

Efecto de la N-acetilcisteína sobre los niveles Séricos de Vitaminas Antioxidantes en Conejos que reciben cocimiento de Poleo

Rosalía Sutil de Naranjo, Yalitzá Aular, Mercedes Marquez, Maira Carrizales, Carmen Edén de Yépez

Palabras Claves: Poleo, N-acetilcisteína, antioxidantes, conejos.

Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Ciencias de la Salud.
Escuela de Medicina. Universidad de Carabobo, Valencia

INTRODUCCION

El poleo es un arbusto utilizado en la medicina popular como antiespasmódico, carminativo, sedante, estomáquico y emenagogo (Nash y Nee 1984, Varela 1988, Fuentes y col 1889, Arismendi y col 1994). Sin embargo, el desconocimiento de la cantidad de planta utilizada para la preparación (infusión, poción y principalmente cocimiento), conlleva a una imprecisión en la dosis, observándose en algunos casos efectos adversos (Fasanella y col 1993, Brizuela y col 1994); atribuido a los aceites esenciales presentes en la composición del poleo (Rodríguez y col 1995). En esenciales presentes en la composición del poleo (Rodríguez y col 1995). En este sentido estudios realizados por Thomasse y col en 1990 y 1991 y Jack en 1992; reportaron que la Pulegona (aceite esencial de una variedad de Poleo) es un monoterpeno que al biotransformarse utiliza el sistema P450 originando el mentofurano que es un metabolito intermediario; capaz no sólo de disminuir los niveles hepáticos de glutatión, sino también de generar radicales libres que causan daño celular y requieren el consumo de otros sistemas antioxidantes (Farrel 1993). Es conocido que el glutatión, posee un grupo Tiol (GSM) que desempeña un importante papel de oxido-reducción a través de las enzimas glutatión reductasa y glutatión peroxidasa (dependiente de selenio; sino también en los procesos de conjugación mediante la glutatión transferasa, neutralizando diversos xenobióticos y actuando de esta manera como detoxificador (Repetto 1988, Ladron de Guevara y Moya 1995). las vitaminas A, E y C, los carotenoides, el selenio y el zinc constituyen los antioxidantes esenciales del organismo aportados por la dieta. Estos junto a otras sustancias endógenas forman parte del sistema antioxidante del organismo cuya

función principal es neutralizar compuestos electrofílicos dañinos a las células, protegiendo las estructuras biológicas de los procesos de oxidación y peroxidación (Foum-fortunet y col 1989, Rangou y Bulkley 1993, Olivieri y col 1994). Existe una interacción sinérgica entre estos antioxidantes, actuando como coadyuvantes, de tal manera que la vitamina C: contribuye a regenerar, la forma antioxidante del α -tocoferol la vitamina A preserva el selenio reduciendo su gasto como agente antioxidante (Gey y col 1993), y el glutatión podría preservar el pool de vitaminas A y E (Niky y col 1995). La N-acetilcisteína es un fármaco detoxificante (demostrado en la toxicidad por acetaminofen), que tiene capacidad de barrer radicales libres lo cual potencia los mecanismos naturales de defensa de la célula contra el daño oxidativo (Harrison y col 1990 y 1991); y además este aminoácido incrementa los niveles de cisteína intracelular la cual es limitante en la tasa de biosíntesis del glutatión. Debido a que el déficit de glutatión no puede ser corregido con su administración exógena, porque no penetra fácilmente la célula, se requiere la administración de precursores del mismo como son varios tioles nucleofílicos del tipo de la cisteína (Lauterburg y 1983, Repetto 1988). Las Vitaminas A y E funcionan como antioxidantes biológicos barreadores de radicales libres, previniendo la oxidación de los ácidos grasos de las membranas celulares y de las proteínas ricas en radicales libres; evitando el daño celular (Farrel 1993, Gey 1993, Olivieri 1994, Sies y Stahl 1995). Debido a la asociación postulada entre la acción tóxica del poleo y la depleción de glutatión (Aular 1997), se diseñó el presente estudio con el fin de evaluar el efecto de la N-acetilcisteína sobre los niveles séricos de vitaminas A y E (antioxidantes endógenos) en dos grupos experimentales de conejos, recibiendo un grupo poleo (solo) y el otro poleo más N-acetilcisteína.

MATERIALES Y METODOS

Población y muestra: la muestra estuvo representada por 24 conejos Nueva Zelanda machos de un mes de nacidos, con un peso entre 1000 y 1500 grs, repartidos en tres grupos, seleccionados empleando el diseño experimental al azar y mantenidos en jaulas adecuadas para esta especie. La selección del conejo como animal de experimentación se basó en que esta especie reproduce muchas de las pruebas bioquímicas del ser humano (Gallager 1992). Los animales previamente desparasitados (Sulfoquinoxalina 1 gr/L en agua por una semana). Los grupos experimentales estuvieron constituidos de la siguiente manera: Grupo C (control); 8 conejos de los cuales se les ofreció 100 grs de conejarina y 250 ml de agua diariamente durante siete días. Grupo A: 8 conejos que recibieron 250 ml de cocimiento de poleo por siete días. Grupo B: 8 conejos que recibieron 250 ml de poleo y se les administró simultáneamente N-acetilcisteína por vía intramuscular dosis de 140 mg/Kg/día, durante siete días.

Preparación del cocimiento de poleo

Se tomaron 100 grs de hojas y flores de la planta recién cortada y se colocaron en un recipiente de vidrio, que contenía 700 ml de agua, se dejaron hervir tapadas (para evitar que se perdieran los principios activos volátiles), durante 25-30 minutos o hasta que se redujera el contenido a 500 ml. Se dejó enfriar a temperatura ambiente para ofrecerlo a los animales de experimentación. Esta preparación se repitió todos los días durante la investigación.

Determinación de vitamina A (retinol) y vitamina E (alfatocoferol)

Los días 0, 3 y 7 de experimentación se extrajo a todos los conejos 2 ml de sangre de la vena marginal de la oreja, se centrifugó y se obtuvo el suero, se refrigeró a -70 °C hasta su procesamiento. El retinol y el alfatocotero fueron determinados por Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), según la técnica de Bieri y cols 1979 y modificada por Yépez y cols 1979. Las condiciones cromatográficas fueron: Columna C18 en fase reversa; fase móvil: metanol/agua 95% flujo: de 1,5 ml/min, detector UV: a longitud de onda 325 y 292 para retinol y alfatocotero respectivamente, estándar interno fue retinil acetato y el tiempo de corrida 10-12 minutos.

RESULTADOS

Vitamina A

La Concentración sérica ([g/dl] de vitamina A es expresada como media () más o menos el error estándar (E.S.) encontrándose en el grupo control 67,21 [g/dl ± 8,23 para el día cero (basal); 90,33 [g/dl ± 3,81 en el día 3 y 94,72 [g/dl ± 3, en el día siete de experimentación. En los conejos que recibieron cocimiento de poleo (grupo A) se observó una disminución significativa ($p \leq 0,005$) de los niveles séricos a medida que aumentaron los días de administración (tabla 1) lo cual contrasta con el grupo control (grupo C) donde los niveles séricos de esta vitamina para el día 3 se incrementaron significativamente ($p \leq 0,01$) manteniéndose dichos valores hasta el día 7 (tablas 2 y 3). El grupo tratado con N-acetilcisteína (grupo B) mostró una disminución significativa ($p \leq 0,01$) en los niveles séricos para el día 3, y se evidenció una tendencia a recuperación para el día 7; aún cuando no alcanzaron los valores basales y se mantienen significativamente menores ($p \leq 0,001$) que el grupo control (tabla 3). Al comparar las alteraciones producidas por el cocimiento de poleo con los niveles séricos encontrados en el grupo tratado con N-acetilcisteína (grupo B) se observó que aún cuando para el día 3 hubo un descenso de los niveles plasmáticos en ambos grupos, en el día 7, el comportamiento en los niveles séricos obtenidos de los grupos fue opuesto; el grupo A continuó disminuyendo mientras que el grupo B mostró tendencia a recuperación (gráfico 1). La diferencia entre ambos grupos fue significativa ($p \leq 0,001$) se aprecia en la tabla 6.

Vitamina E

El promedio de la Vitamina E en el grupo control fue 997,5 [g/dl ± 129,85 (día 0). 1628,91 [g/dl ± 76,95 en el día 3 y 1757,16 [g/dl ± 86,37 para el día 7. En el grupo A los niveles plasmáticos descendieron significativamente ($p \leq 0,01$) tanto para el día 3, como para el día 7 (tabla 1). Al comparar estos valores con los obtenidos en el grupo control se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,001$) (tablas 4 y 5). En el grupo B (tratado con N-acetilcisteína) los niveles plasmáticos disminuyeron en el día 3 recuperándose para el día 7 de experimentación ($p \leq 0,001$) tabla 6. Cuando estos valores fueron comparados con el grupo control se observó que en el día 3 también hubo descenso ($p \leq 0,001$) por el contrario en el día 7 las cifras de vitamina E se incrementaron ($p \leq 0,001$) gráfico 1. Al contrastar el grupo A con el B se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,001$) en el día 7 (tabla 4 y 5).

DISCUSION

El cocimiento de poleo es utilizado en medicina popular con fines terapéuticos en procesos febriles y respiratorios.

Tabla 1: Niveles séricos de vitaminas A y E en conejos que recibieron conocimiento de Poleo (grupo A).

NIVELES SERICOS (ug./dl)	DIA 0	DIA 3	DIA 7
Vitamina A	76,03 ± 7,5	40,95 ± 3,8*	31,90 ± 1,85
Vitamina E	726,48 ± 65,10	371,94 ± 62,22**	235,72 ± 33,01**

* $p \leq 0,001$ con respecto a la basal

** $p \leq 0,001$ con respecto a la basal

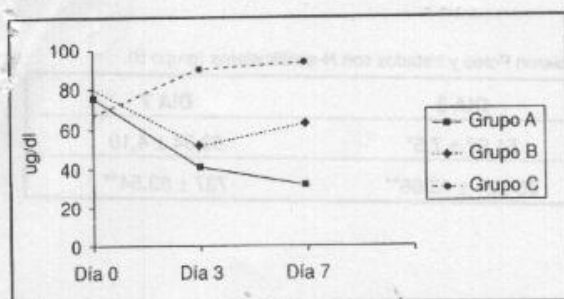


Gráfico 1: Niveles séricos de vitamina A en grupos experimentales.

Tabla 2: Comparación de niveles séricos de vitamina A, para el día 3, en los diferentes grupos.

Grupos experimentales	t	P
C/A	6,015	<0,001
C/B	4,549	<0,001
A/B	1,479	NS

*t Bonferroni

entre otros, su uso es común en los niños, donde factores como las deficiencias marginales de vitaminas y la deshidratación pudieran estar presentes. (Rodríguez y col 1995). Se ha descrito que el poleo es detoxificado a través de un metabolito activo por conjugación con el glutatión; el cual se agota al exceder la cantidad de metabolito activo; el agotamiento del glutatión repercute negativamente en el balance oxidativo, lo cual podría contribuir también al daño hepático y renal producido por el poleo (Toback 1992).

En este estudio se utilizó N-acetilcisteína para restituir los niveles de glutatión y evaluar el estado de los antioxidantes: vitamina A (retinol) y vitamina E (alfatocoferol) en conejos recién nacidos que recibieron cocimiento de poleo. Los resultados obtenidos demuestran que en los grupos experimentales hubo modificaciones en los niveles séricos de dichos antioxidantes. El grupo control presentó un incremento de las vitaminas el día 3 y 7 con respecto a la basal; este hecho pudiera explicarse por ser enriquecida la conejarina con estos (tabla 7). Los resultados obtenidos en los niveles séricos de vitamina A y E, en el grupo que recibió, solo cocimiento de

Tabla 3: Comparación de niveles séricos de vitamina A, para el día 7, en los diferentes grupos.

Grupos experimentales	t	P
C/A	14,31	<0,001
C/B	4,673	<0,001
A/B	7,56	<0,001

*t Bonferroni

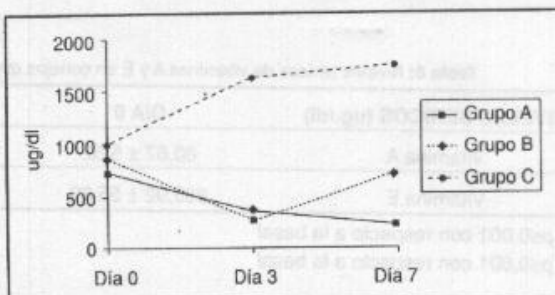


Gráfico 2: Niveles séricos de vitamina E en grupos experimentales.

Tabla 4: Comparación de niveles séricos de vitamina E, para el día 3, en los diferentes grupos.

Grupos experimentales	t	P
C/A	14,106	<0,001
C/B	14,69	<0,001
A/B	1,084	NS

*t Bonferroni

poleo reflejan que dicho compuesto afectó negativamente el pool de estos antioxidantes, a pesar que los diferentes grupos consumieron de la misma conejarina enriquecida ofertada al grupo control. La disminución del nivel de vitaminas A y E inducida por la administración de poleo, podría atribuirse a que el poleo al biotransformarse mediante el sistema citocromo P450 (Madyastha y Raj, 1990) depleta el glutatión e induce un desbalance en el pool de antioxidantes (Thomassen y col 1990 y 1991), y esta condición patológica al exceder la capacidad del glutatión como antioxidante endógeno consume otros compuestos con función antioxidante como serían en este caso las Vitaminas A y E (Rangou y Bulkeley 1993). En este sentido estudios realizados por Rojas y cols 1996, han demostrado que la suplementación con vitamina E incrementa la capacidad global de antioxidantes esto permite deducir que al organismo detectar la depleción de un antioxidante endógeno (como el glutatión) utiliza otros antioxidantes; de hecho Suhail y Ahmad en 1995 demostraron que al administrar vitamina E a ratas que recibieron dosis no tóxicas (250 mg/kg) de acetaminofen (compuesto que tiene un mecanismo de acción

Tabla 5: Comparación de niveles séricos de vitamina E, para el día 7, en los diferentes grupos.

Grupos experimentales	t	P
C/A	15,50	<0,001
C/B	10,122	<0,001
A/B	5,62	<0,001

*t Bonferroni

Tabla 6: Niveles séricos de vitaminas A y E en conejos que recibieron Poleo y tratados con N-acetilcisteína (grupo B).

NIVELES SERICOS (ug./dl)	DIA 0	DIA 3	DIA 7
Vitamina A	80,67 ± 5,52	51,97 ± 7,5*	63,34 ± 4,10
Vitamina E	850,92 ± 55,80	284,21 ± 43,66**	737 ± 83,54**

* $p \leq 0,001$ con respecto a la basal

** $p \leq 0,001$ con respecto a la basal

PROTEINA CRUDA	MIN 12%
GRASA CRUDA	MIN 1%
FIBRA CRUDA	MAX 20%
EXTRACTOS	MAX 42%
INGREDIENTES: maíz, sorgo, afrecillo de trigo, harina de maíz, ajonjolí, algodón, girasol, soya, concha de maní, bagasillo de caña, pasto deshidratado, melaza, grasa estabilizadora, carbonato, fosfato de calcio, sal, minerales "trazas" (cobalto, cobre, hierro, magnesio, yodo y zinc), suplemento de vitaminas A, B2, B12, C, D3, E, ácido pantoténico, niacina, antioxidantes, suplemento de anti-biótico Anticoccidial.	

Tabla 7: Composición de la Conejarina

semejante al poleo) se incrementaba la actividad del glutatión (Van Lieshout y col 1996). Estos hallazgos son opuestos a los reportados por Amimoto y cols en 1995 quienes trataron con vitamina E (20 mg/Kg/IV) a ratas que recibieron dosis tóxicas de acetaminofen y encontraron que no se modificó la actividad del glutatión. Por otra parte, no solamente la Vitamina E como antioxidante endógeno puede preservar y/o aumentar las reservas de glutatión, sino también la vitamina A (Colin y col 1991, D'Aquino y cols 1995). Helen y Vijayammal en 1997 reportaron que la deficiencia de vitamina A y glutatión conllevan a un empobrecimiento del estado antioxidante y en consecuencia a una mayor posibilidad de acción de los radicales libres, responsables del daño celular (Ibrahim y col 1997). La N-acetilcisteína además de restaurar los niveles de glutatión, se comporta como un barrador de radicales libres, función semejante a la ejercida por las vitaminas A y E y C (Barth y col 1991; Van den Braden y col 1997) Aún más Powel y Mccay en 1995 y Hu y col en 1996, reportaron que la inhibición de la peroxidación mediante glutatión es mediada por enzimas que requieren de tocoferol. AnKrah y col en 1995 acotan que el déficit de cisteína y glutatión puede incrementar el riesgo de toxicidad inducida por radicales libres. De manera semejante Jain y cols en 1994 administraron ascorbato y N-acetilcisteína en niños con deficiencia de glutatión y encontraron que el suplemento con ascorbato aumento dos veces más los niveles de glutatión que la N-acetilcisteína. Este hecho permite resaltar la importancia, de un balance o equilibrio adecuado de antioxidantes endógenos (glutatión, vitaminas A, E y C; selenio,

etc.) ante las agresiones que ocasionan los radicales libres. En este sentido el tratamiento con N-acetilcisteína al contribuir a la restitución del glutatión, vitaminas A y E depletadas por el cocimiento de poleo, sugiere la necesidad de contemplar la suplementación con vitaminas E, A y C en el tratamiento de la toxicidad por poleo.

RESUMEN

La N-acetilcisteína es un aminoácido con capacidad de barrar radicales libres e incrementar la síntesis del glutatión, potenciando así, los mecanismos naturales de defensa de la célula contra el daño oxidativo (Harrison y col, 1991). El Poleo es un arbusto comúnmente usado en la medicina popular en forma de cocimiento, en procesos gripales, cuadros febriles de niños y adultos sin embargo, no están claras las evidencias de sus efectos beneficiosos y además uno de sus metabolitos, la pulegona ha demostrado reducción del glutatión, facilitando, los procesos oxidativos. Este estudio evaluó el probable efecto protector de la N-acetilcisteína sobre los niveles de las vitaminas antioxidantes (A y E) en conejos Nueva Zelanda tratados con Poleo. El diseño experimental fue: Grupo A: conejos que recibieron solamente cocimiento de Poleo (250 ml); Grupo B: poleo + N-acetilcisteína (140mg/Kg.IM) y el Grupo C: control. Los resultados mostraron una persistente y significativa disminución del alfa-tocoferol y retinol ($p < 0,001$), en el Grupo A; mientras que en el grupo B fue transitorio. Estos efectos del poleo podrían estar relacionados con su acción depletores de glutatión, mediando la disminución de retinol y alfa-tocoferol. Se requieren de nuevos estudios que profundicen ésta hipótesis.

SUMMARY

N-acetylcistein is a aminoacid with free radical scavenger action that also increases the synthesis of glutatión thereby potentiating the natural defensive mechanism against cell oxidative damage (Harrison and col 1991). Poleo is a small shrub widely used in popular medicine as a decoction for relieving fever and symptoms of upper respiratory congestion in children and adults, however, there are not clear evidences of this benefits, and moreover one of its metabolites, pulegone has show glutatión reduction, thereby facilitating oxidative process. This study evaluated the probable protector effects of N-acetylcistein on antioxidants levels (retinol and tocopherol) of New Zealand rabbits treated with poleo decoction. The protocol included: Group A: only poleo (250 ml), Group B: Poleo + N-

acetylcistein (140 mg/Kg p) and Group C as a control. The results showed a persistent and significant decreased of tocopherol and retinol in A ($p < 0.001$). While and transitory decrease in B. This effect of poleo decoction, could be related to the glutathione depletion; mediated action; mediating the glutathione the tocopherol and retinol decreased, more work needs to be done to test this hypothesis.

BIBLIOGRAFIA

- Aular G, Y (1997). Potencial toxicidad inducida por la asociación de acetaminofen + cocimiento de poleo en conejos: Posible reversión con N-acetilcisteina. Tesis de grado para optar a magister en toxicología. Universidad de Carabobo.
- Amimoto T; Matsura T; Koyama Sy; Nokanishi; Yamada K; Kajiyami G. (1945) Acetaminophen-induced hepatic injury in mic: the role of lipid peroxidation and effects of pretreatment with coenzyme Q10 and alpha-tocopherol. *Free Radic Biol Med.* 19:2, 169-76.
- Ankrah NA; Rikimaru T; Ekuban FA; Addae MM. (1994) Decreased cysteine and glutathione levels: possible determinants of liver toxicity risk in Ghanaian subjects. *J Int Med Res.* 22:3, 171-6.
- Arismendi, E.; Bejarano, E.; Cedeño, A. Flores, H.; Ragone, M.; Ramírez J; Rangel, C.; y Rojas, O. (1994) Intoxicación por plantas medicinales en niños menores de tres años que acudieron a la emergencia del Hospital Central de Valencia y a CATOX 1990-93. Trabajo final de la asignatura Medicina Preventiva del onceavo semestre de Medicina. Universidad de Carabobo. Valencia. Edo. Carabobo.
- Barth SA; Inselmann G; Engemann R; Heldemann HT. (1991) Influences of Ginkgo on Ginkgo biloba on cyclosporin. A Induced lipid peroxidation in human liver microsomes in comparison to vitamin E glutathione and N-acetylcysteine. *Biochem Pharmacol.* 15,41:10,1521-6.
- Bieri, J-G. Tolliver, T.J. Catignani, G.L. (1979) Simultaneous determination of alphetocopherol and retinol in plasma or red cell by high pressure liquid chromatography- *Am J Clin Nutr* 32:2143-2149.
- Brizuela, O; Calviño, M; Castellanos, V; Duerto, X; Falconete, Y; Pérez, M; Rodríguez, S. (1994). Intoxicación por plantas en el Servicio de Pediatría. Hospital Universitario «Dr. Angel Larralde». IVSS. Baárula. Edo. Carabobo- Trabajo final de la asignatura Medicina Preventiva del 11vo. semestre de Medicina. UC- Valencia.
- Colin C; Narbonene, J.F; Migaud M; Grollier P; Cassaud P; Pellisser, M.A (1991). Lipid peroxidation and Benza (a) pyrene activation to mutagenic metabolites in vivo influence of vitamin A, E and Cand glutathione in both dietary vitamin A sufficiency and Deficiency. *Mutat Res Jan.* 246:1, 159-68.
- D, Aquino M; Dunster C; Willson RL. (1995)- Vitamin A and glutathione-mediated free radical damage: competing reactions with polyunsaturated fatty acids an dvitamin C. *Biochem Biophys Res Commun;* 161:3, 1199-203
- Farrel Philip (1993). Vitamin E. En *Modern Nutrition in Health and disease*. M.E, Oison J.A, Shike M. Eds Les Felpilger. Philadelphia- Octava Edición. C. Chapter 15:341-42.
- Fasanella M. P.; Moriyon, J.C.; Contreras. G.; Dominguez, L. F.; Espinoza, S.; Orta, N. y Escovino, R. (1993) Intoxicación por plantas e insuficiencia renal. Monografía no publicada.
- Foulm-Fortunet, H.; Besnuer, M. (1989) Effects of ketoacids on liver glutation and microsomal enzymes in malnourished rat. *Kidney Inst* 536:s222-226.
- Fuentes, V. R.; Granda, M. M.; Armas, I.; Izquierdo, M.; Martínez, m. Y Rodríguez, C. (1989) Estudios sobre la medicina tradicional en Cuba. IV Rev. Cubana Form. 23(1-2):99-115.
- Gallager, D.D. (1992) Animals models In human nutrition research. *Nutrition In Clinical Practice.* 7:37-39.
- Gey, F. K.; Moser, U. K.; Jordan, P.; Stahelm! H. B.; Eichholzer, M.; and Ludin E. (1993) Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentration of essential antioxidants an epidemiological update with especial attention to carotene and Vitamin C. *Am. J Clin Nutr.* 57(suppl) 78:7875-975.
- Harrison, P.M.; Keays, R.; Bray, G. P.; Alexander! G.J.; Williamsm, R. (1990) Efficacy of late administration of N-acetylcistein In paracetamol poisoning. *Lancet* 335: 1572.
- Harrison, P.M.; Wendon, J.A.; A. E. S.; Alexander, G. J. M.; y Williamsm R. (1991) Improvement by acetylcistein of hemodinamics and oxygen transport in fulminant hepatic failure. *New. Engl. J. Med.* 324:1852-57
- Helen A; Vijayammal PL (1997) Effect of vitamin A supplementation on cigarette smoke-induced lipid peroxidation. *Vet Hum Toxicol.* 391, 18-21.
- Hu J.J: Roush GC; BerwickM; Dubin N; Mahabir S; Chandiramani M; Boorstein R.(1996) Effects of dietary supplementation of alpha- tocopherol on plasma glutathione and DNA repair activities. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 5:4, 263-70.
- Ibrahim W; Lee US; Yeh CC; Szabo J; Bruckner G; Chow CK. (1997) Oxidative stress and antioxidant status in mouse liver: effects of dietary lipid vitamin E and iron. *J Nutr.* 127 7, 1401-6.
- Jain A; Buist NR; Kennaway NG; Powel BR; Auld PA; Maartensson J. (1994).Effect of ascarbate or N-acetylcistein treatment patient with hereditary glutathione synthetase deficiency. *J Pediatr.* 124:2, 229-33.
- Ladron de Guevara, J. y Moya, V. (1995) Toxicología Médica Clínica y Laboral. 1ra. Ed Mc Graw-Hill Interamericana de España. Madrid P 737.
- Lauterburg, B H.; Corcoran, G B : and Mitchell, J. k. (1983) Mechanism of action of N-acetylcistein in the

protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rat in vivo J. Clin. Invest. 71:980-91.

- Mayastha, K M; and Chadda, A. (1990). Biotransformation of R-(+)-Pulegone and Mentofuran in vitro: chemical basis for toxicity. Biochemical and Biophysical research communications. 173:1086-1092.
- Nash, D. L.; y Nee, M (1984) Flora de Veracruz Verbenaceas, Fascículo 41:85. Publicado por Instituto de Investigaciones sobre recursos lógicos. Xalapa. Veracruz. México.
- Niki, E.; Noguchi, N.; Tsuchihoshi, H.; and Gotoh, N. (1995) Interaction among vitamin C, Vitamin E, and β -carotene. Am. J. Clin Nutr. 62(suppl):13225-65.
- Oliveri O.; Stanziol, A.M.; Girelli, D.; Trevison, M.T.; Guarini M.T.; Caffi S.; Fontana, F.; Casaril, M.; Ferrari, S y Corrocher, P (1994) Selenium status, fatty acids, Vitamins A and E; and aging: the nove study Am J Clin Nutr 60:51017.
- Powel Sr; Mccay PB. (1995). Inhibition of doxorubicin-Induced membrane damage by thiol compounds toxicologic implications of a glutathione-dependent microsomal factor. Free Radic Biol Med. 18:2 159-68.
- Rangou, V.; Bulkley, G.B. (1993) Prospect for treatment of free radical-mediated tissue injury. British Medical Bulletin 49(43):700-18
- Repetto, M. (1988) Antagonistas y antidotos, en Toxicología Fundamental. Editorial Científico-Médica Segunda Edición. Barcelona España. 10, 293-294.
- Rodríguez, S; Rojhas, H; Romero, N; Romero, J; Rondon, Y; Salas A. (1995). incidencia de las intoxicaciones agudas en niños Pre-escolares. Centro de Asesoramiento Toxicológico "Dr. Jorge Lizarraga". HCV Trabajo final de la asignatura Medicina Preventiva del 11vo semestre de Medicina. UC Valencia Edo Carabobo.
- Rojas C; Cadenas S; López-Torres M; Pére-Campo R; Barja G. (1996) Increase in heart glutathione redox ratio and total antioxidant capacity and decrease in lipid peroxidation after vitamin E dietary supplementation in guinea pigs. Free Radic Biol Med 21:7, 907-15.

- Sies, H Stahl, W (1995) Vitamin E and C, β -carotene, and carotenoides as antioxidants Am J Clin Nutr 62 (suppl): 1315s-21s.
- Suhail M; Ahmad I (1995) In vivo effects of acetaminophen on rat RBC and role of vitamin E Indian J Exp Biol. 33:4, 269-71.
- Toback, F.G (1992) Regeneration after acute tubular necrosis Kidney Int 41:226-46.
- Thomassen, D; Pearson, P.G.; Pearson, P.G.; Slattery, J.T. and Nelson, S.D. (1991) Partial characterization of biliary metabolites of pulegone by tandem mass spectrometry: Detection of glucuronide, glutathione and glutathionyl glucuronide conjugates. Drugs metabolism and disposition 19(5):997-1003.
- Thomassen, D.; Slattery, J.T. and Nelson, S. D. (1990) Menthofuran dependent and independent aspects of pulegone hepatotoxicity: Roles of glutathione. J of Pharmacology and experimental Therapeutic. 253(2):567-72.
- Van den Branden C; Verelst R; Vamecq J; Van Houte K; Verbeelen D. (1997) Effect of vitamin E on antioxidant enzymes, lipid peroxidation products and glomeruloesclerosis, in the rat remnant kidney. Nephron. 76 1, 77-81.
- Van Lieshout EM; Peters WH; Jansen JB. (1996). Effect of oltipraz, alphetocopherol, β -carotene and phenethylisothiocyanate on rat oesophageal, gastric, colonic and hepatic glutathione, glutathione S-transferase and peroxidase. Carcinogenesis. 17:7, 1439-45.
- Varela, M. C. (1988) Creencias y prácticas de las madres y personas a cargo de los menores de 5 años de la comunidad de Sopo, sobre J.R. A. Cual es el manejo que da el equipo de Salud a esta patología. Bogotá. s.n. 30.
- Yopez C.E; Naranjo R.S; Marquez M; Solano L. (1994) Niveles séricos y consumo de vitamina A en preescolares de un área suburbana del Estado Carabobo. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Vol. 4, 33.