

Estudio histopatológico de los efectos de la administración de hierro hemo y sulfato ferroso con vitamina C en cerebro e hígado de rata

Emilio Guija-Poma*¹; Luzmila Troncoso-Corzo²; Felio Palomino-Paz³; Henry Guija-Guerra¹; Gisela Oliveira-Bardales²; John Ponce-Pardo¹; Marco Núñez-Fonseca²; Miguel Inocente-Camones¹; Luis Camarena-Chaviguri¹

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto que ejerce la administración de hierro hemo y la de sulfato ferroso con vitamina C en hígado y cerebro de rata.

Materiales y métodos: Se utilizaron ratas albinas Holtzman mantenidas en un bioterio con temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, humedad entre 50 y 70 % y 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, que recibieron 4,0 mg de hierro elemental/kg p.c. bajo la forma de hierro hemo o como sulfato ferroso + 10 mg de vitamina C durante siete días, a cuyo término se sacrificaron y se les extrajo sangre, hígado y cerebro. Se hicieron los cortes histológicos que se trataron con hematoxilina-eosina para la observación microscópica y en el suero se midió la capacidad antioxidante.

Resultados: Los cerebros de las ratas que recibieron tratamiento con hierro hemo y sulfato ferroso + vitamina C no sufrieron alteraciones significativas, mientras que los cortes histológicos de hígado de ratas tratadas con hierro hemo mostraron un parénquima sin distribución polar, algunos núcleos carentes de citoplasma y numerosas células de Küpffer a nivel del sinusoides. En cambio, las ratas que fueron tratadas con sulfato ferroso + vitamina C presentaron un parénquima hepático deteriorado notablemente, algunas áreas con núcleos sueltos sin citoplasma y otras con citoplasma cuya membrana había desaparecido. Además, en algunas zonas, el parénquima hepático se encontraba homogenizado.

Conclusiones: Los cerebros de las ratas tratadas con hierro hemo y las que recibieron sulfato ferroso + vitamina C prácticamente no sufrieron modificación alguna, en cambio, el hígado de las ratas tratadas con sulfato ferroso + vitamina C presentaron mayor daño hepático que las tratadas con hierro hemo.

Palabras clave: Hierro; Hemo; Ácido ascórbico; Toxicidad (Fuente: DeCS BIREME).

Histopathological study of the effects of administering heme iron and ferrous sulfate with vitamin C in rat liver and brain

ABSTRACT

Objective: To determine the effect exerted by the administration of heme iron and ferrous sulfate with vitamin C in rat liver and brain.

Materials and methods: The study used Holtzman albino rats housed in a bioterium with a temperature of $22 \pm 2^\circ \text{C}$, humidity between 50 and 70 %, and 12 hours of light and 12 hours of darkness. They received elemental iron 4.0 mg/kg b.w. as heme iron or ferrous sulfate + vitamin C 10 mg for seven days, at which time they were sacrificed, and blood, liver and brain were extracted. Histological sections were made and treated with hematoxylin-eosin for microscopic observation, and serum antioxidant capacity was measured.

Results: The brains of the rats treated with heme iron and ferrous sulfate + vitamin C did not undergo significant changes, while the histological sections of the livers of the rats treated with heme iron showed a parenchyma without polar distribution, some nuclei lacking cytoplasm and numerous Küpffer cells at the sinusoidal level. In contrast, the rats treated with ferrous sulfate + vitamin C had a significantly deteriorated hepatic parenchyma, some areas with loose nuclei without cytoplasm and others with disappeared cytoplasmic membranes. In addition, in some areas, the liver parenchyma was homogenized.

Conclusions: The brains of the rats treated with heme iron and those with ferrous sulfate + vitamin C did not practically undergo any change. In contrast, the liver of the rats treated with ferrous sulfate + vitamin C had greater liver damage than those treated with heme iron.

Keywords: Iron; Heme; Ascorbic acid; Toxicity (Source: MeSH NLM).

-
1. Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Instituto de Investigación, Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Lima, Perú.
 2. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Instituto de Investigación, Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Lima, Perú.
 3. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Instituto de Patología. Lima, Perú.
- * Autor corresponsal.

INTRODUCCIÓN

En el Perú, la prevalencia de la anemia ferropénica es muy elevada, ENDES 2016 señala que se encuentra en 33,3 % en menores de cinco años ⁽¹⁾. El tratamiento incluye la administración de una sal ferrosa con la recomendación de que se ingiera una bebida preparada con limón o naranja, por el elevado contenido de vitamina C de estas frutas. Diversas publicaciones ponen de manifiesto la importancia de la vitamina C en los procesos de absorción del hierro a nivel intestinal ^(2,3), transporte que es afectado por ciertos componentes de los alimentos como los fitatos, taninos, etc., o por la presencia de calcio que compite con el hierro por la interacción con el transportador de metales divalentes ^(4,5).

El hierro de la dieta se encuentra fundamentalmente como hierro hemo y hierro no hemo. La biodisponibilidad del hierro hemo es considerablemente mayor que el hierro no hemo; este último se absorbe con la participación del transportador de metal divalente 1 (DMT1) que se encuentra en las microvellosidades de la membrana del enterocito, proceso que puede incrementar su eficiencia con la participación de la vitamina C ⁽³⁻⁶⁾.

El hierro hemínico es un compuesto que se obtiene a partir de los glóbulos rojos de cerdo o ganado bovino, químicamente está constituido por un anillo tetrapirrólico ligado al hierro. Se absorbe a nivel intestinal mediante dos mecanismos. Uno de ellos requiere de una proteína portadora de hemo acoplada a la transferencia de folato/proteína portadora de hierro-1 que se encarga de transportar hemo hacia el citoplasma del enterocito donde se libera el hierro por acción de la hemoxigenasa-1. El segundo mecanismo implica la participación del receptor de hemo que lo internaliza y, posteriormente, por acción de la hemoxigenasa-2, el hierro se libera ⁽⁷⁻⁹⁾.

La vitamina C es un compuesto antioxidante por excelencia, pero bajo ciertas condiciones reacciona con metales de transición como el fierro o cobre y genera radicales libres, especialmente, el radical hidroxilo que es muy dañino para el ser humano ⁽¹⁰⁾. Los radicales libres son moléculas caracterizadas por tener un electrón desapareado, condición que los torna en una molécula muy reactiva y tienen la propiedad de reaccionar con proteínas, lípidos y ADN, por lo que producen daño celular. En el ser humano, se generan principalmente en la cadena transportadora mitocondrial donde el oxígeno es reducido de manera univalente por un electrón cedido por los componentes I o III, y genera el anión superóxido; así mismo, este radical se puede formar cuando el oxígeno es reducido por la NADPH oxidasa. El anión superóxido es un radical poco reactivo y es transformado en peróxido de hidrógeno por acción de la superóxido dismutasa. El peróxido de hidrógeno no es propiamente un radical libre, pero se encuentra

estrechamente ligado a la formación de radicales libres como ocurre cuando reacciona con el ion ferroso y da origen al radical hidroxilo, que es el radical libre más reactivo y, por lo tanto, el más nocivo para el ser humano ⁽¹¹⁻¹³⁾. Los radicales libres están estrechamente vinculados a una diversidad de patologías como aterosclerosis, diabetes mellitus, cáncer, psoriasis, etc ^(14, 15).

El tratamiento de la anemia ferropénica con hierro hemínico constituye una alternativa viable que no tiene los inconvenientes que presenta la administración de hierro no hemo, caracterizado por el sabor metálico desagradable en la cavidad oral, constipación, diarrea, dolor abdominal, etc., que refieren los pacientes que lo ingieren, así mismo, la ingesta de hierro hemo no requiere la ingesta de vitamina C para incrementar su absorción. El presente estudio tiene como objetivo mostrar los efectos que ejercen la administración de hierro hemo y sulfato ferroso con vitamina C en hígado y cerebro de rata.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y población de estudio

Se utilizaron 18 ratas Holtzman que se adquirieron en el Instituto Nacional de Salud, cuyos pesos estuvieron comprendidos entre 250 y 300 g y se distribuyeron de manera aleatoria en tres grupos de seis ratas cada uno. Las ratas de cada grupo se colocaron en jaulas individuales de acero inoxidable, en un ambiente cuya temperatura fue de 22 ± 2 °C, humedad comprendida entre 50 y 70 % con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las ratas previamente tuvieron 10 días de acondicionamiento al ambiente en que recibieron el tratamiento. El alimento que se les proporcionó a las ratas se adquirió en el Instituto Nacional de Salud y lo ingirieron a voluntad, de la misma manera que el agua.

El grupo control solamente recibió por vía oral 1 mL de suero fisiológico; al segundo grupo se le administró por vía intragástrica hierro hemínico, el equivalente a 4,0 mg de hierro elemental/kg p.c.; mientras que el tercer grupo se le administró, en forma simultánea, sulfato ferroso equivalente a 4,0 mg de hierro elemental/kg p.c. y 10 mg de vitamina C. Este tratamiento se realizó durante siete días a cuyo término las ratas fueron anestesiadas con éter etílico y por punción cardiaca se procedió a extraer sangre, luego, se sacrificaron por fractura cervical; inmediatamente después, se extrajeron el hígado y el cerebro, en seguida, se separaron pequeñas porciones de ambos órganos.

La sangre se extrajo utilizando tubos Vacutainer sin anticoagulante que fueron sometidos a 3000 r. p. m. durante 15 minutos en una centrifuga clínica. Luego, las muestras claras de suero se aspiraron cuidadosamente y se colocaron en tubos de ensayo.

Variables y mediciones

Administración de hierro hemo y sulfato ferroso con vitamina C. Efectos en suero sanguíneo (FRAP) y estudio histopatológico, en cerebro e hígado.

- **Determinación de la capacidad antioxidante en suero**

La capacidad antioxidante se realizó en las muestras de suero, para cuyo propósito se utilizó la técnica Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP). Esta técnica tiene como fundamento la reducción del complejo 2,4,6-tripiridil-s-triazina-Fe-III por las sustancias antioxidantes, que lo transforman en 2,4,6-tripiridil-s-triazina-Fe-II, compuesto de color azul intenso. Para este propósito se midió en un tubo de ensayo 50 μ L de suero, se añadió 950 μ L de agua destilada y luego 1,0 mL del reactivo FRAP; se incubó en el baño maría a 37 °C durante 15 minutos y se leyó la absorbancia a 593 nm frente a un blanco que no tenía muestra. Se preparó una curva estándar con diversas concentraciones de ion ferroso ⁽¹⁶⁾.

- **Evaluación histológica**

Un fragmento de hígado y de cerebro se colocaron en formol al 10 % en tampón fosfato pH 7,4; después de 72 horas se realizó un proceso secuencial de deshidratación con alcohol etílico, luego, xileno y, posteriormente, se incluyeron en bloques de parafina y finalmente, con un micrótopo, se hicieron cortes de 4-5 μ de grosor. Se realizó el montaje en láminas portaobjeto y se sometió al desparafinado y rehidratación. Se realizó la tinción con hematoxilina y eosina, y posteriormente, se colocó la laminilla cubreobjeto, con lo que queda óptima para el estudio histopatológico.

Análisis estadístico

Se utilizaron estadísticas descriptivas (promedio, desviación estándar), prueba de distribución normal (Shapiro - Wilk) y prueba paramétrica (análisis de varianza). Se trabajó con un α : 0,05.

Consideraciones éticas

Se respetó el principio ético de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) para el trabajo de investigación en animales de experimentación.

RESULTADOS

La determinación de la capacidad antioxidante en el suero de los dos grupos experimentales mostró valores similares al grupo control. El grupo que recibió el tratamiento con hierro hemo tuvo una capacidad antioxidante de $93,0 \pm 0,036$ μ moles de $Fe^{2+}/100$ mL de suero, mientras que el grupo que fue tratado con sulfato ferroso y vitamina C mostró una capacidad antioxidante de $90,3 \pm 0,044$ μ moles de $Fe^{2+}/100$ mL de suero, valores que no muestran

diferencias estadísticamente significativas con el grupo control que tuvo un valor de $90,4 \pm 0,026$ μ moles de $Fe^{2+}/100$ mL de suero.

En el cerebro de las ratas del grupo control se puede apreciar neuronas normales sin mayores cambios, aunque algunas de las células muestran un ligero halo perinuclear, el resto presenta una organización tisular normal (Figura 1). Mientras que en las ratas que recibieron tratamiento con hierro hemo el parénquima cerebral muestra gran número de células con halo periférico y otras sin mayores cambios (Figura 2).

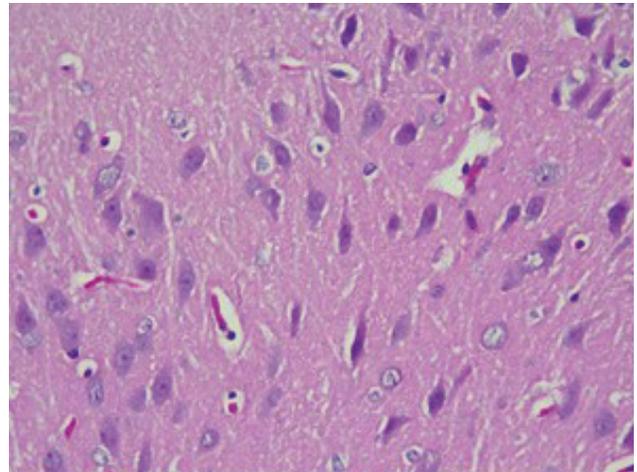


Figura 1. Tejido cerebral del grupo control que muestra parénquima sin cambios. Coloración hematoxilina-eosina (HE) (40 X)

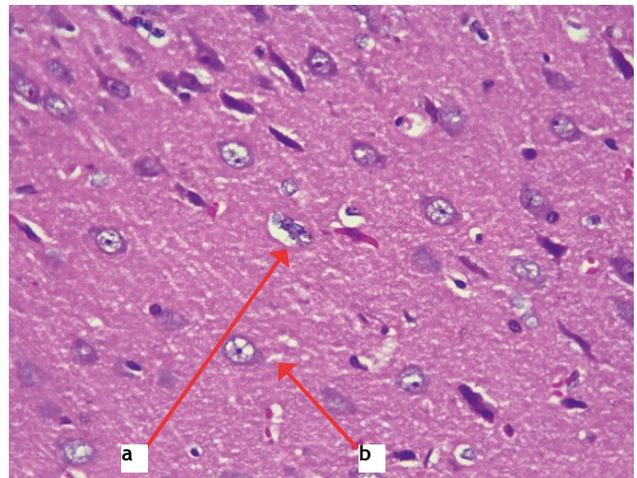


Figura 2. Efecto del hierro hemo sobre el tejido cerebral que muestra células con halos periféricos (a) y otras sin cambios (b). Coloración HE (40 X)

Así mismo, en las ratas tratadas con sulfato ferroso y vitamina C, el parénquima neurológico presenta células con escasos halos periféricos, pero en su mayoría de características normales (Figura 3).

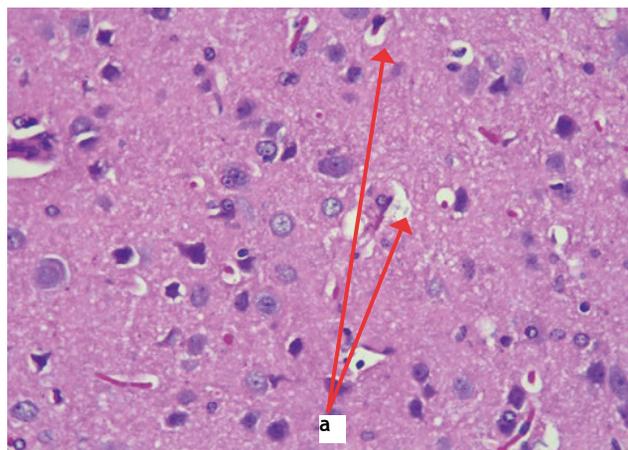


Figura 3. Efecto del sulfato ferroso + vitamina C que muestra escasos halos periféricos en células neuronales (a). Coloración HE (40 X)

En la figura 4 se observa la arquitectura normal del hígado de rata que no ha recibido tratamiento alguno. Los hepatocitos muestran distribución polar y presencia de células de Kúpffer. El examen histológico de los cortes de hígado, muestra que las ratas que recibieron el tratamiento con hierro hemo tienen parénquima hepático con una población celular que no mantiene su distribución polar, así mismo, se aprecian algunos núcleos con citoplasma y otros carentes de él. También se observan numerosas células de Kúpffer a nivel de sinusoides, como un intento regenerativo o de mejora del parénquima posterior al daño sufrido (Figura 5).

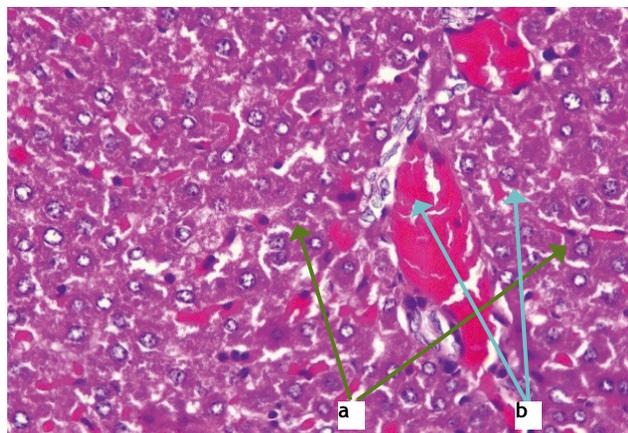


Figura 4. Sección del hígado normal que muestra células sin alteraciones. Distribución polar de los hepatocitos (a) y presencia de células de Kúpffer (b). Coloración HE (40X)

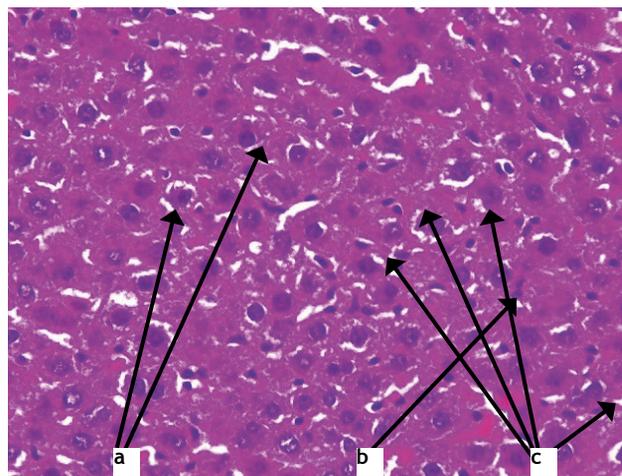


Figura 5. Sección transversal de hígado de rata tratada con hierro hemo donde se observa células que no mantienen su distribución polar. Se aprecian algunos núcleos con citoplasma (a) y otros sueltos (b), y numerosas células de Kúpffer (c) a nivel de los sinusoides. Coloración HE (40 X)

En los cortes histológicos hepáticos de las ratas que recibieron tratamiento con sulfato ferroso y vitamina C, se muestra que el parénquima hepático se encuentra más deteriorado que el grupo anterior, en algunas áreas se aprecian núcleos sueltos sin citoplasma, mientras que, en otras se observan núcleos con citoplasma cuya membrana ha desaparecido, y, además, algunos hepatocitos presentan un halo perinuclear. El parénquima del hígado en algunas zonas se encuentra homogenizado, mientras que en otras mantiene su estructura y se pueden observar algunas células de Kúpffer (Figura 6).

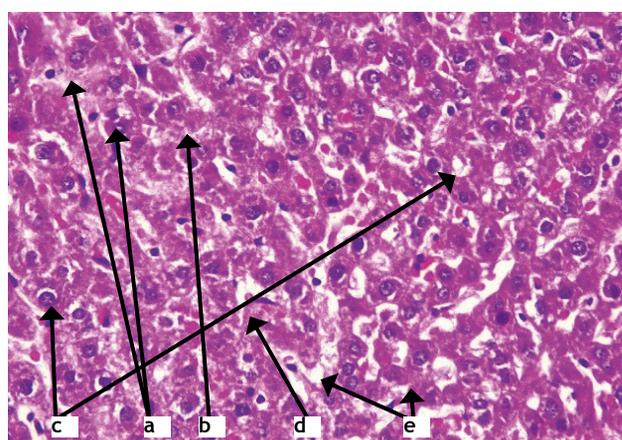


Figura 6. Sección transversal de hígado de rata tratada con sulfato ferroso + vitamina C. Núcleos sueltos (a), hepatocitos sin membrana (b), o con un halo perinuclear (c). Áreas de parénquima hepático homogenizado (d). Algunas células de Kúpffer (e). Coloración HE (40 X)

DISCUSIÓN

La prevalencia de la anemia ferropénica, especialmente en niños, es elevada en nuestro país, a pesar de los esfuerzos del Estado para reducirla. Últimamente, se ha iniciado una campaña con el objetivo de disminuir considerablemente este cuadro. El tratamiento de esta patología consiste básicamente en la ingesta de una sal ferrosa, que tiene el inconveniente de producir algunos efectos algo desagradables para los pacientes. Nosotros proponemos la administración de hierro hemo que ofrece la ventaja de absorberse de una manera más eficiente y no requerir la ingesta de vitamina C. Se ha observado en muchas publicaciones que la interacción de hierro con vitamina C genera radical hidroxilo, radical libre que ejerce efectos adversos al ser viviente, por cuyo motivo, es necesario adoptar ciertas precauciones para evitar el potencial daño ⁽¹⁷⁾.

En un experimento diseñado para observar el efecto protector que ejercía la berberina (alcaloide isoquinolínico que proviene de la especie *Berberis vulgaris*) contra la acción nociva ejercida por la administración por vía intraperitoneal de una dosis de hierro elemental como sulfato ferroso de 6,0 y 9,0 mg/día durante 14 días, permitió observar en el estudio histológico manifestaciones de apoptosis, balonamiento, vacuolización, e infiltración de células inflamatorias ⁽¹⁸⁾. En contraste, en nuestro estudio, el grupo de ratas que recibió una dosis ligeramente menor de hierro elemental de 4,0 mg/kg/día (bajo la forma de sulfato ferroso) y 10 mg de vitamina C durante siete días, mostró un parénquima hepático deteriorado con núcleos sueltos sin citoplasma, estas diferencias entre los efectos que ejerce la administración de sulfato ferroso en ratas probablemente se debe a que en ambos experimentos se han utilizado dosis ligeramente diferentes de sulfato ferroso, así como, las vías de administración fueron distintas ya que una de ellas fue intraperitoneal.

Se pudo observar en nuestro estudio que las ratas que recibieron la dosis de 4,0 mg/kg/día de sulfato ferroso y 10 mg de vitamina C, mostraban un cerebro con estructura histológica normal, un resultado similar se observó en las que recibieron el tratamiento de hierro hemo.

En otro estudio donde se utilizó una dosis de 6 mg de hierro elemental como sulfato ferroso/kg/día durante 10 días ⁽¹⁹⁾ y mostró en el corte histológico que se producía daño en la membrana del hepatocito y se liberaban a la circulación general, enzimas como transaminasas, fosfatasa alcalina, gamma-glutamyl-transferasa y lactato deshidrogenasa; también observaron un significativo incremento de malondialdehído, lo que indica claramente que el daño en el hígado se habría producido por el efecto de los radicales libres.

La administración de vitamina C en ratones ejerce protección contra la acción dañina ocasionada por la administración de hierro en la dieta, 0,2 % (p/p) durante los primeros 90 días y 0,4 % (p/p) los últimos 30 días que duró el experimento ⁽²⁰⁾, los ratones también recibieron en su dieta 2 g de vitamina C/kg de alimento. Los resultados permiten observar que la vitamina C previene la dilatación o hinchamiento mitocondrial, disipación del potencial de membrana mitocondrial e inhiben la apoptosis al impedir la generación de especies reactivas de oxígeno. Estos resultados difieren de aquellos que hemos obtenido en nuestros estudios en el que mostramos daño hepático.

Luego de ingerir diferentes dosis de hierro durante 12 semanas, las ratas presentaron hemosiderosis hepática microscópica cuya intensidad se incrementó apreciablemente ⁽²¹⁾, y que fue más intensa en la región portal que en la zona central. La intensidad al azul de Prusia fue dependiente de la concentración de hierro en los alimentos que estuvo comprendido entre 350 y 20 000 µg/g de alimento. Este efecto que ejerce la ingesta de hierro por animales de experimentación, como la rata, sugiere la probable participación de este metal de transición en reacciones vinculadas con la generación de radicales libres, que por su naturaleza son perjudiciales para el hígado.

La suplementación con hierro y vitamina C a jóvenes del sexo femenino ⁽²²⁾ se realizó en 60 voluntarias seleccionadas de un universo de 289. Este ensayo clínico se diseñó formando dos grupos, en el primero están los participantes que solamente recibieron 50 mg de hierro elemental; en el segundo los que ingirieron 50 mg de hierro elemental y 500 mg de vitamina C durante 12 semanas. Al finalizar el ensayo clínico los autores observaron que la administración de hierro durante 12 semanas no afectó la concentración sérica de vitamina C, en cambio, mejoró la absorción de hierro y normalizó el almacenamiento de hierro en el organismo de las jóvenes que participaron en el experimento.

Diversas observaciones muestran que el hierro se acumula de manera preferente en algunos órganos, dos de ellos son el hígado y el corazón ⁽²³⁾, por lo que estos tejidos se hacen susceptibles a desarrollar procesos oxidativos, como ocurre en nuestro estudio, donde la administración de hierro y vitamina C altera la arquitectura hepática, efecto que no se observa con el hierro hemo.

Un incremento notorio de marcadores de estrés oxidativo, como las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y grupos carbonilo en proteínas se han encontrado en ratas WKY con bajos niveles de hierro y que luego fueron tratadas con 8 mg de sulfato ferroso, efecto que aumentó cuando a las ratas se les administró adicionalmente 24 mg

de vitamina C ⁽²⁴⁾. Estos resultados difieren de aquellos que hemos observado en nuestro estudio en el que la capacidad antioxidante de los grupos experimentales no mostró diferencia estadísticamente significativa con el grupo control.

En otra observación realizada en cultivos de células Caco-2 se produjo un considerable incremento de los niveles de malondialdehído (indicador de estrés oxidativo) cuando estas células se trataron con hierro y vitamina C (ambos a una concentración 0,2 mM) ⁽²⁵⁾.

Estos resultados se relacionan con la probable causa del daño oxidativo que observamos en los experimentos que hemos realizado en ratas, donde se muestra que el grupo que recibió el tratamiento con sulfato ferroso y vitamina C presenta mayor daño hepático que aquellas ratas tratadas con hierro hemo.

El tratamiento de un homogenizado de corteza de cerebro de rata con hierro-ascorbato, ha mostrado encontrarse estrechamente vinculado con un incremento de la actividad de lactato deshidrogenasa, lo que constituye una evidencia de que ha ocurrido una pérdida de la integridad de la membrana de los sinaptosomas como consecuencia de un proceso de peroxidación. Estos resultados difieren de aquellos que hemos observado en el cerebro de las ratas tratadas con hierro hemo y ascorbato con sulfato ferroso, en los que no se aprecian modificaciones en la arquitectura de las células nerviosas ⁽²⁶⁾.

En conclusión, se observó que los resultados experimentales son un poco controversiales, debido a que en ocasiones la vía de administración de elementos como el hierro o compuestos como la vitamina C es diferente, y naturalmente, en ciertas situaciones no es posible realizar comparaciones debido a que las dosis utilizadas difieren y las respuestas esperadas no ocurren.

Es necesario realizar otros estudios que utilicen concentraciones definidas de hierro no hemo y hierro hemo, así como adicionar la vitamina C al hierro no hemo, ya que constituye la recomendación que reciben los pacientes anémicos; pero, adicionalmente, es necesario también utilizar nuevos indicadores de daño hepático y cerebral para precisar mejor la naturaleza de los efectos observados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar. ENDES-2016. Perú: Lima; 2017.
2. Lane DJR, Richardson DR. The active role of vitamin C in mammalian iron metabolism: much more than just enhanced iron absorption! *Free Radic Biol Med.* 2014 Oct;75:69-83.
3. Lane DJR, Robinson SR, Czerwinski H, Bishop GM, Lawen A. Two routes of iron accumulation in astrocytes: Ascorbate-dependent ferrous iron uptake via the divalent metal transporter (DMT1) plus an independent route for ferric iron. *Biochem J.* 2010 Nov;432(1):123-32.
4. Hallberg L, Brune M, Rossander L. The role of vitamin C in iron absorption. *Int J Vitam Nutr Res Suppl.* 1989 Feb;30:103-8.
5. Troesch B, Egli I, Zeder C, Hurrell RF, Zimmermann MB. Fortification iron as ferrous sulfate plus ascorbic acid is more rapidly absorbed than as sodium iron EDTA but neither increases serum nontransferrin-bound iron in women. *J Nutr.* 2011 May;141(5):822-7.
6. Wolff NA, Garrick MD, Zhao L, Garrick LM, Ghio AJ, Thévenod F. A role for divalent metal transporter (DMT1) in mitochondrial uptake of iron and manganese. *Sci Rep.* 2018 Jan 9;8:211.
7. Nam TS, Shim JY, Kim BJ, Rah Y, Hyun PK, Kim SY, et al. Clinical Study on the iron absorption from heme-iron polypeptide and nonheme-iron. *Nut Sci.* 2006 Nov;9(4):295-300.
8. Seligman PA, Moore GM, Schleicher RB. Clinical studies of HIP: An oral-iron product. *Nut Res.* 2000;20(9):86.
9. West AR, Oates PS. Mechanisms heme iron absorption: current questions and controversies. *World J Gastroenterol.* 2008 Jul 14;14(26):4101-10.
10. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions?. *FASEB J.* 1999 Jun;13(9):1007-24.
11. Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.* 2015 Jan5(35):27986-28006.
12. Hernández-García D, Wood CD, Castro-Obregón S, Covarrubias L. Reactive oxygen species: A radical role in development?. *Free Radic Biol Med.* 2010 Jul 15;49(2):130-43.
13. Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and diseases mechanisms. *Redox Biology.* 2013 Feb;1(1):244-57.
14. Fehér J, Csomós G, Vereckei A. *Free Radicals Reactions in Medicine.* 1987. Germany: Springer-Verlag Berlin. pp 199.
15. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radical in Biology and Medicine.* 2007. 4th ed. Oxford: Oxford University Press.
16. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996 Jul 15;239(1):70-6.
17. Galaris D, Evangelou A. The role of oxidative stress in mechanisms of metal-induced carcinogenesis. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2002 Apr;42(1):93-103.
18. Gholampour F, Keikha S. Berberine protects the liver and kidney against functional disorders and histological damages induced by ferrous sulfate. *Iran J Basic Med Sci.* 2018 May;21(5):476-82.
19. Abdel-Reheim MA, Shehata Messiha BA, Abo-Saif AA. Hepatoprotective effect of Diosmin on iron-induced liver damage. *Int J Pharm.* 2017 Jul;13(6):529-40.
20. He H, Qiao Y, Zhang Z, Wu Z, Liu D, Liao Z, et al. Dual action of vitamin C in iron supplement therapeutics for iron deficiency anemia: prevention of liver damage induced by iron overload. *Food Funct.* 2018 Oct 17; 9(10): 5390-5401.
21. Whittaker P, Hines FA, Robl MG, Dunkel VG. Histopathological evaluation of liver, pancreas, spleen, and heart from iron-overloaded Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol.* 1996 Sep-Oct;24(5):558-63.
22. Khoshfetrat MR, Mortazavi S, Neyestani T, Mahmoodi MR, Zerafati-Shoae N, Mohammadi-Nasrabadi F. Iron and vitamin C Co-Supplementation increased serum vitamin C without

Estudio histopatológico de los efectos de la administración de hierro hemo y sulfato ferroso con vitamina C en cerebro e hígado de rata

- adverse effect on zinc level in iron deficient female youth. Int J Prev Med. 2014 Aug;5(8):1037-44.
23. Yatmark P, Morales NP, Chaisri U, Wichaiyo S, Hemstapat W, Srichairatanakool S, et al. Iron distribution and histopathological characterization of the liver and heart of β -thalassemic mice with parenteral iron overload: Effects of deferoxamine and deferiprone. Exp Toxicol Pathol. 2014 Sep;66(7):333-43.
24. Srigiridhar K, Nair KM. Supplementation with alpha-tocopherol or a combination of alpha-tocopherol and ascorbic acid protects the gastrointestinal tract of iron-deficient rats against iron-induced oxidative damage during iron repletion. Br J Nutr. 2000 Aug;84(2):165-73.
25. Courtois F, Delvin E, Ledoux M, Seidman E, Lavoie JC, Levy E. The antioxidant BHT normalizes some oxidative effects of iron + ascorbate on lipid metabolism in Caco-2 cells. J Nutr. 2002 Jun;132(6):1289-92.
26. Cardoso SM, Pereira C, Oliveira R. Mitochondrial function is differentially affected upon oxidative stress. Free Radic Biol Med. 1999 Jan;26(1-2):3-13.

Fuentes de financiamiento:

Universidad de San Martín de Porres: proyecto E10012018018
CONCYTEC: proyecto N° 145-2015-Cienciaactiva.

Conflicto de interés:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Correspondencia:

Emilio Guija Poma

Dirección: Av. Alameda del Corregidor 1531. La Molina. Lima, Perú.

Teléfono: 01 3652300, anexo 148.

Correo electrónico: eguijap@usmp.pe/ eaa.alvarado@hotmail.com

Recibido: 20 de noviembre de 2018.

Evaluado: 27 de noviembre de 2018.

Aprobado: 05 de diciembre de 2018.

© La revista. Publicado por Universidad de San Martín de Porres, Perú.
 Licencia de Creative Commons Artículo en acceso abierto bajo términos de Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

ORCID iDs

Guija-Poma E		https://orcid.org/0000-0002-2522-2772
Troncoso-Corzo L		https://orcid.org/0000-0003-1075-874X
Palomino-Paz F		https://orcid.org/0000-0003-1812-0222
Guija-Guerra H		https://orcid.org/0000-0002-0698-4464
Oliveira-Bardales G		https://orcid.org/0000-0001-5805-3795
Ponce-Pardo J		https://orcid.org/0000-0001-9107-2752
Núñez-Fonseca M		https://orcid.org/0000-0002-9223-0983
Inocente-Camones M		https://orcid.org/0000-0003-0397-4356
Camarena-Chaviguri L		https://orcid.org/0000-0001-5050-247X