Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Toxicología

Relación entre niveles de plomo en sangre, actividad de ácido delta-aminolevulínico dehidratasa (δ- ALAD) y estrés oxidativo en trabajadores de imprenta del Cercado de Lima

TESIS

Para optar el Título Profesional de Toxicólogo

AUTORES

Diana Brenda CONTRERAS RODRIGUEZ

Nory Carlota NEIRA PALOMINO

ASESORES

Yadira FERNÁNDEZ JERÍ

Amelia Elizabeth CARRANZA ALVA

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Contreras D, Neira N. Relación entre niveles de plomo en sangre, actividad de ácido delta-aminolevulínico dehidratasa (δ- ALAD) y estrés oxidativo en trabajadores de imprenta del Cercado de Lima [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Toxicología; 2019.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor (dato opcional): 0000-0003-4021-4508

Código ORCID del asesor o asesores (dato obligatorio):

0000-0002-5775-065x / 0000-0002-5437-0993

DNI del autor: 47200191

Grupo de investigación: BIOTOX

Institución que financia parcial o totalmente la investigación: Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y/o coordenadas geográficas: La galería de imprenta Centro de Lima, Av. Bolivia - Cercado de Lima, Lima Perú.

Año o rango de años que la investigación abarcó: 2017-2019

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor (dato opcional): 0000-0002-5784-3557

Código ORCID del asesor o asesores (dato obligatorio):

0000-0002-5775-065X 0000-0002-5437-0993

DNI del autor: 70975831

Grupo de investigación: BIOTOX

Institución que financia parcial o totalmente la investigación: Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y/o coordenadas geográficas: La galería de imprenta Centro de Lima, Av. Bolivia - Cercado de Lima, Lima Perú.

Año o rango de años que la investigación abarcó: 2017-2019

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

"Relación entre niveles de plomo en sangre, actividad de Acido delta-aminolevulínico dehidratasa (δ-ALAD) y estrés oxidativo en trabajadores de imprenta del Cercado de Lima"

Que presentan las Bachilleres en Toxicología:

DIANA BRENDA CONTRERAS RODRIGUEZ Y
NORY CARLOTA NEIRA PALOMINO

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

17 (Diecisiete) Sobresaliente

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Toxicología y Título Profesional de Toxicólogo (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 19 de diciembre de 2019

Dr. Mesías Moisés García Ortiz
Presidente

Dr. Juan Manuel Parreño Tipián
Miembro

Mg. Elizabeth Liz Chávez Hidalgo
Miembro

Mg. Jesús Víctor Lizano Gutiérrez
Miembro

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú
Teléfonos: (511) 619-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe

ISO 9001 BUREAU VERITAS Certification
Nº BR233265

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Javier y Marisol por haberme guiado en todo el trayecto de mi vida y por su apoyo incondicional para llegar a culminar mi carrera profesional. A todas las personas especiales que estuvieron presentes en mi etapa universitaria que con sus enseñanzas y experiencias aportaron a mi formación.

[Diana Brenda]

A mis padres Roberto y Nory por

Motivarme a estudiar e
Incentivarme a lograr mis objetivos,
Siempre colocándome en primer lugar.

Presento este trabajo para todos
Aquellos docentes que me incentivaron a
Participar en la investigación, y para
Aquellos amigos que estuvieron
Siguiéndome y acompañándome en este camino.

[Nory Neira]

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Yadira Fernández Jerí y a la Dra. Elizabeth Carranza por permitir ser nuestras asesoras, por su confianza brindada y sus conocimientos que aportaron a este trabajo de investigación.

A los integrantes del Grupo de Investigación BIOTOX por su apoyo en la toma de muestra del presente trabajo.

Al Centro de Control Analítico por la orientación en la realización del presente estudio.

A los miembros del Jurado Evaluador.

A nuestra Facultad de Farmacia y Bioquímica y a la Escuela Profesional de Toxicología, por albergarnos durante 6 años y enriquecernos de conocimientos.

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS xiii

RESUMEN xv

ABSTRACT xvi

I. **INTRODUCCIÓN** 1

1.1 OBJETIVO GENERAL 3

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 3

II. **MARCO TEÓRICO** 4

2.1 ANTECEDENTES 4

2.2 PLOMO 13

2.2.1 Propiedades fisicoquímicas 13

2.2.2 Fuentes de exposición 13

2.2.3 Metabolismo del plomo 14

2.2.4 Efectos del plomo sobre la salud 16

2.2.5 Niveles de exposición 19

2.2.6 Tratamiento de la contaminación por plomo 20

2.3 ESTRÉS OXIDATIVO Y EL SISTEMA ANTIOXIDANTE 20

2.3.1 Estrés Oxidativo 20

2.3.2 Sistema Antioxidante 21

2.3.3 Componentes del Sistema Antioxidante 21

2.3.4 Estrés oxidativo y la peroxidación lipídica 24

2.4 EFECTOS DEL PLOMO EN LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE 25

2.5 IMPRENTAS 26

2.5.1 Sistemas de impresión 26

2.5.2 Composición de las tintas para impresión 28

2.6 EXPOSICIÓN AL PLOMO EN TRABAJADORES DE IMPRENTAS 30

2.7 IMPRENTAS EN EL CENTRO DE LIMA 31
2.8 FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS 32
2.8.1 Cuantificación de plomo en sangre por Absorción Atómica Horno de Grafito (Basado en la técnica del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo) 32
2.8.2 Determinación de la actividad de la δ-ALAD en eritrocitos 34
2.8.3 Cuantificación de hemoglobina 34
2.8.4 Determinación de Malondialdehído 35
2.8.5 Determinación de Tioles totales 35
III. **PARTE EXPERIMENTAL** 36
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN 36
3.2 LUGAR Y PERIODO DE ESTUDIO 36
3.3 DISEÑO MUESTRAL 36
3.4 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS Y MUESTRAS 36
3.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS 37
3.6 EQUIPOS Y MATERIALES 37
3.6.1 REACTIVOS 37
3.6.2 EQUIPOS 38
3.7 METODOLOGÍA 39
3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO 42
IV. **RESULTADOS** 43
V. **DISCUSIÓN** 50
VI. **CONCLUSIONES** 56
VII. **RECOMENDACIONES** 57
VIII. **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS** 58
IX. **ANEXOS** 68

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Niveles de plomo en sangre de los trabajadores de imprenta del Cercado de Lima por ocupación 43

Tabla 2. Correlación de los niveles de Pb en sangre entre grupo expuesto y control 44

Tabla 3. Datos de género, edad y años de trabajando en imprenta del grupo control y expuesto 44

Tabla 4. Concentración de plomo en sangre, actividad de δ-ALAD, concentración de MDA como TBARS Y Tioles totales en el grupo control y grupo expuesto (media ± DS) y su comparación con la prueba U de Mann-Whitney 45

Tabla 5. Correlación entre los parámetros analizados en el grupo Control y grupo expuesto 46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo metabólico del plomo en el ser humano [2] 16
Figura 2. Efectos del plomo en la síntesis del Hemo [43] 18
Figura 3. Plumbemia y manifestaciones clínicas [43] 20
Figura 4. Reacción de la SOD para la dismutacion de O_2 en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular [48] 22
Figura 5. Reacción catalítica de la catalasa, en esta reacción se emplean dos moléculas de H_2O_2 para convertirlas en O_2 y agua [48] 23
Figura 6. Reacción peroxidativa de la catalasa, en esta reacción utiliza como donadores de hidrógeno al metanol o formaldehido para producir dos moléculas de agua [48] 23
Figura 7. Reacción de la Glutatión Peroxidasa. Se observa que el Glutatión es utilizado como donador de electrones para convertir el peróxido de hidrógeno en dos moléculas de agua [48] 24
Figura 8. Pasos en la impresión planográfica u offset [55] 27
Figura 9. Consideración cíclica del proceso de exposición al plomo en los trabajadores de imprentas [57] 30
Figura 10. Proceso de impresión solicitado. Fuente: Elaboración propia 31
Figura 11. Componentes del equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica [61] 33
Figura 12. Gráfica de Pareto de los niveles de plomo en sangre según ocupación. 43
Figura 13. Regresión lineal entre los niveles de plomo en la sangre y la actividad de δ-ALAD en el grupo expuesto 47
Figura 14. Regresión lineal entre los niveles de plomo en la sangre y TBARS en el grupo expuesto 47
Figura 15. Regresión lineal entre los niveles de plomo en la sangre y Tioles totales en el grupo expuesto 48
Figura 16. Regresión lineal entre la actividad de δ-ALAD y TBARS en el grupo expuesto 48
Figura 17. Regresión lineal entre la actividad de δ-ALAD y los Tioles totales en el grupo expuesto 49

Figura 18. Regresión lineal entre los niveles de TBARS y Tioles totales en el grupo expuesto 49

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Encuesta sobre alimentación, salud y trabajo 68

Anexo 2: Consentimiento informado 69

Anexo 3: Imágenes de la parte experimental 70

Anexo 4: Coeficiente de correlación (r) entre los parámetros analizados en los trabajadores de imprentas del Centro de Lima..... 71

ABREVIATURAS

Abs: Absorbancia

ACGIH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists

ALA: Ácido delta aminolevulínico

δ-ALAD: Ácido delta aminolevulínico dehidratasa

ALA-HCl: Clorhidrato de ácido delta aminolevulínico

BAL: British Antilewisite

CAT: Catalasa

CDC: Centers for Desease Control and Prevention

DMSA: Ácido dimercaptosuccínico

DTNB: 5,5'-Ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico)

EDL: Electrodeless discharge lamp

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EROs: Especies Reactivas de Oxígeno

FDA: Food and Drug Administration

GPx: Glutatión peroxidasa

GSH: Glutatión

H_2O_2: Peróxido de Hidrógeno

Hb: Hemoglobina

MDA: Malondialdehído

MINSA: Ministerio de Salud

mM: Milimol

MP: Muestra problema

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

OMS: Organización Mundial de la Salud

OSHA: Occupational Safety and Health Administration

PBG: Porfobilinógeno

Pb-S: Plomo en sangre

p-DMAB: p-dimetilaminobenzaldehído

ppb: Partes por billón

RL: Radical libre

RPM: Revolución por minuto

SOD: Superóxido dismutasa

TBA: Ácido tiobarbitúrico

TBARS: Especies reactivas a ácido Tiobarbitúrico

U/L: Unidades internacionales por litro

uM: Micromol

BHT: Butil hidroxitolueno

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la relación entre los niveles de plomo en sangre con la actividad de la enzima Ácido delta aminolevulínico dehidratasa (δ-ALAD) y el estrés oxidativo, en trabajadores de imprenta del Cercado de Lima, se realizó un estudio de tipo descriptivo, transversal y correlacional a 40 sujetos quienes participaron voluntariamente. Los participantes, llenaron una encuesta sobre temas de salud, hábitos alimenticios, características del trabajo y fueron clasificados en función a la ocupación que desempeñaban en la imprenta como grupo expuesto y control. Se cuantificó el plomo en sangre y se determinó la inhibición de la enzima δ-ALAD asimismo el estrés oxidativo se determinó por la cuantificación de tioles totales y peroxidación lipídica. Los resultados indican que la concentración obtenida de plomo en sangre del grupo expuesto (10,44 ± 3,34 ug/dL) no supera los límites permisibles según la OMS (40ug/dL), sin embargo, se observó un incremento en la peroxidación lipídica expresada como TBARS entre el grupo expuesto (11,15 ± 2,75 umol/L) con el grupo control (6,54 ± 0,75 umol/L), al igual que un incremento en tioles totales entre el grupo expuesto (58,36 ± 5,47mmol/L) y el grupo control (39,25 ± 8,83mmol/L). Se concluye que existe una correlación estadísticamente significativa entre los niveles bajos de plomo en sangre con la actividad de la enzima δ-ALAD y el estrés oxidativo.

Palabras clave: plomo, estrés oxidativo, ácido delta aminolevulínico dehidratasa, tioles totales.

ABSTRACT

In order to determine the relationship between blood lead levels with delta aminolevulinic acid dehydratase (δ-ALAD) activity and oxidative stress in printing workers at Cercado de Lima city, a descriptive, correlational and transversal research was conducted to 40 workers who voluntarily participated. The participants filled out a survey about health issues, eating habits, job characteristics and they were classified according to the occupation they performed in printing as Exposed and Control group. Lead in the blood was quantified and the inhibition of the δ-ALAD enzyme was determined, also the oxidative stress was determined by quantification of total thiols and lipid lipoperoxidation. The results indicate that blood lead levels in the exposed group (10.44 ± 3.34 ug/dL) does not exceed the permissible limits according to WHO (40ug/dL), however, an increase in lipid peroxidation expressed as TBARS was observed between the exposed group (11.15 ± 2.75 umol / L) with the control group (6.54 ± 0.75 umol / L), as well as an increase in total thiols between the exposed group (58.36 ± 5.47mmol / L) and the control group (39.25 ± 8.83mmol / L). It is concluded that there is a statistically significant correlation between low blood lead levels with the activity of the δ-ALAD enzyme and oxidative stress.

Keywords: lead, printing, oxidative stress, aminolevulinic delta acid dehydratase, total thiols, malondialdehyde.

I. INTRODUCCIÓN

En la presente investigación se estudia la relación entre la concentración de plomo en sangre con la actividad de la enzima Acido delta Aminolevulinico dehidratasa (δ-ALAD) y los biomarcadores del estrés oxidativo en trabajadores de imprentas del Cercado de Lima.

La imprenta es un importante medio de comunicación que ha existido desde hace cientos de años. En la actualidad sigue teniendo la misma importancia y con el avance de la tecnología en nuestro país las impresiones de tipo offset y digitales son las más utilizadas las cuales emplean en su proceso tintas, disolventes y aditivos que tienen en su composición diversos metales pesados, entre ellos el plomo que es conocido por ser fuente de contaminación del aire, como resultado de esta exposición en ambientes cerrados y por periodos largos, los trabajadores se encuentran en riesgo de padecer efectos adversos para su salud. En el Centro de Lima existen edificios dedicados a este rubro donde los trabajadores realizan amplias jornadas y además no utilizan ningún tipo de protección para evitar el contacto prolongado con los químicos que utilizan en el proceso de la impresión.

El interés por esta problemática se basa en que son escasos los estudios relacionados a la exposición del plomo y su relación con el estrés oxidativo en trabajadores en el Perú. Siendo el plomo uno de los metales que más se ha empleado en diversos ámbitos de trabajo; su absorción por exposición laboral se produce principalmente por la vía respiratoria, el cual se une aproximadamente a un 95% de los glóbulos rojos y es transportado por la sangre con un nivel de vida media de 30 días. También este metal pesado puede ser almacenado en tejidos blandos del sistema nervioso y renal por 40 días o en el hueso por un periodo de 30 años. El plomo no absorbido se elimina generalmente por la orina al ser filtrado por los glomérulos renales y un pequeño porcentaje por las heces mediante la bilis [1,2]. La toxicodinamia del plomo consiste en la interacción y competencia con metales esenciales para el organismo como el Ca, Cu, Fe, Zn. Así también la interacción con los grupos sulfhidrilos de las enzimas dependientes de Zn; el hueso es otro órgano diana del plomo porque es utilizado como reservorio de este metal pesado y altera su desarrollo [3].

La intoxicación por plomo se caracteriza principalmente por producir alteraciones en el sistema hematopoyético y se evidencia con la presencia de anemia debido a la inhibición de la enzima δ-ALAD, que forma parte de la síntesis del grupo Hemo. δ-ALAD se encarga de condensar dos moléculas de ácido delta aminolevulínico (ALA) para formar el Porfobilinógeno, además tiene la capacidad de generar Radicales Libres (RL) o Especies Reactivas de Oxígeno (EROS) y de esta manera genera el Estrés Oxidativo al producirse un desequilibrio entre el sistema oxidante compuesto por el aumento de los radicales libres y del sistema antioxidante; produciendo daño a las macromoléculas biológicas. En los lípidos ocasiona la peroxidación lipídica produciendo como metabolito al Malondialdehído (MDA) el cual es cuantificado y considerado como biomarcador de estrés oxidativo [(4)]; el Glutatión Reducido es una molécula antioxidante y también es cuantificado. Por otro lado el sistema antioxidante también está compuesto por enzimas como Catalasa (CAT), Superóxido Dismutasa (SOD), Glutatión peroxidasa (GPx) entre otras encargadas de descomponer a las especies reactivas de oxígeno produciendo moléculas no reactivas como el H_2O y H_2O_2. La capacidad antioxidante es medida a través de la actividad enzimática, de la concentración de enzimas o de los sustratos que se forman. Cuando los radicales libres y especies reactivas de oxígeno superan al sistema antioxidante producen el deterioro a largo plazo de los órganos y sistemas lo cual se traduce en el individuo como causa de las enfermedades degenerativas.

En la presente investigación la exposición al plomo en los trabajadores se detectó a través de la determinación de plomo en sangre el cual fue relacionado con el biomarcador de toxicidad que es la inhibición de la actividad de la enzima ácido delta aminolevulínico dehidratasa (δ-ALAD) y los biomarcadores del estrés oxidativo. Además se realizaron encuestas a los trabajadores para obtener información sobre su alimentación, hábitos, salud y trabajo en imprenta de manera que la investigación nos permitió evidenciar los mecanismos de toxicidad por exposición al plomo en una población de trabajadores de imprenta.

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación entre los niveles de plomo con la actividad δ-ALAD y el estrés oxidativo en trabajadores de imprenta del Cercado de Lima.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la exposición al plomo en trabajadores de la imprenta del Cercado de Lima
- Evaluar el efecto del plomo en la actividad de la enzima del ácido delta aminolevulínico dehidratasa (δ-ALAD) en trabajadores de imprenta del Cercado de Lima.
- Relacionar la concentración de plomo en sangre con los biomarcadores de estrés oxidativo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

En la actualidad el plomo es uno de los metales tóxicos más dispersos en el medio ambiente, no tiene ninguna utilidad en el cuerpo humano y sólo produce efectos nocivos una vez que ingresa al organismo por lo que es considerado un problema de salud pública en todo el mundo especialmente para los niños y para los adultos en países en desarrollo con economías de industria pesada [5-9]. Su amplio uso en el mundo industrial facilitó la exposición en trabajadores cuyas labores los exponen al plomo y sus compuestos en forma de polvo y humos sin tener ninguna idea acerca de los materiales que están manejando [10].

Los mecanismos de acción del plomo han sido reportados por diversos autores [6,7, 11-16]. Al respecto, Ramos [11] considera que la absorción puede presentarse de tres maneras: mediante la vía respiratoria, vía gastrointestinal o cutánea pero solo cuando el plomo se encuentra en su estado orgánico. A demás la absorción puede variar según el estado nutricional y la edad de la persona, presentándose en mayor cantidad en los niños quienes pueden absorber entre un 30 a 50% a diferencia de los adultos con un 10%; mientras que en el estado nutricional los factores que causan la diferencia de la absorción del plomo entre las personas son la deficiencia de hierro y calcio, así como el incremento en el consumo de magnesio, alcohol y grasa los cuales se han asociado al aumento del plomo a través de la vía gastrointestinal.

La absorción del plomo por vía respiratoria se relaciona al tamaño de las partículas suspendidas en el aire es así que Astete [6] ,describe que las partículas menores a 10 µg, y especialmente las menores a 2,5 µg pueden atravesar las defensas del sistema respiratorio e ingresar en los pulmones.

Una vez absorbido, el plomo entra al torrente sanguíneo unido a los eritrocitos firmemente y también tiene la capacidad de unirse a otras moléculas como aminoácidos, enzimas, entre otras alterando varias vías metabólicas [7]. En el sistema hematológico inhibe las actividades de varias enzimas implicadas en la

biosíntesis del hemo, en particular la ácido delta aminolevulínico dehidratasa (δ-ALAD). La inhibición de la actividad de la enzima δ-ALAD ocurre cuando el plomo se une a grupos sulfhidrilos de la enzima, iniciando a una concentración menor a 10 µg/dL. Al no sintetizarse el grupo hemo de los glóbulos rojos se induce la anemia y se acorta la vida de los eritrocitos; además el plomo también puede inducir una producción inapropiada de eritropoyetina conduciendo a una maduración inadecuada de los progenitores de glóbulos rojos, lo que puede contribuir también a la anemia [12, 14,15].

Según otros autores [13,16] en la intoxicación por Pb, el estrés oxidativo puede producirse a diversos niveles: entre ellos la generación de ácido delta aminolevulínico (ALA), el cual es la principal fuente endógena de radicales libres; en la inducción de la peroxidación lipídica en presencia de Fe^{2+} o por disminución de GSH y de las enzimas antioxidantes. Además de la unión del plomo con la hemoglobina, este metal pesado tiene la capacidad de almacenarse en tejidos del hígado y riñones [12].

Las exposiciones ocupacionales al plomo han sido materia de investigación en diversas partes del mundo: En Asia, un estudio realizado en trabajadores de imprentas de la ciudad Baghdad evaluó el impacto de esta profesión en la salud ocupacional, para ello se realizó mediciones de plomo en sangre en 3 grupos: trabajadores con exposición ocupacional (aquellos involucrados en el proceso de impresión), personas con exposición ambiental (no involucrados al proceso de impresión como por ejemplo: contadores, clasificadores, encuadernadores), el tercer grupo conformado por personas sanas que viven lejos de las imprentas. Los resultados muestran diferencias significativas ($P \leq 0.01$) e indican que el grupo con mayor concentración de plomo en sangre fue el grupo expuesto ocupacionalmente (promedio: 26.96 ug Pb/dL), en segundo lugar el grupo expuesto ambientalmente (promedio: 22.54 ug Pb/dL) y en último lugar el grupo control con una concentración promedio de 17.84 ug Pb/dL[17].

En un estudio realizado en la India se evaluó el estrés oxidativo en pintores expuestos a niveles bajos de plomo. Los resultados obtenidos fueron comparados con un grupo control demostrando niveles elevados de plomo en sangre para el grupo expuesto (219.2 ± 61.9) µg L-1. Además quedó demostrado la inhibición de

δ-ALAD en el grupo control vs. los pintores (39.38 ± 5.05 vs. 9.13 ± 4.62) U/L, y la generación de estrés oxidativo: GSH (580.92 ± 68.96 vs. 418.55 ± 58.58) umol/L, Malondialdehído como TBARS (3.08 ± 0.56 vs. 7.48 ± 1.31) nmol/mL, SOD (0.64 ± 0.19 vs 2.68 ± 0.62) U/mg proteína y Catalasa (230.30 ± 42.53 vs. 56.77 ± 11.21) U/mg proteína; lo cual indica que hay significancia estadística y asociación positiva entre las concentraciones de plomo en sangre que no son considerados peligrosos por la OSHA y CDC (mayor a 50ug/dL) y el estrés oxidativo [18].

En Turquía un estudio similar al anterior realizado por Ergurhan et al. [19] en aprendices de reparación de autos que se encontraban trabajando al menos un año obtuvo como resultado una significancia estadística en la concentración de plomo ($p<0,001$) entre el grupo expuesto (media= 7,9 ug/dL) y el grupo control (media=2,6 ug/dL). La actividad de la enzima δ-ALAD fue medida y evidenció una disminución de su actividad a medida que aumentaba la concentración de plomo en sangre. También se encontró una evidente significancia elevada de la concentración de MDA en el grupo expuesto.

En Pakistan, se realizó un estudio a trabajadores de fundición de plomo de una fábrica, con un tiempo de exposición entre 3 y 24 años. Con el objetivo de determinar la inducción del estés oxidativo por exposición al plomo para ello se analizó la concentración de plomo en sangre y la concentración de Malondialdehído (MDA). Los resultaron demostraron que el grupo expuesto presentó una media de plomo en sangre mayor al grupo control. Además el plomo en sangre mostró significancia en la correlación positiva con el MDA [20].

En Maharashtra (India), Patil et al. [21], investigaron el efecto del plomo en la actividad de la enzima Superóxido Dismutasa (SOD) y Catalasa en eritrocitos y la cuantificación de Malondialdehído (MDA) en plasma en 28 trabajadores de manufactura de baterías que se encontraban expuestos al plomo laboralmente por un período de 15 años. Como resultado se obtuvo que el grupo de trabajadores presentaba en promedio niveles de plomo en sangre superiores en comparación al grupo control, la actividad de SOD y de la Catalasa en el grupo expuesto fue menor al ser comparada con el grupo control, ($p<0.001$ para ambos casos). En cambio la peroxidación lipídica medida como MDA en el grupo de

trabajadores fue mayor en comparación al grupo control lo cual representó un incremento significativo ($p<0.001$) en el grupo expuesto.

En Japón, Chiba et al. [22] investigaron los índices de exposición de plomo en sangre y las actividades de δ-ALAD, SOD total, GPx y Catalasa en trabajadores de fábricas de cuerdas de acero expuestos a plomo, para ello los trabajadores fueron divididos en 3 grupos de acuerdo a la concentración de plomo en sangre (Pb-S): El grupo A con niveles de Pb-S ≤ 10ug/dL, el grupo B con niveles 10 < Pb-S ≤ 20 ug/dL, el grupo C Pb-S > 20. El promedio de plomo en sangre para cada grupo fue de 5.57, 15.02 y 32.52 (ug/dL) respectivamente. La relación entre la concentración de plomo en sangre y la actividad de δ-ALAD demostró tener diferencias estadísticamente significativas, en la actividad de la Catalasa se observó un incremento a medida que la concentración de plomo en sangre aumentaba; sin embargo en la actividad de SOD total y GPx no mostraron una correlación con la exposición al plomo.

Existen estudios en los que se midió la actividad de la δ-ALAD en sangre de trabajadores japoneses sin historial de exposición a metales a los cuales se adicionó plomo en grado reactivo y se obtuvo como resultado la inhibición de la actividad de la enzima δ-ALAD a medida que se aumentaba la concentración de plomo en sangre, lo cual concuerda con un similar análisis realizado en animales de experimentación [23,24].

En el estudio de Nakao et al. [25], se determinó la actividad de la enzima δ-ALAD en eritrocitos causado por la exposición al plomo en trabajadores de minas y manufactura. Los resultados demostraron que la disminución de la actividad de la enzima δ-ALAD se presentó en los trabajadores con concentraciones de plomo en sangre mayores a 39.5 ug/dL. Los autores concluyen que la determinación de actividad de δ-ALAD en eritrocitos es un excelente indicador de exposición al plomo.

Hay otros estudios que relacionan características demográficas entre ellos la población india de Jaipur en la cual se analizaron en 250 individuos la actividad enzimática de δ-ALAD con respecto a las características demográficas como: sexo, lugar donde habitan (urbano/rural), dieta y sustancias de abuso (fumadores/

no fumadores); de los cuales se obtuvo como resultado que los hombres, pobladores de la zona urbana, no vegetarianos y fumadores tenían mayores niveles de plomo en sangre. Esto en relación con la actividad de la δ-ALAD dio como resultado la disminución de la actividad enzimática a medida que aumenta los niveles de plomo en sangre. Mientras que en otro estudio similar al anterior se incluyeron análisis de biomarcadores de estrés oxidativo, los cuales fueron malondialdehído (MDA), glutatión (GSH) y Catalasa (CAT); estos se realizaron a 39 individuos de la población adolescente de la zona urbana en la India del cual se dividieron en 2 grupos: el grupo I con niveles de plomo en sangre <10ug/dL y el grupo II con niveles de plomo >10ug/dL. Se obtuvo como resultado que el grupo que contaba con niveles de plomo mayores a 10ug/dL (grupo II) presentaba una disminución de la actividad de la enzima δ-ALAD comparado con el grupo I demostrando correlación negativa significativa ($r= -0.592$, $P<0.001$), un aumento en el grupo II de la actividad de la CAT en comparación al grupo I y la mayor cantidad de concentración de MDA en el grupo II que en el grupo I, para ambos casos CAT y MDA se produjo correlación positiva [26,27].

En Europa, un estudio realizado por Čabarkapa et al. [9], en trabajadores serbios de hornos de fundición con concentraciones de plomo en sangre elevado, se realizó la determinación del estrés oxidativo mediante la evaluación del daño de las biomoléculas celulares. Para ello se analizó la actividad de superóxido dismutasa y catalasa los cuales mostraron una actividad elevada en el grupo de exposición a comparación del grupo control; en el caso de los biomarcadores de estrés oxidativo se analizó el malondialdehído en el cual se encontró un ligero aumento de su concentración en los trabajadores con niveles altos de plomo en sangre. Al asociar las enzimas impliacadas en el estrés oxidativo y al malondialdehído versus los índices de toxicidad en los trabajadores se obtuvo una correlación positiva.

En África, el estudio realizado por Ananian et al. [28], en trabajadores egipcios expuestos a humos de soldadura que realizaban jornadas de 12 horas de trabajo por 6 días a la semana, se determinó la relación del plomo y las concentraciones de Superóxido dismutasa en 2 grupos: control y expuestos, como resultado el

grupo control presentó la concentración promedio de 28,41 ug/dL y el grupo expuesto 81,62 ug/dL. La concentración de Superóxido dismutasa en la sangre fue menor en el grupo expuesto que en el grupo control, lo cual demuestra que hay significancia estadística entre el grupo control y el grupo expuesto.

En América, se han realizado estudios en Brasil, Venezuela y México, en los que se ha demostrado relación entre la inhibición de δ-ALAD y marcadores de Estrés oxidativo, por exposición ocupacional al plomo [29-33].

En Brasil, se determinó la actividad de la enzima δ-ALAD, la concentración de Glutatión (GSH) y la concentración de plomo en sangre en trabajadores de manufactura y reciclaje de baterías. Como resultado se mostró que el grupo control presentó en promedio una concentración de plomo en sangre de 1.88 ± 0.39 ug/dL y el grupo expuesto a plomo 61.9 ± 10.3 ug/dL, la actividad de la enzima δ-ALAD y el contenido de GSH en el grupo control fue mayor a comparación del grupo expuesto. Los resultados demostraron ser estadísticamente significativos $p<0.001$ [29].

Un estudio similar realizado en Brasil con un grupo de trabajadores pintores de autos y otro grupo de trabajadores dedicados a la manufactura de baterías obtuvo como resultado que el grupo con valores más altos de plomo en sangre fueron los dedicados a la manufactura de baterías con un promedio de 49.8 ug/dL además de la notable evidencia de la inhibición de la actividad de δ-ALAD en eritrocitos. Por otro lado los niveles de GSH en eritrocitos fue mayor en el grupo de pintores quienes no superan los 10 ug/dL de plomo en sangre a comparación de los trabajadores en manufactura de batería y del grupo control, en cuanto a los niveles de Malondialdehído en plasma medidos no representaron diferencia significativa [30].

En la Ciudad de México, un estudio realizado a trabajadores de imprentas con una antigüedad promedio de 15 años obtuvo una concentración promedio de plomo en sangre de 12.29 ug/dL. El grupo de trabajadores estudiados se dividió en 2 grupos, el grupo I estuvo conformado por los individuos que se encontraban

con mayor exposición al plomo involucrados en el proceso de linotipo mecánico, trabajadores de prensa offset debido a que usan gasolina con tetraetilo de plomo para realizar la limpieza de los rodillos de las máquinas; el grupo II estuvo representado por los demás trabajadores como el departamento de encuadernación y de tipografía por computadora, se consideró a este grupo como el menos expuesto al plomo. Como resultado se obtuvo que el grupo I presentó una media de plomo en sangre mayor al ser comparado con el grupo II. Se demostró que las diferencias eran estadísticamente significativas [31].

En Brasil otro estudio determinó la correlación de la concentración del ácido aminolevulinico (ALA) y los indicadores de estrés oxidativo en trabajadores de cerámica expuestos al plomo. Como resultado se obtuvo que el grupo control presentó una concentración de ALA en plasma y actividad de la Superóxido dismutasa menor en comparación con el grupo expuesto. Al realizar el análisis el autor concluye que existe correlación linear positiva entre ALA y plomo (r=0.992), ALA y SOD (r= 0.948) e indica que el ALA en plasma es útil para determinar la exposición al plomo [32].

En un estudio realizado en México para determinar la relación entre la exposición del plomo y la enzima δ-ALAD se obtuvo como resultado que el grupo control conformado por personas no expuestas laboralmente al plomo presentaba una actividad de δ-ALAD mayor al grupo expuesto laboralmente lo cual al realizarse la prueba de t de student se obtuvo como resultado que hay diferencia significativa [33].

En el Perú, existe escasa investigación sobre los efectos del plomo en población expuesta ocupacionalmente, la mayoría de los estudios se centran en determinar la exposición al plomo en sangre. Es así, que en un estudio en trabajadores de servicio de fotocopiado del campus de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos se cuantificaron las concentraciones de plomo en sangre obteniendo como promedio 0.056 ug/dL, lo cual indica que no superó los límites permisibles (20ug/dL) [34].

En el departamento de Ica, se investigó la exposición al plomo en trabajadores de diversas profesiones expuestos a plomo; trabajadores de imprenta, de mecánica automotriz y personas expendedoras de gasolina, reportaron como resultado niveles de plomo en sangre de 46.30ug/dL, 26.6 ug/dL y 27.9 ug/dL, respectivamente. Los autores concluyen que la contaminación ocupacional por plomo es causada por las malas prácticas laborales al no usar equipos de protección personal, los malos hábitos de higiene, además del turno prolongado lo que puede ser causante de la ingesta de alimentos y bebidas en el área de trabajo [35].

En Pasco, se realizó un estudio a 146 trabajadores de empresas mineras que desempeñan labores en la planta concentradora, en la extracción de minerales y en otras labores como oficinistas, carpinteros, etc. El tiempo de trabajo en la empresa minera tiene como media 17,8 ± 6,8 años. El resultado de plomo en sangre indica que más del 50% de la población que trabaja en la planta concentradora y en la extracción de minerales presenta valores mayores a 26 ug/dL de plomo en sangre, lo cual representa una intoxicación leve a moderada, mientras que aquellos que trabajan en otras áreas presentan concentraciones menores a 11ug/dL de plomo en sangre, los resultados son estadísticamente significativos. La relación que corresponde al tiempo de trabajo en la empresa minera indica que el 86,7% de los trabajadores que presentan grados de intoxicación trabajan más de 20 años, mientras que el 72,4% que trabaja entre 11 y 20 años está intoxicado y los trabajadores menores a 11 años presentan un porcentaje de 45,5% de intoxicación leve, estos resultados indican que hay diferencias en cuanto al tiempo de trabajo y son estadísticamente significativos [36].

En Ilo y Tacna, se analizó el plomo en sangre de 41 trabajadores que reciclan baterías mediante la metodología de Absorción atómica por Horno de grafito y la hemoglobina con el método de Microhematocrito. Se obtuvo como resultado que la media de concentración de plomo en sangre fue de 37,7 ± 15,7 ug/dL estos valores se encuentran superando los valores máximos permisibles para trabajadores (30 ug/dL según ACGIH). Además el valor medio de la hemoglobina

fue de 11,22 ± 1,1 g% considerado por debajo de lo normal en la población peruana [37].

Los estudios realizados en poblaciones del Perú expuestos al plomo y empleando biomarcadores de efecto como la actividad de la δ-ALAD y el estrés oxidativo son escasas, sin embargo en un estudio se relacionó el plomo con el estrés oxidativo en mujeres policías de tránsito de edades entre los 20 y 35 años, reportando como resultados que el promedio de concentración de plomo en sangre realizado por el método de Absorción Atómica fue de 4.2 ug/dL en el grupo de policías que trabajaban menos de 3 años en Tránsito y 6.5 ug/dL en el grupo que trabaja más de 3 años en Tránsito, a pesar de evidenciar diferencia estadísticamente significativa las concentraciones de plomo en sangre se encuentran dentro de los valores permisibles establecidos por la OMS. Los resultados de Malondialdehído (MDA), Glutatión y de SOD no demuestran notables diferencias entre los 2 grupos de policías en conclusión no existe relación significativa entre la concentración de plomo y los indicadores de estrés oxidativo pero hay una tendencia de daño oxidativo en policías con mayor tiempo de exposición. [38].

2.2 PLOMO

2.2.1 Propiedades fisicoquímicas

El plomo es un elemento que se encuentra de manera natural, está ubicado en el grupo 14 (IV A) de la tabla periódica, con un peso atómico de 207.2 es de color gris-azulado y habitualmente se encuentra combinado con dos o más elementos para formar compuestos de plomo [39].

2.2.2 Fuentes de exposición

- Industrial y ocupacional

El plomo se utiliza en la fabricación de baterías. Las industrias fundidoras de piezas de baterías que no cumplen con las normativas de control ambiental empeoran la situación ya que el reciclaje de piezas se efectúa en el propio domicilio, lo cual provoca la exposición al plomo a toda la familia y a las familias circundantes [40]. Rodríguez [41] menciona que las fuentes de emisión de plomo se deben a "la fundición primaria y secundaria de metales, loza vidriada, fabricación de pinturas, de latas soldadas con plomo e industria electrónica, uso de gasolina que contiene plomo, baterías e incineración de residuos".

- Ambiental

El plomo al emitirse en la incineración del combustible es otra gran fuente de exposición. Se prevé que un auto libera aproximadamente a la atmósfera 2,5 kilogramos de plomo en un año.

- Doméstica

Esta forma de exposición es debido a la ingesta de pintura, que se presenta mayormente en los niños, esta fue una causa principal de intoxicación que se presentó en los EE.UU. alrededor de los años 80, por lo que se prohibió la adición de plomo en la pintura.

Los alimentos ácidos, vegetales encurtidos en vinagre y los jugos de frutas servidos en recipientes de cerámica producen la liberación del plomo que se encuentra en los esmaltes de dichos recipientes.

Las cañerías antiguas están fabricadas con plomo por lo que contaminan el agua potable al corroerse [40].

2.2.3 Metabolismo del plomo

a) Toxicocinética

- **Absorción**

Vía respiratoria: es el medio principal de ingreso del plomo, la mitad del plomo que se deposita en los pulmones entra a la sangre luego de aproximadamente 50 horas. La cantidad de plomo absorbido por esa vía dependerá del tiempo de exposición, de la carga en el ambiente de trabajo, de los factores del individuo expuesto.

Vía oral: es la segunda vía de entrada del plomo al organismo. El 5 al 10% del plomo que se ingesta pasa a la circulación de la sangre y lo que no fue absorbido pasa a las heces.

Vía cutánea: La absorción del plomo inorgánico es menor comparada a la absorción del plomo orgánico.

Es de importancia saber que la población que no está expuesta al plomo de manera laboral se encuentra en contacto con el metal a través de la alimentación o del medio ambiente al que se encuentra expuesto [1].

- **Distribución**

El 95% de los glóbulos rojos en circulación se une al plomo, y su vida media en la sangre es de 35 días pero esto puede variar entre

individuos. Luego el plomo es transportado por la sangre a todo el cuerpo y se deposita en los tejidos blandos (tejido nervioso, hígado y riñones), otra estructura de almacenamiento utilizado por el plomo es el tejido óseo quien contiene entre el 80 – 90% del metal almacenado, siendo la vida media de 20 a 30 años. Sin embargo el plomo localizado en el tejido óseo es inestable y una parte puede volver a la circulación sanguínea.

Existe una diferencia entre el intercambio de plomo: los tejidos blandos y la sangre representan las unidades de intercambio activo y el esqueleto representa al intercambio lento [1,2].

- **Eliminación**

El plomo absorbido es eliminado principalmente a través de la orina por excreción renal mediante la filtración glomerular. Una parte pequeña se elimina por la bilis en las heces. La porción de plomo que se ingiere y no se absorbe es eliminada de la misma manera por las heces. Otras vías de eliminación del plomo son el sudor, la saliva, las faneras y la leche (Figura1).

Cuando se presenta casos de baja exposición al plomo el ingreso y la eliminación del metal son proporcionales; en cambio ante un incremento en la exposición al plomo, la eliminación no es equivalente al ingreso al organismo, por lo que se produce la acumulación y la intoxicación es más probable pudiendo variar según la edad y el estado de los órganos de gran importancia para su metabolismo y eliminación como el riñón y el hígado [1,2].

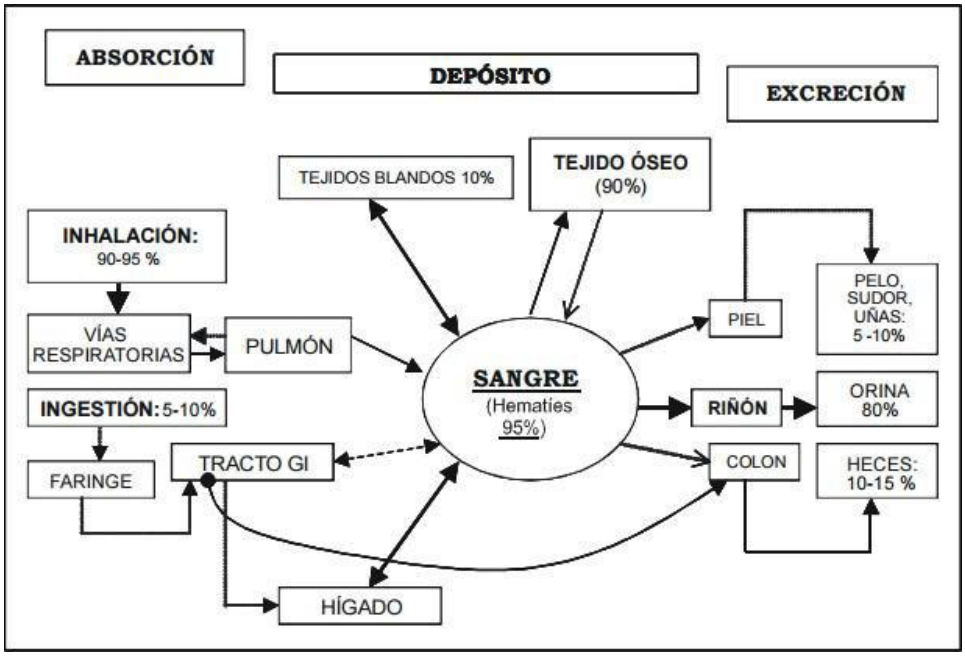


Figura 1. Modelo metabólico del plomo en el ser humano [2]

b) Toxicodinamia

El plomo interactúa con metales esenciales entre ellos con el Ca, Zn, Fe y Cu produciéndose una competencia y con ello modificando las concentraciones a nivel celular. Además altera la síntesis de diversas macromoléculas del organismo e inhibe la síntesis del grupo hemo y también de la hemoglobina al inhibir la enzima δ-ALAD, coprofibrinógeno-oxidasa y ferroquelatasa [3].

2.2.4 Efectos del plomo sobre la salud

La toxicidad aguda se produce luego de la exposición respiratoria a grandes concentraciones de plomo llevando a la insuficiencia renal, encefalopatía y síntomas gastrointestinales.

La toxicidad crónica es más frecuente y afecta al sistema hematopoyético, nervioso, gastrointestinal, renal y sistema reproductor.

a) Efectos sobre el Tejido Hematopoyético

La aparición de la anemia se debe a la exposición al plomo; como se había mencionado el plomo interfiere con varias enzimas importantes para la síntesis del grupo Hemo de la hemoglobina: ácido delta aminolevulínico dehidratasa (δ-ALAD), coproporfirinógeno oxidasa y ferroquelatasa. Para que se produzcan estos efectos la dosis de absorción es de gran importancia, siendo la enzima δ-ALAD la que se inhibe en primera instancia. Mientras que la actividad de la enzima ALA-sintasa se incrementará por el déficit de síntesis de Hemo, presentándose el mecanismo de *feed back* y de esta manera se producirá el aumento del ALA (Figura 2).

Las consecuencias debido a la inhibición de la δ-ALAD son:

- Aumento de las concentraciones de ALA en sangre y en orina.
- Aumento de la concentración de coproporfirinógeno III en los glóbulos rojos y de coproporfirina III en la orina.
- Aumento de la concentración de protoporfirina IX en los glóbulos rojos.
- Aumento de la concentración de hierro sérico [(1)].

La inhibición enzimática ocurre por la afinidad del plomo a los grupos sulfhidrilo de las metaloenzimas de zinc, por ello motiva su estructura y función; otro posible medio de afectación de plomo a nivel hematológico es debido a la competencia del plomo con otros metales del sitio activo de las enzimas, dando como resultado el aumento de las protoporfirinas, y con ello la aparición de anemia e incremento del punteado basófilo, lo cual disminuye la vida media de los eritrocitos [(42)].

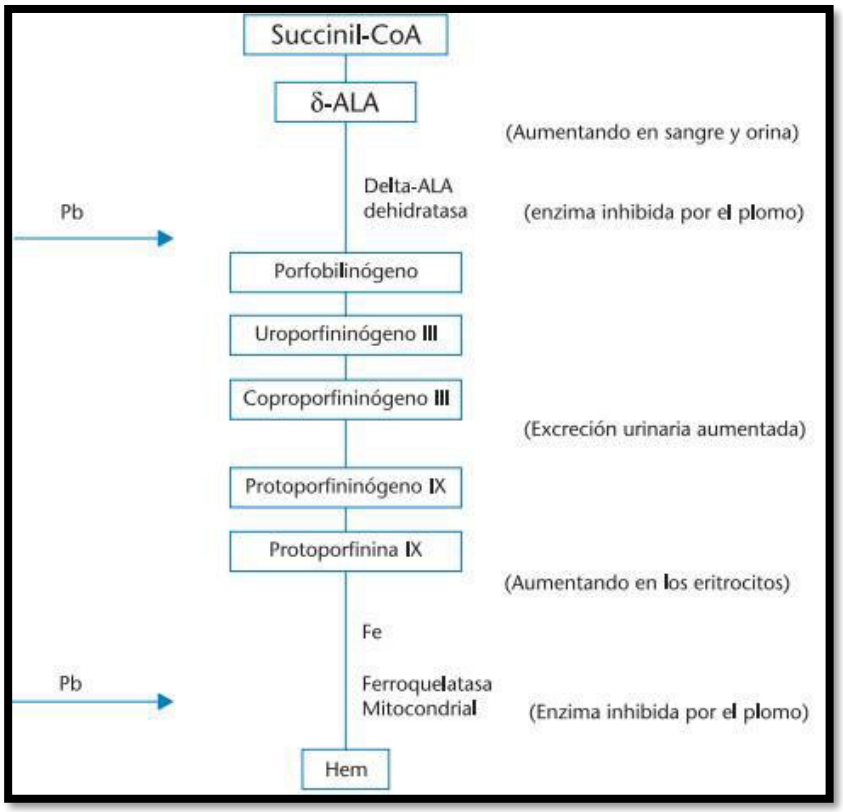


Figura 2. Efectos del plomo en la síntesis del Hemo [43]

b) Efectos del plomo a nivel renal

Se presenta como inclusiones intranucleares del complejo plomo-proteína en los túbulos renales, y la excreción elevada del plomo. Luego, tras mas años de exposición al plomo se presenta una tubulopatía en la cual las células tubulares han perdido la capacidad de elaborar inclusiones intranucleares, con ello los riñones excretan menos plomo y la función renal se altera. Posteriormente en estadios más avanzados se produce la fibrosis intersticial y la nefritis crónica [1,43].

c) Efectos del plomo en el sistema nervioso

El plomo interfiere con la liberación de la acetilcolina y con la función del calcio, frente a niveles de plomo en sangre inferiores a 60ug/dL se puede producir el retardo de la velocidad de conducción del impulso

nervioso. El efecto en el sistema nervioso central puede ser no obvio e incluso producir la reducción en el rendimiento a nivel global o interfiriendo en las funciones psíquicas complejas [1,43].

En los adultos se presenta la alteración del sistema nervioso periférico (30 ug/dL) con la disminución de la conducción nerviosa. Los efectos neurológicos y neuroconductuales para concentraciones entre 40 - 80 ug/dL, provocan cefaleas, depresión, debilidad y disminución del desempeño en pruebas de coordinación viso-motora. La encefalopatía generalmente se presenta en concentraciones de 100 – 120 ug/dL de plomo en sangre ocasionando la pérdida de memoria, problemas de atención, temblores musculares, ataxia, fatiga, convulsiones y coma [44].

d) Efecto del plomo en el sistema reproductor

Se ven afectados tanto el sistema reproductor masculino como el femenino; una mujer embarazada expuesta al plomo puede generar un nacimiento prematuro, un bajo peso al nacer o abortos. Se ha encontrado concentraciones de plomo en el cordón umbilical siendo entre un 5 y 10% menor a la plumbemia de la madre [3].

2.2.5 Niveles de exposición

Para que se presenten los síntomas de intoxicación al plomo el metal en sangre se presenta a concentraciones de entre 35 y 50 ug/dL en niños, mientras que en adultos es de 40 a 60 ug/dL (Figura 3). La intoxicación severa se presenta en concentraciones mayores a 70 ug/dL en niños y mayores a 100 ug/dL en adultos [44].

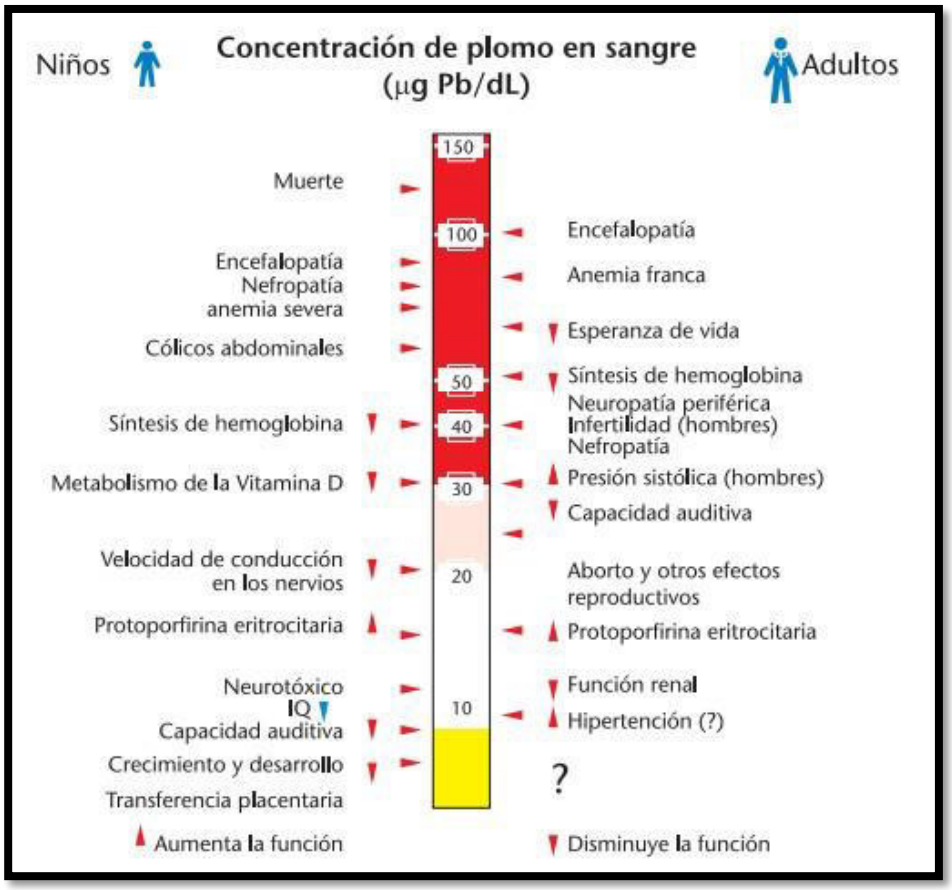


Figura 3. Plumbemia y manifestaciones clínicas [43]

2.2.6 Tratamiento de la contaminación por plomo

En primer lugar se debe alejar al individuo de la fuente de exposición y tratar con un quelante como EDTA cálcico si el paciente presenta plumbemia superior a 60 ug/dL. Si bien el EDTA es el quelante de elección existen otras alternativas como el Dimercaprol (BAL) y el ácido dimercaptosuccínico (DMSA) [43].

2.3 ESTRÉS OXIDATIVO Y EL SISTEMA ANTIOXIDANTE

2.3.1 Estrés Oxidativo

En los organismos existe un equilibrio entre la producción de radicales libres y los sistemas antioxidantes pero cuando este resulta alterado y los radicales libres y prooxidantes comienzan a proliferar sobre los

antioxidantes se produce modificaciones a nivel biomolecular en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos provocando la alteración en la actividad de enzimas, cosustratos , alteración de expresión de genes y muerte celular produciendo la perturbación a nivel funcional de los órganos lo que se interpreta como la aparición de enfermedades crónicas [45,46].

2.3.2 Sistema Antioxidante

El sistema antioxidante cumple la función de remover todas las especies reactivas y radicales libres que se producen en el organismo debido a los procesos patológicos o fisiológicos.

Debido a que al aumento de las especies reactivas y radicales libres pueden ocasionar la muerte celular, existe el balance entre el sistema oxidante y antioxidante el cual es de importancia para la regulación y adaptación de las células ante diversas situaciones.

Cuando ocurre la alteración del equilibrio de los sistemas anteriormente mencionados se conoce como estrés oxidativo, en el cual se produce la alteración de los lípidos, proteínas y ADN. Por consiguiente se produce EROs (Especie Reactiva de Oxígeno) del metabolismo celular normal o por la exposición a xenobióticos [16].

2.3.3 Componentes del Sistema Antioxidante

Se encuentra formado por 2 grupos: enzimáticos y no enzimáticos

a) Enzimático:

Conformado por SOD, CAT, GPx:

- La Superóxido Dismutasa (SOD) es una familia de enzimas que catalizan la dismutación de O_{2}^{-} (Figura 4), cuenta con 3 enzimas las cuales se encuentran solo en los mamíferos.

Se encuentra en el citoplasma y en el núcleo en el cual se encarga de proteger el material genético y las organelas del estrés oxidativo.

La enzima cumple con las funciones de activar la vía de señalización de las MAP Quinasas, de fragmentar el ADN apoptótico, la coagulación sanguínea, del envejecimiento celular, de dar respuesta celular a diversas drogas, etc [47].

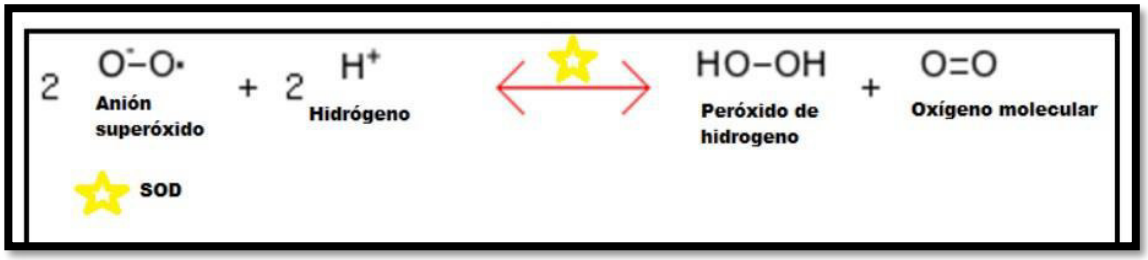


Figura 4. Reacción de la SOD para la dismutacion de O_{2}^{-} en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular [48]

- Catalasa (CAT): realiza el metabolismo de H_2O_2 a agua, se localiza en las mitocondrias y los peroxisomas. CAT contiene moléculas de NADPH y se caracteriza por su alta capacidad de reacción pero poca afinidad al sustrato. Tiene dos funciones, una catalítica y una peroxidativa (Figura 5 y 6)

Las especies reactivas de oxígeno como en radical superoxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo pueden dañar los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos; es así como las catalasas catalizan el proceso de dismutación del peróxido de hidrógeno resultando en agua y dioxígeno de esta manera no se forma el radical hidroxilo ni el oxígeno singulete los cuales son muy reactivos.

En el humano la enzima catalasa resguarda la hemoglobina del peróxido de hidrógeno que se forma en los glóbulos rojos; además

evita el envejecimiento y previene las mutaciones entre otras funcionas más [49].

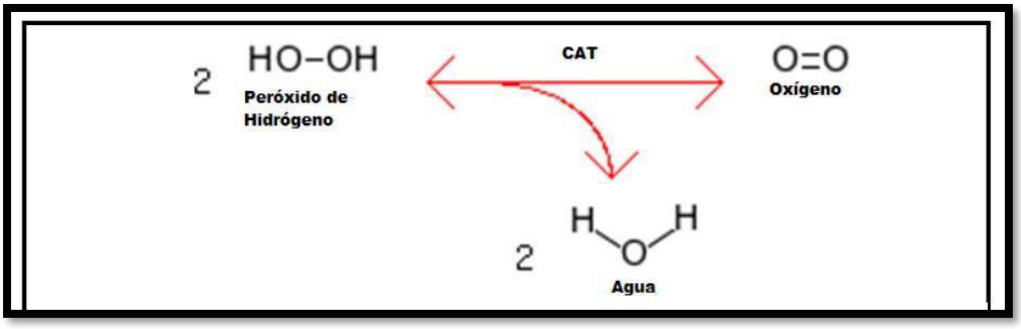


Figura 5. Reacción catalítica de la catalasa, en esta reacción se emplean dos moléculas de H_2O_2 para convertirlas en O_2 y agua [48]

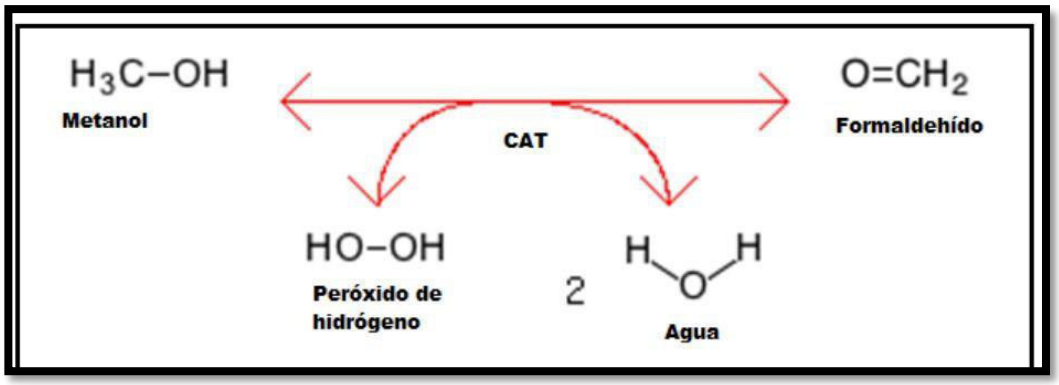


Figura 6. Reacción peroxidativa de la catalasa, en esta reacción utiliza como donadores de hidrógeno al metanol o formaldehido para producir dos moléculas de agua [48]

- Glutatión Peroxidasa (GPx): Es una enzima dependiente de selenio de la cual han sido caracterizadas cinco isoformas en humanos, cataliza la reducción de H_2O_2 y también la reducción de lipoperóxido (L-OOH), utilizando al glutatión (GSH) como agente reductor (Figura 7) [16].

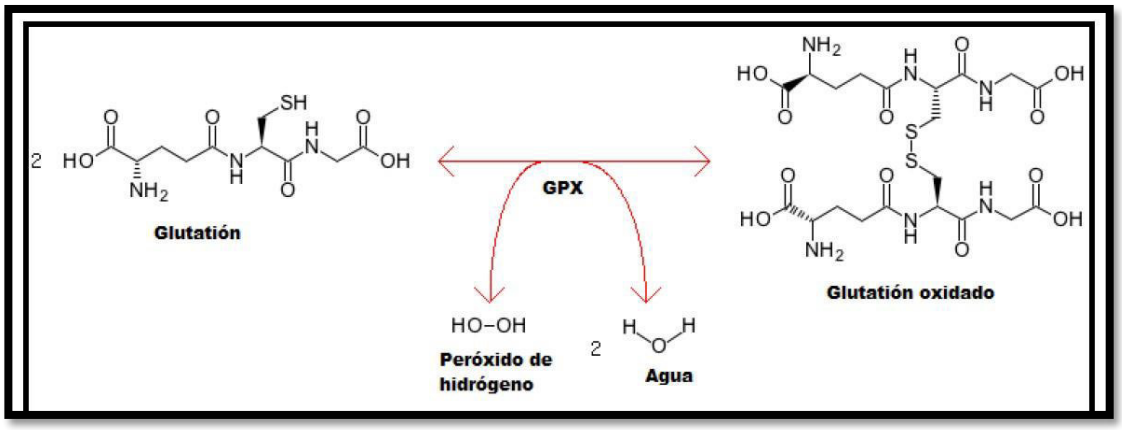


Figura 7. Reacción de la Glutatión Peroxidasa. Se observa que el Glutatión es utilizado como donador de electrones para convertir el peróxido de hidrógeno en dos moléculas de agua [48]

b) Sistema antioxidante no enzimático

Están comprendidos por componentes endógenos producidos por el propio metabolismo celular como el acido úrico, el glutatión reducido (GSH), los tioles de proteínas plasmáticas y los exógenos provenientes de los alimentos, se incluyen componentes de bajo peso molecular como vitaminas C, E y beta carotenos [50].

2.3.4 Estrés oxidativo y la peroxidación lipídica

Como se había mencionado anteriormente, el desequilibrio entre el sistema pro-oxidante y antioxidante genera el estrés oxidativo, ello conlleva a la alteración de estructuras celulares como lípidos, proteínas y ADN; promoviendo así el incremento de padecer enfermedades como diabetes, artritis reumatoide, cáncer además de acelerar el envejecimiento, etc.

La peroxidación lipídica consiste en la oxidación de los lípidos de las membranas celulares y de las lipoproteínas en forma de ácidos grasos poliinsaturados los cuales se convierten en radical de ácido graso y generan una reacción en cadena con las moléculas lipídicas

colindantes. Como resultado de la peroxidación lipídica se obtienen subproductos, entre ellos el Malondialdehído (MDA) el cual es un importante biomarcador de estrés oxidativo [51].

2.4 EFECTOS DEL PLOMO EN LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La patogénesis de la toxicidad del Pb es multifactorial:

- Interfiere en la activación de ciertas enzimas involucradas en el proceso de formación del grupo Hemo como la enzima δ-ALAD la cual se encarga de condensar dos moléculas de ALA para sintetizar el porfobilinógeno, cuando el plomo inhibe la actividad de la enzima el ALA se incrementa a nivel sanguíneo y a nivel urinario siendo oxidado y produciendo la formación de Especies reactivas de Oxígeno (EROS) [52] también el plomo interfiere con la función de la enzima ferroquelatasa, encargada de unir el hierro a una molécula de protoporfirina IX y así generar el grupo Hemo.

- Interacción de la hemoglobina y el plomo: Otro mecanismo por el cual el plomo induce el estrés oxidativo es por la interacción con la oxihemoglobina produciendo hemólisis en las membranas de los eritrocitos a través de la formación de radicales superóxido. La autooxidación de la hemoglobina producida por el plomo se inhibe por las enzimas antioxidantes, por lo tanto se sugiere que el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno están involucrados en el proceso [53].

- Altera la síntesis de proteínas estructurales, principalmente al unirse a los grupos sulfhidrilo de las enzimas y volviéndolas inactivas [53].

- Inhibe la absorción al competir con elementos trazas como el calcio, hierro, cobre y zinc modificando su concentración intracelular.

- Modifica el sistema de óxido-reducción celular, el cual es el más relacionado con la causa de las alteraciones en los organismos intoxicados con plomo [16].

- Efecto del plomo en la membrana celular: Además de lo mencionado anteriormente el plomo es capaz de producir la peroxidación lipídica en diversas células principalmente en los eritrocitos quienes son los más afines al plomo. El mecanismo de peroxidación lipídica se produce por el desequilibrio de óxido-reducción celular además de la modificación de la composición de los ácidos grasos en la membrana celular debido a la formación de radicales hidroxilos y así produciendo la alteración de las enzimas unidas a la membrana, la cuantificación de la oxidación de los ácidos grasos se realiza mediante la formación de Malondialdehído; además el plomo altera la actividad de la acetilcolinesterasa cerebral y monooxidasa con el incremento de GSH y calcio intracelular [16].

2.5 IMPRENTAS

2.5.1 Sistemas de impresión

Los sistemas de impresión han evolucionado a gran escala desde su invención por Gutemberg en el año 1456. En el siglo XX es donde surgen notables adelantos en las Artes Gráficas debido a la tecnología [54].

a) Técnicas de impresión

- Tipográficas: En este mecanismo de impresión, se imprime con planchas de diferentes materiales fundidos o en relieve, los cuales al estar entintados fijan a presión en el papel.

- Planográficas: Es la impresión indirecta, en el cual en vez de que la plancha matriz imprima sobre el papel lo realiza en un cilindro de

caucho el cual transmite la imagen en el papel. El Offset se encuentra en este tipo de impresión.

- Huecograbado: En la matriz impresora que se utiliza, la imagen queda hundida a comparación de los blancos.

El sistema offset es el más importante de los sistemas de impresión debido a que se emplean para la reproducción en serie (revistas y periódicos) y es la que actualmente se emplea en la mayoría de imprentas [55].

b) Sistema de impresión Offset

El mecanismo empleado es la impresión planográfica el cual no tiene zonas de relieve y consiste en la repulsión de la grasa y el agua.

En la forma planográfica las zonas que serán impresoras se marcan con una sustancia que rechaza el agua y otra plancha que aplica agua con un aditivo. Luego otro rodillo aplica la tinta la cual tiene composición grasa y se alberga en los lugares que no están mojadas lo que es el dibujo o imagen que se va a transferir posteriormente a una plancha de caucho el cual luego de ser entintado se presionará en el papel (Figura 8) [56].

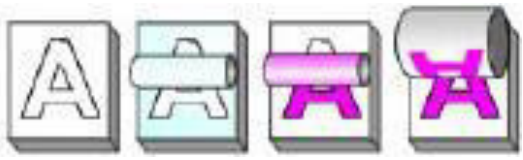


Figura 8. Pasos en la impresión planográfica u offset [55]

2.5.2 Composición de las tintas para impresión

La composición de las tintas depende del tipo de impresión. Todas ellas están constituidas por un líquido volátil: disolventes, resinas, etc y un sólido: pigmento.

- Pigmentos:

Son sustancias insolubles conformadas por un polvo fino y se encargan de dar color a la tinta. En su mayoría los pigmentos son de origen orgánico y es de importancia que no se resulten afectados por el contacto a los agentes químicos y físicos.

- Colorantes:

Son solubles en el vehículo de la tinta y se obtienen colores más transparentes. Son usados para la fabricación de tintas líquidas.

- Aceites:

Minerales: se obtienen de las fracciones más pesadas de la destilación del petróleo y por ello son nocivos para la salud porque pueden contener policíclicos aromáticos y benzopirenos. Su uso es principalmente en las tintas negras de periódicos debido a su bajo costo.

Vegetales: los más utilizados son los de linaza, soja, girasol entre otras. Estos aceites dan mayor calidad a las tintas y no son tóxicos. La desventaja es que tienen mayor costo.

- Resinas:

En conjunto con los aceites conforman el barniz de la tinta.

- Disolventes:

Son líquidos orgánicos los cuales tienen como función de disolver las resinas, de evaporarse de manera que no se sequen en el cilindro y lo haga en el soporte.

Como ejemplo de disolventes tenemos a los alcoholes, esteres, glicoles, etc. Además, puede darse el caso que utilice gasolina el cual puede contener benceno y plomo.

- Aditivos:

Son sustancias que se agregan en pequeñas cantidades, los cuales dan a la tinta distintas características que la vuelven adecuada para los tipos de impresión. Son las sustancias que el fabricante añade para ajustar las tintas en el sistema de impresión.

Secantes: los cuales aceleran la reacción y de polimerización. Son sales de cobalto, de plomo de manganeso

Antisecantes o retardadores de secado: suelen ser sprays y contienen polialcoholes.

Ceras o pomadas: otorgan el efecto deslizante en las superficies impresas para soportar las manipulaciones. Son de composición polietilenica

Antimaculantes: tienen como base al almidón que oxigena la superficie impresa para aumentar el fijado de la tinta.

Correctores de viscosidad y tiro: conformado por diluyentes que suavizan la viscosidad de la tinta, tienen en su composición aceites y espesantes [56].

a) Los tipos de tintas son:

- Tintas tipográficas y offset

Actualmente se usan las tintas que necesita calor para su secado, para ello el vehículo utilizado son las resinas fenólicas, alquílicas, etc, que se encuentran disueltas en hidrocarburos minerales en pequeñas cantidades.

- Tintas huecograbado

Están conformadas por un líquido volátil (el disolvente), el sólido disuelto (la resina), el sólido disperso (el pigmento) [55].

2.6 EXPOSICIÓN AL PLOMO EN TRABAJADORES DE IMPRENTAS

La industria de la imprenta de una forma u otra ha estado con nosotros durante siglos y es también una de las muchas que se asocia con la incidencia de envenenamiento por plomo en el trabajo. Como la inhalación es la raíz primaria de la concentración elevada de plomo en el cuerpo humano, la exposición al plomo transportado por el aire liberado por varias operaciones involucradas en las industrias de impresión puede extenderse de envenenamiento por plomo crónico a severo; si bien las tecnologías tanto del proceso de impresión como de las formulaciones de tinta han cambiado considerablemente las principales funciones de decoración e información. Las tintas de impresión offset se componen de un pigmento (uno de los cuales es negro de humo, que no es muy diferente del hollín, utilizado en 2500BC), un aglutinante (un aceite, resina o barniz de algún tipo), un solvente y varios aditivos como secado y agentes de quelado. La impresión es una fuente importante de emisión de la contaminación del aire en el medio ambiente de trabajo e induce efectos sobre la salud en los trabajadores especialmente los que están expuestos mucho tiempo a los contaminantes [17].

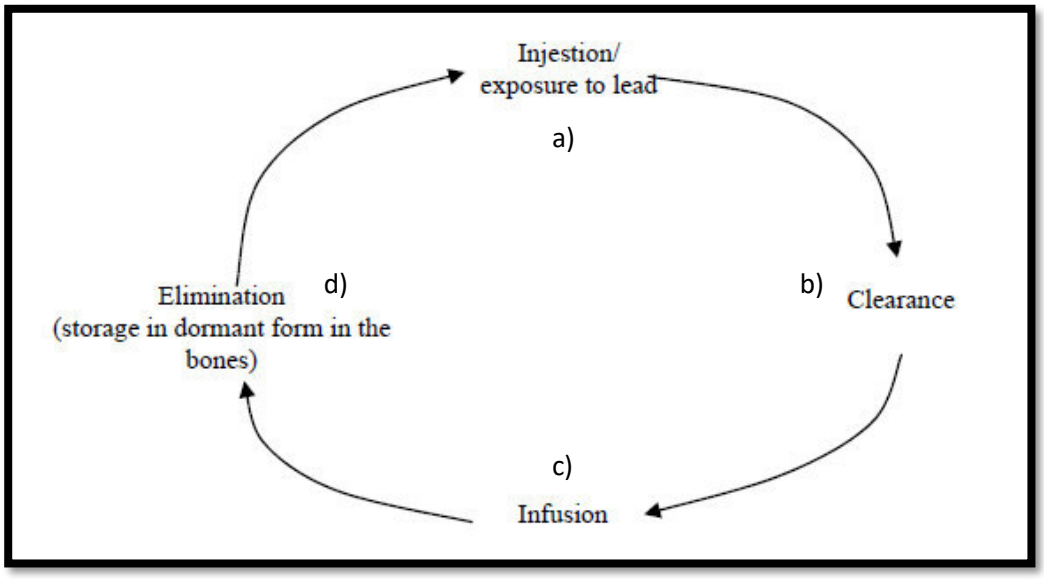


Figura 9. Consideración cíclica del proceso de exposición al plomo en los trabajadores de imprentas [57]

En la Figura 9 se explica que la exposición inicia con la (a) ingesta del plomo a través de los alimentos que el trabajador consume porque en la mayoría de los casos lo realiza en su ambiente de trabajo, sin una apropiada higiene de las manos. (b) En la etapa de clearance la sangre tiene un nivel casi uniforme porque la exposición ha terminado. (c) En esta etapa se produce la constante afluencia del plomo y finalmente (d) la eliminación del plomo se produce por vía urinaria principalmente o en el caso contrario se almacena en los huesos de forma latente [57].

2.7 IMPRENTAS EN EL CENTRO DE LIMA

En Lima Metropolitana existen aproximadamente 9,904 imprentas de ellas 3,097 se encuentran en el Centro de Lima según el INEI. Las imprentas del Centro Histórico de Lima se ubican en la Avenida Bolivia y en los Jirones Ica, Callao, Rufino Torrico, Caylloma, Camaná, Puno y Azángaro [58].

Las imprentas están dedicadas a actividades de impresión de afiches, trípticos, dípticos, volantes, gigantografías, colgantes, revistas, libros, tarjetas personales, gigantografías, etc.

En estas imprentas el procedimiento de elaboración de una impresión consta de 3 fases (Figura 10):

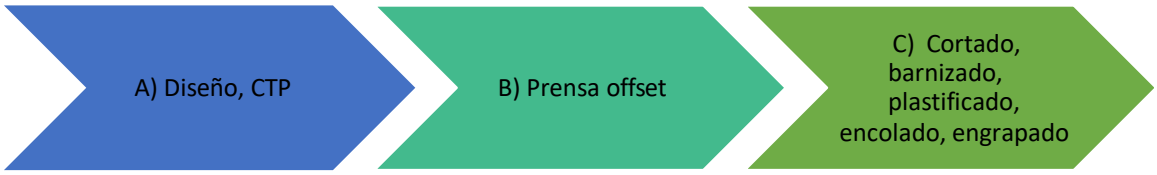


Figura 10. Proceso de impresión solicitado. Fuente: Elaboración propia

A) En primer lugar se realiza el diseño si el cliente lo solicita, luego el diseño se graba en placas mediante la máquina CTP (Computer to Plate)

las cuales serán llevadas a las máquinas Offset para proceder a la impresión.

B) En la impresión Offset se colocan 4 placas las cuales tendrán cada una un color a imprimir: magenta, amarillo, cian y negro. De estos colores se pueden generar casi todos los colores a excepción de los colores metálicos y fosforescentes. Es así como cada placa con un color determinado se superpone a la otra y forman la imagen deseada a color.

C) Este proceso implica el acabado de la impresión mediante la unión de piezas, el recorte con guillotina para determinar el tamaño de los volantes, el plastificado de la impresión con barnices, encuadernado, etc. Luego será entregado al cliente [59].

2.8 FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

2.8.1 Cuantificación de plomo en sangre por Absorción Atómica Horno de Grafito (Basado en la técnica del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo) [60]

La técnica de Espectrofotometria de Absorción Atómica por Horno de Grafito permite obtener la detección en partes por billón (ppb) y además no requiere de extracción previa como se emplea en otros métodos para su análisis [61].

El método de absorción atómica se basa en que los electrones de los átomos que se encuentran libres absorben la luz a una longitud de onda de 283.3 nm en el caso de plomo. La cantidad de luz que es absorbida se relaciona con la concentración del analito de la muestra. Es por ello que los electrones que absorban la energía entrarán en estado de excitación para ello la fuente que emita esa energía en forma de radiación es la lámpara de cátodo hueco o EDL (Electrodeless discharge lamp). La radiación emitida por la lámpara de cátodo hueco se conoce como intensidad y el detector es el que detecta la señal con

la que la intensidad de la energía llega interpretándolo a una escala de dígitos (Figura 11).

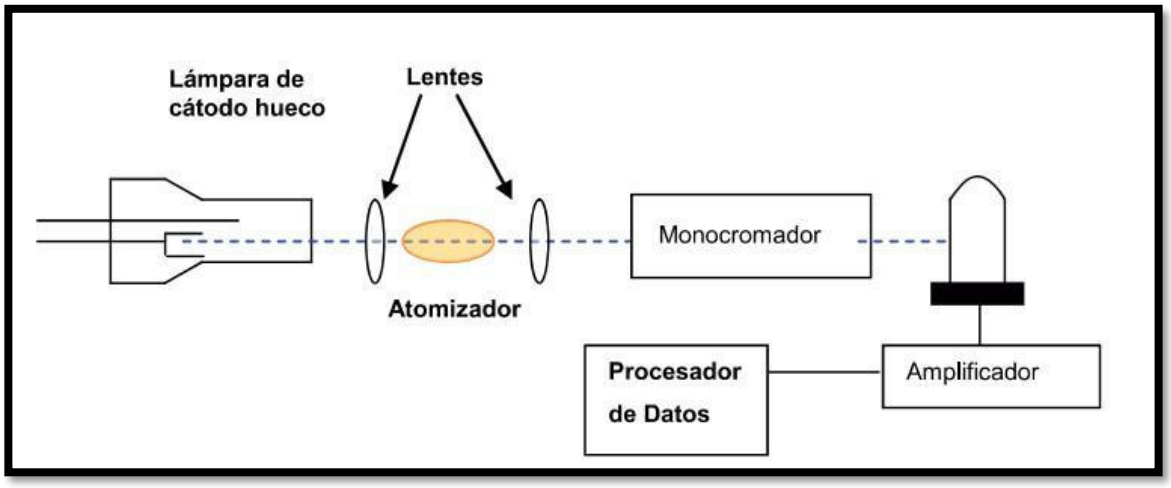


Figura 11. Componentes del equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica (61)

En el presente trabajo el método empleado es la espectrofotometría de absorción atómica por horno de grafito el cual utiliza un tubo de grafito que es calentado a través de una fuente de electricidad que se encarga de producir la vaporización y atomización del analito a temperaturas que pueden llegar hasta 3000 ºC, antes de llegar al detector [50]. Para la atomización es importante el uso de modificadores de matriz los cuales contienen H_3PO_4, HNO_3 y cumplen la función de proteger al analito y que éste no se deteriore durante las fases la deshidratación, carbonización y cenizas de la matriz [44].

A continuación, se explica a detalle el proceso de tratamiento de la muestra hasta la atomización:

- Secado: Apenas la muestra ha sido inyectada en el tubo de grafito, la temperatura aumenta y se calienta a un valor inferior al punto de ebullición del diluyente (usualmente entre 80 a 180 ºC). El fin es la evaporación del diluyente y de los componentes volátiles de la matriz.
- Calcinado: En esta etapa se produce el aumento de la temperatura, para eliminar la mayor cantidad de materia orgánica de la muestra, sin perder el analito. La temperatura en este paso puede variar entre 350 a

1600 ºC. Durante este proceso, el material sólido se descompone mientras que los materiales refractarios, como los óxidos, permanecen intactos.

- Atomización: Aquí el horno es calentado velozmente a altas temperaturas que se encuentran en el rango de 1800 a 2800 ºC para vaporizar los residuos que quedaron de la etapa de calcinado. Así quedan los átomos libres y se mide la absorbancia durante este paso. Se toma en cuenta que la temperatura de atomización depende de la volatilidad del elemento.
- Limpieza: En esta etapa se limpia el horno aplicando una temperatura que es mayor a la temperatura de atomización [61].

2.8.2 Determinación de la actividad de la δ-ALAD en eritrocitos

Consiste en la incubación de la enzima Acido delta aminolevulínico dehidratasa (δ-ALAD) con un exceso de ácido delta aminolevulínico (ALA). El porfobilinógeno (PBG) que se produce luego de un tiempo determinado, se mezcla con reactivo de Ehrlich y se mide el color formado frente a un blanco, en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 555 nm. La cantidad de PBG que se forma se mide como resultado de la actividad del δ-ALAD [62].

2.8.3 Cuantificación de hemoglobina

Consiste en la disolución de la sangre en una solución de ferrocianuro de potasio y cianuro de potasio llamado reactivo de Drabkin, el ferrocianuro potásico se encarga de oxidar las hemoglobinas a metahemoglobinas y el cianuro de potasio proporciona los iones cianuro para formar el complejo cianometahemoglobina, la absorbancia del compuesto cianometahemoglobina es directamente proporcional a

la hemoglobina y es medido en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm [62,63].

2.8.4 Determinación de Malondialdehído

El método utilizado consiste en la reacción del malondialdehído (MDA) con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). El MDA a un bajo pH y alta temperatura, reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) formando el aducto MDA-TBA cromógeno que es detectable por espectrofotometría [64,65].

2.8.5 Determinación de Tioles totales

Consiste en la reacción del disulfuro 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoico) conocido como DTNB o reactivo de Ellman, con el tiol el cual produce la liberación de tionitrobenzoato que es de color amarillo y se cuantifica a una absorbancia de 412nm [66].

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación es de tipo correlacional, descriptivo y transversal.

3.2 LUGAR Y PERIODO DE ESTUDIO

La toma de muestra se realizó en las imprentas del Cercado de Lima en el 2017. La parte experimental se realizó en el Centro de Control Analítico y en el laboratorio del grupo de Investigación de Bioquímica Toxicológica "BIOTOX" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.3 DISEÑO MUESTRAL

La muestra está conformada por 40 trabajadores de la imprentas del Cercado de Lima seleccionados por conveniencia.

Los criterios de inclusión y exclusión fueron los siguientes:

a) Criterios de Inclusión
   - Personas mayores de 18 años con consentimiento informado firmado.

b) Criterios de Exclusión
   - Personas que fuman 1 cigarro semanal.
   - Personas alcohólicas (que beban más de 2 veces por semana)
   - Personas con alguna enfermedad diagnosticada (genética, hepáticas y porfirias)
   - Embarazadas

3.4 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS Y MUESTRAS

Se recolectaron datos sobre temas de salud, trabajo y alimentación de los participantes mediante encuesta (Anexo 1).

Posteriormente se realizó la recolección de 5mL de muestras de sangre venosa en tubos heparinizados.

Para el análisis de Malondialdehido las muestras de sangre se centrifugaron a 1000 x g por 10 min. para obtener el plasma el cual será almacenado en alícuotas a -85°C hasta su uso.

Posteriormente las muestras sanguíneas se llevaron a analizar al laboratorio del GI.BIOTOX de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los trabajadores de imprenta participantes de la investigación fueron informados de manera verbal acerca de los alcances de la investigación y los que aceptaron participar firmaron el consentimiento informado voluntariamente según lo recomendado por la Declaración de Helsinki de 1975 (Anexo 2).

3.6 EQUIPOS Y MATERIALES

3.6.1 REACTIVOS

a) Cuantificación de plomo

- Estándar de plomo de 1000mg/L marca Merck
- Tritón X
- Solución Modificador de matriz $NH_4H_2PO_4$ Fosfato de amonio Perkin Elmer
- Acido Nítrico p.a.
- Agua ultrapura
- Gas argón 99.9%

b) Determinación de la actividad de la δ-ALAD en eritrocitos

- Na_2HPO_4 2 H_20: Di-sodio hidrógeno fosfato dihidratado marca Merck
- NaH_2PO_4 1 H_2O: Di-hidrógeno fosfato de sodio monohidratado marca Merck

- Clorhidrato de ácido delta aminolevulínico (ALA-HCl) Marca: Cayman Chemical.
- Cloruro de mercurio II p.a
- TCA: Acido tricloroacético
- Reactivo de Ehrlich: pDMAB, ácido perclórico, ácido acético glacial y $HgCl^2$.
- Kit para determinación de Hemoglobina marca Wiener Lab.

c) Determinación de Malondialdehído

- TCA: Acido Tricloroacético
- HCl: ácido clorhídrico p.a Marca: JT Baker
- BHT: Butil hidroxitolueno

d) Determinación de Tioles totales

- Solución amortiguadora: Buffer Tris-EDTA
- DTNB: 5,5'-Ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico)
- Metanol p.a
- Estándar de Tioles

3.6.2 EQUIPOS

a) Cuantificación de plomo en sangre

- Espectrofotómetro de Absorción atómica Marca Thermo Scientific modelo iCE 3500
- Lámpara de cátodo hueco de plomo
- Horno de grafito Marca Thermo Scientific
- Autosampler Marca Thermo Scientific
- Plancha de calentamiento
- Micropipetas de 100uL y 1000uL

b) Determinación de la actividad enzimática

- Espectrofotómetro UV-Visible Marca: Thermo
- Centrífuga
- Baño termostático
- Micropipetas de 200uL, 1000uL, 5000uL

3.7 METODOLOGÍA

3.7.1 Cuantificación de plomo en sangre por Absorción Atómica Horno de Grafito (Basado en la técnica del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo) [60].

3.7.1.1 Preparación de reactivos, muestras y estándares

a) Preparación de la muestra

- Agregar 900uL de la solución diluyente: (Tritón X-100 y solución modificador de matriz) y 100uL de la muestra de sangre en un cubilete de poliestireno, homogenizar.
- Colocar la muestra en el automuestreador

b) Preparación del estándar 10ppm

- Tomar 1 mL del estándar de 1000ppm de plomo, llevar a una fiola de 100mL con agua ultrapura y homogenizar.

c) Preparación del estándar 10ppb

- Tomar 100uL del estándar de 10ppm, llevar a una fiola de 100mL con agua ultrapura y homogenizar.

Cuantificación de plomo

Preparar las muestras y ubicarlas en los cubiletes del automuestreador de la siguiente manera:

- R1: 900uL de solución diluyente + 100uL de estándar de plomo de 10ppb
- R2: 900uL de solución diluyente (Diluyente)
- R3: 900uL de solución diluyente (Blanco)

3.7.1.2 Condiciones instrumentales

Longitud de onda	**283.3 nm**
Corriente (mA)	10
Lectura	Área de pico
Modo	AA-Background
Unidades	ug/dL
Gas carrier	Argón
Volumen de inyeccion	20uL

3.7.2 Determinación de la actividad de la δ-ALAD en eritrocitos. (Basado en la técnica del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo) [62]

	Blanco (mL)	MP (mL)
Muestra de sangre	0.2	0.2
H_2O a 37ºC x 10min	1.3	1.3
TCA-$HgCl_2$	1	-
ALA a 37ºC x 10min	1	1
Mezclar e Incubar las muestras durante 60' a 37ºc ±0.2ºC en baño maría		
TCA-$HgCl_2$	-	1
Centrifugar a 3000 rpm x 10min mínimo y filtrar		
Tomar Sobrenadante	1	1
Reactivo Ehrlich	1	1
Agitar y dejar reaccionar por 5 min		
Medir la absorbancia a 555nm frente a blanco. El tiempo de medida no debe pasar los 10min de haber agregado el reactivo de Ehrlich.		

Cálculos

La actividad enzimática expresada en: PBG nmol/h/ mg Hemoglobina = U/L

3.7.3 Cuantificación de hemoglobina

Para la cuantificación de hemoglobina se utilizó el kit de la empresa Wiener Lab.

	Blanco (mL)	Muestra (mL)	Patrón (mL)
Rvo Drabkin	5	5	5
Sangre total	-	0.2	-
Patrón	-	-	0.2
Agitar, esperar 5 minutos y leer a absorbancia de 540nm llevando a cero con el blanco de reactivo.			

Cálculos:

Factor= concentración del patrón/ absorbancia del patrón

Hemoglobina (g/dL)= Factor x Abs de muestra

3.7.4 Determinación de Malondialdehído [64,65]

Procedimiento:

	Tubo 1
Plasma	0.2 ml
BHT 0.2%	0.2 ml
NaOH 10N	0.025 mL
BM A 35°C x 30´	
TBA/TCA/HCL	2 ml
Dejar la mezcla en ebullición por 30 min a 95 °. Luego enfriar con agua de caño. La muestra se leerá a 535nm.	

Interpretación de resultados:

El TBA-MDA aducto se calculará por usar un coeficiente de absorción molar de $1.56x10^5M^{-1}/cm$

Determinación de Tioles totales

El método presentado a continuación se basa en la propuesta de Sedlak [67].

	Tubo
Sangre heparinizada	50uL
Agua bidestilada helada	450 uL
Mezclar	
Acido metafosfórico	750 uL
Centrifugar a 4500 rpm x 10 minutos	
Sobrenadante	200 uL
Solución amortiguadora (buffer Tris 0,2M)	150 uL
DTNB	25 uL
Metanol	800 uL
Centrifugar la mezcla a 3000rpm x 5 min y realizar la lectura del sobrenadante a una longitud de onda de 412nm	

Expresión de los resultados:

Para los cálculos, se tomó el valor de la diferencia de absorbancia de la muestra con el blanco y se extrapoló con la curva de calibración preparada.

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante pruebas no paramétricas debido a que no presentaban las características de homogeneidad. Para determinar si existen diferencias significativas se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney. El nivel de significancia establecido fue de $p<0.05$ y el coeficiente de correlación fue hallado mediante la prueba de Pearson. Los análisis fueron realizados a través del programa estadístico SPSS.

IV. RESULTADOS

En la presente investigación participaron voluntariamente un total de 40 trabajadores de imprenta del Cercado de Lima. Los niveles de plomo en sangre según ocupación laboral y el análisis estadístico de esta relación, se presentan en las *Tablas 1y 2*.

Tabla 1. Niveles de plomo en sangre de los trabajadores de imprenta del Cercado de Lima por ocupación.

Ocupación	N	Plomo en sangre (ug/dL)	Grupos
		Media ± DS	
Seguridad	2	1.77 ± 0.32	CONTROL (60%)
Ventas	18	2.27 ± 0.75	
Jalador	4	1.97 ± 0.21	
Operador	16	10.44 ± 3.34	EXPUESTO (40%)
Total	**40**		

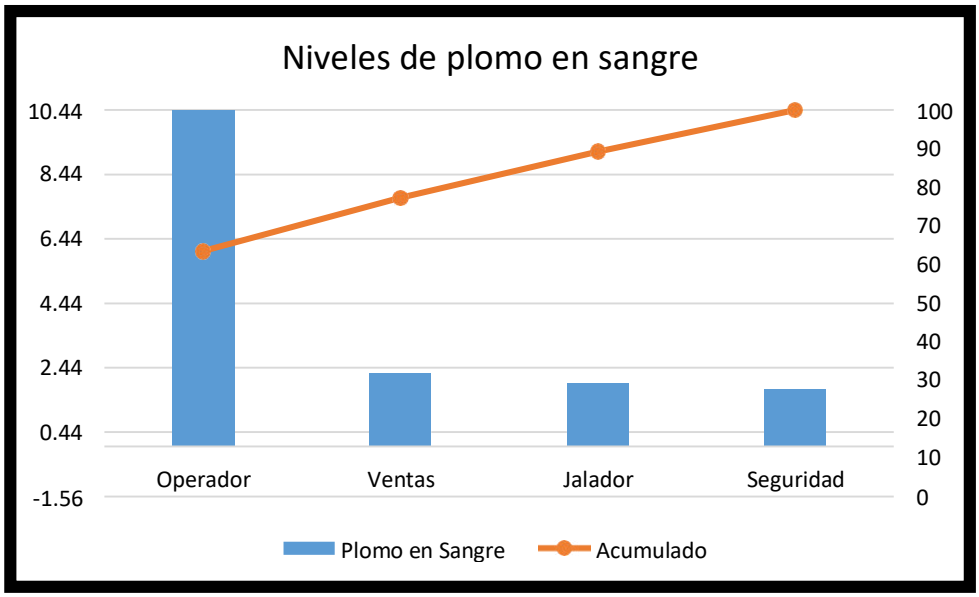


Figura 12. Gráfica de Pareto de los niveles de plomo en sangre según ocupación.

Tabla 2. Correlación de los niveles de Pb en sangre entre grupo expuesto y control

			Pb	Ocupación
Rho de Spearman	**Pb**	Coeficiente de correlación	1,000	-0,643**
		Sig. (bilateral) (p)*	.	0,000
		N	40	40
	Ocupación	Coeficiente de correlación	-0,643**	1,000
		Sig. (bilateral) (p)*	0,000	.
		N	40	40

*Nota: * El valor p se calculó a partir de la prueba de Spearman.*

**. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Del total de participantes, se realizó una división en dos grupos en función a la labor que desempeñan dentro de la imprenta: el grupo control conformado por los jaladores, vendedores y seguridad (60%); y el grupo expuesto conformado por los operadores (de máquinas de imprenta) (40%). Los niveles de Pb en sangre de los operadores son significativamente más elevados en comparación al resto de los grupos (Tabla 2 y Figura 12), debido a que este grupo se encuentra directamente en contacto con el Pb.

El número de participantes según género, la media de edad y años de trabajo en la imprenta tanto en el grupo control y expuesto se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Datos de género, edad y años de trabajando en imprenta del grupo control y expuesto.

	Género	Edad	Años de trabajo
Control	F: 13 M: 11	36 ± 10.4	4.5 ± 4.01
Expuesto	F: 4 M:12	38 ± 11.5	6.5 ± 4.98

F=Femenino, M=Masculino

Como indicador de toxicidad al plomo, se evaluó la actividad de la enzima δ-ALAD y como marcadores de estrés oxidativo los niveles de TBARS (que indican peroxidación lipídica) y tioles totales, los resultados se presentan en la *Tabla 4*.

Tabla 4. Concentración de plomo en sangre, actividad de δ-ALAD, concentración de MDA como TBARS Y Tioles totales en el grupo Control y grupo expuesto (media ± DS) y su comparación con la prueba U de Mann-Whitney

Parámetros	CONTROLES N=24	EXPUESTO N=16	U de Mann-Whitney
Plomo en sangre (ug/dL)	2,18 ± 0,68	10,44 ± 3,34	<0,05***
δ-ALAD (UI)	51,37 ± 8,88	31,35 ± 5,77	<0,05***
TBARS (umol/L)	6,54 ± 0,75	11,15 ± 2,76	<0,05***
Tioles totales (mmol/L)	39,25 ± 8,83*	58,36 ± 5,47**	<0,05***

* N= 23; ** N=14, ***p<0,05 indica significancia estadística.

Los parámetros medidos (media ± DS) y su comparación con la prueba U de Mann-Whitney entre el grupo control y expuesto, demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos. Siendo la actividad de la enzima δ-ALAD significativamente menor en el grupo expuesto, indicando inhibición de su actividad por exposición al Pb. Los niveles de TBARS y tioles totales presentaron un nivel significativamente mayor en el grupo expuesto, indicando estrés oxidativo.

En la *tabla 5* y anexo 4 se muestra la fuerza de la relación entre los niveles de plomo en sangre y los biomarcadores de toxicidad por plomo.

Tabla 5. Correlación entre los parámetros analizados en el grupo Control y grupo expuesto.

Parámetros	**Nivel de Plomo en sangre**	
	CONTROLES	EXPUESTO
δ-ALAD	0,075**	-0,508*
TBARS	0,316**	0,681*
Tioles Totales	-0,095**	0,972*

* p<0,05 indica significancia estadística. ** No significativo

En el grupo de los expuestos se evidenció una correlación negativa entre el nivel de plomo en sangre y la actividad de la enzima δ-ALAD (r= -0,508) mientras que en los controles el coeficiente de correlación no fue estadísticamente significativo (p>0.05); en contraste se obtuvo una fuerte correlación positiva estadísticamente significativa en el grupo expuesto entre los niveles de plomo en sangre con los niveles de TBARS (r= 0,681) y con los niveles de Tioles totales (r=0,972); sin embargo el grupo de controles no presentó una correlación estadística significativa. Todos los resultados presentan significancia estadística con un p<0,05 en el grupo expuesto para la prueba de coeficiente de correlación de Person.

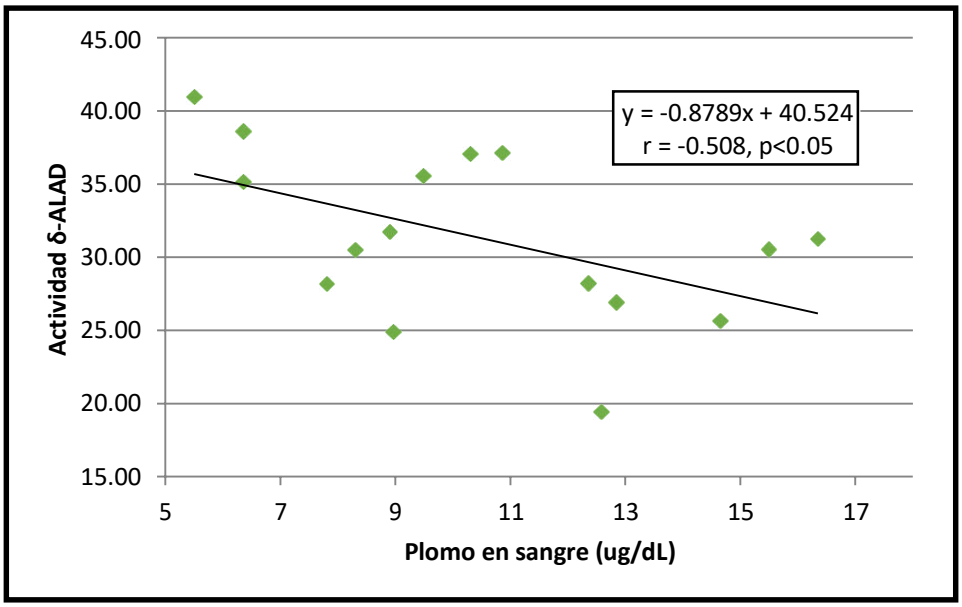


Figura 13. Regresión lineal entre los niveles de plomo en la sangre y la actividad de δ-ALAD en el grupo expuesto.

Se muestra una correlación negativa moderada, estadísticamente significativa entre los niveles de plomo en la sangre y la actividad de δ-ALAD en el grupo expuesto.

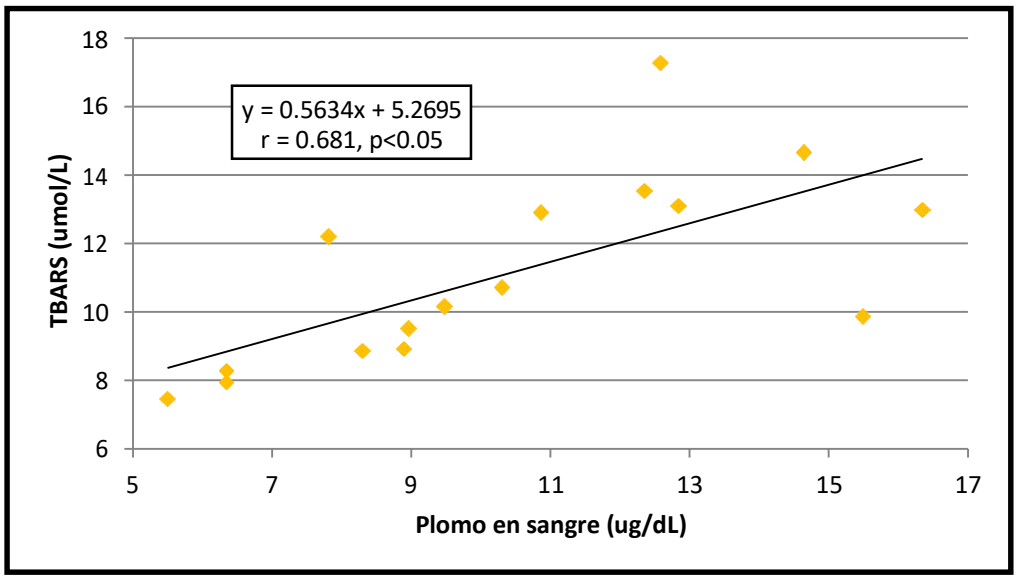


Figura 14. Regresión lineal entre los niveles de plomo en la sangre y TBARS en el grupo expuesto.

Se muestra una correlación positiva moderada, estadísticamente significativa entre los niveles de plomo en la sangre y TBARS en el grupo expuesto.

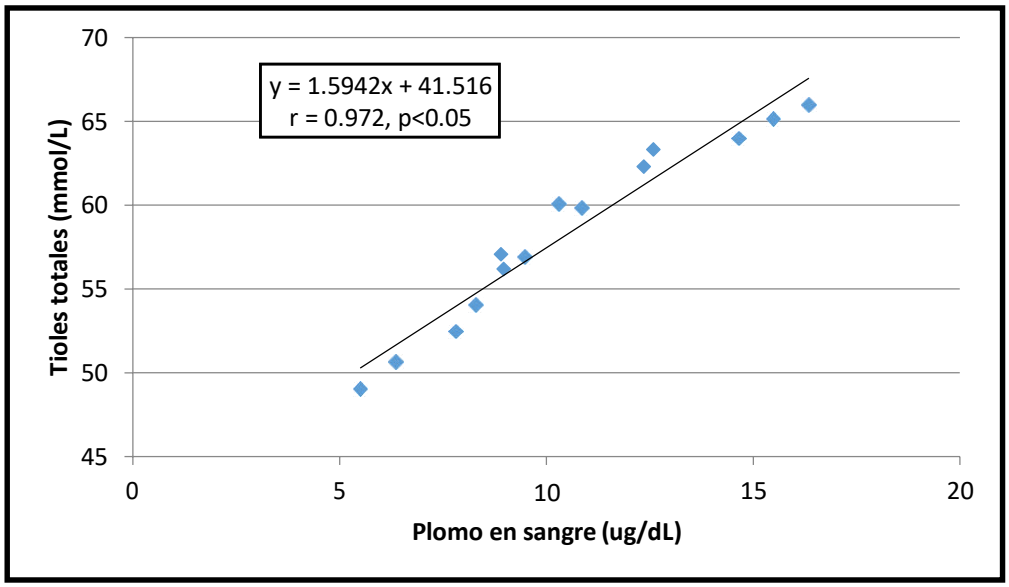


Figura 15. Regresión lineal entre los niveles de plomo en la sangre y Tioles totales en el grupo expuesto.

Se muestra una correlación positiva muy alta, estadísticamente significativa entre los niveles de plomo en la sangre y Tioles totales en el grupo expuesto.

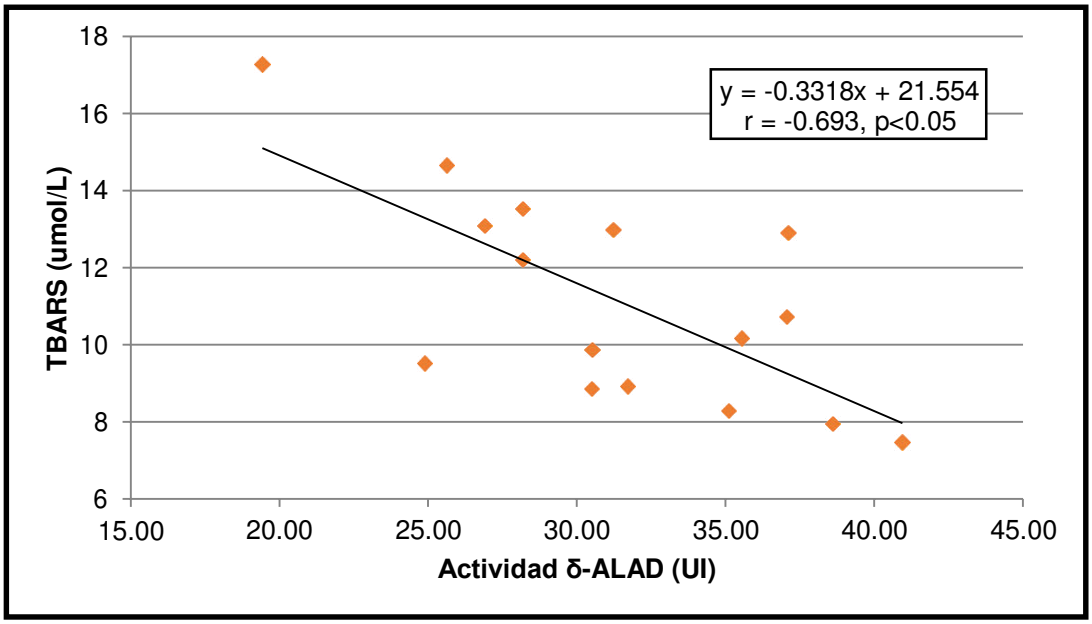
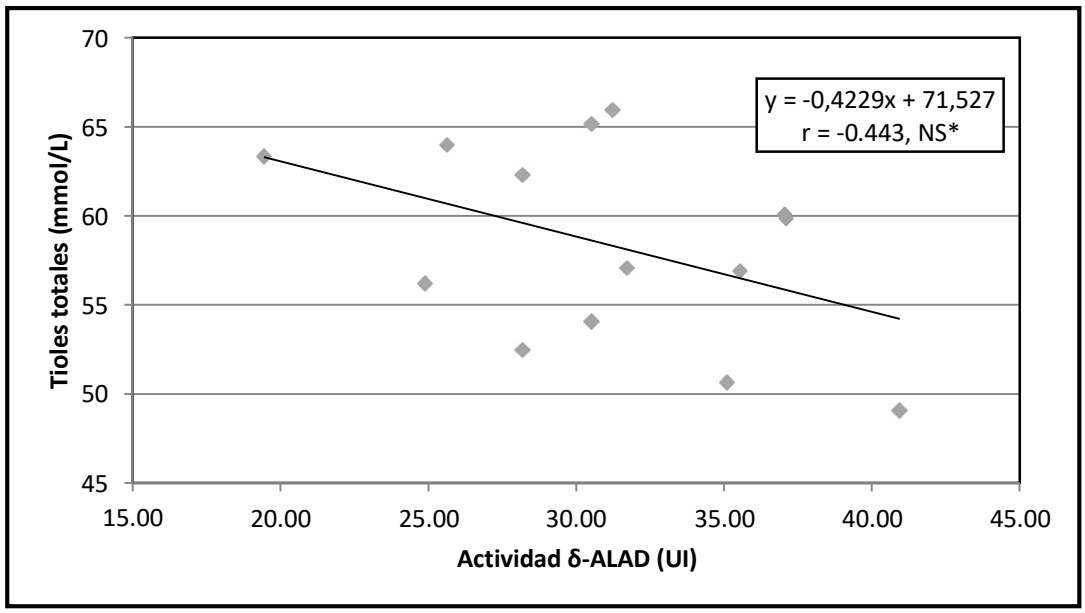


Figura 16. Regresión lineal entre la actividad de δ-ALAD y TBARS en el grupo expuesto.

Se muestra una correlación negativa moderada, estadísticamente significativa entre la actividad de δ-ALAD y los niveles de TBARS en el grupo expuesto.



*NS= No significativo

Figura 17. Regresión lineal entre la actividad de δ-ALAD y los Tioles totales en el grupo expuesto.

La correlación no es estadísticamente significativa entre la actividad de δ-ALAD y los niveles de Tioles totales en el grupo expuesto.

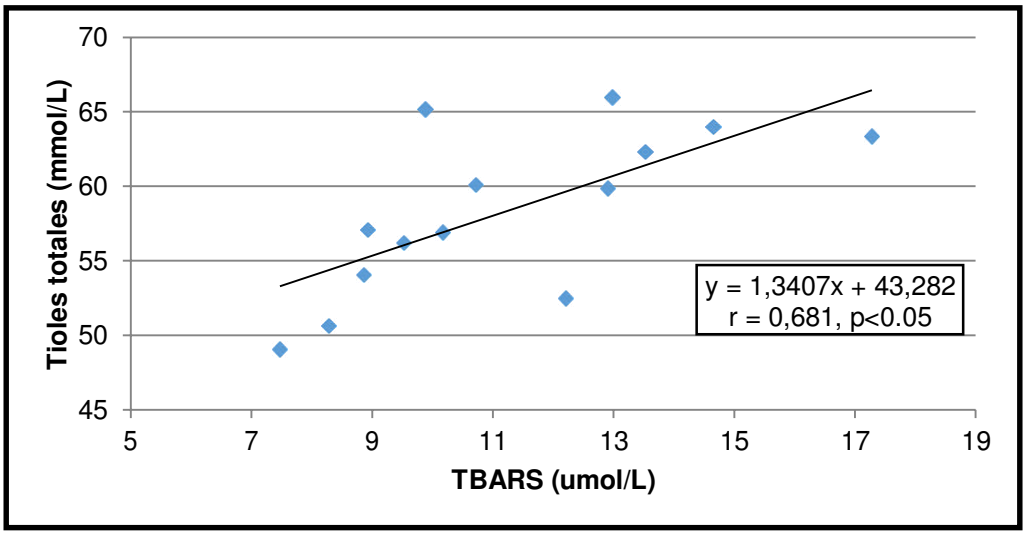


Figura 18. Regresión lineal entre los niveles de TBARS y Tioles totales en el grupo expuesto.

Se muestra una correlación positiva moderada, estadísticamente significativa entre los niveles de TBARS y tioles totales en el grupo expuesto.

V. DISCUSIÓN

En varias ciudades de Lima existe un sector de trabajadores que labora en actividades de imprenta, esta actividad no la realizan con las medidas de protección de higiene y seguridad ocupacional. Como ya es conocida la exposición ocupacional al plomo sin protección adecuada determina que se produzca la toxicidad por plomo, y de ahí su importancia en salud pública [35].

Con el propósito de determinar si existe relación entre los niveles de plomo en sangre con la actividad ALA-D y el estrés oxidativo en trabajadores de la imprenta del Cercado de Lima, Lima se realizó esta investigación.

En el presente estudio, participaron voluntariamente 40 trabajadores de imprentas del Cercado de Lima, quienes firmaron el consentimiento informado. Estas imprentas se dedican a las impresiones de tipo offset. De los 40 participantes, el 60% pertenece al grupo control con una edad promedio de 36 ± 10.4 y 4.5 ± 4.01 años trabajando en el rubro de la imprenta. El 40% restante corresponde al grupo expuesto con una edad promedio de 38 ± 11.5 y 6.5 ± 4.98 años trabajando en la imprenta.

Los niveles de Pb en sangre no superaron los límites máximos permisibles (40ug/dL), considerados para la exposición ocupacional según la OMS. Sin embargo, la relación que existe entre la ocupación de los trabajadores de la imprenta con los niveles de plomo en sangre se observa que es estadísticamente significativo (0.001), siendo los operadores de los equipos de imprenta (prensa offset) los que tienen mayores niveles de plomo en sangre (*Tabla 1 y 2*) en comparación con las otras ocupaciones que no tiene contacto directo con estos equipos.

La exposición al plomo depende de varios factores a considerar, el plomo puede ser inhalado y absorbido a través del sistema respiratorio ó ingerido y absorbido por el tracto gastrointestinal; la absorción percutánea del plomo inorgánico es mínima. Después de la ingestión de plomo, éste se absorbe activamente, dependiendo de la forma, tamaño, tránsito gastrointestinal, estado nutricional y la edad; hay mayor absorción de plomo si la partícula es pequeña, si hay deficiencia

de hierro y/ o calcio, si hay gran ingesta de grasa ó inadecuada ingesta de calorías [35].

La media de plomo en sangre de los operadores de la imprenta en el presente estudio fue de 10.44 ± 3.34 ug/dl. Resultados similares en trabajadores de imprenta han sido obtenidos en la India (8.3 y 14.7 ug / dl) y México (12.29 ± 5.20 ug /dl) [68, 31].

Estos niveles bajos de plomo en sangre se pueden deber al tipo de exposición, ya que es una exposición crónica (6.5 ± 4.98 años trabajando en la imprenta), tomando en cuenta los estudios realizados por Aguilar et al. [31] en el que encuentra valores por debajo del límite máximo permisible de plomo en sangre y valores que superan el LMP de plomo en hueso, nos indica que al ser una exposición crónica el plomo se está acumulando en el hueso.

Esto se debe a que, entre todos los compartimentos, el esqueleto es quien contiene la gran mayoría del plomo almacenado en el organismo (80-90%). La vida media del plomo en el hueso es de 20 a 30 años; de esto cierta parte del plomo se encuentra en forma inestable depositado a nivel óseo (tejido óseo trabecular) y por tanto fácilmente movilizable en determinadas condiciones, ya sea por acidosis o decalcificación. El resto queda almacenado en el tejido óseo compacto y a medida que continúa la exposición va aumentar progresivamente [1,2].

Algunos autores han sugerido que la intoxicación por plomo se caracteriza por concentraciones altas de plomo en sangre, y baja actividad de la enzima δ-ALAD. Por ese motivo, han recomendado el uso de la inhibición de δ-ALAD como indicador de intoxicación por plomo [27, 69-71]. En nuestro estudio en la *tabla 4*, a través de la prueba U- Mann-Whitney los resultados obtenidos mostraron una diferencia significativa ($p<0.05$) entre la actividad de la enzima δ-ALAD en comparación de medias de ambos grupos: el grupo control y el grupo expuesto.

En la *Figura 13 y tabla 5* se observa que mientras mayor sea el nivel de plomo menor será el valor de la actividad de la enzima δ-ALAD, esto resulta evidente a partir del valor del coeficiente de correlación $r = -0.508$ indicándonos una correlación negativa moderada estadísticamente significativa ($p <0.05$), al igual

que Jasim et al. [69] quienes informaron una asociación inversa entre el plomo en sangre y la actividad δ-ALAD cuando analizaron la relación que hay entre el plomo y la actividad de la enzima δ-ALAD en trabajadores que fabrican baterías en Baghdad (r= -0.3868, p= 0.0087).

Esta inhibición de la actividad de la enzima δ-ALAD ocurre cuando el plomo se une a los grupos sulfhidrilos de las metaloenzimas de zinc, por ello se modifica su estructura y función; otro posible medio de afectación de plomo a nivel hematológico es debido a la competencia del plomo con otros metales del sitio activo de las enzimas. [12, 14,15]

La inhibición de la enzima δ-ALAD evita que la ácido delta-aminolevulínico (ALA) pase a ser convertido a porfobilinógeno, inhibiendo la incorporación de hierro en el anillo de protoporfirina, generando de esta manera el deterioro de la síntesis del grupo hemo para la formación de la hemoglobina y aumento los niveles del sustrato de ALA, los niveles elevados de ALA, que se encuentran en la sangre de sujetos expuestos, se sabe que estimulan las reacciones de estrés oxidativo, lo cual se corroboró en la relación entre lipoperoxidación, tioles totales y plomo en sangre [27].

Estudios realizados en la última década evidencian que el estrés oxidativo tiene un rol importante en la toxicidad causada por la exposición al plomo [18]. Por este motivo se cuantificó los niveles de TBARS como indicador de estrés oxidativo. En la *tabla 4* se observa que los trabajadores de imprenta expuestos presentan niveles de TBARS mayores estadísticamente significativo ($p<0.05$) que el grupo Control.

En la *Figura 14 y tabla 5* se observa que mientras mayor sea el nivel de plomo mayor será el valor de los niveles de TBARS, esto resulta evidente a partir del valor del coeficiente de correlación r=0.681 indicándonos una correlación positiva estadísticamente significativa ($p <0.05$). Si bien la mayoría de estudios analizan poblaciones ocupacionalmente expuesta a niveles elevados de plomo y reportan una asociación positiva con los biomarcadores de estrés oxidativo [9,20,21] también en el estudio realizado por Mohammad et al. [18] se obtienen resultados similares en pintores que presentan niveles bajos de plomo en sangre, estos hallazgos

también se presentan en nuestro trabajo con los biomarcarcadores de exposición al plomo en los trabajadores de imprentas.

El plomo contribuye al estrés oxidativo catalizando la formación de especies reactivas de oxígeno, aumentando la peroxidación lipídica (LPO), agotando el glutatión y los grupos sulfhidrilo unidos a proteínas, es por esta razón que mientras mayor sea los niveles de plomo mayor serán los niveles de TBARS [18,19].

El incremento de EROS implica el aumento de la peroxidación lipídica (TBARS) debido a la oxidación de los lípidos de las membranas celulares y de las lipoproteínas en forma de ácidos grasos poliinsaturados los cuales se convierten en radical de ácido graso y generan una reacción en cadena con las moléculas lipídicas colindantes [51].

Como mencionan diversos autores [9,18-20] el plomo a altas concentraciones tiene efectos tóxicos en la membrana celular de los glóbulos rojos debido a su gran afinidad por este metal lo cual provoca la muerte celular por peroxidación lipídica. Mientras que en un trabajo Ergurhan et al. [19] menciona que niveles crónicos bajos de plomo en sangre también puede resultar en el incremento de la peroxidación lipídica mediante la producción de radicales libres y de las defensas antioxidantes.

Diversos autores [74-76] indican que el organismo necesita los medios para reducir los efectos del estrés oxidativo y por ello produce el aumento de las concentraciones de los Tioles totales en plasma sin embargo cuando el estrés oxidativo es excesivo se obtiene como resultado la oxidación irreversible de los Tioles y depleción del glutatión lo que resulta como consecuencia en la muerte celular [77], motivo por el cual se analizó tioles totales. En la *tabla 4*, se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) entre los valores de tioles totales en comparación de medias de ambos grupos: el grupo control y el grupo expuesto.

En la *Figura 15 y anexo 4,* el resultado de Tioles totales obtenido indica que a medida que aumenta la concentración de plomo en sangre se produce el aumento de los niveles de Tioles totales en plasma, lo cual se evidencia con un coeficiente

de correlación positiva muy alta (r=0,972) y con un nivel de significancia de $p<0.05$ en el grupo expuesto.

Las concentraciones de Tioles en plasma resultan influenciadas por la producción de las especies reactivas de oxígeno y de los procesos de reparación en los que tiene que intervenir y/o por la degradación enzimática extracelular del glutatión. Según Colomé et al. [76] las concentraciones elevadas de Tioles plasmáticos se debe al aumento del estrés oxidativo mediante la presencia elevada de la homocisteína, y del Glutation reducido como indicador de la función antioxidante.

En la *Figura 16 y anexo 4,* se muestra que a medida que aumenta la actividad de la enzima δ-ALAD se produce una disminución de los niveles de TBARS en el grupo expuesto, lo cual se evidencia con una correlación negativa moderada (-0.693), estadísticamente significativa.

Esto se debe a que los niveles elevados de la enzima δ-ALAD, que se encuentran en la sangre de sujetos expuestos estimulan las reacciones de estrés oxidativo, ya que la generación de ácido delta aminolevulínico (ALA) es la principal fuente endógena de radicales libres; propiciando así la inducción de la peroxidación lipídica en presencia de Fe^{2+} o por disminución de GSH y de las enzimas antioxidantes. Generándose por ello un incremento de la lipoperoxidación (TBARS) [27].

Mientras que en la *Figura 17 y anexo 4*, la relación de la actividad de la enzima δ-ALAD y los niveles de tioles totales en el grupo expuesto no mostraron una correlación estadísticamente significativa, mientras que Ahamed et al. [27] si obtuvo relación directa estadísticamente significativa entre la actividad de la enzima δ-ALAD y los antioxidantes SOD y CAT.

Siendo los tioles quienes juegan un papel importante en la descomposición de los grupos H_2O_2 (radical de estrés oxidativo), es que se analizó la relación entre lipoperoxidación y tioles totales quienes son utilizados por las enzimas antioxidantes para disminuir los productos producidos por la peroxidación lipídica [77]. En la *Figura 18 y anexo 4,* se muestra que a medida que aumenta los niveles de TBARS se incrementan los niveles de tioles totales en el grupo expuesto, lo

cual se evidencia con una correlación positiva moderada (r=0.681), estadísticamente significativa [50].

Esto se debe a que a una mayor producción de ROS conduce a un aumento de la peroxidación lipídica con una concomitante disminución en el nivel de antioxidantes y un aumento en la actividad de enzimas antioxidantes que eliminan radicales libres. Este parece ser el mecanismo subyacente del estrés oxidativo inducido por plomo [50].

La oxidación de los residuos de cisteína conduce a la formación reversible de mezclas de disulfuros por la reacción entre los grupos tiol de las proteínas y los tioles de bajo peso molecular, en particular del glutatión reducido. Debe señalarse que la cisteína es un aminoácido muy propenso a la auto-oxidación en presencia de metales. Asimismo, los grupos son el mayor producto de la oxidación de los grupos tiol, los cuales participan de manera importante en los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo [50].

Este trabajo sugiere que la inhibición de la enzima δ-ALAD inducida por plomo puede ser indicativo de inducción de estrés oxidativo, y que los parámetros de estrés oxidativo pueden usarse como biomarcadores de la toxicidad del plomo.

Así los datos obtenidos sirven para ayudar a las agencias reguladoras a planificar estrategias preventivas contra una de las amenazas para la salud ocupacional y el medio ambiente.

VI. CONCLUSIONES

- Existe una correlación con significancia estadística entre los niveles bajos de plomo en sangre con la actividad de la enzima δ-ALAD y el estrés oxidativo en los trabajadores de imprenta del Cercado de Lima.

- Los trabajadores de imprentas del Cercado de Lima se encuentran expuestos ocupacionalmente al plomo, sin embargo, no sobrepasan el límite máximo permisible establecido por la OMS.

- Existe una relación inversa entre las concentraciones de plomo en sangre con la actividad de la enzima δ-ALAD en los Operadores de imprentas del Cercado de Lima.

- El incremento de los niveles de plomo en sangre produce el aumento de peroxidación lipídica en la membrana de los eritrocitos mediante el incremento de las concentraciones de TBARS.

VII. RECOMENDACIONES

- Continuar los estudios con un número mayor de población y considerar la antigüedad del trabajador en el rubro de imprenta.

- Implementar estudios de biomarcadores de estrés oxidativo en los trabajadores de imprentas mediante la determinación de la actividad de las enzimas antioxidantes.

- Realizar estudios similares en los trabajadores expendedores de gasolina y en pintores.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Padilla A, Rodríguez N y Martínez A. Protocolos de Vigilancia Sanitaria Específica. Comisión de Salud Pública Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud, España; 1999.
2. Ramirez, Augusto. El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. *An Fac Med Lima* [Internet]. 2005 [citado el 10 de setiembre del 2017]; 66(1):57-70. Recuperado a partir de: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v66_n1/pdf/a09.pdf
3. Rubio C, Gutierrez A, Martín-Izquierdo R, Revert C, Lozano G y Hardisson A. El plomo como contaminante alimentario. *Rev. Toxicol*. 2004; 21:72-80.
4. Melgarejo I, Balanza E, Torrez L, Quisberth S y Suzaño P. Concentración de malondialdehido en sujetos que residen a gran altitud: estudio exploratorio. *Revista peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* [Internet]. 2017 [citado el 21 de abril del 2018]; 34(4), 677-681. Recuperado a partir de: https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2017.344.2830
5. Astete J. Informe de estudio: Determinación de plomo en sangre y factores asociados en niños y mujeres gestantes de las poblaciones de Quiulacocha y Champamarca Cerro de Pasco, Setiembre. 2005. Ministerio de Salud [Internet] 2018 [citado el 10 de noviembre del 2018]. Recuperado a partir de: http://www.bvs.ins. gob.pe/insprint/cindoc/informes_tecnicos/30.pdf
6. Astete J, Cáceres W, Gastañaga MC, Lucero M, Sabastizagal I, Oblitas T y col. Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* [Internet]. 2009 [citado 18 de diciembre 2018]; 26(1):15-19. Recuperado a partir de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000100004
7. López, Jorge. Intoxicación por Plomo en Niños Menores de Seis Años en un Asentamiento Humano del Callao. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2000; 61(1):37-45.

8. Pebe G, Villa H, Escate L y Cervantes G. Niveles de plomo sanguíneo en recién nacidos de La Oroya, 2004-2005. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* [Internet]. 2008 [citado el 4 de junio del 2017]; 25(4):355-60. Recuperado a partir de: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bVrevistas/Medicina_Experimental/v25_n4/pdf/a02v25n4.pdf
9. Čabarkapa A, Borozan S, Živković L, Milanović-Čabarkapa M, Stojanović S, Bajić V y col. Implications of oxidative stress in occupational exposure to lead on a cellular level. *Toxicological & Environmental Chemistry.* 2015; DOI: 10.1080/02772248.2015.1060973
10. Sanchez JJ, Sanz M, Apellaniz A, Pascual A. El plomo como contaminante laboral. Valoración de pruebas plúmbeas en un colectivo de tiradores de elite (C.N.P.). *Revista de la Sociedad Española de Salud Laboral en la Administración Pública.* 2000; 1(2). 1-4.
11. Ramos W, Munive L, Alfaro M, Calderón M, Gonzáles I y Núñez Y. Intoxicación plúmbica crónica: una revisión de la problemática ambiental en el Perú. *Revista Peruana Epidemiológica* [Internet]. 2009 [citado el 4 de junio del 2017]; 13(2). Recuperado a partir de: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/epidemiologia/v13_n2/pdf/a02v13n2.pdf
12. Kshirsagar M, Patil J, Patil A, Ghanwat G, Sontakke A y Ayachit R. Biochemical effects of lead exposure and toxicity on battery manufacturing workers of Western Maharashtra (India): with respect to liver and kidney function tests. *Al Ameen Journal Medical Science*. 2015; 8(2):107-114.
13. Sharma S, Sharma V, Paliwal R, Pracheta. Lead toxicity, oxidative damage and health implications. A review. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research*. 2011; 2(13): 215-221. DOI: 10.5897/IJBMBRX11.002
14. Ramírez, Augusto. Biomarcadores en monitoreo de exposición a metales pesados en metalurgia. *Anales de la Facultad de Medicina* [Internet]. 2006 [citado el 14 de febrero del 2018]; *67*(1):49-58. Recuperado a partir de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832006000100008&script=sci_abstract

15. Sakai, Tadashi. Biomarkers of Lead Exposure. *Industrial Health.* 2000; 38, 127–142.
16. Martinez S, Cancela L, Virgolini M. El estrés oxidativo como mecanismo de acción del plomo. Implicancias terapéuticas. *Acta Toxicológica Argentina* [Internet]. 2011 [citado el 22 de enero del 2019]; 19 (2): 61-79. Recuperado a partir de: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432011000200002&lng=es&tlng=es.
17. Abdulateef Z y Talib A. Impacts of Printing Presses Emissions upon Occupationally Exposed Workers Health. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 2016; 5(4): 757-771.
18. Mohammad I, Mahdi A, Raviraja A, Najmul I, Iqbal A y Thuppil, Venkatesh. Oxidative stress in painters exposed to low lead levels. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2008; *59:*161-169.
19. Ergurhan I, Cadir B, Koyuncu M y Arslan C. Level of oxidative stress and damage in erythrocytes in apprentices indirectly exposed to lead. *Pediatrics International.* 2008; 50: 45–50.
20. Khan D Qayyum S, Saleem S y Khan F. Lead-induced oxidative stress adversely affects health of the occupational workers. *Toxicology and Industrial Health*. 2008; 24: 611-618.
21. Patil A, Bhagwat V, Patil J, Dongre N, Ambekar J, Jailkhani R y col. Effect of lead (Pb) exposure on the activity of superoxide dismutase and catalase in battery manufacturing workers (BMW) of Western Maharashtra (India) with reference to heme biosynthesis. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2006; 3(4):329-37.
22. Chiba M, Shinohara A, Matsushita K, Watanabe H e Inaba Y. Indices of Lead-Exposure in Blood and Urine of Lead-Exposed Workers and concentrations of major and trace elements and activities of SOD, GSH-Px and catalase in their blood. *Tohoku J. Exp. Med.* 1996; *178,* 49-62.
23. Tomokuni K y Ogata M. Comparative Study of Effects of Lead on the Activity of Erythrocyte Pyrimidine 5'-Nucleotidase and Delta-Aminolevulinate Dehydratase in vivo and in vitro. *Arch Toxicol.* 1980; *45,* 197-201.

24. Sakai T, Yanagihara S y Ushio K. Erythrocyte factors concerned in the inhibition of ALA-D by lead. *British Journal of Industrial Medicine.* 1981; 38:268-274.
25. Nakao K, Wada O, Yano Y. Delta aminolevulinic acid dehydratase activity in erythrocytes for the evaluation of lead poisoning. *Clin Chim Acta.* 1968; 19(2), 319-325.
26. Jangid A, John P, Yadav D, Mishra S y Sharma P. Impact of Chronic Lead Exposure on Selected Biological Markers. *Ind J Clin Biochem*. 2012; 27(1):83–89.
27. Ahamed M, Verma S, Kumar A y Siddiqui M. Delta-aminolevulinic acid dehydratase inhibition and oxidative stress in relation to blood lead among urban adolescents. *Human & Experimental Toxicology*. 2006; 25: 547-553
28. Ananian F, Helal S, Rashed L y Shehata R. Oxidative stress status due to metal exposure in welding. *Egyptian Journal of Occupational Medicine*. 2013; 37(1):19-31.
29. Trombini T, Oliveira E, Berlese D, Minozzo R, De Deus T, Muller C y col. Inhibition of thiol-containing enzymes in erythrocytes of workers exposed to lead*. Interciencia*. 2015; 40(2): 84-90.
30. Conterato G, Bulcao R, Sobieski R, Moro A, Charao M et al. Blood thioredoxin reductase activity, oxidative stress and hematological parameters in painters and battery workers: relationship with lead and cadmium levels in blood. *J. Appl. Toxicol*. 2011. DOI 10.1002/jat.1731
31. Aguilar G, Piacitelli G, Juárez C, Vázquez J, Hu H y Hernandez M. Exposición ocupacional a plomo inorgánico en una imprenta de la Ciudad de México. *Salud Pública Mex*. 1999; 41(1):42-54.
32. Costa C, Trivelato G, Pinto A y Bechara E. Correlation between plasma 5-aminolevulinic acid concentrations and indicators of oxidative stress in lead-exposed workers. *Clinical Chemistry*. 1997; 43(7): 1196-1202.
33. Preciado, Claudio. Determinación de la Actividad de la enzima Acido Delta-Aminolevulinico Deshidratasa en trabajadores laboralmente expuestos al plomo. [tesis para optar el título profesional] [Guadalajara]. Universidad de Guadalajara; 1989 [citado el 17 de diciembre del 2018].

Recuperado a partir de: http://biblioteca.cucba.udg.mx:8080/xmlui/handle/123456789/2468

34. Antay J y Saire A. Cuantificación de plomo en sangre y protoporfirina Zinc eritrocitaria en trabajadores de empresas de servicio de fotocopiado que funcionan en el Campus Universitario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [tesis para optar el título profesional en Internet] [Perú]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014 [citado el 22 de noviembre del 2018]. Recuperado a partir de: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3833
35. Tapia E y Acaro E. Intoxicación ocupacional por plomo en diversos grupos de Trabajadores del cercado de Ica. Ágora Rev Cient. 2014; 01(01):20-25.
36. Tarazona, César. Niveles de plomo en sangre y su influencia en el estado del periodonto de trabajadores en las empresas mineras de Cerro de Pasco – 2010 [tesis para grado de Magíster en Internet]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017 [citado el 2 de mayo del 2019]. Recuperado a partir de: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6887/Tarazona_mc.pdf?sequence=2&isAllowed=y
37. Ramírez, Augusto. Exposición a plomo en trabajadores de fábricas informales de baterías. *An Fac med* [Internet]. 2008 [citado el 2 de abril del 2019]; 69(2):104-107. Recuperado a partir de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832008000200007&lng=es&tlng=es.
38. Villón M y Lozano K. Impacto bioquímico toxicológico del plomo como contaminante ambiental relacionado a enfermedades respiratorias en policías de tránsito en Lima Metropolitana [tesis para optar el título profesional]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010 [citado el 10 de octubre del 2018]. Recuperado a partir de: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1608
39. Nava C y Mendez M. Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Arch Neurocien Méx*. 2011; 16(3): 140-147.
40. Ascione, Ignacio. Intoxicación por plomo en pediatría. Arch. Pediatr. Urug. 2001; 72(2): 133-139.

41. Rodriguez, Dunia. Intoxicación ocupacional por metales pesados. MEDISAN. 2017; 21(12): 3372.
42. Rodríguez A, Cuéllar L, Maldonado G y Suardíaz M. Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 2016; 35(3):252-271.
43. Valdivia, Melinda. Intoxicación por plomo. *Rev. Soc. Per. Med. Inter* [Internet]. 2005 [citado el 19 de diciembre del 2017]; 18(1). Recuperado a partir de: http://medicinainterna.org.pe/revista/revista_18_1_2005/Intoxicacion.pdf
44. Cárdenas, Jean. Determinación de la concentración de cadmio, cromo y plomo en las tintas para tatuaje corporal comercializados en Lima Metropolitana durante el periodo marzo 2014- marzo 2015 [tesis para optar el título profesional]. [Lima]: Universidad Inca Garcilazo de la Vega; 2015 [citado el 12 de enero del 2018]. Recuperado a partir de: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/1232/TESIS%20JEAN%20ROSENDO%20C%C3%81RDENAS%20ALC%C3%81ZAR.pdf?sequence=2&isAllowed=n
45. Lima, Luisa. Estrés oxidativo y antioxidantes: Actualidades sobre los antioxidantes en los alimentos [Internet]. [Cuba]: Universidad de la Habana. Recuperado a partir de: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres_oxidativo_y_antioxidantes.pdf
46. Quintanar M, Calderón J. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Rev Ed Bioquím*. 2009; 28(3): 89-101.
47. Riera, Mario. Superoxide Dismutase: a therapeutic candidate for oxidative stress. *An Real Acad Farm*. 2015; 81(1): 25-36
48. Cota, Ana. Actividad de las enzimas antioxidantes: superóxido dismitasa, catalasa y glutatión peroxidasa, en el espermatozoide y líquido seminal de conejo Nueva Zelanda y su relación con el sobrepeso [tesis para obtener el grado de Magíster en Internet]. [México DF]: Universidad Autónoma Metropolitana; 2014 [citado 09 de abril del 2018]. Recuperado a partir de: http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI16898.pdf

49. Díaz, Adelaida. La estructura de las catalasas. REB [Internet]. 2003 [citado el 10 de diciembre del 2017]; 22(2): 76-84. Recuperado a partir de: http://www.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/2003-2_LA%20ESTRUC_.pdf
50. Birben E, Murat U, Sackesen C, Erzurum S y Kalayci O. Oxidative stress and Antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012; 5(1): 9–19.
51. Jaramillo F y Valdivia A. Fundamentos del Estrés Oxidativo celular [Internet]. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes; 2016 [citado el 10 de enero del 2019] p 45-50. Recuperado a partir de: https://www.uaa.mx/direcciones/dgdv/editorial/docs/zombis_fundamentos_estres_oxidativo_celular.pdf
52. Rivas, A. Niveles de plomo en sangre, malondialdehido y vitaminas antioxidantes en escolares. Salus [Internet]. 2015; 19(1):14-21. Recuperado a partir de: http://www.redalyc.org/pdf/3759/375939029004.pdf
53. Ercal N, Gurer H y Aykin N. Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal induced Oxidative Damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2001; 1(6), 529-539.
54. Velduque, Maria. Introducción a los sistemas de composición: Tipográfico. Mecánico. Fotocomposición. Digital. [Internet]. Revista de Clases historia. Publicación digital de Historia y Ciencias Sociales; 2011 [citado el 19 de diciembre del 2018]. Recuperado a partir de: https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5145628.pdf
55. Amorós, Vicente y col. Guía de tintas y disolventes [Internet]. Gabinete de Salud Laboral de la FeS-UGT. España; 2001 [citado el 20 de diciembre del 2018]. Recuperado a partir de: http://portal.ugt.org/saludlaboral/publicaciones/manual_estudio/2001-01.pdf
56. Fábrica Nacional de Moneda y Timbre - Real Casa de la Moneda. Manual básico de Artes Gráficas [Internet]. España; 2016 [citado el 1 de diciembre del 2018]. Recuperado a partir de: http://www.fnmt.es/documents/10179/10638690/20171103+-+Manual+Artes+Graficas/9bcd4847-2036-e023-5f32-d6195eeeba32

57. Oke, S, Phillips T, Kolawole A, Ofiabulu C y Adeyeye D. Occupational Lead Exposure in Printing Presses: An Analytical Approach. *The Pacific Journal of Science and Technology*. 2008; 9(1): 263-271.
58. Tres mil imprentas siguen en el Centro Histórico de Lima [Internet]. Diario: Perú21. 2014 [citado el 14 de abril del 2019]. Recuperado a partir de: https://peru21.pe/lima/inei-tres-mil-imprentas-siguen-centro-historico-lima-177292
59. Bringas, Sahira. Propuesta de diseño de un sistema de contabilidad de costos por órdenes de trabajo para la mejora de la gestión en la imprenta servicios Gráficos del Norte S.A.C. durante el año 2014 [tesis en internet]. [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo; 2015 [citado el 12 de abril del 2019]. Recuperado a partir de: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1980/bringassilva_sahira.pdf?sequence=1&isAllowed=y
60. Determinación de plomo en sangre - Método de cámara de grafito Espectrofotometría de absorción atómica [Internet]. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 2011 [citado el 15 de octubre del 2017]. Recuperado a partir de: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/MetodosAnalisis/Ficheros/MB/MB_011_R92.pdf
61. Mañay N, Clavijo G y Díaz L. Absorción atómica con horno de grafito. En: Litter, Amienta, Farias editores. Metodologías analíticas para la determinación y especiación de as en aguas y suelos [Internet]. Uruguay; p. 79-92. Recuperado a partir de: http://riquim.fq.edu.uy/archive/files/02ba23e6cc083af03bfc55ac63a98a0c.pdf
62. Determinación de la actividad de la dehidrasa del acido delta-aminolevulínico (ALA-D en sangre - Método Espectrofotométrico [Internet]. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. [citado el 10 de agosto del 2017]. Recuperado a partir de: https://www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/MetodosAnalisis/Ficheros/MB/MB_015_A87.pdf

63. Jordan, Teresa. Guía Técnica: procedimiento para la determinación de hemoglobina mediante hemoglobinómetro portátil [Internet] Ministerio de Salud del Perú; 2013 [citado el 22 de octubre del 2017] p.9. Recuperado a partir de: https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/cenan/van/tecnica_vigilancia_nutricional/bioquimica/Determinaci%C3%B3n_hemoglobina_mediante_hemoglobin%C3%B3metro_portatil.pdf
64. Estepa V, Ródenas S y Martín M. Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. *Anal. Real Acad. Farm.* 2001; 67(3): 1-17.
65. Hong Y, Yeh S, Chang C y Hu M. Total Plasma Malondialdehyde Levels in 16 Taiwanese College Students Determined by Various Thiobarbituric Acid Tests and an Improved High-Performance Liquid Chromatography-based Method. *Clinical Biochemistry*. 2000; 33(8): 619–625.
66. Bioquímica II [Internet]. Universidad de la República. Facultad de Ciencias. [citado el 21 de setiembre del 2017]. Recuperado a partir de: http://dedicaciontotal.udelar.edu.uy/adjuntos/produccion/440_academicas__academicaarchivo.pdf
67. Khan A H, Khan A, Ghani F y Khurshid M. Low-Level Lead Exposure and Blood Lead Levels in Children: A Cross-Sectional Survey. Archives of Environmental Health: An International Journal. 2001; 56(6).
68. Sripathy L, Hariprasad B, Vinay G, VinayKumar C y Venkatesh T. Effect of lead on employees working in flux and printing press*. Rasayan J chem*. 2014; 7(2): 207-213. Recuperado a partir de: http://rasayanjournal.co.in/vol-7/issue_2/32_Vol.7(2),%20207-213,%202014,%20RJC-1101.pdf
69. Jasim S, AL-Wasiti E y Subber Z. Lead Exposure effects on Batteries Manufacturing Factory Workers in Baghdad. Iraqi *J. Med. Sci*. 2012; 10: 321–327.
70. Feksa L, Oliveira E, Trombini T, Luchese M, Bisi S, Linden R y col. Pyruvate kinase activity and δ-aminolevulinic acid dehydratase activity as biomarkers of toxicity in workers exposed to lead. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. 2012; 63: 453–460.

71. La-Llave O, Méndez E. Association between Blood Lead Levels and Delta-Aminolevulinic Acid Dehydratase in Pregnant Women. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2017; 14(4), 432.
72. Ahamed M, Siddiqui M. Low level lead exposure and oxidative stress: Current opinions. *Clinica Chimica Acta 383.* 2007; 57–64
73. Salazar R, Lozada U, Rosales M, Astudillo H, Prin J, Rojas de Astudillo L y col. Metales pesados y su relación con marcadores de estrés oxidativo en fumadores crónicos*. Rev salud ambient*. 2015; 15(2): 88-95.
74. Turrel L, Radi R y Alvarez B. The thiol pool in human plasma: The central contribution of albumin to redox processes. Free Radical Biology and Medicine 65. 2013; 244–253.
75. Bal C, Rauf E, Gunduzoz M, Buyuksekerci M, Alisik M, Sen O y col. Dynamic disulfide/thiol homeostasis in lead exposure denoted by a novel method. *Toxicology and Industrial Health*. 2016 1-5.
76. Colomé C, Artuch R, Sierra C, Brandi N, Lambruschini N, Campistol J y col. Tioles plasmáticos y sus determinantes en la fenilcetonuria. *Química Clínica*. 2003; 22(2): 71-75.
77. Baba S y Bhatnagar A. Role of thiols in oxidative stress. *Current Opinion in Toxicology*. 2018, doi: 10.1016/j.cotox.2018.03.005.

IX. ANEXOS

Anexo Nº 01

ENCUESTA SOBRE SALUD, ALIMENTACIÓN Y TRABAJO

Código _____ Sexo M F

Edad _____ Distrito _____

Hábitos alimenticios

1 Consumo de productos lácteos

☐ 1 vez por mes ☐ 1 vez por semana ☐ mas de una vez por semana

2 Horario de consumo de lácteos

☐ Antes del trabajo ☐ Después del trabajo ☐ En el trabajo

3 ¿Cuándo fue la última vez que fumó un cigarro?

☐ Nunca ☐ Hace 3 meses ☐ Hace 1 semana ☐ Esta semana

4 ¿Cuantós cigarros consume al mes?

☐ 1 ☐ <5 ☐ 1 cajetilla otro_____

5 ¿Cuándo fue la última vez consumió bebidas alcohólicas?

☐ Nunca ☐ Hace 3 meses ☐ Hace 1 semana ☐ Esta semana

6 ¿Qué bebida consumió?

☐ Vino ☐ Cerveza ☐ Pisco ☐ otro

7 ¿Qué bebida consume con frecuencia?

☐ Vino ☐ Cerveza ☐ Pisco ☐ otro

8 Cantidad de bebida alcohólica consumida

☐ 1 vaso ☐ mas de 3 vasos otro_____

Estado de salud

9 ¿Padece o ha padecido anemia?

☐ si he padecido ☐ tengo anemia ☐ no tengo anemia

10 Si la respuesta es si. ¿Desde antes de trabajar?

☐ si ☐ no

11 ¿Padece alguna enfermedad? si la respuesta es si: ¿cuál?

☐ si ☐ no _____

Trabajo y vivienda

12 ¿Vive cerca a fábricas?

☐ si ☐ no

13 ¿Cuántos años está laborando en el rubro imprentas?

_____ años

Anexo N° 02

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TOXICOLOGÍA

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA DE SANGRE

Yo _____,
identificado con DNI: _____; en forma voluntaria consiento en que tomen una muestra de mi sangre, para analizar el nivel de plomo en ella.

Entiendo que esta toma de muestra se realizará en mi lugar de trabajo y que consiste en punzar la vena ubicada en el brazo con una jeringa y obtener una cantidad aproximada de 2mL de sangre, la cual será transportada al laboratorio de la Facultad de Farmacia y será analizada para determinar si los niveles de plomo superan los valores normales; de superar los valores normales mi sangre será seleccionada para hacer los análisis bioquímicos pertinentes cuando los niveles de plomo son altos en sangre.

Entiendo que formo parte de la población de trabajadores en imprentas es por ello que estoy siendo invitado a formar parte de este estudio.

La duración del análisis tomará 2 semanas aproximadamente, luego se retornará a los centros de trabajo para informar los resultados.

Los beneficios de participar en esta investigación es que el análisis será totalmente gratuito.

Con esta investigación, se realiza algo fuera de lo ordinario en su comunidad. Es posible que si otros miembros de la comunidad de trabajadores de imprentas saben que usted participa, puede que le hagan preguntas. Nosotros no compartiremos la identidad de aquellos que participen en la investigación. La información que recojamos para este proyecto de investigación se mantendrá confidencial. La información acerca de usted que se recogerá durante la investigación será puesta fuera de alcance y nadie sino los investigadores tendrán acceso a verla. Cualquier información acerca de usted tendrá un número en vez de su nombre. Sólo los investigadores sabrán cuál es su número.

Si tiene cualquier pregunta puede hacerlas ahora o más tarde, incluso después de haberse iniciado el estudio. Si desea hacer preguntas más tarde, puede contactar cualquiera de las siguientes personas: [Nory Neira, Diana Contreras /997572413]

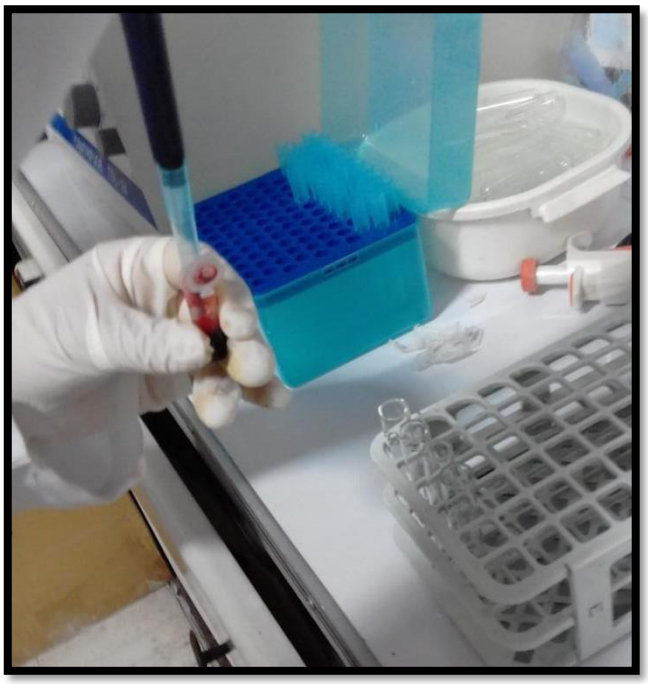
He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera mi cuidado médico.

Firma del Participante _____

Fecha: / /

ANEXO N° 03

Imágenes de la Parte Experimental



Determinación de la actividad de la enzima δ-ALAD.



Análisis de la curva de calibración de plomo en el equipo de Absorción Atómica Horno de Grafito.

ANEXO Nº 04

Coeficiente de correlación (r) entre los parámetros analizados en los trabajadores de imprentas del Centro de Lima.

En la siguiente tabla se muestra la fuerza de la relación entre los niveles de plomo en sangre y los biomarcadores de toxicidad por plomo δ-ALAD, y de estrés oxidativo: TBARS y Tioles totales.

		PLOMO	TIOLES	TBARS	ALAD
PLOMO	Correlación de Pearson	1	,972**	,681**	-,508*
	Sig. (bilateral)		,000	,004	,044
	N	16	14	16	16
TIOLES	Correlación de Pearson	,972**	1	,681**	-,443
	Sig. (bilateral)	,000		,007	,113
	N	14	14	14	14
TBARS	Correlación de Pearson	,681**	,681**	1	-,693**
	Sig. (bilateral)	,004	,007		,003
	N	16	14	16	16
ALAD	Correlación de Pearson	-,508*	-,443	-,693**	1
	Sig. (bilateral)	,044	,113	,003	
	N	16	14	16	16

**. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).