



Ciencia UANL

Universidad Autónoma de Nuevo León

ciencia@mail.uanl.mx

ISSN (Versión impresa): 1405-9177

MÉXICO

2006

Yolanda Alcaraz Contreras / Óscar Torres Alanís / Lourdes Garza Ocañas / Rubén
Luján Rangel / Xóchitl S. Ramírez Gómez
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA COMBINACIÓN DE ÁCIDO 2,3
DIMERCAPTOSUCCÍNICO (DMSA) Y ÁCIDO ASCÓRBICO COMO TERAPIA EN LA
INTOXICACIÓN POR PLOMO EN RATAS

Ciencia UANL, enero-marzo, año/vol. IX, número 001

Universidad Autónoma de Nuevo León

Monterrey, México

pp. 33-40

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Universidad Autónoma del Estado de México





Evaluación del efecto de la combinación de ácido 2,3 dimercaptosuccínico (DMSA) y ácido ascórbico como terapia en la intoxicación por plomo en ratas

YOLANDA ALCARAZ CONTRERAS*, ÓSCAR TORRES ALANÍS*, LOURDES GARZA OCAÑAS*, RUBÉN LUJÁN RANGEL*, XÓCHITL S. RAMÍREZ GÓMEZ*

El plomo (Pb) es un metal tóxico muy difundido en la corteza terrestre. La exposición en el medio profesional se produce en actividades de minería, fundiciones, fabricación y empleo de pinturas, baterías, tuberías, plaguicidas, envases con soldaduras de plomo, vajillas y cerámica. El Pb fue uno de los primeros metales empleados por el hombre y su perjuicio se conoce desde la antigüedad. A nivel mundial, la prevención de la toxicidad producida por la exposición crónica continúa siendo uno de los principales problemas de salud.

El Pb ingresa al organismo por vía oral, respiratoria y por la piel. Tiene capacidad de bioacumulación; afecta principalmente al hígado, riñones, cerebro y sistema hematopoyético. Los síntomas de intoxicación por plomo incluyen: cefalea, anorexia, fatiga, nerviosismo, anemia, disfunción renal y desórdenes del sistema nervioso (encefalopatía y neuropatía). La severidad de la toxicidad depende de la duración, la frecuencia y cantidad de exposición.

Se ha propuesto que el estrés oxidativo es uno de los mecanismos más importantes de la toxicidad del Pb;¹ dicho estado se caracteriza por la producción de especies de oxígeno reactivo (ROS) y por la disminución de las defensas celulares antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión).^{2,3} Las ROS reaccionan con moléculas biológicas, DNA, proteínas y lípidos, causando mutaciones, alteración de proteínas y lípidos de membranas, lo cual culmina en muerte celular. La participación de las ROS y el estrés oxidativo como mecanismo molecular de la toxicidad del Pb ha sido ampliamente revisada por Hermes-Lima y cols.⁴ Una de las enzimas afectadas por la toxicidad del Pb es la ácido delta aminolevulínico deshidratasa (δ-ALA). La inhibición de esta enzima lleva a la acumulación del ácido delta aminolevulínico (ALA), el cual tiende a autooxidarse, lo que genera la acumulación de más ROS y propaga-

* Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, UANL.

ción del daño oxidativo.⁵

Actualmente, el tratamiento de la intoxicación por Pb se basa en la terapia con agentes quelantes entre los que se encuentran el EDTANa₂Ca y el BAL (2,3-dimercaprol) los cuales son prescritos de acuerdo a la concentración de Pb en la sangre. El ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) es un quelante hidrosoluble de reciente introducción, análogo al BAL, además fue el primer agente quelante aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso en niños intoxicados con Pb. El DMSA presenta ventajas sobre los quelantes tradicionales utilizados, porque moviliza el Pb de sangre y tejidos, es activo por vía oral y tiene baja incidencia de efectos colaterales.⁶⁻⁸

Debido a que parte de la toxicidad del Pb ha sido relacionada con la producción de un desbalance entre el estado prooxidante-antioxidante del cuerpo y la generación de estrés oxidativo que culmina con el abatimiento de los mecanismos de defensa (principalmente glutatión), se ha propuesto que las sustancias antioxidantes pueden ser de beneficio como terapia coadyuvante en esta intoxicación.⁹ El interés por la evaluación del efecto de la administración de antioxidantes en la intoxicación por Pb ha hecho que muchos de estos compuestos hayan sido estudiados.¹⁰⁻¹⁴

En este sentido, uno de los antioxidantes más estudiados es la N-acetilcisteína (NAC). Gurer *et al.*¹⁰ evaluaron el efecto de la NAC en ratas intoxicadas por Pb, tratadas con DMSA o NAC, y reportaron que esta última produjo un incremento en los niveles de glutatión hepático abatidos por el Pb, pero no redujo los niveles de plomo en sangre, hígado o cerebro.

Por otro lado, Neal *et al.*³ reportaron que la NAC puede llegar a producir una disminución en los niveles de Pb en la sangre, por lo que se le atribuye cierta capacidad de quelación. En estudios realizados por Pande *et al.*,¹¹ se encontró que el tratamiento combinado de DMSA y NAC fue más efectivo en reducir la acumulación de Pb en sangre e hígado que la administración de cada uno por separado.

Los estudios realizados con ácido ascórbico son de particular interés. El ácido ascórbico (vitamina C) es un potente antioxidante que ha sido evalua-

do en humanos y en animales con resultados contradictorios, tanto en lo relacionado a su posible capacidad quelante como en su acción en la toxicocinética del Pb.

Goyer *et al.*¹⁵ reportaron que el ácido ascórbico tiene acción quelante y que su potencia es semejante a la producida por el EDTANa₂Ca. Flora *et al.*¹⁶ reportaron que la terapia coadyuvante de vitamina C en la intoxicación por Pb en ratas fue efectiva al disminuir el Pb de sangre, hígado y riñón, al formarse un complejo de Pb y vitamina C.

En estudios realizados con ratas, donde se evaluó la efectividad de la vitamina C administrada en combinación con compuestos quelantes, se observó que la administración de la combinación del antioxidante con los quelantes fue más efectiva en incrementar la eliminación que la administración individual del quelante.^{15,17}

En investigaciones recientes se ha propuesto que la administración de suplementos con antioxidantes que contengan vitamina C a trabajadores expuestos a Pb puede ser benéfico al bloquear el estrés oxidativo generado por la exposición al Pb.^{18,20} Sin embargo, Lauwerys *et al.*²¹ reportaron que la administración de vitamina C a trabajadores expuestos a Pb no produjo ningún efecto benéfico sobre la concentración de plomo en la sangre, su eliminación, o sobre los marcadores bioquímicos de la toxicidad de este metal.

Por otro lado, Patra *et al.*²² evaluaron el efecto quelante del ácido ascórbico, alfa tocoferol y L-metionina, y encontraron que los antioxidantes revertieron el estrés oxidativo producido por el Pb, pero ninguno disminuyó la concentración del metal en hígado, riñón y cerebro. Varnai *et al.*²³ reportaron que la administración de 650 mg/kg de vitamina C y DMSA a ratas durante ocho días de exposición a Pb fue menos efectiva para reducirlo en sangre que la administración de DMSA solo.

Debido a que los resultados obtenidos por diferentes investigadores son contradictorios, el rol terapéutico de los antioxidantes, particularmente el de la vitamina C en el tratamiento de la intoxicación por Pb, no ha sido establecido a la fecha. Un aspecto de gran importancia es que en la mayoría de los estudios realizados sólo se ha evaluado una dosis de antioxidante, y no se ha considerado la

evaluación de un rango de dosis, ni la medición tanto de niveles de Pb en sangre y tejidos como de la actividad antioxidante, en un esquema de administración conjunta quelante-antioxidante. Lo anterior contribuiría a dilucidar en qué grado influye la concentración de antioxidante para determinar su capacidad de producir un efecto quelante y si el esquema terapéutico de administración conjunta puede producir un efecto sinérgico de quelación. Por otro lado, el efecto que la administración de vitamina C pudiera producir sobre la toxicocinética del Pb, considerando la concentración del metal en su principal órgano de depósito que es el hueso así como su posible redistribución hacia otros tejidos, no ha sido investigado a la fecha.

En el presente trabajo se evaluó y comparó el efecto de la vitamina C en un esquema de tres concentraciones administradas como terapia individual y combinada con DMSA en la intoxicación por Pb en ratas. Los parámetros evaluados fueron niveles de este metal en sangre y órganos blanco de toxicidad (hígado, riñón y cerebro) y de depósito (hueso), así como la actividad de d-ALA como indicador de acumulación de ALA y de la generación de ROS.

Se determinaron, además, los niveles de glutatión (GSH) y de lipoperoxidación (LPO) hepática y renal como parámetros indicadores de estrés oxidativo.

Material y método

Animales

Se utilizaron 45 ratas Wistar machos (160 ± 20 g), las cuales se dividieron al azar en nueve grupos de cinco animales cada uno. El grupo 1 no fue expuesto a Pb (control negativo), los grupos 2 al 9 recibieron una solución de 3000 ppm de acetato de Pb *ad libitum* durante cinco semanas. Terminado el tiempo de exposición a Pb, las ratas recibieron vitamina C y DMSA, administrados mediante sonda orogástrica, como terapia individual y combinada durante cinco días. La vitamina C se evaluó en un rango de dosis de 100, 500 y 1000 mg/kg (dosis baja, media y alta respectivamente), la dosis de DMSA fue de 182 mg/kg. El grupo 1 no recibió

ningún tratamiento (control negativo); el grupo 2 (expuesto a Pb) recibió agua destilada (control positivo); el grupo 3 recibió DMSA; el grupo 4 recibió vitamina C (dosis baja); el grupo 5 vitamina C (dosis media); el grupo 6 recibió terapia combinada de DMSA y vitamina C (dosis baja) y el grupo 7 recibió terapia combinada de DMSA y vitamina C (dosis media). El grupo 8 recibió vitamina C (dosis alta) durante 28 días. El grupo 9 (expuesto a Pb) recibió agua el mismo periodo de tiempo que el grupo 8 y fue el control positivo para este grupo. En el caso de los grupos que recibieron terapia combinada, la administración del quelante y el antioxidante se realizó con una hora de diferencia. Tras 24 horas de concluido el tratamiento, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (33 mg/kg), y mediante punción intracardiaca se tomaron muestras de sangre colectadas en tubos con heparina sódica como anticoagulante; posteriormente las ratas fueron sacrificadas y mediante disección se obtuvieron hígado, riñones, cerebro y fémur, los cuales se pesaron y se mantuvieron en congelación hasta su procesamiento.

Procedimiento analítico

Para determinar el contenido de Pb en los órganos se realizó una digestión con ácido nítrico concentrado, usando un horno de microondas modelo MDS-2000. Las muestras digeridas fueron llevadas a un volumen constante con agua libre de iones y la concentración de Pb se midió en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer Zeeman 5100.²⁴

A las muestras de sangre se les determinó la concentración de Pb y la actividad de la enzima d-ALA.

La actividad de d-ALA se determinó de acuerdo a la técnica de Tomokuni,²⁵ la cual se basa en la formación de porfobilinógeno y su medición espectrofotométrica a 555 nm. La actividad de la enzima se calculó a partir del valor de absorbancia de la muestra dividido entre el valor de hematocrito.

Los parámetros indicativos del estrés oxidativo fueron evaluados en homogeneizados de hígado y riñón. El nivel de GSH se determinó de acuerdo al método espectrofotométrico descrito por Ellman.²⁶

Tabla I. Concentración de Pb en sangre ($\mu\text{g}/\text{dL}$) y órganos ($\mu\text{g}/\text{g}$) en ratas no expuestas a Pb (control negativo) y expuestas a Pb (control positivo). * $p < 0.05$ comparado con el control negativo. $n = 5$.

Tratamientos	Sangre	Cerebro	Hígado	Riñón	Hueso
Control negativo	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.05	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.05	1.2 ± 0.30
Plomo (control positivo)	$39.2 \pm 5.1^*$	$1.5 \pm 0.3^*$	$2.3 \pm 0.4^*$	$10.9 \pm 2.7^*$	$514.3 \pm 68^*$

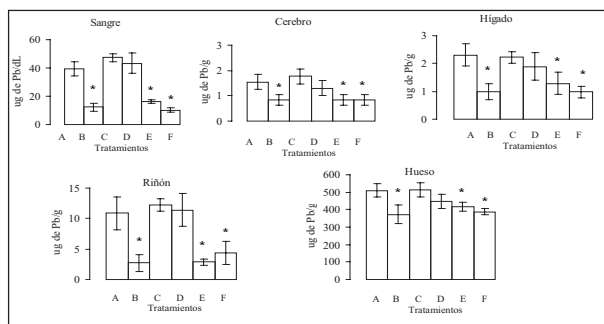


Fig. 1. Niveles de Pb en sangre y órganos de ratas intoxicadas con Pb y tratadas con DMSA y Vit C administrados como terapia individual o combinada. Tratamientos: A (Control positivo), B (DMSA), C (Vit C 100 mg/kg), D (Vit C 500 mg/kg), E (DMSA+Vit C 100 mg/kg) y F (DMSA+Vit C 500 mg/kg). Los valores representan el promedio \pm la desviación estándar de $n = 5$. * $p < 0.05$ comparado con el control positivo.

El nivel de LPO se determinó mediante la técnica descrita por Ohkawa,²⁷ la cual se basa en la formación de un complejo de malondialdehído (MDA) con el ácido tiobarbitúrico cuya absorbancia es medida a 532 nm.

La determinación de proteínas en muestras de homogenizados se realizó mediante el método de Lowry,²⁸ utilizando albúmina bovina como estándar.

Evaluación estadística

Los datos se analizaron a través de un diseño completamente al azar y la comparación de medias se realizó por el método de Tukey con el programa estadístico SPSS. Se consideró un valor de $p < 0.05$ para establecer diferencia significativa.

Resultados

Concentraciones de Pb en sangre y órganos

En el esquema de administración de Pb durante cinco semanas, utilizado en este estudio, se obser-

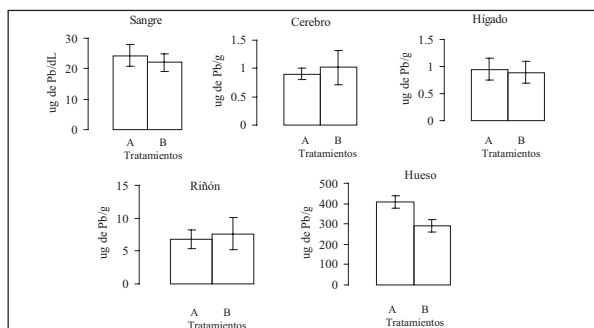


Fig. 2. Niveles de Pb en sangre y órganos de ratas intoxicadas con Pb y tratadas con Vit C. Tratamientos: A (Control positivo) y B (Vit C 1000 mg/kg). Los valores representan el promedio \pm la desviación estándar de $n = 5$. * $p < 0.05$ comparado con el control positivo.

vó un incremento significativo en los niveles de Pb en sangre y órganos, en relación al grupo control negativo (que no recibió Pb). La secuencia de distribución del Pb en órganos fue la siguiente: hueso>riñón>hígado>cerebro (tabla I). En los grupos tratados con vitamina C a la dosis baja y media no se observó disminución en los niveles de Pb en sangre, hígado, riñón, cerebro o hueso (figura 1). En el grupo que recibió vitamina C en su dosis alta se observó una disminución significativa en los niveles de Pb en hueso, en relación al grupo control. Lo anterior no se acompañó de redistribución de Pb en sangre u órganos (figura 2). La administración de DMSA como terapia individual produjo una disminución significativa de los niveles de Pb en sangre, cerebro, hígado, riñón y hueso. No se observó diferencia significativa en los niveles de Pb en sangre u órganos de los grupos que recibieron DMSA como terapia individual, y los que recibieron terapia combinada de DMSA y vitamina C a sus dosis baja y media (figura 1). Ya que las dosis baja y media de vitamina C no tuvieron efecto sinérgico, en cuanto a la acción quelante del DMSA, al ser administrados como terapia combinada, la dosis alta de vitamina C se evaluó inicialmente como terapia individual para determinar si esta dosis tenía efecto quelante sobre los niveles de Pb en sangre y, de ser así, proceder a la evaluación del efecto sinérgico de la terapia combinada con DMSA. En este contexto, la vitamina C a la dosis de 1000 mg/Kg no disminuyó los niveles de Pb en sangre, por lo que no se procedió con la evalua-

ción del sinergismo que pudiera tener con DMSA.

Actividad de la enzima d-ALA

En el modelo de intoxicación por Pb utilizado se observó una inhibición del 79% de la actividad de la enzima d-ALA. La vitamina C no revirtió la inhibición de la enzima con ninguna de las dosis utilizadas. El DMSA revirtió la inhibición de la d-ALA en un 70%. La terapia combinada de vitamina C y DMSA no mejoró la capacidad del quelante para revertir la inhibición de d-ALA.

Niveles de GSH hepático y renal

La exposición al Pb produjo una disminución significativa en los niveles del GSH en hígado y riñón. La administración de vitamina C en sus dosis baja, media y alta produjo un aumento significativo de los niveles de GSH en ambos órganos. No se observó diferencia significativa entre los valores de GSH de los grupos tratados con los diferentes esquemas de dosificación de vitamina C utilizados (figura 3). El DMSA incrementó significativamente los niveles de GSH en relación al grupo control

y no se observó diferencia significativa entre los grupos que recibieron el quelante y los que recibieron vitamina C.

Niveles de lipíperoxidación hepática y renal

La exposición al Pb produjo un aumento significativo en los niveles de LPO en las muestras de hígado y riñón en relación al grupo no expuesto. La administración de vitamina C en sus dosis baja, media y alta produjo una disminución significativa en los niveles de LPO en ambos órganos. No se observó diferencia significativa entre los valores de LPO de los grupos que recibieron la dosis baja, media y alta de vitamina C. El DMSA produjo una disminución significativa de los niveles de LPO hepática y renal. No se observó diferencia significativa entre los grupos que recibieron DMSA o vitamina C administrados como terapia individual y los grupos que recibieron terapia combinada (DMSA más vitamina C (figura 3).

Discusión

El fenómeno de quelación de los metales pesados puede alcanzarse cuando la afinidad del quelante por el metal es mayor que la afinidad del bioligando. El DMSA es un quelante de Pb que tiene en su estructura dos grupos tiol hidrofílicos y dos grupos carboxilo que le permiten remover Pb de sitios intracelulares; sin embargo, la propiedad hidrofílica limita en cierto grado su penetración a la membrana.²⁹ En el presente trabajo se corroboró que el DMSA es un potente quelante de Pb que además restituyó la actividad de la enzima d-ALA afectada por el Pb. Un hallazgo importante fue el hecho de que el DMSA, además del efecto quelante, mostró tener un efecto antioxidante similar al de la vitamina C, lo cual quedó evidenciado con el incremento en los niveles de GSH y la inhibición de la LPO producidos por este compuesto.

Dicho efecto antioxidante pudiera atribuirse a la quelación de Pb producida por el DMSA, lo que disminuye la concentración de metal circulante y, por consiguiente, el estrés oxidativo producido por el mismo. Por otro lado, el DMSA pudiera estar actuando por un mecanismo diferente al de

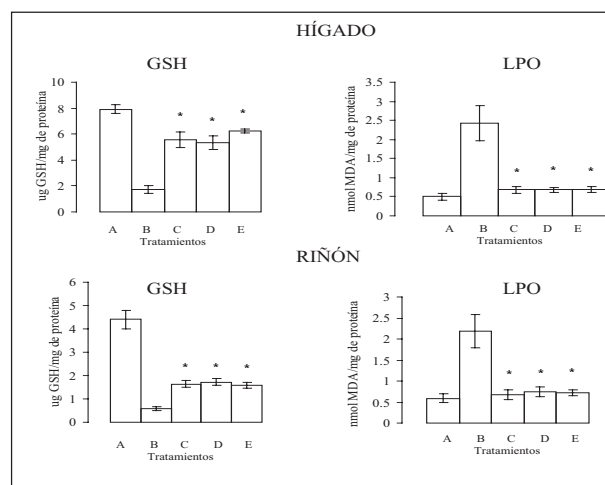


Fig. 3. Niveles de GSH y LPO en hígado (superior) y riñón (inferior) en ratas intoxicadas por Pb y que recibieron tratamiento con DMSA y Vit C administrados como terapia individual o combinada. Tratamientos: A (Control negativo), B (Control positivo), C (DMSA), D (Vit C 100 mg/kg) y E (DMSA+Vit C 100 mg/kg). Los valores representan el promedio \pm la desviación estándar de $n=5$. * $p < 0.05$ comparado con el control positivo.

la quelación de Pb para producir el efecto antioxidante. Sin embargo, en los grupos tratados con la combinación del DMSA y vitamina C no se observó un efecto sinérgico en la acción antioxidante de ambos compuestos que indique que estén ejerciendo su acción por mecanismos diferentes. La vitamina C es un potente antioxidante que conserva los niveles de GSH al actuar como cofactor del ciclo redox del mismo, y por medio de una transferencia de electrones secuestra las ROS inhibiendo la LPO.^{22,30} Recientemente se ha sugerido que existe una relación inversa entre los niveles de vitamina C y los niveles de Pb en el organismo, y se ha propuesto que la vitamina C tiene un papel protector en la intoxicación por este metal, no sólo por su acción antioxidante, sino por producir una disminución en su absorción.^{17,31} Existen, sin embargo, reportes que indican que la administración de vitamina C no tiene efecto quelante de Pb y que su acción se limita a atenuar los índices de estrés oxidativo producido por este metal.²² Contrario a los resultados de Dhawan *et al.*,¹⁷ quienes reportaron que la administración de vitamina C produjo una disminución del Pb de hígado y riñón y revirtió la inhibición de la d-ALA inducida por el Pb, ninguna de las tres dosis de vitamina C utilizadas en este trabajo redujo la concentración de Pb en hígado, riñón o cerebro, ni reactivó la actividad de la enzima d-ALA. Además, ninguna de las tres dosis de vitamina C administradas como terapia individual produjo quelación de Pb en sangre, ni produjo un efecto sinérgico en la quelación de Pb producida por el DMSA. No obstante, la vitamina C administrada como terapia individual a su dosis alta (1000 mg/kg), produjo una disminución significativa del Pb depositado en el hueso. Este efecto no se observó con la administración de las dosis baja y media. Lo anterior indica que este efecto de movilización de Pb, producido por la vitamina C, aparentemente es dosis dependiente y que, probablemente, con la concentración (100 y 500 mg/kg) y el tiempo de tratamiento (cinco días) utilizados en los esquemas de dosis baja y media no se alcanzaron niveles eficaces de vitamina C en sangre y tejidos. Este efecto de movilización de Pb de hueso parece ser independiente del efecto de quelación, ya que ninguna de las dosis disminuyó

el Pb en sangre. Al respecto, se ha reportado que la movilización de Pb de los tejidos, particularmente de hueso, favorece la redistribución del metal hacia otros órganos, especialmente a tejido nervioso.³² Es importante señalar que en este estudio la disminución significativa de los niveles de Pb en hueso, producida por la dosis alta de vitamina C, no produjo redistribución del metal a cerebro, hígado ni riñón, así como tampoco incrementó los niveles de Pb en sangre. Estos resultados sugieren que la vitamina C de alguna manera pudiera estar produciendo un aumento en la eliminación de Pb del organismo, lo que probablemente esté ocurriendo a la par de la eliminación de la vitamina C por orina. Lo anterior pudiera deberse a que este antioxidante produce un aumento en la acidificación de la orina, lo que conlleva a una mayor solubilización del Pb y en estas condiciones a una mayor eliminación del metal. Al respecto, es importante señalar que se requieren más estudios en donde se evalúen los niveles de Pb en orina bajo este esquema terapéutico para poder aclarar tal fenómeno.

Conclusiones

La vitamina C no disminuyó los niveles de Pb en sangre ni restituyó la actividad de d-ALA con ninguna de las dosis utilizadas. La dosis alta de vitamina C produjo movilización de Pb de hueso sin redistribuir el metal a sangre, cerebro, hígado o riñón. El DMSA disminuyó significativamente la concentración de Pb en sangre, hígado, riñón, cerebro y hueso, y revirtió la inhibición de la d-ALA. Ninguna de las dosis de vitamina C produjo un efecto sinérgico en la quelación de Pb producida por el DMSA.

El DMSA mostró tener un efecto antioxidante similar al de la vitamina C.

Resumen

En el presente trabajo se evaluó el efecto del ácido ascórbico (vitamina C) en un esquema de tres concentraciones, administradas como terapia individual, y combinada con ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) en la intoxicación por Pb en ratas. Se evaluaron los niveles de Pb en sangre, hígado, ri-

ñón, cerebro y hueso, actividad de la enzima d-ALA y niveles de glutatión y de lipidoperoxidación. La vitamina C no disminuyó los niveles de Pb en sangre ni restituyó la actividad de d-ALA. La dosis alta de vitamina C produjo movilización de Pb de hueso sin redistribuir el metal a tejidos. El DMSA disminuyó la concentración de Pb en sangre y órganos y revirtió los parámetros indicativos del estrés oxidativo. La administración de vitamina C durante la terapia de quelación con DMSA no produjo efecto sinérgico en ninguno de los parámetros evaluados.

Palabras clave: Plomo (Pb), DMSA, Ácido ascórbico (vitamina C), Estrés oxidativo.

Abstract

The effect of ascorbic acid (Vitamin C), alone or combined with 2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA), on lead toxicity was investigated in rats. Lead levels were analyzed in blood, liver, kidney, brain and bone. Levels of glutathione, lipid peroxidation, and ALA-D activity were also evaluated. Treatment with Vitamin C alone resulted in the reversal of oxidative stress, without a decline in blood lead level nor the restoration of ALA-D activity. Vitamin C (1000 mg/kg) produced the mobilization of bone Pb without an increase in blood level. DMSA reduced lead levels in blood and tissues. The combination of Vitamin C with DMSA did not increase the effect of the chelating agent.

Keywords: Lead (Pb), DMSA, Ascorbic acid (vitamin C), Oxidative stress.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la UANL, por el apoyo otorgado mediante el proyecto SA967-04 del Paicyt, al QCB. Arturo Longoria y a la QCB. Mónica González, por sus valiosos comentarios para el manejo del equipo de absorción atómica.

Referencias

1. Quinlan, G.J., Halliwell B., Moorhouse C. P., Gutteridge J.M. (1988). Action of lead (II) and aluminium (III) ions on iron-stimulated lipid peroxidation in liposomes, erythrocytes and rat liver microsomal fractions. *Biochim Biophys Acta*; 962(2):196-200.
2. Ercal N., Neal R., Treeratphan P., Lutz P.M., Hammond TC, Dennery PA, Spitz DR. (2000). A role for oxidative stress in suppressing serum immunoglobulin levels in lead-exposed Fisher 344 rats. *Arch Environ Contam Toxicol*, 39:251-256.
3. Neal R., Cooper K., Gurer H., Ercal N. (1998). Effects of N-acetylcysteine and 2,3-dimercaptosuccinic acid on lead induced oxidative stress in rat lenses. *Toxicology*; 130(2-3):167-174.
4. Hermes-Lima M., Pereira B., Bechara J.H. (1991). Are free radicals involved in lead poisoning? *Xenobiotica*; 21(8):1085-1090.
5. Monteiro, H. P., Abdala S.P., Faljoni-Alario A., Bechara J. H. (1986). Generation of active oxygen species during coupled autoxidation of oxyhemoglobin and delta-aminolevulinic acid. *Biochim Biophys Acta*; 881:100-105.
6. Graziano, J. H., Siris E.S., LoIacono N. J., Silverberg S. J., Turgeon L. (1985). 2,3-dimercaptosuccinic acid as an antidote for lead intoxication. *Clin Pharmacol Therap*; 37:431-438.
7. Graziano, J. H. (1986). Role of 2,3-dimercaptosuccinic acid in the treatment of heavy metal poisoning. *Med Toxicol*; 1:155-162.
8. Rivera M. Zheng W., Aposhian H. Fernando Q. (1989). Determination and metabolism of dithiol-chelating agents: VIII. Metal complexes of meso-dimercaptosuccinic acid. *Toxicol Appl Pharmacol*, 100:96-106.
9. Ping-Chi Hsu, Yueliang Leon Guo. (2002). Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicol*; 180:33-44.
10. Gurer H., Ozgunes H., Neal R., Spitz R., Ercal N. (1998). Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. *Toxicology*; 128:181-189.
11. Pande M., et al. (2001). Combined administration of a chelating agent and an antioxidant in the prevention and treatment of acute lead intoxication in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*; 9:173-184.
12. Flora J.S., Pande M., Mehta A. (2003). Beneficial effect of combined administration of some

- naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chem Biol Inter*; 145:267-280.
13. Neal R., Cooper K., Kellogg G., Gurer H., Ercal N. (1999). Effects of some sulfur-containing antioxidants on lead-exposed lenses. *Free Radic Biol Med*; 26(1-2):239-243.
 14. Gurer H., Ozgunes H., Saygin E., Ercal N. (2001). Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Arch Environ Contam Toxicol*; 41(4):397-402.
 15. Goyer R.A., Cherion M.G. (1979). Ascorbic acid and EDTA treatment of lead toxicity in rats. *Life Sci*; 24:433-438.
 16. Flora S.J., Tandon S.K. (1986). Preventive and therapeutic effects of thiamine, ascorbic acid and their combination in lead intoxication. *Acta Pharmacol Toxicol*; 58:374-378.
 17. Dhawan M., Kachru D.N., Tandon S.K. (1988). Influence of thiamine and ascorbic acid supplementation on the antidotal efficacy of thiol chelators in experimental lead intoxication. *Arch Toxicol*; 62(4):301-304.
 18. Simon J.A., Hudes E.S. (1999). Relationship of ascorbic acid to blood lead levels. *JAMA*; 281(24):2289-93.
 19. Machartova V., Racek J., Kohout J., Senft V., Trefil L. (2000). Effect of antioxidant therapy on indicators of free radical activity in workers at risk of lead exposure. *Vnitr Lek*; 46(8):444-446.
 20. Houston D.K., Johnson M.A. (2000). Does vitamin C intake protect against lead toxicity? *Nutr Rev*; 58:73-75.
 21. Lauwerys R., Roels H., Buchet J.P., Bernard A.A., Verhoeven L., Konings J. (1983). The influence of orally-administered vitamin C or zinc on the absorption of and the biological response to lead. *J Occup Med*; 25:668-678.
 22. Patra R.C., Swarup D., Dwivedi S.K. (2001). Antioxidant effects of a tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology*; 162:81-88.
 23. Varnai V. M., Piasek M., Blanusa M., Juresa D., Saric M., Kostial K. (2003). Ascorbic acid supplementation does not improve efficacy of meso-dimercaptosuccinic acid treatment in lead-exposed suckling rats. *Pharmacol Toxicol*; 93(4):180-185.
 24. Norma Oficial Mexicana NOM-199-SSA1-2000, Salud Ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterios para proteger la salud de la población expuesta no ocupacionalmente.
 25. Tomokuni K. (1974). d-Aminolevulinic acid dehydratase test for lead exposure. *Arch Environ Health*; 29:274-28.
 26. Ellman G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys*; 82:70-77.
 27. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*; 95:351-358.
 28. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randal R.J. (1951). Protein measurement with folin phenol reagent *J Biol Chem*; 193, 265-275.
 29. Mehta A. Kannan G.M., Dube N.S., Pant P.B., Pant C.S., Flora S.J. (2002). Haematological, hepatic and renal alterations after repeated oral or intraperitoneal administration of monoisoamyl DMSA I. Changes in male rats. *J Appl Toxicol*; 22:359-369.
 30. Halliwell B., Wasil M., Grootveld M. (1987). Biologically significant scavenging of the myeloperoxidase-derived oxidant hypochlorous acid by ascorbic acid. *FEBS Lett.*, 213:15-17.
 31. Dawson E.B., Evans D.R., Harris W.A., Teter M.C., McGanity W.J. (1999). The effect of ascorbic acid supplementation on the blood lead levels of smokers. *J Am Coll Nutr*; 18(2):166-170.
 32. Marcus A.H. (1985). Multicompartment kinetic models for lead. Bone diffusion models for long-term retention. *Environ Res*; 36:441-458.

Recepción: 21 de febrero de 2005

Aceptación: 13 de mayo de 2005