

El estrés oxidativo como mecanismo de acción del plomo. Implicancias terapéuticas

Oxidative stress as a mechanism of action of lead. Therapeutic implications

Martínez, Samanta Andrea; Cancela, Liliana Marina; Virgolini, Miriam Beatriz*

IFEC-CONICET. Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Haya de La Torre y Medina Allende. CP: 5016. TEL: +54-351 4334437. Córdoba, Argentina.

*Autor responsable: TEL: +54-351 4334437. FAX: +54-351 4334420.

mvirgoli@fcq.unc.edu.ar

Recibido: 7 de junio de 2011

Aceptado: 24 de agosto de 2011

Resumen. El plomo (Pb) es un metal no esencial altamente tóxico que afecta a diversos órganos y tejidos. Si bien aún no ha sido descrito un mecanismo único mediante el cual este metal ejerce sus efectos tóxicos, un gran número de estudios han puesto en evidencia el rol fundamental del estrés oxidativo en la intoxicación por Pb. A este respecto, ha sido informado que en la intoxicación por Pb el estrés oxidativo puede ocurrir a diferentes niveles: por generación de ácido δ -aminolevulínico (δ -ALA), por la capacidad *per se* que posee el Pb para inducir peroxidación lipídica en presencia de ión ferroso (Fe^{2+}), o por depleción de glutatión (GSH) y enzimas antioxidantes. Sobre la base de estos antecedentes, el objetivo de esta revisión es presentar evidencias recientes sobre la implicancia del estrés oxidativo en los efectos adversos ocasionados por Pb, destacar la posibilidad de utilización de biomarcadores de estrés oxidativo como un método complementario al diagnóstico temprano de exposición y revelar la importancia de los compuestos antioxidantes como nuevas herramientas en la prevención y tratamiento de la intoxicación por este metal.

Palabras claves: Intoxicación con plomo; Estrés oxidativo; Biomarcadores; Antioxidantes.

Abstract. Lead (Pb) is a highly toxic non-essential metal that affects different organs and tissues. Although at the present a unique mechanism by which this metal exerts its toxic effects has not been described, a large number of studies have highlighted the fundamental role of oxidative stress in the pathophysiology of Pb poisoning. In this regard, it has been reported that Pb-induced oxidative stress can occur at different levels: by the generation of δ -aminolevulinic acid (δ -ALA), through its ability to induce lipid peroxidation in the presence of ferrous ion (Fe^{2+}), or via glutathione (GSH) or antioxidant enzyme depletion. On the basis of these antecedents, the aim of this review is to present recent evidence regarding the implication of oxidative stress in the adverse effects caused by Pb, to emphasize the possibility to use oxidative stress biomarkers as a complementary method for early detection of Pb exposure, and to reveal the importance of antioxidant compounds as novel tools in the prevention and treatment of Pb exposure.

Keywords: Lead poisoning; Oxidative stress; Biomarkers; Antioxidants.

INTRODUCCIÓN

El plomo (Pb) es un metal tóxico ubicuo en el ambiente, ampliamente utilizado en el pasado principalmente como aditivo en pinturas y en combustibles, además de otras aplicaciones industriales en cañerías, baterías, juguetes, artículos escolares, cerámicos vidriados e imprentas (ATSDR 2007). Es un elemento no esencial para el ser humano y capaz de inducir alteraciones en diversos sistemas del organismo, tales como los sistemas nervioso, renal, circulatorio, inmunológico, reproductivo y hematopoyético. La detección de alteraciones en este último sistema contribuye al diagnóstico

de exposición (Souza y Tavares 2009). Sólo un porcentaje del total del Pb ingerido por vía gastrointestinal es absorbido (entre el 10 y 15% en adultos, el 50% en niños) (Markowitz 2000). Una vez que ingresa al torrente sanguíneo, el 95% del Pb se acumula dentro de los eritrocitos durante aproximadamente 30 días (Patrick 2006a), donde interfiere en la síntesis del grupo hemo dada su capacidad de alterar la actividad de algunas enzimas que forman parte de esta vía metabólica, como las enzimas ácido δ -aminolevulínico sintetasa (δ -ALAS), ácido δ -aminolevulínico dehidratasa (δ -ALAD) y ferroquelatasa (Needleman 2004). Como

resultado, los niveles de hemo en el organismo disminuyen ocasionando anemia, la cual va acompañada de alteraciones en los niveles sanguíneos de varios parámetros involucrados en esta vía de síntesis. Estas alteraciones han sido extensamente utilizadas como indicadores de intoxicación por este metal (Sakai y Morita 1996; Balparda 2008).

Por otra parte, en el organismo ocurren procesos fisiológicos o patológicos que dan lugar a la formación de radicales libres, especies de alta reactividad química con capacidad para reaccionar con biomoléculas, alterando la funcionalidad celular. En condiciones normales los mecanismos antioxidantes mantienen los niveles de estas moléculas reactivas en niveles fisiológicos, existiendo así un equilibrio entre los procesos que generan radicales libres y aquellos encargados de su eliminación; un desbalance en este equilibrio, es lo que se conoce como estrés oxidativo (Nordberg y Arnér 2001; Trachootham y col. 2008).

Si bien existen varias hipótesis para explicar los mecanismos de toxicidad del Pb, no se ha definido hasta el momento un mecanismo único. Se sabe que este metal es capaz de promover la generación de especies reactivas del oxígeno (EROs), y de afectar enzimas antioxidantes como catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR), entre otras. Sumado a evidencias recientes que señalan a los parámetros hematológicos como biomarcadores poco específicos de intoxicación por Pb (Ahamed y col. 2006; Ahamed y Siddiqui 2007; Cabaravdic y col. 2010; Wang y col. 2010), las alteraciones de estas enzimas y otras moléculas implicadas en los mecanismos de defensa antioxidante del organismo son consideradas posibles marcadores de daño biológico inducido por este metal, y la terapia antioxidante un posible tratamiento utilizado en pacientes con altos niveles de Pb en sangre (PbS) (Patrick 2006b).

El objetivo de esta revisión es presentar evidencias recientes que abordan los efectos tóxicos producidos por Pb como consecuencia de su capacidad de alterar el sistema de óxido-reducción celular y demostrar así la relevancia de este mecanismo en el estudio e implementación de tratamientos más efectivos contra el daño producido por este metal.

1. SISTEMA ANTIOXIDANTE Y ESTRÉS OXIDATIVO

El sistema antioxidante es el encargado de la remoción de las especies reactivas o radicales libres generados en el organismo como consecuencia de procesos fisiológicos o patológicos. Dado que la producción excesiva de estas moléculas puede inducir muerte celular, un adecuado balance entre los sistemas oxidante y antioxidante es vital para la función, regulación y adaptación de las células a diversas condiciones (Nordberg y Arnér 2001). Así, desde el punto de vista fisiológico, las células mantienen un equilibrio entre los procesos que dan lugar a la formación y eliminación de EROs y especies reactivas del nitrógeno (ERNs) (Trachootham y col. 2008). La alteración de este equilibrio se conoce como estrés oxidativo, condición bajo la cual, la función celular es extensamente afectada como consecuencia de las alteraciones en proteínas (Stadtman y Levine 2000), lípidos (Yla-Herttuala 1999) y ADN (Marnett 2000; Xu y col. 2008).

1.1. Especies reactivas del oxígeno

Las EROs se producen a partir del metabolismo celular normal o como consecuencia de la exposición a xenobióticos (Findlay y col. 2005). La mitocondria es la mayor fuente intracelular de EROs (Turrens 2003), las cuales a niveles fisiológicos se comportan como mensajeros de óxido-reducción en cascadas de señalización intracelular, mientras que a niveles elevados inducen modificaciones de macromoléculas afectando la funcionalidad celular o promoviendo apoptosis (Roberts y col. 2009; Circu y Aw 2010). Estas especies comprenden a varias moléculas químicamente reactivas derivadas del oxígeno (O_2), como son el radical hidroxilo ($\cdot OH$), el anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El $\cdot OH$ se forma a partir de H_2O_2 a través de una reacción que requiere ión ferroso (Fe^{2+}) ó cuproso (Cu^+) (reacción de Fenton o de Haber-Weiss) (Kehrer 2000) y es, probablemente, la molécula con mayor capacidad de generar daño en los sistemas biológicos en relación con otras EROs (Betteridge 2000). El $O_2^{\cdot -}$ se forma de manera espontánea a partir de O_2 principalmente en las cercanías de la membrana interna mitocondrial, sitio de la cadena respiratoria (Nordberg y Arnér 2001), también puede generarse por flavoenzimas (Zimmerman y Granger 1994), por acción de la óxido nítrico sintetasa en situaciones donde las

cantidades de su sustrato o co-factor son insuficientes (Xia y col. 1996; Xia y Zweier 1997) o por otras enzimas como lipooxigenasa (Kontos y col. 1985) y ciclooxigenasa (McIntyre y col. 1999). Una vez formadas, dos moléculas de $O_2^{\bullet-}$ pueden ser dismutadas a H_2O_2 y O_2 mediante una reacción catalizada por la enzima SOD. El H_2O_2 , si bien no es un radical libre, juega un rol fundamental como intermediario en la formación de la mayoría de las EROs y como mensajero intracelular afectando a diversos procesos celulares (Choi y col. 1998).

1.2. Principales componentes del sistema antioxidante

El sistema antioxidante puede ser dividido en dos grandes grupos: enzimático y no enzimático.

1.2.1 El sistema antioxidante enzimático está principalmente conformado por SOD, CAT, GPx y peroxiredoxinas (Prx's)

SOD

Es la enzima que cataliza la dismutación del $O_2^{\bullet-}$ dando lugar a la formación de H_2O_2 y O_2 , siendo esta reacción una fuente de H_2O_2 (Fridovich 1995). La SOD está presente en el organismo en tres isoformas: Cu/Zn-SOD (SOD1) de localización citosólica, Cu/Zn-SOD extracelular (SOD3), y Mn-SOD (SOD2) presente en mitocondria (Faraci y Didion 2004), organela donde esta enzima es generada en altas concentraciones. Una vez producido, el H_2O_2 es removido por un sistema antioxidante conformado por CAT, GPx y Prx's.

CAT

Es una enzima con localización predominante en peroxisomas de células de mamíferos donde, unida a β -Nicotinamida adenina dinucleótido 2'fosfato reducido (NADPH), que la protege de la inactivación y aumenta su eficiencia, cataliza la dismutación del H_2O_2 a agua (H_2O) y O_2 . Cumple también la función de detoxificar otros sustratos como fenoles y alcoholes mediante una vía de reducción acoplada a H_2O_2 y se le ha atribuido un rol antioxidante de gran importancia, pues al disminuir el nivel de H_2O_2 disminuye también el riesgo de formación de $^{\bullet}OH$ mediante la reacción de Fenton.

GPx

Es una enzima seleno-dependiente de la cual han sido caracterizadas cinco isoformas en humanos (Brigelius-Flohé 2006): GPx1 y GPx4, ambas citosólicas abundan en la mayoría de los tejidos; GPx2 se expresa mayormente en

el tracto gastrointestinal; GPx3 es plasmática y GPx6 está localizada preferentemente en la mucosa olfatoria y tejido embrionario. Todas pueden catalizar la reducción de H_2O_2 utilizando glutatión (GSH) como sustrato, como así también, generar la reducción de otros peróxidos y alcoholes (Ryan-Harshman y Aldoori 2005; Muller y col. 2007). Existen evidencias que indican que GPx sería importante desde el punto de vista antioxidante bajo condiciones fisiológicas, donde el ciclo de óxido-reducción del GSH es la mayor fuente de protección contra bajos niveles de EROs, mientras que otras enzimas como CAT, se vuelven más importantes en la protección contra eventos severos de estrés oxidativo (Yan y Harding 1997). Asimismo, estudios realizados en diversos tipos celulares, especialmente en eritrocitos, han demostrado que la GPx es la principal enzima antioxidante para H_2O_2 , dada su mayor afinidad hacia esta molécula con respecto a CAT (Izawa y col. 1996).

Prx's

Son un grupo de peroxidasas que también contribuyen con el control de óxido-reducción celular por su habilidad de reducir peróxidos, como H_2O_2 e hidroperóxidos orgánicos (Rhee y col. 2005), función que realizan en conjunto con una tiorredoxina reductasa (TrxR), tiorredoxina (Trx) y NADPH (Nordberg y Arnér 2001; Findlay y col. 2005).

1.2.2. Sistema antioxidante no enzimático

El tripéptido γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glicina o GSH es la molécula antioxidante más importante sintetizada en las células (Forman y col. 2009). Se localiza en el citosol celular donde, además de eliminar radicales libres, cumple funciones vitales como la conservación de grupos tioles de proteínas, la modulación de síntesis de ADN y de procesos relacionados con la función inmune (Lu 2009), la regulación de la homeostasis del óxido nítrico (NO) (Hogg 2002), la modulación de la actividad de proteínas por modificaciones post-transcripcionales (Pompella y col. 2003), la regulación de la división celular (Pallardó y col. 2009) y la modulación de la actividad de receptores de neurotransmisores (Oja y col. 2000). En mitocondria, el GSH es particularmente importante dado que allí no hay actividad de la enzima CAT por lo cual el GSH mitocondrial es considerado una molécula crítica en la defensa contra el estrés oxidativo (García-Ruiz y Fernández-Checa 2006). En el organismo, el GSH

existe en su forma reducida (GSH) y en su forma oxidada (glutación disulfuro, GSSG), siendo la primera la forma biológicamente activa (Kaplowitz y col. 1985). La mayor cantidad de GSH en la defensa antioxidante celular es utilizada por la GPx y por un tipo de peroxiredoxinas (Prx6), las cuales catalizan la reducción de H_2O_2 mediante la oxidación de GSH dando lugar a la formación de H_2O y GSSG. El GSSG es potencialmente tóxico, pero normalmente las células contienen altas concentraciones de GR, la cual mantiene la mayor cantidad de GSH en su forma reducida utilizando NADPH como dador de electrones, formando así un ciclo de óxido-reducción. Por último, si bien el GSH es la molécula antioxidante más importante producida a nivel celular, actualmente ha sido reportada una gran cantidad de compuestos con capacidad antioxidante como las vitaminas C (ácido ascórbico), E (α -tocoferol), A, B6 (piridoxina), el β -caroteno, la metalotioneína, la cistina, la homocisteína, la taurina, la metionina, las poliaminas, los flavonoides, los fitoestrógenos, los polifenoles, el zinc, el selenio, entre otros (Gurer y Ercal 2000; Powell 2000; Patra y col. 2001; Morin y col. 2008; Liu y col 2010; Reckziegel y col. 2011), muchos de ellos de gran aplicación terapéutica contra el estrés oxidativo.

2. ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO POR PLOMO

La patogénesis de la toxicidad del Pb es multifactorial puesto que interfiere directamente sobre la activación de ciertas enzimas, interrumpe la síntesis de proteínas estructurales, altera la homeostasis del calcio, inhibe por competición la absorción de elementos trazas y altera el sistema de óxido-reducción celular, siendo en la actualidad este último mecanismo el más relacionado con la etiología de las alteraciones observadas en organismos intoxicados por Pb (Patrick 2006b).

A pesar de que es un metal que no sufre reacciones químicas de óxido-reducción en el organismo, tanto el Pb como el As, el Hg y el Cd, tienen en común la capacidad de incrementar la producción de radicales libres y de disminuir la disponibilidad de reservas antioxidantes del organismo, convirtiendo al estrés oxidativo en un componente clave en las consecuencias fisiopatológicas generadas por estos metales (Jomova y Valko 2011).

La generación de estrés oxidativo en la intoxicación por Pb puede ocurrir a diferentes

niveles: por generación de ácido δ -aminolevulínico (δ -ALA), que constituye una potencial fuente endógena de radicales libres (Hermes-Lima y col. 1991); por la capacidad *per se* que posee el Pb para inducir peroxidación lipídica en presencia de Fe^{2+} (Adonaylo y Oteiza 1999) o por depleción de GSH y enzimas antioxidantes (Patrick 2006b). Un análisis detallado de estos mecanismos se presenta a continuación:

2.1. Efecto pro-oxidante del Pb por generación de δ -ALA

El Pb es un catión divalente con capacidad de unirse a grupos sulfhidrilos (-SH) presentes en proteínas, modificando de esta manera la función de ciertas enzimas y proteínas estructurales. Al respecto, está descrito que el Pb presente dentro de los eritrocitos interfiere en la síntesis del grupo hemo al alterar la actividad de algunas de las enzimas involucradas en este proceso, como la enzima δ -ALAS, encargada de sintetizar δ -ALA a partir de succinil-CoA, la enzima δ -ALAD, que cataliza la condensación de dos moléculas de δ -ALA para generar porfobilinógeno (PBG), y la enzima ferroquelatasa que cataliza la incorporación de hierro a una molécula de protoporfirina IX para generar el grupo hemo (Fujita y col. 2002; Needleman 2004). La inhibición de la actividad de δ -ALAD (la enzima más sensible a los efectos tóxicos del Pb) es el parámetro más comúnmente asociado al aumento de los niveles de PbS como indicador de exposición a este metal (Goering 1993). Más de un 80% del Pb presente en eritrocitos se une a δ -ALAD inhibiendo su actividad, lo cual resulta en un marcado incremento en los niveles sanguíneos y excreción urinaria de δ -ALA, el cual se autooxida dando lugar a la formación de EROs (Bechara 1996; Noriega y col. 2003; Ahamed y Siddiqui 2007; Flora y col. 2007a). El δ -ALA se enoliza y autooxida a pH 7,0 - 8,0 y la forma enólica de δ -ALA es oxidada generando $O_2^{\bullet-}$. Por otra parte, un proceso de oxidación simultánea de δ -ALA y oxihemoglobina promueve la generación de EROs dando lugar a la formación de metahemoglobina, radical δ -ALA y H_2O_2 (Monteiro y col. 1989). De esta manera, niveles elevados de δ -ALA producen peroxidación lipídica e inducen cambios en la permeabilidad mitocondrial mediante procesos mediados por calcio, además de otros efectos como el de promover la liberación de hierro presente en moléculas de ferritina (Bechara 1996). Sumado a estos eventos, ha sido bien

establecida la capacidad de δ -ALA de inducir genotoxicidad, ya sea a través de un mecanismo que involucra $\cdot\text{OH}$ (Douki y col. 1998a) o mediante la formación de ácido 4,5-dioxovalérico, producto final de la oxidación de δ -ALA, sustancia potencialmente genotóxica (Douki y col. 1998b). De este modo, el proceso de oxidación de δ -ALA puede ser considerado un mecanismo indirecto del Pb para producir daño a nivel de ADN responsable, en parte, de la carcinogenicidad de este metal (Hiraku y Kawanishi 1996; Grover y col. 2010). Por último, teniendo en cuenta la capacidad de δ -ALA de generar EROs, se ha sugerido que la evaluación de la actividad de δ -ALAD y de los niveles sanguíneos y urinarios de δ -ALA pueden ser considerados índices de estrés oxidativo generados por Pb (Gurer-Orhan y col. 2004; Ahamed y col. 2006) dado que existen fuertes evidencias que señalan una marcada relación entre los bioindicadores de estrés oxidativo y una disminución en la actividad de la δ -ALAD (Tandon y col. 2002; Gurer-Orhan y col. 2004; Ahamed y col. 2005; 2006) y niveles incrementados de δ -ALA en sangre, orina y tejidos (Bechara 1996; Costa y col. 1997; Wang y col. 2006).

2.2. Peroxidación lipídica inducida por Pb

Ha sido bien establecida la capacidad del Pb de generar peroxidación lipídica en diversos tejidos del organismo (Acharya y Acharya 1997; Bokara y col. 2008; Ergurhan-Ilhan y col. 2008). Los eritrocitos en particular son las células más afectadas, en parte por su alta afinidad por este metal, así como por su mayor vulnerabilidad al daño oxidativo respecto a otras células (Leggett 1993).

El Pb ejerce un efecto desestabilizante en la membrana celular a través de diversos mecanismos. En primer lugar, las alteraciones en la estructura y función de membranas celulares inducidas por Pb están ampliamente relacionadas con un aumento en los niveles de EROs generados como consecuencia de los efectos de este metal sobre el equilibrio de óxido-reducción celular (Ding y col. 2000). Además, el Pb cataliza la peroxidación de ácidos grasos insaturados (Yiin y Lin 1995) e induce daño oxidativo modificando la composición de ácidos grasos en las membranas (Knowles y Donaldson 1990; Lawton y Donaldson 1991), alterando de esta manera la actividad de enzimas unidas a la membrana. Al respecto, Sandhir y col. (1994) observaron una correlación

lineal entre el aumento en la peroxidación lipídica inducida por Pb y una disminución en la actividad de acetilcolinesterasa cerebral. Asimismo, Flora y Seth (2000) observaron alteraciones en la actividad de acetilcolinesterasa y monoaminoxidasa acompañadas de niveles elevados de GSH, calcio intracelular y cambios en la fluidez de membranas celulares en ciertas áreas cerebrales de ratas expuestas a Pb. Kharoubi y col. (2008) evidenciaron una inhibición en la actividad ATPasa en células de hígado y riñón de ratas tratadas con Pb, junto a un incremento en los niveles de colesterol, triglicéridos, ácidos grasos libres, fosfolípidos y sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), éstas últimas indicadoras de peroxidación lipídica.

De este modo, un gran número de evidencias demuestran que el Pb es capaz de incrementar la peroxidación lipídica alterando la integridad, permeabilidad y función de membranas celulares.

2.3. Efectos del Pb en el sistema de defensa antioxidante celular

El Pb, al igual que otros metales, tiene la capacidad de inactivar al GSH, disminuyendo así su función antioxidante. Asimismo, dado que la enzima GR posee en su estructura grupos funcionales $-\text{SH}$, el Pb puede inhibir su actividad reductora sobre el GSSG, lo cual disminuye aún más la disponibilidad de GSH (Patrick 2006b). Se ha observado también una disminución en la actividad de otras enzimas que utilizan GSH como la GPx, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD) y la glutatión S-transferasa (GST) tanto en animales de experimentación como en individuos ocupacionalmente expuestos a Pb (Hunaiti y col. 1995; Sivaprasad y col. 2004). La capacidad de este metal de alterar la actividad de otras enzimas implicadas en la defensa antioxidante como CAT y SOD también ha sido reportada (Chiba y col. 1996; Han y col. 2005; Bokara y col. 2008).

Cabe destacar que, si bien el Pb puede inhibir la actividad de estas enzimas, el efecto neto observado depende de los niveles de Pb presentes en el organismo. Así, mientras se observa inhibición de actividad de ciertas enzimas a niveles elevados o en situaciones en las que el tiempo de exposición al metal es prolongado, también se ha informado que a bajos niveles de Pb ocurre un incremento en la actividad enzimática. Al respecto, varios autores

demonstraron un aumento en la actividad de CAT a concentraciones elevadas de PbS y una correlación positiva entre estos parámetros en niños, adolescentes (Ahamed y col. 2005; 2006) y trabajadores expuestos al metal (Chiba y col. 1996; Gurer-Orhan y col. 2004), así como también en animales (Gurer y col. 1998; Soltaninejad y col. 2003). Estas observaciones han sido caracterizadas como un mecanismo de defensa en eritrocitos contra el incremento de H₂O₂ durante el estrés oxidativo generado por Pb. Por otra parte, a pesar de que algunos resultados indican una correlación positiva entre niveles de PbS y actividad de SOD (Costa y col. 1997; Soltaninejad y col. 2003; Han y col. 2005), otros no evidencian una clara correlación entre estos parámetros (Chiba y col. 1996; Kasperczyk y col. 2004; Oktem y col. 2004; Ergurhan-Ilhan y col. 2008) e incluso, algunos autores reportan una disminución de la actividad de SOD en plasma y eritrocitos a elevados niveles de PbS (Ito y col. 1985; Li y col. 2004; Patil y col. 2006). Asimismo, Kasperczyk y col. (2004) demostraron una reducción significativa de GPx en sangre que se correlacionó con elevados niveles de malondialdehído (MDA), indicador de peroxidación lipídica, en eritrocitos de trabajadores expuestos a Pb cuyos niveles de PbS superaban los 40 µg/dl; mientras que en aquellos individuos con concentraciones entre 25-40 µg/dl, los niveles de esta enzima se encontraron elevados.

Por otra parte, a pesar de que el Pb puede alterar la función de enzimas antioxidantes incrementando su actividad mediante una generación excesiva de EROs o disminuyéndola por su efecto directo sobre ellas, cabe mencionar la posibilidad de que muchas de estas enzimas podrían ser afectadas por este metal mediante un mecanismo independiente de estrés oxidativo, como fue observado por Daggett y col. (1998), quienes evidenciaron un incremento en los niveles de GST en hígado y riñón de ratas expuestas a Pb como consecuencia de un mecanismo alterado a nivel transcripcional en la síntesis de esta proteína. Por último, si bien se conoce que los iones metálicos son capaces de alterar el sistema de Prx's inhibiendo la actividad de TrxR u oxidando a Trx (Lin y col. 1999; Witte y col. 2005; Hansen y col. 2006), hay escasa información disponible de los efectos del Pb sobre estas enzimas. Conterato y col. (2007) reportaron que este metal afecta la actividad de TrxR en riñón de ratas expuestas, considerando a esta

enzima como un posible indicador temprano de exposición aguda a bajos niveles de Pb.

3. TERAPIA ANTIOXIDANTE

En la actualidad, la estrategia terapéutica más utilizada en la intoxicación por Pb consiste en favorecer su excreción a través de la quelación; siendo el etilendiaminotetraacetato de calcio disódico (CaNa₂EDTA), el ácido meso 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA), la D-penicilamina y "british anti-lewisita" (BAL) los agentes quelantes más utilizados (Flora y col. 2007a; 2008). Sin embargo, diversos estudios han reportado efectos adversos sobre la salud como resultado de la aplicación de estos agentes quelantes tradicionales y su incierta eficacia en revertir y/o prevenir los efectos tóxicos de este metal (Gurer y Ercal 2000; Rogan y col. 2001; Soares y col. 2003; Yu y col. 2008). Por estas razones están siendo abordadas nuevas estrategias en el tratamiento de la intoxicación por Pb, en las cuales, elementos esenciales como calcio, zinc, hierro, selenio, ciertas vitaminas y otros compuestos antioxidantes son considerados importantes modificadores de la disponibilidad y toxicidad del Pb (Ahamed y Siddiqui 2007). En base a estas consideraciones, y teniendo en cuenta el rol del estrés oxidativo como mecanismo de acción propuesto para este metal, una gran diversidad de estudios están siendo enfocados en la terapia antioxidante como un método eficiente para contrarrestar los efectos inducidos por Pb, mejorando al mismo tiempo la efectividad de los agentes quelantes actualmente utilizados (Hsu y Guo 2002).

Los compuestos antioxidantes actúan a través de diversos mecanismos con la finalidad de neutralizar radicales libres y disminuir la producción de EROs. Por otra parte, algunos de ellos poseen capacidad quelante del Pb y otros metales, y a pesar de que este efecto es menor al de los agentes quelantes tradicionales (Gurer y col. 1998; Flora y col. 2003), cuando se administran tratamientos combinados de ambas sustancias se observa un claro sinergismo que mejora la capacidad de quelación (Flora y col. 2003; 2004; Sivaprasad y col. 2002; 2004). De esta manera, y sobre la base que el uso simultáneo de diferentes agentes quelantes es considerado como el tratamiento más eficaz contra la intoxicación por Pb (Flora y col. 2007b; Flora y col. 2008; Mikler y col. 2009), diversos estudios se han focalizado en

la terapia combinada de éstos y sustancias antioxidantes (Tandon y col. 1994; Liao y col. 2008a; 2008b), los cuales han reportado efectos positivos con una mejor recuperación clínica asociada a la movilización del metal, evidenciando que este tipo de terapia combinada sería una mejor alternativa para el tratamiento de intoxicación por Pb. Más aún, ha sido también estudiado el rol protector de las sustancias antioxidantes en estadios tempranos del desarrollo neuronal, donde su administración durante la gestación y lactancia previene algunos de los efectos adversos ocasionados por el Pb en la descendencia de ratas expuestas a este metal (Antonio-García y Massó-González 2008; Massó-González y Antonio-García 2009), demostrando así la importancia de estos compuestos no sólo como una alternativa terapéutica, sino también como nutrientes claves para reducir el riesgo de intoxicación por este metal (Gulson y col. 2001; Gautam y Flora 2010; Jiao y col. 2011).

3.1. Principales compuestos antioxidantes

3.1.1. Ácido α -lipoico

Es un antioxidante endógeno que, además de reducir los peróxidos lipídicos y quelar metales tóxicos (Packer y col. 1995), posee la capacidad de incrementar la síntesis *de novo* de GSH al facilitar el transporte de cisteína (el aminoácido limitante en la producción de GSH) hacia el interior celular (Han y col. 1997). Ha sido reportado que su suministro exógeno incrementa los niveles de ácido α -lipoico libre en el organismo, el cual puede actuar como un potente antioxidante y así reducir el estrés oxidativo (Bustamante y col. 1998). De esta manera, se ha demostrado que este compuesto incrementa la supervivencia en líneas celulares tratadas con Pb (Patrick 2006b), aunque no posee un efecto quelante directo, sino que actúa como neutralizante de radicales libres o como reforzador de enzimas antioxidantes para contrarrestar los efectos del Pb sobre GSH y marcadores de estrés oxidativo (Pande y Flora 2002; Sivaprasad y col. 2003; Flora y col. 2008; Wang y col. 2008b).

3.1.2. Melatonina

Es una hormona sintetizada por la glándula pineal que actúa como un potente neutralizante de radicales libres. Sus efectos protectores contra el daño oxidativo y citotoxicidad inducida por Pb han sido reportados en numerosos estudios (Kim y col. 2000; Daniel y col. 2004;

Flora y col. 2004; Othman y col. 2004), en los cuales dichos efectos se han atribuido a sus propiedades hidrofílicas y lipofílicas (Reiter y col. 2000), y a su localización superficial en la bicapa lipídica de la membrana celular, donde posiblemente cumpla un rol protector contra el daño producido sobre proteínas de membrana (Mayo y col. 2003; Reiter 2003). Al mismo tiempo, se ha reportado que la melatonina eleva los niveles de ARNm de SOD en varios tejidos y que estimula a varias enzimas antioxidantes y enzimas involucradas en la síntesis de GSH (Kotler y col. 1998; Reiter 2003).

3.1.3. Metionina

Además de su rol como precursor en la producción de GSH en hígado (Reed y Orrenius 1977), lo que le brinda su capacidad de neutralizar EROs al aumentar la producción de GSH, la metionina reacciona con EROs generando sulfóxido de metionina e incrementa los niveles de otras moléculas y enzimas antioxidantes (Patra y col. 2001; Jurczuk y col. 2006). De este modo, ha sido reportado su efecto beneficioso contra el estrés oxidativo ocasionado por Pb, además de un efecto quelante cuando es administrado en conjunto con N-acetilcisteína (NAC) en animales de experimentación (Calderón-Cabrera y col. 2008).

3.1.4. N-acetilcisteína (NAC)

Es un compuesto antioxidante con un reconocido efecto protector contra el daño producido en la intoxicación por Pb, lo que ha llevado a proponer que esta sustancia, junto con DMSA o monoisoamil DMSA (MiADMSA), puede ser utilizada como agente preventivo y terapéutico de intoxicaciones por este metal (Pande y col. 2001). En este sentido, diversos trabajos han destacado que el tratamiento con NAC normaliza la relación entre GSH/GSSG, disminuye los niveles de MDA y aumenta la posibilidad de sobrevivencia celular en ratas expuestas a Pb (Ercal y col. 1996; Gurer y col. 1998). Provoca además una reducción y/o reversión de los efectos oxidantes generados por niveles incrementados de δ -ALA (Neal y col. 1997). Recientemente ha sido evidenciado que un derivado de este compuesto, la N-acetilcisteína amida (NACA), tiene mayor capacidad quelante y antioxidante que la NAC debido a su mayor lipofilicidad, siendo más efectivo contra los efectos neurotóxicos del Pb (Penugonda y Ercal 2011).

3.1.5. Selenio (Se)

Es un mineral requerido por la enzima GPx y se ha informado que incrementa la capacidad antioxidante celular al aumentar los niveles de SOD, GR y la disponibilidad de GSH (Othman y El-Missiry 1998). Posee además un efecto protector contra los efectos tóxicos del Pb (Yuan y Tang 2001; Moshtaghiy y col. 2007), el cual ha sido atribuido a su capacidad de unirse fuertemente a este metal para formar complejos (Flora y col. 1982). Asimismo, ha sido observada una correlación negativa entre niveles de PbS y Se en plasma de niños expuestos a Pb (Osman y col. 1998), lo que podría estar sugiriendo un efecto quelante de esta sustancia.

3.1.6. Taurina

Es un aminoácido semi-esencial con efectos antioxidantes y estabilizantes en membranas celulares. Si bien no ha sido demostrada su capacidad quelante sobre el Pb, se ha observado que la taurina mejora la sobrevida celular en ratas y cultivos celulares expuestos a este metal, incrementa los niveles de GSH, y disminuye los de MDA (Selvaraj y col. 2006); demostrando así su capacidad antioxidante frente al daño ocasionado por Pb. Más aún, Fan y col (2009) evidenciaron la mayor capacidad de la taurina para revertir alteraciones en la actividad de SOD, óxido nítrico sintetasa (NOS) y en los niveles de NO en relación a otros compuestos antioxidantes.

3.1.7. Vitamina B6 (piridoxina)

El mecanismo propuesto de la piridoxina frente a la intoxicación por Pb está relacionado con su rol en la vía metabólica de trans-sulfuración, donde la metionina es metabolizada a cisteína (Patrick 2006b). Se ha demostrado que ratas carentes de vitamina B6 expuestas a Pb presentan niveles inferiores de GSH con respecto a aquellas con concentraciones normales de esta vitamina (McGowan 1989) y que la administración de piridoxina en ratas expuestas a Pb mejora los niveles de actividad de δ -ALAD (Tandon y col. 1987), sugiriendo un rol antioxidante indirecto de vitamina B6 frente a la toxicidad del Pb.

3.1.8. Vitamina C (ácido ascórbico)

Se ha demostrado que el ácido ascórbico, además de su conocida eficacia como agente neutralizante de radicales libres, inhibe la peroxidación lipídica (Hsu y col. 1998; Patra y col. 2001), revierte los efectos ocasionados

por Pb en la síntesis del grupo hemo (Vij y col. 1998) y es capaz de quelar a este metal (Dalley y col. 1990). De esta manera, diversas evidencias indican que el tratamiento con ácido ascórbico revierte los efectos oxidantes y citotóxicos ocasionados por Pb en trabajadores (Wang y col. 2007), células y animales expuestos (Tandon y col. 2001; Mohammad y col. 2010; Bussche y Soares 2011; Kosik-Bogacka y col. 2011). Por otra parte, es bien conocido que el ácido ascórbico disminuye la absorción de Pb a nivel gastrointestinal y tiene un efecto inhibitorio de la incorporación de Pb a nivel celular (Fischer y col. 1998), logrando así disminuir la toxicidad de este metal. Al respecto, si bien diversos trabajos han puesto en evidencia que la administración de ácido ascórbico reduce los niveles de Pb en sangre o tejidos (West y col. 1994; El-Shafai y col. 2011), esto no ha sido descrito efectivamente por otros autores, dado que su administración en trabajadores expuestos con concentraciones de PbS superiores a 40 μ g/dl no logró alterar estos niveles ni el metabolismo de este metal (Lauwerys y col. 1983). En consonancia con estos resultados, Patra y col. (2001) no observaron disminución de los niveles de Pb en hígado, riñón, cerebro ni sangre de ratas expuestas tratadas con ácido ascórbico.

3.1.9. Vitamina E (α -tocoferol)

Es el nutriente más conocido por su acción protectora de la estabilidad de la membrana celular y su capacidad de prevenir el daño oxidativo (Packer 1991). Su función biológica más importante es la defensa celular contra el estrés oxidativo a través de la modulación de cascadas de señalización intracelular (Azzi y col. 1992), explicando su rol protector frente a la toxicidad del Pb mediante su capacidad de prevenir la producción de EROs.

Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que el suministro de vitamina E previene la inhibición de la actividad de δ -ALAD y la peroxidación lipídica inducida por Pb en eritrocitos (Rendon-Ramirez y col. 2007) y en diversos tejidos (Hsu y col. 1998; Patra y col. 2001), demostrando su capacidad de revertir el daño oxidativo inducido por Pb y otros tóxicos (Jurczuk y col. 2007; Das y Saha 2010; Wilhelm-Filho y col. 2010).

3.1.10. Zinc (Zn)

Es un metal esencial que posee efectos mitigantes en la toxicidad del Pb dado que compete con éste por proteínas transportadoras

presentes en el tracto gastrointestinal. Se ha evidenciado que la deficiencia de Zn puede incrementar la citotoxicidad del Pb y la susceptibilidad de neuronas al estrés oxidativo (Aimo y Oteiza 2006), y que el tratamiento con Zn revierte tanto la inhibición de δ -ALAD y el incremento de δ -ALA causados por Pb (Singh y col. 1994; Batra y col. 1998), así como los efectos adversos a nivel del sistema nervioso central inducidos por este metal (Moshtaghie y col. 2007). A pesar de ello, no hay fuertes evidencias de los efectos del Zn como antioxidante o quelante directo y la inhibición competitiva en la recaptación de Pb parece ser el mecanismo mediante el cual el Zn actúa como antioxidante indirecto en la intoxicación por Pb.

3.1.11. β -caroteno

Si bien estudios clínicos han manifestado la existencia de efectos perjudiciales del β -caroteno (Omenn y col. 1996), existen evidencias epidemiológicas que han demostrado que el suministro de este compuesto puede reducir la incidencia de cáncer, arterosclerosis y esclerosis múltiple a través de un mecanismo preventivo de peroxidación lipídica, lo cual podría estar relacionado con su efecto antioxidante en la toxicidad por Pb (Shastri y col. 1999; Machartová y col. 2000).

CONCLUSIÓN

Es bien conocido que el sistema hematopoyético es afectado por Pb y que varios parámetros de este sistema han sido utilizados extensamente como indicadores de intoxicación por este metal (Balparda 2008). A pesar de que aún en la actualidad, varios autores siguen caracterizándolos como indicadores sensibles de daño biológico inducido por Pb (Kang y col. 2009; Wang y col. 2011), un gran número de evidencias señalan que estos parámetros comienzan a alterarse recién a partir de niveles de PbS entre 25 y 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$, sugiriendo que no son herramientas sensibles para evaluar intoxicación a bajas concentraciones (Ichiba y Tomokuni 1990; Somashekaraiah y col. 1990; ATSDR 2007). Este hecho toma relevancia al considerar numerosos trabajos (Bellinger y Needleman 2003; Canfield y col. 2003; Jusko y col. 2008; Wang y col. 2008a) que han demostrado que el Pb produce efectos adversos, principalmente en niños, a concentraciones en sangre inferiores a 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$, poniendo de manifiesto que no existen niveles de PbS seguros para los efectos nocivos de este me-

tal en organismos en desarrollo.

Las evidencias presentadas a lo largo de esta revisión demuestran que el equilibrio de óxido-reducción celular es alterado por Pb (ver *Figura 1*), ya sea por un aumento en la generación de EROs, por inducción directa de peroxidación lipídica o por modificaciones en la actividad de las enzimas antioxidantes (Patrick 2006b), lo cual también, puede ocurrir a bajos niveles de exposición (Lee y col. 2006). De esta manera, teniendo en cuenta la capacidad del Pb de generar estrés oxidativo a bajas concentraciones y la escasa sensibilidad de los parámetros hematológicos como indicadores de intoxicación, en la actualidad están siendo estudiados diversos componentes del sistema antioxidante como posibles bioindicadores de exposición al Pb (Patrick 2006b). Sin embargo, a pesar de que un gran número de estudios evidencian una correlación positiva entre las concentraciones de Pb y alteraciones en estos parámetros indicadores de estrés oxidativo en diversos órganos, es importante tener en cuenta que estas alteraciones, al igual que las observadas a nivel hematopoyético, no son específicas de exposición a este metal, pudiendo ser observadas en diversas intoxicaciones y patologías (Forsberg y col. 2001; Cutler 2005; Kregel y Zhang 2007). Además, y puesto que estos cambios son altamente variables dependiendo de los niveles de Pb y del tiempo de exposición al metal, se sugiere utilizar estos bioindicadores como un método complementario al diagnóstico tradicional de intoxicación por Pb, sumándose a la determinación de los niveles de PbS y la anamnesis del paciente bajo estudio.

Por otra parte, a pesar de que hasta hoy la estrategia terapéutica implementada contra la intoxicación por Pb y otros metales está basada en la utilización de agentes quelantes (Flora y col. 2007a; 2008), el gran avance en el estudio del estrés oxidativo como mecanismo fisiopatológico de este tipo de intoxicaciones, ha puesto en evidencia a una gran diversidad de compuestos antioxidantes como posibles agentes terapéuticos (Ahamed y Siddiqui 2007). Esta estrategia es considerada, en algunos casos, como más eficiente y con menor capacidad de generar efectos adversos en relación a los métodos basados en la quelación actualmente utilizados (Hsu y Guo 2002); como así también, de gran aplicación como un método preventivo de intoxicación (Gulson y col. 2001; Gautam y Flora 2010).

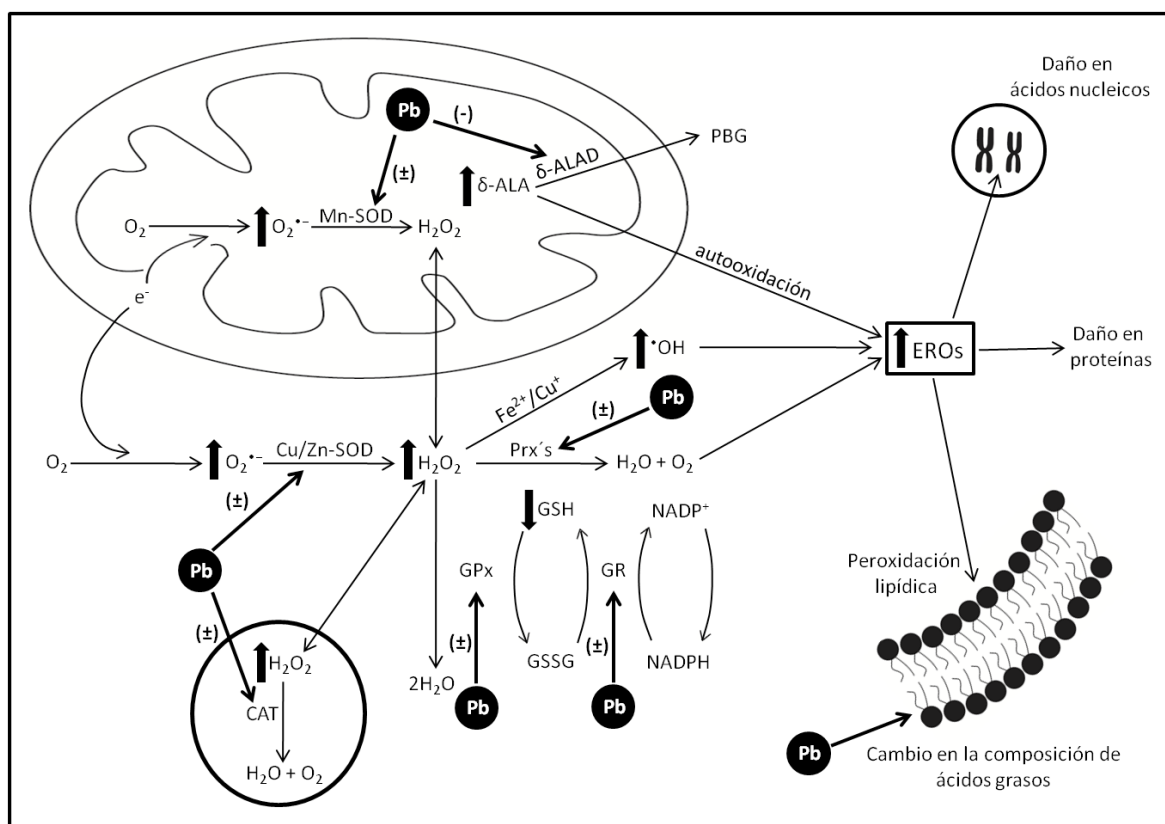


Figura 1. Mecanismos involucrados en el daño oxidativo celular inducido por Pb.

Si bien a bajos niveles el Pb promueve un incremento en la actividad del sistema antioxidante celular, a elevadas concentraciones inhibe la actividad de enzimas que metabolizan el H₂O₂ como CAT, GPx y Prx's, lo que lleva a un incremento de H₂O₂ y favorece su conversión a *OH mediante la reacción de Fenton. Por otra parte, el efecto inhibitorio de altos niveles de Pb sobre δ-ALAD, GR y los subtipos de SOD favorece el incremento de radicales libres, disminuye las reservas de GSH e impide la eliminación de O₂⁻. Como consecuencia, el resultante aumento de EROs inducirá daño celular a diversos niveles, efecto que se verá potenciado por la capacidad del Pb de alterar la integridad de la membrana plasmática, lo que hace a la célula más susceptible al estrés oxidativo.

(-): efecto inhibitorio; (±): efecto estimulante o inhibitorio dependiente de la concentración de Pb; █: Incremento; █: Disminución.

En conclusión, un creciente número de evidencias indica que la alteración a nivel del sistema antioxidante celular es uno de los principales mecanismos responsables de la intoxicación por Pb y que los cambios bioquímicos observados en este sistema pueden ser indicadores de exposición y/o intoxicación por este metal. Sin embargo, dada la complejidad del sistema antioxidante y la diversidad de efectos inducidos por Pb en el organismo, es clara la necesidad de seguir investigando sobre los mecanismos de toxicidad del Pb que involucran alteraciones en el equilibrio de óxido-reducción del organismo, a fin de mejorar los métodos clínicos diagnósticos y terapéuticos utilizados frente a la intoxicación por este metal, que a pesar de las políticas implementadas en diver-

sos países, continúa siendo un problema que concierne a la salud pública mundial.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

Acharya S., Acharya U.R. In vivo lipid peroxidation responses of tissues in lead-treated Swiss mice. *Ind Health*. 1997;35(4):542-544.

Adonaylo V.N., Oteiza P.I. Lead intoxication: antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain. *Toxicology*. 1999;135(2-3):77-85.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) [en línea]. Toxicological profile for lead. (Draft for Public Comment). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; 2007 [actualizado]

lizado al 15 de Julio de 2008; consulta: 21 de Septiembre de 2009]. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp13.pdf>.

Ahamed M., Siddiqui M.K. Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *Clin Chim Acta.* 2007;383(1-2):57-64.

Ahamed M., Verma S., Kumar A., Siddiqui M.K. Environmental exposure to lead and its correlation with biochemical indices in children. *Sci Total Environ.* 2005;346(1-3):48-55.

Ahamed M., Verma S., Kumar A., Siddiqui M.K. Delta-aminolevulinic acid dehydratase inhibition and oxidative stress in relation to blood lead among urban adolescents. *Hum Exp Toxicol.* 2006;25(9):547-553.

Aimo L, Oteiza P.I. Zinc deficiency increases the susceptibility of human neuroblastoma cells to lead-induced activator protein-1 activation. *Toxicol Sci.* 2006;91(1):184-191.

Antonio-García M.T., Massó-Gonzalez E.L. Toxic effects of perinatal lead exposure on the brain of rats: involvement of oxidative stress and the beneficial role of antioxidants. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(6):2089-2095.

Azzi A., Boscoboinik D., Hensey C. The protein kinase C family. *Eur J Biochem.* 1992;208(3):547-557.

Balparda J.K. Intoxicación por plomo: una revisión con énfasis en la población pediátrica. *Rev CES Med.* 2008;22(1):43-58.

Batra N., Nehru B., Bansal M.P. The effect of zinc supplementation on the effects of lead in the rat testis. *Reprod Toxicol.* 1998;12(5):535-540.

Bechara E.J. Oxidative stress in acute intermittent porphyria and lead poisoning may be triggered by 5-aminolevulinic acid. *Braz J Med Res.* 1996;29(7):841-851.

Bellinger D.C., Needleman H.L. Intellectual impairment and blood lead levels. *N Engl J Med.* 2003;349(5):500-502.

Betteridge D.J. What is oxidative stress? *Metabolism.* 2000;49(2Suppl1):3-8.

Bokara K.K., Brown E., McCormick R., Yalla-pragada P.R., Rajanna S., Bettaiya R. Lead-induced increase in antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in developing rat brain. *Biometals.* 2008;21(1):9-16.

Brigelius-Flohé R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biol Chem.* 2006;387(10-11):1329-1335.

Bussche J.V., Soares E.V. Lead induces oxidative stress and phenotypic markers of apoptosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;90(2):679-687.

Bustamante J., Lodge J.K., Marcocci L., Tritschler H.J., Packer L., Rihn B.H. alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radical Biol Med.* 1998;24(6):1023-1039.

Cabaravdic M., Mijanovic M., Kusturica J., Cabaravdic A. Occupational exposure of workers at gas station to inorganic lead. *Med Arh.* 2010;64(2):107-109.

Calderón-Cabrera L., Durán-Galetta M. G., García I., Galetta D., Lacruz L., Naranjo R., Pérez B., Ferreira E. Determination of the N-acetylcysteine and methionine effects in the cerebellum of rats intoxicated with lead. *Invest Clin.* 2008;49(1):17-28.

Canfield R.L., Henderson C.R. Jr., Cory-Slechta D.A., Cox C., Jusko T.A., Lanphear B.P. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 microg per deciliter. *N Engl J Med.* 2003;348(16):1517-1526.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [en línea]. Screening young children for lead poisoning: guidance for State and Local Public Health Officials. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Public Health Service; 1991. [Actualizado al 1 de Junio de 2009; consulta: 21 de Septiembre de 2009]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nceh/lead/publications/screening.htm>

Chiba M., Shinohara A., Matsushita K., Watanabe H., 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(1):49-62.

Choi H.J., Kang S.W., Yang C.H., Rhee S.G., Ryu S.E. Crystal structure of a novel human peroxidase enzyme at 2.0 Å resolution. *Nat Struct Biol.* 1998;5(5):400-406.

Circu M.L., Aw T.Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med.* 2010;48(6):749-762.

Conterato G.M., Augusti P.R., Somacal S., Einsfeld L., Sobieski R., Torres J.R., Emanuelli T. Effect of lead acetate on cytosolic thioredoxin reductase activity and oxidative stress parameters in rat kidneys. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2007;101(2):96-100.

Costa C.A., Trivelato G.C., Pinto A.M., Bechara E.J. Correlation between plasma 5-aminolevulinic acid concentrations and indicators of oxidative stress in lead-exposed workers. *Clin Chem.* 1997;43(7):1196-1202.

Cutler R.G. Oxidative stress profiling: part I. Its potential importance in the optimization of human health. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1055:93-135.

Daggett D.A., Oberley T.D., Nelson S.A., Wright L.S., Kornguth S.E., Siegel F.L. Effects of lead on rat kidney and liver: GST expression and oxidative stress. *Toxicology.* 1998;128(3):191-206.

Dalley J.W., Gupta P.K., Hung C.T. A physiological pharmacokinetic model describing the disposition of lead in the absence and presence of L-ascorbic acid in rats. *Toxicol Lett.* 1990;50(2-3):337-348.

Daniel S., Limson J.L., Dairam A., Watkins G.M., Daya S. Through metal binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *J Inorg Biochem.* 2004;98(2):266-275.

Das K.K., Saha S. L-ascorbic and alpha tocopherol supplementation and antioxidant status in nickel- or lead-exposed rat brain tissue. *J Basic Physiol Pharmacol.* 2010;21(4):325-346.

Ding Y., Gonick H.C., Vaziri N.D. Lead promotes hydroxyl radical generation and lipid peroxidation in cultured aortic endothelial cells. *Am J Hypertens.* 2000;13(5Pt1):552-555.

Douki T., Onuki J., Madeiros M.H., Bechara E.J., Cadet J., Di Mascio P. DNA alkylation by 4,5-dioxovaleric acid, the final oxidation product of 5-aminolevulinic acid. *Chem. Res Toxicol.* 1998b;11(2):150-157.

Douki T., Onuki J., Madeiros M.H., Bechara E.J., Cadet J., Di Mascio P. Hydroxyl radicals are involved in the oxidation of isolated and cellular DNA bases by 5-aminolevulinic acid. *FEBS Lett.* 1998a;428(1-2):93-96.

El-Shafai A., Zohdy N., El Mulla K., Hassan M., Morad N. Light and electron microscopic study of the toxic effect of prolonged lead exposure on the seminiferous tubules of albino rats and the possible protective effect of ascorbic acid. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(4):734-743.

Ercal N., Treeratphan P., Hammond T.C., Matthews R.H., Grannemann N.H., Spitz D.R. In vivo indices of oxidative stress in lead-exposed C57BL/6 mice are reduced by treatment with meso-2,3-dimercaptosuccinic acid or N-acetylcysteine. *Free Radic Biol Med.* 1996;21(2):157-161.

Ergurhan-Ilhan I., Cadir B., Koyuncu-Arslan C., Arslan C., Gultepe F. M., Ozkan G. Level of oxidative stress and damage in erythrocytes in apprentices indirectly exposed to lead. *Pediatr Int.* 2008;50(1):45-50.

Fan G., Feng C., Li Y., Wang C., Yan J., Feng J., Shi X., Bi Y. Selection of nutrients for prevention or amelioration of lead-induced learning and memory impairment in rats. *Ann Occup Hyg.* 2009;53(4):341-351.

Faraci F.M., Didion S.P. Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(8):1367-1373.

Findlay V.J., Tapiero H., Townsend D.M. Sulfiredoxin: a potential therapeutic agent? *Bio-med Pharmacother.* 2005;59(7):374-379.

Fischer A.B., Hess C., Neubauer T., Eikmann T. Testing of chelating agents and vitamins against lead toxicity using mammalian cell cultures. *Analyst.* 1998;123(1):55-58.

Flora G.J., Seth P.K. Alterations in some membrane properties in rat brain following exposure to lead. *Cytobios.* 2000;103(403):103-109.

Flora S.J., Flora G., Saxena G., Mishra M. Arsenic and lead induced free radical generation and their reversibility following chelation. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2007a;53(1):26-47.

Flora S.J., Jain V.K., Behari J.R., Tandon S.K. Protective role of trace metals in lead intoxication. *Toxicol Lett.* 1982;13(1-2):51-56.

Flora S.J., Mittal M., Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res.* 2008;128(4):501-523.

Flora S.J., Pande M., Kannan G.M., Mehta A. Lead induced oxidative stress and its recovery following co-administration of melatonin or N-acetylcysteine during chelation with succimer in male rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2004;50:OL543-OL551.

Flora S.J., Pande M., Mehta A. Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chem Biol Interact.* 2003;145(3):267-280.

Flora S.J., Saxena G., Mehta A. Reversal of lead-induced neuronal apoptosis by chelation treatment in rats: role of reactive oxygen species and intracellular Ca²⁺. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007b;322(1):108-116.

Forman H.J., Zhang H., Rinna A. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol Aspects Med.* 2009;30(1-2):1-12.

Forsberg L., de Faire U., Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys.* 2001;389(1):84-93.

Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:97-112.

Fujita H., Nishitani C., Ogawa K. Lead, chemical porphyria, and heme as a biological mediator. *Tohoku J Exp Med.* 2002;196(2):53-64.

García-Ruiz C., Fernández-Checa J.C. Mitochondrial glutathione: hepatocellular survival-death switch. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21(Suppl3):S3-S6.

Gautam P., Flora S.J. Oral supplementation of gossypin during lead exposure protects alteration in heme synthesis pathway and brain oxidative stress in rats. *Nutrition.* 2010;26(5):563-570.

Goering P.L. Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. *Neurotoxicology.* 1993;14(2-3):45-60.

Grover P., Rekhadevi P. V., Danadevi K., Vuyyuri S. B., Mahboob M., Rahman M. F. Genotoxicity evaluation in workers occupationally exposed to lead. *Int Hyg Environ Health.* 2010;213(2):99-106.

Gulson B.L., Mizon K.J., Korsch M.J., Mahaffey K.R., Taylor A.J. Dietary intakes of selected elements from longitudinal 6-day duplicate diets for pregnant and nonpregnant subjects and elemental concentrations of breast milk and infants formula. *Environ Res.* 2001;87(3):160-174.

Gurer H., Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic Biol Med.* 2000;29(10):927-945.

Gurer H., Ozgunes H., Neal R., Spitz D.R., Ercal N. Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood from lead-exposed rats. *Toxicology.* 1998;128(3):181-189.

Gurer-Orhan H., Sabir H.U., Ozgunes H. Correlation between clinical indicators of lead poisoning and oxidative stress parameters in controls and lead-exposed workers. *Toxicology.* 2004;195(2-3):147-154.

Han D., Handelman G., Marcocci L., Sen C.K., Roy S., Kobuchi H, Tritschler H.J., Flohé L., Packer L. Lipoic acid increases de novo synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization. *Biofactors.* 1997;6(3):321-338.

Han S.G., Kim Y., Kashon M.L., Pack D.L., Castanova V., Vallyathan V. Correlates of oxidative stress and free-radical activity in serum from asymptomatic shipyard welders. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172(12):1541-1548.

Hansen J.M., Zhang H., Jones D.P. Differential oxidation of thioredoxin-1, thioredoxin-2, and glutathione by metal ions. *Free Radic Biol Med.* 2006;40(1):138-145.

Hermes-Lima M., Pereira B., Bechara E.J.H. Are free radicals involved in lead poisoning? *Xenobiotica.* 1991;21(8):1085-1090.

Hiraku Y., Kawanishi S. Mechanism of oxidative DNA damage induced by delta-aminolevulinic acid in the presence of copper ion. *Cancer Res.* 1996;56(8):1786-1793.

Hogg N. The biochemistry and physiology of S-nitrosothiols. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 2002;42:585-600.

Hsu P.C., Guo Y.L. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology.* 2002;180(1):33-44.

Hsu P.C., Hsu C.C., Liu M.Y., Chen L.Y., Guo Y.L. Lead-induced changes in spermatozoa function and metabolism. *J Toxicol Environ Health A.* 1998;55(1):45-64.

Hunaiti A., Soud M., Khalil A. Lead concentration and the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in the blood of some occupational workers from Irbid City, Jordan. *Sci Total Environ.* 1995;170(1-2):95-100.

Ichiba M., Tomokuni K. Studies on erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase (P5N) test and its evaluation in workers occupationally exposed to lead. *Int Arch Occup Environ Health.* 1990;62(4):305-310.

Ito Y., Niiya Y., Kurita H., Shima S., Sarai S. Serum lipid peroxide level and blood superoxide dismutase activity in workers with occupational exposure to lead. *Int Arch Occup Environ Health.* 1985;56(2):119-127.

Izawa S., Inoue Y., Kimura A. Importance of catalase in the adaptive response to hydrogen peroxide: analysis of acatalasemic *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem J.* 1996;320(Pt1):61-67.

Jiao J., Lü G., Liu X., Zhu H., Zhang Y. Reduction of blood lead levels in lead-exposed mice by dietary supplements and natural antioxidants. *J Sci Food Agric.* 2011;91(3):185-491.

Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 2011;283(2-3):65-87.

Jurczuk M., Brzóška M. M., Moniuszko-Jakoniuk J. Hepatic and renal concentrations of vitamins E and C in lead- and ethanol-exposed rats. An assessment of their involvement in the mechanisms of peroxidative damage. *Food Chem Toxicol.* 2007;45(8):1478-1486.

Jurczuk M., Moniuszko-Jakoniuk J., Brzóška M.M. Involvement of some low-molecular thiols in the peroxidative mechanisms of lead and ethanol action on rat liver and kidney. *Toxicology.* 2006;219(1-3):11-21.

Jusko T.A., Henderson C.R., Lanphear B.P., Cory-Slechta D.A., Parsons P.J., Canfield R.L. Blood lead concentrations < 10 microg/dL and child intelligence at 6 years of age. *Environ Health Perspect.* 2008;116(2):243-248.

Kang H. G., Jeong S. H., Cho M. R., Bischoff K. Time-dependent changes in lead and delta-aminolevulinic acid after subchronic lead exposure in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2009;28(10):647-654.

Kaplowitz N., Aw T.Y., Ookhtens M. The regulation of hepatic glutathione. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1985;25:715-744.

Kasperczyk S., Birkner E., Kasperczyk A., Zalejska-Fiolka J. Activity of superoxide dismutase and catalase in people protractedly exposed to lead compounds. *Ann Agric Environ Med.* 2004;11(2):291-296.

Kehrer J.P. The Heber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology.* 2000;149(1):43-50.

Kharoubi O., Slimani M., Aoues A., Seddik L. Prophylactic effects of Wormwood on lipid peroxidation in an animal model of lead intoxication. *Indian J Nephrol.* 2008;18(2):51-57.

Kim Y.O., Pyo M.Y., Kim J.H. Influence of melatonin on immunotoxicity of lead. *Int J Immunopharmacol.* 2000;22(10):821-832.

Knowles S.O., Donaldson W.E. Dietary modification of lead toxicity: effects on fatty acid and eicosanoid metabolism in chicks. *Comp*

Biochem Physiol C. 1990;95(1):99-104.

Kontos H.A., Wei E.P., Ellis E.F., Jenkins L.W., Povlishock J.T., Rowe G.T., Hess M.L. Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ Res.* 1985;57(1):142-151.

Kosik-Bogacka D.I., Baranowska-Bosiacka I., Marchlewicz M., Kolasa A., Olszewska M., Lanocha N., Wiernicki I., Millo B., Wiszniewska B., Chlubek D. The effects of L-ascorbic acid and/or tocopherol supplementation on electrophysiological parameters of the colon of rats chronically exposed to lead. *Med Sci Monit.* 2011;17(1):BR16-26.

Kotler M., Rodriguez C., Sainz R.M., Antolín I., Menéndez-Palález A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res.* 1998;24(2):83-89.

Kregel K.C., Zhang H.J. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;292(1):R18-R36.

Lauwerys R., Roels H., Buchet J.P., Bernard A.A., Verhoeven L., Konings J. The influence of orally-administered vitamin C or zinc on the absorption of and biological response to lead. *J Occup Med.* 1983;25(9):668-678.

Lawton L.J., Donaldson W.E. Lead-induced tissue fatty acid alterations and lipid peroxidation. *Biol Trace Elem Res.* 1991;28(2):83-97.

Lee D.H., Lim J.S., Song K., Boo Y., Jacobs D.R. Jr. Graded associations of blood lead and urinary cadmium concentrations with oxidative-stress-related markers in the U.S. population: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Environ Health Perspect.* 2006;114(3):350-354.

Leggett R.W. An age-specific kinetic model of lead metabolism in humans. *Environ Health Perspect.* 1993;101(7):598-616.

Li G.J., Zhang L.L., Lu L., Wu P., Zheng W. Occupational exposure to welding fume among welders: alterations of manganese, iron, zinc, copper, and lead in body fluids and the oxi-

dativ stress status. *J Occup Environ Med.* 2004;46(3):241-248.

Liao Y., Yu F., Jin Y., Lu C., Li G., Zhi X., An L., Yang J. Selection of micronutrients used along with DMSA in the treatment of moderately lead intoxicated mice. *Arch Toxicol.* 2008a;82(1):37-43.

Liao Y., Zhang J., Jin Y., Lu C., Li G., Yu F., Zhi X., An L., Yang J. Therapeutic potentials of combined use of DMSA with calcium and ascorbic acid in the treatment of mild to moderately lead intoxicated mice. *Biometals.* 2008b;21(1):1-8.

Lin S., Cullen W.R., Thomas D.J. Methylarsenicals and arsinothiols are potent inhibitors of mouse liver thioredoxin reductase. *Chem Res Toxicol.* 1999;12(10):924-930.

Liu C-M., Zheng Y-L., Lu J., Zhang Z-F., Fan S-H., Wu D-M., Ma J-Q. Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2010;29:158-166.

Lu S.C. Regulation of synthesis. *Mol Aspects Med.* 2009;30(1-2):42-59.

Machartová V., Racek J., Kohout J., Senft V., Trefil L. Effect of antioxidant therapy on indicators of radical activity in workers at risk of lead exposure. *Vnitr Lek.* 2000;46(8):444-446.

Markowitz M. Lead poisoning. *Pediatr Rev.* 2000;21(10):327-335.

Marnett L.J. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* 2000;21(3):361-370.

Massó-González E.L., Antonio-García M.T. Natural antioxidants protect against lead-induced damage during pregnancy and lactation rat's pups. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2009;72(8):2137-2142.

Mayo J.C., Tan D.X., Sainz R.M., Natarajan M., Lopez-Burillo S., Reiter R.J. Protection against oxidative protein damage induced by metal-catalyzed reaction or alkylperoxyl radicals: comparative effects of melatonin and other antioxidants. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1620(1-3):139-150.

McGowan C. Influence of vitamin B6 status on aspects of lead poisoning in rats. *Toxicol Lett.* 1989;47(1):87-93.

McIntyre M., Bohr D.F., Dominiczak A.F. Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension.* 1999;34(4Pt1):539-545.

Mikler J., Banovcin P., Jesenak M., Hamzikova J., Statelova D. Successful treatment of extreme acute lead intoxication. *Toxicol Ind Health.* 2009;25(2):137-140.

Mohammad A., Ali N., Reza B., Ali K. Effect of ascorbic acid supplementation on nitric oxide metabolites and systolic blood pressure in rats exposed to lead. *Indian J Pharmacol.* 2010;42(2):78-81.

Monteiro H.P., Abdalla D.S., Augusto O., Bechara E.J. Free radical generation during delta-aminolevulinic acid auto-oxidation: induction by hemoglobin and connections with porphyripathies. *Arch Biochem Biophys.* 1989;271(1):206-216.

Morin B., Narbonne J.F., Ribera D., Badouard C., Ravanat J.L. Effect of dietary fat-soluble vitamins A and E and proanthocyanidin-rich extract from grape seeds on oxidative DNA damage in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(2):787-796.

Moshtaghie A. A., Ani M., Aghadavod E., Fazilati M. Protective effects of selenium and zinc on changes in catecholamine levels of brain regions in lead intoxicated rat. *Pak J Biol Sci.* 2007;10(17):2964-2967.

Muller F.L., Lustgarten M.S., Jang Y., Richardson A., Van Remmen H. Trends in oxidative aging theories. *Free Radic Biol Med.* 2007;43(4):477-503.

Neal R., Yang P., Fiechtl J., Yildiz D., Gurer H., Ercal N. Pro-oxidant effects of delta-aminolevulinic acid (delta-ALA) on Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicol Lett.* 1997;91(3):169-178.

Needleman H. Lead poisoning. *Annu Rev Med.* 2004;55:209-222.

Nordberg J., Arnér E.S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(11):1287-1312.

Noriega G.O., Tomaro M.L., Del-Batlle A.M. Bilirubin is highly effective in preventing in vivo delta-aminolevulinic acid-induced oxidative cell damage. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1638(2):173-178.

Oja S.S., Janaky R., Varga V., Saranasari P. Modulation of glutamate receptor functions by glutathione. *Neurochem Int.* 2000;37(2-3):299-306.

Oktem F., Arslan M.K., Dündar B., Delibas N., Gültepe M., Ergürhan İlhan I. Renal effects and erythrocyte oxidative stress in long-term low-level lead-exposed adolescent workers in auto repair workshops. *Arch Toxicol.* 2004;78(12):681-687.

Omenn G.S., Goodman G.E., Thornquist M.D., Balmes J., Cullen M.R., Glass A., Keogh J.P., Meykens F.L., Valanis B., Williams J.H., Barnhart S., Hammar S. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 1996;334(18):1150-1055.

Osman K., Schürtz A., Akesson B., Marciniak F., Vahter M. Interactions between essential and toxic elements in lead exposed children in Katowice, Poland. *Clin Biochem.* 1998;31(8):657-665.

Othman A.I., El-Missiry M.A. Role of selenium against lead toxicity in male rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 1998;12(6):345-349.

Othman A.I., Sharawy S., el-Missiry M.A. Role of melatonin in ameliorating lead induced haematotoxicity. *Pharmacol Res.* 2004;50(3):301-307.

Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr.* 1991;53(4 Suppl):1050S-1055S.

Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med.* 1995;19(2):227-250.

Pallardó F.V., Markovic J., García J.L., Viña J. Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. *Mol Aspects Med.* 2009;30(1-2):77-85.

Pande M., Flora S.J. Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of alpha-lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology.* 2002;177(2-3):187-196.

Pande M., Mehta A., Pant B.P., Flora S.J. Combined administration of a chelating agent and an antioxidant in the prevention and treatment of acute lead intoxication in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2001;9(4):173-184.

Patil A.J., Bhagwat V.R., Patil J.A., Dongre N.N., Ambekar J.G., Jaiikhani R., Das K.K. 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):329-337.

Patra R.C., Swarup D., Dwivedi S.K. Antioxidant effects of alpha tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology.* 2001;162(2):81-88.

Patrick L. Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Altern Med Rev.* 2006a;11(1):2-22.

Patrick L. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Altern Med Rev.* 2006b;11(2):114-127.

Penugonda S., Ercal N. Comparative evaluation of N-acetylcysteine (NAC) and N-acetylcysteine amide (NACA) on glutamate and lead-induced toxicity in CD-1. *Toxicol Lett.* 2011;201(1):1-7.

Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A., De Tata V., Casini A.F. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol.* 2003;66(8):1499-1503.

Powell S.R. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr.* 2000;130(5S Suppl):1447S-1454S.

Reckziegel P., Dias V.T., Benvegnú D., Boufleur N., Silva Barcelos R.C., Segat H.J., Pase C.S., Dos Santos C.M., Flores E.M., Bürger M.E. Locomotor damage and brain oxidative stress induced by lead exposure are attenuated by gallic acid treatment. *Toxicol Lett.* 2011;203(1):74-81.

Reed D.J., Orrenius S. The role of methionine in glutathione biosynthesis by isolated hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1977;77(4):1257-1264.

Reiter R.J. Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2003;17(2):273-285.

Reiter R.J., Tan D.X., Qi W., Manchester L.C., Karbownik M., Calvo J.R. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept.* 2000;9(3-4):160-171.

Rendon-Ramirez A., Cerbon-Solorzano J., Maldonado-Vega M., Quintanar-Escorza M.A., Calderon-Salinas J.V. Vitamin-E reduces the oxidative damage on delta-aminolevulinic dehydratase induced by lead intoxication in rat erythrocytes. *Toxicology In Vitro.* 2007;21(6):1121-1126.

Rhee S.G., Chae H.Z., Kim K. Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med.* 2005;38(12):1543-1552.

Roberts R.A., Laskin D.L., Smith C.V., Robertson F.M., Allen E.M., Doorn J.A., Slikker W. Nitrate and oxidative stress in toxicology and disease. *Toxicol Sci.* 2009;112(1):4-16.

Rogan W.J., Dietrich K.N., Ware J.H., Dockery D.W., Salganik M., Radcliffe J, Jones R.L., Ragan N.B., Rhoads G.G. The effect of chelation therapy with succimer on neuropsychological development in children exposed to lead. *N Engl J Med.* 2001;344(19):1421-1426.

Ryan-Harshman M., Aldoori W. The relevance of selenium to immunity, cancer, and infectious/inflammatory diseases. *Can J Diet Pract Res.* 2005;66(2):98-102.

Sakai T., Morita Y. Delta-aminolevulinic acid in plasma or whole blood as a sensitive indicator of lead effects, and its relation to the other heme-related parameters. *Int Arch Occup Environ Health.* 1996;68(2):126-132.

Sandhir R., Julka D., Gill K.D. Lipoperoxidative damage on lead exposure in rat brain and its implications on membrane bound enzymes. *Pharmacol Toxicol.* 1994;74(2):66-71.

Selvaraj N., Bobby Z., Sathiyapriya V. Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. *Clin Chim Acta.* 2006;366(1-2):190-195.

Shastri D., Kumar M., Kumar A. Modulation of lead toxicity by *Spirulina fusiformis*. *Phytother Res.* 1999;13(3):258-260.

Singh B., Dhawan D., Nehru B., Garg M.L., Mangal P.C., Chand B., Trehan P.N. Impact of lead pollution on the status of other trace metals in blood and alterations in hepatic functions. *Biol Trace Elem Res.* 1994;40(1):21-29.

Sivaprasad R., Nagaraj M., Varalakshmi P. Lipoic acid in combination with a chelator ameliorates lead-induced peroxidative damages in rat kidney. *Arch Toxicol.* 2002;76(8):437-441.

Sivaprasad R., Nagaraj M., Varalakshmi P. Combined efficacies of lipoic acid and 2,3-dimercaptosuccinic acid on lead-induced erythrocyte membrane lipid peroxidation and antioxidant status in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2003;22(4):183-192.

Sivaprasad R., Nagaraj M., Varalakshmi P. Combined efficacies of lipoic acid and 2,3-dimercaptosuccinic acid against lead-induced lipid peroxidation in rat liver. *J Nutr Biochem.* 2004;15(1):18-23.

Soares F., Farina M., Santos F.W., Souza D., Rocha J.B., Nogueira C. W. Interaction between metals and chelating agents affects glutamate binding on brain synaptic membranes. *Neurochem Res.* 2003;28(12):1859-1865.

Soltaninejad K., Kebriaeezadeh A., Minaiee B., Ostad S.N., Hosseini R., Azizi E., Abdollahi M. Biochemical and ultrastructural evidences for toxicity of lead through free radicals in rat brain. *Hum Exp Toxicol.* 2003;22(8):417-23.

Somashekaraiah B.V, Venkaiah B., Prasad A.R. Biochemical diagnosis of occupational exposure to lead toxicity. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1990;44(2):268-275.

Souza A.M, Tavares C.F.F. Chumbo e anemia. *Medicina (Ribeirão Preto).* 2009;42(3):337-340.

Stadtman E.R., Levine R.L. Protein oxidation. *Ann N. Y. Acad Sci.* 2000; 899:191-208.

Tandon S.K., Chatterjee M., Bhargava A., Shukla V., Bihari V. Lead poisoning in Indian silver refiners. *Sci Total Environ.* 2001;281(1-3):177-182.

Tandon S.K., Flora S.J., Singh S. Influence of pyridoxine (vitamin B6) on lead intoxication in rats. *Ind Health.* 1987;25(2):93-96.

Tandon S.K., Singh S., Flora S.J. Influence of methionine-zinc supplementation during chelation of lead in rats. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1994;8(2):75-78.

Tandon S.K., Singh S., Prasad S., Srivastava S., Siddiqui M.K. Reversal of lead-induced oxidative stress by chelating agent, antioxidant, or their combination in the rat. *Environ Res.* 2002;90(1):61-66.

Trachootham D., Lu W., Orasawara M.A., Nilsa R.D., Huang P. Redox re regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal.* 2008;10(8):1343-1374.

Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.* 2003;552(Pt2):335-344.

Vij A.G., Satija N.K., Flora S.J. Lead induced disorders in hematopoietic and drug metabolizing enzyme system and their protection by ascorbic acid supplementation. *Biomed Environ Sci.* 1998;11(1):7-14.

Wang C., Liang J., Zhang C., Bi Y., Shi X., Shi Q. Effect of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in liver. *Ann Occup Hyg.* 2007;51(6):563-569.

Wang H.L., Chen X.T., Yang B., Ma F.L., Wang S., Tang M.L., Hao M.G., Ruan D.Y. Case-control study of lead levels and attention deficit hyper-

ractivity disorder in Chinese children. *Environ Health Perspect.* 2008a;116(10):1401-1406.

Wang H. L., Chen X. T., Yin S. T., Liu J., Tang M. L., Wu C. Y., Ruan D. Y. Opposite effects of alpha-lipoic acid on antioxidation and long-term potentiation in control and chronically lead-exposed rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2008b; 378(3):303-310.

Wang J., Wu J., Zhang Z. Oxidative stress in mouse brain exposed to lead. *Ann Occup Hyg.* 2006;50(4):405-409.

Wang Q., Ye L. X., Zhao H. H., Chen J. W., Zhou Y. K. Benchmark dose approach for low-level lead induced haematogenesis inhibition and associations of childhood intelligences with ALAD activity and ALA levels. *Sci Total Environ.* 2011;409(10):1806-1810.

Wang Q., Zhao H. H., Chen J. W., Hao Q. L., Gu K. D., Zhu Y. X., Zhou Y. K., Ye L. X. delta-Aminolevulinic acid dehydratase activity, urinary delta-aminolevulinic acid concentration and zinc protoporphyrin level among people with low level of lead exposure. *Int J Hyg Environ Health.* 2010;213(1):52-58.

West W.L., Knight E.M., Edwards C.H., Manning M., Spurlock B., James H., Johnson A.A., Oyemade U.J., Cole O.J., Westney O.E., Laryea H., Jones S., Westney L.S. Maternal low level lead and pregnancy outcomes. *J Nutr.* 1994;124(6Suppl):981S-986S.

Wilhelm-Filho D., Avila S. Jr., Possamai F. P., Parisotto E. B., Moratelli A. M., Garlet T. R., Inácio D. B., Torres M. A., Colepicolo P., Dal-Pizzol F. Antioxidant therapy attenuates oxidative stress in the blood of subjects exposed to occupational airborne contamination from coal mining extraction and incineration of hospital residues. *Ecotoxicology.* 2010;19(7):1193-1200.

Witte A.B., Anestal K., Jerremalm E., Ehrsson H., Arnér E.S. Inhibition of thioredoxin reductase but not of glutathione reductase by the

major classes of alkylating and platinum-containing anticancer compounds. *Free Radic Biol Med.* 2005;39(5):696-703.

Xia Y., Dawson V.L., Dawson T.M., Snyder S.H., Zweier J.L. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93(13):6770-6774.

Xia Y., Zweier J.L. Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(13):6954-6958.

Xu J., Lian L., Wu C., Wang X., Fu W., Xu L. Lead induces oxidative stress, DNA damage and alteration of p53, Bax and Bcl-2 expressions in mice. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(5):1488-1494.

Yan H., Harding J.J. Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochem J.* 1997;328(Pt2):599-605.

Yiin S.J., Lin T.H. Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid. *Biol Trace Elem Res.* 1995;50(2):167-172.

Yla-Herttuala S. Oxidized LDL and atherogenesis. *Ann N. Y. Acad Sci.* 1999;874:134-137.
Yu F., Liao Y., Jin Y., Zhao Y., Ren Y., Lu C., Li G., Li Y., Yang J. Effects of in utero meso-2,3-dimercaptosuccinic acid with calcium and ascorbic acid n lead-induced fetal development. *Arch Toxicol.* 2008;82(7):453-459.

Yuan X., Tang C. The accumulation effect of lead on DNA damage in mice blood cells of three generations and the protection of selenium. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2001;36(4):501-508.

Zimmerman B.J., Granger D.N. Mechanisms of reperfusion injury. *Am J Med Sci.* 1994;307(4):284-292.