

# ESTUDIO DE LA CAROTENEMIA NORMAL EN NUESTRO MEDIO Y EN ALGUNOS CASOS DE ENFERMEDADES POR CARENCIA

Por ROBERTO LLAMAS  
y JUAN ROCA,  
del Instituto de Biología.

## *Antecedentes.*

Está perfectamente demostrado el hecho de que un grupo de sustancias conocido con el nombre de carotenos o carotenoides constituyen la materia prima con la cual los organismos animales sintetizan la vitamina A.

El caroteno, en efecto, no es una especie química única, puesto que se conocen tres variedades designadas con las letras griegas alfa, beta y gama; debe mencionarse además a la criptoxantina, derivado alcohólico del caroteno y capaz, asimismo, de ser fuente de vitamina A. Del examen de las fórmulas de constitución del caroteno y de la vitamina A, se deduce que la presencia de los grupos beta-ionona rige la transformación del pigmento en vitamina. El caroteno alfa y el caroteno gama, así como la criptoxantina, poseen un solo agrupamiento beta-ionona respectivamente, y cada una de sus moléculas, por lo tanto, es capaz de ser transformada en una molécula de vitamina A.

Como se sabe, el caroteno beta posee dos agrupamientos beta-ionona; por esta razón, de cada molécula de este cuerpo se pueden originar dos moléculas de la mencionada vitamina; así pues, el beta caroteno constituye la fuente más importante de vitamina A, si se exceptúan aquellos alimentos de origen animal que la llevan preformada en abundante cantidad.

Se conocen diversos carotenoides que tienen la particularidad de que en sus agrupamientos ionona existen grupos alcohólicos o cetónicos; estos cuerpos son más abundantes en la naturaleza que los mismos carotenos, y debido a su color amarillo se designaron con el nombre de

xantofilas; actualmente la denominación de xantofila se aplica solamente a la di-oxi-alfa-beta caroteno.

Todos los carotenoides son inactivos desde el punto de vista vitamínico; los más conocidos son los siguientes:

la rodoxantina, o sea el 3-3' diceto 4-4' dehidro B-B' caroteno:

la luteína, o sea el 3-3' dihidroxi B- $\alpha$  caroteno;

la zeaxantina, cuya fórmula corresponde a 3-3' dihidroxi B-B' caroteno.

la capsantina, o sea el 3-hidroxi B caroteno 5 desoxi-fucoxantina;

la capsurubina, cuya fórmula es 5-5' desoxi- $\alpha$ - $\alpha'$  fucoxantina;

el fisalieno, o sea el B-B' caroteno 3-3' dioldipalmitato y, finalmente,

el astaceno, cuya fórmula corresponde a 3-3'-4-4' tetraceto B-B' caroteno.

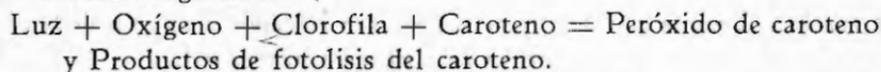
Estos carotenoides se encuentran respectivamente en los frutos de *Taxus baccata*, en el cuerpo amarillo del ovario, maíz amarillo, chile, espárragos y caparazón de crustáceos.

A la crocetina, o sea al pigmento del azafrán, se le llegó a conceder, por lo menos en teoría, la propiedad de transformarse en vitamina A, teniendo en cuenta sus relaciones químicas con el caroteno; la crocetina, sin embargo, es incapaz de originar vitamina A, porque carece del agrupamiento beta-ionona, según se desprende del examen de su fórmula de constitución.

Como en los vegetales no se ha demostrado la existencia de vitamina A preformada, toda ella procede siempre del caroteno, y el examen espectroscópico demuestra que en el suero sanguíneo de animales carentes en absoluto de vitamina A y de caroteno, aparecen las bandas características de ambas sustancias cuando al animal de experimentación se le administra caroteno. La transformación de una sustancia en la otra se efectúa, en los animales superiores, fundamentalmente en el hígado y mediante la intervención de una enzima específica que recibe el nombre de carotenasa.

El caroteno, como la casi totalidad de las sustancias de actividad vitamínica, es un cuerpo poco resistente a la acción del medio externo. Pepkowitz ha demostrado, por ejemplo, que cuando son expuestas a la acción de una lámpara fluorescente Mazda de 350 bujías, mezclas de caroteno alfa y beta y clorofila y en presencia de oxígeno, acontece la destrucción fotoquímica del caroteno, la cual puede ser explicada por la formación de un complejo entre las moléculas de clorofila y caroteno

con la inactivación y destrucción de este último. Sin embargo, no existe evidencia espectrofotométrica que asegure la formación de tal compuesto, por lo que la explicación plausible del fenómeno es la de suponer la activación del oxígeno mediante la clorofila que actuaría como catalizador: el oxígeno activado obraría fácilmente sobre el caroteno, produciendo su oxidación y fotolisis. Esquemáticamente representa el autor las reacciones en la forma siguiente:



Señala también como hecho interesante, que algunas sustancias de acción fotodinámica conocida como el azul de metileno y el ion uranilo (en forma de acetato de uranilo), provocan la destrucción fotoquímica del caroteno en grado mayor que la clorofila, y que la eosina, de actividad fotodinámica también, modifica la estructura del pigmento, pero en grado menor que la clorofila.

Estos conocimientos no tienen un aspecto meramente especulativo, puesto que en las condiciones naturales, el caroteno de los vegetales se encuentra en contacto con la clorofila de los mismos, y la exposición a los rayos solares más o menos ricos en radiaciones ultravioleta, puede provocar, así sea parcialmente, modificaciones estructurales del caroteno, y la formación de sustancias no aptas para transformarse en vitamina A.

El caroteno consta de dos agrupamientos cíclicos y de una cadena hidrocarbonada con diversos enlaces no saturados; el paso de caroteno a vitamina A consiste fundamentalmente en una escisión hidrolítica de la molécula del pigmento, precisamente en la mitad de la misma y en un punto lábil o sea en una doble ligadura; el CH se transforma en un grupo alcohólico  $\text{CH}_2\text{-OH}$ . La cadena no saturada de carbonos posee particular importancia biológica por ofrecer condiciones óptimas para la oxidación, y la oxidación avanzada de la vitamina A hace que este cuerpo se inactive, como también sucede cuando el caroteno experimenta el mismo proceso.

Con respecto a lo anterior, deben ser citados algunos trabajos de Harris, Woodside Kaley y Hickman. Estos autores encuentran que la capacidad que la vitamina A tiene como promotora del crecimiento, aumenta con la presencia de vitamina E natural (mezcla de tocoferoles). Las pruebas realizadas con caroteno dieron, al parecer, resultados distintos a los anteriores, puesto que la administración de esta sustancia sola o con adición de tocoferoles originó, en ambos casos, crecimientos sensiblemente iguales; los autores aseguran, sin embargo, que la actividad vitamínica A del caroteno es francamente influenciada en la rata median-

te la adición de tocoferoles, y que la dosis diaria de 0.5 mg. es la óptima para demostrar la acción sinérgica de la vitamina E sobre el caroteno. La explicación de este hecho radica, según los autores mencionados, en la menor oxidación del caroteno en el tracto gastro-intestinal, ya que esta sustancia, así como otras de naturaleza oxidable también, son recuperadas en mayor cantidad cuando simultáneamente se suministran tocoferoles. Por lo anterior expresan la idea de que el papel principal de la vitamina E en la alimentación podría ser referido a su propiedad antioxidante más que a su función de sustancia antiestéril.

El caroteno presente en la sangre procede, lógicamente, del contenido en los alimentos que se ingieren; su absorción a través de la mucosa intestinal está sujeta a diversos factores. Greaves y Schmidt han señalado el hecho de que las sales biliares: ácidos desoxicólico y glicodesoxicólico, son necesarios para que el pigmento se absorba en ratas con fístula del colédoco y colocadas en estado de avitaminosis A.

Debemos recordar que la presencia del grupo alcoholístico en la vitamina A permite la explicación de diversos hechos, como por ejemplo, su combinación con ácidos grasos y con prótidos, la posibilidad de su absorción intestinal previa esterificación de la misma con ácidos biliares, su circulación por la sangre y su almacenamiento en el hígado y su combinación análoga con prótidos o ácidos grasos. Los estudios experimentales, por otra parte, han demostrado que la vitamina A es más fácilmente absorbible que el caroteno, y la explicación de este hecho radica en lo expuesto antes, es decir, en que la vitamina posee un grupo alcoholístico primario del que carece el caroteno.

Irvin, Kopala y Johnston, señalan el hecho de que el caroteno se absorbe en cantidad insignificante cuando se coloca, disuelto en aceite de semillas de algodón, en asas intestinales aisladas; la absorción aumenta notablemente cuando el pigmento se mezcla con bilis o con lipasa pancreática, y la absorción es aún mayor cuando se mezclan al caroteno desoxicolato de sodio y lipasa pancreática conjuntamente.

Shaw y Deuel, en un estudio acerca de la influencia que la concentración de caroteno tiene en la absorción del mismo, llegan a las siguientes conclusiones: la tasa de absorción del caroteno es proporcional a la dosis ingerida; cuando el caroteno, disuelto en aceite de semillas de algodón se encuentra a una concentración de 350 microgramos por gramo de vehículo, se absorben 9 microgramos por cien centímetros cuadrados de superficie absorbente y por hora; cuando la concentración aumenta a 3750 microgramos por gramo solvente, se absorben 110 microgramos por la misma superficie absorbente y en el mismo tiempo. Otra

conclusión importante de este estudio es que las grasas de los alimentos favorecen la absorción del caroteno, hecho afirmado por algunos investigadores y negado por otros.

La determinación del caroteno en el plasma o suero sanguíneos, se efectúa generalmente por el procedimiento fotocolorimétrico señalado por varios autores como Dann y Evelyn; Lewis, Bodansky y Haig, y Koehn y Sherman. Consiste fundamentalmente en precipitar con alcohol de 96 las proteínas del plasma o suero, y extraer con éter de petróleo tanto el caroteno como la vitamina A. La determinación se hace midiendo el color del éter de petróleo en colorímetro fotoeléctrico de Evelyn con el filtro 440 y aplicando la fórmula general respectiva.

Otro procedimiento mencionado por Hohnes y Werner en *The Journal of Biol. Chem.* (Vol. 112-1936 N° 2) es el siguiente: se utilizan 10 c. c. de suero o plasma, 10 c. c. de alcohol, 10 c. c. de éter de petróleo y 40 gramos de yeso de París; se mezclan estas sustancias, y después de agitar fuertemente la mezcla, se filtra; el líquido filtrado se evapora a sequedad en baño maría y el residuo se disuelve en 10 c. c. de éter de petróleo; se tiene así una solución etérea del caroteno contenido en la muestra de sangre por analizar; esta solución se compara colorimétricamente con una solución de caroteno de título conocido. Willstaeter recomienda el empleo de dicromato de potasio al 0.2% como solución tipo en lugar de la solución de caroteno cuya concentración se conoce; el color del dicromato de potasio es perfectamente comparable con el de la solución etérea de caroteno y tiene la ventaja de ser más estable, por lo que facilita las determinaciones cuando no se dispone de colorímetro fotoeléctrico.

Nosotros hemos utilizado el biocolorímetro de Klett, y el procedimiento seguido es el siguiente: 2.5 c. c. de plasma en tubo de centrifuga de 10 c. c. de capacidad (dos tubos para cada determinación); se agregan 2.5 c. c. de alcohol de 96 y en seguida 4 c. c. de éter de petróleo; se agitan, una vez tapados con tapón de corcho, durante veinte minutos, y después se centrifugan a baja velocidad; el líquido obtenido se compara colorimétricamente con la solución de dicromato de potasio y se aplica la fórmula general siguiente para el cálculo final:

$$\frac{\text{Profundidad de la solución tipo (15-20)}}{\text{Profundidad de la solución desconocida}} \times 0.000\ 268 = \text{caroteno por 100 c.c. de plasma.}$$

Como es natural, la concentración de la solución tipo puede ser modificada de acuerdo con las concentraciones de la solución desconocida, variando el valor del factor de la fórmula general.

Para la investigación de la carotenemia normal en nuestro medio, se practicaron cien determinaciones en sujetos adultos, sanos, en buenas condiciones de nutrición y pertenecientes tanto al sexo masculino como al femenino. Las muestras de sangre se tomaron, en todos los casos, estando las personas estudiadas en ayunas, y no se tomaron en cuenta aquellas sangres cuyas cifras de glucosa y de urea se encontraban fuera de los límites normales.

Los resultados se expresan en el siguiente cuadro:

MICROGRAMOS DE CAROTENO POR 100 C. C. DE PLASMA SANGUINEO  
EN PERSONAS ADULTAS SANAS DE MEXICO, D. F.

125	111	112	134	155
107	183	153	106	223
148	120	129	60	183
218	120	123	87	100
140	94	129	96	129
165	88	104	182	164
222	123	182	106	123
138	112	134	123	167
112	107	138	126	97
138	122	160	134	92
111	123	140	80	154
178	112	112	122	122
107	107	122	134	100
104	122	160	118	129
149	123	129	100	134
134	88	123	95	167
152	107	150	153	143
145	160	96	129	153
134	182	182	141	160
190	167	143	183	120

Elaboración estadística. (Prof. L. Martínez, del Instituto de Biología.)

Intervalo	Punto medio	Frecuencia	Diferencia	Frecuencia por diferencia	Frecuencia por diferencia al cuadrado
60	82	71	2	-4	8
-83	105	94	14	-14	14
106	128	117	32	0	0
129	152	140	26	26	26
153	175	163	14	28	56
176	199	186	9	27	81
200	223	209	3	12	48
			100	75	233

$$\text{Valor } V1 \frac{\Sigma fd}{N} = \frac{75}{100} = 0.75 .$$

$$\text{Valor } V2 \frac{\Sigma f(d)^2}{N} = \frac{233}{100} = 2.33 .$$

$$\text{Desviación media cuadrática} = i\sqrt{V2 - V1^2} = 1.29 \times 23 = 29.67 .$$

(Sigma<sup>2</sup>)

Media aritmética ponderada (M)      Yo (punto medio de mayor acumulación de frecuencia).

$$(117) + V_1 i = 134.25 .$$

Coefficiente de variabilidad.  
C. V. (normal 25 unidades)       $\frac{\sigma \times 100}{M} = 22.10 .$

$$\text{EP (error probable)} = \frac{2 \sigma}{3} = 19.78 .$$

Cuartila 1ª  
(Q1) = M - EP = 114.47 .

Cuartila 3ª  
(Q3) = M + EP = 154.03 .

EPM (error probable de la media)       $0.6045 \frac{\sigma}{\sqrt{N}} = 0.0006 .$

EPQ (error probable de las cuartílas) =  $0.91908 \frac{\sigma}{\sqrt{N}} = 0.0009 .$

$$M = 134.25 \pm 0.0006 .$$

De los resultados anteriores se deduce que, en condiciones normales, las cifras de caroteno son sumamente variables, ya que nuestras determinaciones indican la cifra de 60 gamas por cien centímetros cúbicos de plasma como mínima y la de 223 como máxima; a pesar de esta diferencia, la elaboración estadística nos enseña que los resultados son aprovechables para obtener una media útil; el coeficiente de variabilidad obtenido, en efecto, tiene un valor de 22.10 unidades, inferior al normal, cuyo valor es de 25 unidades; si el coeficiente de variabilidad obte-

nido en nuestro caso hubiera sido superior a 25 unidades normales, no sería posible obtener una media aplicable a la interpretación de otras determinaciones; se puede observar que el coeficiente de variabilidad de este estudio, se encuentra muy cerca del normal, hecho que desde luego pudo suponerse que existiera, dada la gran diferencia entre las cifras máxima y mínima de caroteno que hemos encontrado. Autores como Youmans señalan diferencias aún mayores entre las cifras máxima y mínima en condiciones normales, o sean las de 300 y 50 microgramos, respectivamente.

La elaboración de los resultados nos permite fijar la cifra de 134.25 gamas de caroteno por cien centímetros cúbicos de plasma como media aritmética ponderada en los casos normales estudiados, y las cifras de 154.03 y 114.47 gamas, como oscilaciones accidentales que abarcan el cincuenta por ciento de los casos.

Se concluye, además, que concentraciones de caroteno inferiores a 60 microgramos por cien centímetros cúbicos de plasma, revelan indudable deficiencia de esta sustancia, y que cantidades superiores a 223 no son las frecuentes con el régimen alimenticio habitual seguido por personas de la clase media entre nosotros.

#### *Carotenemia en estados carenciales.*

Entre las personas indigentes que acuden al servicio de medicina que uno de nosotros tiene en el Hospital General de México, los estados carenciales se presentan con gran frecuencia; se puede afirmar que en no menos del 70% de los mencionados individuos existen francas manifestaciones de déficit vitamínico. En la mayor parte de los casos se encuentran deficiencias del complejo B determinadas por alimentación insuficiente, y la pelagra, o sea la manifestación clínica fundamental de la falta de ácido nicotínico o niacina, se observa muy a menudo; otro tanto se puede decir de los casos en que existen las manifestaciones características de la arriboflavinosis. Con menor frecuencia se encuentran individuos con avitaminosis A revelada clínicamente, aunque en ocasiones es fácil poner de manifiesto hemeralopía y dermatosis con las características de la dermatosis específica de la avitaminosis A.

En nuestro caso hemos practicado determinaciones de caroteno en sujetos cuyo cuadro clínico correspondía al de la deficiencia del complejo B y entre los cuales se incluyen algunos de pelagra típica y en grado avanzado. Hemos hecho las cuantificaciones en personas en las que no existían, desde el punto de vista clínico, alteraciones en el funcionamiento

hepático, puesto que como señala Youmans, las lesiones hepáticas pueden hacer que la conversión del caroteno a vitamina A se encuentre disminuída, y en estas condiciones es factible un aumento de caroteno en la sangre en ausencia de aumentos proporcionales en la ingestión de esta sustancia.

C. R. Sexo masculino. 40 años de edad.  
Diagnóstico: pelagra, anemia hipocrómica.  
Eritrocitos: 3.000.000.  
Hemoglobina: 30%.  
Valor globular: 1.

Caroteno: 44 gamas por 10 c. c. de plasma.

J. M. N. Sexo masculino. 32 años.  
Diagnóstico: pelagra; moderada anemia hipocrómica.  
Hematocrito: 41.5. Hemoglobina en gramos: 12.20.  
Eritrocitos por m.m.<sup>3</sup>: 4.080.000. V. G. M.: 103. H. G. M.: 30. C. H. G. M.: 29.3

Caroteno: 51 gamas

M. J. O. Sexo femenino. 28 años.  
Diagnóstico: pelagra; alcoholismo crónico.  
Hematocrito: 43. Hemoglobina en gramos: 14.10.  
Eritrocitos por m.m.<sup>3</sup>: 4.920.000. V. G. M.: 87. H. G. M.: 28. C. H. G. M.: 32.

Caroteno: indicios, no dosificable

M. D. Sexo femenino. 50 años.  
Diagnóstico: pelagra; alcoholismo crónico.  
Eritrocitos: 4.200.000.  
Hemoglobina: 78%.  
Valor globular: 0.93.

Caroteno: indicios, no dosificable.

J. M. G. Sexo masculino. 18 años.  
Diagnóstico: carencia del complejo B y anemia post-palúdica. Franca ceguera nocturna (hemeralopia) corregida más tarde con la administración de vitamina A, lo que indica carencia de este principio.  
Eritrocitos: 3.340.000.  
Hemoglobina: 60%.  
Valor globular: 0.90.

Caroteno: indicios, no dosificable.

V. S. Sexo masculino. 34 años.  
Diagnóstico: carencia del complejo B.  
Eritrocitos: 4.000.000.  
Hemoglobina: 80%.  
Valor globular: 1.

Caroteno: 41 gamas.

G. M. R. Sexo femenino. 22 años.  
Diagnóstico: carencia del complejo B; anemia macrocítica del mismo origen.  
Eritrocitos: 3.300.000.  
Hemoglobina: 70%.  
Valor globular: 1.06.

Caroteno: indicios, no dosificable.

J. G. Sexo masculino. 60 años.  
Diagnóstico: carencia del complejo B.  
Hematocrito: 42. Hemoglobina en gramos: 13.35.  
Eritrocitos: 4.350.000.

Caroteno: 60 gamas.

P. S. Sexo masculino. 39 años.  
Diagnóstico: carencia del complejo B.  
Eritrocitos: 4.300.000.  
Hemoglobina: 80%.  
Valor globular: 0.93.

Caroteno: 61 gamas.

J. H. Sexo masculino. 24 años.  
Diagnóstico: carencia del complejo B y anemia macrocítica del mismo origen.  
Eritrocitos: 3.222.000.  
Hemoglobina: 70%.  
Valor globular: 1.07.

Caroteno: 40 gamas.

J. B. Sexo masculino. 25 años.  
Diagnóstico: anemia post-palúdica; carencia del complejo B.  
Eritrocitos: 1.800.000.  
Hemoglobina: 20%.  
Valor globular: 0.55.

Caroteno: 56 gamas.

H. C. Sexo femenino. 29 años.

Diagnóstico: carencia del complejo B; alcoholismo crónico.

Eritrocitos: 4.900.000.

Hemoglobina: 90%.

Valor globular: 0.91.

Caroteno: 55 gamas.

M. C. Sexo masculino. 48 años.

Diagnóstico: avitaminosis del complejo B; anemia hipocrómica.

Eritrocitos: 3.350.000.

Hemoglobina: 60%.

Valor globular: 0.90.

Caroteno: indicios, no dosificable.

P. J. Sexo masculino. 33 años.

Diagnóstico: pelagra; alcoholismo crónico.

Eritrocitos: 4.000.000.

Hemoglobina: 80%.

Valor globular: 1.

Caroteno: 40 gamas.

E. G. L. Sexo masculino. 40 años.

Diagnóstico: carencia del complejo B; anemia post-palúdica.

Eritrocitos: 2.700.000.

Hemoglobina: 45%.

Valor globular: 0.82.

Caroteno: 40 gamas.

En los quince casos de avitaminosis del complejo B que hemos estudiado, las cifras de caroteno sanguíneo resultaron bajas, siempre por debajo del límite inferior de 60 gamas encontrado en personas normales; esto revela que el déficit del mencionado complejo se acompaña, en todos los casos estudiados, de carencias de caroteno, y por lo tanto de vitamina A; es interesante anotar el hecho de que en pacientes con pelagra, el caroteno no pudo ser determinado por la cantidad mínima de dicho cuerpo en el plasma sanguíneo; otro tanto aconteció en un caso en que, sin existir propiamente lesiones pelagrosas, el cuadro clínico se caracterizaba por fenómenos de carencia del complejo B, hemeralopía (ligada indiscutiblemente a deficiencia de vitamina A, puesto que la ceguera

crepuscular desapareció completamente después de la administración de dicha vitamina) y anemia post-palúdica.

Las determinaciones de caroteno dieron distintos resultados en personas que no presentaban manifestaciones clínicas de carencia del complejo B y en las cuales, sin embargo, el estado general era precario por existir estados anémicos avanzados producidos por parásitos intestinales como el anquilostoma duodenal y el tricocéfalo, u originados por la destrucción globular que es habitual en el paludismo.

#### BIBLIOGRAFIA

- DANN, W. J. y KENNET, A. E., 1938.—The Quantitative Estimation of Vitamin A with the Photoelectric Colorimeter. *Scient. Proc. Amer. Soc. Biol. Chem.*
- GREAVES, J. D. y SCHMIDT, C. L. A., 1935.—On the Absorption and Utilization of Carotene and Vitamin A in Choledocholconomized Vitamin A Deficient Rats. *Amer. Jour. Physiol.*, Vol. 111.
- HARRIS, PH. L., WOODSIDE, K. M. y HICKMAN, K. C. D., 1944.—Covitamin Studies. II. The Sparing Action of Natural Tocopherol Concentrates on Carotene. *Jour. Biol. Chem.*, Vol. 152, Feb.
- HICKMAN, K. C. D., WOODSIDE, K. M. y HARRIS, P. L., 1944.—Covitamin Studies. I. The Sparing Action of Natural Tocopherol Concentrates on Vitamin A. *Jour. Biol. Chem.*, Vol. 152, Feb.
- , 1944.—Covitamin Studies. III. The Sparing Equivalence of the Tocopherols and Mode of Action. *Jour. Biol. Chem.*, Vol. 152, Feb.
- HOHNES, H. y WERNER, H. B., 1936.—Colorimetric Dosification of Carotene by Solutions of Bixine. *Jour. Biol. Chem.*, Vol. 112, Nº 2.
- IRVIN, J. L., KOPALA, J. y JOHNSTON, C. G., 1941.—The Absorption of Carotene from Isolated Intestinal Loops. *Amer. Journ. Physiol.*, Vol. 132.
- PEPKOWITZ, L. P., 1944.—Some Observations on the Photochemical Destruction of Carotene. *Jour. Biol. Chem.*, Vol. 155, Nº 1.
- ROCA, J. y LLAMAS, R., 1945.—Resumen de Conocimientos sobre Vitaminas. *Foll. Divulg. Cient. Inst. Biol. Méx.*, Nº 43.
- SHAW, J. R. y DEUEL, jr., H. J., 1944.—Studies on the Absorption of Carotene. *Jour. Nutrition*, Vol. 27, Nº 5.
- YOUMANS, J. B.—Nutritional Deficiencies. Diagnosis and Treatment. Segunda edición.