíacos, encontramos niveles de As-i y metabolitos metilados en orina superiores a los referidos en la literatura. Posiblemente una gran parte se corresponda con DMA que procede del arroz, de los productos marinos y del metabolismo del As-i. No podemos hacer una correlación entre la estimación de la ingesta y la excreción urinaria. El recuerdo de 24 horas es un registro longitudinal y la muestra de orina un corte transversal. Además, aunque utilizamos las referencias de As-i, no conocemos las de las fracciones potencialmente tóxicas de los alimentos pero las detectamos en orina. Sin embargo, en el anexo 4.1 y 4.2 podemos ver que en general, se asemejan a la ingesta estimada el segundo y tercer día del registro, salvo algunas excepciones en las que no se correlaciona con ninguna estimación. Esto se corresponde a lo publicado en la literatura, que estima que el As-i se excreta entre 3-5 días tras su ingesta.

El DMA es menos tóxico que el As-i, pero está clasificado como posible carcinogénico (grupo 2B) (IARC 2012) y se ha relacionado con la aparición de patología gastrointestinal y tiroidea entre otras. Nuestros resultados tienen una significación clínica incierta; por tanto requieren un estudio ulterior con técnicas de especiación más específicas que nos permitan determinar adecuadamente el porcentaje de As-i, DMA y MMA.

6.7 Estimación de exposición de población infantil residente en España no celíaca y comparación con la población celíaca

En el momento de la elaboración de la tesis no se han publicado los datos de peso y talla para cada grupo del estudio ENALIA. Por ello hemos comparado la cantidad ingerida total para cada grupo de edad (µg/d de As-i) con el estudio ENALIA. Por otro lado hemos analizado la exposición por kg de peso corporal con respecto a los estudios españoles (resumidos en tabla 22):

- EnKid: llevado a cabo entre 1998 y 2000.
- Estudio AESAN_FIAB: entre 1999 y 2001.
- NUT_INK05 realizado ente 2004 y 2005.

La estimación de la exposición dietética al As-i en la población celíaca es equiparable a la de aquellos niños con un consumo elevado de alimentos (en un percentil 95).

Tabla 22. *Comparativa entre el estudio actual y las referencias nacionales pediátricas empleadas en el informe EFSA.*

	Infantil Celíaca		**Infantil nacional**				Encuesta de referencia
	p50 consumo (µg/d)		p50 consumo (µg/d)		p95 consumo (µg/d)		
	As-i medio	As-i max	As-i medio	As-i max	As-i medio	As-i max	
< 3 años	0,95	1,38	0,3	0,52	0,89	1,25	***enKid***
4-9 años	0,72	1,33	0,52	0,74	0,89	1,25	***enKid***
			0,5	0,71	0,84	1,1	***NUT_INK05***
10-18 años	0,42	0,67	0,3	0,43	0,54	0,77	***enKid***
			0,31	0,44	0,54	0,7	***NUT_INK05***
			0,24	0,34	0,39	0,55	***AESAN_FIAB***

El estudio ENALIA aporta hábitos dietéticos más recientes y compartimos con él varios recursos metodológicos. Cuando comparamos ambos estudios, la población infantil celíaca se encuentra más próxima al nivel de consumo general medio de alimentos que a los de elevado consumo. La explicación de estos resultados podría ser que hayan cambiado los hábitos de consumo en la población con un aumento de consumo de arroz y otros grupos (derivados lácteos y bollería) que intervienen de manera importante en la

exposición a As-i. Quedaría pendiente, una vez publicados los pesos de dicho estudio, realizar el cálculo ajustado por kg de peso corporal para poder comparar nuestros datos de manera más específica.

En cualquier caso, consideramos que la estimación de la ingesta de As-i en la población infantil española (celíaca y general) está por debajo del límite máximo de margen de exposición establecido ($BMDL_{01}$: 0,3-8 µg/kg p.c/d).

6.8 Implicaciones teóricas y prácticas del estudio

La exposición al As-i de la población infantil celíaca secundaria a la dieta se encuentra por debajo del límite máximo establecido por los organismos internacionales.

Sin embargo existen algunas puntualizaciones al respecto:

1.- Hemos detectado riesgos individuales en el estudio.

2.- Si consideramos el límite inferior del $BMDL_{01}$ (0,3 µg/kg p.c/d), existe cierto riesgo de exposición, sobre todo en los niños de menor edad, que habría que estudiar más profundamente con las herramientas apropiadas. En caso de confirmarse esta vulnerabilidad, se deberían valorar una serie de medidas a nivel institucional para disminuir esta exposición.

En los individuos de nuestro estudio con mayor estimación de exposición al As-i, algunas recomendaciones sencillas como un consumo moderado de leche de arroz (máximo 500 ml al día) o una dieta más variada, podrían disminuir el riesgo de exposición. Además, se podría reducir simultáneamente la exposición a otros tóxicos y evitar deficiencias nutricionales habituales en la población infantil, como vitamina B12 o micronutrientes.

El principal grupo de alimentos que influye en la exposición al As-i en la dieta de los pacientes celíacos son los productos manufacturados sin gluten, y dentro de este grupo la pasta. Creemos oportuno una monitorización continuada de dichos productos, no sólo por parte de las Asociaciones de Celíacos (que también realizan su análisis particular) sino desde las distintas agencias sanitarias. Consideramos que debería valorarse una mejora en el etiquetado, que incluyera el porcentaje de arroz.

Si el arroz destinado a esos productos tiene la mínima cantidad de As-i posible (≤100 µg/kg), equiparándolo a los productos específicamente destinados a población infantil o a las tortitas de arroz, esta exposición será incluso menor. Asimismo el empleo de otros cereales, legumbres o pseudocereales también pueden disminuir el contenido de As-i en estos productos y enriquecer el valor nutricional de la dieta sin gluten.

Para la población infantil del área de influencia de nuestro hospital, el riesgo de exposición estimado al As-i procedente de la dieta se encuentra también fuera de los límites de riesgo; en algunos casos, incluso por debajo del límite inferior. El hallazgo de niveles de arsénico urinario (As-i + DMA + MMA) superiores a los referidos en la literatura requieren un estudio y análisis ulterior.

Si bien consideramos que gran parte de As-i detectado es DMA, esta sustancia no es inocua y habría que investigar cómo podemos disminuir esta exposición en nuestra población.

Con respecto a la población infantil de España, la población celíaca se agrupa en el conjunto de individuos con mayor cantidad de ingesta de As-i en su dieta, aunque como hemos mencionado, lejos del margen superior de exposición. Llama la atención que si nos atenemos al consumo total por grupos etarios, en el último estudio de dieta total realizado (ENALIA), la población celíaca se encuentra próxima a los valores de ingesta de la población general para cada grupo.

Creemos que la población infantil se puede beneficiar de recomendaciones sencillas que disminuyan la exposición al As-i como son:

- Fomentar una dieta lo más variada posible, como se ha comentado para el colectivo celíaco. Introducir en la alimentación nuevos cereales y pseudocereales, así como aumentar la frecuencia de las legumbres.
- Recomendar un consumo máximo de arroz de dos veces por semana.
- Recomendar un consumo racional de bebidas vegetales de arroz y tortitas de arroz, con especial precaución en los niños de menor edad.
- Emplear variedades de procedencia nacional y ocasionalmente variedades integrales o ecológicas.
- Lavar el arroz antes de su cocción y hervir el arroz con doce partes de líquido con respecto a su volumen.

Para concluir, dado que los niveles establecidos en la legislación actual son provisionales, habría que valorar la seguridad real de los mismos o si precisan de modificaciones, como sugieren algunos expertos.

6.9 Sugerencias para próximos estudios

1.- Los conocimientos de la exposición al As-i relacionados con la dieta sin gluten son limitados en la literatura. Aunque los niños son más susceptibles a la exposición y toxicidad del As-i, resulta interesante ampliar un cribado como el realizado aquí en adultos, tanto a nivel nacional como local.

2.- Para profundizar en este campo, sería imprescindible realizar estudios más específicos y con un diseño adecuado como la dieta duplicada o la dieta total, con una muestra representativa de la población celíaca.

3.- Parece oportuno continuar con el estudio As-i en orina como marcador de la exposición dietética de As-i en los niños celíacos y no celíacos con técnicas de detección más específicas, correlacionándolo con la ingesta de los días previos.

4.- Por último, consideramos que sería útil realizar una estimación más detallada en población infantil a nivel nacional, utilizando los datos del estudio de dieta total ENALIA, con determinación de As-i en las muestras consumidas por la población infantil española.

7. CONCLUSIONES

7. Conclusiones

1.- La exposición estimada al As-i procedente de la dieta en población infantil celíaca es superior a la población infantil no celíaca, pero se encuentra por debajo del límite superior establecido como seguro (8 µg/kg p.c/d). Este hallazgo lo corroboramos en los niños celíacos y no celíacos del Hospital Universitario Infanta Sofía.

2.- En la población infantil celíaca, los alimentos que más contribuyen a la exposición dietética al As-i son los productos manufacturados sin gluten, y dentro de este grupo, la pasta (probablemente por la harina de arroz que contiene). La regulación del As-i máximo del arroz destinado para la elaboración de este tipo de alimentos podría disminuir la exposición en este colectivo.

3.- El cuestionario de frecuencia de consumo *on-line* diseñado para el estudio se correlaciona con la ingesta estimada de As-i mediante recuerdo de 24 horas en la muestra del Hospital Universitario Infanta Sofía.

4.- Los niños de nuestro centro (celíacos y no celíacos) presentan unos niveles de As-i y sus metabolitos metilados en orina superiores a los publicados en la literatura. Esto puede deberse a la presencia de DMA procedente del consumo de arroz, productos marinos y del metabolismo del As-i.

5.- La población infantil celiaca nacional tiene unos niveles de exposición similares a los de la población general, con unos niveles altos de consumo de alimento.

6.- Dado que algunos niños celíacos podrían estar en riesgo por la exposición al As-i procedente de la dieta sin gluten, sería recomendable realizar estudios más concluyentes. La legislación actual es provisional y las autoridades sanitarias deberían considerar incluir en la misma el contenido de arroz destinado a los productos sin gluten, al igual que su monitorización de manera rutinaria.

INDICE DE TABLAS Y DE GRÁFICOS

Índice de tablas

Índice de gráficos

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

AECOSAN. *ATLAS FOTOGRÁFICO ENALIA*. Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/atlas_enalia.pdf (Accedido: 24 de marzo de 2017).

AECOSAN. *Proyecto ENALIA. Datos de consumo de la población infantil de 12-35 meses.* Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/Consumo_12_36_meses.pdf (Accedido: 24 de marzo de 2017).

AECOSAN. *Proyecto ENALIA. Datos de consumo de la Población Infantil de 3 -9 años.* Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/Consumo_3_9_anios.pdf (Accedido: 24 de marzo de 2017).

AECOSAN . *Proyecto ENALIA. Datos de consumo de población Infantil de 10 -17 años.* Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/Consumo_10_17_anios.pdf (Accedido: 24 de marzo de 2017).

Agència de Salut Pública de Catalunya. Dirigido por Domingo Roig, J., Llobet. M. J. y cols. (2015) *Contaminantes químicos. Estudio de dieta total en Cataluña, 2012*.Disponible en: http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir1593/dieta_total_quimics_es.pdf. (Accedido: 27 de junio de 2016).

Alamolhodaei, N. S., Shirani, K. y Karimi, G. (2015) «Arsenic cardiotoxicity: An overview.», *Environmental toxicology and pharmacology*, 40(3), pp. 1005-1014. doi: 10.1016/j.etap.2015.08.030.

Aranceta Bartrina, J. P. R. C., Aresti, G. A., Moreiras, G. V. y cols. (2015) «Controversias sobre los estudios poblacionales, clínicos o de investigación básica relacionados con la alimentación, nutrición, actividad física y estilos de vida», *NUTRICION HOSPITALARIA*, 31(s03), pp. 15-21. doi: 10.3305/NH.2015.31.SUP3.8746.

ATSDR, 2007. Deparmento of Health and Human Services, Atlanta, G. (2007) «TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ARSENIC».

Borghini, A., Faita, F., Mercuri, A. y cols. (2016) «Arsenic exposure, genetic susceptibility and leukocyte telomere length in an Italian young adult population.», *Mutagenesis*.31(5):539-546 doi: 10.1093/mutage/gew017.

Brima, E. I., Jenkins, R. O. y Haris, P. I. (2006) «Understanding arsenic metabolism through spectroscopic determination of arsenic in human urine», *Spectroscopy*, 20, pp. 125-151.

Bühl, V., Álvarez, C., Kordas, K. y cols. (2015) «Development of a Simple Method for the Determination of Toxicologically Relevant Species of Arsenic in Urine Using HG-AAS», *Journal of Environment Pollution and Human Health*, 3(2), pp. 46-51. doi: 10.12691/jephh-3-2-4.

Bulka, C. M., Davis, M. A., Karagas, M. R., y cols. (2017) «The Unintended Consequences of a Gluten-Free Diet», *Epidemiology , 28(3)pp e24-e25*. doi: 10.1097/EDE.0000000000000640.

Bundschuh, J., Nath, B., Bhattacharya, P. y cols. (2012) «Arsenic in the human food chain: the

Latin American perspective», *Science of The Total Environment*, 429, pp. 92-106. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.09.069.

Carlin, D. J., Naujokas, M. F., Bradham, K. D., y cols.(2016) «Arsenic and Environmental Health: State of the Science and Future Research Opportunities», *Environmental Health Perspectives*, 124(7), pp. 890-899. doi: 10.1289/ehp.1510209.

Carrieri M y Trevisan A, B. G. (2001) «Adjustment to concentration-dilution of spto urine sanmples: correlation between specific gravity and creatinine», *Int Arch Occup Environ Health*, 74, pp. 63-67.

Cascio, C., Raab, A., Jenkins, R. O. y cols. (2011) «The impact of a rice based diet on urinary arsenic.», *Journal of environmental monitoring : JEM*, 13(2), pp. 257-265. doi: 10.1039/c0em00482k.

Castell, G. S., Majem, L. S. y Ribas-Barba, L. (2015) «¿Qué y cuánto comemos? El método Recuerdo de 24 horas», *Rev Esp Nutr Comunitaria*, 21(1), pp. 42-44. doi: 10.14642/RENC.2015.21.sup1.5049.

Cenit, M. C., Olivares, M., Codoñer-Franch, P. y cols. (2015) «Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution?», *Nutrients*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 7(8), pp. 6900-6923. doi: 10.3390/nu7085314.

Cilleruelo, M. L., Roman-Riechmann, E., Sanchez-Valverde, F. y cols. (2014) «Spanish National Registry of Celiac Disease: Incidence and Clinical Presentation», *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 59(4), pp. 522-525. doi: 10.1097/MPG.0000000000000446.

Cubadda, F., D ’amato, M., Aureli, F. y cols. (2016) «Dietary exposure of the Italian population to inorganic arsenic: The 2012–2014 Total Diet Study», *Food and Chemical Toxicology*, 98 (PtB), pp. 148-158. doi: 10.1016/j.fct.2016.10.015.

Cubadda, F., Jackson, B. P., Cottingham, K. L. y cols. (2017) «Human exposure to dietary inorganic arsenic and other arsenic species: State of knowledge, gaps and uncertainties», *Science of the Total Environment*, 579, pp. 1228-1239. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.11.108.

Chávez-Capilla, T., Beshai, M., Maher, W. y cols. (2016) «Bioaccessibility and degradation of naturally occurring arsenic species from food in the human gastrointestinal tract», *Food Chemistry*, 212, pp. 189-197. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.05.163.

European Food Safety Authority (2010) «Scientific Opinion on Arsenic in Food», *EFSA Journal*, 7(10), p. 1351. doi: 10.2903/j.efsa.2009.1351.

European Food Safety Authority (2014) «Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. European Food Safety Authority», *EFSA Journal*, 12(3):3597(68pp). doi: 10.2903/j.efsa.2014.3597.

Fontcuberta, M., Calderon, J., Villalbí, J. R. y cols (2011) «Total and Inorganic Arsenic in Marketed Food and Associated Health Risks for the Catalan (Spain) Population», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), pp. 10013-10022. doi: 10.1021/jf2013502.

Francesconi, K. A. (2005) «Current Perspectives in Arsenic Environmental and Biological Research», *Environmental Chemistry*. CSIRO PUBLISHING, 2(3), p. 141. doi: 10.1071/EN05042.

Gil, F., Capitán-Vallvey, L. F., De Santiago, E. y cols. (2006) «Heavy metal concentrations in the

general population of Andalusia, South of Spain», *Science of The Total Environment*, 372(1), pp. 49-57. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.08.004.

Gray, P. J., Conklin, S. D., Todorov, T. I. y Kasko, S. M. (2016) «Cooking rice in excess water reduces both arsenic and enriched vitamins in the cooked grain.», *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 33(1), pp. 78-85. doi: 10.1080/19440049.2015.1103906.

Hakala, E. y Pyy, L. (1995) «Assessment of exposure to inorganic arsenic by determining the arsenic species excreted in urine.», *Toxicology letters*, 77(1-3), pp. 249-258.

Hall, M., Gamble, M., Slavkovich, V. y cols. (2007) «Determinants of arsenic metabolism: blood arsenic metabolites, plasma folate, cobalamin, and homocysteine concentrations in maternal-newborn pairs.», *Environmental health perspectives*, 115(10), pp. 1503-1509. doi: 10.1289/ehp.9906.

Hall, M. N., Liu, X., Slavkovich, V., y cols. (2009) «Folate, Cobalamin, Cysteine, Homocysteine, and Arsenic Metabolism among Children in Bangladesh.», *Environmental health perspectives*, 117(5), pp. 825-831. doi: 10.1289/ehp.0800164.

Hasanato, R. M. y Almomen, A. M. (2015) «Unusual presentation of arsenic poisoning in a case of celiac disease.», *Annals of Saudi medicine*, 35(2), pp. 165-167. doi: 10.5144/0256-4947.2015.165.

Hata, A., Kenzo, Y., Ahsan, M., y cols. (2012) «Arsenic speciation analysis of urine samples from individuals living in an arsenic-contaminated area in Bangladesh», *Environ Health Prev Med*, 17, pp. 235-245. doi: 10.1007/s12199-011-0247-5.

Heitland, P. y Kisster, H. D. (2008) «Fast Determination of Arsenic Species and Total Arsenic in Urine by HPLC-ICP-MS: Concentration Ranges for Unexposed German Inhabitants and Clinical Case Studies», *Journal of Analytical Toxicology*, 32, pp. 308-314.

Hojsak, I., Braegger, C., Bronsky, J., y cols. y ESPGHAN Committee on Nutrition (2015) «Arsenic in rice: a cause for concern.», *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 60(1), pp. 142-145. doi: 10.1097/MPG.0000000000000502.

Horner, N. S. y Beauchemin, D. (2013) «The effect of cooking and washing rice on the bio-accessibility of As, Cu, Fe, V and Zn using an on-line continuous leaching method», *Analytica Chimica Acta*, 758, pp. 28-35. doi: 10.1016/j.aca.2012.11.011.

Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y. y cols. (2011) «Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective», *TOXICOLOGICAL SCIENCES*, 123(2), pp. 305-332. doi: 10.1093/toxsci/kfr184.

Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabó, I. R. y cols. (2012) «ESPGHAN Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease in Children and Adolescents», *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 54(1), pp. 136-160. doi: 10.1097/MPG.0b013e31821a23d0.

International Agency for Research of Cancer (2012) «Arsenic and arsenic compounds», *IARC Monographs -100C*.

Kippler, M., Skröder, H., Rahman, S. M. y cols. (2016) «Elevated childhood exposure to arsenic despite reduced drinking water concentrations — A longitudinal cohort study in rural Bangladesh», *Environment International*, 86, pp. 119-125. doi: 10.1016/j.envint.2015.10.017.

Kordas, K., Queirolo, E. I., Mañay, N. y cols. (2016) «Low-level arsenic exposure: Nutritional and

dietary predictors in first-grade Uruguayan children», *Environmental Research*, 147, pp. 16-23. doi: 10.1016/j.envres.2016.01.022.

Kurzius-Spencer, M., Burgess, J. L., Harris, R. B. y cols. (2014) «Contribution of diet to aggregate arsenic exposures-An analysis across populations», *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 24(2).pp. 156-162 doi: 10.1038/jes.2013.37.

Le, X. C., Ma, M., Cullen, W. R. y cols. (2000) «Determination of monomethylarsonous acid, a key arsenic methylation intermediate, in human urine.», *Environmental health perspectives*, 108(11), pp. 1015-1018.

Lee, C.-H. y Yu, H.-S. (2016) «Role of mitochondria, ROS, and DNA damage in arsenic induced carcinogenesis.», *Frontiers in bioscience (Scholar edition)*, 8, pp. 312-320.

Löveborn, H. S., Kippler, M., Lu, Y. y cols. (2016) «Arsenic metabolism in children differs from that in adults», *Toxicological Sciences*, 152(1), pp. 29-39.

Lovreglio, P., D'Errico, M. N., De Pasquale, P. y cols (2012) «Environmental factors affecting the urinary excretion of inorganic arsenic in the general population.», *La Medicina del lavoro*, 103(5), pp. 372-381.

Lu, Y., Adomako, E. E., Solaiman, A. R. M. y cols. (2009) «Baseline Soil Variation Is a Major Factor in Arsenic Accumulation in Bengal Delta Paddy Rice», *Environmental Science & Technology*, 43(6), pp. 1724-1729. doi: 10.1021/es802794w.

MAPAMA *[Base de datos de consumo en hogares] - Alimentación - magrama.gob.es*. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/consulta.asp (Accedido: 28 de marzo de 2017).

Marcos, S. V, Rubio, M. J., Sanchidrián, F. R. y cols. (2016) «Spanish National dietary survey in adults, elderly and pregnant women», *EFSA Supporting Publications*, 13(6)23pp. doi: 10.2903/SP.EFSA.2016.EN-1053.

Marín, S., Pardo, O., Báguena, R. y cols (2016) «Dietary exposure to trace elements and health risk assessment in the Region of Valencia (Spain). A Total Diet Study», *Food Additives & Contaminants: Part A*. Taylor & Francis, p. 19440049.2016.1268273. doi: 10.1080/19440049.2016.1268273.

Marugán de Miguelsanz, J. M. y Alonso Vicente, C. (2015) «[Is the gluten-free diet nutritionally adequate in patients with coeliac disease?]», *Anales de pediatria (Barcelona, Spain : 2003)*, 83(6), pp. 449-450. doi: 10.1016/j.anpedi.2015.07.033.

Meharg, A. A., Williams, P. N., Deacon, C. M. y cols. (2014) «Urinary excretion of arsenic following rice consumption», *Environmental Pollution*. Elsevier Ltd, 194, pp. 181-187.

Melkonian, S., Argos, M., Hall, M. N., y cols. (2013) «Urinary and Dietary Analysis of 18,470 Bangladeshis Reveal a Correlation of Rice Consumption with Arsenic Exposure and Toxicity», *PLoS ONE 8(11): e80691. doi:10.1371/journal.pone.0080691*.

Middleton, D. R. S., Watts, M. J., Lark, R. M. y cols. (2016) «Assessing urinary flow rate, creatinine, osmolality and other hydration adjustment methods for urinary biomonitoring using NHANES arsenic, iodine, lead and cadmium data», *Environmental Health*, 15, p. 68. doi: 10.1186/s12940-016-0152-x.

Munera-Picazo, S., Burló, F. y Carbonell-Barrachina, Á. A. (2014) «Arsenic speciation in rice-based food for adults with celiac disease», *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 31(8), pp. 1358-1366. doi: 10.1080/19440049.2014.933491.

Munera-Picazo, S., Ramírez-Gandolfo, A., Burló, F. y cols. (2014) «Inorganic and Total Arsenic Contents in Rice-Based Foods for Children with Celiac Disease», *Journal of Food Science*, 79(1), pp. T122-T128. doi: 10.1111/1750-3841.12310.

Nachman, K. E., Ginsberg, G. L., Miller, M. D. y cols. (2017) «Mitigating dietary arsenic exposure: Current status in the United States and recommendations for an improved path forward», *Science of The Total Environment*.581-582:221-235. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.112.

Nadal, I., Donant, E., Ribes-Koninckx, C.y cols. (2007) «Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease», *Journal of Medical Microbiology*, 56(12), pp. 1669-1674. doi: 10.1099/jmm.0.47410-0.

National Research Council (2013) *Critical Aspects of EPA's IRIS Assessment of Inorganic Arsenic*. Washington, D.C.: National Academies Press. doi: 10.17226/18594.

Navarro Serrano, I., Llorente Ballesteros, M. T., Sánchez Fernádez Pacheco, S.y cols. (2016) «Total and speciated urinary arsenic levels in the Spanish population», *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 571, pp. 164-171. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.134.

Navas-Acien, A., Francesconi, K. A., Silbergeld, E. K. y cols. (2011) «Seafood intake and urine concentrations of total arsenic, dimethylarsinate and arsenobetaine in the US population», *Environmental Research*, 111(1), pp. 110-118. doi: 10.1016/j.envres.2010.10.009.

Nermell, B., Lindberg, A. L., Rahman, M. y cols. (2008) «Urinary arsenic concentration adjustment factors and malnutrition», *Environmental Research*, 106, pp. 212-218. doi: 10.1016/j.envres.2007.08.005.

Penagini, F., Dilillo, D., Meneghin, F. y cols. (2013) «Gluten-free diet in children: an approach to a nutritionally adequate and balanced diet.», *Nutrients*, 5(11), pp. 4553-4565. doi: 10.3390/nu5114553.

Peng, Q., Harlow, S. D. y Park, S. K. (2015) «Urinary arsenic and insulin resistance in US adolescents.», *International journal of hygiene and environmental health*. NIH Public Access, 218(4), pp. 407-413. doi: 10.1016/j.ijheh.2015.03.006.

Pérez Rodrigo, C., Aranceta, J., Salvador, G. y cols. (2015) «Métodos de Frecuencia de consumo alimentario», *Rev Esp Nutr Comunitaria*, 21(1), pp. 45-52. doi: 10.14642/RENC.2015.21.sup1.5050.

Peters, B. A., Hall, M. N., Liu, X. y cols. (2014) «Creatinine, arsenic metabolism, and renal function in an arsenic-exposed population in Bangladesh.», *PloS one*. Public Library of Science, 9(12), p. e113760. doi: 10.1371/journal.pone.0113760.

Peters, B. A., Hall, M. N., Liu, X. y cols. (2015) «Folic Acid and Creatine as Therapeutic Approaches to Lower Blood Arsenic: A Randomized Controlled Trial.», *Environmental health perspectives*. National Institute of Environmental Health Science, 123(12), pp. 1294-1301. doi: 10.1289/ehp.1409396.

Piñol, S., Sala, A., Guzman, C. y cols. (2015) «Arsenic levels in immigrant children from countries at risk of consuming arsenic polluted water compared to children from Barcelona», *Environmental Monitoring and Assessment, 187(11):661(9pp)*. doi: 10.1007/s10661-015-4869-8.

Raehsler, S. L., Choung, R. S., Marietta, E. V. y cols. (2017) «Accumulation of Heavy Metals in People on a Gluten-Free Diet», *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. doi: 10.1016/j.cgh.2017.01.034.

Rivera-Núñez, Z., Meliker, J. R., Linder, A. M. y cols. (2010) «Reliability of spot urine samples in assessing arsenic exposure», *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213, pp. 259-264. doi: 10.1016/j.ijheh.2010.03.003.

Rodríguez-Barranco, M., Gil, F., Hernández, A. F. y cols. (2016) «Postnatal arsenic exposure and attention impairment in school children», *Cortex*, (74), pp. 370-382. doi: 10.1016/j.cortex.2014.12.018.

Rojas, D., Rager, J. E., Smeester, L. y cols. (2015) «Prenatal Arsenic Exposure and the Epigenome: Identifying Sites of 5-methylcytosine Alterations that Predict Functional Changes in Gene Expression in Newborn Cord Blood and Subsequent Birth Outcomes», *Toxicological Sciences*, 143(1), pp. 97-106. doi: 10.1093/toxsci/kfu210.

Salazar Quero, J. C., Espín Jaime, B., Rodríguez Martínez, A. y cols. (2015) «Valoración nutricional de la dieta sin gluten. ¿Es la dieta sin gluten deficitaria en algún nutriente?», *Anales de Pediatría*, 83(1), pp. 33-39. doi: 10.1016/j.anpedi.2014.08.011.

Shen, H., Niu, Q., Xu, M. y cols. (2016) «Factors Affecting Arsenic Methylation in Arsenic-Exposed Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis.», *International journal of environmental research and public health*, 13(2), pp 205. doi: 10.3390/ijerph13020205.

Shepherd, S. J. y Gibson, P. R. (2013) «Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease», *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, (26), pp. 349-358. doi: 10.1111/jhn.12018.

Signes-Pastor, A.J., Carey, M., Vioque, J. et al.-P. y cols (2016a) «Urinary Arsenic Speciation in Children and Pregnant Women from Spain», *Exposure and Health*,7 pp. doi: 10.1007/s12403-016-0225-7.

Signes-Pastor, A. J., Carey, M., Carbonell-Barrachina, A. A.y cols. (2016b) «Geographical variation in inorganic arsenic in paddy field samples and commercial rice from the Iberian Peninsula», *Food Chemistry*, (202), pp. 356-363. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.01.117.

Signes-Pastor, A. J., Carey, M. y Meharg, A. A. (2016c) «Inorganic arsenic in rice-based products for infants and young children», *Food Chemistry*, 191, pp. 128-134. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.078.

Steinmaus, C., Carrigan, K., Kalman, D. y cols. (2005) «Dietary intake and arsenic methylation in a U.S. population.», *Environmental health perspectives*. National Institute of Environmental Health Science, 113(9), pp. 1153-1159. doi: 10.1289/EHP.7907.

Taylor, V., Goodale, B., Raab, A. y cols. (2017) «Human exposure to organic arsenic species from seafood», *Science of The Total Environment*, 580, pp. 266-282. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.113.

Thomas, D. J. y Bradham, K. (2016) «Role of complex organic arsenicals in food in aggregate exposure to arsenic», *Journal of Environmental Sciences*, 49, pp. 86-96. doi: 10.1016/j.jes.2016.06.005.

Tseng, C.H. (2007) «Arsenic Methylation, Urinary Arsenic Metabolites and Human Diseases:

Current Perspective», *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 25(1), pp. 1-22. doi: 10.1080/10590500701201695.

Tsuji, J. S., Garry, M. R., Perez, V. y cols. (2015) «Low-level arsenic exposure and developmental neurotoxicity in children: A systematic review and risk assessment», *Toxicology*, (337), pp. 91-107. doi: 10.1016/j.tox.2015.09.002.

U.S Food and Drug Administration (2016) *Arsenic in Rice and Rice Products Risk assesment report. Disponible en :*
http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/default.htm. Arsenic.(Accedido:15 de septiembre de 2016).

Unión Europea (2015) *REGLAMENTO (UE) 2015/ 1006 DE LA COMISIÓN - de 25 de junio de 2015 - sobre el control del arsénico en los alimentos*.

Unión Europea (2015) RECOMENDACIÓN (UE) 2015/1381 DE LA COMISIÓN d*e 10 de agosto de 2015 sobre el control de arsénico en los alimentos.*

Vahter, M. y Concha, G. (2001) «Role of metabolism in arsenic toxicity.», *Pharmacology & toxicology*, 89(1), pp. 1-5.

Vahter, M. (2002) «Mechanisms of arsenic biotransformation», *Toxicology*, 181182, pp. 211-217.

Vahter, M. E. (2007) «Interactions between arsenic-induced toxicity and nutrition in early life.», *The Journal of nutrition*, 137(12), pp. 2798-2804.

Verdu, E. F., Galipeau, H. J. y Jabri, B. (2015) «Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota.», *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*. NIH Public Access, 12(9), pp. 497-506. doi: 10.1038/nrgastro.2015.90.

Wang, X., Liu, Y. y Zheng, J. (2016) «Removal of As(III) and As(V) from water by chitosan and chitosan derivatives: a review.», *Environmental science and pollution research international*, 23(14), pp. 13789-13891. doi: 10.1007/s11356-016-6602-8.

Xue, J., Zartarian, V., Wang, S.-W., Liu, S. V y cols. (2010) «Probabilistic Modeling of Dietary Arsenic Exposure and Dose and Evaluation with 2003-2004 NHANES Data.», *Environmental health perspectives*, 118(3), pp. 345-350. doi: 10.1289/ehp.0901205.

Yamauchi, H., Takahashi, K., Mashiko, M. y cols. (1992) «Intake of different chemical species of dietary arsenic by the japanese, and their blood and urinary arsenic levels», *Applied Organometallic Chemistry*. John Wiley & Sons Ltd., 6(4), pp. 383-388. doi: 10.1002/aoc.590060412.

Yassine, H., Kimzey, M. J., Galligan, M. A. y cols. (2012) «Adjusting for Urinary Creatinine Overestimates Arsenic Concentrations in Diabetics.», *Cardiorenal medicine*. Karger Publishers, 2(1), pp. 26-32. doi: 000334225.

Yost, L. J., Tao, S.-H., Egan, S. K. y cols. (2004) «Estimation of Dietary Intake of Inorganic Arsenic in U.S. Children», *Human and Ecological Risk Assessment*, 10, pp. 473-483. doi: 10.1080/10807030490452151.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla de referencias del contenido de As-i en los alimentos empleadas en el estudio

ALIMENTO	As-i (µg/kg)			∑ Especies As (As-i + DMA)
	Límite inferior (LI)	Límite medio (LM)	Límite superior (LS)	
Agua corriente*	1,1	1,6	2	
Agua embotellada*	3,9	5,8	7,7	
Agua (ambas) *	2,5	3,7	4,8	
Leche*	1,6	4,1	6,6	
Derivados lácteos*	2,6	6,4	10,2	
Leche de soja*	1,7	6,6	11	
Leche de arroz¶	7,3	13,7	17,2	
Refrescos*	2,6	6,9	11,2	
Cerveza¶		16,5		
Pan tipo barra		34,4§	60,6¶	
Pan tipo molde		34,1§	60,6¶	
Picos¶		38,5	65,7	
Galletas§	12	14,8	35,3	
Bollería¶	5,6	19,8	35,9	
Cereales desayuno§		124		
Bizcochos/ tartas¶		34,7		
Barras de cereales¶		15,1		
Arroz blanco¥	27	71	175	143
Arroz integral¥	53	157	247	302
Arroz vaporizado¥	22	83	170	201
Tortitas de arroz#	27	109	205	
Harina¶	11	36,5	85,8	

Pasta para niños[§]	30,9	92	135
Pasta tipo pizza[¶]		73	84,2
Noodles/Fideos chinos[*]	7,7	49	56,8
Pescado[*]	5,2	11,3	18,1
Crustáceos[*]	34,5	36,2	41,3
Bivalvos[*]	45	50,9	55,1
Cefalópodos[*]	20,3	43	55,1
Hortalizas y verduras[*]	4,6	7,6	10,8
Bulbos y tubérculos[*]	2,9	5,6	8,9
Fruta[*]	1,15	4,95	8,1

[§] Munera-Picazo niños
[¶] Munera-Picazo adultos
[*] EFSA 2014
[¥] Signes-Pastor (2016b)
[#] Signes-Pastor (2016c)

ANEXO 2

RECUERDO DIARIO DE 24 HORAS PEDIÁTRICO

- El recuerdo de 24 horas es un registro donde recoger lo que bebió o comió su hijo/a en un día concreto. Sólo anotará la comida y la bebida consumida por el niño/a que está participando en el estudio, no el de otro mimbro de la familia.
  Si el día seleccionado el niño/a está realizando una ingesta de alimentos poco habitual debido a un evento inusual como una enfermedad o una fiesta, usted debe registrar su ingesta real de alimentos e informar al entrevistador/a.

- Solicitamos el registro de 5 días consecutivos: 2 de fin de semana y 3 entre semana, de una misma semana.
- El día comienza a las 6 am de la fecha seleccionada y termina a las 6 de la mañana siguiente (para un período de 24 horas). El día que recoja la alimentación de su hijo/a no intente darle más o menos cantidad que otros días. La alimentación de su hijo/a debe ser la que correspondería sin un diario.
- Asegúrese de completar el diario inmediatamente después de que su hijo consuma algún alimento o bebida. Esto hará que no se le olviden los alimentos consumidos. Si su hijo/a no está con usted durante todo o parte del día (guardería, familia, etc.), por favor pregunte por los detalles de la comida y la bebida consumida. En el enlace del libro de imágenes que recibirá al conformar su participación se puede utilizar para estimar la cantidad de alimentos que su hijo consume. Asegúrese de prestar atención a la información debajo de cada serie de fotografías que le ayudarán a cuantificar con precisión.
- Puede describir la cantidad consumida de la forma que le resulte más conveniente:
  - Usando las imágenes de la encuesta on-line, correspondiente al enlace que le hemos enviado, anotando la imagen o entre qué imágenes está la cantidad consumida.
  - En unidades naturales, por ejemplo: Una rebanada de pan, una manzana, etc.
  - En medidas caseras, por ejemplo: vasos, tazas, tazones, etc., diferente tipos de cucharas (cucharas de mesa, de té, etc.) o platos (plato grande, mediano,…) o en gramos o centímetros cúbicos/ mililitros.

- Si quiere puede mandar las fotos por móvil para cuantificar cuánto se come y cuanto deja, a la dirección de correo, especificando a qué comida de qué día corresponden, con su código de participación.

INSTRUCCIONES

Registre en el siguiente diario los alimentos y bebidas consumidos por su hijo/a según el momento del día: desayuno, media mañana, comida, merienda, cena. Los consumos realizados fuera de estas cinco ocasiones recójalos en el apartado "entre horas". Para cada ocasión tiene que marcar si la realizó su hijo/a y, en caso afirmativo, dónde tuvo lugar y la hora, aunque sea aproximada. Luego tiene que recoger los alimentos y cantidades consumidas.

ALIMENTOS:

Por favor, describa los alimentos que ha tomado su hijo/a de la forma más detallada posible: tipos de leche (entera, semidesnatada, desnatada, enriquecida, sin lactosa,...) tipos de yogur, tipos de carne…. Recuerde anotar los ingredientes en los platos compuestos como ensaladas o guisos. Recoja también las guarniciones.

Si la comida estaba preparada, también se les pide describir el método de preparación en esta columna, por ejemplo, hervido, frito, salteado, etc.

Es importante que anote si procede, el tipo de preparación (precocinado o industrial)

CANTIDAD CONSUMIDA

Especifique la cantidad consumida por su hijo/a de la forma que considere más adecuado, procurando aproximarse lo más posible: medidas caseras, gr, fotos. ..

Registre todos los alimentos consumidos por su hijo/a incluyendo los bocados y porciones, por muy pequeñas que sean. Debe registrar la **cantidad real consumida** por el niño. Así que si usted sirve un vaso entero de leche, pero su hijo/a sólo bebe la mitad, debería registrar sólo medio vaso. Sabemos que en el comedor puede estar limitado, pero al menos intentaremos ajustar al máximo la cantidad.

ENTREGA DEL CUESTIONARIO:

Puede entregar el cuestionario el mismo día que entregue la muestra de orina en el Pasillo 5, consulta 50 de Pediatría (no hace falta que venga el menor) o bien puede mandarlo fotografiado o escaneado a la dirección: **arsenicoHUIS2@gmail.com**

CÓDIGO DE PARTICIPANTE:

RECUERDO DIARIO DE 24 HORAS**_ DÍA xx**

FECHA___/___/_____ DÍA DE LA SEMANA: _____

DESAYUNO: (marque lo que proceda) __Sí __No Hora:__:__ ¿Lugar? __Casa__Colegio__Casa de familia/amigos__ Bar/restaurante__Otros lugares	
Alimentos (Comida o bebida)	Cantidad Consumida
MEDIA MAÑANA: (marque lo que proceda) __Sí __No Hora:__:__ ¿Lugar? __Casa__Colegio__Casa de familia/amigos__ Bar/restaurante__Otros lugares	
Alimentos	Cantidad Consumida
COMIDA: (marque lo que proceda) __Sí __No Hora:__:__ ¿Lugar? __Casa__Colegio__Casa de familia/amigos__ Bar/restaurante__Otros lugares	
Alimentos	Cantidad Consumida
PRIMER PLATO	
SEGUNDO PLATO	
POSTRE	

PAN Y BEBIDA	
MERIENDA: (marque lo que proceda) __Sí __No Hora:__:__ ¿Lugar? __Casa__Colegio__Casa de familia/amigos__ Bar/restaurante__Otros lugares	
Alimentos (Comida o bebida)	Cantidad Consumida
CENA: (marque lo que proceda) __Sí __No Hora:__:__ ¿Lugar? __Casa__Colegio__Casa de familia/amigos__ Bar/restaurante__Otros lugares	
Alimentos	Cantidad Consumida
PRIMER PLATO	
SEGUNDO PLATO	
POSTRE	
PAN Y BEBIDA	

ENTRE HORAS: (marque lo que proceda) __Sí __No Hora:__:__ ¿Lugar? __Casa__Colegio__Casa de familia/amigos__ Bar/restaurante__Otros lugares	
Alimentos (Comida o bebida)	Cantidad Consumida

ANEXO 3

Datos de la estimación recogida por CFC y por registro de 24 horas

	CFC*			RECUERDO 24 HORAS
	As-i µg/kg p.c/d (LI) ¶	**As-i µg/kg p.c/d (LM)** ¥	**As-I µg/kg p.c/d (LS)** #	**Mediana As-i µg/kg p.c/d (LM)** ¥
CELÍACOS	0,42	0,75	1,22	0,63
	0,16	0,29	0,42	0,26
	0,47	0,74	1,17	0,81
	0,35	0,74	1,13	0,74
	0,23	0,58	0,83	0,51
	0,55	0,90	1,26	0,67
	0,42	0,82	1,29	1,67
	0,61	0,92	1,46	0,47
	0,69	1,26	1,84	1,00
	1,11	1,50	2,03	0,38
	0,24	0,47	0,73	0,44
	0,23	0,33	0,51	0,20
	0,27	0,49	0,79	0,46
				0,49
	0,41	1,00	1,30	0,42
	0,21	0,36	0,55	0,34
NO CELÍACOS	*0,48*	*0,80*	*1,24*	0,51
	0,35	*0,57*	*0,90*	0,50
	0,06	*0,13*	*0,25*	0,20
	0,11	*0,27*	*0,51*	0,28
	0,18	*0,74*	*1,13*	0,45
	0,31	*0,55*	*0,85*	0,32
	0,35	*0,62*	*0,93*	0,47
	0,27	*0,54*	*0,85*	0,57
	0,21	*0,42*	*0,67*	0,44
				0,18

* CFC: Cuestionario de frecuencia de consumo
¶LI: valores calculados con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
¥LM: valores calculados con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.
LS: valores calculados con el valor inferior del contenido de As-i de los alimentos.

ANEXO 4. 1

As-i y metabolitos metilados en orina y estimación según recuerdo de 24 horas en niños celíacos del Hospital Universitario Infanta Sofía

Estimación de exposición dietética de As-i (µg/ d)					**∑As-i+ MMA+ DMA (µg/L)**
Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	
18,03	13,41	10,93	28,06	10,85	7,03
12,95	12	20,16	14,74	12,42	10,01
9,29	16,16	19,14	17,06	14,75	18,08
12,5	6,8	16,27	10,5	18,56	<3
11,74	16,63	20,76	18,31	9,53	20,89
19,42	10,49	11,96	19,21	7,7	8,01
44,6	21,96	45,9	7,47	43,37	50,98
11,54	9,9	12,58	24,43	22,81	24,11
12,65	13,6	18,2	16,06	15,93	6,06
19,07	11,5	24,9	25,81	12,87	25,86
5,92	25,75	5,66	7,46	36,5	33,47
6,77	10,95	10,9	26,32	25,9	5,02
11,49	20,3	23,37	10,55	8,97	9,95
11,64	11,3	6,44	8,52	12,63	15,07
8,34	7,81	13,1	6,78	8,35	13,93

ANEXO 4. 2

As-i y metabolitos metilados en orina y estimación según recuerdo de 24 horas en población no celíaca

Estimación de ingesta de As-i (µg/ d)					
Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	**∑As-i+ MMA+ DMA (µg/L)**
5,13	10,71	9,77	6,46	7,6	11,04
7,81	13,6	9,34	7,87	10,35	15,98
19,76	9,63	9,36	7,89	16,42	6,96
9,82	22,3	18,4	30	8,5	20,87
8,9	7,2	15,05	14,69	6,26	7,95
6,6	6,8	5,92	22,17	11,92	6,05
5,74	10,23	8,61	20,04	10,61	11,98
8,5	16	10,94	5,7	6,5	4,01
8,44	15,5	12,08	8,27	7,92	<3
10,14	6,28	9,67	14,01	9,52	15,13