

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO DE LA CONFIABILIDAD DE LA EXCRECION
URINARIA DEL ACIDO DELTA AMINO LEVULINICO
PARA LA IDENTIFICACION DE LOS EFECTOS
BIOLOGICOS DEL PLOMO CONTAMINANTE
AMBIENTAL. INFLUENCIA DEL CICLO
CIRCADIANO

T E S I S
Que para obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a
JULIA MARIA DE GUADALUPE SANCHEZ CRUZ

México, D. F.

1977



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS Tesis 1977

AÑO _____

FECHA _____

PROC. _____

360



QUIMICA

J U R A D O

Presidente: Prof. Ignacio Diez de Urdanivia
Vocal Prof. Enrique Calderón García
Secretario: Prof. Guillermo Rendon Padilla
1er. Suplente: Teresa Coppola Fernández
2° Suplente: Ana María Méndez Chávez

Lugar donde se desarrolló el tema

Departamento de Investigación en Salud Pública del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Sustentante: Julia María de Guadalupe Sánchez Cruz.

Director del Tema: Prof. Enrique Calderón García

Supervisor Técnico: Dr. José de Jesús Morales R.

Con amor y agradecimiento
a mis Padres.
Por sus sacrificios y orientación

Con amor a mis hermanos

Agradezo

**A las Autoridades del Instituto
Mexicano del Seguro Social y en
especial al Dr. Jacobo Finkelman
Jefe del Departamento de Investi-
gación en Salud Pública.**

Al Dr. José de Jesús Morales R.

**Por su ayuda, orientación,
enseñanzas y apoyo durante
el desarrollo de este tra-
bajo.**

I N D I C E

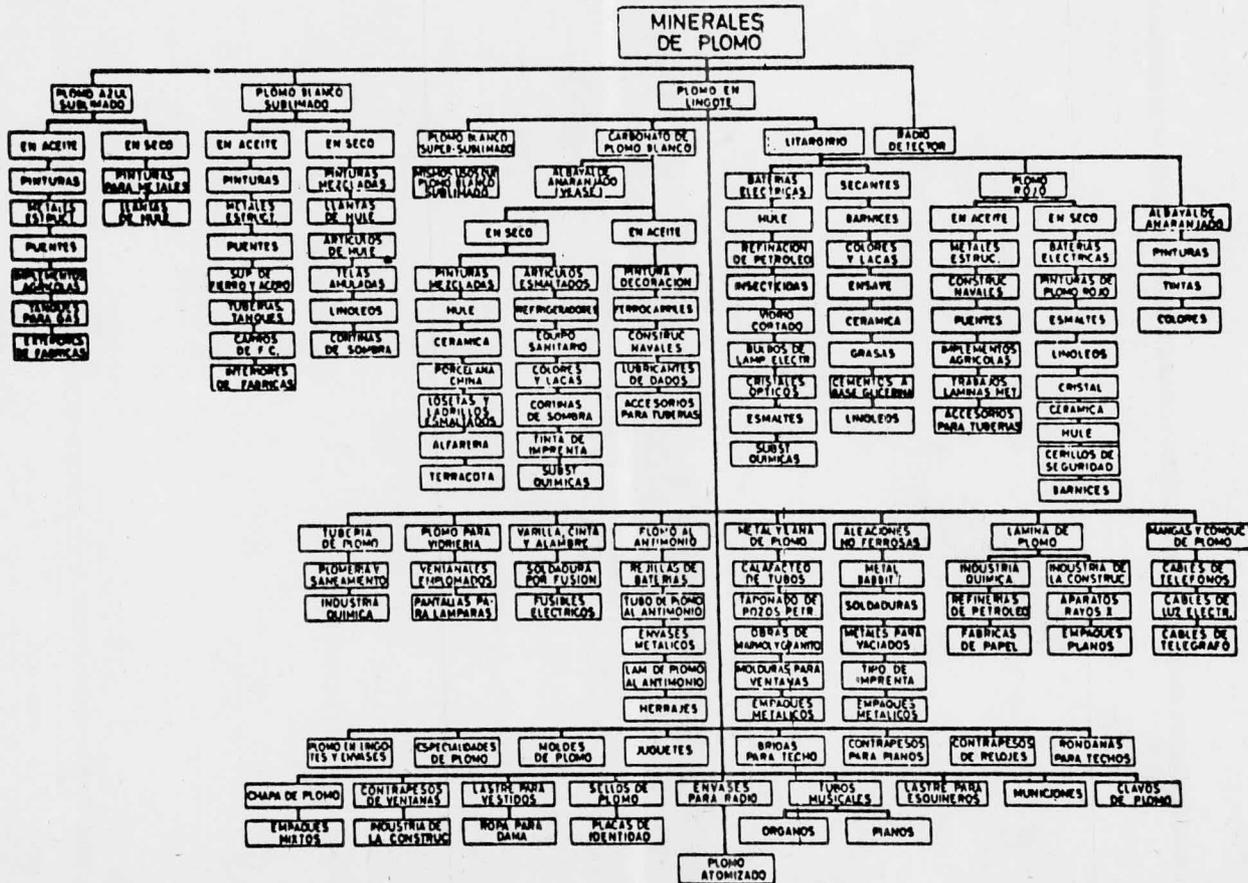
	PAG.
I. INTRODUCCION.	1
Importancia de los Indicadores.	4
Selección del Indicador	9
Validación del Indicador	14
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
III. CRITERIOS	27
IV. HIPOTESIS	31
V. METODO	33
VI. RESULTADOS.	35
VII. ANALISIS DE LOS RESULTADOS	37
VIII. CONCLUSIONES	53
IX. ANEXO I	54
X. ANEXO II	55
XI. ANEXO III	57
XII. ANEXO IV	59
XIII. BIBLIOGRAFIA	61

I N T R O D U C C I O N

E L P R O B L E M A D E L P L O M O

El plomo es un elemento ubicuo en la naturaleza, debido a la amplia gama de usos que tienen sus compuestos, se han incrementado en forma importante sus concentraciones en el ambiente urbano. Dos son las fuentes de contaminación de mayor importancia, la primera de ellas deriva de la industria, tanto por la purificación como por el empleo de sus diferentes compuestos, los que como se puede apreciar en la tabla uno, tienen una extraordinaria importancia desde el punto de vista industrial. La segunda fuente en importancia la constituye la combustión de gasolinas con tetraetilo de plomo como antidetonante, este uso del plomo ha sido necesario porque incrementa la eficiencia de los vehículos automotores, y ha llegado a ser indispensable debido a que la mayoría de éstos vehículos están diseñados para consumir este tipo de combustible, además tienen la ventaja de que para la producción de éstas gasolinas es necesaria una

TABLA II



USOS DEL PLOMO EN LA INDUSTRIA

menor cantidad relativa de petróleo crudo, lo que en la época actual de escasez de energéticos constituye una extraordinaria ventaja, por otra parte hasta la fecha no se ha logrado diseñar un sustituto adecuado pues la mayoría de los que se han propuesto son menos eficientes y altamente sospechosos de tener propiedades carcinógenas.

En México el tetraetilo de plomo es indispensable por las razones derivadas directamente de los hechos mencionados, pues de no emplearse se trastornaría el sistema de transporte, por otra parte los sistemas de producción de gasolina en el país están diseñados para la obtención de combustible que necesariamente requiere del tetraetilo de plomo; además, las condiciones económicas actuales imposibilitan el montaje de plantas para la producción de otro tipo de combustible. Estas circunstancias han hecho fracasar los intentos por reducir el tetraetilo de plomo en las gasolinas, y el hecho evidente es un aumento real en el consumo del tetraetilo de plomo en la república mexicana como se observa en la tabla dos.

Hasta la actualidad no se tienen evidencias incontrovertibles de que el plomo sea nocivo a las concentraciones observadas en el ambiente urbano, por lo que no se puede justificar la prohibición de su empleo; no obstante existen sospechas de que el plomo es capaz de producir una amplia gama de efectos biológicos,

los que se resumen en las tablas tres y cuatro, por esta razón es indispensable estudiar los efectos biológicos del plomo a las concentraciones ambientales actuales y a las que se espera encontrar en las próximas décadas en caso de no establecer restricciones a su uso, de tal manera que se puedan establecer los límites máximos permisibles en el ambiente urbano.

I M P O R T A N C I A D E L O S I N D I C A D O R E S

Sabemos que generalmente dentro de una población existen grupos de sujetos que por sus características inherentes tienen una mayor susceptibilidad biológica a un determinado agente, asimismo sabemos que incluso dentro del mismo organismo humano existen notables diferencias en sensibilidad a los agentes externos. De acuerdo a los objetivos de la Salud Pública, interesa fundamentalmente el diseño de medidas relacionadas directa e indirectamente con la prevención de las enfermedades, por lo que no basta con realizar estudios para tratar de descartar o identificar efectos nocivos para la salud atribuibles al plomo contaminante del ambiente urbano, sino que importa contar con métodos diagnósticos que funcionen como indicadores predictivos indirectos cuyo uso permita la identificación de los sujetos que por ser biológicamente susceptibles, tengan un mayor riesgo de presentar los efectos nocivos determinados por el agente en estudio.

T A B L A 3
EFECTOS BIOLÓGICOS ATRIBUIDOS AL PLOMO

Captación de yodo por el tiroides humano.	Sandstead, H.H.	1969	(48)
Déficit psicomotriz en niños.	Perlstein, M.A.	1966	(43)
Síntesis de las cadenas alfa y beta de las globinas en reticulocitos humanos.	White, J.M.	1972	(54)
Alteraciones cromosómicas de linfocitos humanos.	Schwanitz, G.	1970	(49)
Teratogénesis en pollos.	Gilani, S.H.	1973	(19)
Neuropatías en humanos.	Barghdassarian, S.A.	1968	(1)
Reproducción en humanos.	Hildebrand, D.C.	1973	(28)
Adenomas y adenocarcinomas renales en ratas.	Mao, P.	1971	(35)
Alteración en la síntesis de anticuerpos en ratones.	Koller, P.L.	1974	(30)
Susceptibilidad a <i>Salmonella typhimurium</i> en ratón.	Hemphill	1971	(25)

T A B L A 4

ENZIMAS HUMANAS INHIBIDAS POR EL PLOMO

Adenosintrifosfatasa	Hasan, J.	1967	(24)
Deshidratasa del ácido delta amino levulínico eritrocítica.	Lichtman H.; Bonsignore D.		(33,6,7)
	De Bruin, A.; Nakao, K.		(14,40)
	Moore, M.R.; Rausa, G		(37,46)
	Neiburg, P.; Tola S.	1963-1974	(41,52)
Fosfatasa alcalina - sérica	Rausa, G.	1969	(47)
Glucosa 6-fosfato -- deshidrogenasa eritrocitaria.	Rausa, G.	1968	(46)
Deshidrogenasa succínica de mitocondrias placentarias.	Dawson, E.B.	1969	(13)
Heme sintetasa humana.	Chisolm, M.J.	1964	(11)

Ya que la validación de éstos métodos predictivos indirectos requieren la ejecución de diseños experimentales similares a los empleados para identificar los efectos biológicos nocivos del agente, y considerando por otra parte, la posibilidad de que el procedimiento seleccionado al cabo de un estudio resulte que no funciona como indicador y haya necesidad de realizar otros estudios, conviene intentar la validación de por lo menos uno de estos métodos predictivos paralelamente a los experimentos en los que se pretende, por vez primera, la demostración de los efectos biológicos nocivos, sobre todo si estos estudios son prolongados y costosos, por esta razón el Departamento de Investigación en Salud Pública ha iniciado los estudios iniciales relacionados con la valoración de los métodos predictivos indirectos que pudieran emplearse en el caso del estudio de los efectos biológicos del plomo contaminante del ambiente urbano.

Ya se ha señalado que no todos los sistemas biológicos del organismo humano responden en forma similar a la exposición a un agente, además existen respuestas biológicas que no necesariamente constituyen un efecto biológico nocivo para la salud, por esta razón para la selección de los métodos predictivos a valorar, deberán analizarse las evidencias disponibles en busca de procedimientos de laboratorio que sean indicadores de efectos biológicos detectables, incluso a bajas concentraciones del metal, que tengan una respuesta gradual dentro

del rango de concentraciones que interesa estudiar, que sean factibles de ser aplicados en estudios de población y en la mejor de las circunstancias que su respuesta no sea modificada por otro tipo de agentes comunes y (o) estados biológicos de alta prevalencia en la población en la que interesa aplicar el método.

En éste trabajo se presentan las observaciones relacionadas con uno de los experimentos previos a la selección de una técnica que pudiera funcionar como un indicador predictivo indirecto de los efectos biológicos del plomo , que se pretende validar durante los estudios de los efectos de éste metal sobre el producto de la concepción, sobre la respuesta inmune y sobre la prevalencia de enfermedades infecciosas.

A continuación se analizan los efectos del plomo sobre el metabolismo del heme , y posteriormente se presentarán algunos aspectos metodológicos relacionados con la validación de un indicador predictivo indirecto, estas consideraciones se exponen a fin de facilitar la comprensión de la importancia y trascendencia de las observaciones realizadas en el presente trabajo, el cual constituye una pequeña parte, pero capital, de un complejo sistema de experimentación clínica, epidemiológica y de laboratorio tendiente al planteamiento de un problema de salud pública .

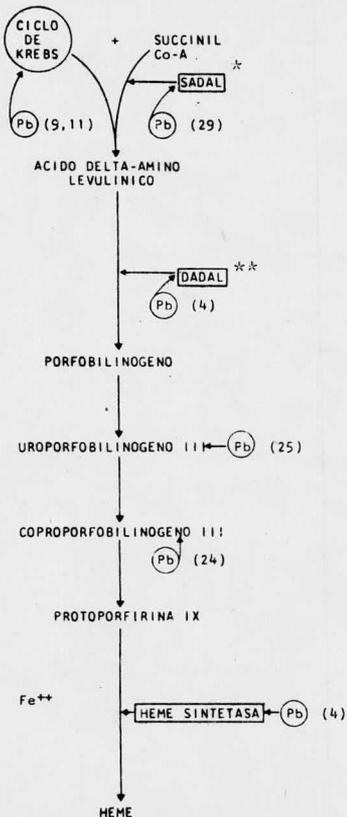
SELECCION DEL INDICADOR .

En estudios experimentales se ha demostrado que el Plomo es capaz de alterar casi todas las etapas de la vía bio-sintética del HEME (4, 9, 11, 24, 25,29) y que en el humano los puntos más sensibles son la deshidratasa del Acido Delta Amino Levulinico (DALA) y la HEME sintetasa (4, 10, 15, 16, 18, 19, 20 28, 31, 33, 39)..En la Tabla I se resumen los efectos del Plomo en la vía metabólica del HEME, sus manifestaciones en sangre y orina, y los diagnósticos diferenciales de los resultados obtenidos con las diferentes técnicas de laboratorio disponibles.

Por lo que respecta a las primeras etapas del metabolismo del HEME, Goldberg y Dresel observaron importante inhibición en la síntesis de protoporfirinas libres a partir de glicina con concentraciones de Plomo del orden de $10^{-5}M$, que corresponderían a una concentración sanguínea de Plomo de 207 mcg/100 ml. Si se considera que las personas residentes en el ambiente urbano rara vez tienen concentraciones sanguíneas por arriba de 50 mcg/100ml y que en circunstancias laborales rara vez aobrepasan los 200 mcg/100 ml. es poco factible que en un plazo mediato se logren alcanzar las circunstancias que determinen cifras sanguíneas de Plomo similares para observar en la población general disminución en la síntesis de Protoporfirinas libres a partir de glicina (9, 11).

T A B L A I

METABOLISMO DEL HEME



MANIFESTACIONES DETECTABLES EN SANGRE Y ORINA DE LOS EFECTOS DEL PLOMO

Aumento de ADAL en la excreción urinaria (7,12,23)

Disminución de la actividad de DADAL eritrocitaria humana (4,10,15,16,18,19,20,28,31,39)

Aumento de PBG en la excreción urinaria (13,24,27)

Aumento de UPBG III en la excreción urinaria (25)

Aumento de CPBG III en la excreción urinaria (2,34)

Aumento en las protoporfirinas eritrocíticas (13,22)

Inhibición de la actividad de la HEME sintetasa eritrocítica (4)

Disminución de la concentración del grupo HEME eritrocítico

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Aumento en porfirias incluidas las producidas químicamente, no se conocen otras causas de aumento en la excreción urinaria, pero los estudios están incompletos. (6-A)

El alcohol también disminuye la actividad de DADAL, no se conocen otras causas, pero los estudios están incompletos. (30)

También se observa aumento en la anemia ferropénica y en porfirias incluidas las producidas químicamente pero los estudios están incompletos. (24)

También se observa aumento en la excreción urinaria de UPBG III en las porfirias, F. reumáticas, poliomielititis y cirrosis. (17,38)

También se observa aumento en la excreción urinaria de CPBG III en las porfirias F. reumática, poliomielititis y cirrosis. (17,38)

También se observa aumento de las protoporfirinas eritrocíticas en las protoporfirias eritropoyéticas, no se conocen otras causas de aumento pero los estudios están incompletos (26,32)

No se conocen otras causas de inhibición pero los estudios están incompletos (14)

En todas las anemias se encuentra disminución del HEME.

* Sintetasa del Acido Delta Amino Levulinico

** Deshidratasa del Acido Delta Amino Levulinico

En cuanto a la síntesis del Acido Delta Amino-Levulinico, Morrow en eritrocitos de pollo observó el 50% de inhibición en la actividad de la Sintetasa del Acido Delta Amino-Levulinico cuando se le expone a concentraciones de Plomo del orden de 10^{-3} M (29), equivalente a una concentración sanguínea de 20.7 mg/100 ml. que tampoco se espera observar en los residentes de las ciudades.

En relación a la siguiente etapa metabolica, Gibson observó inhibición del 20% en la actividad de la Deshidratasa del Acido Delta Amino-Levulinico purificada de higado de buey cuando la expuso a una concentración de Plomo de 10^{-3} M. Ya se ha mencionado - que estas concentraciones son demasiado elevadas. Sin embargo, posteriormente en hemolizado de eritrocitos humanos; Lichtman, Boinsignore, Nakao, Hernberg, Millar Weissberg y Haeger-Aronsen han observado disminución en el Porfobilinogeno formado en este sistema la que ha sido relacionada con las concentraciones de - Plomo sanguíneo en sujetos normales y con intoxicación laboral con Plomo.

Lichtman en hemolizado de eritrocitos de sujetos con intoxicación con Plomo encontro inhibición en la síntesis in vitro de - Uroporfobilinogeno, Coproporfobilinogeno y Protoporfirina; pero observó aumento en las concentraciones sanguíneas de estos metabolitos en los pacientes estudiados.

Por lo que respecta a la etapa final de la síntesis del HEME, - Goldberg en eritrocitos íntegros de pollo observó inhibición en la captación de Hierro en el núcleo porfirínico cuando se exponía el sistema a Plomo.

A partir de estas observaciones es difícil descartar de primera intención el empleo de las manifestaciones de los efectos biológicos del Plomo sobre el metabolismo del HEME, detectables en sangre y orina, en virtud de los hallazgos obtenidos in vitro sólo con altas concentraciones del metal, ya que, como se ha - descrito en el caso de la Deshidratasa del Acido Delta Amino-Levulinico la respuesta biológica in vivo, al menos con respecto al hombre, parece ser completamente diferente. Sin embargo se debe reconocer que los sistemas experimentales son diferentes pues Gibson estudió los efectos del Plomo en la enzima purificada de hígado de buey y el resto de los investigadores han empleado la cuantificación de Porfobilinogeno formado en hemolizado de eritrocitos humanos.

Sin embargo es factible realizar una selección inicial en función de los diagnósticos diferenciales a realizar, si las pruebas resultan positivas en otros estados biológicos independientemente de la concentración sanguínea de Plomo; de acuerdo con este criterio la cuantificación de la excreción de Porfobilinogeno no es de aplicación práctica en el país porque también se altera en

la anemia ferropénica (24), y en la cirrosis hepática (4) - que son problemas de salud de alta frecuencia, de este modo los métodos factibles y de utilidad potencial para estudios epidemiológicos podrian ser la cuantificación de la excreción urinaria del Acido Delta Amino-Levulinico, de la síntesis de Porfobilinogeno por el hemolizado de eritrocitos humanos, y la cuantificación de Protoporfirinas eritrocíticas.

Como se ha señalado anteriormente existen indicios de que las concentraciones de Plomo estan relacionadas negativamente con la actividad de la Deshidratasa del Acido Delta Amino-Levulinico, cuantificada en función de la síntesis de Porfobilinogeno por el hemolizado de eritrocitos humanos y por el aumento de la concentración urinaria del Acido Delta Amino-Levulinico, además, - los efectos sobre la actividad de la Deshidratasa del Acido Delta Amino-Levulinico en el hemolizado parecen estar presentes incluso con concentraciones bajas del metal, características que le permitirían funcionar eficientemente como indicador de los efectos biológicos del Plomo contaminante del ambiente urbano, por lo que es conveniente completar los estudios relacionados con la validación del empleo de estas técnicas con este fin.

V A L I D A C I O N M E T O D O L O G I C A .

Antes de hacer la presentación del problema que se pretende plantear con este trabajo conviene hacer unas consideraciones acerca de la validación de un método diagnóstico, lo que, como se ha dicho facilitará la comprensión del problema y del diseño experimental.

Un estudio de laboratorio tiene dos funciones básicas en estudios epidemiológicos: en la primera de ellas la técnica funciona como un identificador directo de la existencia de un agente o de un proceso biológico. Ejemplo:

Un hemocultivo en el que se logra aislar una *Salmonella typhi*, funciona como identificador directo de un agente.

La segunda función de un método diagnóstico es la de actuar como un indicador indirecto de la presencia de un agente, de la existencia de un proceso biológico y (ó) de la presencia de susceptibilidad a la aparición de un proceso biológico. Ejemplo:

Las reacciones febriles positivas, indirectamente nos pueden señalar la existencia de un proceso infeccioso por *Salmonella*.

En muchas situaciones desde el punto de vista práctico no es factible la aplicación de un método diagnóstico directo, esto ocurre en la mayoría de los estudios epidemiológicos ya que por

lo general estos métodos suelen ser tardados, costosos y complicados por lo que, se busca la obtención de métodos que aunque indirectos sean rápidos, baratos y simples.

Antes del empleo rutinario de un método indirecto se debe cuantificar su validez como indicador del proceso o del agente que interesa estudiar, para ello es necesario conocer por una parte - su exactitud predictiva positiva y por otra su exactitud predictiva negativa. Por lo que respecta a la primera interesa conocer que probabilidad existe de que el sujeto en realidad tenga la condición confirmada en caso de que la prueba de un resultado positivo. En la segunda se pretende conocer qué probabilidad existe de que el sujeto no tenga en realidad la condición confirmada en caso de que la prueba de un resultado negativo.

El cálculo de las exactitudes predictivas se hace con los resultados de la prueba en estudio, obtenidos al aplicarla en grupos de sujetos con y sin la condición confirmada, para lo que se requiere emplear el método como indicador indirecto, tal y como se muestra en la Figura 1 en ella se han incluido además, los cálculos de la sensibilidad y de la especificidad.

Los cálculos de las exactitudes predictivas se modifican en forma sustancial con la prevalencia de la condición confirmada positiva de modo que con una alta prevalencia se puede obtener una

Figura 1 M .

		CONDICION CONFIRMADA	
		+	-
RESULTADO DE LA PRUEBA	+	a (positiva real)	b (falsa negativa)
	-	c (falsa positiva)	d (negativa real)

$$\text{Exactitud predictiva positiva} = \frac{a}{a + b}$$

$$\text{Exactitud predictiva negativa} = \frac{d}{c + d}$$

$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{a + c}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{d}{b + d}$$

excelente exactitud predictiva positiva, independientemente de la sensibilidad y especificidad de la prueba, en caso de una baja prevalencia de la condición confirmada positiva, se obtiene una excelente exactitud predictiva negativa, tal y como se demuestra teóricamente en la Tabla I M y prácticamente en los ejemplos de las Figuras II y III M.

Por otra parte, con este sistema de prueba de la validez de un indicador indirecto surgen varios problemas derivados del hecho de clasificar a los sujetos única y exclusivamente en función de la presencia o ausencia de la condición confirmada, ya que para incluir a un sujeto en el estudio dentro del grupo con condición confirmada negativa basta con no tener la condición en estudio. Usualmente existen un conjunto de procesos diferentes a la condición confirmada positiva que teóricamente pueden ser capaces de afectar directa o indirectamente el resultado de la prueba haciéndola positiva. Por ello si no se pretende en forma dirigida calcular las exactitudes predictivas, la sensibilidad y la especificidad, al contrastar grupos de sujetos con condiciones confirmadas positivas y con condiciones confirmadas negativas pero con todos y cada uno de estos efectos biológicos que teóricamente pueden afectar el resultado de la prueba, es muy poco probable que se pueda identificar aquellos estados biológicos que modifican el resultado de la prueba, de tal modo que se puede dar por confiable y validado un método indirecto y de esta forma,

Tabla 1 M .- Efecto de la prevalencia sobre los valores de exactitud predictiva*.

Prevalencia Real de la Enfermedad.	Exactitud Predictiva Positiva.	Exactitud Predictiva Negativa.
%	%	%
1	16.1	99.9
2	27.9	99.9
5	50.0	99.7
10	67.9	99.4
20	82.6	98.7
50	95.0	95.0
75	98.3	83.7
100	100.0	—

* Calculadas cuando la sensibilidad y especificidad de la prueba son del 95%.

Figura 11 M .

A partir de los resultados obtenidos por Selander, debido a que realizó sus observaciones en trabajadores expuestos a Plomo, - con una alta prevalencia es posible obtener una excelente exactitud predictiva positiva a partir de las concentraciones urinarias del Ácido Delta Amino Levulinico tal y como se demuestra a continuación

	C O N D I C I O N		C O N F I R M A D A	
		+		-
RESULTADO DE	+	40		1
LA PRUEBA	-	50		59
Exactitud predictiva positiva	=	$\frac{40}{41}$	=	97.56%
Exactitud predictiva negativa	=	$\frac{59}{109}$	=	54.44%
Sensibilidad	=	$\frac{40}{90}$	=	44.44%
Especificidad	=	$\frac{59}{60}$	=	98.33%
Prevalencia	=	$\frac{90}{100} \times 100$	=	60.0%

Figura 111 M .

Por el contrario, a partir de los resultados obtenidos por Lin-Fu dado que realizó sus observaciones en niños expuestos al ambiente urbano, con una prevalencia del 1.2% también con la determinación urinaria del Ácido Delta Amino-Levulinico obtuvo una excelente exactitud predictiva negativa y una pésima exactitud predictiva positiva, tal y como se muestra a continuación:

	C O N D I C I O N C O N F I R M A D A	
	+	-
Resultado de la Prueba	33	160
	-	0
		3034
Exactitud predictiva positiva	=	$\frac{33}{193} = 17.10\%$
Exactitud predictiva negativa	=	$\frac{3034}{3034} = 100.00\%$
Sensibilidad	=	$\frac{33}{33} = 100.00\%$
Especificidad	=	$\frac{3034}{3227} = 94.99\%$
Prevalencia	=	$\frac{33 \times 100}{3227} = 1.02\%$

cuando se aplica en forma masiva en estudios epidemiologicos, - se pueden obtener resultados erroneos por incluir dentro de los resultados positivos aquellos derivados de otros procesos diferentes a la condición confirmada positiva que interesa estudiar

Por ello es indispensable durante la validación de un indicador indirecto descartar en forma sistemática a todos y cada uno de los procesos que práctica o teóricamente sean sospechosos de - producir positividad o negatividad de la prueba en ausencia o presencia, respectivamente, de la condición confirmada en estudio.

P L A N T E A M I E N T O D E L P R O B L E M A .

En las gráficas Selander₁ y Haeger-Aronsen se muestran los resultados típicos obtenidos en estudios transversales, de la correlación entre las concentraciones sanguíneas de Plomo con la concentración urinaria del Ácido Delta Amino-Levulinico y la síntesis de Porfobilinogeno por el hemolizado de eritrocitos humanos. En la Selander₁ se puede observar que por abajo de la línea punteada horizontal existen numerosos resultados de personas que a pesar de tener concentraciones sanguíneas de Plomo por arriba de 40 mcg/100 ml. mostraron concentraciones de Acido Delta Amino-Levulinico urinario similares a la de los sujetos con concentraciones sanguíneas de Plomo bajas.

En la Haeger-Aronsen se puede observar que por abajo de una concentración sanguínea de Plomo de 20 mcg/100 ml. existe una gran variabilidad en la síntesis de Porfobilinogeno por el hemolizado de eritrocitos con resultados que varían desde menos de 50 mcg por 100 mililitros, hasta más de 200 mcg/100 ml.

En uno y otro caso se observa una extraordinaria variabilidad en los resultados obtenidos independientemente de las concentraciones de Plomo, estas observaciones sugieren la posibilidad de que existen otros factores capaces de afectar los resultados de estos indicadores indirectos, que no han sido identificados debido

ALA
mg/100 ml urine

4.0

3.0

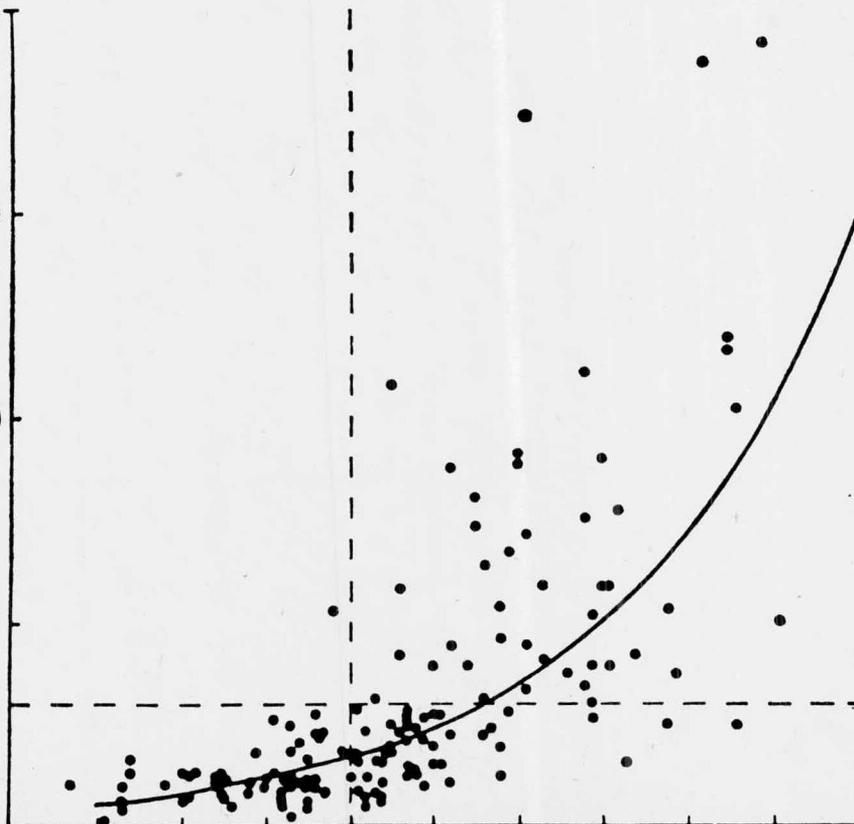
2.0

1.0

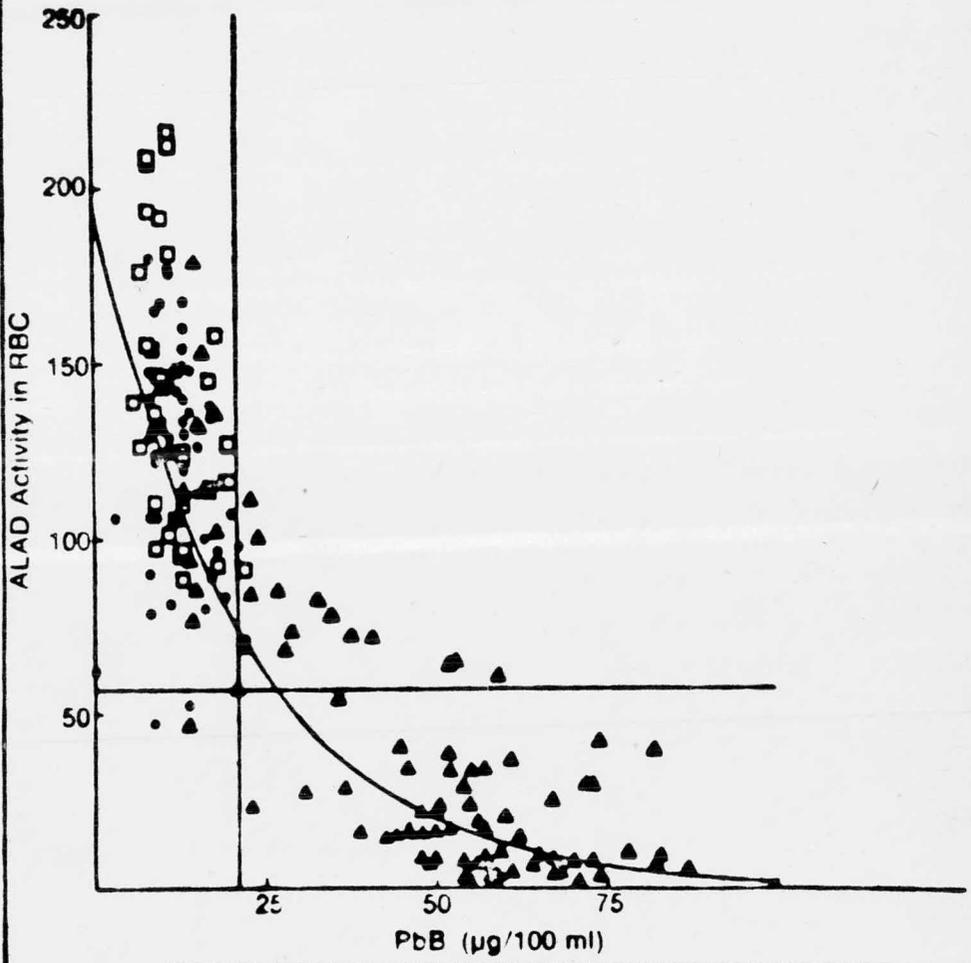
Pb $\mu\text{g}/100\text{ ml blood}$

$$ALA = 10^{0.0157 Pb} - 1.0985$$

$n = 150$



HAEGER ARONSEN

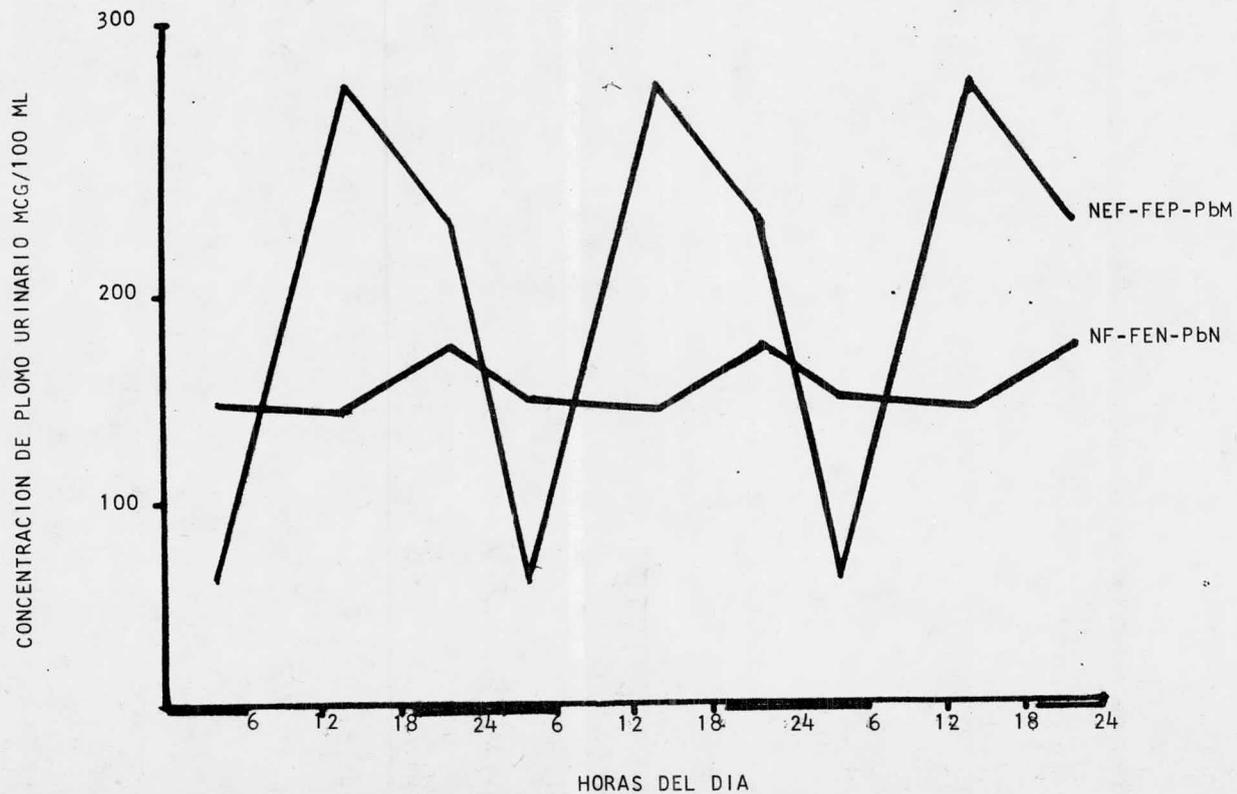


a la falta de una búsqueda sistematizada de factores que teórica o prácticamente están relacionados con la respuesta en -- estudio.

En el curso de las observaciones realizadas en este laboratorio durante un estudio acerca del efecto de los hábitos sobre la concentración urinaria de Plomo, se observaron variaciones durante el día en las concentraciones urinarias del metal, independientes cronológicamente con la exposición a manibras relacionadas con los hábitos personales y con exposición al metal, gráfica. Por esta razón surge la posibilidad de que estos fenómenos también ocurran en cuanto a las concentraciones urinarias del Ácido Delta Amino-Levulinico las que de ser ciertas - explicarían las grandes variaciones en las observaciones hasta ahora realizadas, con lo que se tendrían que modificar los sistemas de validación y aplicación de estos indicadores.

El objetivo del presente trabajo es el descartar estas posibilidades para lo cual se han estipulado los siguientes criterios e hipótesis.

VARIACIONES DURANTE EL CURSO DEL DIA EN LAS CONCENTRACIONES
DE PLOMO EN ORINA.



C R I T E R I O S

- 1.- Se considerarán como sujetos "residente en el ambiente urbano" a las personas habitantes de la ciudad de México, que no participan directamente en el proceso de producción de factorías que manipulan materias primas con altas concentraciones de Plomo y que son reconocidos como capaces de modificar las concentraciones sanguíneas de Plomo y de provocar intoxicación saturnina y cuyas actividades son reconocidas desde este punto de vista como riesgo laboral.
- 2.- Se considerará como "curso de 24 horas del día" al tiempo incluido entre las 0 horas y las 24 horas inclusive, para fines de análisis, este período se dividirá en tres etapas, a saber $> 0 \leq 8$, $> 8 \leq 20$ y $> 20 \leq 24$.
- 3.- Se considerará como "constante" aquellas concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico urinario observadas en una de las etapas del curso de las 24 horas del día, cuyas diferencias no sean estadísticamente significativas, con probabilidad de $p < 0.05$.
- 4.- Se considerarán como "presencia de variación en las concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico urinario en el curso de las 24 horas del día" cuando se observen concentra-

ciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario en el curso de una de las tres etapas y que sean diferentes entre sí desde el punto de vista estadístico, con probabilidad de : --
 $p < 0.05$.

- 5.- Se considerará "sujeto adulto;" aquellas personas mayores de 15 años de edad.
- 6.- Se considerará como "sujeto no fumador" a las personas que no aspiren directamente el humo del tabaco y aquellas que aspiren ocasionalmente el humo de tabaco producido por el equivalente a un cigarrillo. Si la persona aspira directamente el humo de tabaco equivalente a un cigarrillo en una sola ocasión "el curso de las 24 horas del día", de observación se clasificarán como "factor externo positivo" pero no como fumador.
- 7.- Se considerará como "factor externo positivo" aquellas maniobras que teóricamente sean sospechosas de afectar directa e indirectamente las respuestas en estudio; desde el punto de vista práctico se considerará como tales: Ingesta de bebidas alcohólicas; medicamentos; exposición a humos por combustiones de gas doméstico, carbón, gasolina durante embotellamiento, tabaco equivalente a un solo cigarrillo; exposición a pinturas y otros solventes; ingesta de alimentos envasados en lata y (o) cocinados en loza de barro vidriado; ingesta de -

productos no alimenticios con altas concentraciones de plomo como: Material impreso, lápices, mastique, cascaritas de pintura, pedazos de barro vidriado. Las determinaciones de las concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico urinario que se realizaron dentro de las 12 horas siguientes a la exposición de estos factores se analizarán dentro del -- grupo de factores externos positivos.

- 8.- Se considerará como "factores externos negativos" aquellos sujetos no expuestos a las circunstancias descritas en el criterio 7.
- 9.- Se considerará como "concentraciones de Plomo sanguíneas -- baja" aquellas comprendidas por abajo de 26 mcg/100 ml. Las determinaciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario - que se realizaron dentro de las 12 horas antes y después del especimen sanguíneo se analizaron dentro del grupo de Plomo bajo.
- 10.- Se considerará como "concentraciones medias de Plomo sanguíneo" a las comprendidas por arriba de 25 mcg/100 ml y por -- abajo de 40 mcg/100 ml. Las determinaciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario que se realizaron dentro de las 12 horas antes y después del especimen sanguíneo se considerarán dentro del grupo Plomo medio.

- 11.- Se considerará como "fumadores" a las personas que aspiran directamente el humo del tabaco producido por el equivalente a más de un cigarrillo en el "curso de las 24 horas del día" de observación.

- 12.- Se considerarán como "asincrónicas" aquellas variaciones en las concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico-urinario que se presente en las diferentes etapas de las 24 horas del día.

H I P O T E S I S

- 1.- La concentración del Acido Delta Amino-Levulínico urinario en los sujetos "residentes en el ambiente urbano", no es - "constante" en el "curso de las 24 horas del día".
- 2.- Las concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico urinario, en por lo menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son mayores en los sujetos adultos no fumadores con factores externos positivos y concentraciones de plomo sanguíneo bajos que las de los sujetos adultos no fumadores -- factores externos negativos y concentraciones de plomo sanguíneo bajo.
- 3.- Las concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico urinario, en por lo menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son mayores en los sujetos adultos no fumadores, factores externos negativos, con concentraciones media de Plomo sanguíneo que la de los sujetos adultos no fumadores, factores externos negativos y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo.
- 4.- Las concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico urinario, en por lo menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son mayores en los sujetos adultos no fumadores, con concentraciones bajas de Plomo y factores externos

positivos que las de los sujetos adultos no fumadores, factores externos negativos y concentraciones de plomo sanguíneo bajo.

- 5.- Las concentraciones del Acido Delta Amino-Levulínico urinario, en por lo menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son mayores en los sujetos adultos fumadores con concentraciones bajas de plomo sanguíneo y factores externos negativos que las de los sujetos adultos no fumadores, factores externos negativos y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo.

M E T O D O

Se estudiaron a todas aquellas personas "adultos" "residentes en el ambiente urbano" que, después de una conversación inicial acerca de la importancia del problema, accedieron a participar en el estudio, y que en el estudio clínico no presentaron indicios de algún proceso patológico en evolución.

A cada una de las personas que colaboró en este trabajo, se les explicaron los criterios y la forma de registrar sus hábitos y factores sospechosos de alterar la respuesta en estudio, descritas anteriormente en la sección de criterios, y se les proporcionaron hojas especiales para anamnesis y registro de sus observaciones similares a la que se presenta en el anexo 1. Las personas colaboraron un tiempo mínimo de 5 días. La clasificación de las personas en cuanto a hábito tabaquico, -- presencia de factores externos negativos y concentraciones de plomo sanguíneo se efectuó después de realizar las observaciones.

De estas personas se obtuvieron 8 ml de sangre venosa, la cual se extraía con jeringa desechable y se colocaba en tubos de ensayo de vidrio libres de plomo, los cuales contenían 0.2 ml de heparina como anticoagulante. Por otra parte, se obtuvieron muestras de orina durante el curso del día.

Las determinaciones de Plomo sanguíneo y urinario se realizaron por medio de espectroscopia de absorción atómica que se detallan en el anexo 2 y 3 respectivamente.

Las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario se determinaron espectrofotométricamente de acuerdo a la técnica que se detalla en el anexo 4.

R E S U L T A D O S

En la tabla R1 se sintetizan las observaciones realizadas durante el estudio. Se presentan los resultados de las determinaciones de las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario agrupados de acuerdo a la homogeneidad biológica de los -- sujetos por esto, y debido a la naturaleza testimonial del estudio, no se cuenta con igual número de observaciones en cada uno de los grupos y por ello algunas observaciones son escasas.

T A B L A R-1
 CONCENTRACIONES DEL ACIDO DELTA AMINO LEVULINICO URINARIO EN LOS
 DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS. SINTESIS DE OBSERVACIONES.

G R U P O	CARACTERISTICAS DEL GRUPO				E S T A D I S T I C O		
	FUMADOR	FACTOR EXTERNO	Pb	Etapa	N Observ.	\bar{X}	S
1	-	-	b	1	16	395.	120
	-	-	b	2	22	449	123
	-	-	b	3	13	398	68
2	-	-	M	1	7	501	219
	-	-	M	2	5	362	203
	-	-	M	3	3	560	102
3	-	+	b	1	4	520	211
	-	+	b	2	4	583	230
	-	+	b	3	5	727	294
4	-	+	M	1	3	389	211
	-	+	M	2	3	371	94
	-	+	M	3	5	397	83
5	+	-	b	1	3	1223	143
	+	-	b	2	12	992.42	90
	+	-	b	3	2	640	85

A N A L I S I S D E L O S R E S U L T A D O S

En relación a la hipótesis 1 que dice, "la concentración del Acido Delta Amino Levulínico urinario en los sujetos residentes en el ambiente urbano, no es constante en el curso de -- las 24 horas del día". En la tabla R2 se resume el contraste de las observaciones realizadas en las diferentes etapas del curso de las 24 horas. Como se puede observar en ella el grupo de los fumadores fué el único en el que se logró demostrar la existencia de variaciones. Sin embargo, como se puede apreciar en la gráfica R1 realmente existen variaciones en todos los grupos estudiados, pero debido a las pocas observaciones en algunos de ellos no se lograron demostrar diferencias significativas desde el punto de vista estadístico.

Por lo tanto la hipótesis estipulada se valida parcialmente y puede aseverarse que las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario en los sujetos adultos residentes en el -- ambiente urbano, fumadores y con factores externos negativos -- y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo, no son constantes -- en el curso de las 24 horas del día.

T A B L A R-2

CONTRASTE DE LAS OBSERVACIONES REALIZADAS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CURSO DE LAS 24 HORAS. VALORACION ESTADISTICA

GRUPOS CONTRASTADOS	T	P	RELACIONADAS
NF \geq FEN ₁₂ - Pbb [*]			
0 \geq 8 con 8 \leq 20	- 1.13	p > 0.1 N.S.	1
0 \geq 8 con 20 \leq 24	- 0.06	p > 0.1 N.S.	1
8 \geq 20 con 20 \leq 24	- 1.39	p > 0.1 N.S.	1
NF \geq FEN ₁₂ - Pbm ₂₄ ^{**}			
0 \geq 8 con 8 \leq 20	1.12	p > 0.1 N.S.	1
0 \geq 8 con 20 \leq 24	0.43	p > 0.1 N.S.	1
8 \geq 20 con 20 \leq 24	- 1.54	p > 0.1 N.S.	1
NF \geq FEP ₁₂ - Pbb ₂₄ ^{***}			
0 \geq 8 con 8 \leq 20	- 0.40	p > 0.1 N.S.	1
0 \geq 8 con 20 \leq 24	1.18	p > 0.1 N.S.	1
8 \geq 20 con 20 \leq 24	- 0.80	p > 0.1 N.S.	1
NF \geq FEP ₁₂ - Pbm ₂₄			
0 \geq 8 con 8 \leq 20	0.13	p > 0.1 N.S.	1
0 \geq 8 con 20 \leq 24	- 0.08	p > 0.1 N.S.	1
8 \geq 20 con 20 \leq 24	0.41	p > 0.1 N.S.	1
F \geq FEN ₁₂ - Pbb ₂₄			
0 \geq 8 con 8 \leq 20	3.59	p < 0.01	1
0 \geq 8 con 20 \leq 24	- 5.05	p < 0.05	1
8 \geq 20 con 20 \leq 24	5.10	p < 0.01	1

* No Fumadores Factores Externos Negativos Plomo Bajo

** No Fumadores Factores Externos Negativos Plomo Medio

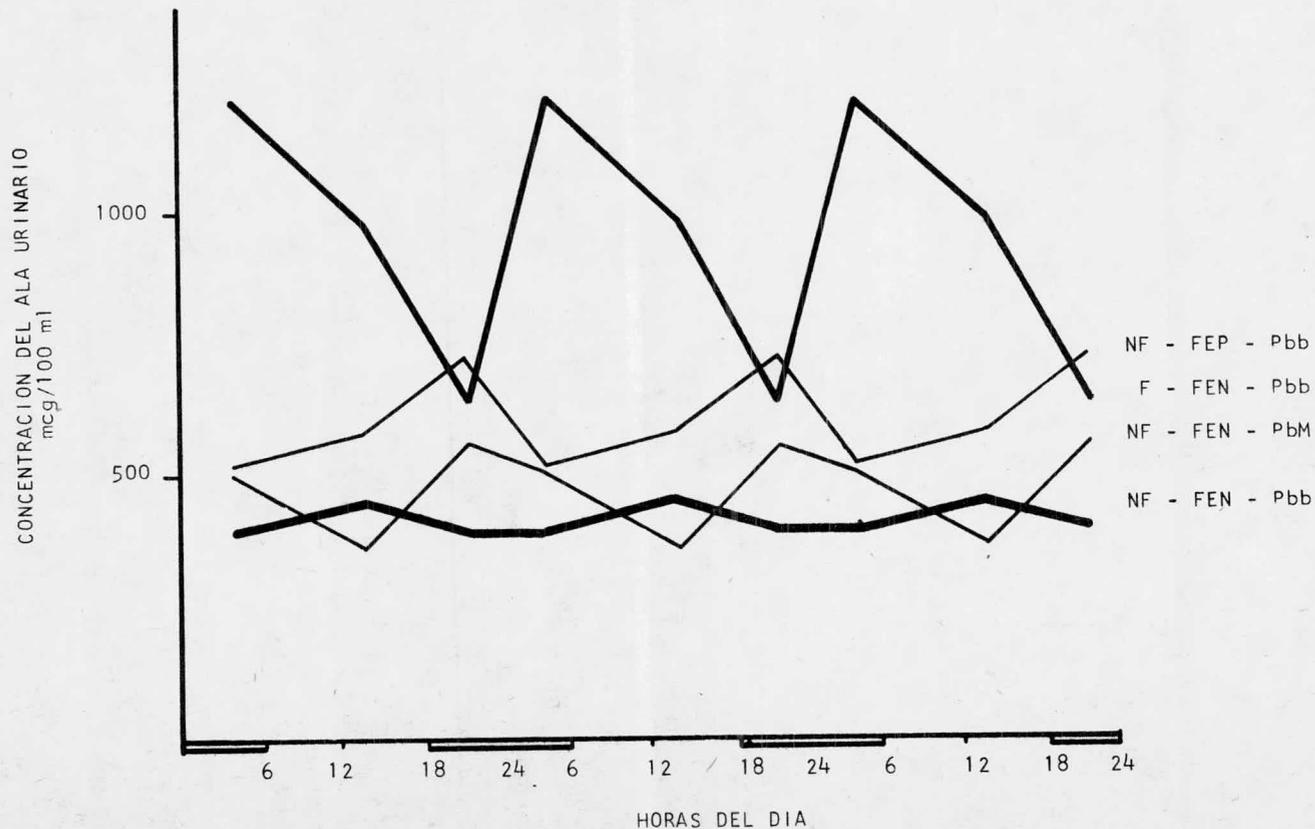
*** No Fumadores Factores Externos Positivos Plomo bajo

**** No Fumadores Factores Externos Positivos Plomo Medio

***** Fumadores Factores Externos Negativos Plomo Bajo

GRAFICA R - I

VARIACIONES EN LAS CONCENTRACIONES DEL ACIDO DELTA AMINO
LEVULINICO URINARIO EN EL CURSO DE LAS 24 HORAS EN DIFE-
RENTES GRUPOS DE SUJETOS BIOLOGICAMENTE HOMOGENEOS.



Por lo que respecta a la hipótesis 2 que dice, "las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario, en por lo -- menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son mayores en los sujetos adultos no fumadores, con factores externos positivos y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo que las de los sujetos adultos no fumadores, factores externos negativos y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo". En la tabla R3 se observa que en la única etapa en la que se encontraron diferencias estadísticamente significativas fué la correspondiente al período $>20 \leq 24$ por lo que, se valida la hipótesis propuesta.

T A B L A R-3

CONTRASTE DE LAS OBSERVACIONES REALIZADAS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CURSO DE LAS 24 HORAS. VALORACION ESTADISTICA.

GRUPOS CONTRASTADOS	T	P	HIPOTESIS RELACIONADAS
NF - FEN ₁₂ Pbb ₂₄ > 0 ≤ 8 NF - FEP ^{con} -Pbb ₂₄ > 0 ≤ 8	1.60	p > 0.1 NS	2
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 8 ≤ 20 NF - FEP ₁₂ - ^{con} Pbb ₂₄ > 8 ≤ 20	1.75	p > 0.1 NS	2
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 20 ≤ 24 NF - FEP ^{con} -Pbb ₂₄ > 20 ≤ 24	3.96	p ≤ 0.005	2

Por lo que respecta a la hipótesis 3 que dice "las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario, en por lo -- menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son mayores en los sujetos adultos no fumadores, factores externo-negativo, con concentraciones media de Plomo sanguíneo que la de los sujetos adultos, no fumadores, factores externos negativos y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo". En la tabla R4 se observa que en la única etapa en la que se encontraron diferencias estadísticamente significativas fué la correspondiente al período $>20 \leq 24$ por lo que, se valida la hipótesis propuesta.

T A B L A R-4

CONTRASTE DE LAS OBSERVACIONES REALIZADAS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CURSO DE LAS 24 HORAS. VALORACION ESTADISTICA.

GRUPOS CONTRASTADOS	T	P	HIPOTESIS RELACIONADAS
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 0 ≤ 8 con NF - FEN - Pbm ₂₄ > 0 ≤ 8	1.51	p > 0.1 N.S.	3
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 8 ≤ 20 con NF - FEN - Pbm ₂₄ > 8 ≤ 20	-0.16	p > 0.1 N.S.	3
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 20 ≤ 24 con NF - FEN ₁₂ - Pbm ₂₄ > 20 ≤ 24	3.45	p ≤ 0.01	3

Por lo que respecta a la hipótesis 4 que dice "las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario, en por lo -- menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son -- mayores en los sujetos adultos no fumadores, con concentraciones bajas de plomo y factores externos positivos que las de -- los sujetos adultos no fumadores factores externos negativos -- y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo!". En la tabla R5 se -- aprecia que en las dos etapas en las que se pudieron contras -- tar las observaciones no se lograron demostrar diferencias estadísticamente significativas, por lo que se descarta la hipótesis propuesta.

T A B L A R-5

CONTRASTE DE LAS OBSERVACIONES REALIZADAS EN LAS DIFERENTES
ETAPAS DEL CURSO DE LAS 24 HORAS. VALORACION ESTADISTICA

GRUPOS CONTRASTADOS	T	P	HIPOTESIS RELACIONADAS
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ >0 ≤ 8 NF - FEP ₁₂ ^{con} - Pbm ₂₄ >0 ≤ 8	1.11	p > 0.1 N.S	4
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ >20 ≤ 24 NF - FEP ₁₂ ^{con} - Pbm ₂₄ >20 ≤ 24	- 0.02	p > 0.1 N.S	4

Por lo que respecta a la hipótesis 5 que dice "las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario, en por lo menos una de las etapas del curso de las 24 horas del día son mayores en los sujetos adultos fumadores con concentraciones bajas de plomo sanguíneo y factores externos negativos que las de los sujetos adultos no fumadores, factores externos negativos y concentraciones de Plomo sanguíneo bajo". En la tabla R6 se puede apreciar que en todas las etapas se encontraron -- diferencias estadísticamente significativas, por lo que la hipótesis propuesta se valida.

C O M E N T A R I O S

De lo anteriormente expuesto, se deriva que de acuerdo a lo teóricamente esperado, se lograron identificar por lo menos 2 grupos de sujetos en función de la concentración del Acido Delta Amino Levulínico en orina. Como se observa en la gráfica C-1 en el presente estudio se demostró que los "fumadores" tienen una respuesta completamente diferente a las de los no "fumadores", independientemente de las concentraciones sanguíneas de Plomo y que, de no hacer la discriminación entre estos dos grupos las respuesta del grupo total pueden variar en función de las proporciones relativas entre el número de "fumadores" y el número de "no fumadores" que integren el grupo estudiado, lo que determinaría la obtención de resultados erróneos, no apegados a la realidad y muchas veces contradictorios cuando se repitiera el estudio, en la tabla C-1 se presentan las variaciones de las exactitudes predictivas positivas y exactitudes predictivas negativas y que se obtendrían con diferentes proporciones de fumadores en el grupo de condición confirmada negativa, independientemente de sus concentraciones de Plomo, como se observa se puede tener un rango desde el 100% de exactitud predictiva positiva hasta menos del 50% si se mantuviera la sensibilidad constante en un 90%.

Es importante en los estudios de detección considerar las diferencias cronológicas en los eventos objetivo estudiado, como se observa en la gráfica C-2, si se toman sincrónicamente

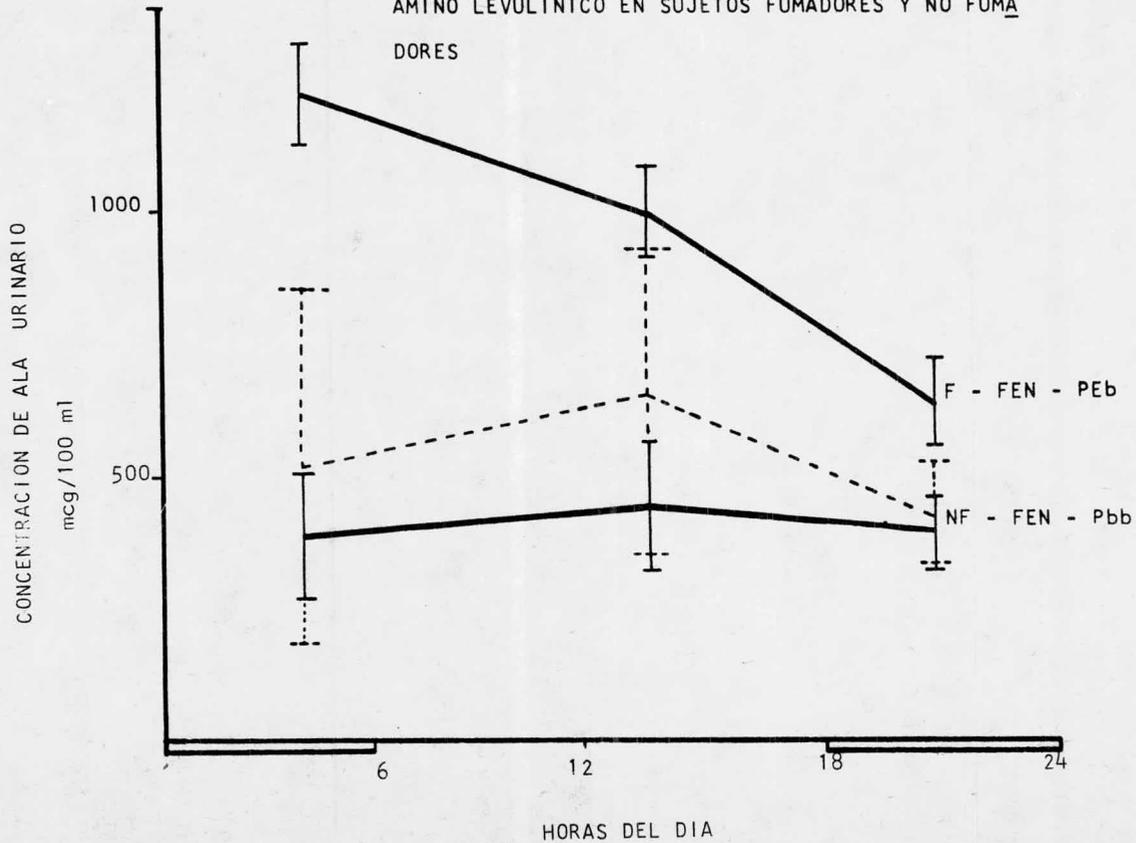
T A B L A R-6

CONTRASTE DE LAS OBSERVACIONES REALIZADAS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CURSO DE LAS 24 HORAS. VALORACION ESTADISTICA.

GRUPOS CONTRASTADOS	T	P	HIPOTESIS RELACIONADAS
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 0 ≤ 8 con F - FEN - Pbb ₂₄ > 0 ≤ 3	13.02	p < 0.001	5
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 8 ≤ 20 con F - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 8 ≤ 20	- 13.44	p < 0.001	5
NF - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 20 ≤ 24 F - FEN ₁₂ - Pbb ₂₄ > 20 ≤ 24	11.31	p < 0.001	5

GRAFICA R - 1

DIFERENCIAS EN LAS VARIACIONES DURANTE EL CURSO
DEL DIA EN LAS CONCENTRACIONES DEL ACIDO DELTA
AMINO LEVULINICO EN SUJETOS FUMADORES Y NO FUMA
DORES



T A B L A C - I

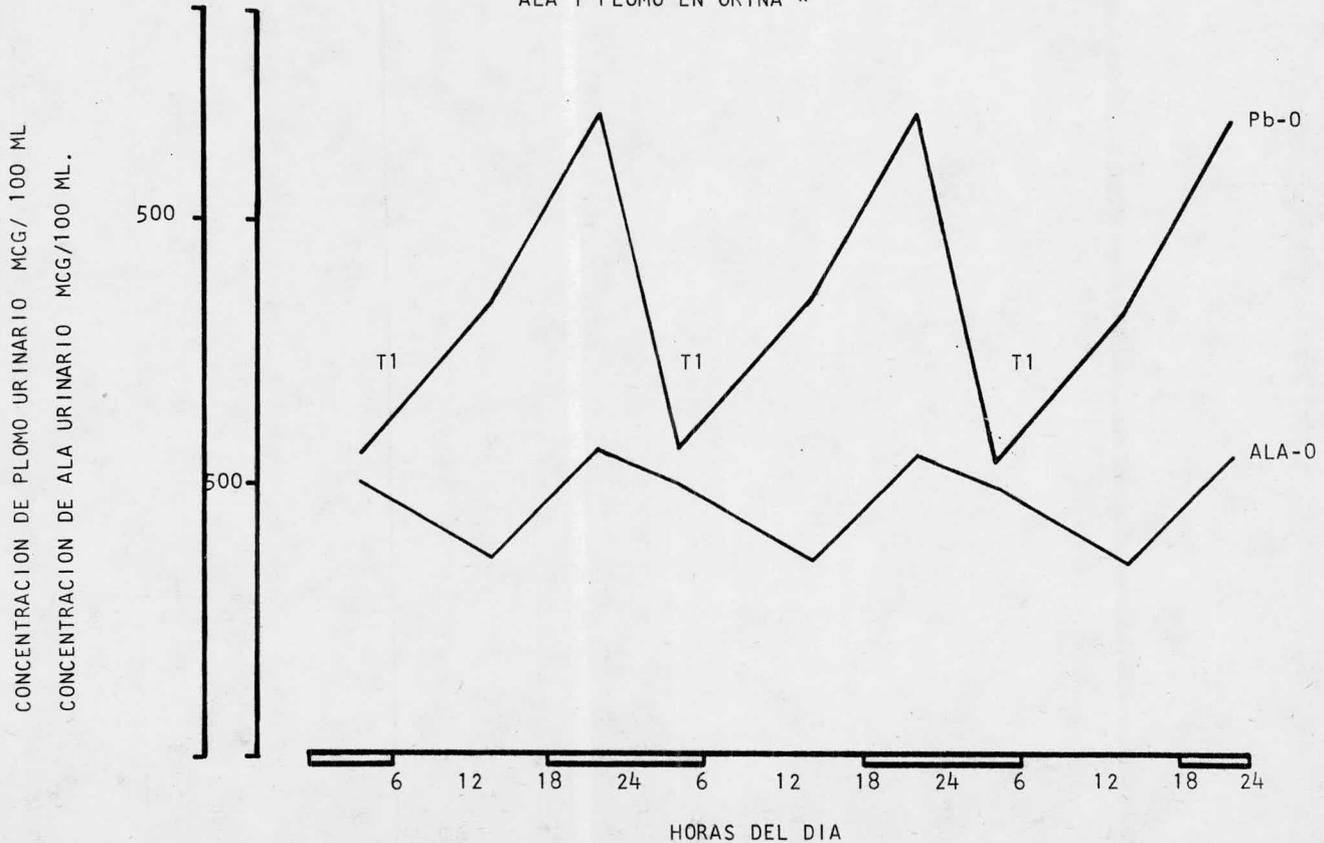
SENSIBILIDAD 90 %

% F	EPP	EPN
0	100	90.91
1	98.90	90.82
2	97.83	90.74
5	94.74	90.48
10	90.00	90.00
20	81.82	88.89
30	75.00	87.50
40	69.23	85.71
50	64.28	83.33
60	60.00	80.00
70	56.25	75.00
80	52.94	66.67
90	50.00	50.00
95	48.65	33.33

los especimenes por la mañana (T_1) las concentraciones de Plomo urinario son relativamente bajas y las del Acido Delta Amino Levulínico son relativamente altas, si no se toma en cuenta esta sincronía se puede tener una ídea falsa del proceso en estudio.

GRAFICA C-2

ASINCRONIA EN LAS VARIACIONES DE LAS CONCENTRACIONES DE
ALA Y PLOMO EN ORINA *



* En sujetos adultos normales, no fumadores, factores externos negativos y plomo moderado.

C O N C L U S I O N E S .

- 1.- Antes del empleo de un indicador en estudios clínico epidemiológicos masivos, debe descartarse la posibilidad de que haya variaciones importantes en los eventos objetivo estudiados durante el curso del día.
- 2.- En los estudios clínico epidemiológicos masivos en los que se pretende usar la concentración del Acido Delta Amino Levulínico urinario como indicador indirecto, deben analizarse por separado las observaciones realizadas en sujetos "fumadores".
- 3.- Es necesario ampliar observaciones para confirmar si presencia de "factores externos positivos" es capaz de modificar las concentraciones del Acido Delta Amino Levulínico urinario, independientemente de las concentraciones sanguíneas de Plomo.
- 4.- Ya que aún se encuentra una desviación estandar relativamente amplia sería conveniente descartar la participación de otros factores no incluídos en el presente estudio, tales como; otros metales pesados, y variaciones en funcionamiento renal.

A N E X O I

HORARIO:

0 3 3 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24

CIGARRO PERSONAL

CIGARRO AMBIENTAL

ASADO AL CARBON

G A S

TRAFICO NORMAL

TRAFICO EMBOTELLA-
MIENTO.

SPRAYS

COSMETICOS:

PASTA DE DIENTES

LATERIA:

MEDICAMENTOS

BEBIDAS (ALCOHOLICAS)

USO DE BARRO VIDRIADO

P I C A :

Pb Sangre

Pb Orina

Enzima

A L A

NOMBRE :
ACTIVIDAD:

FECHA :

EDAD :

SEXO :

ANEXO II

TECNICA PARA DETERMINAR PLOMO EN SANGRE.

Este método describe la determinación de Plomo usando un método de extracción con espectrofotómetro de absorción atómica.

REACTIVOS:

Tritón X - 100

APDC (Ditiocarbamato Pirrilidin Amonio)

MIBC (Metil Isobutil Cetona)

Soluciones Estandar:

Solución stock de Plomo de 100 mcg/ml

Solución estandar de Plomo de 10 mcg/ml

Soluciones estandar de trabajo de 30, 60 y 100 mcg/ml

PREPARACION DE LA MUESTRA.

- 1.- A 5 ml de sangre heparinizada, agregar 1 ml de Tritón X-100 al 5% y mezclar cuidadosamente.
- 2.- Agregar 1 ml. de solución APDC y mezclar
- 3.- Agregar 5 ml de MIBC tapar el tubo con tapón de hule y agitar vigorosamente 60 veces aproximadamente, centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos

Aspirar directamente el sobrenadante orgánico y comparar contra el sobrenadante obtenido de los estándares de trabajo, obteniéndose la concentración de Plomo / ml. directamente.

Las lecturas se harán en un espectrofotómetro de absorción atómica de Perkin - Elmer 403, a una longitud de onda de 283.3 nm abertura de 0.7 nm usando lámpara de cátodo hueco y con flama azul de aire-acetileno.

ANEXO III

TECNICA PARA DETERMINAR PLOMO EN ORINA.

Este método describe la determinación de Plomo usando un método de extracción con espectrofotómetro de absorción atómica.

REACTIVOS:

Tritón X - 100

APDC (Ditiocarbamato Pirrilidin Amonio)

MIBC (Metil Isobutil Cetona)

Soluciones Estandar:

Solución stock de Plomo de 100 mcg/ml

Solución estandar de Plomo de 10 mcg/ml

Soluciones estandar de trabajo de 30, 60 y 100 mcg/ml

PREPARACION DE LA MUESTRA.

- 1.- A 10 ml de orina heparinizada, agregar 1 ml de tritón X-100 al 5% y mezclar cuidadosamente.
- 2.- Agregar 1 ml de solución APDC y mezclar
- 3.- Agregar 5 ml de MIBC tapar el tubo con tapón de hule y - agitar vigorosamente 60 veces aproximadamente, centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos

Aspirar directamente el sobrenadante orgánico y comparar contra el sobrenadante obtenido de los estandares de trabajo, obteniéndose la concentración de Plomo / ml directamente.

Las lecturas se harán en un espectrofotómetro de absorción atómica de Perkin - Elmer 403, a una longitud de onda de 283.3 nm abertura de 0.7 nm usando lámpara de catodo hueco y con flama azul de aire-acetileno.

A N E X O IV

TECNICA PARA DETERMINAR CONCENTRACIONES DE ACIDO DELTA AMINO
LEVULINICO EN ORINA.

Acido acético glacial Q.P.

Acido Perclórico 70%

2,4 Pentanediona

P-dimetil Amino Benzaldehido

Acetato de Sodio Anhidro Q. P.

Agua deionizada.

PREPARACION DE LA MUESTRA

- 1.- En un tubo de 16 x 150 colocar 0.5 ml de orina y agregar 4.4 ml. de solución amortiguadora de Acetato de Sodio a pH de 4.6.
- 2.- Agregar 0.1 ml de 2,4-Pentanediona.
- 3.- Incubar en baño de agua hirviendo durante 10 minutos
- 4.- Sacar del baño y dejar enfriar
- 5.- Agregar 2 ml. de reactivo de Ehrlich modificado a 2 ml de la solución obtenida.
- 6.- Leer a 555 nm. Llevando a cero de densidad óptica con un blanco preparado con 4.5 ml de solución amortiguadora de acetato de sodio y 0.5 ml de orina.

Para el resultado final se interpolará en la curva tipo de Acido Delta Amino Levulinico (ALA).

ELABORACION DE LA CURVA TIPO DE ACIDO DELTA-AMINOLEVULINICO

TUBO #	SOL. DE ALA 0.25 mg/ml ml	SOL. AMORTIGUADORA DE ACETATO DE SODIO pH 4.6 c.b.p.	mg DE ALA/100 ml ORINA EN
1	1	50	0.5
2	2	50	1.0
3	4	50	2.0
4	6	50	3.0
5	8	50	4.0
6	10	50	5.0

B I B L I O G R A F I A

- 1.- BATTISTINI, V.J.J.: Erythrocyte delta-amino laevulic aciddehydrase activity in anaemia.
J. Hematology 20: 177-184, 1971.
- 2.- BENSON, P.F.: A realiable qualitative urine coproporphyrin test for lead intoxication in young -- children.
J. Pediatric 56: 759-767, 1960.
- 3.- BONSIGNORF, D.: Un semplice metodo per la determinazione - della d-amino-levulinico-deidratasi nel sangue.
Med. Lavoro 56: 199-205, 1965.
- 4.- BONSIGNORE, D.: L'attivita'ala-didratasica eritrocitaria - quele test diagnostico nel saturnismo professionale.
Med. Lavoro 57:647-654, 1966.
- 5.- BROWDER, A.A.: The problem of lead poisoning.
Medicine, 52: 121-139, 1973.
- 6.- BURCH, H.B.: Improved method for measurement of delta--amino-levulinic acid dehydratase activity-of human erythrocytes.
Clin. Chem. 17: 1038-1041, 1971.
- 6.A. BURNHAM, B.F.: Metabolism of porphyrins and corrinoids. - In: "Metabolic Pathwas", Greenberg D.M. -- Ed. 3th Edition Vol. III, Chapt. 18, pp. - 404-537, Academic Press.
- 7.- DAVIS, R.J.: Urinary delta-aminolevulinic acid (ala) le vels in lead poisoning.
Arch. Environ Health, 17: 164-170, 1968.

- 8.- DAWSON, J.B.: Analysis of serum-determination of copper and zinc. Analytical methods for atomic absorption - spectrophotometry. Perkin Elmer 403. pp.- BC-5. The Perkin-Elmer Corp. Norwalk, --- Conn. U.S.A., 1974.
- 9.- DRESEL, E.I.B.: Studies on the biosynthesis of blood pigments. 2.- Haem and porphyrin formation in intact chicken erythrocytes. *Byichm J.* 63: 72-79, 1956.
- 10.- GIBSON, K.D.: The purification and properties of d-aminolaevulinic acid dehydrase. *Bioch. J.* 61: 618-239, 1955.
- 11.- GOLDBERG, A.: Studies on the biosynthesis of heme in vitro by avian erythrocyte. *Blood* 11:821-833, 1956.
- 12.- GRABECKI, J.: Die einfachen bestimmungsmethoden der delta aminolavulinsäure im harn. *Int. Arch. Gewer Bepath* 23:226 240, 1967.
- 13.- GRANICK, S.: Porphyrin biosynthesis in erythrocytes -- 11. Enzymes converting d-aminolevulinic acid to coproporphyrinogen. *J. Biol. Chem* 232: 1119-1140, 1958.
- 14.- GRINSTEIN, M.: The utilization of protoporphyrin 9 in heme synthesis. *Blood* 14:476-485, 1959.
- 15.- HAEGER-ARONSEN, B.: Effect of lead on d-aminolevulinic acid-dehydrase activity in red blood cells. - *Arch. Environ. Health* 23:440-445, 1971.
- 16.- HAEGER-ARONSEN, B.: Effect of lead on d-aminolevulinic acid-dehydratase activity in red blood cells. - 11. Regeneration of enzyme after cessation of lead exposure. *Arch. Environ. Health* 29: 150-153, 1974.
- 17.- HAILMEYER, R.: Porphyria erythropoetica congenita Gunther Bericht über zwei familien mit erfassung - der markmalsträger. *Deut Med. Wochschr.* 88: 2449-2456, 1963.

- 18.- HERNBERG, S.S.: Erythrocyte d-aminolevulinic acid dehydratase in new lead exposure. Arch. Environ. Health 25: 109-113, 1972.
- 20.- HERNBERG, S.S.: d-aminolevulinic acid dehydratase as a -- measure of lead exposure. Archv. Environ. Health 21: 140-145, 1970.
- 21.- HESSEL, B.W. Analysis of blood-determination of lead - using an extraction procedure. Analytical methods for atomic absorption - spectrophotometry Perkin-Elmer 403, pp. -- BC-11. The Perkin Elmer Corp. Norwalk, -- Conn, U.S.A., 1974.
- 22.- KAMMHOLZ, P.L.: Rapid protoporphyrin quantification for Pe diatrics 50: 625-631, 1972.
- 23.- KATSUMARO, T.: Simple method for determination of urinary d aminolevulinic acid as an index of lead-exposure. Clin. Chemistry 18: 1534-1536, 1972.
- 24.- KATSUMARO, T. New Method for determination of Dala Acti- vity of Human Eritocytes as an Inder of - lead exposure.
- KREIMER-BIRNBAUM, M.: Porphyrin biosynthesis III pophyrin metabo- lism in experimental lead poisoning. Bio- chem Biophys Acta III: 110-123, 1965.
- LICHTMAN, H.C.: In vitro pyrrole and porphyrign syntesis - in lead poisoning and iron deficiency. J. Clin. Invest. 42: 830-839, 1963.
- MAGNUS, I.A.: Erythropoietic protoporphyria - a new por- phyria syndrome with solar urticaria dueto protoporphyriaemia. Lancet 2: 448-451, 1961.
- MAUZERALL, D.: The occurrence and determination of d-ami- nolevulinic acid and prophobilinogen in -- urin. J. Biol. Chem. 219: 435-446, 1956.

- MILLAR, J.A.: Lead and d-aminolaevulinic acid dehydratase levels in mentally retarded children -- and in lead; poisoned suckling rats. *Lancet* 2: 695-698, 1970.
- MORROW, J.J.: The effect of lead and ferrus and ferric-iron on d-aminolaevulinic acid synthetase. *Clin. Sci.* 37: 533-538, 1969.
- MOORE, M.R.: Depression of d-aminolaevulinic acid dehydratase activity by ethanol in man and rat. *Clin. Science* 40: 81-88, 1971.
- NAKAO, K.: D-aminolevulinic acid dehydratase activity in erythrocytes for the evaluation of lead poisoning. *Clin. Chim. Acta* 19: 319-325, 1968.
- PETERKA, E.S.: Erythropoietic protoporphyria. *J.A.M.A.* 193: 1036-1042, 1965.
- PREROVSKA, J.: Excretion of lead and its biological activity several years after termination of exposure. *Brit J. industr. Med.* 27: 352-355, 1970.
- SCHWARTZ, S.: An improved method for the determination - of urinary coproporphyrin and an evaluation of factors influencing the analysis. *J. Lab. Clin. Med.* 37: 842-859, 1951.
- SKARE, I.: Analysis of blood-determination of mercury. Analytical methods for atomic absorption - espectrophotometry. Perkin-Elmer 403, pp. BC-23. The Perkin - Elmer Corp., Norwalk Conn., U.S.A., 1974.
- ULMER, D.D.: Trace substances in environmental health.- II Proc. Univ. Missouri Ann. Conf. Trace:- Substances environm. Health, 2nd. ed. DD - Hemphill, 7
Columbia Univ. Missouri. 1969.
- Citado por Valee B.L. Op. cit.

- VALEE, BL.L.: Biochemical effects of mercury cadmium and lead.
Ann. Rev. Biochem. 41: 91-128, 1969.
- VARADI, S.: Haematological aspects in a case of erythropoietic porphyria. Brit. J. Hematol. 4: 270-280, 1958.
- WEISSBERG, J.B.: D-aminolevulinic acid dehydratase activity in circulating blood cells. A sensitive laboratory test for the detection of childhood lead poisoning.
New Eng. J. Med. 284: 565-569, 1971.
- BLANKSMA, L.A. Failure of the urinary delta-aminolevulinic acid test to detect pediatric lead poisoning. Am. J. Clin. Pathology . 56: 6 956-962, 1970.
- DAVIS, J.R. Reliability of urinary delta-aminolevulinic acid as a mass screening technic for childhood exposure to lead. Am. J. Clin. Path. 56, 6 967-969, 1970.
- VICENT W.F. The measurement of urinary delta-aminolevulinic acid in detection of childhood lead poisoning 56, 6 p. 63-96.
- SAITA G. Porphyrin Metabolism in chronic saturnism and in non saturninism anemia and liver disease, Med Lavoro 57: 167-174, 1966.



IMPRESO en los TALLERES de EDITORIAL QUETZALCOATL, S.A.
Medicina # 37 local 1 y 2, entrada por Paseo de las Facultades, frente
a la Facultad de Medicina de Ciudad Universitaria, México 20, D. F.
Tels: 546-59-56 y 546-61-80