

Héctor Bourges R. • Esther Casanueva • Jorge L. Rosado

Recomendaciones de Ingestión de Nutrimentos para la Población Mexicana Bases Fisiológicas

Tomo 1



Vitamina A y carotenos

Salvador Villalpando
Victoria Caraveo
Roxana Valdés-Ramos

Naturaleza Química	29
Aspectos Históricos	29
Digestión, Absorción y Metabolismo	29
Biodisponibilidad	30
Funciones biológicas	30
Manifestaciones clínicas de la deficiencia	30
Vitamina A y crecimiento corporal	31
Manifestaciones oculares de la deficiencia	31
Vitamina A, morbilidad y mortalidad por infecciones agudas	31
Bases para establecer los valores nutrimentales de referencia	32
Estudios experimentales en los que se fundamenta el cálculo de los valores nutrimentales de referencia	34
Biodisponibilidad y estado nutricional en vitamina A de la población mexicana	35
Valores nutrimentales de referencia	36
Toxicidad y teratogenicidad	36
Recomendaciones de carotenos	37
Bibliografía	37

NATURALEZA QUÍMICA

Con el nombre de vitamina A se engloba una serie de compuestos con características de pigmento y estructura química relacionada con los isoprenos, formada por un núcleo cíclico de seis carbonos con una cadena lateral de 11 carbonos (figura 1).

El compuesto con mayor actividad de vitamina A es el retinol, el cual existe principalmente en tejidos animales esterificado con ácidos grasos de cadena larga.

Los carotenos son compuestos que también tienen actividad de vitamina A y cuya estructura se parece a la del retinol. La estructura del β -caroteno corresponde a 2 moléculas de retinol unidas por los extremos de sus cadenas laterales (figura 1). Las formas isoméricas β son las más abundantes y se encuentran en los vegetales.

Los carotenos son hidrolizados enzimáticamente en el enterocito y convertidos en retinal y luego en retinol (2 moléculas en el caso del β -caroteno). Por ello, al retinol se le conoce como vitamina A preformada y a los carotenos como previtamina A.

Algunas xantinas, particularmente las criptoxantinas, también pueden ser transformadas en retinol.^{1,2} En conjunto, los carotenos y las xantinas son conocidos como carotenoides. Algunos compuestos sintéticos con actividad de vitamina A reciben el nombre de retinoides.

La cantidad de vitamina A se expresaba anteriormente en Unidades Internacionales (UI), basadas en la capa-

cidad del retinol para estimular el crecimiento de animales de laboratorio, pero actualmente se expresa en microgramos (μg) equivalentes de retinol (ER).

La unidad es 1 μg de holo-trans-retinol, que equivale a 6 μg de β -caroteno o 12 μg de otros carotenoides.³

ASPECTOS HISTÓRICOS

La vitamina A fue descubierta en el año de 1912 por McCollum y no fue sino hasta 1923 cuando se estableció su relación con la ceguera nocturna y la xeroftalmía. Sólo 12 años después de su descubrimiento, en 1924, se demostró el efecto negativo de la deficiencia de vitamina A en el crecimiento de animales de laboratorio, pero además su capacidad para proteger contra algunas infecciones en niños hospitalizados. En 1932, Ellison demostró que la suplementación con vitamina A reducía la mortalidad asociada con complicaciones de sarampión. En 1982, en un estudio clásico, Sommer demostró la asociación entre queratomalacia y mayor mortalidad infantil. Varios estudios entre 1986 y 1992 demostraron que en zonas con alta prevalencia de deficiencia de vitamina A, la mortalidad por diarrea y sarampión disminuía en forma importante cuando los niños, especialmente los menores de un año, eran suplementados con la vitamina.⁴

DIGESTIÓN, ABSORCIÓN Y METABOLISMO

La vitamina A preformada (ésteres de retinil) proviene de los tejidos animales, principalmente el hígado y el aceite de hígado de pescado. Los carotenoides se encuentran sobre todo en los vegetales, en particular en las frutas y verduras.

Los ésteres de retinil ingeridos son hidrolizados presumiblemente por las lipasas pancreáticas para ser convertidos en retinol en la luz intestinal² y los carotenos se liberan de su unión a las estructuras celulares de los alimentos mediante proteasas intestinales.³ Tanto el retinol como los carotenos se solubilizan en las micelas formadas con la ayuda de las sales biliares, junto con otros lípidos de la dieta.

El retinol se absorbe en los enterocitos mediante difusión facilitada cuando la cantidad ingerida es relativamente pequeña. Cuando la cantidad es muy alta, se

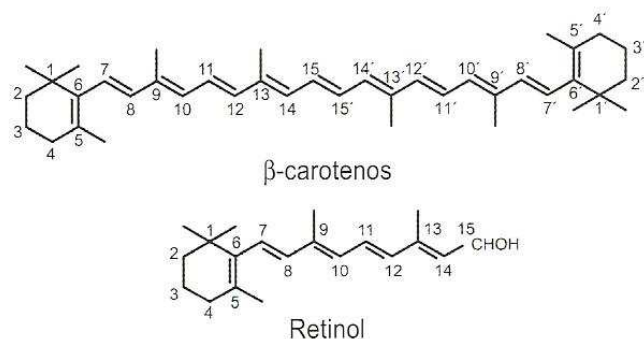


Figura 1. La molécula de los β -carotenos es simétrica y está formada por dos anillos de β -ionona unidas por una cadena formada por cuatro unidades isoprénicas, conteniendo nueve dobles ligaduras con un peso molecular de 536.85. El retinol es el producto de la hidrólisis en las uniones 15,15' produciendo dos moléculas con un sólo anillo de ionona y dos unidades isoprénicas.

absorbe de forma pasiva, con una eficiencia mayor a 75%, eficiencia que guarda relación directa con la cantidad de lípidos ingeridos. Los carotenos se absorben como tales en forma pasiva, con una eficiencia entre 10 y 50%,⁴ que depende también de la cantidad de lípidos ingeridos. Una vez en el citoplasma, los carotenos son hidrolizados por la enzima 15,15'-carotenoide dioxigenasa para ser transformados en retinol. Algunos son absorbidos y pasan intactos a la circulación por medio de la linfa y se almacenan en el tejido adiposo.

Los ésteres de retinol son transportados por los quilomicrones por vía linfática hacia la circulación general.⁵ En el hígado, se unen con la proteína transportadora de retinol (RBP), para ser distribuidos a los tejidos por la circulación y en el plasma se les une la transtirretina (TTR) en proporción 1:1:1, retinol:RBP:TTR.^{6,7}

Las células del hígado controlan el almacenamiento y movilización del retinol, lo que permite que las concentraciones sanguíneas se mantengan por arriba de 2 $\mu\text{mol/L}$.

El retinol puede seguir cualquiera de los siguientes procesos: 1) esterificación y almacenamiento en el hígado; 2) conversión en metabolitos activos tales como ácido retinoico o retinal; y 3) puede ser catabolizado y excretado como ácido retinoico.

BIODISPONIBILIDAD

La biodisponibilidad de la vitamina A depende de: 1) el estado nutricional de la vitamina A del sujeto; 2) el contenido de retinol y carotenos en los alimentos que componen la dieta habitual; 3) la eficiencia de su absorción intestinal, y 4) la tasa de transformación de los carotenos a retinol.

Tanto la absorción como la tasa de biotransformación varían, dependiendo del estado nutricional en vitamina A. Ambas son mayores en los sujetos con deficiencia y disminuyen cuando el estado nutricional es óptimo. La digestibilidad de la vitamina A depende de la cantidad de retinol o de sus precursores consumidos individualmente. El retinol ingerido en la dieta se absorbe con una eficiencia de 78.5 a 90%,^{7,8} mientras que la biodisponibilidad de los carotenos depende de la eficiencia para ser transformados en retinol. Todos ellos requieren de lípidos, sales biliares, lecitina y α -tocoferol para ser absorbidos en el

intestino.^{9,10} Los β -carotenos son absorbidos con una eficiencia de 10 a 50%, en relación inversa con la cantidad ingerida de grasa. El consumo deficiente de hierro y α -tocoferol y la presencia de grandes cantidades de oxalatos o de agentes quelantes como las fibras dietéticas disminuyen la absorción de la vitamina A.¹⁰

FUNCIONES BIOLÓGICAS

El retinol participa de manera importante en la función visual como retinal^{11,12} y, en la expresión génica, la diferenciación celular y el crecimiento, como ácido retinoico.¹³⁻¹⁵

La transmisión de estímulos luminosos ocurre mediante una serie de pasos que incluyen su transformación en 11-cisretinal y su asociación con la opsina, lo cual mantiene abiertos los canales de sodio de los bastones externos. Los cambios del potencial de membrana se transmiten mediante sinapsis hasta el cerebro, donde se integran los impulsos.¹³⁻¹⁵

La participación de la vitamina A en la expresión génica es a través del ácido retinoico, el cual es transportado del citoplasma al núcleo por medio de la CRABP¹⁶ hasta un receptor específico (RAR).¹⁷ El ácido retinoico activa al RAR, el cual regula la iniciación de la transcripción en la región promotora de un gen conocido como RAREs.¹⁸ Los RAREs consisten en repeticiones directas de una secuencia motif de genes específicos cuya transcripción es inducida por ácido retinoico y presumiblemente altera la expresión de otros genes.¹⁹

A través de este proceso, el ácido retinoico es indispensable para el crecimiento y la diferenciación celular.¹⁹ La vitamina A interviene en muchos otros procesos fisiológicos, incluyendo la espermatogénesis, el desarrollo fetal, la respuesta inmunológica, el gusto, la audición, el apetito y el crecimiento de linfocitos.²⁰⁻²³

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA DEFICIENCIA

Pocos años después de que McCollum descubriera la vitamina A, se describieron sus efectos sobre la función visual, el crecimiento y la susceptibilidad a las infecciones.²⁰⁻²³

VITAMINA A Y CRECIMIENTO CORPORAL

Se ha demostrado en animales que la deficiencia de vitamina A altera el crecimiento, tanto ponderal como longitudinal, probablemente a través de los mecanismos descritos para la expresión génica en la sección anterior.^{18,19} Además, parece compartir con las hormonas tiroideas un efecto modulador sobre la actividad de la hormona del crecimiento.²³ A su vez, esta hormona estimula la captación de retinol por los tejidos en crecimiento.²⁴

En animales, la deficiencia de vitamina A se manifiesta por disminución en la velocidad de crecimiento,^{25,26} de la utilización de glucosa y aminoácidos,^{26,27} la aparición de anorexia²⁶ y desaceleración de la osteogénesis.²⁸ Aunque presumiblemente estos mecanismos afectan de manera similar al crecimiento en humanos deficientes en vitamina A, es difícil probarlo experimentalmente. Las intervenciones de suplementación con vitamina A en poblaciones deficientes mejoran el crecimiento, pero también disminuye la morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas,²⁹ lo cual hace difícil distinguir si la mejoría se debe directamente a la vitamina A o a la disminución de las infecciones.

MANIFESTACIONES OCULARES DE LA DEFICIENCIA

La manifestación ocular más temprana de deficiencia de vitamina A es la dificultad para adaptarse a la oscuridad, llamada "ceguera nocturna". También se manifiesta por otras alteraciones oculares, llamadas genéricamente xeroftalmía (tabla 1). Comienza por disminución de la altura y desorganización del epitelio columnar, queratinización de la superficie, disminución en el número de células caliciformes y de la secreción de mucina.^{30,31} Cuando la deficiencia de vitamina A progresa, aparecen manifestaciones de xerosis conjuntival y corneal.^{32,33} La xerosis conjuntival se caracteriza por despulimiento de la conjuntiva y la córnea, por la aparición de miles de defectos puntiformes que le dan apariencia de cáscara de naranja, edema del estroma. Estas lesiones confluyen hasta formar ulceraciones redondeadas u ovals. Las úlceras responden al tratamiento restituyendo la epitelización *ad integrum*. Cuando la le-

Tabla 1. Clasificación de xeroftalmía en niños menores de 6 años de edad.

	Criterio	Prevalencia mínima
XN	Ceguera nocturna	1.0%
X1A	Xerosis conjuntival	No utilizado
X1B	Manchas de Bitot	0.5%
X2	Xerosis corneal	
X3A	Ulceración corneal/queratomalacia	0.01%
< 3B	< 1/3 superficie corneal Ulceración	
XS	corneal/queratomalacia	
XF	> 1/3 superficie corneal Cicatriz corneal Fondo xeroftálmico	0.05% No utilizado

Fuente: WHO/NUT/94. 1 pág. 17.

sión es más profunda, la reparación después del tratamiento deja una cicatriz blanquecina, llamada leucoma. La queratomalacia es la lesión ocular más grave, que puede ir acompañada de pérdida total de la visión.

VITAMINA A, MORBILIDAD Y MORTALIDAD POR INFECCIONES AGUDAS

La asociación entre deficiencia de vitamina A y tasas más altas de mortalidad debido a infecciones agudas fue informada pocos años después de descubierta la vitamina A. Bloch informó que los niños deficientes de vitamina A tenían una mayor frecuencia de infecciones urinarias.³³ Ellison demostró que pacientes con sarampión, asignados aleatoriamente a un tratamiento con aceite de hígado de bacalao, tenían un riesgo de muerte 50% inferior al de los que no lo recibieron.³⁴ Esta capacidad de la vitamina A para mejorar la resistencia a las infecciones fue ignorada en los años subsiguientes.³⁵

Sommer^{35,36} encontró, en preescolares indonesios con ceguera nocturna o xeroftalmía moderada, que su tasa de mortalidad era 4 a 12 veces más alta que la de los que no tenían esas manifestaciones, en una relación de dosis-efecto.³⁷ El riesgo de muerte de los niños sin xeroftalmía, pero con reservas corporales de vitamina A bajas, también era mayor.

Con varios estudios se ha intentado probar que la administración de vitamina A a niños deficientes disminuye el riesgo de muerte debida a varias infecciones.

Cuatro fueron realizados en niños hospitalizados^{34,38-40} y ocho más fueron estudios de comunidad.⁴¹⁻⁴⁸ En un metanálisis de estos estudios⁴⁹ se encontró que, en los realizados en hospitales, la suplementación con vitamina A disminuyó la mortalidad infantil (razón de momios: 0.37, IC 95% = 0.21 a 0.64). Esto significa que se evitó 53% de las muertes predichas. También demostraron protección para neumonía y las complicaciones mortales del sarampión. El efecto protector fue significativo en niños entre 12 y 23 meses de edad, no así en niños mayores de 25 meses. Los ocho estudios comunitarios demostraron que la vitamina A disminuyó significativamente las tasas de mortalidad (razón de momios: 0.7, IC = 0.58 a 0.85), que protegía principalmente a los niños menores de un año para todas las causas de mortalidad, especialmente contra diarrea. No se observó protección contra sarampión y neumonía. En conclusión, estos estudios confirmaron que la corrección de la deficiencia de vitamina A disminuye el riesgo de muerte por diarrea, neumonía y sarampión, muy especialmente en menores de un año.

Se sabe poco acerca del mecanismo mediante el cual la deficiencia de vitamina A favorece las infecciones. Se ha sugerido que puede ser de dos tipos: 1) la metaplasia queratinizante de los epitelios que recubren los tractos respiratorio, genitourinario^{50,51} y gastrointestinal⁵⁰ producida por la deficiencia de vitamina A, la cual podría favorecer el crecimiento y acumulación de bacterias, 2) y a través de sus efectos moduladores sobre la inmunidad celular y humoral demostrados tanto en animales como en humanos.⁵²

Aspectos epidemiológicos de la deficiencia

La deficiencia de vitamina A es la causa principal de ceguera infantil en el mundo;⁵⁴ cerca de 500 000 preescolares desarrollan anualmente xeroftalmía.⁵⁵ La mitad de ellos se agravan hasta perder la vista y cerca de 60% mueren por complicaciones infecciosas.⁵⁶ El International Vitamin A Consultative Group (IVACG) afirma que puede considerarse que al menos 73 países tienen problemas graves de deficiencia de vitamina A. La prevalencia de xeroftalmía en estos países es del orden de 5 millones de casos. El padecimiento afecta de manera más importante a países asiáticos y africanos. Existen pocos datos acerca de la magnitud del pro-

blema en América Latina y el Caribe, pero en ellos el problema parece ser moderado y focalizado a zonas de extrema pobreza, siendo Haití el país con el más serio problema de xeroftalmía.⁵⁷

En México, la información sobre el estado nutricional de vitamina A antes de 1999 estaba contenida en estudios focales, algunos de los cuales encontraron una ingestión de vitamina A por debajo de las recomendaciones;^{58,59} sin embargo, la encuesta urbana de alimentación (ENURBAL) encontró que el consumo de vitamina A en la Ciudad de México era cercano a la recomendación norteamericana, aun en el estrato socioeconómico marginal.⁶⁰ Otros investigadores han informado prevalencia de xeroftalmía entre 2.5 y 6.6%⁵⁸ y prevalencias altas⁶¹ o bajas⁵⁹ de deficiencia de vitamina A. En 1999, la Encuesta Nacional de Nutrición (ENN-99)⁶² mostró una visión más integral del problema, basada en las concentraciones de retinol en el suero en una submuestra de 2 500 niños y mujeres.

La prevalencia de formas graves de deficiencia de vitamina A (< 10 $\mu\text{g/dL}$) fue muy baja (4%) en el ámbito nacional; los afectados fueron los niños rurales menores de 2 años, aunque 0.9% de los niños entre 3 y 4 años de edad también sufrían deficiencia. La prevalencia de formas moderadas de deficiencia (> 10 a < 20 $\mu\text{g/dL}$) fue más alta en niños entre 2 y 8 años de edad (25.1%), siendo más afectados los rurales (figura 2), pero sin diferencias entre las regiones Norte, Centro, Metropolitana y Sur.

Las formas graves de deficiencia de vitamina A fueron inexistentes entre las mujeres embarazadas y no embarazadas, pero la prevalencia global de agotamiento fue de 15% en las embarazadas, siendo mayor en las urbanas (20%) que en las rurales (10%). La prevalencia más alta de depleción se observó en las regiones Centro (28.6%) y Norte (15.8%) y la más baja en la Sur (9%) (figura 3).

BASES PARA ESTABLECER LOS VALORES NUTRIMENTALES DE REFERENCIA

El procedimiento para calcular la recomendación se sintetiza en el siguiente esquema; incluye en primer lugar el cálculo de la utilización diaria de retinol por un organismo sano, preferentemente medida de manera di-

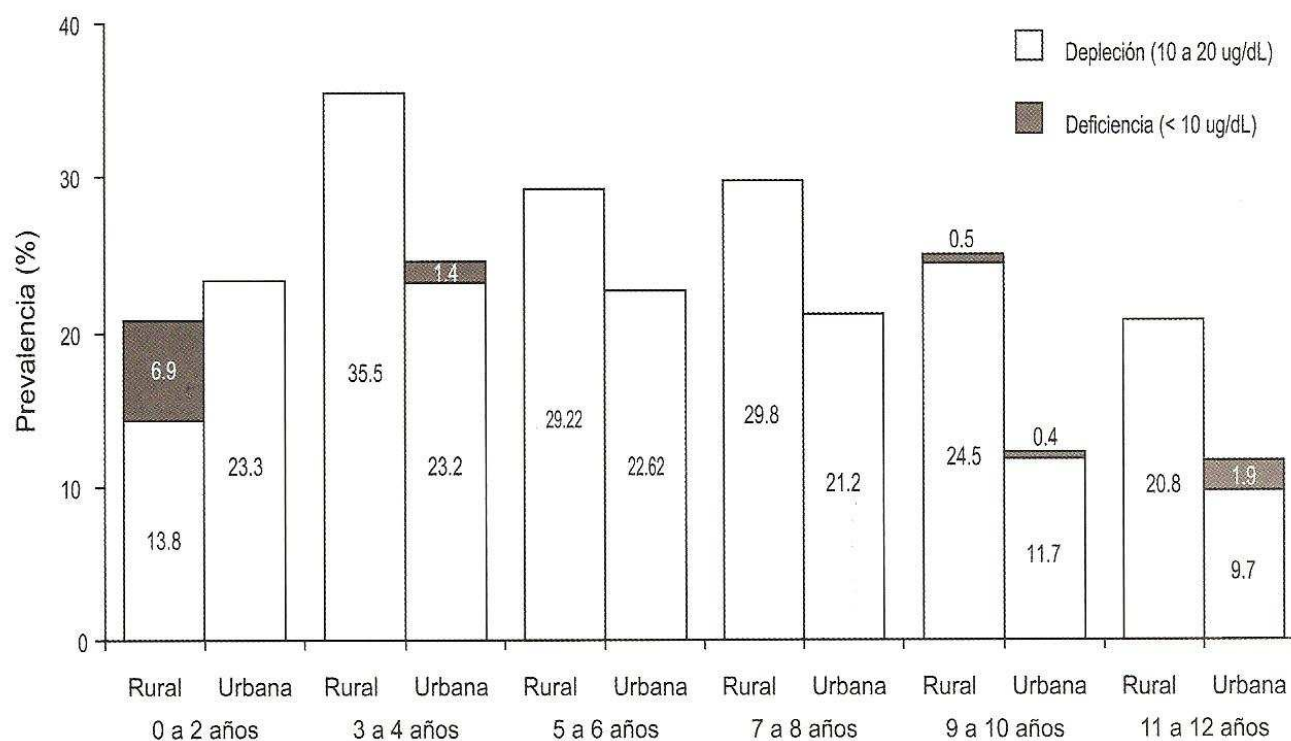


Figura 2. Prevalencia de deficiencia de vitamina A en niños menores de 12 años de edad, de acuerdo con los datos de la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999, clasificados por estratos rural y urbano. Las secciones claras de las barras corresponden a la prevalencia de depleción de vitamina A, indicada por concentraciones de retinol en el suero entre >10 y <20 µg/dL. Las porciones oscuras de las barras corresponden a la prevalencia de deficiencia de vitamina A, indicada por concentraciones de retinol sérico <10 µg/dL.

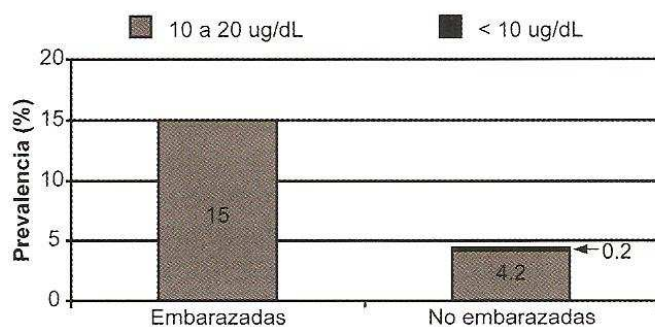


Figura 3. Prevalencia de deficiencia de vitamina A en mujeres entre 12-49 años de edad, de acuerdo con los datos de la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999.⁶² Las secciones grises de las barras corresponden a la prevalencia de depleción de vitamina A, indicada por concentraciones de retinol en el suero entre > 10 y < 20 µg/dL. Las porciones negras de las barras corresponden a la prevalencia de deficiencia de vitamina A, indicada por concentraciones de retinol en el suero <10 µg/dL.

recta. La utilización diaria o requerimiento diario se ha basado tradicionalmente en las siguiente constantes:

Estimación de los requerimientos = 0.005 (tasa catabólica fraccional) $\times 20 \mu\text{g}$ de retinol $\times 1\,000$ (concentración/kg hígado) $\times 0.03$ (proporción hígado/peso corporal) $\times 1.11$ (proporción Vitamina A total/hepática) $\times 2$ (50% de reserva hepática) = $6.7 \mu\text{g/kg}$ de peso corporal.

Lo anterior resulta en requerimientos tipo para un hombre de 74 kg de $465 \mu\text{g/día}$ y, para una mujer de 60 kg de $402 \mu\text{g/día}$.⁶³

Para establecer una recomendación es necesario asimismo contar con estimaciones de biodisponibilidad y de la variabilidad del requerimiento nutrimental promedio, expresada como desviación estándar. Si se suma la variabilidad a los requerimientos, la recomendación incluirá una ingestión segura para mantener un buen estado nutricional en vitamina A en 95% de la población. Es imprescindible considerar el estado nutricional en vitamina A para la población para la cual se va a emitir

la recomendación con el objetivo de establecer los ajustes necesarios (figura 4).

ESTUDIOS EXPERIMENTALES EN LOS QUE SE FUNDAMENTA EL CÁLCULO DE LOS VALORES NUTRIMENTALES DE REFERENCIA

Como para muchos otros nutrientes, se acepta que las bases experimentales para el cálculo de los requerimientos de vitamina A consisten en estudios con pocos individuos, cuya variabilidad étnica y biológica es limitada y por lo tanto la estimación de la variabilidad estadística necesaria para establecer las recomendaciones, está frecuentemente sesgada. Tales estudios consisten en: experimentos de depleción-repleción o estudios para estimar la reserva corporal de vitamina A.

Experimentos de vaciamiento y repleción. Tres de estos experimentos fueron hechos antes de 1949; Blanchard en 1940 y Batchelder en 1943 estudiaron a tres sujetos cada uno. Hume estudió a un solo sujeto en 1949⁶⁴ y la serie más grande, de ocho sujetos, fue la de Sauberlich en 1974.⁶⁵ Los resultados de estos estudios, a excepción del de Sauberlich, fueron resumidos por Rodríguez e Irwin.⁶⁶ Las variables de desenlace utilizadas por estos investigadores para estimar los requere-

rimientos consistieron en estimar la cantidad necesaria de retinol para: 1) corregir la adaptación a la oscuridad; 2) corregir las anomalías en el electroretinograma o desaparecer la hiperqueratosis folicular, y 3) aumentar las concentraciones de retinol en el suero hasta lo normal en sujetos depletados. En el estudio de Hume,⁶⁴ las dosis diarias que fueron necesarias para corregir la ceguera nocturna, la hiperqueratosis folicular o para elevar las concentraciones de retinol en el suero fueron tan variables que se decidió basar el cálculo de requerimientos en los datos de un solo sujeto; con esos datos, Hume concluyó que la ingestión diaria de retinol mínima para ofrecer protección era de 390 μg . En los 6 voluntarios depletados en el estudio de Sauberlich,⁶⁵ las anomalías en el electroretinograma coincidieron con concentraciones de retinol en el suero entre 4 y 11 $\mu\text{g}/\text{dL}$; tales anomalías se corrigieron parcialmente con la ingestión de 300 μg diarios y casi totalmente con 600 μg . Por otra parte, la aparición de anemia moderada, que respondió solamente a la administración de retinol, coincidió con concentraciones de retinol en el suero menores a 30 $\mu\text{g}/\text{dL}$. La hiperqueratosis folicular fue una de las manifestaciones más tempranas de deficiencia; coincidió con concentraciones hasta de 37 $\mu\text{g}/\text{dL}$ de retinol en el suero y tardaron mucho tiempo en desaparecer. Con los resultados de este estudio se concluye que el requerimiento mínimo de retinol para evitar las alteraciones en la función de la retina es de 600 μg diarios; es necesario mantener concentraciones de retinol en el suero mayores a 20 $\mu\text{g}/\text{dL}$, muy deseablemente mayores a 30 $\mu\text{g}/\text{dL}$ para prevenir la aparición de manifestaciones de deficiencia de vitamina A.

Reserva corporal de vitamina A. Algunos estudios han sugerido que las concentraciones hepáticas de retinol superiores a 20 $\mu\text{g}/\text{g}$ de tejido son suficientes para mantener concentraciones normales de retinol y satisfacer los requerimientos tisulares.^{67,68} Sin embargo, un estudio de especímenes hepáticos de autopsia de población norteamericana demostró que la concentración promedio de retinol era de 149 $\mu\text{g}/\text{g}$ de tejido.⁶⁹ Sauberlich, en su experimento de vaciamiento y repleción utilizando retinol marcado encontró que la poza corporal total de retinol oscilaba entre 315 a 877 mg, que las concentraciones de retinol disminuían entre 29-34 en 103 días de depleción y que, en estas circunstan-

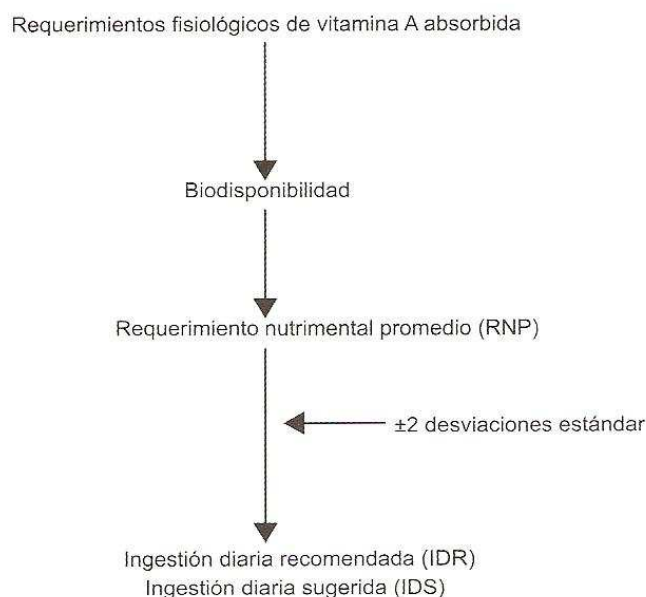


Figura 4. Procedimiento para el cálculo de los valores nutricionales de referencia de vitamina A.

cias, los requerimientos diarios variaban entre 570 y 1 250 $\mu\text{g/dL}$, con una media de 910 $\mu\text{g/dL}$. Este estudio sugiere que una ingestión de 900 $\mu\text{g/dL}$ de retinol al día es suficiente para mantener concentraciones de retinol en el suero iguales o mayores a 30 $\mu\text{g/dL}$ y una reserva corporal moderada de la vitamina.

BIODISPONIBILIDAD Y ESTADO NUTRICIO EN VITAMINA A DE LA POBLACIÓN MEXICANA

De acuerdo con los datos de la ENN-II de 1999,⁶² la predicción de biodisponibilidad de vitamina A basada en la proporción de retinol y carotenos contenidos en la dieta variará con la edad. Se supone lo anterior porque la proporción de retinol preformado fue mayor de 80% de la ingestión total de vitamina A tanto en niños rurales como urbanos; mientras que en los niños urba-

nos entre 36 y 59 meses esta proporción se sigue manteniendo, no lo hace en los rurales cuya proporción de carotenos es inferior a 50% de toda la vitamina A ingerida (tabla 2), además de una reserva corporal baja como lo sugiere una prevalencia de "depleción" (concentraciones de retinol en el suero < 20 y > 10 μg por dL) mayor a 23%. A lo anterior hay que agregar que, de acuerdo con la misma ENN-II, la dieta de los niños escolares y preescolares contiene una cantidad de lípidos suficiente en los urbanos (75 a 86% de la recomendación norteamericana), pero menor en los rurales (53 a 63% de dicha recomendación) para facilitar la absorción de retinol y carotenos (tabla 3). Sin embargo, la ingestión de otros facilitadores como el zinc (25 a 55% de la IDR) fue muy baja. En las mujeres entre 15 y 49 años de edad, la ingestión diaria de vitamina A parece ser baja (357 a 486 μg ER/día) (tabla 4), la cual

Tabla 2. Comparación de la ingestión de vitamina A con las concentraciones medias de retinol en el suero en niños, según la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999.⁶²

Edad (meses)	Ingestión (urbano/rural)		Proporción retinol/carotenos	Retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$)
	vitamina A (μg ER/d)	Adecuación (%)		
12-23	268/197	67/49	80/20	23
24-35	355/187	83/46	90/10, 80/20	
36-47	353/179	88/44	78/22, 50/50	23.4
48-59	298/190	89/38	70/30, 42/58	23.5
5-12 años	369/216	59/38	60/40, 39/61	25.7

Tabla 3. Ingestión de facilitadores e inhibidores de la absorción de vitamina A en niños, según la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999.⁶²

Edad (meses)	Lípidos (g/d)	Ingestión (urbano/rural)		Adecuación (%)	Fibra (g)
		Adecuación (%)	zinc (mg/d)		
12-23	32/22	86/63	3.8/2.5	38/25	5/5.5
24-35	37/26	84/66	3.6/2.6	36/26	7.0/9.8
36-47	39/27	77/57	4.1/2.9	41/29	7.8/10
48-59	38/29	75/57	4.7/3.7	47/37	8.6/14.2
5-12 años	53/35	80/53	6.0/4.7	55/45	13/17

Tabla 4. Comparación de la ingestión de vitamina A con las concentraciones medias de retinol en el suero en mujeres, según la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999.⁶²

Condición	Vitamina A (μg ER/d)	Adecuación (%)	Proporción retinol/carotenos ^a	Retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$)
Embarazadas	486	60	—	—
Lactantes	351	28	62/38, 34/66	
No embarazadas, no lactantes	357	45	—	38/31 ^b

^a Datos de estudios puntuales

^b urbano/rural

Tabla 5. Ingestión de facilitadores e inhibidores de la absorción de vitamina A en mujeres, según la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999.⁶²

Edad (meses)	Adecuación (g/d)	Adecuación (%)	Ingestión (urbano/rural) ^a		Fibra (g)
			zinc (mg/d)	Lípidos (%)	
Embarazadas	54/31	75/58	6.3	33.5	20
Lactantes	49 ^b	60 ^b	6.4	30.2	21
No embarazadas, no lactantes	49	68	7.0	44.6	

^a Datos de estudios puntuales.

^b No diferencia urbano/rural.

se asoció además a concentraciones medias de retinol entre 31 y 38 $\mu\text{g/dL}$ y a una prevalencia muy baja de vaciamiento (7%) (figura 3). La ingestión dietética de grasa en general fue baja tanto para las mujeres urbanas (68 a 75% de la recomendación) como para las rurales (60%), al igual que la de zinc (30.2 a 44.6%) (tabla 5). Al mismo tiempo, la ingestión de fibra fue de casi 20 g/día. Los datos anteriores sugieren que la biodisponibilidad tanto de retinol como de carotenos podría ser baja. Otros investigadores han demostrado recientemente que las bases que se utilizan actualmente para calcular la actividad de los carotenoides como provitamina A sobrestima tanto su biodisponibilidad como su bioconversión a retinol.⁷⁰ Por lo anterior proponen que en lugar de la equivalencia de 6 μg de carotenoides por 1 μg ER, se utilicen 21 μg por 1 μg ER.

VALORES NUTRIMENTALES DE REFERENCIA

Los requerimientos fisiológicos de vitamina A no son calculables para la población mexicana, ya que no existen estudios experimentales en humanos de esta población. Por lo anterior, se depende de estudios realizados en otras poblaciones, descritos en secciones anteriores. Se debe considerar sus limitaciones en cuanto a variabilidad y a que fueron hechos en sujetos cuya fuente dietética principal de vitamina A es el retinol preformado. Es importante destacar que, por lo contrario, los carotenos representan quizá la fuente más importante de vitamina A para la población mexicana y que la dieta habitual de una buena parte de ella muestra un alto contenido de inhibidores de la absorción de vitamina A (fitatos, oxalatos y fibra) y bajo de facilitadores (lípidos y zinc).

Para contar con una buena aproximación del requerimiento nutrimental promedio (RNP) de la población

mexicana, se necesita información acerca de la eficiencia de la absorción de retinol y carotenos, así como de la biotransformación de carotenos a retinol, en las condiciones dietéticas de esta población.

Por lo anterior, aceptamos que no contamos con información suficiente para emitir recomendaciones diferentes a las ya publicadas y proponemos adherirnos temporalmente a las de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos de América del 2001 (tabla 6), debido a que las cantidades recomendadas son mayores, en comparación con otros países.

Lo anterior compensaría la baja eficiencia en la absorción, que especulamos existe, y la mayor proporción de carotenos en la dieta en relación con la de vitamina A preformada, por lo que la propuesta corresponde con la ingestión diaria sugerida (IDS).

TOXICIDAD Y TERATOGENICIDAD

Los efectos tóxicos de la vitamina A abarcan una amplia serie de manifestaciones, como alteraciones óseas, hepáticas e hipertensión endocraneana, todas ellas de baja letalidad. Estos efectos tóxicos son producidos

Tabla 6. Ingestión diaria sugerida (IDS) de vitamina A.

Edad (años)	Hombres		Mujeres	
	RNP ^a	IDS ^b	RNP ^a	IDS ^b
1-3	210	300	210	300
4-8	275	400	275	400
9-13	445	600	420	600
14-18	630	900	485	700
19-70	625	900	500	700
Embarazo	—	—	550	770
Lactancia	—	—	900	1300

^a Requerimiento nutrimental promedio μg ER/día

^b IDS promedio μg ER/día

por dosis muy altas de la vitamina. Así, dosis hasta de 3 000 μg ER ingeridas crónicamente, o bien de hasta de 10 000 μg ER administradas de manera aguda, no se han asociado con la aparición de efectos tóxicos.⁷¹ Es importante señalar que tales dosis son prácticamente imposibles de alcanzar con una dieta normal, aun cuando sea rica en frutas y verduras. Los casos de intoxicación informados se han asociado a la ingestión de preparaciones farmacológicas de vitamina A.

Debido a que se ha demostrado que la administración de dosis altas de retinoides a animales de experimentación producían teratogenicidad explicada por la capacidad del ácido retinoico para participar en la expresión génica y a que, en un estudio de casos y testigos, las mujeres embarazadas que recibieron vitamina A en dosis mayores a 3 000 μg ER/día tuvieron un riesgo de teratogénesis mayor,^{72,73} se tiene gran cautela respecto a las recomendaciones de ingestión de la vitamina A durante el embarazo. Sin embargo, es importante señalar que los hallazgos del estudio citado no fueron confirmados por otros 6 estudios que utilizaron dosis similares o mayores⁷¹ y que su potencial teratogénico guarda relación con la edad gestacional.⁷⁴

En conclusión, es sensato seguir la recomendación de la Sociedad Americana de Pediatría acerca de que las mujeres embarazadas no excedan una dosis diaria de 3 000 μg ER/día, especialmente durante el primer trimestre.

RECOMENDACIONES DE CAROTENOS

Un número cada vez más amplio de investigaciones indica que, a concentraciones mayores de β -caroteno en la sangre, el riesgo de sufrir varias enfermedades crónicas, entre ellas la enfermedad cardiovascular, incluyendo los accidentes vasculares cerebrales, el cáncer y otras, es menor.^{75,76} Varios estudios han mostrado menores prevalencias de cáncer gástrico y de pulmón en individuos con consumos altos de frutas y verduras.

Los agentes contenidos en las frutas y verduras que potencialmente podrían tener este efecto son: los β -carotenos, el retinol, que ha mostrado efectos quimopreventivos en animales, y otra variedad de sustancias que en estudios con animales han demostrado algún efecto.

Existe plausibilidad biológica de que este efecto pueda ocurrir considerando el daño tisular que causa el estrés oxidativo y el papel que tienen los antioxidantes para prevenirlo.⁷⁷ Por otra parte, los β -carotenos no son tóxicos como el retinol en dosis altas. Sin embargo, no se pueden ignorar varias pruebas que cuestionan esta capacidad protectora y se ha visto mayor incidencia de cáncer en grandes consumidores de aceite de palma (rico en carotenos). Varios estudios de intervención con β -carotenos o retinol (CARET, ATBC, el Estudio de Salud de los Médicos y el Estudio de Salud de las Mujeres) han tenido resultados contradictorios; incluso en los dos últimos el estudio tuvo que suspenderse y en otros la intervención con β -carotenos tuvo que eliminarse por el aumento potencial en el riesgo de incidencia de cáncer. Finalmente, no hay prueba de que específicamente estos componentes de las frutas y verduras sean el agente protector.

La información disponible no permite establecer una recomendación dietética debido a que es prácticamente imposible alcanzar mediante la ingestión dietética las dosis de β -carotenos que han demostrado efecto protector. Éstas son muy superiores a la IDR de vitamina A (20 a 30 mg = 3 333 a 5 000 μg ER/día *versus* IDR = 600 μg ER/día).^{78,79} Sin embargo, estas dosis no han sido decididas con base en estudios observacionales; más bien, fue decidido por el principio pragmático de: “si poco es bueno, mucho es mejor”. Considerando los beneficios potenciales para la salud asociados con un mayor consumo de frutas y verduras, el Instituto de Medicina de los EUA ha apoyado la recomendación de consumir 5 porciones de frutas o verduras al día, propuesto por varios grupos preocupados por mejorar su consumo. La suma de estas 5 porciones equivale a 5.2 a 6 mg/día de carotenoides, es decir 50 a 65% de la IDR de vitamina A. Los autores consideran que, como medida temporal, debemos adherirnos a esta recomendación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lehninger LA. Lípidos, lipoproteínas y membranas. En: Bioquímica, 2a. ed. Barcelona: Omega 1989; 302-3.
2. Norum KR, Blomhooft R. McCollum Award Lecture, 1992: Vitamin A absorption, transport, celular uptake, and storage. Am J Clin Nutr 1992; 56:735-44.

3. Dietz JM, Kantla SS, Erdman JW Jr. Reversed phase HPLC analysis of A and B carotene from selected raw and cooked vegetables. *Plants Foods Hum Nutr* 1988; 38:333-41.
4. Olson JM: Vitamin A. En: *Present Knowledge in Nutrition*, Brown ML, Filer LJ Jr, Guthrie HA, Levander OA, McCormik DB, Olson RE, Steele RD (eds.). Washington: International Life Sciences Institute 1990: 96-107.
5. Blomhoff R, Green HM, Green JB, Berg T, Norum KR. Vitamin A metabolism: New perspectives on absorption, transport and storage. *Physiol Rev* 1991; 71:951-90.
6. Goodman DS, Blaner WS. The Retinoids, Spont MB, Roberts AB, Goodman DS, (eds.). Vol 2. New York: Academic Press 1984:1-39.
7. Sweeney JP, March AC. Liver storage of vitamin A in rat of carotene stereoisomers. *J Nutr* 1973; 103:20-5.
8. Sweeney JP, March AC. Livers storage of vitamin A in rats fed carrots in various forms *J Nutr* 1974; 104:1115-20.
9. Underwood BA. Vitamin A in animals and in human nutrition. En: *The Retinoids*, Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS (eds.). Orlando, Fla.: Academic Press 1984; 281-392.
10. Berger S. Vitamin A absorption-nutritional aspects. *Bibl Nutr Dieta* 1975; 22:74-85.
11. Roels OA:VIII. Biochemical system. En: *The vitamins*, Sebell WH, Harris RH (eds) New York: Academic Press 1967; 5-101.
12. Bridges CDB. Retinoids in photosensitive system. En: *The retinoids* Sporn MB, AB Roberts, Goodman DS (eds.). Vol 2. New York: Academic Press 1984: 126-176.
13. Chytil F, Ong DE. Intracellular vitamin A-binding proteins. *Ann Rev Nutr* 1987; 7:321-5.
14. Ross AC. Overview of retinoid metabolism. *J Nutr* 1993; 123:346-50.
15. Buck J, Derguini F, Levi E, Nakanishi K, Hämmerling U: Intracellular signaling by 14- hydroxy- 4,14 -retro-retinol. *Science* 1991; 254:1654-6.
16. Petkovich M, Brand NJ, Krust A, Chambon P. A human retinoic acid receptor which belongs to the family of nuclear receptor. *Nature* 1987; 330:444-50.
17. Fiorella PD, Napoli JL. Expression of cellular retinoic acid binding protein (CRABP) in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1991; 266:16572-9.
18. Haq R, Pfahl M, Chytil F. Retinoic acid effects the expression of nuclear retinoic acid receptors in tissues of retinal-deficient rats. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88:8272-6.
19. Leid M, Kastner P, Chambon P. Multiplicity generates diversity in the retinoic acid signaling pathways. *TIBS* 1992;17:427-33.
20. West K. Dietary vitamin A deficiency: Effects on growth, infection and mortality. *Food Nutr Bull* 1991, :119:31.
21. Sommer A, Tarwotjo L, Hussaini G, Soegiharto T. Incidence, prevalence and scale of blinding malnutrition. *Lancet* 1981;1:1407-8.
22. McLaren DS. Global occurrence of vitamin A deficiency. En: *Vitamin A deficiency and its control*. Bauernfeind JC (eds); Academic Press,. Orlando, Fla.: 1986: 1-13.
23. Bedo G, Santiesteban P, Aranda A. Retinoic acid regulates growth hormone gene expression. *Nature* 1989; 339:231-4.
24. Ahluwalia GS, Kaul L, Ahluwalia BS. Evidence of facilitatory effect of growth hormone on tissue vitamin A uptake in rats *J Nutr* 1980; 110:1185-93.
25. Corey JE, Hayes KC. Cerebrospinal fluid pressure, growth and hematology in relation to retinol status of the rat in acute vitamin A deficiency. *J Nutr* 1972; 1002:1585-94.
26. Anzano MA, Lamb AJ, Olson JA. Growth appetite, sequence of pathological signs and survival following the induction of rapid, synchronous vitamin A deficiency in the rat. *J Nut* 1979; 109:1419-31.
27. Mayer J, Krehl WA. Influence of vitamin A deficiency on the gross efficiency of growth of rats. *Yale J Biol Med* 1948; 20:403-05.
28. Hayes JC, Cousins RJ. Vitamin A deficiency and bone growth: 1. Altered drift patterns. *Calcif Tissue Res* 1970; 1:120-32.
29. West KP, Djunaedi E, Pandiji A, Kusdiono R, Tarwotjo Y, Sommer A. Vitamin A supplementation and growth: a randomized community trial. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:1257-64.
30. Sommer A, Green WR, Kenyon KR. Bitot's spots responsive and non-responsive to vitamin A: clinical-pathologic correlations. *Arch Ophthalmol* 1981; 99:2014-27.
31. Natadisastra G, WittpennJR, Muhilal KJ, West KP, Mele L, Sommer A. Impression cytology a practical index of vitamin A status. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:695-701.
32. Wittpenn J, Sommer A. Clinical aspects of vitamin A deficiency. En: *Vitamin A deficiency and its control*. Bauernfeind JC (eds) Academic Press, Orlando, Fla, 1986, pp 1-13.
33. Bloch CE. Blindness and other diseases in children arising from deficient nutrition (lack of fat soluble A factor). *Am J Dis Child* 1924; 27:139-48.
34. Ellison JB. Intensive vitamin therapy in measles. *Br Med J* 1932; 2:708-11.
35. Sommer A. Mortality associated with mild, untreated xerophthalmia. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1983; 81:825-53.
36. Sommer A. Nutritional blindness: xerophthalmia and keratomalacia. New York, Oxford University Press 1982; 20-39.
37. Sommer A, Tarwotjo L, Hussaini G, Susanto D. Increased mortality in children with mild vitamin A deficiency. *Lancet* 1983; 2:585-8.
38. Hussey GD, Klein M. A randomized, controlled trial of vitamin A in children with severe measles. *N Engl J Med* 1990; 323:160-64.
39. Barclay AJ, Foster A, Sommer A. Vitamin A supplements and mortality related to measles: a randomized clinical trial. *Br Med J* 1987; 294:294-6.
40. Coustoudis A, Broughton M, Coovadia HM. Vitamin A supplementation reduces measles morbidity in young African children: a randomized, placebo controlled, double blind trial. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:890-95.
41. West KP, Pokhrelk RP, Katz J et al. Efficacy of vitamin A in reducing preschool child mortality in Nepal. *Lancet* 1991; 338:67-71.
42. Herrera MG, Nestel P, El Amin A, Fawzi WW, Mohamed KA, Weld J. Vitamin A supplementation and child survival. *Lancet* 1992; 340:267-71.
43. Rahmathullah L, Underwood B, Thulasiraj RD. Reduced mortality among children in Shouthern India receiving a small weekly dose of vitamin A. *N Engl J Med* 1990; 323:929-35.
44. Sommer A, Tarwotjo I, Djunaedi E et al. Impact of vitamin A supplementation on childhood mortality: a randomized controlled community trial. *Lancet* 1986; 1:1169-73.
45. Vijayaraghavan K, Radhaiah G, Prakasam BS, Sarma KVR, Reddy V. Effect of massive dose of vitamin A on morbidity and mortality in Indian children. *Lancet* 1990; 336:1342-45.
46. Daulaiire NM, Starbuck ES, Houston RM, Church MS, Stukel TA, Pandey MOR. Childhood mortality after a high dose of vitamin A in a high-risk population. *Br Med J* 1992; 304:207-10.

47. MuhilaB, Permeisih D, Idjaradinata YR, Muherdiyantiningsih Y, Kariyadi D. Vitamin A-fortified monosodium glutamate and health, growth and survival of children: a controlled field trial. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:1271-6.
48. Kothari G. The effect of vitamin A prophylaxis on morbidity and mortality among children in urban slums in Bombay. *J Trop Pediatr* 1991; 37:141-7.
49. Fawzi WW, Chalmers TC, Herrera G, Mosteller F. Vitamin A supplementation and child mortality: A meta-analysis. *JAMA* 1993; 269:898-903.
50. Wolbach B, Howe PR. Tissue changes following deprivation of fat-soluble vitamin A. *Adv J Exp Med* 1925; 42:753-77.
51. Blackfan KD, Wolbach SB. Vitamin A deficiency in infants. A clinical and pathological study. *J Pediatr* 1933; 3:679-706.
52. Chandra RK. Increased bacterial binding to respiratory epithelial cells in vitamin A deficiency. *Br Med J* 1988; 297:834-5.
53. Naus KM. Influence of vitamin A status on the immune system. En: Bauernfeind JC (ed.). *Vitamin A deficiency and its control*, New York: Academic Press 1986, pp 207-43.
54. Olson JA. Vitamin A. En: *Present Knowledge in Nutrition*. Washington: The Nutrition Foundation-ILSI 1984: 176-91.
55. Sommer A. Vitamin A: Its effects on childhood sight and life. *Nutr Rev* 1994; 52:60-6.
56. Olson JA. Physiological and metabolic basis of major signs of vitamin A deficiency. En: Christopher J. (ed.). *Vitamin A deficiency and its control*, New York: Academic Press 1986:19-67.
57. Mora JO. Situación actual de la deficiencia de la Vitamina A en América Latina. *Arch. Latinoam Nutr* 1992; 42:108s-16s.
58. Chávez A, Hernández M. Algunos datos para la prevención de la hipovitaminosis A en México. *Bol Of Sanit Panam* 1970; 69:21-2.
59. Martínez H, Rosado JL, Allen LH. Panorama de la deficiencia de micronutrientes en una zona rural del altiplano mexicano. *Mem V Congr Nal Invest Salud Pública* 1994.
60. Avila A, Shama T, Chávez A. Encuesta Urbana de Alimentación y Nutrición en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. *Instituto Nacional de la Nutrición* 1995.
61. Navarrete S, Avila C, Beltrán S. Deficiencia de Vitamina A. Frecuencia y características clínicas de dos poblaciones del estado de Chiapas. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1995; 52:280-6.
62. Rivera-Domarco J, Shamah Levy T, Villapando-Hernández S, González-Cossio, Hernández-Prado B, Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Nutrición 1999. Estado nutricional de mujeres y niños. *Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Mor., México*: 2001.
63. Mc Laren DS. Requirements. En: Blomhoff R (ed.). *Vitamin A in health and disease*. New York: M. Dekker 1994: 665-71.
64. Hume EM, Krebs HA. Vitamin A requirement of human adults. Report of the Vitamin A Subcommittee, Accessory food factors committee. London: Medical Research Council, Special report series # 264, Her Majesty's Stationary Office 1949.
65. Sauberlich HE, Hodges HE, Wallace DL, Kolder H, Canham JE, Hood J, Raica N, Lowry LK. Vitamin A metabolism and requirements in the human studied with the use of labeled retinal. *Vitam Horm* 1974; 32:251-75.
66. Rodríguez MS, Irwin MI. A conspectus of research on vitamin A requirements of man. *J Nutr* 1972; 102:909-68.
67. Amedee-Manesme O, Mourey MS, Hanck A, Thearasse J. Vitamin A relative dose response test: validation by intravenous injection in children with liver disease. *Am J Clin Nutr* 1987; 46:286-9.
68. Amedee-Manesme O, Anderson D, Olson JA. Relation of the relative dose response to liver concentration of vitamin A in generally well-nourished surgical patients. *Am J Clin Nutr* 1984; 39:898-902.
69. Raica N, Scott J, Lowry L, Sauberlich HE. Vitamin A concentration in human tissues collected from five areas in the United States. *Am J Clin Nutr* 1972; 25:291-6.
70. West CE. Meeting requirements for vitamin A. *Nutr Rev* 2000; 58:341-5.
71. Gerster H. Vitamin A. Functions, dietary requirements and safety in humans. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67:71-90.
72. Miller RK, Hendrickx AG, Mills JL, Hummler H, Wiegand UW. Periconceptional vitamin A use: how much is teratogenic? *Reprod Toxicol* 1998; 12:75-88.
73. Rothman KJ, Moore LL, Singer MR, Nguyen US, Mannino S, Milunsky A. Teratogenicity of high vitamin A intake. *N Engl J Med* 1995; 333:1369-73.
74. Barnea ER, Diamant M, Maruo T, Ashurtz-Swiriski R. Gestational-age-dependent effects of retinoids on HCG secretion by placental explants. *Hum Reprod* 1994; 9:1166-9.
75. Arab L, Steck- Scott S, Bowen P. Participation of lycopene and beta-carotene in carcinogenesis: defenders, aggressors or passive bystanders? *Epidemiol Rev* 2001; 23:201-30.
76. Romieu I, Trenga C. Diet and obstructive lung diseases. *Epidemiol Rev* 2001; 23:268-87.
77. Stahl W, Sandquist AR, Sies H. Role of carotenoids in antioxidant defense. En: *Vitamin A in health and disease*, Blomhoff R (ed). New York: M. Dekker 1994: 275-89.
78. Omaye ST, Burri BJ, Swendseid ME, Henning SM, Briggs LA, Bowen HT, Ota RB. Blood antioxidant changes in young women following betacarotene depletion and repletion. *J Am Coll Nutr* 1996; 15:469-74.
79. Diplock AT. Dietary supplementation with antioxidants. Is there a case for exceeding the recommended dietary allowance? *Free Radic Biol Med* 1987; 3:199-201.