

Efectos del ácido fólico sobre algunas variables morfológicas del timo de ratas adolescentes con síndrome fetal alcohólico

Effects of folic acid on some morphometric variables of the thymus of adolescent rats with fetal alcohol syndrome

Dra.Cs. Aleida Herrera Batista,^I Dra. Melvis Taylín Zumeta Dubé,^I Dra. Maritza González Bravo^{II}

^I Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Universidad de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba.

^{II} Escuela Latinoamericana de Medicina. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se pretende determinar los efectos protectores sobre el timo de ratas adolescente con síndrome fetal alcohólico experimental, para lo cual se utilizaron 24 ratas Wistar adolescentes y gestantes divididas en 4 grupos: A) tratadas con etanol, B) tratadas con etanol y ácido fólico, C) tratadas solo con ácido fólico y D) grupo no tratado. El tratamiento se extendió durante toda la gestación hasta el parto. Se tomaron 2 crías por cada madre. A las crías se les practicó la eutanasia a los 35 días de vida posnatal. Se extrajo el timo y se obtuvieron cortes de 4 micrómetros y se colorearon con H/E. Se utilizó el programa digital para morfometría *Image Tool*. Se midieron las áreas de la corteza y médula del timo, así como la relación entre ambas variables. Se realizó ANOVA de 2 vías. El área de la corteza del timo fue significativamente menor en el grupo tratado con etanol en relación con el resto de los grupos. Los hijos de las madres tratadas con ácido fólico mostraron los valores mayores en el área de la corteza, y el grupo tratado con etanol y ácido fólico mostró un patrón muy similar al control. Se concluyó que el etanol provoca cambios histopatológicos evaluados como atrofia de la corteza del timo y que el ácido fólico suministrado a la madre durante la gestación tiene efecto protector sobre esta anomalía.

Palabras clave: síndrome alcohólico fetal, morfometría, timo, alcoholismo, adolescencia.

ABSTRACT

The study is intended to determine the protective effects of folic acid on the thymus of adolescent rats with experimental fetal alcohol syndrome. To this end, 24 adolescent and pregnant Wistar rats were used, which were divided in 4 groups: A) treated with ethanol, B) treated with ethanol and folic acid, C) treated only with folic acid, and D) not treated. Treatment extended throughout the entire gestation period until delivery. Two offspring were chosen from each mother. The offspring were euthanized at 35 days of postnatal life. The thymus was extracted and 4-micrometer cutouts were obtained, which were colored with H/E. The digital program *Image Tool* was used for morphometry. Measurements were taken of areas of the thymic cortex and medulla, and the relationship between the two variables was determined. A two-way ANOVA was performed. The thymic cortex area was significantly smaller in the group treated with ethanol than in the other groups. Offspring of mothers treated with folic acid showed the highest cortex area values, and the group treated with ethanol and folic acid exhibited a pattern very similar to the control group. It was concluded that ethanol brings about histopathological changes evaluated as thymic cortex atrophy, and that the folic acid administered to mothers during gestation has a protective effect over this abnormality.

Key words: fetal alcohol syndrome, morphometry, thymus, alcoholism, adolescence.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha incrementado el consumo excesivo de etanol entre adolescentes del sexo femenino. Con ello han aumentado las complicaciones biopsicosociales asociadas, como es el síndrome alcohólico fetal (SAF).¹ Los niños con SAF presentan, además de las manifestaciones al nivel del sistema nervioso central (SNC) ampliamente estudiadas,^{1,2} un incremento en la susceptibilidad a enfermedades infecciosas.¹

Las características histológicas de los componentes del sistema inmune en el alcoholismo han sido poco estudiadas.² Por otra parte, tampoco se reportan trabajos que aborden esta problemática en la descendencia de madres adolescentes, que ingieran el tóxico durante la gestación.

Los efectos del etanol sobre el sistema inmune son difíciles de determinar en los alcohólicos, debido a la presencia de enfermedades concurrentes asociadas en muchos de los casos.³ No obstante, los efectos de esta droga sobre este sistema se vinculan con enfermedades autoinmunes e inmunodeficiencia.^{3,4}

Se ha planteado que los hijos de madres que ingieren etanol durante la gestación presentan depresión del sistema inmune que persiste en la vida adulta.^{1,5} Estudios experimentales muestran que se afectan los procesos de selección de los linfocitos T en el timo, con disminución del número de los clones CD4⁺ y CD8⁺ en sangre periférica y se ha señalado que estos efectos son más marcados en el sexo femenino.⁶⁻⁸ Estudios experimentales muestran que las interferencias en este proceso inhiben el desarrollo normal del órgano.⁹

Por otra parte, se ha planteado que el alcoholismo es capaz de producir déficit de folatos, lo cual es doblemente preocupante en una adolescente embarazada, debido a sus mayores requerimientos de ácido fólico debido a la edad y al embarazo. Los efectos del consumo excesivo de etanol sobre la ingesta, absorción, metabolismo y utilización de los folatos han realzado la importancia de esta relación patogénica.^{10,11}

Los folatos tienen 2 efectos fisiológicos principales: en primer lugar constituyen cofactores de las enzimas que sintetizan ADN y ARN, y en segundo lugar, son necesarios para la conversión de la homocisteína en metionina.¹⁰ Estos gobiernan el metabolismo de las células y la síntesis de proteínas, por lo tanto, son vitales durante el crecimiento.¹⁰ El ácido fólico, por su acción antioxidante, podría tener efectos protectores contra los daños del etanol en el SAF.¹² Por esta razón cabría esperar que la suplementación con ácido fólico a las gestantes, sea un recurso adecuado para minimizar o contrarrestar los efectos del etanol sobre el timo de la progenie.

Por todo lo antes planteado, en el presente trabajo se pretendió determinar los posibles efectos protectores del ácido fólico sobre las características morfométricas del timo de ratas adolescentes provenientes de madres a las que se les suministró etanol durante la gestación.

MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo y descriptivo, donde se utilizaron las crías de ratas albinas adolescentes. Se utilizaron 48 ratas, 24 de cada sexo, escogidas al azar mediante una tabla de números aleatorios.

Las 24 hembras tenían entre 58 y 72 días de nacidas, con un peso promedio entre 180 y 200 gramos. Los machos, eran adultos con un peso de 200 a 270 g. A hembras y machos se les suministró agua y dieta ratonina *ad libitum*. Cada rata hembra fue apareada con un macho diferente. Se les determinó el primer día de la gestación mediante *smear* vaginal.

Con las ratas gestantes se conformaron 4 grupos al azar utilizando una tabla de números aleatorios (A, B, C y D). Cada grupo quedó constituido por 6 ratas madres, a las que se les aplicó el tratamiento desde el tercer día posterior al apareamiento hasta el parto. La vía de administración para todos los grupos, fue oral, a través de una cánula intraesofágica.¹³

A las ratas del grupo A se les suministró agua en la misma dosis, hora y mediante el mismo procedimiento que al resto de los grupos. Al grupo B se le suministró ácido fólico diluido en agua a razón de 400 µg/kg de peso corporal por día.¹⁴ Las ratas del grupo C recibieron tratamiento con etanol al 40 % a razón de 5 g/kg de peso corporal.¹⁵ Al grupo D, se le suministró etanol y ácido fólico en las mismas concentraciones y dosis que los 2 grupos anteriores.

Las ratas madres se pesaron una vez por semana en una balanza marca Yamamoto LM-3200. Con los valores obtenidos se calculó la cantidad de etanol y ácido fólico a suministrar durante la semana siguiente, y se marcaron y colocaron en cajas individuales.

El tratamiento se suspendió después del parto. Las crías se mantuvieron junto a sus madres hasta el destete, efectuado a los 21 días de nacidas. De cada grupo se tomaron 2 crías por madre para un total de 12 animales por grupo, 6 hembras y 6 machos, que se escogieron al azar mediante una tabla de números aleatorios. Las crías se

mantuvieron en cajas múltiples, separadas por sexo y de acuerdo con el grupo al que pertenecieron las madres. Recibieron solo agua y dieta ratonina *ad libitum*. Las condiciones ambientales e higiénicas fueron adecuadas y similares para todos los grupos.

A los 35 días de vida posnatal se les practicó la eutanasia. Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, en dosis de 40 mg/kg de peso corporal. Se utilizó la perfusión intracardiaca como vía de fijación, empleando formalina al 12 %. Una vez muertos los animales, se extrajo el timo que fue lavado en solución salina al 0,9 %.

Para el estudio morfométrico se tomaron fragmentos de 1 cm³ y se fijaron en formalina neutra tamponada al 12 %. Los fragmentos se procesaron por el método de la parafina. Se obtuvieron cortes de 4 micrómetros en un micrótopo vertical marca *Spencer*. Las Láminas fueron coloreadas con hematoxilina y eosina (H/E) y se observaron en un microscopio CETI. Por cada grupo se midieron 50 lobulillos tímicos, en los que se determinó: área de la corteza, área de la médula y la relación entre ambas. La digitalización de las imágenes se efectuó en un microscopio CETI, con objetivo 4x, tubo de proyección y una cámara digital modelo *Kodak DC 48 000 zoom* acoplada al microscopio. En el análisis se utilizó el sistema *UTHSCA Image Tool 3 (IT3)*.¹⁶

RESULTADOS

Las crías sometidas a los efectos del etanol presentaron los valores menores de la variable área cortical estadísticamente significativa en relación con el resto de los grupos ($P < 0,05$). Las crías de las madres tratadas con ácido fólico (B) mostraron los valores mayores en el área de la corteza (AC), y las crías del grupo tratado con etanol y ácido fólico (D), mostraron un patrón muy similar al control (tablas 1 y 2).

Tabla 1. Estadística descriptiva de la variable AC del timo, según grupos de tratamiento

Área		Agua	A. fólico	Alcohol	Alcohol + A. fólico
Corteza a	N	50	50	50	50
	X	6,1996	6,2399	6,1390	6,1870
	S	0,29066	0,24590	0,29278	0,24358

N: número de mediciones; X: media; S: desviación estándar.

Tabla 2. Efectos de las variables alcohol, ácido fólico e interacción alcohol +ácido fólico sobre la corteza del timo

Valores de F y P		Á. Fólico	Alcohol	Alcohol + A. fólico
Corteza	F	0,001	5,464	1,065
	P	0,973	0,020	0,303

Los valores de áreas medulares (AM) mayores correspondieron al grupo tratado con etanol, con una diferencia significativa en relación con el resto de los grupos ($P < 0,05$) (tablas 3 y 4).

Tabla 3. Estadística descriptiva de la variable AM del timo, según grupos de tratamiento

Área		Agua	A. fólico	Alcohol	Alcohol + A. fólico
Médula	N	50	50	50	50
	X	5,3402	5,4038	5,5315	5,4515
	S	0,44800	0,33715	0,43465	0,33821

N: número de mediciones; X: media; S: desviación estándar.

Tabla 4. Efectos de las variables alcohol, ácido fólico y su interacción (alcohol + ácido fólico) sobre la médula del timo

Valores de F y P		A. fólico	Alcohol	Alcohol + A. fólico
Médula	F	1,873	3,600	2,373
	P	0,173	0,050	0,125

El valor de la relación entre las áreas de la corteza y la médula (AC/AM) fue la menor en el grupo descendiente de madres tratadas con etanol. Con una diferencia muy significativa ($P < 0,001$). El mayor valor de la media para esta variable, correspondió al grupo tratado con ácido fólico (grupo B), que también mostró diferencias significativas ($P < 0,05$). El resto de los grupos (A y D) presentaron valores intermedios entre los grupos antes mencionados (tablas 5 y 6). En todos los casos se observó interacción entre los efectos de la variables etanol y ácido fólico (tabla 6).

Tabla 5. Estadísticas descriptivas de la variable morfométrica relación AC/AM en el timo, según grupos de tratamiento

Área		Agua	A. fólico	Alcohol	Alcohol + A. fólico
Relación AC/AM	N	50	50	50	50
	X	1,1609	1,1546	1,1098	1,1349
	S	0,5343	0,03756	0,05488	0,03940

N: número de mediciones; X: media; S: desviación estándar.

Tabla 6. Análisis de los efectos de las variables alcohol, ácido fólico y su interacción, sobre la relación AC/AM del timo, y su significación

Valores de F y P		A. fólico	Alcohol	Alcohol +A. fólico
Relación AC/AM	F	5,949	20,332	8,296
	P	0,015	0,000	0,004

Tabla 7. Estadísticas descriptivas por sexos

Áreas		Agua		A. fólico		Alcohol		Alcohol + A. fólico	
		M	H	M	H	M	H	M	H
Corteza	N	25	25	25	25	25	25	25	25
	X	6,260	6,203	6,202	6,219	6,132	6,143	6,142	6,210
	S	0,3379	0,2196	0,2182	0,2740	0,2678	0,3221	0,2695	0,2147
Médula	N	25	25	25	25	25	25	25	25
	X	5,419	5,261	5,495	5,308	5,512	5,551	5,439	5,464
	S	0,4846	0,4022	0,3053	0,3713	4,656	0,4086	0,3561	0,3040
Relación AC/AM	N	25	25	25	25	25	25	25	25
	X	1,159	1,178	1,130	1,172	1,116	1,109	1,131	1,136
	S	0,0515	0,558	0,313	0,0433	0,0573	0,0530	0,0344	0,0417

N: número de mediciones; X: media; S: desviación estándar.

Al analizar el comportamiento por sexos se apreció que las ratas machos tratadas con etanol presentaron las áreas corticales con los menores valores, aunque estas diferencias no fueron significativas. Asimismo, los valores mayores en el AM correspondieron al grupo tratado con etanol, sin efectos significativos entre los grupos dentro de este mismo sexo (tablas 7 y 8).

En las hembras, las áreas de corteza con los menores valores fueron las del grupo tratado con etanol, aunque en ninguno de los casos mostraron diferencias significativas. En cambio, las áreas más extensas correspondieron con los grupos que ingirieron ácido fólico, con independencia de si consumían etanol o no. El

mayor valor en AM lo presentó el grupo tratado con etanol, con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) (tablas 7 y 8).

En las ratas machos, la relación AC/AM más alejada de los valores reportados para el patrón normal fue la presentada por los descendientes del grupo tratado con etanol, con diferencias significativas ($P < 0,05$) (tablas 7 y 8). En las hembras, los valores más alejados del control en la relación C/M fueron los grupos de etanol, y los de etanol y ácido fólico, con diferencias muy significativas para el grupo de etanol ($P < 0,001$). En los machos se presentaron interacciones entre los efectos de las variable sexo, alcohol y ácido fólico (tabla 8).

Tabla 8. Efectos de las variables sexo, alcohol, ácido fólico y su interacción, sobre la corteza, la médula y la relación C/M, en el timo

Valores de F y P		A. fólico		Alcohol		Alcohol + A. fólico	
		M	H	M	H	M	H
Corteza	F	0,189	2,46	2,87	0,014	0,532	0,087
	P	0,665	0,120	0,093	0,905	0,004	0,768
Médula	F	0,000	4,05	0,051	6,67	0,825	1,60
	P	0,988	0,087	0,822	0,011	0,366	0,198
Relación AC/AM	F	0,650	3,35	5,24	16,5	5,83	3,48
	P	0,422	0,070	0,024	0,000	0,018	0,065

DISCUSIÓN

Se observó que la ingestión de etanol por la madre durante la gestación provocó cambios en las características histológicas del timo en la descendencia, donde se comprobó una disminución en el grosor de la corteza a expensas de la población linfocitaria. Este resultado apoya los planteamientos que señalan que la exposición fetal al alcohol está asociada con profundas alteraciones en el desarrollo y la función de sistema inmune, tanto en animales como en humanos.^{3,17}

La disminución en la población linfocitaria de la corteza tímica en humanos y animales expuestos al etanol intraútero ha sido reportada por algunos autores,^{3,6} alteraciones que persisten hasta la vida adulta.^{8,18} En la presente investigación se pudo constatar que la reducción del área de la corteza persistía a los 35 días de vida posnatal, a pesar de que estas ratas no estuvieron expuestas al etanol después del nacimiento, lo que concuerda con lo planteado por los autores antes mencionados, con respecto al SAF.

En las ratas de nuestra serie proveniente de las madres que ingirieron etanol, la reducción de la corteza tímica pudiera deberse a que las células corticales mueren por apoptosis por el efecto tóxico de este y por incremento de especies reactivas del oxígeno y la oxidación del etanol formándose acetaldehído, que induce

peroxidación lipídica, así como la formación de un compuesto tóxico acetaldehído-proteína, como ha sido planteado por otros autores.^{11,12,19}

Por otra parte, se plantea que en el primer trimestre los trofoblastos humanos expresan altos niveles de citoquinas cuando son cultivados en presencia de etanol. Los altos niveles de citoquinas durante la gestación temprana pudieran ejercer un efecto adverso en el desarrollo del sistema inmune del feto.²⁰ El etanol produce además inhibición en la replicación con disminución de las mitosis por daño del ADN, y de las proteínas involucradas en su reparación, en particular por la presencia de moléculas endógenas como las especies reactivas del oxígeno, peroxidación lipídica y el acetaldehído.¹¹

Por todo lo antes expuesto, la hipoplasia de la corteza del timo pudiera deberse a un incremento en la muerte celular por apoptosis, concomitando con una reducción en el índice de mitosis en la población linfocitaria (lábil), ambos inducidos por el etanol, como han sugerido otros autores.^{8,21}

En el timo de los animales tratados con etanol y ácido fólico se comprobó que la corteza conservaba un grosor similar a los casos controles. Esto habla a favor del posible efecto protector del ácido fólico sobre el timo en el SAF probablemente debido a su acción antioxidante. Estos resultados concuerdan con estudios bioquímicos de estrés oxidativo, donde se realizan determinaciones enzimáticas de glutatión reductasa, gamma glutamil transpectidasa, peróxido de hidrógeno, entre otras, y se observa que los efectos del etanol son mitigados cuando se tratan a ratas gestadas con etanol y folatos de manera conjunta.^{12,14,21}

El ácido fólico tiene función coenzimática. Participa en reacciones biosintéticas, por ejemplo la síntesis de nucleótidos, de particular importancia en la síntesis de ADN y en la división celular.¹⁰ Es probable que estos efectos combinados del ácido fólico, hayan sido capaces de estimular las mitosis en este tipo celular, y disminuir el efecto de los productos tóxicos derivados del metabolismo del etanol, por su acción antioxidante, manteniendo estable la población celular de la corteza.

Existen investigaciones que han mostrado diferencias en la respuesta inmune entre los sexos, pero las razones de esas diferencias aún no están bien establecidas.²² En el presente trabajo se observó una disminución del grosor de la corteza tímica en las hembras con respecto a los machos.

Se ha observado que en ambos sexos la exposición al etanol suprime la respuesta inmunitaria al inducir cambios en las hormonas de estrés y en las sexuales como el estrógeno y la testosterona.^{8,22} Sin embargo, las investigaciones en animales expuestos al etanol intraútero resultan controvertidas. Unas plantean mayor daño en machos que en hembras.⁶ Otras señalan que las ratas hembras son menos capaces de combatir la infección cuando están bajo la intoxicación alcohólica,²³ y un tercer grupo de autores no encuentra diferencias significativas entre ambos sexos.⁸

Se concluye que la exposición al etanol de las ratas durante el desarrollo embrionario, provoca depresión del sistema inmune que se manifiesta por atrofia de la corteza del timo. Este efecto se manifiesta de manera diferente en ambos sexos, por lo que este síndrome es sexo dependiente para esta variable, y que el tratamiento con ácido fólico a la madre que ingiere etanol durante la gestación, tiene un efecto protector sobre el desarrollo del timo, minimizando las alteraciones morfométricas que la ingestión del tóxico provocó.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramos GM. Módulo VI: Riesgo teratogénico en el embarazo. Unidad didáctica No. 6: Teratógenos químicos. Alcohol. Efectos del alcohol en la gestación. Síndrome alcohólico fetal. Centro de Genética Médica de Sancti Spiritus, Cuba. Diplomado en Genética Médica; 2002.
2. Thackray HM, Tiffit C. Fetal alcohol syndrome. *Ped Rev*. 2001;22:47-55.
3. Cook RT. Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system-a review. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998 Dec;22(9):1927-42.
4. James W. Smith, MD. Medical manifestation of alcoholism in the elderly. *Intern J Addictions*. 1995;30(13-14):1747-98.
5. Ponnappa BC, Rubin E. Modeling alcohol's effects on organs in animal models. *Alcohol Res Health*. 2000;24(2):93-104.
6. Jerrells TR, Weinberg J. Influence of ethanol consumption on immune competence of adult animals exposed to ethanol in utero. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22(2):391-400.
7. Livant EJ, Welles EG, Ewald SJ. Chronic ethanol exposure alters leukocyte subsets in repopulating spleens, but does not alter negative selection in thymuses of sublethally irradiated mice. *Alcohol Clin Exp Res*. 1997;21(8):1520-9.
8. Weinberg J, Jerrells TR. Suppression of immune responsiveness: sex differences in prenatal ethanol effects. *Alcohol Clin Exp Res*. 1991;15(3):525-31.
9. Bockman DE. Development of the thymus. *Microsc Res Tech*. 1997 Aug 1;38(3):209-15.
10. Herrera Batista A, Rojas Rodríguez LY, Bacallao Gallestey J, Lebreo Álvarez I. Efectos protectores del ácido fólico sobre los hepatocitos de conejos machos adolescentes alcohólicos. *Rev Cubana Invest Bioméd [serie en internet]*. 2007;26(2) [citado 2 sept 2011] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002007000200007&lng=es&nrm=iso
11. Moreno R, Cortés JR. Nutrición y alcoholismo crónico *Nutr Hosp*. 2008;23(Supl,2):3-7.
12. Wang LL, Zhang Z, Li Q, Yang R, Pei X, Xu Y, et al. Ethanol exposure induces differential microRNA and target gene expression and teratogenic effects which can be suppressed by folic acid supplementation. *Hum Reprod*. 2009 Mar;24(3):562-79.
13. Tsukamoto H, Lu SC. Current concepts in the pathogenesis of alcoholic liver injury. *FASEB J*. 2001;15:1335-49.
14. Pamukçu Baran Ö, Yıldırym A, Akkus M. The protective role of folic acid and vitamin E against toxic effects of valproic acid on liver tissue during period of gestation. *Dicle Tıp Dergisi*. 2004;31(4):17-23.
15. Herrera Batista A, González Bravo M, Céspedes ME, Sánchez SG. Efectos del alcoholismo crónico sobre el hígado de ratas albinas adolescentes. *Rev Cubana Invest Biomed*. 1999;18(3):189-96.

16. Wilcor CD, Dove SB, McDavid D, Greer DB. UTHSCA. Image tool for windows. Version 3.00 (IT3). University of Texas Health Science Center in San Antonio. Copyright 1996-2002. Disponible en: <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>
17. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editores. Trastornos de la inmunidad: Síndromes de deficiencia inmunitaria. En: Patología estructural y funcional de Robbins y Cotran. 7ma. ed. Madrid: Elsevier; 2007. p. 244-63.
18. Jacobson JL, Jacobson SW. Effects of prenatal alcohol exposure on child development. Alcohol Res Health. 2002;26(4):282-6.
19. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editores. Adaptaciones celulares. Lesión celular y muerte celulares. En: Patología estructural y funcional de Robbins y Cotran. 7ma. ed. Madrid: Elsevier; 2007. p. 3-45.
20. Svinarich DM, DiCerbo JA, Zaher FM, Gonik B. Ethanol-induced expression of cytokines in a first-trimester trophoblast cell line. Am J Obstet Gynecol. 1998;179(2):470-5.
21. Zivkovic I, Rakin A, Petrovic-Djergovic D, Micic MI. The effects of chronic stress on thymus innervations in the adult rat. Acta Histochem. 2005;106:449-58.
22. Kovacs EJ, Messingham K. Influence of alcohol and gender on immune response. Alcohol Res Health. 2002;26(4):257-63.
23. Edwards J, Grange LL, Wang M, Reyes E. Fetoprotectivity of the flavanolignan compound siliphos against ethanol-induced toxicity. Phytother Res. 2000;14(7):517-21.

Recibido: 24 de febrero de 2012.
Aprobado: 14 de abril de 2012.

Dra.Cs. *Aleida Herrera Batista*. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Universidad de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba. Correo electrónico: aleidajosefa@infomed.sld.cu