

Estrés Oxidativo... un enemigo oculto!

Dr. Hugo Mario Galindo Salom. Médico Epidemiólogo y Medicina Preventiva. Sociedad Colombiana de Medicina Preventiva. Dr. Pedro A. González Lombana. Médico Internista Nefrólogo. Director Científico del Instituto Colombiano para la Prevención de las Enfermedades Crónicas. Dr. Helber Prieto. Médico Epidemiólogo y Medicina Ocupacional. Dr Carlos Carrillo. Médico Epidemiólogo. www.sociedadcolombianamedicinapreventiva.com
15 Agosto 2013. Bogota. Colombia. SCMP

Resumen

Desde la década del setenta se produjo una verdadera explosión en las áreas de investigación y la clínica, relativas a los radicales libres y los antioxidantes. En este vastísimo terreno que hasta ayer fuera patrimonio de los químicos, los biólogos y los físicos, la medicina se ha introducido con paso firme y cada vez es mayor el número de profesionales de la salud interesados por los fenómenos de la oxidación celular.

Palabras claves: Antioxidantes, Práctica clínica, radicales.

Radicales libres o especies reactivas de oxígeno.

Las moléculas están formadas por átomos unidos entre sí por enlaces químicos. Cada átomo está formado por un núcleo que a su vez está rodeado de pares de electrones cargados negativamente y girando en torno al núcleo.

Si uno de los electrones en el par se suelta, el átomo, o la molécula de la que el átomo forma parte, se vuelve inestable y se vuelve altamente reactiva en la búsqueda de otro electrón. Un átomo o molécula altamente reactiva y fuera de control, con uno o más electrones sin pareja, constituye un radical libre (RL).

Entonces un radicales libres son átomos o moléculas que tienen un electrón(e-) desapareado en su órbita más externa y permanentemente están buscando aparearse, por lo que deben obtener este electrón de otro átomo o molécula estable con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica y una vez que el radical libre ha conseguido robar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cedió se convierte a su vez en un nuevo radical libre, por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células.

Un átomo de oxígeno tiene 8 electrones en su órbita más externa, y cuando pierde uno quedando con 7 se convierte en una sustancia muy reactiva. Se convierte en un radical libre!

Por eso los radicales libres son considerados elementos muy reactivos.

La vida biológica media del radical libre es de microsegundos lo que lo convierte en un elemento muy difícil de medir; pero como tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas y a las membranas celulares, el producto de este daño si es posible medirlo.

Los radicales libres no son intrínsecamente malos. De hecho, nuestro propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas para la lucha contra bacterias y virus, para regular la estructura y función de las proteínas y controlar el tono muscular, entre otras. Pero estos radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por nuestro propio sistema de anti-radicales libres conocido como sistema ANTIOXIDANTE y es así como nuestro cuerpo produce unas enzimas (como la catalasa o la dismutasa que son dependientes de sus cofactores tales como el cobre, el hierro, el zinc, el magnesio y selenio) al mismo tiempo que ingerimos en la dieta otras sustancias con igual capacidad antioxidante (Vitaminas C, E, A, minerales como ZIN, Selenio, etc) que son las encargadas de neutralizarlos. Estas sustancias antioxidantes tienen la capacidad de desarmar los radicales libres sin desestabilizar su propio estado.

Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo y son necesarias para la salud. Pero, el proceso debe ser controlado con una adecuada protección de antioxidante. Un antioxidante es una sustancia

capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en nuestra sangre que son captados por los radicales libres sin convertirse en moléculas inestables.

En la molécula de oxígeno se conocen las siguientes especies reactivas:

O ₂	Anión súper óxido.
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno.
HO	Radical hidróxido.
1 O ₂	Oxígeno singulete.

El oxígeno es un elemento imprescindible para la vida, pero es fuente de radicales libres, que si no se neutralizan de forma adecuada pueden tener efectos deletéreos sobre la función celular. Se dice que existe "estrés oxidativo" cuando existe una excesiva exposición a oxidantes y/o una capacidad antioxidante disminuida (2).

Todos los seres vivos que utilizan O₂ para la liberación de energía generan RL. Existen varias fuentes capaces de producirlos, dentro de ellas las mitocondrias constituyen las más importantes aunque existen otras como los peroxisomas (organelas del citosol muy ricas en oxidasa), los leucocitos polimorfonucleares (cuando se activan por diversas proteínas que actúan sobre ellos, ejemplo: el complemento, las interleukinas, etc., particularmente durante los procesos inflamatorios) y la enzima xantina deshidronasa, que se encuentran en los endotelios (3-5).

En 1954 la Doctora Rebeca Gerschman sugirió por primera vez que las ERO eran agentes tóxicos y generadores de patologías, estableciendo tres postulados básicos:

1. Los RL constituyen un mecanismo molecular común de daño cuando los animales son sometidos a altas presiones de oxígeno y a radicales ionizantes.
2. El desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes producían los efectos tóxicos.
3. La producción de RL es un fenómeno continuo con implicaciones en el envejecimiento, generación de enfermedades y la carcinogénesis (1).

Actualmente estos postulados se mantienen vigentes y son la base para múltiples investigaciones.

Sistema de defensa antioxidante.

Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen RL. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que neutralicen los RL. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor

que cualquier otra molécula para interactuar con un RL.

El antioxidante al colisionar con él RL, le cede un electrón oxidándose y transformándose en un RL débil no tóxico (3,7-9). No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los RL.

De lo dicho anteriormente se deduce que los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no enzimáticos. Y estos a su vez se clasifican en endógenos (se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células) y exógenos (ingresan a través de la dieta) (tabla 1).

Tabla 1 Clasificación de los antioxidantes.

A. Vitamina C: Neutraliza el oxígeno singulete. Captura radicales hidroxilo. Regenera la forma oxidada de la vitamina E.
B. Vitamina E: Neutraliza el oxígeno singulete. Captura radicales hidroxilo. Captura anión superóxido. Neutraliza peróxidos.
C. Betacarotenos: Neutraliza el oxígeno singulete. Neutraliza el oxígeno singulete.
D. SOD: Eliminan el anión superóxido.
E. CAT y GPX: Previene la reducción del peróxido de hidrógeno para formar el radical hidroxilo (10-12).

Dentro de los antioxidantes es importante destacar a ciertos oligoelementos cuya incorporación al organismo es necesaria por constituir parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes. Estos oligoelementos son: cobre, zinc, selenio, magnesio y hierro (11,12).

Hoy día hay suficiente evidencia científica que nos muestra que el entorno es tan hostil con el ser vivo que las defensas antioxidantes deben ser consideradas de forma permanente en la dieta e incluso deben ser suplementadas.

En 1932 cuando el Dr. Albert Szent-Gyorgyi quien ganó el premio nobel de medicina y fue a recibir el galardón, en su discurso dijo: "La propia profesión médica tiene una estrecha y mala perspectiva: « Decir que la falta de ácido ascórbico causa escorbuto, es verdad y si digo que no hay escorbuto es porque no falta el ácido ascórbico. Y también es verdad. El único problema es que el escorbuto no es un primer síntoma de la falta de ácido ascórbico, sino el colapso final de un síndrome mortal. Y hay una gran brecha entre el escorbuto y una salud plena!

Este postulado hoy día tiene vigencia cuando comprobamos que la mayoría de las personas con un alto contenido de radicales libres, también cursa

con disminución en las concentraciones plasmáticas de Vitamina C: Escorbuto Sub-clínico (43).

La Vitamina C es quizás el único anti-oxidante que se puede administrar en grandes cantidades para combatir el fenómeno de oxidación producto de la gran cantidad de radicales libres exógenos.

Hoy día se han desmitificado muchos de los obstáculos que se tenían para el uso de la mega dosis de Vitamina C. Entre ellos el de qué forma cálculos renales.(44)

Y también se ha demostrado que el uso de Vitamina C intravenosa es la única ruta de administración que corrige la deficiencia de Vitamina C que cursa con estrés oxidativo. (44).

Estrés oxidativo: su papel en el envejecimiento y sus patologías.

En la vida de los organismos aerobios, es decir, aquellos que usan el oxígeno como medio para conseguir energía, existe el peligro de que sus defensas antioxidantes se vean sobrepasadas por las fuerzas oxidantes. Esta situación se denomina estrés oxidativo y se relaciona con diferentes enfermedades así como con el envejecimiento (9,13-15).

A título ilustrativo, cabe decir que una célula cualquiera de nuestro organismo es atacada aproximadamente por 20.000 millones de radicales libres cada día.

En 1954 el Dr. Denham Harman de la Universidad de Nebraska planteaba que la expectativa de vida aumentaba cuando disminuíamos el grado de fenómenos oxidativos. Esto se lograría mejorando los hábitos higiénicos dietéticos y aumentando las defensas antioxidantes (16).

Esta hipótesis, ridiculizada al principio, ha recibido amplia confirmación y se ha convertido en uno de los principales focos de interés en la investigación científica del envejecimiento y las enfermedades degenerativas.

Ha sido nominado 6 veces al premio nobel y hoy en día sigue vivo con más de 95 años. Y sigue muy activo.

Son numerosas las patologías que han sido asociadas con este desbalance entre oxidantes y antioxidantes; la aterosclerosis, el cáncer, la enfermedad de Alzheimer, la Diabetes Mellitas, enfermedades autoinmunes, inflamatorias crónicas, situaciones de injuria por isquemia y repercusión en los tejidos, el síndrome de dificultad respiratorio, etc (9).

La enfermedad cardiovascular secundaria al proceso de aterosclerosis constituye la primera causa de mortalidad e invalidez en los países desarrollados, y dentro de ellas el infarto agudo de miocardio ocupa un lugar cimero (17). Numerosas

experiencias "in vitro" e "in vivo" demostraron que en esta patología existe una activación de la peroxidación lipídica.

Los productos de este daño oxidativo sobre los lípidos de las membranas, se acumulan en las paredes vasculares creando el sustrato anatómico patológico para la aterosclerosis.

Las LDL principales transportadoras de colesterol hacia la célula sufren modificaciones oxidativas (constituyendo uno de los mecanismos básicos de la aterogénesis (18,19).

Estudios realizados han demostrado la disminución de la incidencia de enfermedades cardiovasculares con suplementos individuales de antioxidantes en particular con el uso de Vitamina C y E.(20,21).

La presencia o incremento con los años de productos oxidativos del ADN señalan una permanente agresión causada por estrés oxidativo, lo que tiene serias consecuencias carcinógenas y mutantes (23).

Existen múltiples evidencias epidemiológicas que demuestran la correlación inversa entre la ingestión de Vitamina C y otros antioxidantes y el riesgo de adquirir diversos tipos de cáncer principalmente de la boca, vías aéreas superiores, pulmón, tubo digestivo, próstata y aparato genital femenino.

Algunos autores han relacionado el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- alfa) con la presencia de estrés oxidativo (24-27).

Evaluación de estrés oxidativo y los antioxidantes

La presencia de una correlación inversa entre algunos antioxidantes y las patologías del envejecimiento indican que muy pronto las determinaciones de defensas antioxidantes formaran parte de los estudios que evalúan el perfil de riesgo de un individuo. Los RL presentan una vida media muy efímera lo que representa una de las principales limitaciones para su detección. Sin embargo, hoy es posible medir la cantidad de iones SUPEROXIDO en la sangre con una muestra capilar (d-ROM Test) y al tiempo medir la capacidad antioxidante del plasma (PAT Test) mediante el uso del equipo analizador global del estrés Oxidativo conocido como el FRAS4.

Esta técnica sencilla nos permite saber el estado antes y después de una terapia lo que optimiza la dosis de antioxidantes. Este equipo ya está disponible en Colombia.

Solo la evaluación de estos dos parámetros nos lleva a la realidad oxidativa de una persona.

El daño oxidativo cada vez se implica más en las enfermedades degenerativas relacionadas con el envejecimiento. Combatir los factores que llevan a esta situación tales como: agentes químicos (metales pesados, xenobióticos y el humo del

tabaco), agentes físicos (radiaciones ultravioletas e hiperoxia), drogas (adriamicina), factores orgánicos y metabólicos (dieta hipercalórica, insuficiente en antioxidantes, diabetes mellitus, procesos inflamatorios y traumatismo, el ejercicio estimulante y fenómenos de isquemia y reperfusión), son de gran importancia para evitar el desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes (5,28,29).

Los conceptos de medicina preventiva han evolucionado con rapidez en el último decenio (39). Se estima que un mejor control de los factores de riesgo incluidos aumento del ejercicio, disminución del tabaquismo y mejoramiento de la dieta podrían prevenir del 40 al 70% de las muertes prematuras, un tercio de todos los casos de incapacidades agudas y dos tercios de todas las crónicas. En particular la ingesta de antioxidantes (30).

Existen evidencias clínico epidemiológicas que responden los beneficios al consumo de antioxidantes, ya sea dietario o como suplemento (10,26,32,33). La alimentación es de vital importancia para proveer de antioxidantes nuestro organismo, especialmente cuando las condiciones de vida del individuo han disminuido el potencial de sus sistemas de defensas (34). Y en muchos casos el uso de Vitamina C intravenosa es la única forma en que se logra el equilibrio. Sobre todo en pacientes con enfermedades crónicas.

Se ha podido establecer que la dieta humana contiene, además de los macro y micro nutrientes, una serie de compuestos no nutrientes bioactivos, de origen vegetal, que pueden ser importantes para la salud, conocidos como fitoquímicos. Entre éstos, los fitoestrógenos constituyen un grupo de compuestos no esteroideos, que pueden comportarse como agonistas o antagonistas de los estrógenos.

Los principales fitoestrógenos con importancia en nutrición y que pueden tener relevancia sobre la salud humana son las isoflavonas, los lignanos y los cumestanos, siendo especialmente activas las primeras (36)

Las isoflavonas se encuentran en una variedad de plantas, incluyendo frutas y vegetales, aunque es el poroto de soya el que presenta las más altas concentraciones y también Inhibición la producción de radicales libres del oxígeno (propiedades antioxidantes) (40).

Los Fitoestrógenos también tienen implicaciones en la prevención del cancera través de Inhibirlas topoisomerasas de DNA, suprimir la angiogénesis, inhibir la inducción a diferenciación en líneas celulares de cáncer; e Inducir la apoptosis (41).

Hasta este momento, al menos en nuestro conocimiento, no hay protocolos en humanos acerca del uso de soya o sus derivados en la

prevención primaria o secundaria del cáncer lo que si esta disponible con el caso de la Vitamina C.

En la Clínica Riordan en Guchita Kansas se hace el manejo ortomolecular del cáncer a base de Megadosis de Ascorbato de sodio (45).

Conclusiones.

En la actualidad la expectativa de vida del ser humano es de 75 a 78 años y puede incrementar a 85 años en las próximas dos décadas; sin embargo, no es claro si pueda ser satisfactorio vivir estos años adicionales. Muchas de las enfermedades propias de las sociedades occidentales son dependientes de las hormonas y los estudios epidemiológicos han llevado a establecer una estrecha asociación entre la incidencia de enfermedades tales como cáncer de próstata, de mama, de colon, enfermedades cardiovasculares (ECV), con la carencia de cierto tipo de vegetales en la dieta.

La medición de las defensas antioxidantes nos permite evaluar el perfil de riesgo de los individuos a padecer las enfermedades relacionadas con el disbalance entre oxidantes y antioxidantes. Alimentos ricos en vitaminas A, C, D y E deben ser incluidos en la dieta para contribuir a elevar dichas defensas al igual que en casos severos, se puede hacer suplencia de Vitamina C intravenosa en grandes dosis, siendo este el método más seguro y más efectivo en la actualidad.

Referencias

1. Ferreira R. Estrés oxidativo y antioxidativo: de las ciencias básicas a la medicina aplicada. Buenos Aires: Hospital Militar Central; 1998.
2. González-Mangadoa N, Morera Prats J. Oxidación celular y fármacos mucoactivos antioxidantes. ArchBronconeumol 2001; 37: 407-410.
3. Turnes J. Fuentes, Intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. Antioxidantes y calidad de vida. 1994; 1: 16-19.
4. Freeman BA, Crapo JD. Free radicals and injury. Lab Invest 1982; 47: 412-25.
5. Canas PE. The role xantinaoxidasa and the effects of antioxidants in ischemia reperfusion cell injury. Acta PhysiolPharmacolTherLatinoam 1999; 49(1):13-20.
6. Sohal RE. The free radical hypo thesis of aging; en appraisal of the aurrent status. AgingClinExp Res 1993; 5: 3-17.
7. Rodríguez C, Rodríguez J, Obregón O, Rodríguez M, Ordaz C, Acosta J. Radicales libres: parte I, consideraciones químicas, bioquímicas y fisiopatológicas. RevCardiol 1994; 14 (5): 73-84.
8. Rodríguez C, Rodríguez J, Obregón O, Rodríguez M, Acosta J, Ordaz C, et. al. Radicales libres: parte II cáncer, diabetes y envejecimiento. RevCardiol 1995; 15 (1) 13-9.
9. Montero E. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. An FacMed (Perú) 1996; 57 (4):278- 81
- 10 Jimenez I, Speisky C, Noran C. Radicales libres y antioxidantes en la prevención de enfermedades: II

-
- mecanismo de defensa antioxidantes. *ReuChilNutr* 2000; 27 (2): 210-9.
11. Parker L. Vitamina E is nature's master antioxidant. *Science and Medicine*. 1994; 1: 54-63.
 12. Fridovich J. Superoxide dismutases. *Ann Rev Biochem* 1975; 44: 147-59.
 13. Cog JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Revista de Neurología*. 1992; 202: 689-94.
 14. Envejecimiento. En: Cardellá Rosales L, Hernández Fernández R, Upmann Ponce de León C, Vicedo Tomey A, Pérez Díaz A, Sierra Figueredo S, et al. *Bioquímica médica: bioquímica especializada*. Ciudad de La Habana: Ciencias Médicas; 1999; T 4. p. 1459-68.
 15. Harmana D. Free radical theory of aging. En: Albano E, Dianzani MU, Poli G. *Free radicals: from basic science to medicine*. Berna: Birkhäuser Verlag; 1993; 124-44.
 16. Reyes JS, Escobar Yendez N, Álvarez Puig N. Mortalidad con infarto agudo del miocardio en una unidad de cuidados intermedios. *Revista Cubana de Medicina*. 1997; 36 (2): 112-16.
 17. Ledwozyw A, Michalack J, Stepie A, Kadziolka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clinical Chemistry Acta* 1986; 155: 275-84.
 18. Steinberg D. Antioxidantes y aterosclerosis; a current assessment. *Circulation*. 1991; 13: 341-90.
 19. Céspedes Cabrera T, Sánchez Serrano D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol Circ Cardiovasc* 2000; 14 (1): 55-60.
 20. Hodis HN, Mack WJ, Labree L, Cashin-Hemhill L, Seranian A, Johnson R, Azen S. Serial angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary atherosclerosis. *JAMA* 1995; 273: 1849-54.
 21. Stephens NG, Parsons A, Shofield PM, Kelly F, Cheesman M, Mitchell MJ, et al. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant study (CHAOS). *Lancet*. 1996; 347: 781-86.
 22. Ames BN, Saul RL. Oxidative DNA damage as related to cancer and aging. *Prog Clin Biol Res* 1986; 209 A: 11-26.
 23. Gaby SK, Bendich A, Singh VN, Machlin L J. A scientific review. New York: Marcel Dekker; 1991.
 24. The alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study group. *New Engl J Med* 1994; 330: 1029-35.
 25. Speisky C, Jimenez I. Radicales libres y antioxidantes en la prevención de enfermedades III: evidencias clínico epidemiológicas de los riesgos y beneficios asociados al consumo de antioxidantes en la prevención de enfermedades cardiovasculares. *ReuChilNutr* 2000; 27 (3): 314-25.
 26. Naves NU, Moreno FS. Comunicación intercelular con conoxinas; importancia en la carcinogénesis el papel modulador de los carotenoides. *Rev Bras Farm* 2000; 36 (1): 1-11.
 27. Calderón Guzmán D, Hernández Isla JL, Cartilla Serna L, Hernández Garcías E, Barragán Mejía G, Rodríguez Pérez R, et al. El ozono como molécula reactiva; concepto actual. *Perinatal Reprod Hum* 2000; 12 (2): 115-23.
 28. Freeman BX, Crapo JD. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-25.
 29. Weinsier R. 2. Dieta. En: Bermett JC, Plum F. *Cecil: tratado de medicina interna*. 20 ed. México: Interamericana; 1998; Vol 1; Pte 1. p. 33-7.
 30. Moreno JB, Galbiatti JA, García PG de C, Coelho MPV, Kai FNT, Neto FM. Efeito de vitamina E, da vitamina C e da associação vitamina E - vitamina C, na síndrome do isquemia-reperfusão, em membro posterior de rato. *Rev Med (Sao Paulo)* 1999; 78 (7): 526-35.
 31. Nave MMU. Betacaroteno e câncer. *Rev Nuts* 1998; 11(2): 99-115.
 32. Valezuela Bocono A. Estrés oxidativo una enfermedad de nuestros tiempos: el beneficio de la suplementación de la dieta con sustancias antioxidantes. *Rev Chil Reumatol* 2000; 16 (2): 57-66.
 33. Adlercreutz H. Western diet and Western diseases: some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 201-23.
 34. Setchell KDR. Phytoestrogen: the biochemistry, physiology, and implication for human health of soy isoflavone. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1333S-1346S.
 35. Setchell KDR, Cassidy A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 1999; 129: 758S-67S.
 36. Kirk CJ, Harris RM, Wood DM, Waring RH, Hughes TJ. Do dietary phytoestrogen influence susceptibility to hormone-dependent cancer by disrupting the metabolism of endogenous oestrogens? *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 209-16.
 37. Pino AM, Valladares L, Palma M, Mancilla A, Yáñez M, Albala C. Dietary isoflavones affect sex hormone-binding globulin levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2797-800.
 38. Mousavi Y, Adlercreutz H. Genistein is an effective stimulator of SHBG production in hepatocarcinoma human liver cells and suppresses proliferation of these cells in culture. *Steroid* 1993; 58: 301-4.
 39. Tikkanen MJ, Wahala K, Ohala S, Vihma V, Adlercreutz H. Effect of soybean phytoestrogen intake on low-density lipoprotein oxidation resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 3106-10.
 40. Messina M, Gugger ET, Alekel DL. Soy protein, soybean isoflavones, and bone health: a review of the animal and human data. In: *Handbook of Nutraceuticals and Functional Food*. Ed. Wildman R. CRC Press, Boca Raton, FL 2001; 77-98.
 41. Akiyama T, Ogawara H. Use and specificity of genistein as inhibitors of protein-tyrosine kinase. *Methods Enzymol* 1991; 201: 362-70.
 42. Yi Li And Herb E. Schellhorn. New Developments and Novel Therapeutic perspectives for Vitamin C. *The Journal of Nutrition*. American Society for Nutrition. Manuscript received 2 July 2007.
 43. Jorge Doconge, PhD, Jorge R. Miranda. Pharmacokinetics of Vitamin C: insights into the oral and intravenous administration of ascorbate. *PRHSJ* Vol. 27 No. 1 March, 2008.
 44. Neil H Riordan, PA-C, Hugh D. Riordan, MD. Experiencia clínica y Experimental con Vitamina C Intravenosa. 30 años de experiencia. *Riordan Clinic*. 2005.