

Artículo original

## Valoración del efecto de la Erdosteina en cuadros de intoxicación con Paraquat en ratas BIOU: Wistar y comparación con la N-acetil-cisteína mediante determinación de malondialdehído por Espectroscopia UV

Assessing the effect of Erdosteine Paraquat poisoning boxes in rats BIOU: Wistar and comparison to N-acetylcysteine by determination of malondialdehyde by spectroscopy UV

Di Bernardo Maria<sup>1</sup>; Zambrano de Dávila Thania<sup>2</sup>; Morales Yasmin<sup>3</sup>; Brito Sulay<sup>4</sup>; Rojas de Marín Tibusay<sup>2</sup>; Montero Yepsy<sup>5</sup>; Osorio Andrés<sup>5</sup>; Montoya Dubelia<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Toxicología y Farmacología Facultad de Farmacia y Bioanálisis, <sup>2</sup> Postgrado de Toxicología Médica, <sup>3</sup> Centro de Microscopia Electrónica, Facultad de Medicina <sup>4</sup> Instituto de Educación Especial Los Ángeles, <sup>5</sup> Bioterio. Universidad de Los Andes, Mérida CP 5101, República Bolivariana de Venezuela.

Recibido febrero 2018 – Aceptado julio de 2018

### RESUMEN

El herbicida Paraquat (PQ) ha sido estudiado por diferentes investigadores, en la búsqueda de tratamientos eficaces para contrarrestar sus efectos tóxicos en los seres humanos que por ingesta accidental o voluntaria hacen uso del mismo, resultando en la mayoría de los casos letales. El daño causado por el PQ se debe principalmente al estrés oxidativo que provoca la peroxidación lipídica de la membrana y a la disminución de Nicotinamida difosfato (NADP), se manifiesta con inflamación, edema y posteriormente fibrosis pulmonar. El objetivo de este estudio fue comparar si el tratamiento con Erdosteina resulta más eficaz que con N-Acetilcisteína (NAC), el cual resultaría de menor costo y fácil acceso. Se emplearon 46 ratas de ambos géneros, en edad P=51, con pesos de promedios de  $80 \pm 20$  las cuales fueron sometidas experimentalmente a dosis de 15 y 30 mg/kg de peso de PQ vía oral. Los animales fueron clasificados en grupos según dosis de PQ y tratamiento. La cuantificación sérica de (malondialdehído) MDA se realizó mediante la técnica de espectrofotometría ultravioleta-visible, la química sanguínea por análisis bioanalíticos de rutina. Los resultados obtenidos no mostraron diferencias

estadísticamente significativas con un  $p < 0,05$  entre los medicamentos probados y las dosis de PQ aplicadas. Sin embargo, la Erdosteina a dosis de PQ de 15 mg/kg de peso mostraron mejores condiciones clínicas e incluso mostraron menor porcentaje de mortalidad con más de 480 horas de vida.

**PALABRAS CLAVE** Antioxidante, Erdosteína, Malondialdehído, Mucolítico, N-Acetilcisteína, Paraquat, UV-visible.

### ABSTRACT

The (Paraquat) PQ herbicide has been studied by different researchers, in the search for effective treatments to counteract their toxic effects in humans that by accidental or voluntary intake make use of it, resulting in the majority of lethal cases. The damage caused by the PQ is mainly due to the oxidative stress that causes the lipid peroxidation of the membrane and the decrease of NADP, manifested by inflammation, edema and subsequently pulmonary fibrosis. The aim of this study was to compare whether treatment with Erdosteine is more effective than with N-Acetylcysteine (NAC), which would result in lower cost and easier access. 46 rats of both genders were used, at age P = 51, with weights of

averages of  $80 \pm 20$  which were experimentally subjected to doses of 15 and 30 mg / kg of PQ weight orally. The animals were classified into groups according to dose of PQ and treatment. Serum quantification of Malondialdehyde (MDA) was performed using the UV spectrophotometry technique, blood chemistry by routine bioanalytical analysis. The results obtained showed no statistically significant differences with  $p < 0.05$  between the drugs tested and the doses of PQ applied. However, Erdosteine at a dose of PQ of 15 mg / kg of weight showed better clinical conditions and even showed a lower percentage of mortality with more than 480 hours of life.

---

**KEY WORDS** Antioxidant, Erdosteine, Malondialdehyde, mucolytic, N-Acetylcysteine, Paraquat, UV-visible.

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, el herbicida Paraquat conocido como Gramoxone ha sido estudiado por diferentes investigadores, en la búsqueda de tratamientos eficaces para contrarrestar sus efectos tóxicos en los seres humanos que por ingesta accidental o voluntaria hacen uso del mismo, resultando en la mayoría de los casos letales. Medicamentos tales como: glutatión, N-acetil cisteína, selenio, colchicina, esteroides, superóxido dismutasa, propranolol, ciclofosfamida, riboflavina, niacina, clofibrato, desferin, entre otros. También se han utilizado antioxidantes como la vitamina E, C y la D que inhiben la oxidación causada por el PQ de los dobles enlaces de los fosfolípidos de las membranas. Estos tratamientos ensayados en la intoxicación por PQ con la expectativa de mejorar el pronóstico, no han mostrado evidencia clara de beneficio o daño. Se han utilizado dosis bajas de radiación con la finalidad de disminuir la fibrosis pulmonar, pero actualmente no están bien fundamentados sus resultados. Mas, sin embargo, la Erdosteina no ha sido probada, aun cuando la misma farmacológicamente presenta alta actividad mucolítica-antiinflamatoria y ha demostrado ser efectiva en disminuir la tensión superficial del moco, hecho este importante, ya que el PQ produce viscosidad del moco, favoreciendo a la fibrosis pulmonar causada, conllevando a paro respiratorio. Actualmente el Paraquat no cuenta con antídoto ni tratamientos que garanticen sobrevida aun en dosis leve-moderada [1-3].

Los bipiridilos son herbicidas sólidos, insípidos e inodoros y muy solubles en agua. Dentro de este grupo se consideran el PQ y el Diquat. En su forma líquida, se utiliza como herbicida de contacto para destruir las partes verdes de las plantas (malas hierbas) en presencia de la luz solar.

Desde el punto de vista toxicológico, la vía de absorción más importante es la digestiva, puesto que es la más frecuentemente involucrada en casos de intoxicación (accidental o suicida). La absorción por la piel intacta y la vía respiratoria es menor. Sin embargo, dada su corrosividad, el PQ puede ulcerar tanto la piel como la mucosa respiratoria, pudiéndose incrementar su absorción por estas vías. Igual sucede si la piel presenta abrasiones o heridas. Se ha informado de casos fatales de intoxicación sistémica como resultado de contaminación de heridas con esta sustancia [4,5].

La molécula de Paraquat tiene mucho parecido con un receptor de membrana a nivel alveolar. Por dicha razón, se considera que ocupa ese receptor y de allí su especificidad por ese tipo de tejido, pero en general tiene predilección por aquellos tejidos con mayor saturación de oxígeno como son los de los pulmones, el hígado y los riñones [6,7].

En el tejido pulmonar, inicialmente se produce una alveolitis intra-alveolar, producida por los radicales superóxidos y peróxidos. Este cuadro puede llevar a un edema pulmonar y a insuficiencia respiratoria. Generalmente este proceso inflamatorio lleva a la producción de profibroblastos y de leucocitos polimorfonucleares. Posteriormente hay proliferación de fibroblastos que inicia un proceso de cicatrización que constituye la fibrosis intra-alveolar e inter-alveolar. Esta fibrosis pulmonar causa severa dificultad respiratoria que es la causa principal de la muerte. En los casos en los que no hay muerte rápida, más o menos a las dos semanas ya aparecen los cambios debidos a la fibrosis pulmonar, los cuales se pueden establecer por clínica, gasometría, espectrofotometría y rayos X.

Las lesiones más graves son las pulmonares, ya que dejan como secuela la fibrosis pulmonar; generalmente los daños hepático y renal son reversibles.

El PQ a nivel pulmonar por la formación de radicales libre e hidroperóxidos al reaccionar con la pared de la membrana celular, produce destrucción de la membrana e interfiere con la función pulmonar surfactante, la cual ocluye los espacios alveolares impidiendo así su función fisiológica, lo que trae como consecuencia destrucción de los neumocitos tipo I y tipo II, alterando la tensión

superficial alveolar y conllevando la viscosidad del moco impidiendo la respiración del paciente, lo cual puede conllevar a muerte por paro respiratorio. La Erdosteina reporta tener una alta capacidad de reducir la viscosidad y elasticidad del moco, facilitando su transporte ciliar y su expectoración; con ello mejora de manera notable la ventilación. Es un derivado sintético de un aminoácido natural, la metionina en su forma N-tiolactónica. Fue desarrollado como agente mucolítico para que facilitara la fluidificación del moco y del esputo, coadyuvando con ello a mejorar la ventilación pulmonar [7-13].

La Erdosteína contiene 2 grupos sulfhidrilo bloqueados, que son liberados después de su transformación en hígado [14,15].

La Erdosteína se absorbe rápidamente después de su administración oral (estudios de radioactividad con fármaco marcador se detecta en plasma a partir de los 5 minutos de su administración oral). La concentración sérica máxima se alcanza a las 1,2 horas después de una dosis única oral. Se encuentra unida a proteínas plasmáticas en un 64,5%. Antes de ser metabolizada, la Erdosteína contiene dos grupos tiólicos bloqueados que dan cuenta de su excelente tolerabilidad gástrica comparada con la de otros compuestos de su género cuyos grupos tiólicos son activos a nivel gástrico. Una vez en la circulación, es rápidamente metabolizada en cuanto menos tres metabolitos que contienen grupos tiólicos libres, a saber: N-tiodiglico-homocisteína (metabolito I), N-acetilhomocisteína (metabolito II) y homocisteína (metabolito III). La vida media de eliminación es de 1,4 horas en promedio en tanto que la de los metabolitos I y II es de 1,2 y 2,7 horas respectivamente. Los estudios sobre distribución demuestran que se encuentra presente en el líquido del lavado broncoalveolar desde las 2 hasta las 8 horas después de su administración oral. Debido a que se excreta a nivel renal, hay un aumento de los sulfatos inorgánicos urinarios durante su administración. Ninguno de los tres metabolitos es excretado por la orina ni heces en cantidades detectables. Los tratamientos múltiples con Erdosteína no modifican los parámetros farmacocinéticos y no se ha observado inducción enzimática ni acumulación de la misma. Tampoco se han documentado cambios en la farmacocinética de Erdosteína o sus metabolitos relacionados con la edad, con padecimientos bronquíticos crónicos o en ancianos con depuración de

creatinina entre 25 y 40 ml/min comparados con controles sanos [14,16].

La Erdosteína ha demostrado en modelos animales causar lisis de las sialomucinas (que se encuentran incrementadas en algunas bronconeumopatías), incrementar el aclaramiento mucociliar, poseer propiedades antioxidantes inherentes a la acción de los grupos tiólicos liberados sobre los radicales libres y proteger a la alfa-1-antitripsina de la inactivación que sufre por el humo del tabaco. En el ser humano, es un agente mucolítico que ejerce su acción fluidificante en las secreciones bronquiales cuando, después del proceso de absorción, sufre una biotransformación a sus metabolitos activos. Dichos metabolitos poseen radicales sulfhidrilos (-SH) libres que son los responsables de la disociación de los puentes disulfuro intra e intermoleculares que unen entre sí las fibras de las glucoproteínas constituyentes de las secreciones bronquiales. Esto trae como consecuencia una potente acción en los parámetros reológicos de las secreciones bronquiales reduciendo la cantidad y viscosidad del moco e incrementando el transporte mucociliar, facilitando, por lo tanto, la expectoración y mejorando la ventilación pulmonar. Aumenta la concentración de IgA secretoria en el esputo de los pacientes con bronquitis crónica. Hasta el momento, no se cuenta con datos de alteraciones en las pruebas de laboratorio relacionadas con el uso de [17].

Detallados los aspectos farmacocinéticos de la Erdosteina, haremos una descripción de la NAC, la misma es un precursor de la L-cisteína, así como un dador de grupos sulfhidrilo. Este fármaco interviene en la formación de glutatión y la reducción de las especies reactivas del oxígeno. Dado su efecto mucolítico comprobado desde hace décadas, se utiliza en el tratamiento de las afecciones bronquiales agudas y crónicas. Asimismo, ha sido evaluada para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), las enfermedades del intersticio pulmonar, la intoxicación por paracetamol y la enfermedad cardíaca isquémica, renal o hepática, entre otros. Se ha utilizado como complemento terapéutico en el abordaje de pacientes con bronquitis aguda y EPOC, sobre la base de los resultados de estudios en los que se demostró disminución de la tasa de exacerbaciones y mejoría de la función pulmonar. Estos efectos se atribuyeron a las acciones mucolítica y antioxidante de la NAC [18].

Ejerce rápida e intensa acción fluidificante sobre las secreciones mucosas y mucopurulentas, despolimerizando los complejos mucoproteicos y nucleicos que dan viscosidad al componente vítreo y purulento del esputo y otras secreciones. Este medicamento disminuye la viscosidad de las secreciones pulmonares y facilita su eliminación por la tos, drenaje postural o medios mecánicos [18-21].

Presentada una descripción general del herbicida interviniente y de los medicamentos a ser probados y contrastados para contrarrestar los daños que ocasiona el herbicida bupiridilo PQ, donde está claro que el mismo carece de antídoto y se ha convertido el agente agroquímico de elección para actos suicidas con altas incidencia de uso y mortalidad, este trabajo de investigación constituye un aporte al arsenal terapéutico empleado en las diferentes clasificaciones de intoxicación por PQ. Cabe destacar que la literatura revisada muestra una amplia producción de investigación con la NAC y el uso como agente mucoregulador en intoxicación por PQ, sin embargo, no existen estudios reportados con Erdosteina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Población de estudio

Se emplearon 46 ratas BIOU: Wistar de ambos géneros (20 hembras y 26 machos) con pesos de  $80 \pm 20$  gr, en edad adulto-joven (P=51), criados y mantenidos en el Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA). Las ratas fueron sometidas experimentalmente a intoxicación con PQ a dosis seleccionadas y probadas en estudio piloto de 15 y 30 mg/kg de peso del herbicida. La dosis de 15 mg/kg se administró a las ratas hembras y la de 30 mg/kg a las ratas macho. Esta distribución se realizó por sugerencias del comité de Bioética del BIOULA, motivado a la no disponibilidad de animales con pesos en percentiles iguales y recomiendan administrar la menor dosis a las de menor peso.

#### Consideraciones éticas- legales

La presente investigación fue realizada acorde con la legislación internacional y protocolos de investigación y docencia que involucran animales de laboratorio. Se contó con el aval de la Comisión de Bioética de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, el cual quedo registrado bajo el PROTOCOLO CEBIOULA /096.

### METODOLOGÍA ANALÍTICA

Los grupos experimentales se mantuvieron en ambientes climatizados, bajo las siguientes condiciones: alojados en áreas bajo barreras de ventilación y procedimientos estandarizados, temperatura de  $23 \pm 2$  °C, humedad relativa de 75%, con ciclos luz/oscuridad de 12 horas. Se les monitoreo niveles hematológicos y bioquímicos al inicio y final del experimento. Las concentraciones de MDA se realizaron al día seis, doce y veinte del ensayo. Las tomas de muestra de sangre se realizaron vía intracardiaca por sacrificio de 2 animales por grupo de trabajo. Adicionalmente diariamente se realizaban observaciones visuales (respiración, fragilidad capilar, daños a nivel de mucosa oral, conducción locomotora, ingesta de agua, alimento, entre otros). Semanalmente se recalculaban las dosis de los medicamentos dependiendo el peso. Se dividieron en seis grupos como se describen y muestran en la Tabla 1 con las respectivas dosis de PQ, medicamentos de soporte y de tratamiento.

#### Muestreo y muestras

Los protocolos de muestreo se realizaron en 2 etapas del experimento (día 6 y 20) y consistieron en sacrificar 2 animales por grupo para toma de muestras de sangre y obtención de tejido pulmonar.

#### Muestras de sangre

Las muestras de sangre se obtuvieron vía intracardiaca. El volumen obtenido por animal fue de aproximadamente entre 2 a 3 mL, las cuales se dividieron en 2 porciones colocadas en eppendorf con y sin anticoagulante. El anticoagulante empleado fue ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Las muestras para análisis bioanalíticos fueron trasladadas al laboratorio del Hospital San Juan de Dios y las muestras para determinar MDA después de obtener plasma se rotularon, etiquetaron y almacenaron a hasta su posterior análisis en el laboratorio del Grupo de Investigaciones en Toxicología Analítica y Estudios Farmacológicos (GITAEF) de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Departamento de Toxicología y Farmacología.

#### Análisis Estadístico

Los datos se procesaron en el programa Statistix for Window versión 7.0., empleando estimadores estadísticos como media, desviación estándar, coeficiente de variación, mediana, mínimos y máximos,

intervalo de confianza para un 95. Se utilizó el estadístico de prueba *t* pareada para establecer diferencias, considerando un valor de  $p < 0,05$  como estadísticamente significativo.

**Tabla 1.**  
Condiciones de los grupos experimentales.

Grupos	Condiciones experimentales	Observaciones
Control testigo (GT) (n=02)	Trigo N°3 y agua potable Ad-Libitum	Bajo condiciones normales
Control experimental (CE) (n=6)	Trigo N°3 y agua potable Ad-Libitum	03 con dosis de 15 mg/kg de peso de PQ y 03 con dosis de 30 mg/kg de peso
Experimental A (EA) (n=10) hembras Dosis de 15 mg/kg de peso de PQ	Trigo N°3 y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 100mg/kg de peso de Erdosteina VO, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso
Experimental B (EB) (n=10) machos Dosis de 30 mg/kg de peso de PQ	Trigo N°3 y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 100mg/kg de peso de Erdosteina VO, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso
Experimental C (EC) (n=10) hembras Dosis de 15 mg/kg de peso de PQ	Trigo N°3 y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 80mg/kg de peso de NAC, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso
Experimental D (ED) (n=10) machos Dosis de 30 mg/kg de peso de PQ	Trigo N°3 y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 80 mg/kg de peso de NAC, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso

### Materiales y reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron del más alto grado analítico marca Merck y Sigma. El material de vidrio empleado fue lavado con solución al 10 % de ácido nítrico ultrapuro. El agua empleada para la preparación de estándares y patrones fue agua MilliQ 18Ω. Los medicamentos utilizados: Dostein® Suspensión, Laboratorios Carnot, una vez reconstituida la suspensión cada 5 ml equivalen a 175 mg de Erdosteina y Fluimicil ampollas de 300 mg y sobres de 200 mg de NAC, Laboratorios FPC.

### METODOLOGÍA ANALÍTICA

La concentración de MDA como índice de lipoperoxidación fue determinada en plasma sanguíneo de ratas BIOU: Wistar mediante análisis por espectrofotometría ultravioleta-visible. Se procedió de la siguiente manera: Las muestras de plasma sanguíneo (0,5 ml) fueron colocada en un tubo de ensayo, junto con 1 mL de amortiguador de Tris (Tris-HCl, 0.15M, pH 7.0) e incubada a 37 °C por 30 minutos. Al término de la incubación, se agregó 1.5 mL de ácido acético (5% v/v) y 1.5 mL de ácido tiobarbitúrico (0.8% p/v). Las muestras fueron incubadas luego por 60 minutos a 90 °C. Después se enfriaron y se agregó 1 mL de KCl (2% p/v) y 3 mL de una mezcla de butanol/piridina (1:10 v/v). La mezcla así obtenida se agitó y centrifugó durante 10 minutos a 3,000 rpm en una centrífuga clínica; al término de esto, se recuperó la interfase de butanol/piridina, la cual fue leída a 532 nm en un espectrofotómetro UV (Shimadzu). La concentración de MDA (calculada a partir del coeficiente de extinción  $1.54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) fue expresada como nmol/mL.

### Curva de calibración de malondialdehído

La curva de calibración del MDA se realizó empleando el método de estándar externo con 1, 1, 3,3-tetraetoxipropano (TEP). Se preparó una disolución de MDA diluyendo 20 µL de TEP en 100 mL de disolución amortiguadora de pH = 3,5. Con una posterior dilución al 1:10 se obtuvo una disolución con una concentración de 83,5 µmol/L. A partir de esta disolución patrón se prepararon las soluciones estándar de concentraciones 0,45, 0,89, 1,69, 2,54, 4,20, 8,55 y 17,5 nmol/L, preparado concomitantemente a una solución de ácido tiobarbitúrico a una concentración de 0,8%, la ecuación resultante de graficar absorbancia vs concentración permitió calcular la concentración de MDA en nmol/mL en las diferentes muestras.

Los parámetros hematológicos y bioquímicos fueron determinados mediante técnicas bioanalíticas de rutina.

### RESULTADOS

#### Resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos del grupo experimental de dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat.

En las Tablas 2, 3, 4 y 5 se detallan los resultados hematológicos y bioquímicos obtenidos por día de muestreo y grupo de tratamiento. Los resultados de la estadística descriptiva en ambos grupos experimentales diferenciados por tratamiento (Erdosteina y NAC),

muestran que sigue la tendencia de mínima dispersión de los datos analizados, con CV inferiores en todos los casos a 16%. La analítica sanguínea permite observar una ligera tendencia de disminución de la HB, evento más marcado en el grupo que recibe NAC con diferencias significativas mostrando un  $p=0,09$ . Los leucocitos en ambos grupos incrementaron lo que pudiera señalar algún proceso infeccioso e inclusive inflamatorio propio este último del herbicida. En las ratas sometidas al estudio piloto de este ensayo se observó un aumento del bazo (esplenomegalia), este comportamiento bien pudiera explicar el descenso de los niveles de hemoglobina en este grupo experimental. La bioquímica sanguínea muestra presencia de uremia que aumenta de forma progresiva, tal vez debida a la deshidratación o daño a nivel renal; con aumento igual de creatinina. Los incrementos sucesivos fueron progresivos a pesar de la sueroterapia. Estos valores obtenidos nos indicaron que estábamos en presencia de un posible fallo renal agudo progresivo, sin observar diferencias significativas entre tratamientos. Los valores de las transaminasas (TGO y TGP) expresaron la misma tendencia, se presume este incremento pudiera atribuirse a un disfuncionalismo hepático. Los parámetros bioquímicos de ambos grupos no mostraron diferencias significativas con un  $p=0,003$ .

**Tabla 2.**

Estadística descriptiva simple de los parámetros hematológicos y bioquímicos a **día 6** del experimento en ratas (hembras) con 15 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de NAC.

Estadístico	Hb (gdL <sup>-1</sup> )	Hto (%)	Leuc (mm <sup>3</sup> )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL <sup>-1</sup> )	Creat (mgdL <sup>-1</sup> )
X	10,5	30,3	12600	149,2	167	27	0,93
DE	±0,5	±1	±725	±0,5	±0,5	±0,03	±0,5
Mediana	10,3	30,20	12586	148	166	27	0,85
SE	0,20	0,62	337,00	1,45	0,10	0,10	0,04
CV (%)	6,34	4,97	7,12	7,90	12,56	15,5	10,34
Mínimo	11,0	29	12200	148	166	25,8	0,8
Máximo	11,5	31	13450	150	168	27,10	0,9

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

**Tabla 3.**

Estadística descriptiva simple de los parámetros hematológicos y bioquímicos a **día 6** del experimento en ratas (hembras) con 15 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de Erdosteina.

Estadístico	Hb (gdL <sup>-1</sup> )	Hto (%)	Leuc (mm <sup>3</sup> )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL <sup>-1</sup> )	Creat (mgdL <sup>-1</sup> )
X	11,9	32	10333	144,2	162	24	0,93
± DE	±0,5	±2,0	±605	±2,3	±0,5	±1,03	±0,5
Mediana	10,9	31,20	10250	144	161	20	0,85
SE	0,20	0,84	237,00	2,15	0,40	0,42	0,04
CV (%)	2,90	5,53	5,79	7,36	9,56	5,25	12,04
Mínimo	11,0	29	10000	141	148	23,8	0,8
Máximo	11,5	30	10950	147	156	25,02	0,9

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

**Tabla 4.**

Estadística descriptiva simple de los parámetros hematológicos y bioquímicos a **día 20** del experimento en ratas (hembras) con 15 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de NAC.

Estadístico	Hb (gdL <sup>-1</sup> )	Hto (%)	Leuc (mm <sup>3</sup> )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL <sup>-1</sup> )	Creat (mgdL <sup>-1</sup> )
X	10,9	30	13900	149,2	167	27	0,93
DE	±0,5	±0	±925	±0,5	±0,5	±0,03	±0,5
Mediana	10,7	30,2	13980	148	166	27	0,85
SE	0,20	0,12	357,00	1,45	0,10	0,10	0,04
CV (%)	4,34	5,87	7,12	7,90	12,56	15	10,34
Mínimo	9,0	29	12200	148	166	25,8	0,8
Máximo	11,0	30	13450	150	168	27,10	0,9

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

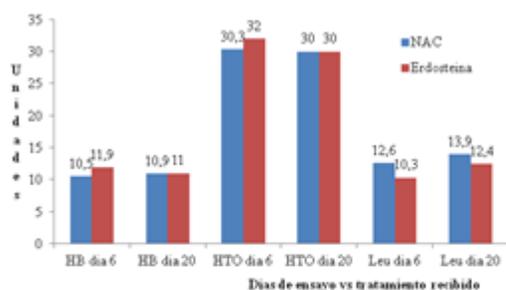
**Tabla 5.**

Estadística descriptiva global de los parámetros hematológicos y bioquímicos a **día 20** del experimento en ratas (hembras) con 15 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de Erdosteina.

Estadístico	Hb (gdL <sup>-1</sup> )	Hto (%)	Leuc (mm <sup>3</sup> )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL <sup>-1</sup> )	Creat (mgdL <sup>-1</sup> )
X	11,0	30	12432	194,2	192	28	0,97
± DE	±0,5	±0,5	±605	±2,3	±0,5	±0,3	±0,5
Mediana	10,8	28	12250	190	191	26	0,95
SE	0,20	0,64	245,00	7,10	0,40	0,42	0,02
CV (%)	16	5,53	5,79	7,36	9,56	12	10,04
Mínimo	11,0	29	10000	141	188	26,8	0,89
Máximo	11,5	30	10950	147	193	28,02	0,99

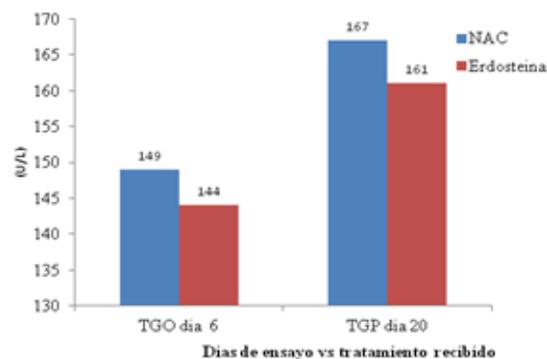
X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

En las Figuras Grafica 1, 2 y 3 se muestran el comportamiento de estas variables.

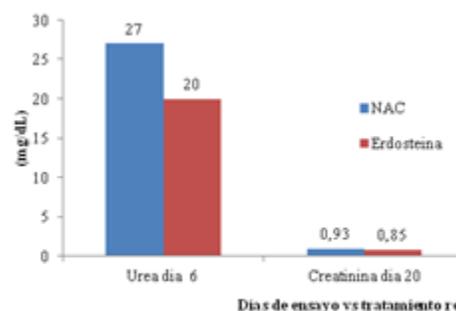


**Figura 1. Comportamiento de parámetros hematológicos del grupo experimental de dosis de 15 mg/kg de peso de discriminados por días y tratamiento.**

Las unidades de Hemoglobina (HB) están expresadas en gdL<sup>-1</sup>, el hematocrito (HTO) en % y los leucocitos mm<sup>3</sup>, multiplicados por 10<sup>3</sup>.



**Figura 2. Comportamiento de las transaminasas del grupo experimental de dosis de 15 mg/kg de peso de discriminados por días y tratamiento.**



**Figura 3. Comportamiento de la urea y creatinina del grupo experimental de dosis de 15 mg/kg de peso de discriminados por días y tratamiento.**

**Resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos del grupo experimental de dosis de 30 mg/kg de peso de Paraquat.**

En las Tablas 6, 7, 8 y 9 se detallan los resultados hematológicos y bioquímicos obtenidos por día de muestreo y grupo de tratamiento. Para este grupo los muestreos se realizaron el día 3 y 8 del experimento por observar la gran mayoría de animales alto compromiso de sus funciones vitales y motivado a que estos términos lograron mantenerse en el experimento solo 08 animales, en condiciones muy inestables por lo que se decide su sacrificio para toma de muestras.

Los resultados de la estadística descriptiva en ambos grupos experimentales diferenciados por tratamiento (Erdosteina y NAC), muestran que sigue la tendencia de mínima dispersión de los datos analizados, con CV inferiores en todos los casos a 20,56%. La analítica sanguínea observa la misma tendencia que el grupo con dosis de 15 mg de disminución de la HB, sin diferencias significativas entre tratamientos aplicados, mostrando

un  $p=0,001$ . Los leucocitos, creatinina, urea y transaminasas (TGO y TGP) mostraron niveles el día 3 de  $12400 \pm 725 \text{ mm}^3$ ,  $1,73 \pm 0,5 \text{ mgdL}^{-1}$ ;  $29 \pm 0,03 \text{ mgdL}^{-1}$ ;  $168,2 \pm 0,5 \text{ U/L}$  y  $180 \pm 0,5 \text{ U/L}$ ; respectivamente. Para el día 8 los niveles observaron la misma tendencia de incrementar con niveles de leucocitos, creatinina, urea y transaminasas (TGO y TGP) de  $12600 \pm 525 \text{ mm}^3$ ,  $1,83 \pm 0,5 \text{ mgdL}^{-1}$ ;  $31 \pm 0,5 \text{ mgdL}^{-1}$ ;  $178,5 \pm 2,4 \text{ U/L}$  y  $188 \pm 0,3 \text{ U/L}$ ; respectivamente. Lo que indico un alto compromiso renal, hepático y un desarrollo de proceso infeccioso e inflamatorio de pronóstico reservado. Al día 10 del ensayo por normas del comité de Bioética del BIOULA se decide sacrificar a los 4 animales que quedaron, ya que los mismos mostraban claros episodios de sufrimiento.

**Tabla 6.**

Estadística descriptiva simple de los parámetros hematológicos y bioquímicos al día 3 del experimento en ratas (machos) con 30 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de NAC.

Estadístico	Hb (gdL <sup>-1</sup> )	Hto (%)	Leuc (mm <sup>3</sup> )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL <sup>-1</sup> )	Creat (mgdL <sup>-1</sup> )
X	12,5	38,0	12400	<u>168,2</u>	<u>180</u>	<u>29</u>	<u>1,73</u>
± DE	±0,5	±1	±725	<u>±0,5</u>	<u>±0,5</u>	<u>±0,03</u>	<u>±0,5</u>
Mediana	12,3	36,2	12586	168	178	27	1,68
SE	0,20	0,62	337,00	1,45	0,90	0,10	0,04
CV (%)	16,54	14,5	9,12	<u>7,50</u>	<u>20,56</u>	15,4	11,34
Mínimo	11,0	31	12200	165	166	25,8	1,7
Máximo	13,0	39	13450	170	168	30,10	1,8

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

**Tabla 7.**

Estadística descriptiva global de los parámetros hematológicos y bioquímicos a día 3 del experimento en ratas (machos) con 30 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de Erdosteina.

Estadístico	Hb (gdL <sup>-1</sup> )	Hto (%)	Leuc (mm <sup>3</sup> )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL <sup>-1</sup> )	Creat (mgdL <sup>-1</sup> )
X	12,2	35,0	12600	<u>178,5</u>	<u>188</u>	<u>31</u>	<u>1,83</u>
± DE	±0,5	±1	±525	<u>±2,4</u>	<u>±0,3</u>	<u>±0,5</u>	<u>±0,5</u>
Mediana	12,0	36,2 0	12590	168	178	27	1,68
SE	0,20	0,62	187,00	1,45	0,90	0,10	0,04
CV (%)	10,34	14,5	5,15	<u>2,85</u>	<u>18,90</u>	12,9	12,64
Mínimo	11,0	31	12200	165	166	25,8	1,81
Máximo	13,0	39	13450	170	168	32,10	1,85

**Tabla 8.**

Estadística descriptiva global de los parámetros hematológicos y bioquímicos a día 8 del experimento en ratas (machos) con 30 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de NAC.

Estadístico	Hb (gdL <sup>-1</sup> )	Hto (%)	Leuc (mm <sup>3</sup> )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL <sup>-1</sup> )	Creat (mgdL <sup>-1</sup> )
X	11,5	30,0	15400	<u>198,2</u>	<u>199</u>	<u>33</u>	<u>2</u>
± DE	±0,2	±0,5	±245	<u>±10</u>	<u>±8,0</u>	<u>2,03</u>	<u>±0,5</u>
Mediana	11,3	26,2	12586	168	198	32	1,68
SE	0,10	0,15	337,00	1,45	1,80	0,10	0,04
CV (%)	6,58	12,9	9,45	<u>4,50</u>	<u>15</u>	10,4	11,34
Mínimo	10,9	31	12200	185	196	30,8	1,7
Máximo	12,0	39	13450	214	209	34,10	2,12

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

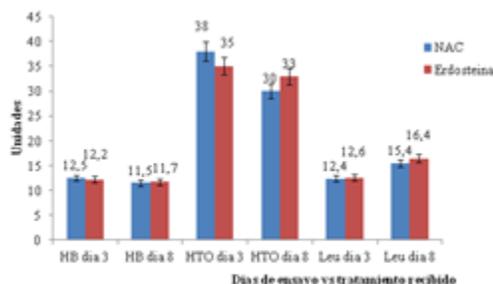
**Tabla 9.**

Estadística descriptiva simple de los parámetros hematológicos y bioquímicos a día 8 del experimento en ratas (machos) con 30 mg/kg de peso de Paraquat con tratamiento de Erdosteina.

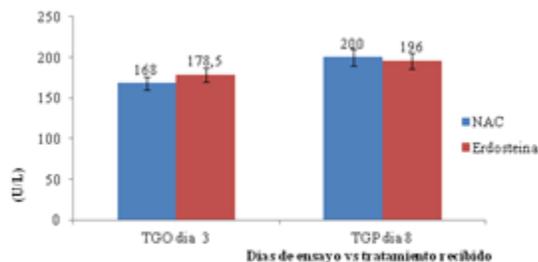
Estadístico	Hb (g $\cdot$ L $^{-1}$ )	Hto (%)	Leuc (mm $^3$ )	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Úrea (mg $\cdot$ L $^{-1}$ )	Creat (mg $\cdot$ L $^{-1}$ )
X	11,7 $\pm$ 0,5	33,0	16400	196,2	200 $\pm$	33 $\pm$	1,90
$\pm$ DE		$\pm$ 1	$\pm$ 725	$\pm$ 0,5	0,5	0,03	$\pm$ 0,5
Mediana	12,3	32,2	12586	194	198	31	1,88
SE	0,40	0,69	337,00	1,62	0,90	0,50	0,02
CV (%)	20	12,9	7,65	10	10,56	19,4	11,64
Mínimo	11,0	31	16200	189	196	27,8	1,7
Máximo	13,0	39	17250	200	204	34,20	2

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

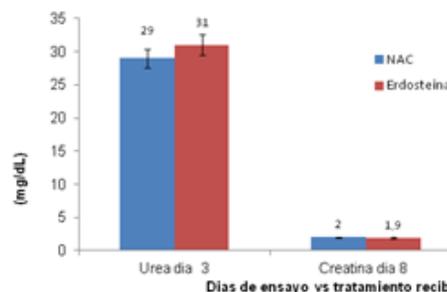
En la Figura 4, 5 y 6 se muestran comportamientos de estas variables.



**Figura 4.** Comportamiento de parámetros hematológicos del grupo experimental de dosis de 30 mg/kg de peso de discriminados por días y tratamiento.



**Figura 5.** Comportamiento de las transaminasas del grupo experimental de dosis de 30 mg/kg de peso de discriminados por días y tratamiento.



**Figura 6.** Comportamiento de la urea y creatinina del grupo experimental de dosis de 30 mg/kg de peso de discriminados por días y tratamiento.

**Resultados del marcador del estrés oxidativo**

La cuantificación sérica de malondialdehído (MDA), resulta una medida bastante real del proceso de oxidación, especialmente peroxidación lipídica. El nivel basal de MDA obtenido de los grupos ensayados fue de 0,7567  $\pm$  0,004 nmol/mL para las ratas machos y de 0,7975  $\pm$  0,001 nmol/mL para las ratas hembras.

La Tabla 10 detalla los resultados obtenidos durante el ensayo, en las tres etapas de monitoreo: intermedia (día 6 y 12) y final (día 20) en ratas hembras con dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat y diferenciadas por grupos experimentales según tratamiento administrado. Los resultados obtenidos de MDA por días de tratamiento y medicamento suministrado no mostraron diferencias significativas con un p= 0,001.

**Tabla 10.**

Niveles promedios de MDA en ratas hembras sometidas a dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat según tratamiento administrado.

Parámetro (nmol/mL)	Erdosteina	NAC
Basal:	0,76±0,01	0,75±0,01
MDA : día 6	1,40 ± 0,002	1,39 ± 0,05
MDA : día 12	1,32 ± 0,5	1,34 ± 0,4
MDA: día 20	0,98= 0,005	0,98 = 0,004

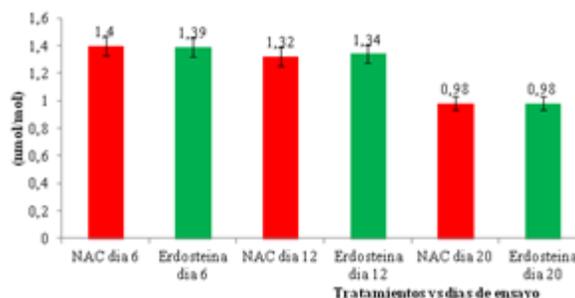
La Tabla 11 detalla los resultados obtenidos durante el ensayo, en las 2 etapas de monitoreo: intermedia (día 4) y final (día 8) en ratas machos con dosis de 30 mg/kg de peso de Paraquat y diferenciadas por grupos experimentales según tratamiento administrado. Los niveles de MDA al monitoreo intermedio y final no mostró diferencias significativas entre los medicamentos suministrados con un  $p=0,002$ . Lo que indica que ambos tratamientos aplicados resultaron igual en capacidad antioxidante.

**Tabla 11.**

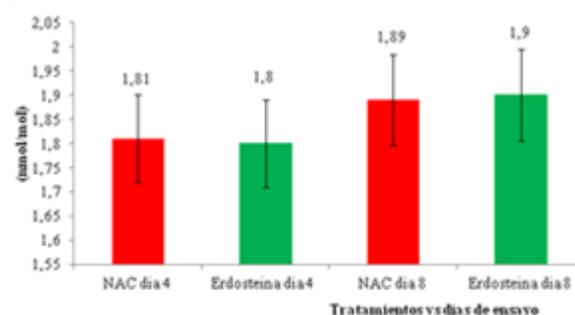
Niveles de MDA en ratas machos sometidas a dosis de 30 mg/kg de peso de Paraquat.

Parámetro (nmol/mL)	Erdosteina	NAC
Basal	0,82±0,03	0,80±0,02
MDA : día 4	1,80 ± 0,001	1,81 ± 0,000
MDA : día 8	1,90 ± 0,000	1,89 ± 0,004

En la Figuras Gráficas 7 y 8 se muestra el comportamiento de estas variables



**Figura 7.** Niveles de malondialdehído (MDA) en ratas con 15 mg/kg de peso de paraquat discriminadas por tratamiento y días de analisis.



**Figura 8.** Niveles de malondialdehído (MDA) en ratas con 30 mg/kg de peso de paraquat discriminadas por tratamiento y días de analisis.

## DISCUSIÓN

Los investigadores Kelly y Smalley [22,23], en trabajos realizados con animales experimentales intoxicados con PQ a los cuales les realizaron análisis de química y bioquímica sanguínea informaron que el herbicida ocasiono aumentos en los parámetros bioquímicos e inversión de la fórmula de la química sanguínea. Esos mismos resultados fueron observados en nuestro trabajo, alcanzando los animales niveles de TGO de 150 y de TGP 193 U/L, de urea 28,02 y de creatinina 0,99 mg/dL. Smalley, expone que los parámetros bioquímicos son herramienta útil de diagnóstico-prognóstico en intoxicaciones por Paraquat sin desestimar la clínica y otros monitoreos clínicos. Con respecto al comportamiento observado en las ratas tratadas con NAC, el mismo está en analogía con lo

reportado por otros investigadores, lo cuales indicaron que la misma presenta excelente actividad mucolítica-antioxidante en intoxicaciones diagnosticadas clínicamente leves-moderadas de PQ con una alta capacidad de inhibir el estrés oxidativo causante de la peroxidación lipídica de la membrana y a la disminución de NADP. Mas, sin embargo, a dosis moderadas-severa su capacidad de inhibir a la glutatión peroxidasa y evitar así, el daño oxidativo a los lípidos resulta ineficaz [24-31]. Nuestro trabajo de investigación evidencio que los animales con dosis moderada-severa inducidos a ambos tratamientos lograron vida por 8 días, superando lo reportado por estos autores quienes indican que a esta dosis a las 72 horas se produce la muerte [27, 29, 30].

Los resultados obtenidos para la Erdosteina demostraron que resulta un fármaco de elección en intoxicaciones leves-moderadas de PQ, la misma mostro mejor capacidad de inhibir y/o minimizar el daño pulmonar, incluso los animales mostraron mejores condiciones clínicas. Varios autores [14-17, 32-34] reportan que la Erdosteina, es un potente agente mucolítico, mejora la ventilación pulmonar y ejerce su acción fluidificante cuando sufre una biotransformación a sus metabolitos activos. Dichos metabolitos poseen radicales sulfidrilos (-SH) libres son los responsables de la disociación de los puentes disulfuro intra e intermoleculares que unen entre sí las fibras de las glucoproteínas constituyentes de las secreciones bronquiales. La Erdosteina a diferencia de la NAC posee 2 grupos SH libres y es tal vez su potencial reológico, con respecto a la NAC, y observado en nuestro trabajo, donde los animales no mostraron alto compromiso respiratorio, logrando este grupo más de 480 horas de sobrevida.

Con respecto a los resultados obtenidos con la MDA, P. Matas y cols [35] reportaron que han utilizado ratones Swiss (35-45g) a los que intoxicó con 75 mg/Kg de PQ por vía i.p. y le administro melatonina i.p. 30 min antes del PQ a distintas dosis (5, 10 ó 15 mg/Kg). Transcurridas 24 h de inducida la intoxicación, se obtuvieron muestras de hígado y pulmón de todos los animales, donde se analizaron glutatión reducido (GSH) y niveles de MDA. Los resultados mostraron que el Paraquat a las 24 h de su administración causó una depleción significativa de los niveles de GSH en los dos órganos estudiados, sin embargo, el MDA sólo aumentó de forma significativa en el hígado. En nuestro trabajo se observó igual comportamiento para la MDA en suero, este aumento fue menos pronunciado en los animales

bajo tratamiento con Erdosteina. Estepa, V y cols [36], manifestaron que debido a que el herbicida Paraquat al actuar en el metabolismo celular produce radicales libres, los cuales interaccionan con los lípidos séricos y tisulares provocando su peroxidación, esta es inestable y resulta complejo determinar la magnitud de dicha peroxidación. Sin embargo, es más accesible determinar los productos de su degradación metabólica, constituidos fundamentalmente por aldehídos de alta capacidad reactiva, siendo el más significativo el MDA. Coincidimos con lo reportado por Estepa y cols, determinar los productos de degradación es menos complejo, más exacto y constituyen un valor de diagnóstico-pronóstico de la intoxicación, permitiendo realizar abordajes terapéuticos más certeros.

Autores refieren que, dentro de la variedad de métodos analíticos desarrollados para determinar el daño oxidativo de los lípidos, el más comúnmente utilizado se basa en la reacción del malondialdehído con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) para formar aductos cromógenos y fluorescentes de MDA-TBA muy estables y que se pueden cuantificar por espectrofotometría de absorción visible o por fluorimetría [37,38].

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos permiten concluir con un 95% de confianza lo siguiente:

1. La Erdosteina demostró igual capacidad mucolítica-antioxidante que la N-acetil-cisteína en los modelos experimentales sometidos a dosis de Paraquat de 15 y 30 mg/kg de peso. Este resultado podría usarse como dato preclínico y considerar a la Erdosteina, como alternativa de elección
2. Los Modelos experimentales bajo tratamiento con Erdosteina a dosis de Paraquat de 15 mg/kg de peso mostraron mejores condiciones clínicas e incluso mostraron menor porcentaje de mortalidad, con más de 480 horas de vida.
3. Determinar en plasma sanguíneo de las ratas los productos de degradación metabólica el daño oxidativo de los lípidos causado por PQ, fue significativo y sus resultados se correlacionaron directamente con la dosis administrada, daño causado por el herbicida y compromiso de sobrevida o mortalidad.
4. El marcador MDA es útil para establecer la magnitud de la peroxidación lipídica causada por el Paraquat, realizar esta determinación de rutina en pacientes

intoxicados por PQ permitiría comprobar el daño causado a nivel pulmonar de los productos de su degradación metabólica y servir de diagnóstico-pronóstico, e incluso al médico orientarlo en ajustar las dosis de los agentes antioxidantes y mucolítico.

## AGRADECIMIENTOS

*Los autores agradecen al Ministerio del Poder Popular Para Los Servicios Penitenciarios por el financiamiento de este proyecto (MPPSP 01-3/2016).*

## REFERENCIAS

- [1] Hernández Vargas M.F, Weiss S. (1977). Intoxicación por paraquat; Act. Méd. Cost.; 20: (3):233-238.
- [2] Giraldo C.; Bolívar J (2014). "Intoxicación aguda por Paraquat", Antioquia Médica –Medellín.; 30(4): 66-69.
- [3] Durán Nah J, Collí Quintal J (2011). Intoxicación aguda por plaguicidas. Salud pública Méx.; 42(1): 48 - 52
- [4] León-Verastegui, Á. (2012). Enfermedad de Parkinson por exposición ocupacional a Paraquat. Revista Medical Del IMSS.; 50(6): 665-672.
- [5] Levine R.S.; Davies J.E (1984). "Aspectos clínicos de la intoxicación aguda". Washington: Organización Panamericana de la Salud.
- [6] Morgan D (1989). Part I: Recognition and management of pesticide poisonings. Washington: U.S. Environmental Protection Agency.
- [7] Morgan D (1989). Part II: Recognition and management of herbicide poisonings. Washington: U.S. Environmental Protection Agency.
- [8] Murphy S. (1986) "Toxic effects of pesticides", in C. Klaassen, M. Amdur, J. Doull, ed., Casarett and Doull's Toxicology. New York: Macmillan Publishing Company.
- [9] Rose M.S.; Smith L.L.; Wyatt I. (1980) "Toxicology of herbicides with special reference to the bipyridiliums", Annals of Occupational Hygiene.; 23: 91-94.
- [10] Vallejo J. (1986) Paraquat. Medellín: BASF Química Colombiana.
- [11] WHO/FAO (1978). Data sheets on pesticides N°. 4, Paraquat. Geneva: WHO/FAO.
- [12] World Health Organization. (2002). WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2000-2002. WHO/PCS 01.4. Geneva-Italia.
- [13] Smith, L.L. (2012) Mecahnism of paraquat toxicity in lung and its relevance to treatment. Human Toxicology.; 6: 31-36.
- [14] Fumagalli G, Balzaritti C, Banfi P, et al (1988). Erdosteina: a new molecule with mucolytic activity. Clinical and instrumental evaluation in patients with acute and exacerbated chronic bronchopneumopathies. G Ital Mal Torace.; 42(4): 299-308.
- [15] Olivieri D, Del-Donno M, Casalini A, et al (1991). Activity of erdosteine on mucociliary transport in patients affected by chronic bronchitis. Respiration.; 58: 91-94.
- [16] Ricevuti G, Mazzone A, Uccelli E, et al (1988). Influence of erdosteine, a mucolytic agent, on amoxicillin penetration into sputum in patients with an infective exacerbation of chronic bronchitis. Thorax: 585-590.
- [17] Haugen TS, Skjonsberg OH, KählerH, Lyberg T (1999). Production of oxidants in alveolar macrophages and blood leukocytes. Eur Respir J .;14: 1100-1105.
- [18] Klinik für Lungen- und Bronchialmedizin, Klinikum Kassel (2013). Actualizan el Uso Terapéutico de la N-Acetilcisteína y los Mecanismos de Acción Involucrados. Pneumologie.; 65(9):549-557.
- [19] Flanagan RJ, Meredith TJ (1991). Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. Am J Med.; 91 (3): 131-139.
- [20] Marzullo L (2005). An update of N-acetylcysteine treatment for acute acetaminophen toxicity in children. Curr Opin Pediatric.; 17(2):239-245.
- [21] Lauterburg BH, Corcoran GB, Mitchell JR (1993). Mechanism of Action of N-Acetylcysteine in the Protection Against the Hepatotoxicity of Acetaminophen in Rats In Vivo. J Clin Invest.; 71(4): 980-991.
- [22] Kelly, D.E (1978). Paraquat poisoning in the dogo Vererinary Annual.; 18: 251-254.
- [23] Smalley, H.E., Radellef, R.D (1997). Comparative toxicity of the herbicide Paraquat in laboratory and farm animals. Toxicology and applied Pharmacology.; 17: 305.
- [24] Klinik für Lungen- und Bronchialmedizin, Klinikum Kassel (2011). Actualizan el Uso Terapéutico de la N-Acetilcisteína y los Mecanismos de Acción Involucrados. Pneumologie.; 65(9):549-557.

- [25] Marzullo L (2005). An update of N-acetylcysteine treatment for acute acetaminophen toxicity in children. *Curr Opin Pediatr.*; 17(2):239-245.
- [26] Lauterburg BH, Corcoran GB, Mitchell JR (1993). Mechanism of Action of N-Acetylcysteine in the Protection Against the Hepatotoxicity of Acetaminophen in Rats In Vivo. *J Clin Invest.*; 71(4): 980-991.
- [27] Lourdes Calderón-Cabrera, María Gabriela Durán-Galetta, Ingo García, Douglas Galetta, Luis Lacruz, Raquel Naranjo, Beatriz Pérez y Elizabeth Ferreira (2008). Determinación de los efectos de la N-acetilcisteína y metionina en cerebelo de ratas intoxicadas con plomo. *Invest. Clín.*; 49 (1):24-37.
- [28] Ubier Gómez, Fanny Cuesta, Carlos Benavides, Nancy Angulo, Vladimir Llinás, Luz Marina Quiceno, Diana Padilla, Paula Castaño (2004). Impacto en la mortalidad de un tratamiento conjugado, en pacientes intoxicados no ocupacionalmente, con Paraquat en el Hospital Universitario San Vicente de Paúl de Medellín, entre agosto de 2002 y agosto de 2003. *IATREIA.*; 17(1): 21-30.
- [29] Calderón Cabrera, Lourdes María de (1995). Comparación de efectividad de la N-acetilcisteína y las S-carboximetilcisteína en ratas intoxicadas con paraquat. *Farm.*; 6(7):395-402.
- [30] Eliéxer Urdaneta-Carruyo, Adriana Vanessa Urdaneta Contreras, Jesús Alberto Valero Rivas, Luisa Virginia Angulo Bravo, Ysmelda Parra-Sosa, Yaneira Vargas-Cobos (2012). Estudio en intoxicación por Paraquat donde establecen si un tratamiento conjugado con N-acetilcisteína, vitamina A, C, E, propranolol, colchicina y furosemida, disminuye la mortalidad en pacientes, basados en la probabilidad de supervivencia, los niveles plasmáticos y el seguimiento clínico. *Revista Mexicana de Pediatría.*; 79 (3):18-22.
- [31] Zhang X, Banerjee A, Banks WA, Ercal N. (2009) N-Acetylcysteine amide protects against methamphetamine-induced oxidative stress and neurotoxicity in immortalized human brain endothelial cells. *BRAINRESEARCH.*; 12(7):67-95.
- [32] Francisco Cuevas-Schacht, Héctor González-Enríquez (2004). Erdosteína como agente mucorregulador. *Neumología y Cirugía de Tórax.*; 63(2):102-109.
- [33] Káram Bechara, José; Aldana Vergara, Turh; Zapata Higuera, Gerardo. (1999). Amoxicilina/erdosteína en el tratamiento de bronquitis. Estudio pediátrico controlado / Amoxicilin/erdosteine in bronchitis treatment. Controlled pediatric case. *Rev. mex. pueric. Ped.*; 6(34):245-50.
- [34] Wang Xuan (2016). Erdosteína expectorante-antioxidante, y la investigación clínica. Disponible: progreso-erdosteina-expectorante-antioxidante-y-la-investigacion-clinica-documentos-de-medicina/consultado: 12/12/2017.
- [35] P. Matas, E. Herrero, F. Soler, M.P. Míguez (2005). Estudio del efecto de diferentes dosis de melatonina sobre el estrés oxidativo producido por intoxicación aguda por Paraquat. *Revista de Toxicología.*; 22 (4): 10-15.
- [36] Estepa, V.; Ródenas, S.; Martín M.C (2001). Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. *Anal. Real Acad. Farm.*; 67 (4):45-52.
- [37] Fridovich I (1978). The biology of oxygen radicals. *Science.*; 201:875-80.
- [38] Draper H, Squires E, Mah H, Wu J, Agarwal S, Hadley M (1993). A comparative evaluation for thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med.*; 15:353-363.