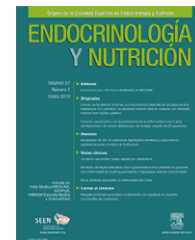




ENDOCRINOLOGÍA Y NUTRICIÓN

www.elsevier.es/endo



ORIGINAL

Valoración no invasiva de los niveles de β -carotenos en piel en adultos colombianos

Robinson Ramírez-Vélez^{a,b,*}, Katherine González-Ruiz^c, Sophya García^c, Carlos Alejandro López-Alban^d, Natalia Escudero^e y Ricardo Antonio Agredo-Zúñiga^f

^a Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Colegio Mayor Nuestra Señora del Rosario, Bogotá DE, Colombia

^b Programa de Medicina, Universidad ICESI, Santiago de Cali, Colombia

^c Escuela Nacional del Deporte, Santiago de Cali, Valle del Cauca, Colombia

^d Universidad Nacional de Colombia, Bogotá DE, Colombia

^e Universidad Santiago de Cali, Santiago de Cali, Valle del Cauca, Colombia

^f Universidad del Valle, Santiago de Cali, Valle del Cauca, Colombia

Recibido el 11 de enero de 2012; aceptado el 5 de marzo de 2012

Disponible en Internet el 13 de abril de 2012

PALABRAS CLAVE

Espectroscopia;
 β -carotenos;
Adultos;
Colombia

Resumen

Introducción: Los pigmentos carotenoides poseen propiedades antioxidantes y beneficiosas para la salud de los seres humanos. Se ha sugerido la utilización de la espectroscopia de resonancia Raman (ERR) como un método fiable para su medición en tejidos como la dermis. No obstante, antes de poder utilizar esta técnica, es preciso recolectar datos sobre su variabilidad y reproducibilidad.

Objetivo: Evaluar la reproducibilidad de la técnica de ERR, para la detección de las concentraciones totales de β -carotenos en piel en adultos colombianos.

Diseño: Un total de 48 hombres y 30 mujeres saludables con diversos niveles de pigmentación fueron incluidos en el estudio. Se realizaron mediciones por ERR en región palmar, cara interna y externa de los brazos. Se calculó la *odds ratio* e intervalos de confianza del 95% ajustando por factores de confusión: índice de masa corporal, circunferencia de cintura, porcentaje de grasa corporal, edad, etnia, hábito de tabaquismo y sexo. La reproducibilidad de la técnica se estimó mediante el coeficiente de correlación intraclase (CCI).

Resultados: El promedio de β -carotenos en hombres fue de $29,9 \pm 11,9$ frente a $30,6 \pm 8,6$ en mujeres ($p = 0,787$). No se encontraron diferencias ni asociaciones significativas en los niveles de β -carotenos por los factores de confusión evaluados por sexo. Los CCI fueron: 0,89 en región palmar; 0,85 en cara interna de brazos, y 0,82 en cara externa de brazos.

Conclusión: La EER constituye un método fiable para la medición no invasiva de las concentraciones de β -carotenos en piel y puede ser utilizado como un importante biomarcador del estatus antioxidante en estudios nutricionales y de salud en población humana.

© 2012 SEEN. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: robin640@hotmail.com (R. Ramírez-Vélez).

KEYWORDS

Spectroscopy;
 β -carotenos;
Adults;
Colombia

Non-invasive assessment of β -carotene levels in the skin of colombian adults**Abstract**

Introduction: Carotenoid pigments have antioxidant properties beneficial for human health. Use of resonance Raman spectroscopy (RRS) as a reliable method for measuring carotenoid levels in tissues such as dermis has been suggested. However, data about the variability and reproducibility of this technique should be collected before it can be used.

Objective: To assess reproducibility of RRS for detection of total β -carotene levels in the skin of Colombian adults.

Design: Forty-eight healthy men and 30 healthy women with various pigmentation levels were enrolled into the study. Measurements by RRS were performed in the palmar region and medial and lateral aspects of the arms. Odds ratio and 95% confidence intervals were calculated, adjusting for confounding factors: body mass index, waist circumference, percent body fat, age, race, smoking, and sex. Reproducibility of the technique was estimated using intraclass correlation coefficient (ICC).

Results: Mean β -carotene levels were 29.9 ± 11.9 in men and 30.6 ± 8.6 in women ($P=.787$). No differences or significant associations were found of β -carotene levels with confounding factors assessed by sex. ICCs were 0.89 in the palmar region, 0.85 in the medial aspect of arm, and 0.82 in the external aspect of arm.

Conclusion: RRS spectroscopy is a reliable method for non-invasive measurement of β -carotene levels in skin, and may be used as an important biomarker of antioxidant status in nutritional and health studies in humans.

© 2012 SEEN. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Los carotenoides son moléculas antioxidantes provenientes de pigmentos vegetales que se encuentran originalmente en plantas, animales y bacterias, muchas veces muy oxigenados o como cromoproteínas, siendo la parte prostética de estas¹. Los más frecuentemente consumidos en dietas occidentales son el α -caroteno, el β -caroteno, el licopeno, la luteína, la zeaxantina y la β -criptoxantina^{2,3}. Autores como Krinsky et al.⁴, Liu et al.⁵ y Mayne et al.⁶ mostraron que la ingesta de dietas ricas en carotenoides se asociaba inversamente con el riesgo de padecer enfermedades crónicas, especialmente algunos tipos de cáncer, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico.

No obstante, varios autores ponen en discusión la validez de las encuestas dietéticas como indicador de la ingesta alimentaria para determinar objetivamente el consumo de este importante biomarcador antioxidante⁵⁻⁷. En clínica e investigación, los carotenoides comunes se pueden medir por métodos bioquímicos en sangre u otros tejidos, después de su extracción, y se sabe que las concentraciones se correlacionan con la ingesta en la dieta⁵.

Hasta la fecha, los estudios de consumo de frutas y vegetales se han basado en la determinación de los carotenoides en tejidos mediante el uso de HPLC (*High-performance liquid chromatography*). Esta técnica es la de referencia (*gold standard*), pero tiene destacadas desventajas como su elevado coste, y algunos aspectos metodológicos como la extracción, el almacenamiento, el procesamiento y el análisis de la muestra, entre muchas otras⁸. Otra desventaja es la fluctuación en la concentración de carotenoides en los diferentes tejidos en respuesta a ingestas recientes, especialmente con el consumo de β -caroteno y licopeno⁹.

La espectroscopia de resonancia Raman (ERR) es una técnica espectroscópica utilizada en física de la materia condensada y también en química para el estudio de los

modos vibracionales, rotacionales y otros de baja frecuencia en un sistema. Esta técnica se basa en la dispersión inelástica, o dispersión Raman, de la luz monocromática, que por lo general procede de un láser. Los carotenoides son moléculas bien adaptadas a la dispersión de la luz por la ERR, ya que todas tienen una fuerte columna de absorción en las cadenas de carbono conjugada ($C=C$). Asimismo en los sistemas biológicos, la intensidad de la ERR se relaciona linealmente con la concentración de carotenoides.

Los trabajos de Ermakov et al.^{10,11} han mostrado la utilidad y validez de la ERR para la medición no invasiva de los carotenoides en tejidos como la piel. El estudio de Mayne et al.⁶ en 28 sujetos sanos mostró que los niveles dérmicos de carotenoides totales, determinados por ERR, se correlacionaban significativamente con las concentraciones de carotenoides totales determinados por HPLC en biopsias de piel ($r=0,66$; $p=0,0001$). Otros autores han mostrado que los niveles de β -carotenos en piel se correlacionan con la ingesta de la dieta y sus concentraciones en plasma¹²⁻¹⁴.

Recientemente, las concentraciones consideradas como protectoras del β -caroteno han estimulado la investigación científica en el contexto de prevención primaria por la participación de esta molécula en el mantenimiento del estatus antioxidante, un importante mecanismo de defensa, por lo que su estimación fiable, rápida y no invasiva proporcionaría información del estado de salud del individuo¹⁵. El propósito de este estudio fue evaluar la reproducibilidad de la técnica por ERR para la detección de las concentraciones totales de β -carotenos en piel de adultos colombianos.

Material y métodos

Durante el primer semestre del 2011 se realizó un estudio descriptivo, transversal, en 78 sujetos saludables ($n=48$

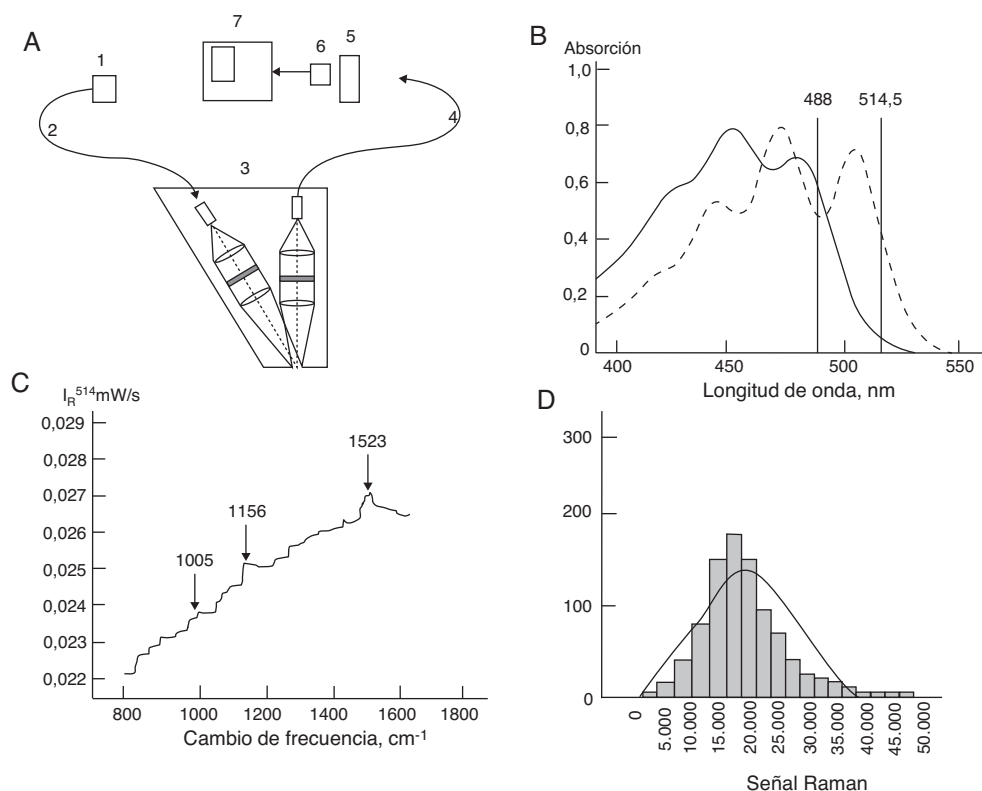


Figura 1 A. Representación esquemática de un equipo para espectroscopia de resonancia Raman. 1: láser de argón; 2,4: fibras ópticas; 3: sistema de adquisición de imagen óptica; 5: espectrógrafo; 6: cámara; 7: computador. B. Ejemplo del espectro de absorción de 2 tipos de carotenoides: β -carotenos (línea continua) y licopeno (línea discontinua) en solución de etanol. C. Espectro típico de Raman de β -carotenos obtenidos a partir de lecturas en dermis humana *in vivo* a 514,5-nm mediante láser de argón. D. Histograma de distribución de señales por espectroscopia resonante Raman.

hombres; $n = 30$ mujeres), entre los 18 y los 65 años de edad, procedentes del área nororiental y metropolitana de la ciudad de Cali en Colombia. La selección de la muestra se llevó a cabo mediante convocatoria voluntaria y muestreo por intención, y se excluyeron participantes con diagnóstico médico o clínico de enfermedad sistémica mayor (incluidos procesos malignos como cáncer), diabetes mellitus tipo 1 o 2, hipertensión arterial, hipo/hipertiroidismo, antecedentes de historia de abuso de drogas o alcohol, consumo de preparados multivitamínicos y procesos inflamatorios (traumatismos, contusiones) o infecciosos. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada participante y el Comité Ético del centro académico aprobó el estudio, siguiendo las normas deontológicas reconocidas por la Declaración de Helsinki y la normativa legal vigente colombiana que regula la investigación en seres humanos (Resolución 008430 del Ministerio de Salud de Colombia). Los participantes que aceptaron y firmaron el consentimiento informado fueron citados en ayunas en el Laboratorio del Centro para la Investigación en Salud y Rendimiento Humano y en el Centro de Convenciones Alférez Real, para los siguientes procedimientos.

Medición de β -carotenos mediante espectroscopia de resonancia Raman

Inicialmente se evaluó el estado cutáneo en la palma de la mano, la parte interna y la parte externa del antebrazo.

Se sabe que los carotenoides se concentran en la palma de la mano, de tal modo que este lugar era la elección más obvia para las mediciones. Los demás lugares de medición fueron seleccionados por conveniencia para el estudio de reproducibilidad de la técnica.

Los participantes fueron citados a primera hora de la mañana en ayunas. Los detalles para la medición de β -carotenos en tejidos humanos *in vivo* mediante la técnica ERR ha sido descrita en detalle en otros trabajos¹¹⁻¹⁵. En síntesis, el instrumento consta de una cámara y varias líneas láser de argón para producir luz UV azul a 488 nm (fig. 1A). La respuesta óptica de la piel se conoce como dispersión de Rayleigh, y corresponde a la morfología rígida y externa del tejido dérmico (estrato córneo). La intensidad de fluorescencia de los dobles enlaces carbono-carbono ($C=C$), se conocen como intensidad Raman, generada a partir del cambio de frecuencia a 1.524 cm^{-1} , siendo proporcional a la cantidad de carotenoides cutáneos totales (figs. 1 B y C). Esta técnica utiliza un láser de potencia $< 10\text{ mW}$ y un tiempo de exposición de 15 s, con un tamaño de punto elíptico de 2 mm por 3 mm^{14,15} (Pharmanex® BioPhotonic Scanner, EE. UU.). Todas las medidas se tomaron por triplicado, y se utilizó el promedio para el análisis de los datos.

Medición clínica

De cada participante se obtuvieron los siguientes datos: antecedentes familiares de riesgo cardiovascular; encuesta

de antecedentes personales, recordatorio nutricional de 24 h, y valoración antropométrica, que comprendió estatura, peso y circunferencia de cintura, mediante técnicas estandarizadas por López et al.¹⁶. La talla se registró con un antropómetro Krammer (Holtain Ltd., Crymych Dyfed, Reino Unido) de 4 segmentos y 1 mm de precisión. El peso se midió con balanzas de piso (Health-o-Meter, Continental Scale Corp., Bridgeview, Ill, EE. UU.) con 500 g de precisión, calibradas con pesos conocidos. Con estas variables se calculó el índice de masa corporal (IMC) en kg/m². La circunferencia de cintura se midió en el punto medio entre las crestas ilíacas y el borde costal inferior con una cinta métrica plástica con una precisión de 0,5 cm (Holtain Ltd., Crymych Dyfed, Reino Unido). Adicionalmente, a cada participante se le pidió que identificara la raza, y bajo la guía del asistente de investigación el color de piel (parte interna del brazo). Las citadas dimensiones se tomaron con dispositivos homologados y de acuerdo con las normas del programa biológico internacional, elaborado por el *Internacional Council of Scientific Unions* que recoge los procedimientos esenciales para el estudio biológico de las poblaciones humanas¹⁷.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para estimar la distribución de las puntuaciones de la ERR en la población de estudio y los diferentes subgrupos. Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov se aceptó la hipótesis de distribución normal para las variables estudiadas (fig. 1 D). Las diferencias en las variables binarias fueron estudiadas mediante la prueba de la t de Student, mientras que para las variables múltiples fue

usado el test ANOVA unilateral. El coeficiente de correlación intra-clase (CCI) fue utilizado para evaluar la reproducibilidad de las medidas en el tiempo y en los 3 sitios escogidos para su determinación. Se calcularon *odds ratio* (OR) e intervalos de confianza del 95% (IC95%) ajustados por los factores de confusión: IMC, circunferencia de cintura, etnia, hábito tabáquico y sexo. Un análisis de regresión logística multivariado fue usado para evaluar las asociaciones entre la ingesta dietética mediante el cuestionario de recordatorio de 24 h y las concentraciones dérmicas de β -carotenos por EER. Todas las pruebas se realizaron con el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows (Graphpad Instat, Graphpad Software, University of London, Reino Unido). Se consideró significativo un valor de $p \leq 0,05$.

Resultados

Un total de 48 hombres y 30 mujeres sanos con diversos niveles de pigmentación fueron incluidos en el estudio. El promedio de β -carotenos en hombres fue de $29,900 \pm 11,900$ frente a $30,600 \pm 8,600$ en mujeres ($p = 0,787$). No se encontraron diferencias ni asociaciones significativas en los niveles de β -caroteno por los factores de confusión evaluados según sexo, excepto en el análisis de la población general en las variables edad ≥ 33 años (OR = 1,62; IC95% = 1,31-2,01; $p < 0,05$) e incremento del porcentaje de grasa $\geq 25\%$ (OR = 1,87; IC95% = 1,41-2,49; $p < 0,05$) (tablas 1 y 2). Tampoco se hallaron correlaciones entre la ingesta dietética mediante el cuestionario de recordatorio de 24 h y las concentraciones dérmicas de β -carotenos por EER.

Tabla 1 Niveles de β -carotenos totales por espectroscopia de resonancia Raman y características clínicas de la población de estudio (n = 78)

Variables	n (%)	ERR ^a	Valor p ^b
Edad			
≤ 33 años	40 (51,2)	23,997 ± 12,648	0,56
> 33 años	38 (48,2)	25,377 ± 12,953	
Sexo			0,78
Hombres	48 (61,5)	29,900 ± 11,900	
Mujeres	30 (38,5)	30,600 ± 8,600	
Raza/etnia			0,92
Blanca	62 (79,4)	20,097 ± 8,879	
Otras	16 (20,6)	21,889 ± 10,376	
Hábito tabáquico			0,60
Sí	15 (19,3)	16,446 ± 7,508	
No	63 (80,7)	18,660 ± 8,069	
Índice de masa corporal (IMC)			0,79
Peso saludable (IMC 18,5 a ≤ 25,0 kg/m ²)	52 (66,6)	21,377 ± 9,661	
Sobrepeso (IMC 25,0 a ≤ 30,0 kg/m ²)	16 (20,4)	18,549 ± 7,319	
Obesidad (IMC ≥ 30,0 kg/m ²)	10 (13,0)	15,432 ± 6,621	
Circunferencia de cintura			0,69
< 88 cm	46 (59,0)	21,320 ± 9,939	
≥ 88 cm	32 (41,0)	19,985 ± 8,665	

^a Valores presentados en media ± desviación estándar de β -carotenos por espectroscopia resonante Raman.

^b Diferencias evaluadas por prueba de la t de Student para variables binarias o por ANOVA para variables múltiples.

Tabla 2 *Odd ratio* e intervalos de confianza del 95% de tener bajos niveles de β -carotenos totales por espectroscopia resonante Raman en la población de estudio

Variables	Total (n = 78) OR ^a (IC95%)	Hombres (n = 48) OR ^a (IC95%)	Mujeres (n = 30) OR ^a (IC95%)
<i>Edad</i>			
≥ 33 años	1,62 (1,31-2,01)*		
<i>Raza/etnia</i>			
Blanca	1,72 (0,46-1,12)	1,55 (0,77-3,11)	1,14 (0,74-1,74)
<i>Hábito tabáquico</i>			
Sí	1,02 (0,62-1,51)	1,05 (0,66-1,77)	1,13 (0,72-1,77)
<i>Índice de masa corporal (IMC)</i>			
Sobrepeso/obesidad (IMC entre 25,0 y 35,0 kg/m ²)	2,2 (0,90-5,43)	1,38 (0,45-4,20)	4,00 (0,85-8,84)
<i>Circunferencia de cintura</i>			
≥ 88 cm	1,23 (0,48-3,12)	1,08 (0,32-3,65)	1,42 (0,33-6,17)
<i>Porcentaje de grasa corporal</i>			
≥ 25%	1,87 (1,41-2,49)*	1,93 (1,31-2,87)	1,96 (1,32-2,92)

IC95%: intervalo de confianza del 95%; OR: *odds ratio*.* $p < 0,05$.^a Las OR fueron ajustadas por las variables: IMC, circunferencia de cintura, porcentaje de grasa corporal, edad, etnia, hábito tabáquico y sexo.

El CCI de las concentraciones dérmicas de β -carotenos en los 3 lugares de medición usados en este estudio (palma de la mano, antebrazo interno y parte externa del antebrazo) varió de 0,82 hasta 0,87, indicando una alta reproducibilidad de la técnica. El mayor CCI se encontró en la palma de la mano CCI=0,87, seguido de la parte interna del antebrazo CCI= 0,85, y el antebrazo externo CCI= 0,82, mostrando que los niveles de β -carotenos fueron reproducibles y coherentes con el tiempo de medición de cada parte del cuerpo.

Discusión

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la reproducibilidad de la técnica de ERR para detección de las concentraciones totales de β -carotenos en piel en adultos colombianos. Durante años, la importancia nutricional de los carotenoides se debió sobre todo al hecho de que algunos poseen actividad provitaminica A, la cual sigue siendo objeto de estudio en la actualidad^{18,19}. El interés por estos compuestos isoprenoides se ha multiplicado no solo en Latinoamérica²⁰⁻²², sino a nivel mundial^{23,24}, debido a su capacidad antioxidante²⁵ y a sus beneficios potenciales en la prevención de diversas enfermedades, como ciertos tipos de cáncer²⁶, trastornos oculares²⁷ y vasculares²⁸.

Varios autores^{29,30} han observado en fumadores una menor concentración en plasma de antioxidantes debido, por un lado, a la mayor implicación de los antioxidantes disponibles en el bloqueo de la cadena de radicales libres inducida por el tabaco y, por otro, a una dieta posiblemente disminuida en estos compuestos. En este trabajo no se encontraron diferencias ni asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de β -carotenos y el hábito tabáquico, hallazgo que coincide con lo descrito por Farchi et al.³¹. Estos autores analizaron el efecto del humo del tabaco con la ingesta de α y β -carotenos, retinol, ácido ascórbico, α -tocoferol y licopenos en 1.249 fumadores de

ambos sexos. Tampoco se encontraron asociaciones entre el hábito tabáquico y la ingesta de frutas y vegetales, lo que también coincide con los trabajos de Zondervan et al.²⁹ y Marangon et al.³⁰. No obstante, Rodríguez-Castilla et al.³² demostraron en varones fumadores con características similares a las de este estudio, concentraciones menores de β -carotenos (0,34 $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,001$) y retinol (1,98 $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,01$) vs sujetos no fumadores (0,53 $\mu\text{mol/L}$ y 2,0 $\mu\text{mol/L}$), respectivamente. Asimismo, fue hallada una modesta correlación entre los niveles de β -carotenos y el consumo de tabaco (r Spearman = 0,170; $p = 0,006$). Sin embargo, se ha descrito que el consumo de cigarrillos afecta los niveles plasmáticos de otras sustancias con capacidad antioxidante como el licopeno, la luteína, el α -tocoferol y el β -tocoferol, pero en menor proporción las concentraciones de β -carotenos, para los que el tabaco se considera un determinante independiente de la ingesta dietética³².

Junto al tabaquismo, la edad avanzada puede ser un factor adicional en la disminución de las concentraciones plasmáticas de vitaminas antioxidantes³³. Moreiras y Carbajal³⁴ encontraron que las concentraciones plasmáticas de α -tocoferol y de β -carotenos se relacionaban negativamente con el número de cigarrillos fumados ($r = 0,188$) y la edad del fumador ($r = 0,304$), $p < 0,05$. En nuestro trabajo, esta relación solo fue encontrada en la población general (sujetos con edad ≥ 33 años [OR = 1,62; IC95% = 1,31-2,01], $p < 0,05$), sin diferencias por sexo. Coincidiendo con estos resultados, varios estudios han confirmado la influencia de la edad avanzada y una composición corporal alterada en los cambios en las concentraciones de sustancias antioxidantes^{35,36}. Sin embargo, no hay trabajos que hayan evaluado esta relación con la técnica por ERR. Además, no detectamos diferencias o asociaciones por sexo entre las concentraciones dérmicas de β -carotenos y los factores de confusión evaluados (IMC, circunferencia de cintura y etnia), hallazgo que coincide con otros informes^{32-35,37-39}.

Los resultados del presente estudio indican que la determinación no invasiva por ERR de β -carotenos en piel son reproducibles y fiables en seres humanos. Destacamos también que los niveles de β -carotenos en la población evaluada presentan una distribución normal, y los valores coinciden con las medias de estudios internacionales que han sugerido este tipo de mediciones poblacionales¹¹⁻¹⁵.

Una importante ventaja del uso de la técnica de ERR es la rapidez para la determinación de las concentraciones de β -carotenos en piel, debido a que no se requiere una preparación de la muestra o condiciones especiales para su medida¹¹⁻¹⁵. La ERR ha evolucionado rápidamente en los últimos años hasta convertirse en una prueba sencilla y accesible por su bajo coste y alta fiabilidad. Hoy en día es una importante técnica analítica para identificar el estatus antioxidante, y está siendo rápidamente adoptada por los especialistas en endocrinología y en nutrición en estudios clínicos⁴⁰ y epidemiológicos⁴¹, aunque en menor proporción en la práctica clínica. En cuanto a la factibilidad de uso, los sujetos evaluados no presentaron respuestas adversas al escáner en cada medición, incluyendo la adquisición de datos y tiempo de procesamiento. Asimismo, nuestros hallazgos sugieren que la palma de la mano es uno de los mejores sitios para la determinación de los niveles de β -carotenos dérmicos mediante la técnica por ERR, pues fue el lugar con mayor concentración y con mayor CCI (probablemente relacionado con mayores niveles de β -carotenos), tal como fue descrito previamente por Mayne et al.⁶

Finalmente, la técnica por EER, aunque no es novedosa, plantea soluciones para el análisis rápido del estado nutricional de β -carotenos dérmicos en estudios poblacionales y tiene una alta probabilidad de usarse en la práctica clínica. Una limitación de nuestro estudio es el número de participantes con la piel muy pigmentada, lo que impide que seamos capaces de evaluar eficientemente el impacto de la melanina dérmica en las concentraciones de β -carotenos. Nuestra población de estudio se limitó a las personas menores de 65 años debido a que la calidad de la piel puede cambiar con la edad, aunque esto debe ser una preocupación menor en sitios como la palma de la mano. Los futuros estudios deben asegurar una representación adecuada de los participantes con una gama completa de pigmentación de la piel, con medidas directas del contenido de melanina, y rangos de edad mayor. Destacamos el reducido número de trabajos que han medido los niveles de carotenoides dérmicos y su repercusión en la salud humana¹¹⁻¹⁵. Los futuros estudios podrán considerar la adición de este importante biomarcador en tejidos como la piel, como un indicador del estado nutricional y del estatus antioxidante. Será necesario incorporar las mediciones por ERR en estudios epidemiológicos antes de hacer inferencias clínicas acerca de las repercusiones que tiene este biomarcador sobre la salud.

En conclusión, la técnica de ERR constituye un método fiable para la medición no invasiva de las concentraciones de β -carotenos en piel y puede ser utilizado como un importante biomarcador del estatus antioxidante en estudios nutricionales y de salud en población humana.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Vitale AA, Bernatene EA, Pomilio AB. Carotenoides en quimioprevención: licopeno. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2010;44:195-238.
2. Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1740:101-7.
3. O'Sullivan L, Ryan L, O'Brien N. Comparison of the uptake and secretion of carotene and xanthophyll carotenoids by Caco-2 intestinal cells. *Br J Nutr*. 2007;98:38-44.
4. Krinsky NI, Mayne ST, Sies H. Carotenoids in health and disease. New York, NY: Marcel Dekker; 2004.
5. Liu S, Manson JE, Lee IM. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study. *Am J Clin Nutr*. 2000;72:922-8.
6. Mayne ST, Cartmel B, Scarmo S, Lin H, Leffell DJ, Welch E, et al. Noninvasive assessment of dermal carotenoids as a biomarker of fruit and vegetable intake. *Am J Clin Nutr*. 2010;92:794-800.
7. Kristal AR, Peters U, Potter JD. Is it time to abandon the food frequency questionnaire? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14:2826-8.
8. Ray AL, Semba RD, Walston J, Ferrucci L, Cappola AR, Ricks MO, et al. Low serum selenium and total carotenoids predict mortality among older women living in the community: the women's health and aging studies. *J Nutr*. 2006;136:172-6.
9. Rock CL, Swendseid ME, Jacob RA, McKee RW. Plasma carotenoid levels in human subjects fed a low carotenoid diet. *J Nutr*. 1992;122:96-100.
10. Ermakov IV, Ermakova MR, Gellermann W, Lademann J. Noninvasive selective detection of lycopene and beta-carotene in human skin using Raman spectroscopy. *J Biomed Opt*. 2004;9:332-8.
11. Ermakov IV, Ermakova MR, McClane RW, Gellermann W. Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissues. *Opt Lett*. 2001;26:1179-81.
12. Zidichouski JA, Mastaloudis A, Poole SJ, Reading JC, Smidt CR. Clinical validation of a noninvasive. Raman spectroscopic method to assess carotenoid nutritional status in humans. *J Am Coll Nutr*. 2009;28:687-93.
13. Svilaas A, Sakhi AK, Andersen LF, Svilaas T, Strom EC, Jacobs Jr DR, et al. Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *J Nutr*. 2004;134:562-7.
14. Hata TR, Scholz TA, Ermakov IV, McClane RW, Khachik F, Gellermann W, et al. Non-invasive raman spectroscopic detection of carotenoids in human skin. *J Invest Dermatol*. 2000;115:441-8.
15. Ermakov IV, Gellermann W. Validation model for Raman based skin carotenoid detection. *Arch Biochem Biophys*. 2010;504:40-9.
16. López CA, Ramírez-Vélez R, Gallardo CEG, Marmolejo LC. Características morfofuncionales de individuos físicamente activos. *Iatreia*. 2008;21:121-8.
17. Weiner JS, Lourie JA. Practical human biology. 1.^a ed. Londres: Academic Press; 1981. p. 56.
18. Nyambaka H, Ryley J. An isocratic reversed-phase HPLC separation of the stereoisomers of the provitamin A carotenoids (a- and b-carotene) in dark green vegetables. *Food Chem*. 2004;55:63-72.
19. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Carotenoid pigments: structural and physicochemical considerations. *Arch Latinoam Nutr*. 2007;57:109-17.
20. Amaya-Farfan J. Panorama de la investigación sobre carotenoides en el Brasil. Perspectiva y necesidades. *Arch Latinoam Nutr*. 1999;49:92-7.
21. Chávez Pérez JF. Prioridades de investigaciones en el campo de carotenoides en Venezuela. *Arch Latinoam Nutr*. 1999;49:103-7.

22. Muñoz de Chávez M, Chávez A, Calvo C. Necesidades de investigación en carotenoides en América Latina. *Arch Latinoam Nutr.* 1999;49:85–8.
23. O'Neill ME, Carroll Y, Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Van den Berg H, et al. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. *Br J Nutr.* 2001;85:499–507.
24. Dixon LB, Zimmerman TP, Kahle LL, Subar AF. Adding carotenoids to the NCI Diet History Questionnaire Database. *J Food Compos Anal.* 2003;16:269–80.
25. Böhm F, Tinkler JH, Truscott TG. Carotenoids protect against cell membrane damage by the nitrogen dioxide radical. *Nature Med.* 1995;1:98–9.
26. Maoka T, Mochida K, Kozuka M, Ito Y, Fujiwara Y, Hashimoto K, et al. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. *Cancer Lett.* 2001;172:103–9.
27. Snodderly DM. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *Am J Clin Nutr.* 1995;62:1448S–61S.
28. Trumbo PR, Ellwood KC. Lutein and zeaxanthin intakes and risk of age-related macular degeneration and cataracts: an evaluation using the Food and Drug Administration's evidence based review system for health claims. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:971–4.
29. Zondervan KT, Ocke MC, Smit HA, Seidell JC. Do dietary and supplementary intakes of antioxidants differ with smoking status? *Int J Epidemiol.* 1996;25:70–9.
30. Marangon K, Herbeth B, Lecomte E, Paul-Dauphin A, Grolier P, Chancerelle Y, et al. Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men. *Am J Clin Nutr.* 1998;67:231–9.
31. Farchi S, Forastiere F, Pistelli R, Baldacci S, Simoni M, Perucci CA, et al. Exposure to environmental tobacco smoke is associated with lower plasma β -carotene levels among nonsmoking women married to a smoker. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2001;10:907–9.
32. Rodríguez-Castilla V, Cuadrado C, del Pozo S, Moreiras O. Concentraciones plasmáticas de carotenos y vitaminas antioxidantes en personas de edad avanzada: influencia del tabaquismo. Proyecto HALE. *Clin Invest Arterioscl.* 2005;17:101–11.
33. Carbajal A, Varela-Moreiras G, Ruiz-Roso B, Perea I, Moreiras O. Nutrición y salud de las personas de edad avanzada en Europa: Euronut-SENECA. Estudio en España. 3. Estado nutricional: antropometría, hematología, lípidos y vitaminas. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 1993;28:230–42.
34. Moreiras O, Carbajal A. Antioxidant vitamin intake of the Spanish population: the influence of smoking and alcohol on the status of two age groups. *Bibl Nutr Dieta.* 1994;51:150–6.
35. Hesecker H, Schneider R. Requirement and supply of vitamin C, E and β -carotene for elderly men and women. *Eur J Clin Nutr.* 1994;48:118–27.
36. Herbeth B, Chavance M, Musse M, Mejean L, Vernhes G. Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population. *Eur J Clin Nutr.* 1989;43:175–86.
37. Cals MJ, Bories PN, Devanlay M, Desveaux N, Luciani L, Succari M, et al. Extensive laboratory assessment of nutritional status in fit, health-conscious, elderly people living in the Paris area. *J Am Coll Nutr.* 1994;6:646–57.
38. Fernández-Bañares F, Giné JJ, Cabré E, Abad-Lacruz A, Esteve-Comas M, González-Huix F, et al. Factors associated with low values of biochemical vitamin parameters in healthy subjects. *Int J Vit Nutr Res.* 1993;63:68–74.
39. Cesari M, Pahor M, Bartali B, Cherubini A, Penninx BW, Williams GR, et al. Antioxidants and physical performance in elderly persons: The Invecchiare in Chianti (InCHIANTI) study. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:289–94.
40. Dayan SH, Arkins JP, Sharma V, Paterson E, Barnes D. A phase 2, double-blind, randomized, placebo-controlled trial of a novel nutritional supplement product to promote healthy skin. *J Drugs Dermatol.* 2011;10:1106–14.
41. Scarmo S, Cartmel B, Lin H, Leffell DJ, Welch E, Bhosale P, et al. Significant correlations of dermal total carotenoids and dermal lycopene with their respective plasma levels in healthy adults. *Arch Biochem Biophys.* 2010;504:34–9.