

TRABAJO DE REVISIÓN

Los carotenoides en la salud y enfermedad

MICHAEL GONZÁLEZ, MARÍA MATOS, DELISABEL LÓPEZ, ELSIE PADILLA, MERCEDES ARGÜELLES

Introducción

Los carotenoides son un grupo de pigmentos de origen vegetal. Las algas, plantas superiores y algunas bacterias tienen la capacidad de sintetizar carotenoides, pero los animales dependen de los carotenoides procedentes de la dieta. En los mamíferos, tradicionalmente han sido considerados importantes debido a que algunos poseen actividad de provitamina A. Sin embargo, de los carotenoides encontrados en la naturaleza, alrededor de 50 a 60 poseen actividad de provitamina A.

Los carotenos pueden ser absorbidos en el intestino sin sufrir transformaciones. De esta manera entran a la circulación y son almacenados prácticamente en todos los tejidos. Últimamente ha crecido el interés por el estudio de las posibles funciones de los carotenoides que son acumulados intactos. Así, se ha obtenido evidencia epidemiológica y experimental, que sugieren posibles funciones de los carotenoides que son absorbidos sin transformación. Algunas de estas funciones parecen ser independientes de vitamina A.

Naturaleza y distribución

Los carotenoides representan el grupo de pigmentos más ampliamente distribuidos en la naturaleza. Están presentes en los tejidos fotosintéticos y pétalos de flores, semillas, frutas y legumbres. Pueden ser encontrados en algunos hongos y bacterias. La coloración amarilla, anaranjada y roja, en la piel, músculo y concha o exoesqueleto de animales, tales como: salmón, langosta, carpa y flamingo se deben a estos pigmentos.¹ Los animales superiores dependen de los carotenoides de la dieta, ya que no son capaces de sintetizarlos.

Naturaleza química

Las características básicas de los carotenoides es la repetitiva unidad isoprenoide (2-metil-butadieno). Acetil

CoA es convertida a las complejas estructuras de carotenoides.¹

Metabolismo

La dieta diaria de un adulto normal contiene aproximadamente 100 a 200 mg de carotenoides de diferentes tipos.² Durante los procesos de digestión, los carotenoides contenidos en los alimentos son liberados por la acción de esterasas, lipasas y proteasas. Luego son solubilizados por la acción de las sales biliares, entrando a la mucosa intestinal. Dentro, parte de los carotenoides son degradados oxidativamente en el doble alcance central, produciendo compuestos retinoides que pueden o no tener actividad de vitamina A. Se ha propuesto que el β -caroteno es transformado a retino en la mucosa intestinal, por acción de las enzimas, una dioxigenasa dependiente de cobre. Esta quiebra el β -caroteno en el carbono 15, produciendo dos moléculas de retinal por cada molécula de β -caroteno³ y una reductasa de retinal, dependiente de zinc, reduce el retinal en presencia de NADH a retinol.⁴ Otros productos de la quiebra de β -caroteno incluyen a los 8'-10'-12'-apo- β -carotenals, los cuales han demostrado actividad de provitamina "en vivo".⁵

En general, se reconoce que 1 μ g de retinol es equivalente a 6 μ g de β -caroteno y a 12 μ g de otros carotenoides con actividad de provitamina A.

La eficiencia de utilización de β -caroteno varía considerablemente con las especies animales. La mucosa intestinal de la rata es muy eficiente para quebrar el β -caroteno. Así, poco β -caroteno entra a la circulación en forma intacta. Por otro lado, el intestino de humanos es menos eficiente, encontrándose cantidades apreciables de carotenoides intactos en el plasma.⁶ Después de la administración de β -caroteno marcado radioactivamente, en la dieta de los humanos, 60 a 70% de la radioactivi-

dad fue encontrada en ésteres de retinil y 30% en β -caroteno intacto.⁷

En humanos, durante la etapa post-absorción, los carotenoides aparecen en la circulación asociados con quilomicrones, junto con ésteres de retinol recientemente absorbidos. Luego, los carotenoides son transportados en el plasma asociados a las lipoproteínas de densidad baja (LDL). Como consecuencia, los pacientes con altos niveles de colesterol y LDL plasmáticos tienden a tener niveles altos de carotenoides plasmáticos. Los niveles de carotenoides plasmáticos, al contrario del retinol (vitamina A), generalmente reflejan la composición de la dieta.⁷ En estudios recientes, utilizando la técnica de HPLC, se ha encontrado que el β -caroteno, normalmente, sólo corresponde a 20 a 25% del total de los carotenoides plasmáticos.^{8,9}

Diversos estudios han demostrado que los carotenoides absorbidos en forma intacta se distribuyen prácticamente en todo el organismo. En un adulto normal el tejido adiposo contiene más de 80% del total de carotenoides, el hígado cerca de 10%, el plasma 1% o menos y el resto se encuentra en otros tejidos.² Los carotenoides han sido encontrados además en la piel¹⁰, leche¹¹, cuerpo lúteo bovino¹² y en casi todos los órganos¹³, con excepción del cerebro.

Aunque en mamíferos el intestino es el principal sitio donde ocurre la quiebra oxidativa de β -caroteno para producir retinol, el hígado¹⁴, cuerpo lúteo bovino^{12,14} y posiblemente riñón¹⁵, pulmón y piel¹³ también tienen esa capacidad. Así, los carotenoides con actividad de provitamina A pueden actuar en los tejidos como fuentes locales de la vitamina, cuando se necesita de su acción protectora contra algún tipo de injuria.

Carotenoides en la prevención de daños oxidativos

Numerosas investigaciones sugieren que los daños biológicos causados por la acción fotodinámica pueden ser prevenidos por la presencia de carotenoides. La acción fotodinámica se refiere a los efectos combinados de la luz, sustancias sensibilizadoras (clorofila, azul y metileno, porfirinas, entre otros) y oxígeno. Esta acción causa daños en membranas, provoca mutagénesis, interfiere con la reproducción y otros procesos metabólicos. La causa de tales alteraciones parece ser la rápida oxidación de ácidos grasos insaturados, bases nitrogenadas (en los ácidos nucleicos), aminoácidos aromáticos y de otros constituyentes celulares.¹⁶

En las células animales también se ha observado que los carotenoides pueden proteger contra daños causados por la acción fotodinámica. Diversos estudios señalan que los carotenoides pueden proteger a los glóbulos rojos contra la fotohemólisis inducida por coloran-

tes exógenos o porfirinas endógenas. La adición de β -caroteno a glóbulos rojos expuestos a la luz, que contienen pigmentos endógenos como protoporfirina o sensibilizadores añadidos exógenamente, inhibe la fotohemólisis.^{17,18}

Oxígeno "singlete"

En 1968, Foote y Denny¹⁹ demostraron que los carotenoides tienen capacidad de extinguir el oxígeno "singlete". Propusieron que éste era el principal mecanismo de acción de los carotenoides. También se observó que los carotenos de 9 ó más enlaces conjugados dobles son eficientes extinguidores del oxígeno "singlete", mientras que los menos de siete son poco eficientes.^{20,21} En el proceso de extinción del oxígeno "singlete", los 15-15'-cis-carotenoides son isomerizados a todo trans.²²

Varios sistemas biológicos tienen la capacidad de generar oxígeno "singlete". En todos estos sistemas se ha observado que el oxígeno "singlete" generado puede ser extinguido por el β -caroteno.²³⁻²⁷

Proliferación de radicales libres

Debido a que los carotenoides poseen acción antioxidante, aún en condiciones en que no se forma oxígeno "singlete", se ha pensado que pueden actuar por otros mecanismos contra otros tipos de radicales libres. Packer y colaboradores²⁸ demostraron que β -caroteno reacciona rápidamente con radicales peroxil, cambiando su longitud de onda de absorción máxima; sugieren estos investigadores que el cambio se debe a la formación de un radical catión del β -caroteno. Mathews-Roth y colaboradores²¹ han demostrado que los carotenoides con más de 9 enlaces dobles conjugados son mejores extinguidores de radicales libres.

Burton e Ingold²⁹ consideran que los carotenoides tienen el potencial de proteger a los lípidos de los tejidos contra la peroxidación "en vivo". Señalan estos investigadores que los carotenoides, en esos casos, actúan como antioxidantes de lípidos, por un mecanismo "no usual".

Ellos han encontrado que el β -caroteno es un mejor antioxidante que la vitamina E, a las presiones de oxígeno que son frecuentes en organismos vivos, principalmente a nivel de las arterias. Postulan además, que los carotenoides que son incorporados en membranas y organelos celulares, expuestas a presiones parciales de oxígeno bajas, se unen a un radical peroxil, interrumpiendo la cadena de oxidación.

Krinsky y Deneke^{30,31} demostraron que el β -caroteno y la cantaxantina protegen contra la acción de diferentes tipos de radicales libres, ya sean generados química, fotoquímica o radioquímicamente. Las evidencias presentadas sugieren que los carotenoides, no solamente protegen contra efectos de oxígeno "singlete", sino también contra otros radicales que tienen la capacidad de catalizar la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, presentes en las membranas biológicas.

Protección contra manifestaciones fotosensitivas

Los carotenoides han demostrado su efectividad en varios tipos de fotosensibilización. Se ha comunicado el uso de carotenoides en el tratamiento de porfiria congénita (enfermedad Gunter), observándose reducción en la aparición de lesiones nuevas y en algunos casos los pacientes responden normalmente a la exposición a la luz.³² Mathews-Roth³³, en una revisión sobre carotenoides en la prevención de fotosensibilización, indican que los carotenoides han sido efectivos en el tratamiento de erupción polifórmica a la luz (PMLE), lupus eritematoso y porfiria variegata. Por otro lado, los carotenoides no han sido efectivos en el tratamiento reticuloide actínica, porfiria cutánea tarda, urticaria solar.

Carotenoides en la prevención del cáncer

En los estudios con los humanos no se ha detectado efectos tóxicos colaterales serios, debido a la ingestión de dosis altas de carotenoides (equivalentes a 4 libras 1,8 k, diarias de zanahoria). En muchos pacientes apareció un ligero color amarillo en la piel (carotenodermia), o cual indica la presencia de β -caroteno en la piel. Este color desaparece cuando los pacientes dejan de recibir β -caroteno.³⁴ Posiblemente se debe a que la eficiencia de conversión de carotenos a vitamina A disminuye cuando aumenta la ingesta de carotenos o de vitamina A.³⁵ De manera que hay poco riesgo de hipervitaminosis A, cuando se utiliza β -caroteno puro.

Vegetales verdes-amarillos y cáncer

La incidencia de cáncer es influenciada por factores ambientales y genéticos. Diariamente estamos expuestos a los factores ambientales aire, agua y alimentos, los cuales pueden portar sustancias potencialmente mutagénicas y carcinogénicas. Es conocido que la incidencia y promoción de tumores puede ser afectada por manipulación nutricional^{36,37} la posibilidad de que la dieta puede ser importante en la causa y prevención del cáncer en humanos, ha recibido recientemente ma-

yor atención. Estudios epidemiológicos han sugerido que las prácticas alimentarias es un área que debe ser explorada en la investigación de medidas preventivas contra el cáncer.^{38,39} Esos estudios sugieren que es prudente aumentar el consumo de cereales, vegetales y frutas ricas en fibra y disminuir el consumo de productos ricos en grasa y el exceso de alcohol.

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que el cáncer está inversamente relacionado al consumo de vegetales verdes y amarillos.^{40,41} Estudios retrospectivos sobre vegetales verdes y amarillos en el riesgo de cánceres de pulmón⁴¹, gastrointestinal⁴², vejiga⁴³ y colon⁴⁴ han demostrado una relación inversa. Estudios alimentarios prospectivos en Japón demostraron que existe una relación inversa entre el consumo de vegetales y cáncer de pulmón, estómago y próstata.⁴⁵

Una posible explicación para la relación inversa entre el riesgo de cáncer y consumo de vegetales verdes y amarillos, consistentemente encontrada, es la presencia de compuestos carotenoides. Recientes estudios epidemiológicos sugieren que la ingesta dietética de carotenoides⁴⁶ y los niveles séricos de retinol⁴⁷ están asociados con la reducción del riesgo de desarrollar neoplasias, en humanos. Willet⁴⁸ señala que, aunque la mayoría de los estudios que han examinado la relación de ingesta de carotenoides y cáncer demostraron un efecto protector de estos compuestos, los resultados no han sido enteramente consistentes. Posiblemente debido a que el β -caroteno (carotenoide más estudiado) no es igualmente protector para todos los tipos de cáncer.

En los estudios epidemiológicos, en los que se ha observado una disminución de la incidencia de ciertos tipos de cáncer, con la ingesta relativamente alta en frutas y vegetales, se asume que el factor activo de esas dietas fue β -caroteno. Sin embargo, muchas de las frutas y vegetales parecen ser pobres fuentes de β -caroteno, pero relativamente buenas fuentes de otros carotenoides, que tienen poca o ninguna actividad de provitamina A.⁴⁹

Carotenoides en carcinogénesis experimental

Estudios realizados en sistemas celulares "en vivo" y con animales experimentales, han demostrado con bastante claridad que existe un efecto de la vitamina A y sus derivados (colectivamente llamados retinoides) en la prevención de varios tipos de tumores experimentales.^{50,51} Sin embargo, resultados de trabajos recientes sugieren que los carotenoides que son absorbidos en forma intacta pueden ejercer un efecto protector contra el desarrollo de cáncer.

Los carotenoides han demostrado su efectividad en la prevención del cáncer de la piel. Santamaria y co-

laboradores⁵² encontraron que la administración oral de β -caroteno y cantaxantina, en ratones, previene el efecto fotocarcinogénico de benzopireno en razón de 79% y 66%, respectivamente. Mathews-Roth⁵³ encontró que β -caroteno, cantaxantina (ambos suministrados oralmente) y fitoeno (inyectado) previenen el desarrollo de tumores de la piel inducidos por la luz UV-B, pero sólo con β -caroteno previene el desarrollo de tumores inducidos por inyección de una mezcla de 9,10-dimetil-1,2-benzantraceno (DMBA)/aceite de "crotón" y por DMBA/UVB. Mathews y Krinsky⁵⁴ observaron que cuando aumentan los niveles de grasa en la dieta, disminuye el efecto protector de los carotenoides contra fotocarcinogénicos en la piel. El β -caroteno también ha disminuido el desarrollo de papiloma de la piel inducido químicamente en ratones.⁵⁵

La administración oral de β -caroteno demostró una acción antitumor en ratones inoculados con células de adenocarcinoma C3HBA; ese efecto fue potencializado con la administración de ácido ascórbico.⁵⁶

En todos los estudios en que los carotenoides han sido suministrados oralmente, las dosis fueron bastante altas. Esto permite que una cantidad apreciable sea absorbida en forma intacta.

Som y colaboradores⁵⁷ en un interesante estudio, presentan la primera evidencia de la prevención inducida químicamente *in vitro*. Ellos encontraron que β -caroteno inhibe la transformación de células de glándula mamaria en ratones, inducida por DMBA *in vitro*. Además, señalan que el efecto observado puede ser independiente de su actividad como provitamina A, ya que no se detectó formación de retinol en las glándulas mamarias, durante el período de experimentación.

Posibles mecanismos anticarcinogénicos

1. Carotenoides con actividad provitamina A

En la naturaleza han sido identificados aproximadamente 500 carotenoides; de éstos cerca de 50 han demostrado poseer alguna actividad de vitamina A.²

Como hemos señalado varias veces, una cantidad apreciable de carotenoides con actividad provitamina A escapan de ser transformados en el intestino y alcanzan la circulación sanguínea en forma intacta. Se considera que aproximadamente 30% del β -caroteno ingerido es absorbido sin transformación.⁷ Este porcentaje aumenta con la cantidad de β -caroteno ingerido. No se conoce proteínas específicas transportadoras de carotenoides en el plasma. Los carotenoides absorbidos son depositados prácticamente en todos los tejidos del organismo.^{12,13}

En algunos tejidos (además del intestino y hígado) se ha encontrado que el β -caroteno puede ser transformado a retinol, actuando como fuente local de vitamina A.^{12,15} En estos tejidos, el β -caroteno y posiblemente otros carotenoides pueden actuar como agentes que controlen la diferenciación y proliferación celular. Sporn y Roberts⁵¹ y Googman⁵⁸, en recientes revisiones, señalan que la vitamina A y los retinoides son potentes agentes que controlan la diferenciación y la proliferación celular. Explicando así un posible mecanismo anticarcinogénico de estos compuestos, ya que la carcinogénesis se debe esencialmente a esos desórdenes en la diferenciación celular.

El papel de los carotenoides con actividad de provitamina A, a nivel de tejido, puede ser de gran importancia, tomando en cuenta que más del 90% de la vitamina A corporal se encuentra almacenada en el hígado y que su liberación es afectada por una variedad de condiciones fisiológicas, nutricionales y de otros tipos. Las reservas hepáticas de vitamina A, son movilizadas como retinol unido a una proteína transportadora específica (RBP). Así todos los procesos que afectan la síntesis o secreción de RBP por el hígado, afectan la disponibilidad de vitamina A en los tejidos.⁷ Malnutrición proteico calórica, deficiencia de zinc, infección, infestación por parásitos, síndrome de malabsorción y enfermedad hepática son ejemplos de alteraciones que disminuyen los niveles plasmáticos y tisulares de retinol.² En estos casos, las reservas hepáticas pueden ser adecuadas. Mientras tanto el contenido de carotenoides en el plasma y en los tejidos sólo depende de la ingesta.^{2,7}

2. Papel independiente de la vitamina A

Investigaciones recientes han demostrado que canxantina puede prevenir o disminuir el crecimiento de tumores de la piel, inducido por radiación UVB o químicamente, con benzopireno^{52,53}, mientras que fitoeno sólo previene el desarrollo de tumores inducidos por radiaciones UV-B. Ninguno de estos carotenoides ha demostrado poseer actividad de provitamina A. Por otro lado, Som y colaboradores⁵⁷ han encontrado *in vitro* que el β -caroteno puede prevenir el desarrollo de carcinogénesis, sin formación de retinol.

Los resultados de estos estudios indican que el papel protector de los carotenoides, contra carcinogénesis, no pueden ser explicados solamente en términos de su papel como precursores de vitamina A.

Se ha postulado que ciertos promotores de carcinogénesis actúan por generación de radicales de

oxígeno, resultando en la peroxidación de los lípidos, lo cual afecta todos los aspectos de organización celular, incluyendo membranas y el aparato mitótico.⁵⁹ En general, el compromiso de radicales libres de diferentes tipos, generados por diversos sistemas, ha sido considerado como uno de los principales mecanismos en el desarrollo de carcinogénesis química.^{60,61} Anteriormente mencionamos los mecanismos de protección contra daños oxidativos, a través de los cuales actúan los carotenoides en los sistemas biológicos. Los carotenoides son muy eficientes en atrapar radicales libres de diferentes tipos y en extinguir el oxígeno singlete.³¹ El oxígeno singlete es una forma de oxígeno muy reactiva, la cual es mutagénica y particularmente muy efectiva en provocar la peroxidación de lípidos.⁵⁹

Otras posibles funciones de los carotenoides

Reproducción

Los carotenoides han sido encontrados en concentraciones relativamente altas en los órganos reproductores de diversos animales.^{13,62} Esto ha hecho pensar a muchos investigadores que los carotenoides pueden desempeñar algún papel en la reproducción. Los resultados de los estudios realizados, principalmente con ganado bovino, sugieren que la deficiencia de β -caroteno puede causar disminución en la tasa de concepción, alta incidencia de muerte embrionaria y composición pobre del calostro.¹ La suplementación con β -caroteno, de dietas aparentemente adecuadas con respecto a vitamina A, promueve un aumento en la eficiencia reproductiva del ganado.⁶³

Otras enfermedades degenerativas

Una de las teorías aceptables sobre la causa de envejecimiento indica que éste se debe principalmente a daños causados al DNA y a otras moléculas. La principal causa de estos daños parecen ser los radicales libres, formados del oxígeno y de la peroxidación de lípidos.⁶⁴ La acumulación del pigmento lipofuscina (pigmento de la edad), en todas las especies de mamíferos, ha sido asociada con la peroxidación de lípidos.⁶⁵ Los pigmentos de la edad pueden formarse por uniones lipidoproteína, causadas por malonaldehído, uno de los productos finales de la oxidación de los ácidos grasos.⁶⁵

Se ha postulado que las lesiones ateroscleróticas que se derivan de la célula son similares a los tumores benignos y de origen mutacional.⁶⁶ La grasa parece ser uno de los principales factores de riesgo para enfermedad cardíaca, como para algunos tipos de

cáncer, debido a los procesos oxidativos que sufren esas sustancias. Las formas oxidadas de colesterol han sido asociadas al desarrollo de aterosclerosis.⁶⁷ Lesiones similares a las ateroscleróticas se ha provocado por inyección de hidroperóxidos de ácidos grasos o colesterol oxidado.⁵⁹ Mc Cord⁶⁸, en una reciente revisión, señala que la enfermedad cardíaca se puede desarrollar por la formación de radicales libres en los procesos de isquemia, en reacciones que involucran la enzima xantinaoxidasa.

El cerebro utiliza 20% del oxígeno consumido por el hombre y contiene una cantidad apreciable de grasa insaturada. Es conocido que en el cerebro ocurre oxidación de lípidos, lo que puede ser causa de demencia senil y otras alteraciones cerebrales.⁶⁹ Varias enfermedades del sistema nervioso central están asociadas con la acumulación de lipofuscina.⁷⁰

Sporn y Harris⁷¹ indican que además de cáncer, un gran número de enfermedades se caracteriza por excesiva proliferación de células. Tales enfermedades incluyen: artritis reumatoide, psoriasis, fibrosis pulmonar idiopática, cirrosis hepática y enfermedades debidas a la formación de ateromas. De esta manera se ha propuesto que el β -caroteno puede prevenir la enfermedad cardiovascular.⁷²

Debemos también mencionar que existe evidencia *in vitro* y en vivo que el β -caroteno tiene la capacidad de aumentar la respuesta inmunológica.⁷³ Esta capacidad va de la mano con su actividad antioxidante y podrá considerarse como otro mecanismo por el cual β -caroteno inhibe carcinogénesis.

Considerando que los carotenoides han demostrado poseer propiedades antioxidantes en sistemas biológicos, por diversos mecanismos, su presencia en los alimentos pueden proteger contra el desarrollo de enfermedades, debida a su protección contra radicales libres y de la oxidación de lípidos.

Nota final:

Experimentos recientes en los cuales se ha utilizado β -caroteno en forma de suplemento en fumadores con riesgo alto de cáncer^{74,75} han tenido resultados negativos. Esto puede deberse mayormente a dos razones: el β -caroteno funciona como antioxidante a presiones parciales bajas; las presiones parciales de oxígeno son cambiantes en el pulmón del fumador.

Estos experimentos no usaron todos los carotenos, sólo β -caroteno; cabe la posibilidad que los resultados hubiesen sido diferentes con la utilización de otros antioxidantes en conjunto con β -caroteno. Además, la mayor parte de la función preventiva contra el cáncer

demostrada por β -caroteno se relaciona a su capacidad como antioxidante; pero existe la posibilidad de que sea su función pro-oxidante la que provea capacidad antiproliferativa.

Agradecimientos

Los autores agradecen la ayuda provista por el Research Centers in Minority Institution Award RR-003051, del Centro Nacional de Recursos de Investigación de los Institutos Nacionales de Salud. También agradecen la excelente ayuda secretarial de la Sra. Aida Font y del Sr. Gualberto de León.

Referencias bibliográficas

- Simpson KL, Chichester CO. Metabolism and nutritional significance of carotenoids. *Ann Rev Nutr* 1981; 1: 351-74.
- Olson JA. Serum levels of vitamin A and carotenoids as reflectors of nutritional status. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73: 1139-41.
- Goodman DS, Olson JA. The conversion of all-trans β -carotene into retinal. *Methods Enzymol* 1969; 15: 462-75.
- Fidge NH, Goodman DS. The enzymatic reduction of retinal to retinol in rat intestine. *J Biol Chem* 1968; 243: 4372-79.
- Sharma RV, Mathur SN, Dimitrouskii AA, Das RC, Ganguly J. Studies on the metabolism of β -carotene and apo- β -carotene in rats and chickens. *Biochem Biophys Acta* 1977; 468: 183-4.
- Simpson KL. Relative value of carotenoids as precursor of vitamin A. *Proc Nutr Soc* 1983; 42: 7-17.
- Goodman DS. Overview of current knowledge of metabolism of vitamin A and carotenoids. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73: 1375-79.
- Dnskell WJ, Bashor MM, Neese JW. Beta carotene determined in serum by lipid chromatography with an internal standard. *Clin Chem* 1983; 29: 1012-14.
- Katrangi N, Kaplan LA, Stein EA. Separation and quantitation of serum β -carotenoids and other carotenoids by high performance liquid chromatography. 1984; 25: 400-6.
- Hoerer E, Dreyfuss E, Herzberg M. Carotenemia, skin colour and diabetes mellitus. *Acta Diabetol Lat* 1974; 12: 202-7.
- Carol J, Jensen RG. Fat-soluble vitamins in human milk. *Nutr Rev* 1984; 42: 365-71.
- Gawienowski AM, Stacewicz-Sapuncakis M, Longley R. Biosynthesis of retinal in bovine corpus luteum. *J Lipid Res* 1974; 15: 375-79.
- Mathews-Roth MM, Hummel D, Cream C. The carotenoid content of various animals administered large amounts of β -carotene. *Nutr Rep Int* 1977; 16: 419-423.
- Olson JA, Hayashi O. The enzymatic cleavage of β -carotene into vitamin A by enzymes of rat liver and intestine. *Proc Nat Acad Sci USA* 1965; 54: 1364-9.
- Goodman DS, Huang HS, Kanai M, Shiratori T. The enzymatic conversion of all trans β -carotene into intestinal. *J Biol Chem* 1967; 242: 3542-4.
- Foote CS. Photosensitized oxidation and singlet oxygen consequences in biological systems. En: Pryor, WA. Free radicals in biology, vol. III. New York. Academic Press, 1976, p. 85-133.
- Schothorst AA, Van Stevenick J, Went LN, Stuurmond D. Photoporphyria-induced photohemolysis in photoporphyria and in normal blood cell. *Clin Chem Acta* 1970; 28: 41-9.
- Nilsson R, Swanbeck G, Wennesten G. Primary mechanism of erythrocyte photolysis induced by biological sensitizers and phototoxic drugs. *Photochem Photobiol* 1975; 22: 183-6.
- Foote CS, Denny RW. Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by carotene. *J Am Chem Soc* 1968; 90: 6233-8.
- Foote CS, Chang YC, Denny RW. Chemistry of singlet oxygen. X. Carotenoid quenching parallels biological protection. *J Am Chem Soc* 1970; 92: 5216-8.
- Mathews-Roth MM, Wilson T, Fujimori E. Carotenoid chromophore length and protection against photosensitization. *Photochem Photobiol* 1974; 19: 217-22.
- Foote CS, Chang YC, Denny RW. Chemistry of singlet oxygen. XI. Cis-trans isomerization of carotenoids by singlet and probable quenching mechanism. *J Am Chem Soc* 1970; 92: 5218-9.
- Duran N. Singlet oxygen in biological processes. En: Adam W, Gilento G. Chemical and biological generation of excited states 1982; p. 345-69.
- Kellog EW III, Fridovich I. Superoxide, hydrogen peroxide, and singlet oxygen in lipid peroxidation by xantine oxidase system. *J Biol Chem* 1975; 250: 8812-7.
- Goodwin TW. The Biochemistry of the Carotenoids, 2 ed. London, Chapman and Hall 1880; p 377.
- Cogdell RJ, Monger TG, Parson WW. Carotenoid triplet in reaction center from *Rhodospirillum sphaeroides* and *Rhodospirillum rubrum*. *Biochem Biophys Acta* 1975; 408: 189-99.
- Chauve J, Bazin M, Santus R. On the triplet energy transfer from chlorophyll to carotene in triton X-100 micelles. *Photochem Photobiol* 1985; 41: 83-90.
- Packer JE, Mahood JS, Mora-Arellano VO, Slater TF, Wilson RL, Wolfenden BS. Free radicals and singlet oxygen scavengers. reaction of peroxyl radical with β -carotene, diphenylfuran 1,1-diazobicyclo (2,2,2)-octane. *Biochem Biophys Res Comm* 1981; 98: 901-6.
- Burton GW, Ingold KV. β -carotene, an usual type of lipid antioxidant. *Science* 1984; 224: 569-73.
- Krnisky NI. Carotenoid protection against oxidation. *Pure Appl Chem* 1979; 51: 649-60.
- Krnisky NI, Deneke SM. Interaction of oxygen and oxy-radical with carotenoids. *J Natl Cancer Inst* 1982; 69: 205-10.
- Stetcher GS. Beta-carotene in congenital porphyria. *Arch Dermat* 1978; 114: 1242-3.
- Mathews-Roth MM. Photosensitization by porphyrins and prevention of photosensitization by carotenoids. *J Natl Cancer Inst* 1982; 69: 279-85.
- Dua PN, Day EJ, Tripton HC, Hill JE. Influence of dietary vitamin A on carotenoid utilization, N retention and energy utilization by the chick. *J Nutr* 1971; 90: 117-22.
- Gonzales MJ, Schemmel RA, Gray JL, Dugan L Jr, Sheffield LG, Welsh CW. Effect of dietary fat on growth of MCF-7 and MDA-MB 231 human breast carcinomas in athymic mice: relationship between carcinoma growth and lipid peroxidation products level. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1231-5.
- Gonzales MJ, Schemmel RA, Dugan L Jr, Gray JL, Welsh CW. Dietary fish oil inhibition of human breast carcinoma growth, a function of lipid peroxidation. *Lipids* 1993; 28: 827-32.
- Doll R, Peto R. The cause of cancer: quantitative estimation of available risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 1191-308.
- Skelle RB, Løpper M, Liu S. Dietary vitamin A and risk of cancer in the Western electric study. *Lancet* 1981; 2: 1185-90.
- Peto R, Doll R, Buckley JD, Sporn MB. Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates. *Nature* 1981; 290: 201-8.
- Hennekens CH, Lipnick RJ, Mayrent SL, Willet WC. Vitamin A and risk of cancer. *J Nutr Educ* 1982; 14: 135-6.
- Mac Lennan R, De Costa J, Day N. E, Law CH, Ng YK, Shanmugara K. Risk factor for lung cancer in Singapore Chinese, a population with high female incidence rates. *Int J Cancer* 1977; 20: 854-60.
- Modan B, Cukic H, Lubin FA. Note on the role of dietary retinol and carotene in human gastrointestinal cancer. *Int J Cancer* 1981; 28: 421-4.
- Mutlin C, Ghaham S. Dietary risk factor in human bladder cancer. *Am J Epidemiol* 1979; 110: 255-63.
- Graham S, Dayal H, Swanson M, Mittelman A, Wilkinson G. Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 709-14.
- Hirayama T. Diet and cancer. *Nutr Cancer* 1979; 1: 67-81.
- Golditz GA, Branch LG, Lipnick RL, Willet WC, Rosner B, Posner BM, Hennekens CH. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 32-6.
- Wald N, Idle M, Boreham J. Low serum vitamin A and subsequent risk of cancer. *Lancet* 1980; 2: 813-5.
- Willet CW, Mac Mahon B. Diet and cancer: an overview. *N Engl J Med* 1984; 310: 633-8.
- Beecher GR, Khachik F. Evaluation of vitamin A and carotenoid data in food composition tables. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73: 1397.

50. Sporn MB, Newton DL. Chemoprevention of cancer with retinoids. *Fed Proc* 1979; 38: 2528-34.
51. Sporn MB, Roberts AB. Role of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73: 1381-6.
52. Santamaría L, Bianchini A, Arnaboldi A, Andreoni L. Prevention of the benzo (—) pyrene photocarcinogenesis effect by β -carotene and cantaxanthin. Preliminary Study. *Bol Chim Farm* 1980; 119: 745-7.
53. Mathews-Roth MM. Antitumor activity of β -carotene, cantaxanthin and phyotene. *Oncology* 1982; 39: 33-7.
54. Mathews-Roth MM, Krinsky NI. Effect of dietary fat level on UV-B induced skin tumors and antitumor action of β -carotene. *Photochem Photobiol* 1984; 40: 671-3.
55. Muto Y, Moriwaki H. Antitumor activity of vitamin A and its derivatives. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73: 1389-93.
56. Rettura G, Strafford F, Levenson SM, Sciffer E. Prophylactic and therapeutic actions of supplemental β -carotene in mice inoculated with. *J Natl Cancer Inst* 1982; 69: 73-7.
57. Som S, Chatterjee M, Barnejee MR. β -carotene inhibition of 7,12-dimethylbenz an anthracene - induced transformation of murine cells "in vitro". *Carcinogenesis* 1984; 5: 937-40.
58. Goodman DS. Vitamin A and retinoids in health and disease. *N Engl J Med* 1984; 310: 1023-31.
59. Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens: Oxygen radicals and degenerative disease. *Science* 1983; 221: 1256- 64.
60. Heilberger C. Chemical carcinogenesis. *Ann Rev Biochem* 1975; 44: 79-121.
61. Ts'OPO, Caspary WJ, Lorentzen RJ. The involvement of free radicals in chemical carcinogenesis. En Pryor, WA. *Free radical in biology*. Vol.3, New York, Academic Press, 1977 p 251.
62. Chew BP, Holpuch DM, O'Fallon JV. Vitamin A and β -carotene in bovine porcine plasma, liver corpora lutea and follicular fluid. *J Dairy Sci* 1977; 67: 1316-22.
63. Tomasoff JM, Ono T, Cutler RG. Metabolism of β -carotene by the bovine corpus luteum. *Nutr Rev* 1983; 41: 357-8.
64. Tomasoff JM, Ono T, Cutler RG. Superoxide dismutase. correlation with life-span and specific metabolic rate in primate species. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77: 2777-81.
65. Miguel J, Ono J, Bensch KG, Johnsons JE Jr. Lipofuscin. fine-structural and biochemical studies. En Pryor WA. *Free Radicals in Biology*. New York Academic Press 1977, p 133-82.
66. Bond JA, Gown AM, Yang HL, Bendit EP, Juchau MR. Further investigations of the capacity of polynuclear aromatic hydrocarbons to elicit atherosclerotic lesion. *J Toxicol Environ Health* 7: 327-335.
67. Kummero FA. Possible role of oxidized lipids in atherosclerosis. En: Simic MG, Kare M. *Autoxidation in Food and Biological Systems*. New York, Plenum Press 1980; p 599.
68. Mc Cord JM. Oxygen - derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-63.
69. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci* 1981; 78: 7121-8.
70. Gutteridge J, Rewley DA, Halliwell B, Westermarck T. Increased non-protein bound iron and decreased protection against superoxide-radical damage in cerebrospinal fluid from patients with neuronal ceroid lipofuscinoses. *The Lancet*, II 1982; 459- 60.
71. Sporn MB, Harris ED Jr. Proliferative disease. *Am J Med* 1981; 70: 1231-6.
72. Wang XD. Review: absorption and metabolism of β -carotene. *J Am Coll Nutr* 1994; 13: 314-25.
73. Bendich A. Carotenoids and the immune response. *J Nutr* 1989; 119: 112-15.
74. The Alpha Tocopherol, Beta-carotene Cancer Prevention Study Group. The effect Vitamin E and Beta-Carotene on the incidence of lung cancer and other cancer in male smokers. *N Engl J Med* 1994; 330: 1029 - 35.
75. Greenberg ER, Baron JA, Tosteson TD, et al. A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *N Engl J Med* 1994; 331: 141-2.