

EFFECTO DE LA VITAMINA E SOBRE EL PARÉNQUIMA PULMONAR DE RATAS ALBINAS CON NEUMOCONIOSIS INDUCIDA

Effect of vitamin E on lung parenchyma of albino rats with induced pneumoconiosis

Erika Fernández Vargas¹, Lupita Escobar Vásquez¹, Juan Espinoza Sánchez¹, Karen Esquén Cuzma¹, Katherine Fajardo Fernández¹, Francisco García Acevedo¹, Ana María Guevara-Vásquez^{2*}

Recibido: 17 de agosto del 2014; Aceptado: 10 de diciembre del 2014

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la vitamina E sobre el parénquima pulmonar de *Rattus rattus* var. *albinus* (ratas albinas) con neumoconiosis inducida. Se trabajó con 18 especímenes machos, adultos, que fueron distribuidos al azar en tres grupos de trabajo: Blanco, Control y Problema. El trabajo se realizó durante 60 días, en los cuales el grupo Blanco no fue expuesto al humo por combustión de briquetas de carbón, el grupo Control fue expuesto al humo de las briquetas por 6 horas al día y el grupo problema recibió vía oral 0.2 mL de solución oleosa de vitamina E (400 UI/kg/día) previo a la exposición del humo de las briquetas; cada grupo de trabajo estaba formado por seis ratas albinas y se controlaron los pesos corporales desde el inicio hasta el final del estudio, posteriormente se realizaron los análisis histopatológicos de los pulmones de las ratas albinas. Se encontró disminución evidente del peso corporal de las ratas albinas del grupo control al final de los 60 días del estudio y un significativo aumento de peso en los animales del grupo problema ($p < 0,05$). El estudio histopatológico reveló daños importantes en la arquitectura pulmonar del grupo problema evidenciándose inflamación, fibrosis, hemorragia, congestión de parénquima pulmonar, infiltrado de neutrófilos, entre otros, lo que no se observó en el grupo que recibió vitamina E previo a la exposición del humo de briquetas. Se concluye que la vitamina E presentó efecto protector importante sobre el parénquima pulmonar de ratas albinas expuestas al humo de briquetas de carbón mineral.

Palabras Clave: Vitamina E; neumoconiosis; ratas albinas.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of vitamin E on lung parenchyma of *Rattus rattus* var. *albinus* (albino rats) with induced pneumoconiosis. We worked with 18 male specimens, adults who were randomly distributed into three working groups: White, Control and Experimental. The research was carried out for 60 days, in which the White group was not exposed to smoke by burning charcoal briquettes, the control group was exposed to smoke briquettes for 6 hours a day and the problem group received orally 0.2 mL oily solution of vitamin E (400 IU kg/day) prior to exposure to smoke briquettes; Each working group was composed of six albino rats and body weights were monitored from the beginning to the end of the study, then the histopathological analysis of the lungs of albino rats were performed. Apparent decrease in body weight of albino rats in the control group at the end of the 60 day study and a significant weight gain in animals from the problem group ($p < 0.05$) was found. Histopathological examination revealed extensive damage to the lung architecture of the problem group (inflammation, fibrosis, hemorrhage, congestion of lung

¹ Alumno de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo – Perú.

² Docente de la Cátedra de Fisiología Humana. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo – Perú.

*Autor para correspondencia: anamariag3@yahoo.com

parenchyma infiltration of neutrophils, among others), which was not observed in the group that received vitamin E before exposure to smoke briquettes. We conclude that vitamin E showed significant protective effect on lung parenchyma of albino rats exposed to smoke from coal briquettes.

Key words: Vitamin E; pneumoconiosis; albino rats.

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad se sabe que respirar el polvo de las minas es perjudicial para la salud y ya se hablaba de los efectos perniciosos del polvo inhalado por los mineros, desde entonces ha ido creciendo el conocimiento sobre los diferentes aspectos del depósito neumoconiosis de polvo en los pulmones asociado a una respuesta patológica, denominada. Entre otras, la neumoconiosis de los mineros del carbón es una enfermedad pulmonar que resulta de la inhalación del polvo del carbón mineral, grafito o carbón artificial durante un período prolongado^{1,2}. En la actualidad algunos países utilizan briquetas con características de encendido y combustión, éstas prenden fácilmente y generan poco humo, superando de esta forma unas de las grandes barreras con que siempre se han enfrentado los programas de sustitución de combustibles derivados del petróleo por carbón. Este tipo de briquetas han tenido gran acogida para uso doméstico e industrial³. La industria del carbón se caracteriza por ser una fuente importante de riesgos y efectos perjudiciales específicos, por ejemplo, daños al medio ambiente, contaminación por varias instalaciones de superficie y riesgos resultantes de los trabajos de explotación propiamente dichos. A diferencia de las industrias nucleares y del petróleo, las minas de carbón emplean un personal muy numeroso y, por tanto, los riesgos asociados con la minería tienen efectos considerables⁴.

Estudios desarrollados en países latinoamericanos como Guatemala, México, El Salvador, Perú entre otros y asiáticos como China, India y Tailandia, hallan una relación entre la presencia de elevadas concentraciones de contaminantes del aire interior provenientes de la quema de biomasa y carbón y los efectos adversos en la salud de

la población expuesta, principalmente de los grupos considerados como vulnerables, los niños menores de cinco años y las mujeres⁵. En el Perú, estudios epidemiológicos efectuados tanto en poblaciones de zonas rurales como de zonas periurbanas, de infecciones respiratorias agudas, al hacinamiento, el combustible que se usa para cocinar y la nutrición. Así también el Sub Programa de Control de la infección respiratoria aguda del Programa de Salud Mujer y Niño del Ministerio de Salud, señala que dichos factores son condicionantes de las infecciones respiratorias agudas, por lo que debe trabajarse en las medidas preventivas para eliminar o disminuir estos factores de riesgo. En nuestro país han realizado pocos trabajos referidos a calidad del aire interior y sus impactos en la salud de las personas; se tiene la referencia de uno desarrollado en la Universidad Cayetano Heredia en el cual se implementó una habitación simulando una vivienda y efectuó mediciones de CO y SO₂ productos de las emisiones de la combustión de briquetas de carbón mineral y vegetal, kerosén, gas propano y carbón vegetal, combustibles de uso doméstico y al que estarían expuestas las personas que los utilizan como fuente de energía para la cocción de sus alimentos. Las concentraciones halladas de SO₂ y PTS sobrepasaron los valores de las Normas de Calidad de Aire en interiores tomadas como referencia, así como los valores de CO también sobrepasaron la referencia, en los casos de briquetas de carbón vegetal y carbón vegetal^{5,6}.

En los alrededores de Trujillo y algunos lugares céntricos como los Mercados La Hermelinda, La Esperanza, y El Porvenir prolifera la actividad de moler carbón de piedra, para fabricar briquetas o quemar minerales, o producir "crema de polvo de

carbón" que compran las siderúrgicas nacionales y del exterior. Esta actividad, genera contaminación del aire, éste se vuelve irrespirable cuando operan las máquinas de la molienda que también generan contaminación sonora⁷. El humo generado por combustión de las briquetas contiene una mezcla de partículas carbonáceas y hollín suspendidas en una mezcla de aire caliente y gases tóxicos procedentes de varios orígenes según el material que haya combustionado. Los gases más frecuentes que intoxican al paciente y que provocan el deterioro grave y muy rápido de la respiración celular (anoxia celular) y como consecuencia la muerte son el monóxido de carbono (CO) que se produce en cualquier combustión⁸. El CO es un gas inodoro e incoloro que puede enfermar y causar la muerte repentinamente; se encuentra en emanaciones de combustión, tales como las que producen los automóviles y los camiones, los motores pequeños de gasolina, cocinas, faroles, madera y carbón encendidos (briquetas, etc.), cocinas de gas y sistemas de calefacción⁹. El CO de estas fuentes puede acumularse en espacios cerrados o semicerrados. Las personas y animales que se encuentran en estos espacios pueden intoxicarse si lo respiran. Por sus características fisicoquímicas es llamado el asesino silencioso, utiliza múltiples mecanismos de toxicidad que explican sus potenciales efectos adversos en la salud humana^{10,11}. Dependiendo de la magnitud de la exposición, de la eficiencia de los mecanismos defensivos y de factores de susceptibilidad individual, se pueden producir enfermedades como infecciones, neumonitis químicas, neumoconiosis, limitación crónica del flujo aéreo, episodios de asma, neumonitis alérgicas extrínsecas, neumonitis por drogas, neumonías aspirativas, entre otras.¹²⁻¹⁵

La vitamina E, es esencial para el organismo. Es un antioxidante que ayuda a proteger los ácidos grasos, así cuida al organismo de la formación de moléculas tóxicas resultantes del metabolismo normal como de las ingresadas por vías respiratorias o bucales. Evita la destrucción anormal de

glóbulos rojos, trastornos oculares, anemias y ataques cardíacos¹⁶.

El uso popular de briquetas de carbón mineral de manera doméstica puede producir gran afectación en las vías respiratorias tanto de los que las elaboran como en quienes las usan pero que no son conscientes del daño a los que están expuestos ante el manejo de estos materiales, por lo que surge el interés de investigar y demostrar científicamente los efectos deletéreos que podría estar produciendo en la población, siendo el objetivo de este estudio e determinar el efecto de la vitamina E sobre el parénquima pulmonar de ratas albinas con neumoconiosis inducida.

MATERIAL Y MÉTODO

Material de estudio:

- Dieciocho especímenes *Rattus rattus* var. *albinus*, (ratas albinas) machos con un peso promedio de 250 g. procedentes del Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Trujillo.
- 30 briquetas de carbón de piedra (hulla), procedentes del distrito de El Porvenir, Trujillo

Materiales y reactivos:

Solución oleosa de vitamina E, aceite de oliva.

Método:

Distribución de los animales de experimentación:

Los 18 especímenes *Rattus rattus* var. *albinus* fueron divididos siguiendo el criterio del azar, en tres grupos experimentales con seis ejemplares cada uno, de la siguiente manera:

Grupo Blanco o Testigo: Sin exposición al humo de las briquetas

Grupo Control: Con neumoconiosis inducida por exposición al humo de briquetas

Grupo Problema: Recibió vitamina E previa a la exposición del humo de briquetas

Inducción experimental de neumoconiosis:

Las jaulas con los especímenes de los grupos control y problema, se colocaron en partes altas a dos metros de altura de un brasero, en el que frecuentemente hubo combustión de briquetas, sometándose a los

animales a exposición constante, la cual duró 60 días.

Administración vía oral de vitamina E:

Se administró vía oral 0.2 mL de solución oleosa de vitamina E (400 UI/kg/día) a los especímenes del grupo problema durante los 60 días que duró el estudio, a las 6:30 a.m, previa a la exposición de humo de las briquetas.

Los animales de los grupos control y problema fueron expuestos a la combustión de las briquetas de lunes a sábado: 7:00 am hasta las 10:00 am y de 12:00 a 3:00 pm.

Se controlaron los pesos corporales de los especímenes en estudio, al iniciar y al finalizar la exposición al humo de las briquetas.

Estudio histopatológico:

Terminado el tiempo de experimentación, se sacrificó a los especímenes de cada grupo experimental, extrayéndoles el pulmón, el cual fue colocado en formol al 10% para los estudios histopatológicos respectivos.

Análisis Estadístico:

Los resultados obtenidos fueron procesados y analizados estadísticamente tomando como parámetro central la media aritmética, se calculó el error estándar y el estudio comparativo se realizó mediante la distribución t de Student. Para inferir estadísticamente en base a los resultados se consideró un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS

Tabla 1. Control de los pesos corporales (g) de los *Rattus rattus var. albinus* de los grupos blanco, control y problema al inicio y al final del experimento

Animales de experimentación	Pesos corporales en gramos de los animales de experimentación					
	Grupo Blanco		Grupo Control		Grupo Problema	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
R1	214.2	219.3	111.5	123.3	113.6	140.5
R2	206.3	209.4	114.2	101.3	110.7	146.5
R3	191.9	203.1	116.8	88.5	111.7	145.6
R4	174	212.4	119.1	122.6	118.3	178.3
R5	195.7	209.4	124.6	132.7	121.5	190.4
R6	200.8	233.5	131.9	112.3	114	147.3
X± D.S	197.15±12.6	214.52±9.7	119.68±6.8	113.45±4.8	114.97±3.7	158.1±19.1*

p< 0,05 (respecto al control)

Leyenda:

Grupo Blanco: Sin exposición al humo por combustión de las briquetas

Grupo Control: Con neumoconiosis inducida por exposición al humo de briquetas

Grupo Problema: Recibió vitamina E previa a la exposición del humo de briquetas

Tabla 2. Observaciones macroscópicas de los pulmones de las ratas albinas después de la exposición de combustión de briquetas de carbón mineral durante 60 días

	Grupo Blanco				Grupo Control				Grupo Problema			
	Col.	Tam	Inf.	Fib.	Col	Ta m	Inf.	Fib.	Col	Tam.	Inf.	Fib.
1	R	N	-	-	O	AN	++	++	R	N	+	+
2	R	N	-	-	O	AN	++	++	R	N	+	-
3	R	N	-	-	O	AN	+++	+++	R	N	+	-
4	R	N	-	-	O	AN	++	+++	R	N	+	+
5	R	N	-	-	O	AN	++	++	R	N	+	-
6	R	N	-	-	O	AN	++	++	R	N	+	+

a un estado avanzado. También se puede

Leyenda: Sin afectación: (-), Leve: (+), moderada: (++) , Severa: (+++)

Grupo Blanco: Sin exposición al humo por combustión de las briquetas

Grupo Control: Con neumoconiosis inducida por exposición al humo de briquetas

Grupo Problema: Recibió vitamina E previa a la exposición del humo de briquetas

Col: color, Tam: tamaño, Inf: inflamación, Fib: fibrosis, R: rosados, O: oscuro, N: normal, AN: anormal

Tabla 3. Observaciones microscópicas de los pulmones de las ratas albinas después de la exposición a la combustión de briquetas de carbón mineral durante 60 días

Parámetros	Grupo Blanco	Grupo Control	Grupo Problema
Inflamación	-	+++	+
Neumonía	-	-	-
Hemorragia	-	++	-
Congestión parenquimal	-	+++	+
Absceso	-	+	+
Enfisema	-	+	-
Ruptura de alvéolos	-	+	-
Hemosiderina	-	+	-
Infiltración de tej. linfoide	-	++	+
Zona de infarto con infiltrado de neutrófilos	-	++	-
Fibrosis	-	+	-

Leyenda: Sin afectación: (-), Leve: (+), moderada: (++) , Severa: (+++)

Grupo Blanco: Sin exposición al humo por combustión de las briquetas

Grupo Control: Con neumoconiosis inducida por exposición al humo de briquetas

Grupo Problema: Recibió vitamina E previa a la exposición del humo de briquetas

DISCUSIÓN

El desarrollo de la neumoconiosis es por el polvo de carbón que se deposita en los tejidos pulmonares obra muy lentamente; toma muchos años antes de causar el deterioro de las funciones pulmonares. La patogenia de la neumoconiosis se suele presentar como una cascada de acontecimientos cuya secuencia discurre de la siguiente forma: alveolitis por macrófagos alveolares, señalización por citocinas de células inflamatorias, lesión oxidativa, proliferación y activación de fibroblastos y del metabolismo del colágeno y la elastina. La alveolitis por macrófagos alveolares es una reacción característica a la retención de polvo mineral fibrosante. Esta es por otra parte, una de las características de la enfermedad: a veces se desarrolla mucho después de la exposición al polvo de carbón, y no es fácil de diagnosticar, sólo se descubre mediante radiografías, cuando ya ha llegado

cortas, pero con gran contenido de partículas. Los síntomas aparentes consisten en dificultad para respirar, saliva espesa y viscosa, presencia de sangre en las expectoraciones, además tos persistente y dolor permanente en el pecho^{11,15}.

Basados en la sospecha clínica de que la inhalación del humo de carbón, producía una enfermedad pulmonar, se inició el estudio exponiendo ratas albinas a la inhalación de humo de briquetas. No se produjo ninguna muerte por sofocación o intoxicación con monóxido de carbono, ya que se controlaba la cantidad del humo. En la tabla 1 se observa que la alimentación de los especímenes se basó en la ingesta de los micronutrientes y macronutrientes que el cuerpo necesita en las cantidades correctas para el desarrollo de sus procesos metabólicos, las cuales tendrán una repercusión directa sobre la salud del animal. En este trabajo de investigación se realizó las

la toma de muestras del peso de las ratas albinas, que fueron sometidas a una alimentación a base de maíz los cuales influyeron en el proceso de nuestra investigación, observando que el grupo blanco aumentó de peso, en contraste con los grupos control y problema, ya que este grupo no fue sometido al humo generado por la combustión de las briquetas de carbón; el grupo control disminuyó de peso corporal debido a los efectos dañinos producidos por la neumoconiosis en los animales de experimentación lo que se manifestó en la disminución del consumo de alimentos, a diferencia del grupo problema que evidenció un aumento significativo de peso corporal ($p < 0,05$) debido a que la dosis de vitamina E administrada antes de la exposición al humo de briquetas, actuaba como preventivo sobre todo por sus efectos como antioxidante¹⁷⁻¹⁹.

Para el estudio histopatológico se sacrificaron a todos los especímenes en estudio, observándose, según la tabla 2, que tanto en el grupo blanco como el problema los pulmones de las ratas albinas son de color rosado y tamaño normal, indicativos del aspecto saludable de este tejido. En cambio, el grupo control (expuesto al humo de briquetas) presenta los pulmones de color negruzco, y de tamaño disminuido, además de un evidente proceso inflamatorio y de fibrosis, lo cual no se observa en el grupo problema (que recibió vitamina E previo a la exposición a la humo de briquetas) en el que si bien hay evidencia de cierto proceso inflamatorio y algo de fibrosis, son mucho menores que en el grupo control.

En la tabla 3 se observa que el grupo control presenta importantes alteraciones a nivel microscópico, como inflamación, hemorragia, congestión de parénquima pulmonar, infiltrado de neutrófilos, entre otros parámetros, además en la luz de los bronquiolos de las ratas expuestas se halló material mucoso indicativo de la hiperplasia de las células mucoproducidas; así mismo a nivel del epitelio, se encontró infiltración de la submucosa por linfocitos, a diferencia del grupo problema en el que sólo se observa cierto grado de inflamación y congestión pulmonar, no afectándose otros parámetros

histopatológicos en los pulmones de las ratas albinas en estudio. En investigaciones realizadas en el que ratas albinas fueron expuestas intensamente a inhalación de diversos polvos insolubles, se observó que las ratas desarrollaron respuestas similares: inflamación crónica, aumento del número de macrófagos cargados con partículas, aumento del número de partículas en el intersticio, engrosamiento septal, lipoproteinosis y fibrosis^{17,19}.

En el grupo que se administró vitamina E (grupo problema), no se presentaron daños graves, ya que la vitamina E es uno de los antioxidantes lipídicos más importantes gracias a su capacidad para captar el oxígeno, al impedir la oxidación de las membranas celulares, la vitamina E permite una buena nutrición y regeneración de los tejidos. Además, hay unos tipos de cáncer de pulmón, cuyo riesgo se ve reducido al consumir vitamina E^{19,20}.

CONCLUSIONES

La vitamina E protegió el parénquima pulmonar de *Rattus rattus var. albinus* expuestos al humo de briquetas de carbón mineral.

Conflicto de interés

No se presentan conflictos de interés..

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Internacional del Trabajo. Proyecto de Repertorio de recomendaciones prácticas sobre seguridad y salud en las minas de carbón subterráneas. Oficina Internacional del Trabajo. Ginebra. 2006. [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---ed_protect/---protrav/--safework/documents/normativeinstrument/wcms_112412.pdf
2. Amoudru C. Estudio de la evolución de los riesgos profesionales en la minería del carbón. OIEA boletín-Vol.22, 9. p.80. [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: <http://www.iaea.org/Publications/Magazi>

- nes/Bulletin/Bull225_6/Spanish/225_604_998091_es.pdf
3. Accinelli R, Yshii C. Efectos de los combustibles de biomasa en el Aparato Respiratorio: impacto del cambio a cocinas con diseño mejorado. Revista de la Sociedad Peruana de Neumología. 2004, Vol. 48.2. [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/enfermedades_torax/v48_n2/pdf/a06.pdf
 4. Quiñones K. Diagnóstico Comparativo de la Calidad del Aire de los interiores de las Viviendas de dos Poblaciones Indígenas del Perú. CEPIS. Perú. 2003, p. 10
 5. Cerna E. Contaminación con Humo y Polvo de Carbón por la Minería informal en Trujillo. Educación y Totalidad. Pontificia Universidad Católica del Perú. [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: <http://blog.pucp.edu.pe/item/153672/contaminacion-con-humo-y-polvo-de-carbono-por-la-mineria-informal-en-trujillo>
 6. Gómez J, Valcárcel F. Tóxicos detectados en muertes relacionadas con fuegos e intoxicaciones por monóxido de carbono. Revista de Toxicología. España. 2003. Vol.20. p:38-42
 7. Téllez J, Rodríguez A. Contaminación por Monóxido de Carbono: un Problema de Salud Ambiental. Revista de salud pública. 2006. Colombia. Vol.8.1. [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012400642006000100010&script=sciarttext>
 8. Córdoba D, Ramos J. Monóxido de Carbono. En: Toxicología. 4° edición. Editorial El Manual Moderno; Bogotá., 2001, pp. 313-315.
 9. Davis A. Patogénesis de la silicosis: conceptos actuales y las hipótesis Revista Lung. Estados Unidos. 1986, Vol 164. p:139-54
 10. Murray J, Becklake G. Neumoconiosis y otras enfermedades relacionadas con los minerales de polvo. (5° ed). Ed. Elsevier. Estados Unidos, 2010: p: 65.
 11. Martínez X. Enfermedades Pulmonares Inhalatorias. Hosp. Universitar de Bellvitge [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: http://www.radiolegsdecatalunya.cat/formacio/resums/GE13ET13_R.pdf
 12. Bruce S, Pérez J. Contaminación del aire de locales cerrados en los países en desarrollo: un importante reto ambiental y de salud pública. Bulletin of The World Health Organization. USA.2000. 78(9): 1078 – 1092.
 13. WHO Regional Office for Europe. Air Quality Guidelines for Europe. 2 ed. WHO Library Cataloguing in Publication Data. 2000.
 14. Marchand D. Enfermedades del desarrollo Ed. El CIID. Corea. (2000) pag. 9,10. [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: idbnc.idrc.ca/dspace/bitstream/10625/26182/1/115125.pdf
 15. Criado C. Vitaminas y antioxidantes. Universidad Autónoma de España. Pág. 12 (200) [Fecha de acceso el 6 de setiembre 2012]. Disponible en: 2011.elmedicointeractivo.com/.../VITAMINAS_Y_ANTI_OX_EL_MEDICO.
 16. Méndez F. Daños a la Salud por contaminación Atmosférica- Universidad Autónoma del Estado de México-México. 1,998.Pág. 278
 17. Restrepo J. Neumoconiosis por inhalación del humo de leña. [Archivos de Internet] 2010 [acceso 08 de diciembre del 2012]. Disponible http://www.archbronconeumol.org/bronco/ctl_servlet?_f=40&ident=13129
 18. Martínez C. Enfermedades Respiratorias de Origen Ocupacional. [Archivos de Bronconeumología] 2010 [acceso 08 de diciembre del 2012]. Vol.06 N°1. Disponible http://www.archbronconeumol.org/bronco/ctl_servlet?_f=40&ident=13129
 19. Hemmati A, Nazari Z, Samei M. A comparative study of grape seed extract and vitamin E effects on silica-induced pulmonary fibrosis in rats. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics 2008, Vol.21, Issue 4, p: 668-674. Fecha de

acceso: 4 de noviembre 2012. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18547852>

20. Aruoma O. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 1994. Vol.32, Issue7, p: 671-683. Fecha de acceso: 14 de mayo 2012. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0278691594900116>