



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

**EFECTO DE ZARZAPARRILLA *Smilax medica* Y  
BARDANA *Arctium lappa* EN LA MOVILIZACIÓN  
DE PLOMO**

TESIS

Que para obtener el título de:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

Presenta:

**TERESA BENITEZ ESCAMILLA**

Director de tesis:

**M. en C. A. Lourdes Castillo Granada**

Asesor de tesis:

**Biol. Maricela Arteaga Mejia**



MÉXICO, D.F. 2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **JURADO**

<b>PRESIDENTE</b>	Q.F.I. ESTELA VALENCIA PLATA
<b>VOCAL</b>	M. en C. A. LOURDES CASTILLO GRANADA
<b>SECRETARIO</b>	BIOL. MARICELA ARTEAGA MEJÍA
<b>SUPLENTE</b>	M. en C. VALENTIN ISLAS PÉREZ
<b>SUPLENTE</b>	M. en F. LETICIA CRUZ ANTONIO

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

### AGRADECIMIENTOS

A la M. en C. A. Lourdes Castillo Granada por el apoyo y paciencia brindada para la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Edelmiro Santiago Osorio, por el apoyo brindado en la toma de muestra de sangre por la técnica de vena plexo retroorbital y la observación de los frotis realizados.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## DEDICATORIAS

A mis padres:

José Benítez y Luminanda Escamilla, por toda la confianza y apoyo que me han brindado durante todo este tiempo, sobre todo en los momentos más difíciles.

A mi hermano:

Victor, ya que me enseñó a tener confianza y fortaleza.

A Ricardo Delgado:

Porque a pesar de todas las adversidades que hemos pasado siempre he contado con su apoyo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## INDICE

	Página
I. RESUMEN	3
II. INTRODUCCIÓN	5
III. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	7
1. PLOMO	7
A. Generalidades	7
B. Fuentes de exposición	7
C. Absorción, distribución y excreción	9
D. Etapas clínicas de la intoxicación con plomo	11
E. Relación de plomo con calcio y magnesio.	13
2. TRATAMIENTO PARA LA MOVILIZACIÓN DEL PLOMO	13
A. Tratamiento por quelación	19
B. Tratamiento con ácido ascórbico	
3. BARDANA Y ZARZAPARRILLA	20
4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATOMICA	24
A. Generalidades	24
B. Fundamento	24
C. Instrumentación	25
D. Aplicaciones	25
E. Métodos químicos para la determinación de metales	26
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
V. OBJETIVOS	28
VI. HIPÓTESIS	29
VII. MATERIAL Y METODO	30
VIII. DIAGRAMA DE FLUJO	36
IX. RESULTADOS	37
X. RESUMEN DE RESULTADOS	52
XI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
XII. CONCLUSIONES	56
XIII. SUGERENCIAS	57
XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	58

## I. RESUMEN

Se ha demostrado que la intoxicación por plomo es un problema que afecta a la población en general, pero sobre todo a las mujeres en edad reproductiva, mujeres embarazadas y niños. Los tratamientos que existen en la actualidad con medicamentos para tratar este problema son poco recomendados, debido que además de eliminar el plomo por excreción urinaria también se eliminan otros metales esenciales como magnesio, zinc y especialmente calcio.<sup>1,2</sup>

En el presente trabajo se evaluó el efecto del extracto etanólico de Zarzaparrilla (*Smilax medica*) y Bardana (*Arctium lappa*) para la movilización de plomo, para lo cual se utilizó como modelo de experimentación ratas wistar.

El extracto fue administrado oralmente en una dosis de 3mL/día durante 22 días, en ese periodo se obtuvieron muestras de sangre a los 0, 14, 22 y 29 días, para evaluar el nivel de plomo en sangre total.

La cuantificación de plomo en sangre se realizó por Espectrofotometría de Absorción Atómica a través del sistema quelación con Pirrolidín Ditiocarbamato de Amonio (APDC) y extracción del quelato APDC-Pb, con disolvente orgánico Metil-isobutil Cetona (MIBK).

Fue evaluado en suero el nivel de magnesio y calcio al final del estudio para conocer si el extracto además de eliminar plomo eliminaba dichos metales. Se realizaron frotis de sangre para conocer el efecto del extracto sobre las células rojas.

Antes de la administración del extracto se procedió a establecer los parámetros básicos que permiten asegurar que la cuantificación de plomo en sangre aporta datos confiables. Dichos parámetros analíticos son: Precisión, Exactitud, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LC).

Los resultados obtenidos son los siguientes: el nivel de plomo en  $\mu\text{g/dL}$  para el grupo de referencia  $17.4 \pm 1.32$ , para el grupo al cual se le administró acetato de plomo  $49.3 \pm 14.14$ ; y al que se le administró acetato de plomo y el extracto de Zarzaparrilla y Bardana  $17.9 \pm 3.76$ , realizando una ANDEVA para modelo de bloques completamente al azar, se encontró que existe diferencia significativa entre los niveles de plomo entre los grupos con un nivel de significancia de 0.05%.

El nivel de calcio en  $\text{mg/dL}$  en el grupo de referencia fue  $12.75 \pm 0.35$ , para el grupo al cual se le administró acetato de plomo  $5.68 \pm 1.63$ ; y al que se le administró acetato de plomo y el extracto de Zarzaparrilla y Bardana  $12.26 \pm 2.81$ , realizando un análisis estadístico (t-student) con un nivel de significancia de 0.05% se encontró que existe diferencia significativa entre el grupo de referencia y para el grupo al cual se le administró acetato de plomo, pero no existe diferencia significativa entre el grupo de referencia y el intoxicado más tratamiento.

El nivel de magnesio en mg/dL fue el siguientes: el grupo de referencia  $7.75 \pm 1.06$  para el grupo al cual se le administró acetato de plomo  $6.10 \pm 1.51$ ; y al que se le administró acetato de plomo y el extracto de Zarzaparrilla y Bardana  $5.79 \pm 1.09$ , realizando un análisis estadístico (t-student) con un nivel de significancia de 0.05%, se encontró que existe diferencias significativas para el grupo al cual se le administró acetato de plomo, y el intoxicado más tratamiento con respecto al grupo de referencia.

De acuerdo a los resultados obtenidos se observa que el extracto es capaz de disminuir el nivel de concentración de plomo en el organismo de las ratas utilizadas como modelos de experimentación, por lo que podría utilizarse como una alternativa terapéutica para el humano.

## II. INTRODUCCIÓN

En la ciudad de México el plomo se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente. Las principales fuentes y vías de exposición a este metal en la población mexicana son la emisión vehicular, uso de cerámica de barro vidriada, pintura, comida y bebidas enlatadas. Esta bien documentado que el plomo ocasiona graves daños a la salud ya que interfiere con el metabolismo y la función celular. La concentración elevada de éste produce efectos dañinos sobre los sistemas hematopoyético, hepático, renal, reproductivo y gastrointestinal.<sup>3, 4</sup>

Para el tratamiento de la intoxicación por plomo se han usado distintos fármacos todos estos con el efecto terapéutico deseado, solo que algunos de ellos presentan importantes efectos colaterales indeseables. Dentro de estos fármacos destacan BAL (dimercaprol o 2,3-dimercapto-1-propanol), CaNa<sub>2</sub>EDTA (sal sódica de etilen-diamino-tetracetato), Penicilamina-D ( $\beta$ - $\beta$ -dimetil cisteína) y Succimer (ácido 2,3-dimercaptosuccínico).

El uso de estos fármacos en humanos es aun controvertido debido a los efectos colaterales que producen, entre los que podemos mencionar la pérdida excesiva de calcio, zinc, hierro cobre y en ocasiones daño renal irreversible.<sup>5</sup>

En la actualidad es cada vez mayor el número de individuos expuestos a dicho metal, siendo la población de alto riesgo las mujeres en edad reproductiva y los niños menores de edad, por lo tanto cada vez es más necesaria la búsqueda de compuestos que ofrezcan alternativas terapéuticas para el tratamiento de la intoxicación por plomo sin causar los efectos colaterales ya mencionados, es por eso que se ha considerado la Herbolaria Tradicional dentro de estas alternativas.

Desde tiempos remotos la Medicina Tradicional (Herbolaria) ha tenido mucho auge, ya que en muchas culturas se ha estudiado el efecto de las plantas medicinales, siendo hasta nuestros días el motivo de muchas investigaciones. Diversas instituciones como son el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo (UACH), la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), el Instituto Politécnico Nacional (IPN), el Instituto Nacional Indigenista (INID), entre otros, se han encargado de probar los efectos terapéuticos de muchas plantas, hasta llegar a la caracterización de los principios activos de las mismas y en concesión con la industria Farmacéutica llegar a su comercialización.

Gran variedad de plantas medicinales han sido estudiadas y caracterizadas, de muchas de ellas ya existen preparados, de otras ya se encuentran en alguna forma farmacéutica (tabletas, jarabe, elixir, cápsulas, pomadas y gel), por lo general las plantas medicinales las podemos encontrar en su forma natural. Existe literatura en la cual se describe el efecto y la forma en las cuales pueden prepararse e indican los modos de uso.<sup>6</sup>

En la Medicina tradicional se utilizan un gran número de plantas para curar diferentes enfermedades, un ejemplo de esto, es el extracto etanólico de Zarzaparrilla *Smilax medica* Y Bardana *Arctium lappa*, el cual es utilizado como depurativo de la sangre, por lo que es capaz de disminuir el nivel de concentración de plomo en sangre.<sup>6</sup>

El efecto de este extracto fue probado en animales de experimentación (ratas wistar), para esto primeramente se procedió a la intoxicación de estos ejemplares con acetato de plomo y posteriormente se administro el extracto. Después de un tiempo de tratamiento se obtuvieron muestras de sangre para la cuantificación de plomo, calcio y magnesio, así como el estudio de frotis sanguíneo.

La cuantificación de plomo, calcio y magnesio en fluido biológico, se realizo por Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS), además de que se realizaron los parámetros básicos analíticos (Precisión, Exactitud, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Límite de Detección y Límite de Cuantificación ).

De acuerdo a los resultados aportados se determinó que el extracto puede ser utilizado como una alternativa terapéutica, ya que es capaz de disminuir los niveles de plomo en sangre.

### III. FUNDAMENTACIÓN TEORICA

#### 1. PLOMO

##### A. Generalidades.

El plomo es un metal de peso atómico de 207.18 g/mol de color azul grisáceo suave, maleable, ligeramente soluble en agua en presencia de nitratos, sales de amonio y anhídrido carbónico. Caracterizado por su alta densidad y resistencia a la corrosión.<sup>8</sup>

Se encuentra en forma natural en la corteza terrestre en un promedio de 16 mg/kg; además de que se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente debido a su utilización en la industria. Ha acompañado al ser humano desde que se familiarizó en el uso de los metales y se convirtió en el favorito de las civilizaciones antiguas por sus características de ductilidad, maleabilidad y resistencia. Desde entonces existen antecedentes de los efectos tóxicos que el metal produce.<sup>9, 10</sup>

El desarrollo de la toxicología del plomo se incremento con la revolución industrial; en buena medida por el aumento de incidencia de intoxicaciones agudas provocadas por la explotación masiva del plomo, ya que fue uno de los metales impulsores de esta revolución. Esta situación coincidió con el mejoramiento de las posibilidades de diagnóstico, asociado a los avances en el conocimiento de la fisiología, patología y tecnología aplicada a la medicina.<sup>9</sup>

La exposición al plomo y la consecuente intoxicación constituye un problema de salud publica en todo el mundo, particularmente en los países en desarrollo. El plomo no tiene ninguna función biológica en los organismos vivos, sin embargo su uso en diversas actividades humanas constituye una fuente de exposición para la población en general. Las consecuencias varían de acuerdo a la edad, sensibilidad toxicológica del sistema y duración e intensidad de la exposición al plomo, las cuales tienden a ser más graves y se presentan con mayor frecuencia en organismos jóvenes, en investigaciones recientes se ha demostrado que las mujeres embarazadas, fetos y niños pequeños son los que más tienden a presentar intoxicación por plomo.<sup>11, 12</sup>

##### B. FUENTES DE EXPOSICIÓN

La población en general se ve expuesta a diferentes fuentes de contaminación por plomo, de manera general podemos mencionar:

**Ocupacional.** El plomo y sus sales son usadas en una gran variedad de procesos. La mayoría de las exposiciones ocupacionales ocurren en la manufactura de municiones, latón, bronce, tubería, acumuladores, escudos de plomo, pigmentos y metales procesados.<sup>13</sup>

Un estudio realizado en Illinois con trabajadores de la construcción demostró que más de 900, 000 trabajadores presentan envenenamiento por plomo, esto debido a que en el aire la concentración de dicho metal era muy elevada, lo cual se demostró al hacer un monitoreo de aire en diferentes sitios de construcción encontrando que dicho nivel excede en un 63% de los límites permitidos que es de 200  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .<sup>14</sup>

En nuestro país se realizó una investigación entre 1996 y 1997, en una imprenta en la cual todavía se utiliza la linotipia mecánica, por lo que es una fuente constante de exposición. Se midió el plomo en el aire, en manos de los participantes, en huesos y se les tomaron muestras de sangre venosa a los 117 sujetos participantes. Las concentraciones promedio de plomo fueron: en aire, de  $0.94 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ; en manos antes de lavado, de  $6802 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , y en manos después del lavado, de  $194 \mu\text{g}/\text{m}^2$ ; en sangre total, de  $12.3 \mu\text{g}/\text{dL}$ , y en tibia y rótula, de 25.9 y  $43.3 \mu\text{g Pb}/\text{g}$  hueso mineral, respectivamente. De estos resultados solamente los niveles de plomo en hueso fueron los que resultaron elevados de acuerdo a las normas establecidas por Estados Unidos, ya que en México se carece de una norma ocupacional.<sup>15</sup>

**Doméstica.** Las principales fuentes de exposición doméstica son el agua para beber contaminada con plomo contenida en la tubería, la ingestión de alimentos que lo contienen, las hierbas medicinales y la loza vidriada a bajas temperaturas.<sup>13</sup>

En el área metropolitana de Boston en 1993 se realizó un estudio en los grifos de las casas, encontrando cantidades mayores de este elemento en el agua de beber. El incremento en el consumo diario de agua fue asociado con el aumento de los niveles de plomo encontrado en sangre y hueso en la población examinada. Estudios similares revelan que la gente que vive en áreas donde el agua es blanda tiene alta concentración de plomo en los huesos en comparación con los que viven en áreas donde el agua es más dura.<sup>16</sup>

La cantidad de plomo ingerida en los alimentos varía mucho, según el tipo de producto. Las determinaciones en algunos países demostraron que el aporte puede ser de 1.5 mg/kg en condimentos 0.2 a 2.5 mg/kg en pescados y mariscos, hasta 1.3 mg/kg en cereales y legumbres. En algunas partes se han encontrado casos de ingestión diaria de 2.6 mg en campesinos que residían cerca de una fundición.<sup>17</sup>

**Ambiental.** Los alquil-compuestos de plomo son adicionados al combustible para mejorar el octanaje en las maquinas de combustión interna. Después de la combustión, estos compuestos son oxidados y emitidos como una mezcla de sales de plomo.<sup>13</sup>

Los niveles de plomo en el ambiente del Valle de México son altos, se encuentran por encima de  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , lo que se refleja en la sangre de sus residentes, sobre todo en mujeres embarazadas, los bebés y los niños, por lo que se han realizado diferentes estudios para evaluar los niveles de plomo en sangre.<sup>18</sup>

En 1990 en el Valle de México, se realizó un estudio para conocer el nivel de plomo en sangre en mujeres embarazadas y sus productos, esto con el fin de conocer si el producto al momento de nacer ya se encontraba intoxicado, se reportaron los siguientes resultados.<sup>12</sup>

	Media ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )	Mediana	Desviación estándar	N
Plomo materno 12 semanas	9.0	8.0	6	244
Plomo materno en el momento del parto	8.5	7.0	6.2	123
Plomo en el bebé de seis meses	12	10.5	6.1	79
Plomo en el bebé de 12 meses	15.3	15.5	6.6	75

En 1999 se reportó un estudio que fue realizado en 9 escuelas primarias públicas y privadas de la ciudad de México con 340 niños de 6 a 12 años de edad, encontrando que en los niños de primarias públicas y privadas presentaron en promedio 11.5 µg/dL y 8.76 µg/dL respectivamente, por lo que se observa que los niños de primaria pública se encuentran por encima del nivel normal, lo que se atribuye a la zona de ubicación de la escuela.<sup>11</sup>

En Estados Unidos en el año de 1999 se realizó un estudio en mujeres jóvenes (edad promedio de 19.3 años) en edad reproductiva el nivel de plomo promedio fue de 2.1±1.7 µg/dL, por lo que concluyeron que el nivel de plomo en sangre es bajo, al compararlo con otros estudios realizados en ese país encontraron que dichos niveles han disminuido.<sup>19</sup>

### **C. ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y EXCRECIÓN.**

El plomo puede formar sales inorgánicas y orgánicas. Las sales inorgánicas se forman cuando el plomo tiene una valencia +2, mientras que las sales orgánicas su valencia puede ser de +4. Una vez en el organismo las sales son transformadas a plomo +2 y en esta forma el plomo es capaz de competir con el calcio y con otros cationes divalentes de importancia fisiológica.<sup>9</sup>

Es absorbido por inhalación, ingestión y a través de la piel; el tamaño de partícula y la concentración determinan la vía de ingreso y la difusión de este en el organismo.<sup>10</sup>

La vía de inhalación es considerada generalmente como el mecanismo de intoxicación para adultos en un 30-50%, el plomo que se encuentra en el tracto respiratorio es absorbido y pasa al torrente sanguíneo.

El plomo que se encuentra en sangre está unido a los eritrocitos en un 95%, otra parte se une a proteínas plasmáticas y una pequeña parte se encuentra libre, por lo que puede difundirse o distribuirse. El intercambio de la fracción de plomo distribuido es rápido con las células rojas de la sangre, médula espinal, cerebro y el riñón, intermediado con la piel, músculo, hueso trabecular, y en pequeña fracción con el hueso cortical y cabello. Cerca del 95% del plomo que se encuentra en el cuerpo es encontrado en los huesos.<sup>20</sup>

La absorción gastrointestinal es pequeña comparada con la absorción respiratoria. El plomo ingerido es usualmente la principal fuente de exposición para la población en general, en adultos representa menos del 10% del plomo ingerido y puede llegar hasta el 50% en niños y lactantes. Estos porcentajes pueden llegar a incrementarse tanto en adultos como en niños debido a una dieta pobre en calcio, hierro, proteínas y fósforo.

La absorción cutánea solo tiene importancia ante el contacto con compuestos orgánicos de plomo; el que se absorbe es transportado por la sangre a diversos órganos y tejidos, principalmente los huesos, en la sangre se establece un rápido equilibrio entre eritrocitos y plasma. Como resultado de la unión del plomo a proteínas se presentan alteraciones estructurales y funcionales de esas macromoléculas responsables de los fenómenos fisiopatológicos de ese tipo de intoxicación.<sup>10</sup>

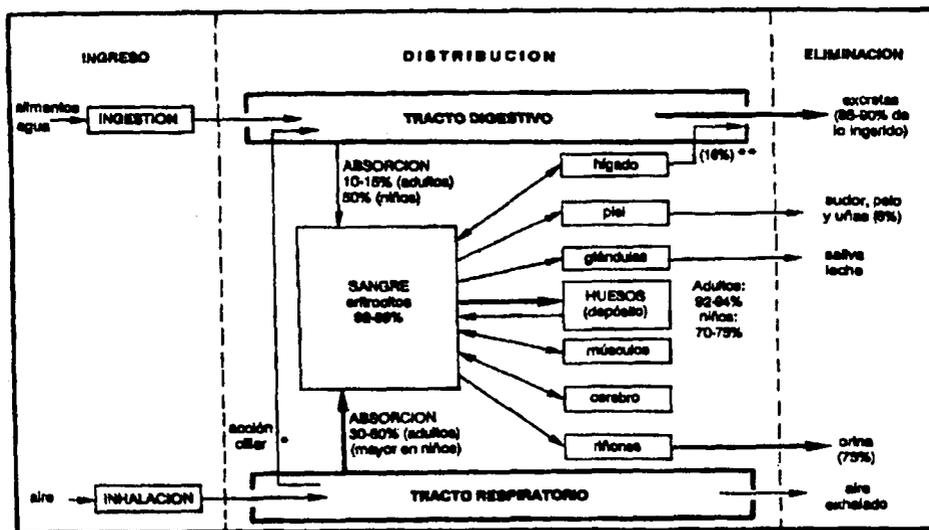
El plomo puede además interactuar con los lípidos, básicamente con los fosfolípidos de las membranas y particularmente con aquellos que poseen carga negativa: pero el problema principal no resulta de la interacción entre ellos, sino de la posibilidad de inducir

lipoperoxidación. Solamente a concentraciones elevadas, es capaz de inducir por si mismo lipoperoxidación; sin embargo, a dosis bajas puede producirlas si están grupos hemo libres o hierro. Debido a que la intoxicación crónica induce el incremento de la concentración de ácido delta-aminolevulínico, de protoporfirinas eritrocitarias libres, de grupos hemo libres y de hierro libre, aun a bajas concentraciones pueden tener un efecto oxidativo.<sup>9</sup>

La vida media del plomo en el organismo es larga y variable según los tejidos, se conocen valores de vida media de plomo en sangre de aproximadamente 3 a 4 semanas, en tejidos blandos de 4 semanas y en huesos de 20-27 años. El plomo inorgánico se acumula preferentemente en los huesos, seguido de hígado, riñones y músculos estriados.<sup>10</sup>

Solamente una proporción del plomo circulante puede ser excretado; la principal vía de excreción es la urinaria, mientras que una proporción más pequeña puede desecharse por los fluidos de secreción gastrointestinal, de manera que la mayor parte del plomo que se encuentra en las heces es plomo que no fue absorbido por la vía digestiva. También es posible eliminar una pequeña cantidad de plomo por las células que se descaman en la piel, en el pelo y en las uñas, y existen algunas condiciones fisiológicas que permiten que el plomo pueda ser excretado por otros fluidos, como la leche materna.<sup>9</sup>

VIAS DE ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y ELIMINACIÓN DEL PLOMO EN EL ORGANISMO HUMANO



- \* Puede degradarse hasta un 40% del plomo inhalado como partículas de diámetro mayor.
- \*\* Implica secreciones gastrointestinales, que incluyen la baba.

## D. ETAPAS CLINICAS DE LA INTOXICACIÓN CON PLOMO

Se han descrito una serie heterogénea de signos y síntomas generales e inespecíficos para la intoxicación por plomo, tales como decaimiento, fatiga, dolores articulares, tos impotencia sexual, palidez y temblor. En la tabla 1 se indican los efectos y síntomas dependientes de los niveles de plomo en sangre <sup>13, 21</sup>

Tabla 1. Efectos más importantes en una intoxicación por plomo.

Nivel de plomo (µg/dL)	Efectos y síntomas.
10-50	-ALAD +EP, ALA U - velocidad de conducción del nervio periférico. - funcionamiento neuropsicológico - presión sanguínea
50-80	-Producción de hemoglobina palidez de la piel, sabor metálico, dolor de cabeza, fatiga, constipación Insomnio, mialgia, parestesia.
80-110	Anemia, glóbulos rojos bajos Cólico abdominal Oliguria Azotaemia Hipertensión
> 120	Encefalopatía aguda

+ = incremento  
- = decrecimiento

ALAD = ácido aminolevulinico deshidratasa  
ALAU = ácido delta aminolevulinico urinario  
EP = eritrocito protoporfirina

Las alteraciones bioquímicas producidas por el plomo dan origen a un gran numero de signos y síntomas en diversos aparatos y sistemas del organismo. De ellos, los más importantes son el sistema hematopoyético, el sistema nervioso y el aparato digestivo.

Uno de los primeros y más importantes efectos de la intoxicación por plomo en el organismo humano es la alteración de la síntesis del grupo hemo ( se debe a interferencia con la incorporación del hierro a la porfirina IX) se manifiesta con la aparición en sangre y orina de niveles anormales de sus precursores y por una palidez acentuada (anemia).

Al realizar un análisis hematológico de los glóbulos blancos y la relación de polimorfonucleares y mononucleares no se ven afectados por el plomo, sin embargo, existen alteraciones en los glóbulos rojos (eritrocitos) los cuales son uno de los que primero se afectan en la dosis tóxicas más bajas, entre las afecciones principales tenemos: la disminución del número de eritrocitos y deformación de los mismos. Dicha disminución se debe a la acción que tiene el plomo sobre la producción de la hemoglobina, ya que este se une al grupo sulfhidrilo inactivando el sitio de acción de dichas enzimas y por consecuencia la producción de eritrocitos no se lleva a cabo. <sup>10, 22</sup>

El plomo es transportado hacia los órganos por medio del torrente sanguíneo y depositado dentro de ellos como una función del gradiente de concentración y la afinidad de los tejidos en cuestión. Aproximadamente 90% del plomo que se encuentra en el cuerpo se deposita en hueso; los huesos largos contienen más plomo que los cortos, la concentración máxima en los huesos se alcanza después de 5 ó 6 décadas.<sup>10,23</sup>

En el sistema nervioso central ejerce el plomo efectos dramáticos. Aun se registra un grado alto de mortalidad por encefalopatía plúmbica en niños; poco se conoce a cerca del mecanismo de producción de este cuadro. Se sabe que en el cerebro ocurre daño vascular y que existen exudaciones cerosas y proliferación celular como manifestaciones histopatológicas.<sup>24</sup>

En la exposición prolongada al plomo pueden observarse efectos importantes en el SNC, causando un cuadro denominado encefalopatía saturnina, cuyos síntomas y signos varían desde cambios psicológicos o conductuales sutiles hasta alteraciones neurológicas graves.<sup>10</sup>

El aparato digestivo da origen a síntomas más tempranos, el más característico el cólico, éste se produce incluso en exposiciones a concentración baja. En la mayoría de los casos suele aparecer junto con otros síntomas y signos de intoxicación.

Se han descrito otras manifestaciones como pérdida del apetito, constipación, diarrea, náuseas, vómitos, sabor metálico en la boca, dolor abdominal e ictericia.<sup>10,23</sup>

En el sistema cardiovascular uno de los principales efectos esta asociado con la hipertensión arterial en el organismo humano de adultos, especialmente en trabajadores. En estados agudos de intoxicación y particularmente si el paciente ha presentado cólico, la presión sanguínea frecuentemente se encuentra elevada. Se han descrito casos de niños y adultos donde se observaron anomalías electrocardiográficas y miocarditis.<sup>10</sup>

Varios reportes describen que el envenenamiento de plomo agudo y crónico causa deterioro del corazón y que la velocidad de muerte para enfermedades cerebrovasculares se aumenta significativamente en los trabajadores expuestos al plomo comparados con la población en general. Sin embargo no existen datos evaluables que demuestren una alta velocidad de mortalidad para enfermedades del corazón en sujetos expuestos al plomo. Se ha admitido una asociación entre arteriosclerosis y la exposición al plomo. Análisis microscópicos de animales intoxicados con plomo que indican degeneración del miocardio y cambios escleróticos es la aorta y las paredes de las arterias pequeñas, especialmente las arterias renales, cerebrales y coronarias. Se ha sugerido que uno de los mecanismos fundamentales en la asociación entre daño cardiovascular y exposición al plomo es la introducción o aceleración de la arteriosclerosis.<sup>25</sup>

El sistema reproductor puede verse afectado pero en menor proporción que los anteriores, presentando en la mujer efectos como abortos, disfunción ovulatoria, parto prematuro y esterilidad; en el hombre, astenospermia, hipospermia y teratospermia, aunque en estos casos no se tienen datos concluyentes sobre el efecto del plomo.<sup>10</sup>

## **E. RELACION DEL PLOMO CON CALCIO Y MAGNESIO**

El plomo se distribuye en el organismo de una manera similar que el calcio y otros cationes divalentes como es el magnesio.<sup>9</sup>

El calcio es el más abundante de los minerales del organismo, y más del 95% del mismo se encuentra en los huesos y dientes. Además, también circula en la sangre, donde es esencial para la función de los factores proteínicos de la coagulación; y se requiere de calcio intracelular para la contracción muscular, la transmisión de impulsos nerviosos y las reacciones enzimáticas.<sup>26</sup>

El calcio y el plomo se comportan de una manera similar debido a que los dos son cationes divalentes y tienen radio iónico parecidos, por lo tanto en algunas funciones fisiológicas en las que participa el calcio, el plomo puede intervenir, ya sea bloqueando el efecto del calcio o mimetizándolo, además de que también puede acumularse en los mismos sitios de reserva, en algunas ocasiones muestra competencia y desplazamiento.<sup>27</sup>

La baja ingestión de calcio incrementa la absorción de plomo, y al mismo tiempo estimulan el depósito del metal en hueso, además que la deficiencia en el organismo puede causar otras alteraciones como despolarización de las células, contracción muscular, osteoporosis, entre otras.<sup>26, 27</sup>

Entre magnesio y plomo puede existir competencia en los procesos fisiológicos, el magnesio es un componente esencial de los tejidos y fluidos corporales, su contenido total en el organismo es de 30g. El magnesio se encuentra principalmente en el hueso, así como en el interior de las células donde interviene en diferentes reacciones enzimáticas.<sup>26</sup>

La deficiencia de magnesio altera diversas reacciones enzimáticas como: la síntesis de DNA y RNA, de ATP, en la formación de algunos ribosomas, pero su principal efecto es que se producen convulsiones agudas cuando la concentración en sangre es menor a  $0.65 \mu\text{mol/L}$ .<sup>28</sup>

## **2. TRATAMIENTO PARA LA MOVILIZACIÓN DE PLOMO**

### **A. Tratamiento por quelación**

El tratamiento médico para intoxicación por plomo emplea agentes quelantes. Estos fármacos son metales pesados antagonistas los cuales forman un complejo, impidiendo o invirtiendo el enlace del catión metálico a un ligando del cuerpo, por ejemplo, grupos biológicos reactivos.<sup>21</sup>

La terapia por quelación no es recomendable en los casos con niveles de plomo inferiores a los  $25 \mu\text{g/dL}$ . Ha quedado demostrado que el nivel de plomo en sangre se reduce mediante la quelación, pero no se tienen datos con respecto a la prevención o el mejoramiento en los casos de retraso en las funciones cognitivas. Existen cuatro agentes quelantes:

1. BAL (dimercaprol o 2,3-dimercapto-1-propanol)
2.  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$ . (sal sódica de etilen-diamino-tetracetato)
3. Penicilamina-D ( $\beta$ - $\beta$ -dimetil cisteína)
4. Succimer (ácido 2,3-dimercaptosuccínico).

La mayoría de los riesgos concomitantes de la quelación se asocia con la excreción de plomo y de metales esenciales como calcio, magnesio y zinc al mismo tiempo.<sup>29</sup>

**Dimercaprol (BAL).** Es un compuesto ditiol (dimercaprol o 2,3-dimercapto-1-propanol) el cual fue usado como quelante para el plomo en 1940.

La acción farmacológica se debe a la formación de un complejo entre el grupo sulfhidrilo del BAL y el plomo. Este es más efectivo cuando se administra en corto tiempo después de la exposición al metal. El BAL es administrado por inyección intramuscular profunda, en una solución de aceite mineral al 10%. Este se distribuye en el tejido y pasa la barrera hematoencefálica; el BAL forma un quelato con el plomo de los eritrocitos y fácilmente entra a tejido blando (tejido adiposo). La concentración máxima es obtenida entre 30 y 60 minutos, y persiste en la sangre por un periodo de 2 horas; su tiempo de vida media es corto y en 8 horas el 20% se biotransforma a ditiol que se excreta en orina y en heces fecales.

En pacientes sintomáticos sin encefalopatía el tratamiento es usualmente de cinco días con una dosis de 2.5 a 5 mg/Kg de peso, cada 4 horas por los primeros dos días, cada 6 horas para los siguientes días y cada 12 horas para el último día.

Altas dosis se requieren para pacientes con encefalopatía, y debe combinarse con  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  para mayor efectividad.

El BAL tiene como efecto secundario el agotamiento del hierro, debido a que también forma un complejo con este. Tiene como inconveniente que es de excreción rápida por lo que la dosis requerida debe ser administrada repetidamente. En pacientes que se les ha administrado 5mg/kg pueden presentar los siguientes síntomas, aumento en la presión sanguínea, taquicardia, vómito, sensación de mareo, dolor de cabeza, dolor abdominal, sudoración, anemia hemolítica, ansiedad y fiebre; algunos de estos efectos están relacionados con las condiciones clínicas del paciente antes de la terapia. Los efectos son rápidamente reversibles después de la terapia. El BAL no es recomendable en pacientes con insuficiencia hepática.

**Penicilamina-D.** La penicilamina-D es una  $\beta$ - $\beta$ -dimetil cisteína. El isómero D es administrado oralmente y fácilmente adsorbido en el tracto gastrointestinal (40-70%); la concentración máxima en sangre se alcanza de una a tres horas después de la administración, la biotransformación hepática ocurre y una pequeña cantidad de penicilamina es excreta sin cambio. El tiempo de vida media es cercano a tres horas. Los metabolitos se encuentran en heces y orina y el complejo quelado es excretado rápidamente principalmente en orina. La penicilamina remueve el plomo a partir de sangre y tejido blando.

Las dosis administradas son de 0.5 a 1.5 g en tres o cuatro dosis por día una hora antes de cada comida, por cinco días. En adultos la dosis es de un gramo por día cuando los tratamientos son prolongados (de dos a tres meses). Durante periodos largos de terapia la dosis no debe exceder de 40 mg/kg por día.

Los efectos secundarios son significantes y frecuentes, particularmente en dosis altas (1 a 2 g por día) y prolongada como son enfermedad de Wilson o artritis reumática, varias lesiones cutáneas como urticaria o lupus, toxicidad renal progresiva, leucopenia, trombocitopenia y anemia. La penicilamina no se recomienda para pacientes con enfermedades del riñón.<sup>21</sup>

**Sal sódica de etilen-diamino-tetracetato.** (CaNa<sub>2</sub>EDTA) es un agente quelante empleado en la intoxicación de plomo en los últimos 40 años. Este compuesto puede quelar a partir del plasma y fluidos del cuerpo intersticiales iones metálicos divalentes y trivalentes como plomo zinc, manganeso y hierro. Este puede desplazar al calcio formando el quelato inmovilizándolo y posteriormente excretarlo.

No se recomienda administrar el CaNa<sub>2</sub>EDTA por vía oral, debido a que la cantidad del mismo que se absorbe en el tracto gastrointestinal es pequeña ( 5%), por lo que el plomo que se encuentre en el tracto aumenta.

CaNa<sub>2</sub>EDTA es distribuido principalmente en los compartimientos extracelulares en un volumen aproximadamente equivalente al agua del cuerpo, este no entra a las células debido a que se encuentra en su forma iónica; una hora después de la administración intravenosa; el fluido cerebroespinal contiene 5% de la concentración plasmática. La vida media es de 20-60 minutos después de la administración intravenosa. Después de una administración intramuscular o intravenosa aproximadamente el 90% aparece sin ser metabolizado en la orina en un periodo 8-24 horas; es eliminado por secreción vía tubular y filtración glomerular. El CaNa<sub>2</sub>EDTA es muy efectivo en la quelación del plomo.

Para uso intravenoso, 250-500 mL de solución salina al 0.9% o glucosa al 5% son utilizados; el goteo de la administración intravenosa debe ser lento en un periodo de 60 a 90 minutos. La dosis debe ser mayor de 50-75 mg/Kg administrando 1-2 dosis por día en un periodo de 3 a 5 días, dependiendo el grado de intoxicación. Durante la terapia con CaNa<sub>2</sub>EDTA, pueden presentarse problemas debido a que se utilizan dosis altas, lo que provoca la redistribución de plomo en el organismo y como consecuencia, se presentan cólicos y alteraciones en el sistema nervioso central, por tal motivo se recomienda que durante la terapia no debe exceder de una dosis total de 500 mg/Kg.

Durante la terapia debe evaluarse la función renal así como la orina y sedimento. Durante 24 horas debe colectarse orina para determinar la cantidad de plomo excretado y eliminación de metales esenciales (especialmente el cobre y zinc). Si el tratamiento por administración intravenosa se realiza fuera de un hospital resulta muy costoso. La administración intramuscular profunda es muy dolorosa por lo que debe usarse con hidrocioruro de procaína al 10% en una dosis de 30-600 mg/día en una o dos fracciones. Una ventaja de la administración intramuscular es que el periodo de acción quelante es mas grande, y la redistribución es lenta.

Los efectos secundarios mas importantes –pero no frecuentes- son la nefrotoxicidad (particularmente en el túbulo proximal) generalmente por dosis altas y repetidas (cerca de

95 mg/Kg), y en sujetos con daños en el riñón; los efectos renales son fácilmente reversibles después de que termina la terapia. Los efectos secundarios menores después de una dosis terapéutica normal incluyen dolor de cabeza, fatiga, mialgia, deshidratación, fiebre, náuseas y vomito, escurrimiento nasal, congestión nasal, lagrimeo, salpullido, anemia e hipotensión los efectos son reversibles después de terminar la terapia. Durante el tratamiento generalmente ocurre una eliminación urinaria de zinc y de hierro.

**Succimer o DMSA.** (ácido 2,3-dimercaptosuccinico). Es un compuesto ditiol soluble en agua derivado de BAL, pero es efectivo cuando se administra por vía oral y menos toxico que el BAL, con un amplio y favorable índice terapéutico. Después de la administración oral el succimer aunque variable es rápidamente absorbido.

Se encuentra unido proteínas plasmáticas cerca del 9% y se distribuye en los compartimientos extracelulares; la concentración máxima es alcanzada en tres horas. La vida media es cercana a tres horas. Es parcialmente metabolizado y eliminado por vía urinaria donde cerca del 95% del fármaco ésta enlazado en compuestos bisulfuro. Tiene gran afinidad por plomo, arsénico y mercurio. No se conoce si se tiene influencia con metales esenciales como pueden ser cobre, zinc, fierro y calcio.

Con respecto al  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$ , el succimer es más efectivo para disminuir los efectos del plomo, puede reducir el nivel de plomo en el cerebro y restaurar la síntesis del grupo hemo.

La dosis es generalmente de 10 a 30 mg/kg/día en tres dosis divididas para los primeros 5-7 días, con una reducción gradual para los siguientes 10 a 14 días.

Los efectos secundarios no son comunes y pueden incluir náuseas, diarrea, salpullido, elevación de la aminotransferasa.<sup>21, 30,31, 32</sup>

Se han realizado diversos estudios para comparar los cuatro agentes quelantes en el tratamiento por intoxicación de plomo, así como también se han estudiados el régimen de dosificación para un mismo agente quelante. Estos estudios se han realizado principalmente en niños pero también se realiza en adultos.

El  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  es uno de los principales agentes quelantes que se ha utilizado durante los últimos 40 años. Se realizo un estudio durante el tratamiento a niños que presentaban encefalopatía aguda debido al plomo; en este estudio se comparo el  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  y el BAL, primeramente se hizo con una comparación de BAL-  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  y  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  solo. Con BAL y  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$ , se encontró que los niveles de plomo en sangre disminuyen en un 40% con respecto a los niveles de plomo en sangre con  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  solo.<sup>25</sup>

El Centro de Control de Enfermedades y Prevención de Contaminación por Plomo (de Bronx, NY) recomienda la quelación para niños con niveles de plomo en sangre entre 45  $\mu\text{g}/\text{dL}$  y 70  $\mu\text{g}/\text{dL}$  con  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$ . El Comité de Fármacos de Pediatría Academia Americana (de Bronx, NY) también recomienda el succimer administrado por vía oral o el  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  para niños con el mismo rango de concentración anterior.

En MetroHealth Medica Center (de Cleveland, Ohio) , se realizo un estudio para comparar el BAL+EDTA y (DMSA+EDTA), el estudio se realizo en niños cuyo nivel de plomo en

sangre se encontraba entre 45 y 70  $\mu\text{g/dL}$ . Las dosis utilizadas para la terapia de quelación fueron EDTA de 28.5 a 43 mg/Kg por día, fueron administrados intravenosa en un periodo de 16 horas durante 5 días; BAL de 9 a 15 mg/kg por día dividido en 6 dosis por día administrado intramuscularmente durante 3 días; y DMSA aproximadamente 10 mg/Kg , se administro oralmente cada 8 horas por 5 días. La primera dosis de BAL o DMSA fue administrada 4 horas antes de comenzar la infusión de EDTA.<sup>2</sup>

En el estudio se obtuvo que los niveles de plomo disminuyeron en mayor proporción con DMSA+EDTA, que con BAL+EDTA durante un periodo de 33 días, que se realizó dicho estudio, como se observa en el siguiente grafico.

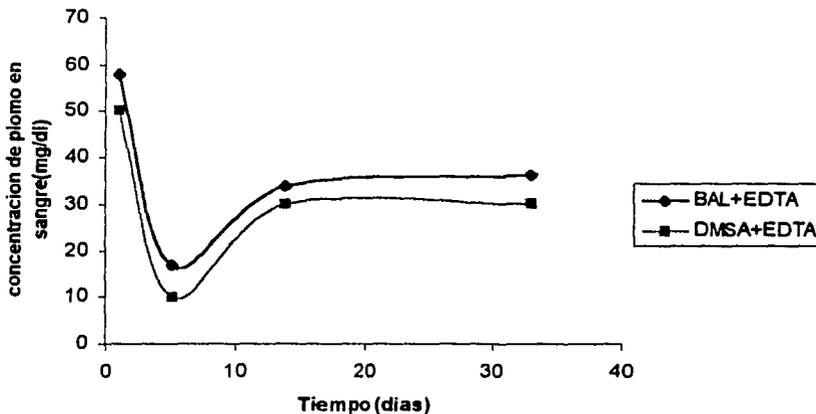


Grafico 1. Se muestra la relación de la concentración de plomo en sangre y el tiempo del tratamiento. La concentración de 50 y 58  $\mu\text{g/dl}$  corresponden a las concentraciones antes del tratamiento

Durante este estudio se encontró que los pacientes presentaron vomito durante el tratamiento, además de que la concentración de alanina aminotransferasa se elevaron, esto fue mas frecuente en el grupo tratado con BAL+EDTA que con grupo DMSA+EDTA.<sup>33</sup>

En la tabla 2 se muestran de manera resumida algunas de las características más importantes de los fármacos ya mencionados.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Efectos de agentes quelantes utilizados para la movilización de Pb.

	BAL	CaNa <sub>2</sub> EDTA	PENICILAMINA	DMSA
Capacidad para quelar plomo	Buena	Muy buena	Regular	Muy buena
Excreción renal de plomo	Mala (se elimina por bilis)	Muy buena	Pobre	Muy buena
Absorción por vía oral.	No se usa, forma complejo BAL-hierro	No se usa aumenta la abs. Del Pb	Buena	Muy buena
Paso de BHE	Buena	Pobre	Pobre	Buena
Depleción de Zn, Mg, Fe, Ca.	---	Alta	---	Muy pobre
Redistribución del plomo	---	Alta	---	No
Extracción del Pb en los sitios de almacenamiento.	---	Alta	---	No
Toxicidad renal	Se y Cd aumentan	Alta	---	No
Otros	Cefalea, dolor abdominal, estupor y coma	Dolorosa	No recomendable para personas alérgicas a penicilina.	Eleva a la alanina transaminasa.

BHE = Barrera hematoencefálica. 21, 33, 34, 35

## **B. Tratamiento con ácido ascórbico.**

De los cuatro agentes utilizados para el tratamiento de la intoxicación por plomo, el  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  es el más utilizado, pero al igual que los otros presenta efectos secundarios, por lo que desde el año de 1939, se ha estudiado el ácido ascórbico como un posible tratamiento para la intoxicación por plomo, ya que este presenta características similares de quelación que el EDTA. Se han desarrollado una serie de estudios con animales (principalmente con ratas), reportando la disminución del nivel de plomo tras la administración de ácido ascórbico.

Desde el año de 1940 se ha considerado el ácido ascórbico para el tratamiento por intoxicación con plomo, se ha descrito que es capaz de prevenir la absorción, así como aumentar la excreción de plomo a través del riñón. También reportan que el ácido ascórbico por si solo, no es capaz de prevenir el retardo del desarrollo neurológico que causa el plomo a ratas, además de que no estimula la excreción de plomo acumulado en los tejidos, pero si era capaz de potenciar los efectos del hierro para eliminar el plomo en los tejidos y prevenir el retardo del desarrollo neurológico.<sup>36</sup>

En 1990 Dalley encontró que al ácido ascórbico es mejor para prevenir los efectos tóxicos en ratas que para tratar la intoxicación por este elemento. Además de que propuso que el posible mecanismo de acción para proteger de la intoxicación es por la formación de complejos químicos entre el plomo y el ácido ascórbico o sus metabolitos, haciéndolo más fácilmente excretable.<sup>37</sup>

Actualmente el Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) realizó un estudio para conocer la relación del ácido ascórbico con los niveles de plomo en sangre; dicho estudio se realizó durante el periodo de 1988 a 1994.

El estudio fue realizado con pacientes jóvenes (de 6 a 16 años de edad) y adultos (de 17 a 90 años de edad); los pacientes presentaban intoxicación por plomo de acuerdo con su historia clínica. Se llegó a la conclusión que el nivel de ácido ascórbico en el suero esta muy relacionado con la concentración de plomo en sangre. En concentraciones menores de  $150\mu\text{mol/L}$  de ácido ascórbico en suero disminuye el nivel de plomo, solo en el caso de que sean elevados, (entre 15 a  $20\mu\text{g/dL}$ ). De todos los pacientes se encontró que solo 57 adultos y 22 jóvenes presentaron dicho nivel de plomo en sangre y en ellos el ácido ascórbico administrado disminuyó el nivel de plomo de una manera significativa.

En los demás pacientes que también presentaban intoxicación por plomo, pero no en niveles mayores a los  $15\mu\text{g/dL}$ , se encontró que los niveles de ácido ascórbico en suero disminuían los niveles de plomo en sangre pero no es muy significativo.

Debido a estos resultados se ha llegado a la conclusión de que el ácido ascórbico presenta características similares al  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  como agente quelante, ya que es capaz de disminuir el nivel de plomo en sangre, pero solo cuando este se encuentra elevado, por lo que sugieren que se sigan realizando más estudios de la relación del ácido ascórbico como posible tratamiento para la intoxicación por plomo.<sup>38</sup>

### 3. BARDANA Y ZARZAPARRILLA

En la Medicina Tradicional (herbolaria) es utilizado el extracto etanólico de Bardana (*Arctium lappa*) y Zarzaparrilla (*Smilax medica*) como tratamiento para la intoxicación por plomo.

#### **BARDANA (*Arctium lappa*)**



**Sinónimos:** Raíz de la bardana, lapa menor, lapa tormentosa, gran espinosa, *Arctium majus* Bernh.<sup>39</sup>

**Descripción:** Planta herbácea vivaz, de raíz gruesa, tallos erguidos, estriados, vellosos y de matiz rojizo, que alcanza altura hasta de un metro. Hojas alternas, pecioladas, canaliculadas, largas, anchas, ovales, puntiagudas, gruesas, cordiformes, de bordes dentados, matiz verde oscuro por el haz y ligeramente grisáceas y vellosas por el envés. Sus flores pedunculadas, involucradas, globulosas, de color púrpura, están dispuestas en ramilletes al extremo de los tallos. Florecen en verano dando lugar a un fruto oblongo, comprimido y coronado por un disco.

**Hábitat.** Sudamérica. También se cultiva en las Antillas. Vegeta espontáneamente en suelos de naturaleza fresca, sombríos, climas relativamente fríos y alturas medias.

**Partes utilizadas:** Toda la planta, especialmente la raíz y los frutos (a menudo llamados semillas).<sup>40</sup>

**Principios activos:** Lignanos presentes en los frutos, poliacetilenos en la raíz, sesquiterpenos en las hojas, aminoácidos en las raíces, inulinas en las raíces, ácidos orgánicos diversos, ácidos grasos y ácidos fenólicos. Las raíces también son una buena fuente de fibra comestible.<sup>41,42</sup>

**Usos terapéuticos:** Es un excelente depurativo, también óptimo diurético y un eficaz sudorífico, se utiliza en el tratamiento del reumatismo, gota, hidropesía, calambres, catarro pulmonar, tumores glandulares y escrufulosos, gonorrea, mal de piedra, arenilla, antipirético, antiséptico y males del corazón.

Otros empleos de la planta son en caso de afecciones de la piel, que ceden completamente ante el tratamiento, sean úlceras, quemaduras, herpes, acne juvenil o tiña. Ayuda a la curación de las enfermedades infecciosas que se presentan con erupciones, como la escarlatina, el sarampión, la viruela, etc. También puede acelerar la curación de la sífilis, en las fases secundaria y terciaria. La bardana es valiosa contra la seborrea que puede originar la caída del cabello. En todos estos casos su empleo es de uso externo. También es útil para el lavado de llagas, a las que luego se pueden aplicar compresas empapadas del mismo líquido.<sup>42,43,44</sup>

**Preparados como depurativo:**

- Infusión de una cucharada cafetera de raíces pulverizadas en una taza de agua. Tomarla en ayunas durante 20 días, repetirlo, si fuera necesario.
- Decocción al 4% de raíz, hervir durante 10 minutos, tomar 3 tacitas al día.
- Jarabe: decocción de 100g de raíz fresca, muy fina y cortada en pedacitos en 850 g de agua. Hervir 5 minutos, filtrar, disolver en caliente, pero sin que hierva, 800g de azúcar. Tomar 1 cucharada al día.<sup>44,45</sup>

**Toxicidad:** Puede irritar la piel y corneas, además de que en algunas personas puede causar dermatitis.<sup>42</sup>

**ZARZAPARRILLA (*Smilax medica*)**



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Sinónimos:** *Smilax medica*, Schleche et Chamis. <sup>39</sup>

**Descripción:** Son plantas enredaderas, las raíces son estrechas, muy largas, cilíndricas, de hasta 6 mm de diámetro, normalmente se encuentran en el mercado dobladas y amarradas en grupos. La superficie externa es de color variable, desde el marrón grisáceo hasta el amarillento. Puede o no tener marcas o estrías. La sección transversal también varía mucho en aspecto. Su sabor es agrio y dulce, no tiene olor.

**Hábitat:** originaria de México a Honduras. Crece en encinares, cetos y barrancos, en climas cálidos y templados.<sup>46</sup>

**Partes utilizadas:** Se utilizan las raíces y el rizoma.<sup>40</sup>

**Principios activos:** Parrillina, saponinas,  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol y sus glucósidos.<sup>39, 41</sup>

**Usos terapéuticos:** Entre las principales se encuentran depurativo de la sangre, sudorífico, antirreumático, diurético, antigotoso, antisifilítico y antieccematoso.

Otras mencionadas: antiescrofuloso, antilistiásico, digestivo, antigripal, antiniefrítico, antipsoriático, tónico depurativo. Alterativo, antiinflamatorio, antiprurítico y antiséptico. Durante muchos años se ha utilizado como tratamiento para enfermedades de la piel, incluyendo la psoriasis.<sup>45, 47, 48</sup>

**Preparados como depurativo:**

- Decocción de raíz machacada o triturada, una cucharadita por taza. 2-3 tazas al día.
- Infusión al 3% de rizoma machacado. Endulzar.
- Decocción de 4% de raíz, tomar con discreción.
- Decocción de 120 g en 3 litros de agua(4%). Hervir 3 horas. Dosis 3 tazas al día. Duración del tratamiento ilimitada.<sup>45</sup>

**Toxicidad.** Puede emplearse por tiempo prolongado, no causa alteraciones.<sup>42</sup>

## 4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

### A. Generalidades.

La espectrofotometría de Absorción Atómica comprende el estudio de la absorción de energía radiante (generalmente en las regiones ultravioleta y visible) por átomos neutros en estado gaseoso. En el análisis por absorción atómica el elemento que se determina debe ser reducido al estado elemental, vaporizado e introducido en el haz de radiación procedente de la fuente. Este proceso se logra frecuentemente llevando un soluto de la muestra, como fina niebla a una llama apropiada.<sup>7</sup>

### B. Fundamento

El átomo está constituido por un núcleo rodeado de electrones ordenados en una estructura orbital, que es única para cada elemento. Los electrones ocupan posiciones orbitales en una forma predecible y ordenada. La configuración más estable y de bajo contenido energético, es conocido como estado fundamental o basal y es la configuración normal para el átomo. Si a un átomo se le aplica energía de una longitud de onda esta será absorbida e inducirá que un electrón sea promovido a un orbital de más alta energía o estado excitado. Como este estado es inestable el átomo espontáneamente retornará a su configuración fundamental y emitirá energía radiante. La longitud de onda de la energía radiante absorbida está directamente relacionada a la transición electrónica que se ha producido, puesto que un elemento dado tiene una estructura electrónica que lo caracteriza, la longitud de onda emitida es característica para cada elemento.<sup>49, 50</sup>

La técnica instrumental de Análisis por Absorción Atómica (AAS) se basa en la medida de la radiación electromagnética absorbida por átomos del elemento bajo estudio. El análisis cuantitativo por Absorción Atómica se apega a la ley de Lambert y Beer que implica la relación directa entre la cantidad de energía absorbida y el número de especies absorbentes. La energía absorbida tiene asociada una longitud de onda característica para cada elemento.

La ecuación más general que describe a la ley de Lambert y Beer es:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

donde: A= absorbancia

a = coeficiente de absorción constante para un mismo elemento.

b = longitud de la celda

c = concentración de las especies absorbentes.<sup>51</sup>

### C. Instrumentación

Los espectrofotómetros de absorción atómica están constituidos por tres componentes básicos:

1. Fuente de radiación.
2. Celda para la muestra.
3. Sistema óptico y electrónico.

Estos espectrofotómetros emplean como **fuentes de radiación** lámparas de cátodo hueco, el cátodo está fabricado del mismo elemento que se va a cuantificar; con lo que se garantiza que esta técnica de análisis sea altamente específica. Se requiere una lámpara para cada elemento que se requiera cuantificar.

La celda puede ser una celda de cuarzo (vapor frío para mercurio o generador de hidruros) o un tubo de grafito (Horno de Grafito). La más empleada está constituida por una llama para la cuál se emplean las siguientes mezclas de gases:

Aire-Acetileno con una temperatura de 2300° C.  
Óxido nítrico-Acetileno con una temperatura de 2800° C.

Con estas mezclas se cubren los requerimientos de la mezcla oxidante-combustible requerida para la mayoría de los 64 elementos que se pueden analizar por Absorción Atómica.

La introducción de la muestra hasta la llama se inicia cuando la solución que contiene el elemento a cuantificar es aspirada por medio de un capilar hacia el nebulizador en donde es reducida a una fina niebla mezclada con los gases oxidantes y combustible llegan a la llama. Dentro de la llama se lleva a cabo el evento de transformar el elemento a cuantificar en átomos libres y neutros y efectuar el proceso de absorción atómica.

El **sistema óptico y electrónico** nos permiten transformar la variación de energía en una señal digital de absorbancia.<sup>51, 52</sup>

### D. Aplicaciones.

Es útil para la determinación de 64 elementos. Es una técnica muy sensible y puede cuantificar los elementos en concentraciones del orden de ppm (mg/L, µg/mL). Es altamente específica, precisa y casi libre de interferencias.<sup>7</sup>

### E. Métodos químicos para la determinación de metales.

Los métodos químicos para la evaluación de metales en donde se ha eliminado alguna interferencia o se ha hecho una concentración del elemento son varios entre los que se encuentra:

**Evaporación:** Es un procedimiento muy usado, es simple pero lento, en donde el tratamiento químico es mínimo, raramente da problemas de volatilidad de componentes o pérdida por adsorción en las paredes del recipiente.

**Coprecipitación:** estos métodos no son recomendables sobre todo cuando se trata de cuantificar metales a niveles muy bajos de concentración, la ventaja es que se logran factores altos de concentración, sin embargo en procedimientos es laborioso y largo, con alto riesgo de contaminación y pérdidas.

**Intercambio iónico:** Este método no es empleado con frecuencia aun cuando su potencial es bueno, sus ventajas son manejo mínimo de la muestra, posibilidad de altos factores de concentración. Las principales desventajas son que algunos elementos no se adsorben sobre las resinas y que otros se eluyen completamente. El método es mucho más lento que la quelación, pero es más rápido que la evaporación.

**Quelación-extracción.** Es un método muy común en el caso de elementos presentes en trazas, tiene la ventaja de que es específico, y algo muy importante es que cuando empleamos disolventes orgánico en Absorción Atómica se aumenta la eficiencia de la nebulización y como consecuencia la eficiencia de nuestras determinaciones, la sensibilidad analítica se aumenta de 2 a 3 veces comparado contra un medio acuoso. La extracción es rápida y se logran factores de concentración de 20 a 50X, varios elementos se pueden extraer juntos eliminando la matriz.<sup>53</sup>

La extracción con disolvente orgánico es un método de separación basado en la distribución de solutos entre dos disolventes líquidos inmiscibles. La cantidad de soluto encontrada en cada fase depende de la solubilidad en cada disolvente y del volumen en cada fase. Para su aplicación más simple se requiere un embudo de separación y los disolventes adecuados.

En el análisis cuantitativo de metales traza por espectrofotometría de absorción atómica es ampliamente usado el método de transferencia cuantitativa de un ión metálico a una fase orgánica mediante la formación de quelatos, es conocido por el químico que determinadas moléculas forman complejos o quelatos con los cationes metálicos. La naturaleza de estos quelatos es principalmente orgánica por lo que son más solubles en el disolvente orgánico que en la fase acuosa. La constante de distribución para este tipo de complejos es usualmente mucho mayor que en ausencia del complejo. Por lo que es suficiente una o dos extracciones para obtener resultados cuantitativos en la extracción. El metal se extrae desde la muestra acuosa al agregar una solución acuosa del reactivo quelante y extraer con disolvente orgánico el complejo metálico formado. La fase orgánica es empleada para el análisis por Absorción Atómica.

Los métodos de separación y concentración basados en la formación de quelatos orgánicos y su extracción con disolvente orgánico para concentrar los iones metálicos traza presentes en agua, fluidos biológicos y muestras ambientales para un posterior análisis por Absorción Atómica con llama han resultado de gran versatilidad y aplicación.<sup>54</sup>

#### IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El plomo es un metal tóxico sin funciones fisiológicas benéficas conocidas para los organismos vivientes. Es un metal pesado nocivo para la mayor parte de los sistemas del cuerpo y que interfiere con el metabolismo y la función celular. Por ser un contaminante del medio ambiente provoca intoxicación principalmente a mujeres embarazadas y niños.<sup>12</sup>

A la fecha todos estamos expuestos a varias fuentes de contaminación, sobre todo en el Valle de México, ya que el nivel de plomo en el ambiente es elevado debido a la alta densidad demográfica, industrial, vehicular y a sus características geográficas, topográficas y climatológicas. Se han realizado diversos estudios principalmente en los 80s en donde se encontró que los residentes de la ciudad de México presentaron niveles de plomo por encima del límite permisible (  $10\mu\text{g/dL}$  ).<sup>1,4</sup>

En la actualidad los medicamentos que existen para el tratamiento de intoxicación con plomo no son muy recomendables, debido que además de eliminar el plomo por excreción urinaria también se eliminan otros metales esenciales como magnesio, zinc y especialmente el calcio.<sup>5</sup> Este trabajo tiene como finalidad el uso del extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana para favorecer la movilización de plomo y como consecuencia la disminución del nivel de concentración de plomo en sangre, estudiando además el efecto sobre calcio y magnesio.

## V. OBJETIVOS

### Objetivo general:

- Evaluar el efecto del extracto etanólico de *Zarzaparrilla* y *Bardana* para la movilización de plomo en ratas, utilizando espectroscopia de absorción atómica para la cuantificación de este elemento.

### Objetivos específicos:

- Establecer los parámetros analíticos de Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, precisión, exactitud, Límite de Detección ( LD) y Límite de Cuantificación (LC), para la cuantificación de plomo en sangre por espectroscopia de Absorción Atómica.
- Evaluar el nivel de plomo en sangre al grupo de ratas sin tratamiento alguno, al grupo de ratas al cual se le administrará acetato de plomo y al grupo al cual se le administrará acetato de plomo y el extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana durante 29 días.
- Evaluar los niveles de magnesio y calcio en los tres grupos bajo estudio.

## VI. HIPÓTESIS

Al administrar el extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana a ratas este será capaz de movilizar el plomo sin provocar excreción de calcio y magnesio, presentándose como una alternativa para la movilización del plomo en humanos.

## VII. MATERIAL Y METODO

### Material vegetal

150g de Bardana (*Arctium lappa*)  
150g de Zarparrilla (*Smilax medica*)

### Material biológico

18 ratas wistar hembras adultas de 4 a 5 meses de edad de 290 a 350g de peso.

### Material de laboratorio

Vasos de precipitado de 50 y 100 mL Pyrex.  
Matraces aforados de 25, 50 y 100 mL Pyrex  
Matraz aforado 1 L  
Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL Pyrex.  
Pipetas graduada de 1, 5 y 10 mL Pyrex.  
Pipetas Pasteur.  
Tubos de ensayo de 10 mL Pyrex  
Tubos para centrifuga de 15mL con tapón esmerilado Pyrex  
Jeringas de 2 y 3mL Plastipack  
Espátula.  
Perilla.  
Gradilla.  
Piseta  
Guantes  
Frasco ámbar de capacidad de 2L  
Algodón  
Porta objetos limpios y desengrasados.

### Reactivos

Estándar de plomo. TRITISOL MERCK  
Pirrolidin ditiocarbamato de amonio (APDC). Aldrich.  
Metil isobutil cetona (MIBK). J.T. BAKER  
Tritón X-100 Hycel de México.  
Acido nítrico J.T. BAKER  
Agua desionizada  
Alcohol etílico absoluto. Técnica química  
Acetato de plomo J.T. BAKER  
Heparina 1000 U. Pisa  
Acetileno.(presión 0.8 kg/cm)  
Oxido de lantano. MERCK

## **Soluciones**

Pirrolidin ditiocarbamato de amonio (APDC) al 5%  
Metil isobutil cetona (MIBK) saturada con agua destilada  
Tritón X-100 al 10%  
Ácido nítrico al 10%  
Alcohol etílico 80%  
Óxido de lantano 0,1%

## **Equipo e Instrumentos**

Balanza analítica. AINSWORTH. MODEL 100A.  
Centrífuga. BECKMAN. MODEL TJ-6.  
Balanza granataria OHAUS  
Microscopio OLYMPUS  
Espectrofotómetro de Absorción Atómica. PYE UNICAM SP-192.

## METODOLOGIA

### Determinaciones analíticas.

**Linealidad del sistema.** Se determinó construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida) utilizando las siguientes concentraciones de estándar de plomo: 5, 10, 20, 30, 40 y 50  $\mu\text{g/dL}$ .

De las soluciones anteriores se tomaron alícuotas de 3 mL y se colocan en un tubo cónico con tapón esmerilado de 15 mL se le adicionó 1 mL de pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC), y se agitó durante 1 minuto, posteriormente se le adicionó 3 mL de metil isobutil cetona (MIBK). El tubo se agito durante 1 minuto, se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos.

Se separa la fase orgánica y se somete a análisis por espectrofotometría de absorción atómica con llama. El análisis se realizó por duplicado.

**Linealidad del método.** Se determinó a partir de cantidades adicionadas de plomo a muestras de sangre total correspondiente al 10,25,50,75y 100  $\mu\text{g/dL}$ .

En tubos cónicos con tapón esmerilado se colocó 1mL de sangre total, posteriormente se adicionó 1mL de cada una de las soluciones anteriores por separado, se adicionó 0.5 mL de triton X-100 al 10% y se le adicionó 1 mL de pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC), se agito durante 1 minuto, posteriormente se le adiciono 3 mL de metil isobutil cetona (MIBK). Los tubos se agitaron durante 1 minuto, se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos.

Se separa la fase orgánica y se somete a análisis por espectrofotometría de absorción atómica con llama. El análisis se realizó por triplicado. Se determinó construyendo una curva de calibración de 10, 25, 50, 75, y 100  $\mu\text{g/dL}$  y un blanco procesados de la misma forma que las muestras.

**Precisión del sistema.** Se determinó por análisis sextuplicado de una misma solución de 20  $\mu\text{g/dL}$ , se tomaron alícuotas de 3 mL y se colocaron en tubos cónicos con tapón esmerilado de 15 mL se le adiciono 1 mL de pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC), se agito durante 1 minuto, posteriormente se le adiciono 3 mL de metil isobutil cetona (MIBK). El tubo se agito durante 1minuto, se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos.

**Exactitud.** Se determinó a partir de 6 muestras de sangre, adicionando de manera independiente 50  $\mu\text{g/dL}$  de plomo, se adiciono 0.5 mL de triton X-100 al 10% y se le adiciono 1 mL de pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC), se agito durante 1 minuto, posteriormente se le adiciono 3 mL de metil isobutil cetona (MIBK). El tubo se agito durante 1 minuto, se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos. Se determinó construyendo una curva de calibración de 10, 25, 50, 75 y 100  $\mu\text{g/dL}$  y un blanco procesados de la misma forma que las muestras.

**Límite de detección y cuantificación.** Se preparó una solución del estándar de plomo de 5  $\mu\text{g/dL}$ , se tomaron alícuotas de 3 mL y se colocaron en tubos cónicos con

tapón esmerilado de 15 mL se le adiciono 1 mL de pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC), y se agito durante 1 minuto, posteriormente se le adiciono 3 mL de metil isobutil cetona (MIBK). El tubo se agito durante 1 minuto, se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos. Se realizaron 20 lecturas de dicho estándar y el blanco.<sup>55, 56, 57</sup>

### **Preparación del extracto etanólico de *Zarzaparrilla* y *Bardana*.**

Se pesaron 150g de cada una de las plantas secas y se colocaron en un frasco ámbar, se agrego un litro de etanol al 80% cerrando perfectamente se dejo reposar durante 20 días. Transcurrido dicho tiempo, se procedió a filtrarlo.

### **Evaluación del extracto etanólico**

Se manejaron tres grupos de ratas wistar de seis ejemplares cada uno, los grupos fueron numerados y tratados de la siguiente forma:

No. de grupo	Tratamiento a que se sometieron.
1	Se considero como grupo de referencia, se les administro dieta usual.
2	Este grupo fue intoxicado con acetato de plomo a una concentración de 30mg/Kg/día durante un periodo de 7 días, posteriormente se les disminuyo la dosis a 15 mg/Kg/día durante un periodo de 22 días.
3	Este grupo se le realizó el mismo tratamiento de intoxicación que al grupo 2, pero al 7 día de la intoxicación también se disminuyó la dosis y de manera simultanea se administró el extracto etanólico de <i>Zarzaparrilla</i> y <i>Bardana</i> durante 22 días.

Al inicio del estudio se realizó un control de peso de cada rata encontrando que el peso promedio fue de  $320.60 \pm 12.27$  g, se determinó la cantidad de agua que tomaban por día resultando  $30.0 \pm 2.0$  mL/rata/día, esto fue realizado para conocer que cantidad de acetato de plomo se les iba administrar. Las ratas fueron marcadas en la base de la cola del 1-6 por grupo.

Así mismo al inicio se realizó la primer toma de muestras de sangre para cada ejemplar, para conocer los niveles de plomo basal. La intoxicación se inicio administrando 0.33mg/mL de la sal de acetato de plomo en el agua contenida en los bebederos, durante un periodo de 7 días y posteriormente a la mitad de la dosis inicial durante un periodo de 22 días como dosis de mantenimiento. Esto fue para el grupo 2 y 3, en el grupo 3 se inicio la administración del extracto etanólico durante 22 días administrando 20 mL diarios en su bebedero para todo el grupo (aproximadamente 3mL por día por cada ejemplar).

Durante el tratamiento las ratas permanecieron en el Bioterio y se continuo administrando su alimento, pero la administración del agua fue regulada debido a que en la misma era administrado el extracto etanólico.

Durante el tratamiento las ratas permanecieron en el Bioterio y se continuo administrando su alimento , pero la administración del agua fue regulada debido a que en la misma era administrado el extracto etanólico.

Se tomaron las muestras de sangre de cada ejemplar por la técnica de vena plexo retro-orbital, la cual es la más recomendada cuando se requieren varias tomas durante un estudio. Las muestras fueron tomadas al día 0, 7, y 22 días de haber comenzado la intoxicación con plomo. Las muestras fueron tomadas con pipetas Pasteur y posteriormente recolectadas en tubos de ensaye los cuales contenían heparina (0.1 a 0.2 mg/mL de sangre).

El último día de tratamiento (día 29) la muestra de sangre fue obtenida de la vena yugular, esto fue para obtener un mayor volumen de sangre, esta muestra fue para la determinación de plomo, también fue colectada en tubos de ensaye de 10 mL los cuales contenían heparina, además de que también se colecto sangre en tubos sin heparina para posteriormente centrifugarla y obtener suero para la determinación de calcio y magnesio.<sup>58</sup>

#### Determinación de Plomo en sangre de rata.

En tubos cónicos con tapón esmerilado se coloco 1mL de sangre de rata, se adicione 0.5 mL de triton X-100 al 10% y 1 mL de pirrolidin ditiocarbamato de amonio (APDC), se agito durante 1 minuto, posteriormente se le adicione 3 mL de metil isobutil cetona (MIBK). El tubo se agito durante 1 minuto, se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos.

Se separa la fase orgánica y se somete a análisis por espectrofotometría de absorción atómica con llama. Se determinó construyendo una curva de calibración de 5, 10, 20, 30, 40 y 50 µg/dL y un blanco procesados de la misma forma que las muestras.

Condiciones para la determinación de plomo en sangre.

ELEMENTO	PLOMO
LONGITUD DE ONDA	217 nm
GASES	AIRE-ACETILENO
SISTEMA	NEBULIZADOR-QUEMADOR FLUJO LAMINAR

#### Determinación de calcio y magnesio.

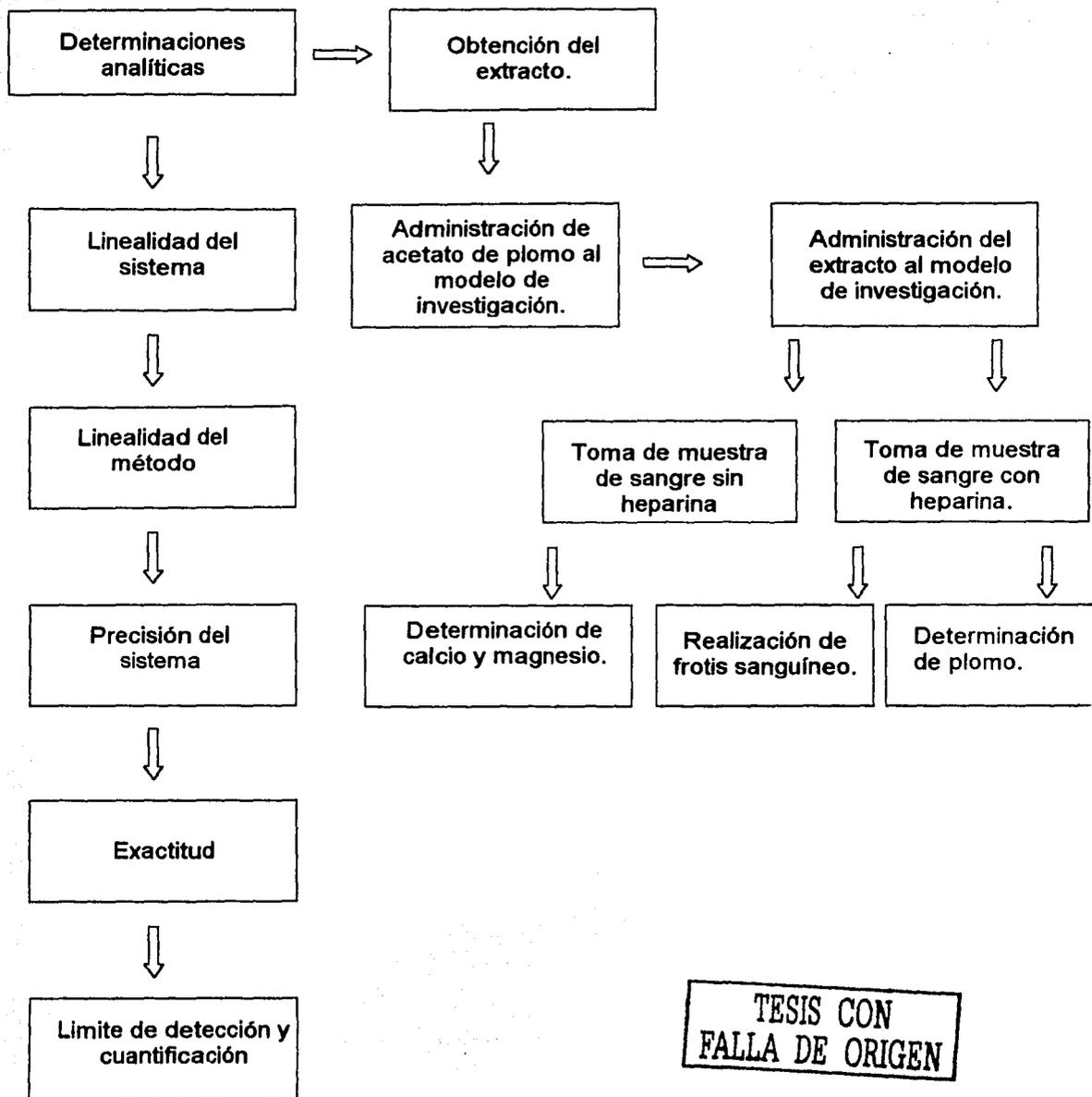
Se colecto sangre en un tubo de ensayo limpio y se centrifugo a 3500 rpm durante cinco minutos y con ayuda de una pipeta Pasteur se separó el suero. En un matraz aforado de 50 mL se coloco 1 mL de suero y se llevó al aforo con solución de oxido de lantano al 0.1%. Las condiciones para la determinación de calcio y magnesio son:

ELEMENTO	CALCIO	MAGNESIO
LONGITUD DE ONDA	422.7 nm	285.2 nm
GASES	AIRE-ACETILENO	AIRE-ACETILENO
SISTEMA	NEBULIZADOR-QUEMADOR FLUJO LAMINAR	NEBULIZADOR-QUEMADOR FLUJO LAMINAR

### **Alteración en glóbulos rojos y blancos.**

Este se realizó por medio de frotis sanguíneo de la siguiente manera: Se colocó una gota de sangre perfectamente homogénea en un portaobjetos a un cuarto de distancia de uno de los extremos del portaobjetos y se colocó en una superficie plana, se extendió la sangre con otro portaobjetos de borde fino a un ángulo aproximado de 30°, posteriormente se dejó secar y se realizó la tinción con el colorante Giemsa. Se realizó la observación de los frotis en un microscopio a 10X y 40X.

### VIII. DIAGRAMA DE FLUJO



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## IX. RESULTADOS

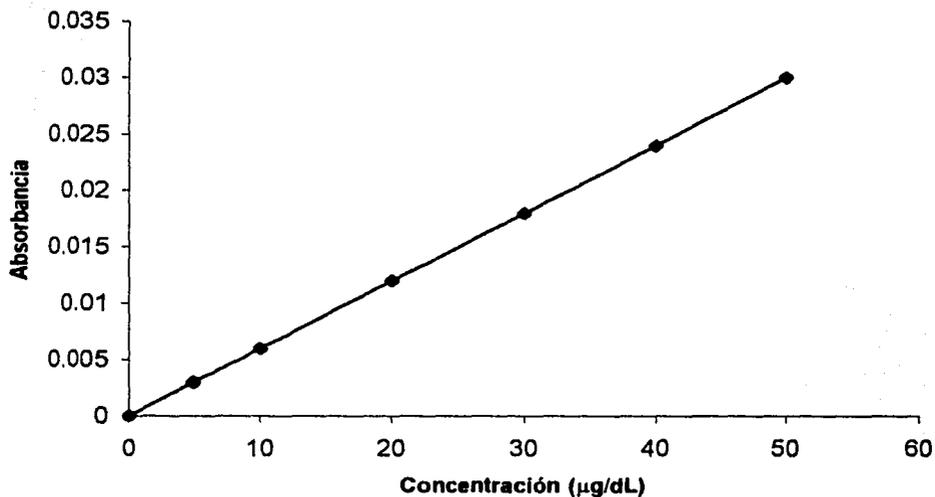
### LINEALIDAD DEL SISTEMA

Tabla 1. Variación de la absorbancia para los resultados de linealidad.

Concentración ( $\mu\text{g/dL}$ )	Absorbancia 1	Absorbancia 2
5	0.003	0.003
10	0.006	0.006
20	0.013	0.012
30	0.021	0.020
40	0.028	0.029
50	0.034	0.035

CRITERIO	RESULTADO
$r > 0.99$	$r > 0.998$
$r^2 > 0.98$	$r^2 > 0.9979$
$CV \leq 1.5 \%$	$CV \leq 0.39 \%$

Grafico 1. Linealidad del sistema.



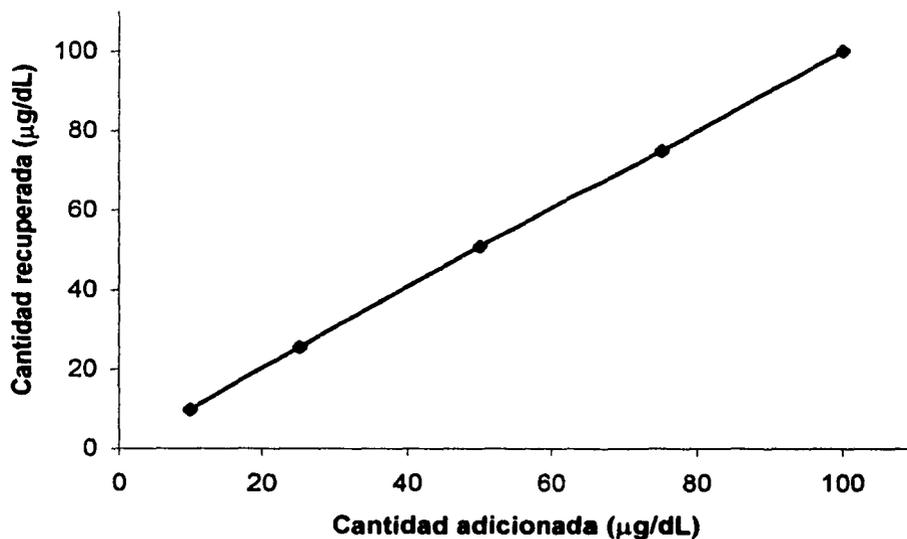
## LINEALIDAD DEL MÉTODO

Tabla 2. Se muestran las cantidades recuperadas para la linealidad del método.

Cantidad adicionada ( $\mu\text{g/dL}$ )	Cantidad recuperada ( $\mu\text{g/dL}$ )		
	1	2	3
10	9.89	9.95	9.99
25	24.82	26.03	26.03
50	50.25	51.47	51.47
75	74.83	75.1	74.98
100	97.49	99.91	101.12

CRITERIO	RESULTADO
$m = 1$	$m = 0.9983$
$b = 0$	$b = 0.443$
$r^2 = 0.98$	$r^2 = 0.9996$

### Grafico 2. Linealidad del método



## PRECISIÓN DEL SISTEMA

Tabla 3. Se muestran las variaciones de absorbancia para la determinación de la precisión.

Estándar	Concentración ( $\mu\text{g/dL}$ )	Absorbancias
1	20	0.019
2	20	0.021
3	20	0.020
4	20	0.022
5	20	0.019
6	20	0.020

CRITERIO	RESULTADO
CV < 2 %	CV = 0.057 %

## EXACTITUD

Tabla No. 4 se muestran los porcentajes recuperados para la exactitud del método.

No. de muestra	Cantidad adicionada ( $\mu\text{g/dL}$ )	Cantidad recuperada ( $\mu\text{g/dL}$ )	% recuperado
1	50	49.3	98.61
2	50	50.6	101.38
3	50	47.9	97.22
4	50	50.0	100.0
5	50	51.3	102.77
6	50	47.9	97.22

CRITERIO	RESULTADO
% Recuperado 97- 103 %	% Recuperado 97.22- 102.77 %
CV < 3 %	CV < 2.84 %

## LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos para los límites de detección y cuantificación utilizando una solución estándar de 5  $\mu\text{g/dL}$ .

Absorbancias para el Estándar

0.009	0.009
0.010	0.009
.0.010	0.010
0.009	0.010
0.010	0.010
0.009	0.010
0.009	0.009
0.009	0.009
0.010	0.009
0.009	0.010
0.010	0.010

Absorbancias para el blanco

0.001	0.001
0.000	0.002
0.002	0.002
0.001	-0.001
0.002	0.002
0.000	0.001
-0.001	-0.001
0.001	0.000
0.001	0.001
0.000	0.002

### RESULTADO

Límite de detección	0.001 $\mu\text{g/dL}$
Límite de cuantificación	0.005 $\mu\text{g/dL}$

## EVALUACIÓN DE PLOMO EN MUESTRAS DE SANGRE DE RATA

Tabla 6. Se muestran los niveles de plomo en sangre en  $\mu\text{g/dL}$  para el primer grupo de ratas, el cual pertenece al grupo de referencia (Grupo 1).

No. de ejemplar	Día 0	Día 7	Día 22	Día 29
1	12.9	12.1	11.4	16.4
2	12.8	13.8	15.5	18.8
3	14.7	15.6	16.8	17.2
4	15.4	16.3	15.1	15.8
5	16.1	14.8	17.0	17.3
6	18.3	19.7	12.7	19.2
Media	15.03	15.30	14.75	17.45
Desviación estándar	2.07	2.57	2.25	1.32

**Gráfico 4 niveles de Pb promedio para el grupo de referencia (GRUPO 1)**

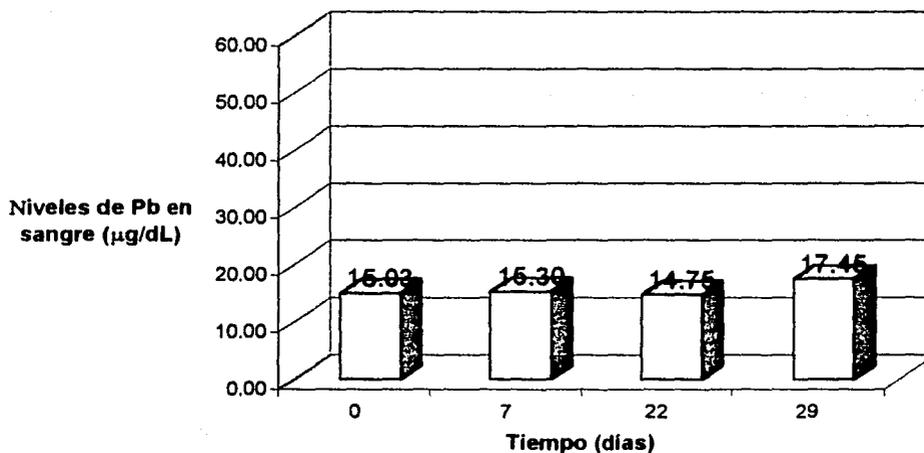


Tabla 7. Se muestran los niveles de plomo en sangre en  $\mu\text{g/dL}$  para el grupo de ratas al cual se administro acetato de plomo (grupo 2).

No. de ejemplar	Día 0	Día 7	Día 22	Día 29
1	13.2	32.1	30.5	31.0
2	12.1	37.8	33.6	32.3
3	16.7	60.3	52.7	51.8
4	15.4	65.1	54.8	59.2
5	16.4	63.6	61.0	60.3
6	17.1	68.5	61.2	61.6
Media	15.15	54.56	48.96	49.36
Desviación estándar	2.04	15.52	13.56	14.14

Gráfico 5. Niveles de Pb promedio para el grupo que se le administro acetato de plomo (GRUPO 2)

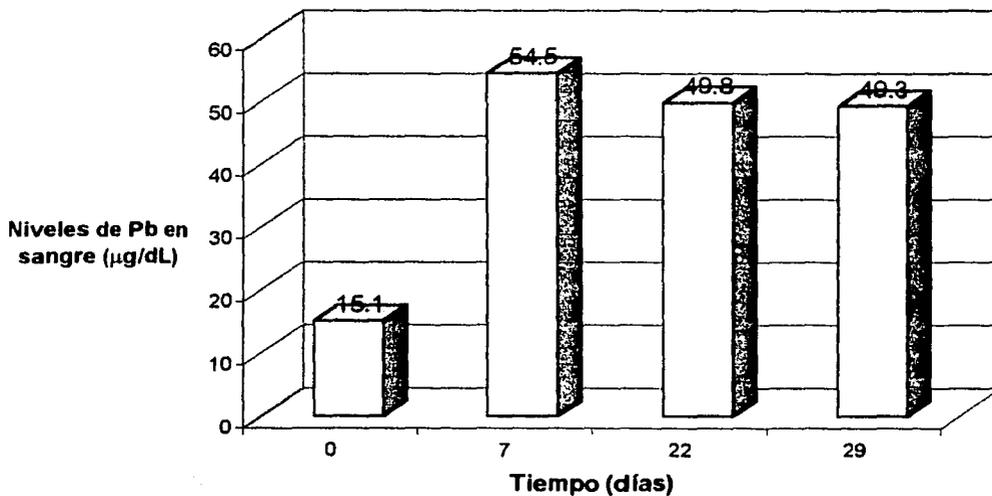


Tabla 8. Se muestran los niveles de plomo en sangre en  $\mu\text{g/dL}$  para el grupo de ratas al cual se le administró acetato de plomo y extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana (grupo 3).

No. de ejemplar	Día 0	Día 7	Día 22	Día 29
1	13.8	39.1	21.5	10.7
2	17.2	50.8	25.7	21.1
3	13.1	49.3	22.6	20.3
4	15.7	55.4	21.2	18.3
5	17.1	55.9	18.8	17.5
6	13.4	62.5	21.6	19.5
Media	15.05	52.16	21.9	17.9
Desviación estándar	1.86	7.89	2.24	3.76

Grafico 6. Niveles de Pb promedio para el grupo al cual se le administró acetato de plomo y tratamiento (GRUPO 3)

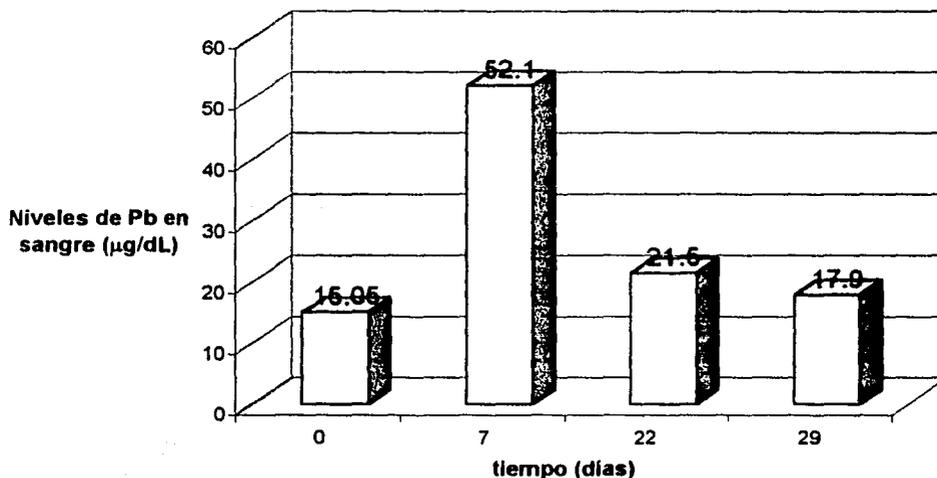


Tabla 9. Comparación de medias del nivel de plomo en sangre en  $\mu\text{g/dL}$  para los tres grupos en estudio por día.

	Grupo referencia	Grupo al cual se administró acetato de plomo	Grupo al cual se administró acetato de plomo + tratamiento
<b>Día 0</b>	$15.0 \pm 2.07$	$15.1 \pm 2.04$	$15.0 \pm 1.86$
<b>Día 7</b>	$15.3 \pm 2.57$	$54.5 \pm 15.52$	$52.1 \pm 7.89$
<b>Día 22</b>	$14.7 \pm 2.25$	$48.9 \pm 13.56$	$21.5 \pm 2.24$
<b>Día 29</b>	$17.4 \pm 1.32$	$49.3 \pm 14.14$	$17.9 \pm 3.76$

Gráfico 7. Se presenta el nivel de Pb promedio para los grupos bajo estudio durante el estudio.

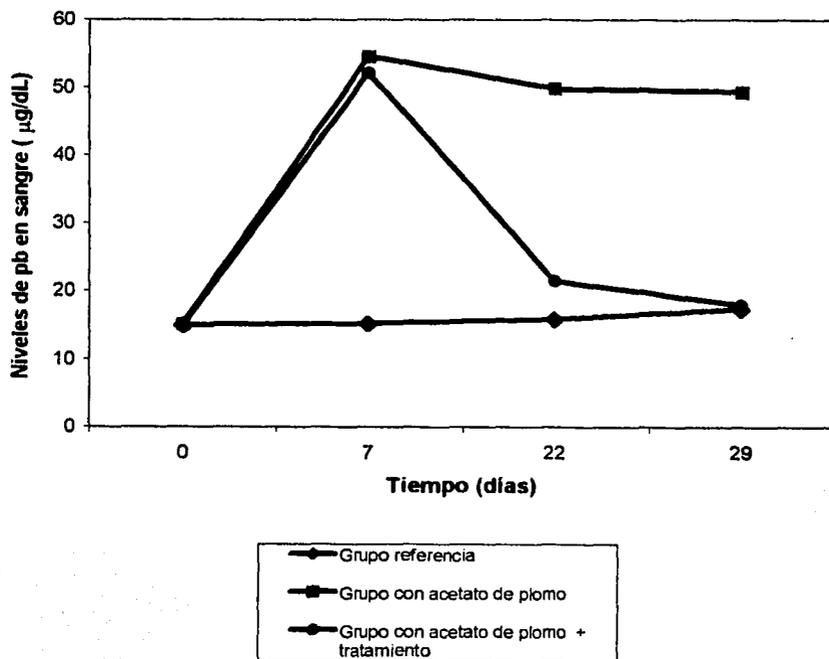


Tabla 10. Niveles de plomo en  $\mu\text{g}/\text{dL}$  para los 3 grupos al final del estudio (día 29).

No. de ejemplar	Grupo de referencia	Grupo al cual se administró acetato de plomo	Grupo al cual se administró acetato de plomo + tratamiento
1	16.4	31.0	10.7
2	18.8	32.3	21.1
3	17.2	51.8	20.3
4	15.8	59.2	18.3
5	17.3	60.3	17.5
6	19.2	61.6	19.5
Media	17.4	49.3	17.9
Desviación estándar	1.32	14.14	3.76

Grafico 8. Se presentan los niveles de Pb promedio al final del estudio.

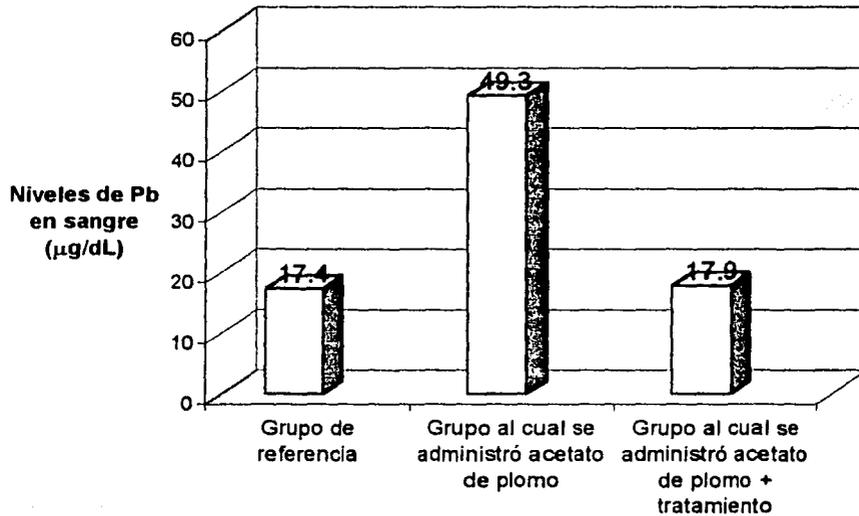


Tabla de ANDEVA del nivel de plomo en sangre para los 3 grupos al final del estudio.

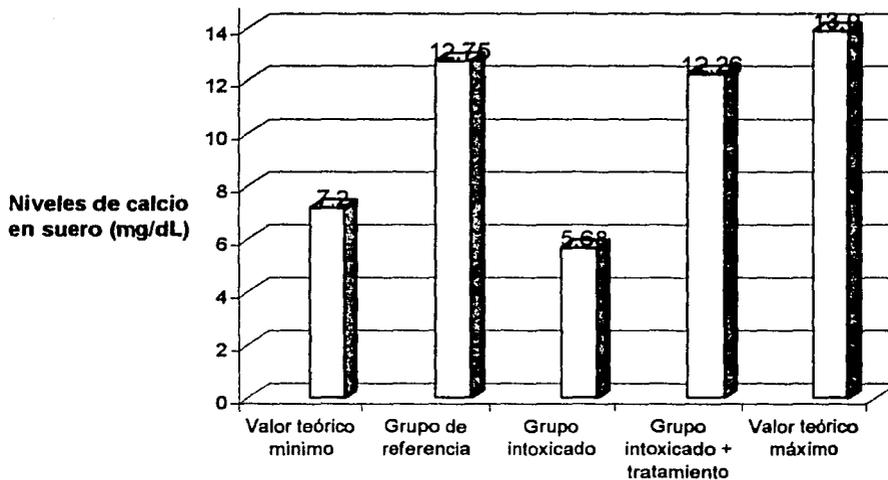
FUENTE	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Varianza	Estadígrafo de prueba
GRUPO	2	18343.6428	9171.8213	$F_C = 127.39$
ERROR	15	1079.9283	71.9952	$F_T = 3.68$
TOTAL	17	19423.5711		Conclusión: las medias presentan diferencias significativa con un $\alpha = 0.05\%$ .

## EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE CALCIO Y MAGNESIO

Tabla 11. Comparación de medias para los niveles de calcio obtenidos en suero.

	Grupo de referencia	Grupo al cual se administró acetato de plomo	Grupo al cual se administró acetato de plomo + tratamiento
<b>Media (mg/dL)</b>	12.75± 0.35	5.68± 1.63	12.26± 2.81
<b>Valor teórico reportado<sup>58</sup></b>	7.2 -13.9 mg/dL		

Grafico 9. Niveles de calcio promedio.

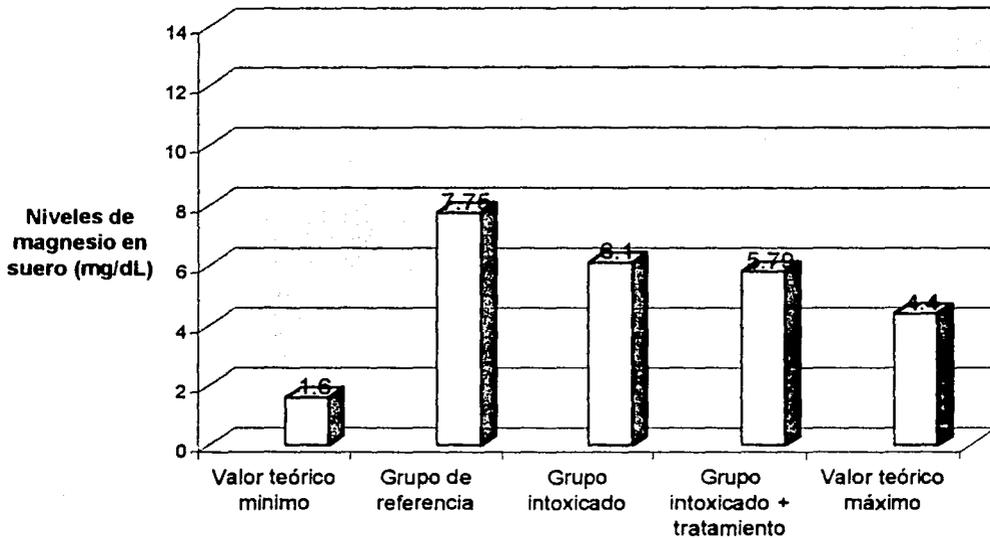


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12. Se muestran los niveles de Magnesio en suero de rata.

	Grupo de referencia	Grupo al cual se administró acetato de plomo	Grupo al cual se administró acetato de plomo + tratamiento
Media (mg/dL)	7.75 ± 1.06	6.10 ± 1.51	5.79 ± 1.09
Valor teórico reportado <sup>58</sup>	1.6 – 4.4 mg/dL		

Gráfico 10. Niveles de magnesio promedio



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 1. Frotis para el grupo de referencia, realizados al final del estudio, se presentan las células rojas y blancas observados a 40x.

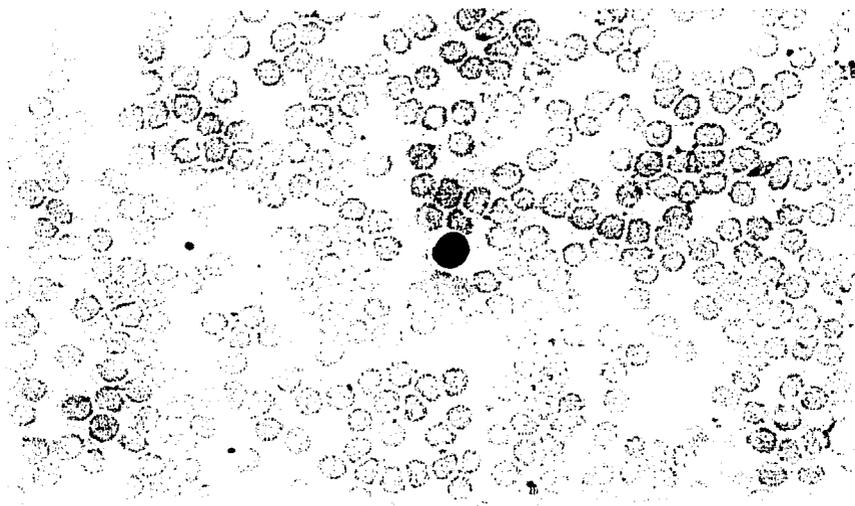


Figura 2. Frotis para el grupo de referencia, realizados al final del estudio, se presentan las células rojas y blancas observados a 10x.

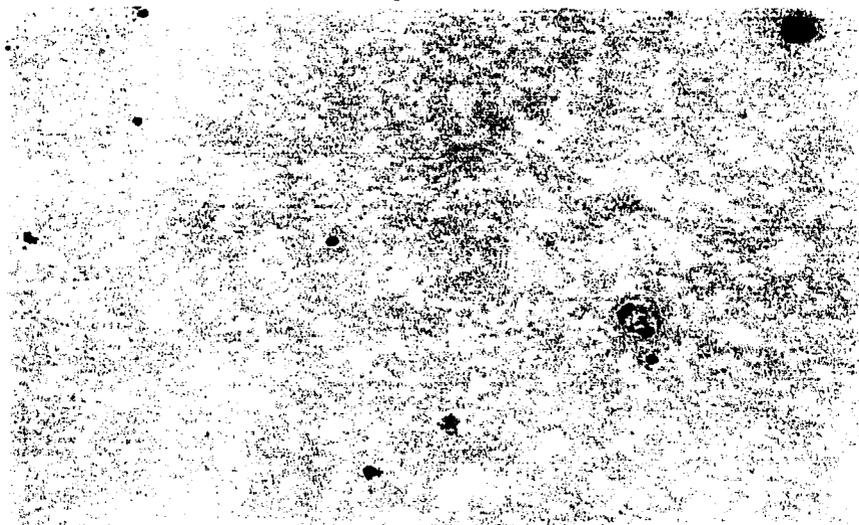


Figura 3. Frotis para el grupo al cual se le administró acetato de plomo, realizados al final del estudio, se presentan las células rojas y blancas observados a 40x.

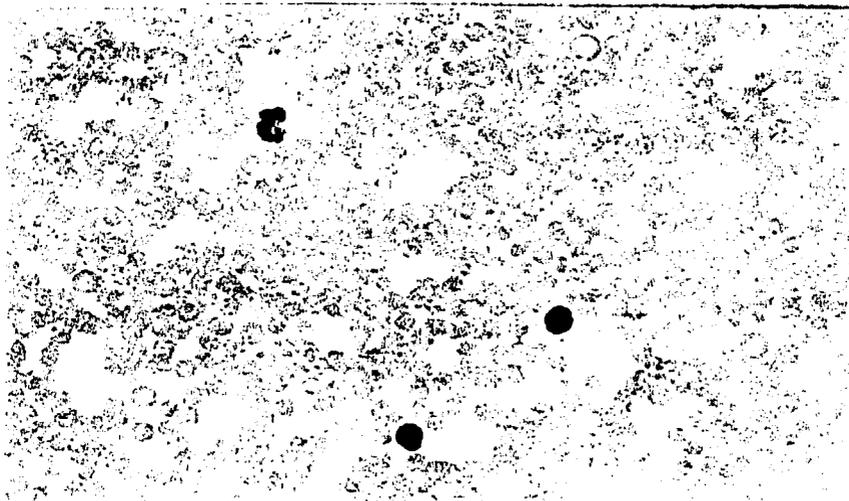


Figura 4. Frotis para el grupo al cual se le administró acetato de plomo, realizados al final del estudio, se presentan las células rojas y blancas observados a 10x.

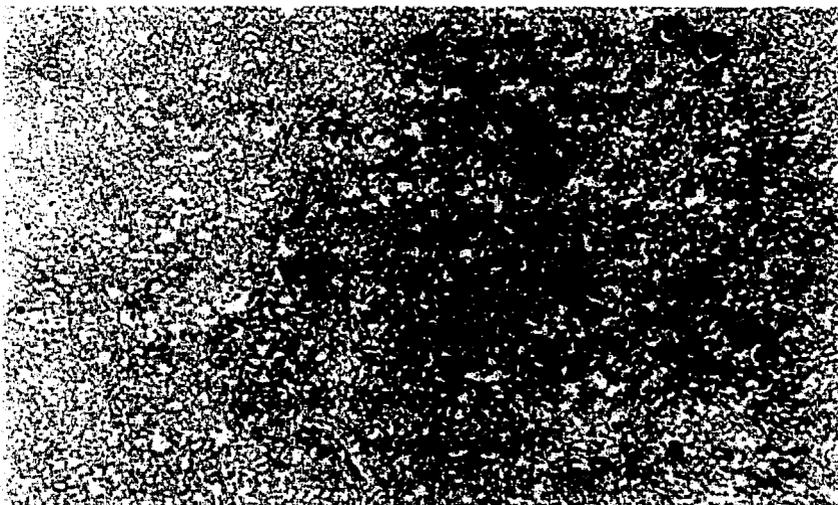


Figura 5. Frotis para el grupo al cual se le administró acetato de plomo y extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana, realizados al final del estudio, se presentan las células rojas y blancas observados a 40x.

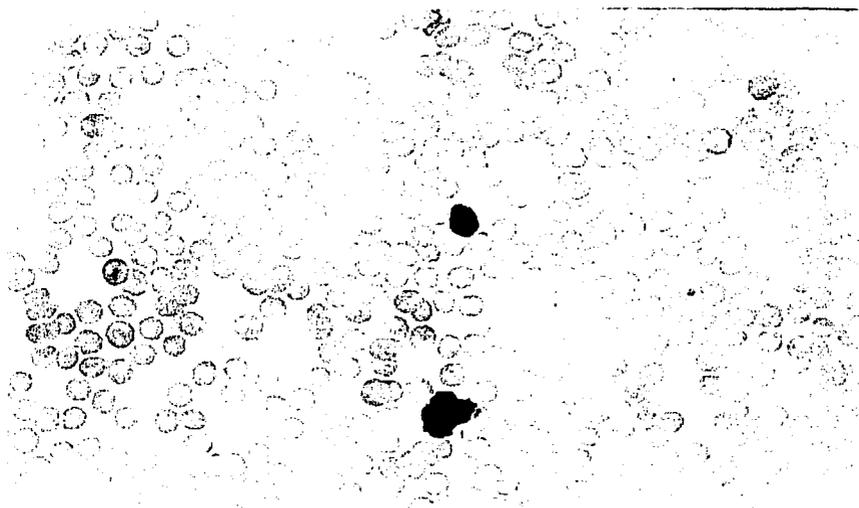
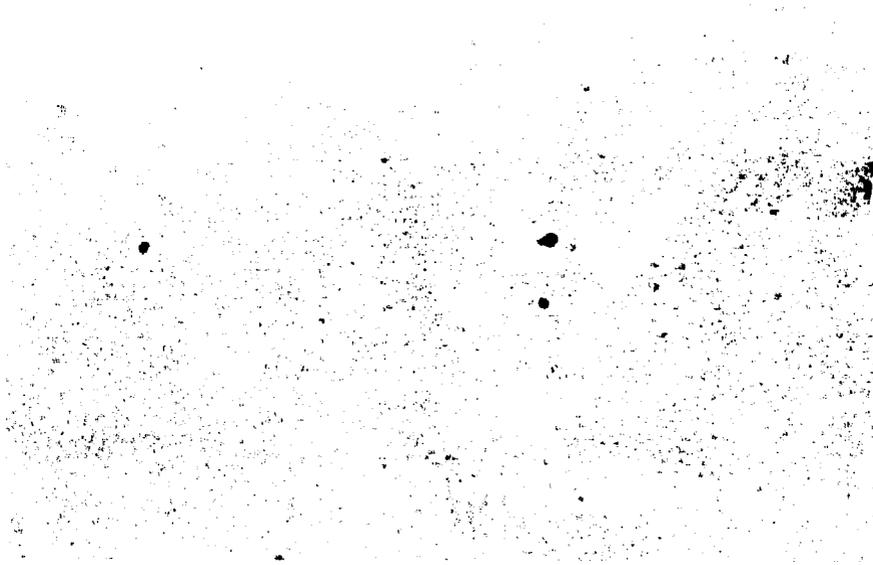


Figura 6. Frotis para el grupo al cual se le administró acetato de plomo y extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana, realizados al final del estudio, se presentan las células rojas y blancas observados a 10x.



## X. RESUMEN DE RESULTADOS

Tabla de resultados para la validación del método analítico.

	RESULTADO	CRITERIO
<b>Linealidad del sistema</b>	$r > 0.998$ $r^2 > 0.9979$ $CV \leq 0.39 \%$	$r > 0.99$ $r^2 > 0.98$ $CV \leq 1.5 \%$
<b>Linealidad del método</b>	$m = 0.9983$ $b = 0.443$ $r^2 = 0.9996$	$m = 1$ $b = 0$ $r^2 = 0.98$
<b>Precisión del sistema</b>	$CV < 0.057 \%$	$CV < 2 \%$
<b>Exactitud</b>	% recuperado 97.2 – 102.7 % $CV = 2.84 \%$	% recuperado 97 – 103 % $CV = 2.84$
<b>Límite de detección y cuantificación.</b>	Mínimo detectado 0.001 $\mu\text{g/dL}$ Mínimo cuantificado 0.005 $\mu\text{g/dL}$	

Efecto del extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana en la movilización de plomo en sangre y su efecto en la concentración de calcio y magnesio, realizado al final del estudio.

	Grupo de referencia	Grupo al cual se administró acetato de plomo	Grupo al cual se administró acetato de plomo + tratamiento	Valor teórico reportado
<b>Plomo (<math>\mu\text{g/dL}</math>)</b>	$17.4 \pm 1.32$	$49.3 \pm 14.14$	$17.9 \pm 3.76$	-
<b>Calcio (mg/dL)</b>	$12.75 \pm 0.35$	$5.68 \pm 1.63$	$12.26 \pm 2.81$	7.2 – 13.9
<b>Magnesio (mg/dL)</b>	$7.75 \pm 1.06$	$6.10 \pm 1.51$	$5.79 \pm 1.09$	1.6 – 4.4

## XI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla 1 y grafico 1, se muestran los resultados obtenidos para la linealidad del sistema el cual se realizó empleando el sistema APDC-MIBK, que de acuerdo con los criterios de aceptación establecidos podemos ver que el sistema es lineal en un rango de concentraciones de 5 a 50  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . La linealidad del método que se muestra en la tabla 2 y grafico 2, también se encuentra entre los niveles de aceptación por lo que podemos decir que el método es lineal en un rango de concentraciones requerido para cuantificar plomo en sangre.

En la tabla 3 se observan los resultados de la precisión del sistema, la cual indica el grado de concordancia que existe entre los resultados analíticos individuales para una determinada muestra, se observa que el sistema es preciso ya que el CV obtenido cumple con los criterios de aceptación establecidos por la Guía Oficial de Validación.

En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos para la exactitud, la cual indica la repetibilidad que representa la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y uno de referencia. El método resulto ser exacto, ya que el % recuperado y el CV cumple con los criterios de aceptación.

En la tabla 5 y grafico 3, se observan los resultados obtenidos para el límite de detección y cuantificación utilizando una solución estándar de 5  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . Estos parámetros analíticos son muy importantes en absorción Atómica, ya que indican la habilidad para determinar un elemento traza presente en diferentes muestras, ya sean fluidos biológicos u otro tipo de matrices, siempre y cuando el método sea específico. Este valor representa el nivel de concentración más bajo del elemento a determinar, que debe ser diferente a la señal producida por el blanco.

Los parámetros analíticos determinados indican que el método cumple con los criterios de aceptación especificado, por lo que podemos decir que los resultados obtenidos al cuantificar Plomo en sangre por este método son confiables.

En la tabla 6 y grafico 4 se muestran los niveles de plomo en sangre para el grupo de referencia en las diferentes etapas del estudio, para el día 0 se tiene  $15.03 \pm 2.07 \mu\text{g}/\text{dL}$ , para el día 7 fue de  $15.30 \pm 2.57 \mu\text{g}/\text{dL}$ , el día 22 fue de  $14.75 \pm 2.25 \mu\text{g}/\text{dL}$  y para el día 29 fue de  $17.45 \pm 1.32 \mu\text{g}/\text{dL}$ . Como se puede observar existe una variación entre dichos niveles, el análisis estadístico (t-student) con un nivel de significancia de 0.05% indica que no existe diferencia significativa entre los niveles de Pb en sangre para el grupo de referencia durante el estudio.

En la tabla 7 y grafico 5 se muestran los niveles de Pb para el grupo intoxicado, el día 0 se presenta el nivel basal con un valor de  $15.15 \pm 2.04 \mu\text{g}/\text{dL}$  el cual es comparable con respecto al grupo control, después de la toma de muestra se inicio la administración de acetato de plomo para efectuar la intoxicación de los especímenes, el día 7 se tomo la segunda muestra de sangre y el nivel se encontraba en una media de  $54.56 \pm 15.52 \mu\text{g}/\text{dL}$ , observándose una desmejora del estado físico de la rata, como una pérdida notoria de peso (aproximadamente 10%) por lo que se decidió disminuir la dosis de 30mg/Kg/día a 15mg/Kg/día, la cual se manejo como una dosis de mantenimiento hasta

el final del estudio. La muestra obtenida el día 22 y 29 se observan un valor de  $48.96 \pm 13.56$  y  $49.36 \pm 14.14$   $\mu\text{g/dL}$  respectivamente.

En la tabla 8 y grafico 6 se muestran los niveles de Pb para el grupo en el cual fue evaluado el efecto del extracto, este grupo también fue intoxicado de la misma forma que el anterior, pero a la vez se le administró el extracto etanólico a partir del día 7. El día 0 muestra los niveles de plomo basal que es de  $15.05 \pm 1.86$   $\mu\text{g/dL}$ , el cual coincide con el grupo de referencia, posteriormente al día 7 se observa que aumenta a una concentración de  $52.16 \pm 7.89$  y que después de la administración del extracto los niveles de plomo disminuyen notoriamente, el día 22 y el día 29 se observan valores de  $21.9 \pm 2.24$   $\mu\text{g/dL}$  y  $17.9 \pm 3.76$   $\mu\text{g/dL}$  respectivamente. Al realizar un análisis estadístico (t-student) para comparar los niveles de plomo con un nivel de significancia de 0.05%, se encontró que existe diferencia significativa entre dichos niveles, por lo que podemos decir que el extracto etanólico disminuye el nivel de concentración de plomo en sangre.

En la tabla 9 se muestra una comparación de medias obtenidas para cada grupo de ratas en los diferentes días de toma de muestra. Puede observarse que el nivel de concentración de plomo son diferentes para los tres grupos, solamente presentan similitud en el día 0, ya que es el nivel de Pb basal. El grupo de referencia no presenta diferencia significativa entre los niveles de plomo en sangre, en los diferentes días de toma de sangre, lo mismo suceda para el grupo al cual se le administró acetato de plomo; sin embargo, el grupo al cual se le administró acetato de plomo y el extracto etanólico presenta diferencia significativa en sus niveles a los diferentes días de toma de sangre, esto se observa notoriamente en el grafico 7, por lo que podemos decir que los niveles de Pb disminuyen por el efecto del extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana.

En la tabla 10 y grafico 8 se muestra el nivel de Pb para los tres grupos el ultimo día de toma de muestra, para el grupo de referencia  $17.4 \pm 1.32$ , para el grupo al cual se le administró acetato de plomo  $49.3 \pm 14.14$ ; y al que se le administró acetato de plomo y el extracto de Zarzaparrilla y Bardana  $17.9 \pm 3.76$ , esto se hizo para poder realizar una comparación entre grupos mostrando una tabla de ANDEVA para hacer una comparación de medias. De acuerdo a la tabla de ANDEVA se llegó a la conclusión de que existe diferencia significativa en los niveles de Pb para los tres grupos.

En la tabla 11 y grafico 9 se muestra el nivel de Ca determinados al final del estudio para los tres grupos de ratas, para el grupo de referencia de  $12.75 \pm 0.35$   $\text{mg/dL}$ , para el grupo intoxicado de  $5.68 \pm 1.63$   $\text{mg/dL}$  y para el grupo que se administro el tratamiento de  $12.26 \pm 2.81$   $\text{mg/dL}$ ; además de que también se muestran los descritos por Shayne en 1992<sup>56</sup>, al realizar un análisis estadístico (t-student) se encontró que no existe diferencia significativa entre el grupo de referencia y el grupo al cual se le administro el tratamiento, sin embargo, existe diferencia significativa entre el grupo de referencia y el grupo intoxicado (con un nivel de significancia de 0.05%). De acuerdo a esto podemos decir que el extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana es efectivo para movilizar plomo sin movilizar calcio, por lo que puede ser una alternativa terapéutica sin ocasionar los efectos secundarios causados por los medicamentos hasta ahora utilizados, efectos que han sido descritos por Chisolm en 1990<sup>5</sup> y Dalessio en 1996<sup>21</sup>, siendo el más importante la descalcificación de los huesos, además de facilitar la redistribución de plomo en algunos casos y alteraciones fisiológicas que ocasionan los niveles bajos de calcio en el organismo.

En la tabla 12 y grafico 10, se presenta el nivel de Magnesio determinados para los tres grupos, para el grupo de referencia  $7.75 \pm 1.06$  mg/dL, para el grupo intoxicado  $6.10 \pm 1.51$  mg/dL y para el grupo al cual se le administró el tratamiento  $5.79 \pm 1.09$  mg/dL; , se puede observar que están por encima de los niveles descritos por Shayne en 1992<sup>58</sup> (1.6 – 4.4 mg/dL), al realizar un análisis estadístico (t-student) se encontró que existe diferencia significativa entre el grupo intoxicado y el grupo con tratamiento, con respecto al grupo de referencia, por lo que podemos decir que el extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana moviliza el magnesio en pequeña proporción, tal vez si el extracto se administrará por un periodo mayor, se podría observar si las ratas movilizan en mayor proporción Mg o se recuperan a sus niveles normales.

La figura 1 a 6 muestran los frotis obtenidos de cada uno de los grupos bajo estudio. La Figura 1 muestra los glóbulos rojos del grupo de referencia, la figura 3 muestra los glóbulos rojos para el grupo al cual se le administro acetato de plomo, en esta figura se puede observar que existe deformación, esto debido a la acción que efectúa el plomo sobre la producción de la hemoglobina al encontrarse el plomo presente.<sup>10,22</sup> En la figura 5 se muestran los glóbulos rojos del grupo en el que se evaluó el el efecto del extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana, observándose que las células vuelven a adquirir su forma original, esto se puede observar al compararlas con el grupo de referencia.

## XII. CONCLUSIONES

1. El sistema APDC/MIBK es lineal para la cuantificación de plomo en sangre en el rango de concentración de 5, 10, 20, 30, 40 y 50  $\mu\text{g/dL}$ .
2. El método es lineal para la cuantificación de plomo en sangre en el rango de concentración de 10, 25, 50, 75 y 100  $\mu\text{g/dL}$ .
3. El método es exacto y preciso para las concentraciones de plomo presentes en sangre total.
4. El límite de cuantificación obtenido para este método es de  $0.005\mu\text{g/dL}$ , el cual representa el nivel de concentración más bajo del elemento a determinar sin que se vea afectado por la señal producida por el blanco.
5. El extracto etanólico de Bardana y Zarzaparrilla, disminuye el nivel de plomo en sangre al ser administrado en una dosis de  $3\text{mL/día}$ , durante 22 días.
6. El extracto etanólico de Bardana y Zarzaparrilla disminuye el nivel de plomo en sangre, sin disminuir el nivel de calcio, por lo que puede utilizarse como una alternativa terapéutica para la intoxicación de plomo sin provocar una descalcificación.
7. El extracto etanólico de Bardana y Zarzaparrilla moviliza el magnesio en pequeñas proporciones.
8. El extracto etanólico de Bardana y Zarzaparrilla es capaz de quelar el plomo que se encuentra unido a eritrocitos, haciendo que estos se recuperen después de la deformación que sufren por la intoxicación.

### **XIII. SUGERENCIAS**

1. Evaluar el efecto del extracto etanólico de Bardana y Zarzaparrilla por un tiempo más prolongado, para conocer si existe recuperación del nivel magnesio.
2. Administrar el extracto etanólico de Bardana y Zarzaparrilla a dosis diferentes para conocer que concentración es la más adecuada.
3. Cuantificar el plomo en hueso para saber si el extracto es capaz de movilizarlo.
4. Determinar el nivel de Zn y Fe en suero para conocer su comportamiento bajo el efecto del acetato de plomo y posteriormente con la administración del extracto etanólico de Zarzaparrilla y Bardana.
5. Establecer un método analítico que sea indicativo para determinar la concentración de plomo en el extracto etanólico.

#### XIV. LISTA DE REFERENCIAS

1. Calderon S. J.V. "Lead exposure in a population of Mexican children." *Human & experimental toxicology*. 1996.15 : 305-311.
2. Cantinela, A. And Klaassen, C. D. The effect of chelating agents on the excretion of endogenous metals. *Ibid*. 1982. 63: 344-350.
3. Lacasaña N. M. "Consumo de calcio y plomo en sangre de mujeres en edad reproductiva".*Rev. Invest. Clin*. 1996; 48(6):425-430.
4. Jiménez C. y Romieu I. "Factores de exposición ambiental y concentraciones de plomo en sangre en niños de la ciudad de México": *Salud Pública de México*.1993; 35(6): 599-606.
5. Chisolm. J.J. "Evaluation of the potential role of chelation therapy in treatment of low moderate lead exposure." *Enviromental Heat Perspectives*. 1990; 89: 67-74.
6. Lara O. F. "Plantas medicinales de México, composición, usos y actividad biológica." Ed. UNAM. México 1996. p.p. 8-10.
7. Skoog A. D. " Fundamentos de Química Analítica". Cuarta edición. Ed. Reverté. Barcelona 1997. p.p. 613-637.
8. Enfermedades ocupacionales. Guía para su diagnostico. Publicación científica No. 480. organización Panamericana de la salud. Oficina Sanitaria Panamericana OMS. Washington, EUA 1986. p.p. 213-216.
9. Calderón S. J.V. "Efectos del plomo sobre la salud: el plomo y la lactancia". *Avance y perspectiva*.16 Mayo-junio: 181-189, 1997.
10. Luis A.C, Coreyo G., "Plomo", Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud y OMS, México 1989.
11. Jiménez G.C. "Exposición a plomo en niños de 6 a 12 años de edad". *Salud Pública de México*. 41, suplemento 2, S72-S81, 1999.
12. Joel S. R., "Fuentes de plomo en embarazadas de la cuenca de México". *Salud Pública de México*. 32 (6): 632-643, 1990.
13. Pincus, D., Saccar. *Lead Poisoing. Clinical Pharmacology*. 5(1):45-52.1982.
14. Stephen J. R., Rohit S., *Prevalence of Elevated Blood Leads and Exposure to Lead in Construction Trades in Iowa and Illinois*, *Am.J.of Ind. Med*. 36:307-316 1999
15. Aguilar M. G., "Exposición ocupacional a plomo inorgánico en una imprenta de la Ciudad de México".*Salud Pública de México*. 41 (1): 42-54, 1999.

16. Vijayalakshmi P., Relationship of Lead in Drinking Water to Bone Lead Levels Twenty Years Later in Boston Men: The Normative Aging Study, *JOEM*, 41(5): 349-355, 1999.
17. Tri G. P., Lead poisoning from drinking Kombucha tea brewed in a ceramic pot, *JAMA* 169: 644-646, 1998.
18. Stephen J. R., "Evaluación del riesgo potencial de la exposición perinatal al plomo en el valle de México. Perinatal Reproducción Human. 3 (1): 48-60, 1989.
19. Moline M. J., "Lead exposure among young urban women". *Salud Pública de México*. 41, suplemento 2: S82-s86, 1999.
20. Unlenbelt P, Lumens M., et all. Work Hygienic behaviur as modifier of the lead air-lead blood ralati6n. *Int. Arch. Occup Environ Health* 1990; 62: 203-207.
21. Porru S, y Alessio L. The use of chelanting agents in occupational lead poisoning. *Occup. Med.* 1996; 46: 41-48.
22. Cortes, C. M. J. Efectos de plomo sobre algunos aspectos de la respuesta inmune en modelo en rata. Tesis de licenciatura. FES- Zaragoza. 1995. pag. 42-43.
23. Molina B. G. "Plomo sus implicaciones sociales y efectos sobre la salud". *Gaceta médica de México*. 115(2): 57-64, 1979.
24. Carl Z. "Occupational Medicine", Third Edition, Publications Mosby, Boston 1993. p.p. 314-321
25. Kristal E. The Association Between Occupational lead Exposure and Serum Cholesterol and Lipoprotein Levels, *Am.J.Pub.Health*, 89(7):1083-1087,1999.
26. Schumm, D. E. Principios de Bioquímica. Ed. El manual moderno. México 1989. pag. 462-463.
27. Vega, M. M. Efecto de diferentes concentraciones de calcio en la dieta durante la lactancia sobre la distribución de Ca y pb en ratas expuestas cr6nicamente al plomo. Tesis de maestría. CINVESTAV- IPN. 1997. pag. 13-17.
28. Buddecke, E. Elementos de bioquímica. Ed. Omega. Barcelona 1983. pag. 303-305.
29. Instituto Nacional de la Salud Pública. Intoxicación por Plomo: de la detección a la prevención primaria". *Salud pública en México*, Mayo-junio 1995; 37(3):271-272.
30. Angle CR. Childhood lead poisoning and its treatment. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 32: 409-434.
31. Grandjean P. Jacobsen IA, Jorgensen PJ. Chronic lead poisoning treated with dimercaptosuccinic acid. *Pharmacol Toxicol* 1991; 68: 266-269.

32. Chisolm JJ Jr. BAL, EDTA, DMSA and DMPS in the treatment of lead poisoning in children. *Clin Toxicol* 1992; 30: 493-504.
33. Besunder B. J. Comparison of dimercaptosuccinic acid and calcium disodium ethylenediaminetetraacetic acid versus dimercaptopropanol and ethylenediaminetetraacetic acid in children with lead poisoning. *J. Pediatr* 1997;130: 996-971.
34. Cory D.A. Mobilization of lead over the course of DMSA chelation therapy and long-term efficacy. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1988; 246 (1): 84-91.
35. Cory D.A. Mobilización and redistribución of lead over the course of dicalcium disodium ethylenediamine tetracetato chelation therapy. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1987; 243: 804-813.
36. Dalley. J. W. Gupta, P.K. The effect of L-ascorbic acid on the disposition of lead in rats. *Pharmacol. Toxicol.* 1989. 64: 360-364.
37. Dalley. J. W. Gupta, P.K. A physiological pharmacokinetic model describing the disposition of lead in the absence and presence of L-ascorbic acid in rats. *Toxicology letters.* 1990. 50: 337-348.
38. Simon A. J. Relationship of Ascorbic Acid to Blood Lead Levels. *JAMA* 1999; 281,(24): 2289-2293.
39. Wren R.C. "Enciclopedia de medicina Herbolaria y preparados botánicos" Ed. Grijalbo México 1994. Pag. 112-113.
40. Volok J., Stodola J. "Plantas medicinales". Segunda edición. Ed. Artia praga. México 1989. pag. 29-33, 76-77.
41. James A. Duke. *HandBook of phytochemical constituents of grass herts and other economic plants.* Ed. CRC Press. Boca Raton. Florida 1992. pag. 62,63 y 562.
42. James A. D. *HandBook of Medicinal Herbs.* Ed. CRC Press. Boca Raton. Florida 1985. pag. 53, 54 y 446.
43. Martínez A. J. "Herbolario Medicinal Mexicano ". Ed. Editores Mexicanos Unidos S.A. México 1983. Pág. 32-33
44. Grainger B. N. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals.* Ed. CRC Press. Boca Raton. Florida. Pag. 99-101.
45. Fernández J. P. "Plantas medicinales un recetario básico". Ed. Ediciones OMEGA. Barcelona 1994. Pág. 46-49 y 255-257.
46. Argueta V. A. *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana V.III .* Instituto nacional indigenista. Ed. BMTM. México 1994. Pag. 1419.

47. Emes B. M. Flora Medicinal indigena de México v. III. Instituto nacional indigenista. Ed. BMTM. México 1994. pag. 1257.
48. Enciclopedia de la naturaleza al servicio de la Salud. Plantas que curan . ed. Mundial de los tres libros. Brasil 1984. Pag. 499
49. Wangton f. H. "Análisis químico e Instrumental moderno".Ed. Reverté. Barcelona 1963. pag. 243-244.
50. Willard W. D. Métodos instrumentales de Análisis". Ed. Compañía Continental. México 1980. pag. 384-414.
51. Castillo G. L. Arteaga M.M. notas para el curso de espectrofotometria de absorción atómica. FES- Zaragoza. 1992.
52. Cheremisinoff N. P. "Lead A guidebook to hazard detection, in remediation and control." Ed. Precentice Hall. New Hersey 1993. 106-110.
53. Hargis L.H. Analytical Chemistry: Principles and Techniques. Ed. Precentice Hall, New Jersey. 1988, p.p. 475-493.
54. Kai J. T. Determination of microgram amount of some transition metals in seawater by methyl isobutil keton-nitric acid successive extraction and flameless Atomic Absortion Spectrophotometry . Analitical Chemistry. 50: 1250-1253. 1978.
55. Sunderman F. W. Atomic Absorption Spectrometry of Trace Metals in Clinical Phathology. Hum. Path. 1973. 4:549-551.
56. Métodos analíticos. Validación. Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación de la Dirección General de Control de insumos para la Salud. México 1992. Pag. 2-13.
57. Antonia M.C. T. Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de plomo en sangre por espectroscopia de absorción atómica. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. 1995
58. Shayne C. G. Animal models in toxicology.ed. Marcel Dekker, Inc. New YorK 1992. pag. 21 - 81.