

Otros nutraceuticos con efecto molecular

5. Carotenoides

María de la Luz Miranda Beltrán

Ana Elizabeth González Santiago

César Soria Fregozo

Alma Lorena López Velázquez

Historia

En 1831, Wackenroder propuso por primera vez el término de “caroteno” con base en la descripción que él había realizado en la separación y cristalización de las raíces de la zanahoria. En 1837, Berzelius acuñó el término “xantofila” para denotar químicamente un pigmento amarillo que él había extraído de las hojas senescentes en otoño. Posteriormente, Tsweet describió la primera separación por cromatografía en columna de pigmentos vegetales (clorofilas, carotenos y xantofilas), y debido a la naturaleza de estos compuestos afines entre carotenos y xantofilas, en 1911 creó el término “carotenoides” para ambas clases de pigmentos.¹

Actualmente los carotenoides representan una de las clases más abundantes de pigmentos naturales ampliamente distribuidos en la Naturaleza y más de 600 compuestos diferentes han sido caracterizados hasta la fecha. Los carotenoides son los responsables de muchos de los tonos rojos, naranjas y amarillos de las hojas de las plantas, flores y frutos, así como de los colores de algunas aves, insectos, peces y crustáceos. Las plantas, bacterias, hongos y algas (cianobacterias) pueden sintetizar los carotenoides; sin embargo, los animales los consumen a través de su dieta.² En las plantas, los carotenoides son componentes esenciales del sistema fotosintético, ya que les previenen de un daño fotooxidativo, además de actuar como polinizadores en algunos casos.

Las funciones biológicas más importantes de los carotenoides están vinculadas a sus propiedades antioxidantes, principalmente de β -caroteno, luteína y licopeno, los cuales han mostrado tener una gran importancia en la modulación del sistema inmune, en la señalización intracelular y en los mecanismos de respuesta antiinflamatoria, así como una disminución del riesgo de enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardiovasculares, degeneración macular relacionada a la edad y formación de cataratas,³ mediante la expresión de diferentes genes relacionados con la respuesta a antioxidantes a nivel celular.

Por otro lado, los carotenoides también han sido utilizados como suplementos, en algunos casos como formulaciones alimenticias, y en otros, como colorantes naturales en los alimentos y en la industria cosmética.^{4,5}

Estructura química

Los carotenoides son compuestos isoprenoides (tetraterpenos) generalmente de 40 carbonos, constituidos por unidades múltiples de isoprenos con un anillo ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos. Su estructura básica es lineal, simétrica e invertida en el centro, y puede ser modificada mediante hidrogenación, deshidrogenación, ciclación, isomerización, oxigenación, etc., dando lugar a una gran variedad de estructuras (**figura 46.5-1**). Los carotenoides pueden ser de dos tipos: aquellos que no contienen oxígeno en sus anillos terminales y los que sí lo contienen. Las funciones más comunes son los grupos hidroxilo (OH) y epoxi (epóxidos 5,6 o 5,8) otros grupos son los aldehído (CHO), ceto (C=O), carboxi (CO₂Me) y metoxi (Ome).

Una característica importante es que su sistema de enlaces dobles en el centro de las moléculas constituye un cromóforo

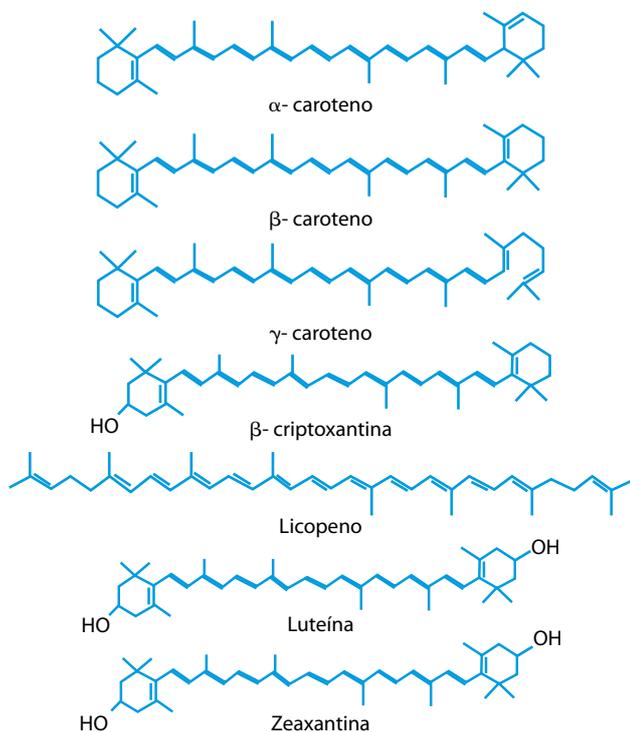


Figura 46.5-1. Estructura química de los carotenoides

con capacidades de absorción de luz, lo que da a los carotenoides sus atractivos colores y provee el espectro de absorción visible que funciona como base para su cuantificación; típicamente absorben luz entre 400 y 500 nm.

Con base en su estructura química, los carotenoides pueden ser clasificados en dos grupos: carotenos y xantofilas. Los carotenos no están oxigenados y pueden poseer hidrocarburos cíclicos o lineales en uno o ambos extremos de la molécula; entre ellos se encuentran los β -caroteno, α -caroteno y β -criptoxantina; mientras que las xantofilas se caracterizan por ser derivados oxigenados de los carotenos, como luteína, zeaxantina, astaxantina y cantaxantina (**figura 46.5-2**).⁶

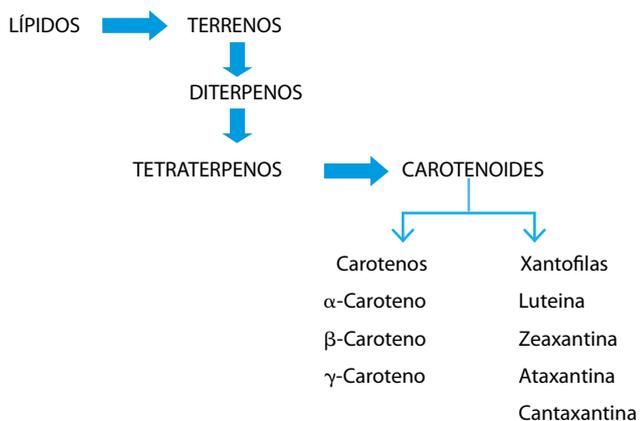


Figura 46.5-2. Clasificación de los carotenoides

Distribución de los carotenoides en los alimentos

Las frutas y verduras presentan un gran contenido de diversos compuestos, entre ellos los polifenólicos y carotenoides. La mayoría de los estudios realizados en plantas han demostrado la presencia de β -caroteno como constituyente, ya sea principal o menor. Se ha reportado que la presencia de carotenoides varía dependiendo del tipo de éstos; por ejemplo, los carotenoides con actividad de provitamina A son α -caroteno (50 a 54%), β -zeacaroteno (20 a 40%), γ -caroteno (50 a 52%), β -criptoxantina (50 a 60%) y β -apo-8'-carotenal (72%), mientras que las xantofilas zeaxantina, luteína, licopeno, astaxantina y violaxantina no son precursores de esta vitamina.

En las verduras, el contenido principal es de luteína, β -caroteno, violaxantina, neoxantina, zeaxantina, β -criptoxantina y anteraxantina. Las xantofilas se encuentran en mayor proporción en las frutas, aunque también depende del tipo de que se trate; por ejemplo, el jitomate posee mayor contenido de licopeno, sin embargo, también existen otras frutas con la presencia de uno o más carotenoides, como es caso del género *Capsicum* (pimientos) que contienen capsantina y capsorubina; otro es el chile que se caracteriza por contener capsantina, capsorubina, capsantinona y luteína, entre otros.⁷

Otra especie también muy estudiada es el maíz, cuyo contenido de β -caroteno depende del genotipo en las diferentes especies.⁸ En este sentido, es importante mencionar que el contenido de carotenoides depende de diversos factores, como el genotipo, manejo pre cosecha, estado de madurez, así como las operaciones de proceso y conservación.⁹

Mecanismos moleculares para tratamiento y prevención de enfermedades

La importancia de los carotenoides radica ante todo en sus propiedades antioxidantes, las cuales han mostrado un gran impacto en la salud humana. Se ha demostrado que el consumo de alimentos ricos en carotenoides previenen o disminuyen el riesgo ante diversas enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, degeneración macular relacionada con la edad y formación de cataratas. Se ha demostrado que la actividad antioxidante de los carotenoides impacta en la modulación de la respuesta inmune, en la transducción de señales y en los mecanismos de la respuesta antiinflamatoria.

La participación de los carotenoides se debe principalmente a la expresión de diferentes genes implicados en las respuestas antioxidantes, protegiendo a las células y tejidos del estrés oxidativo (**figura 46.5-3**). En este sentido, algunos estudios sugieren que la máxima protección se debe al número de dobles enlaces presentes en los carotenoides, de manera que entre mayor sea el número, mayor es la actividad.³

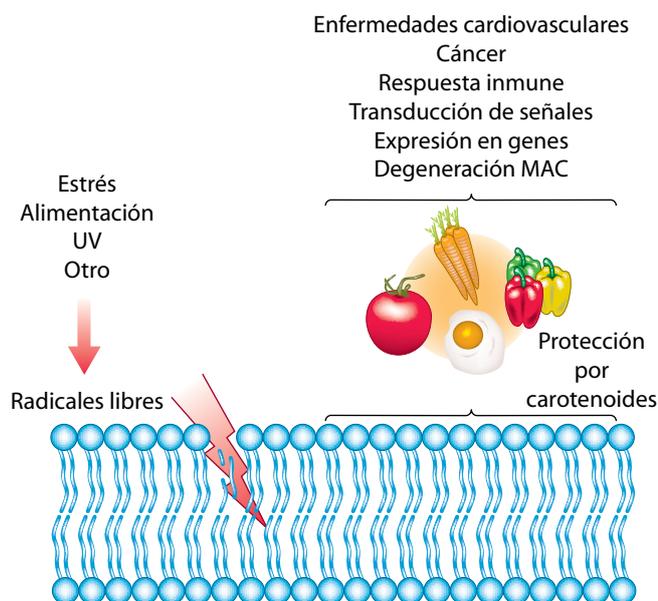


Figura 46.5-3. Protección de carotenoides presentes en alimentos contra el estrés oxidativo generado por los radicales libres

β -carotenos

Historia de su descubrimiento

El β -caroteno es el carotenoide más ampliamente estudiado y abundante tanto en la naturaleza como en la dieta e incluso en el cuerpo humano (de hecho, es detectable en plasma sanguíneo). El primer avance en la comprensión bioquímica de los carotenoides en vertebrados proviene de los estudios realizados con la vitamina A. En este sentido, se había reportado que la deficiencia de vitamina A por la falta de consumo de plantas verdes o hígado en algunos modelos animales provocaba ceguera nocturna en mamíferos. Sin embargo, las plantas verdes no poseen ninguna vitamina A preformada, en contraste con la abundancia en que se la encuentra en el hígado.

Esta observación condujo a la hipótesis de que los animales de alguna manera deben ser capaces de convertir carotenoides a vitamina A, vía propuesta entre 1935 y 1970 por James Olson y Larry Machlin.¹⁰ Su estructura fue determinada en 1930 por el químico suizo Paul Karrer, quien en 1918 obtuvo una cátedra de Química en la Universidad de Zurich e investigó acerca de los polisacáridos, aminoácidos y sustancias que le dan color a numerosos vegetales, además aisló la vitamina A y demostró que deriva del caroteno, y realizó la síntesis de la vitamina B₂, lactoflavina, y la vitamina E. Por dichas aportaciones obtuvo el premio Nobel de Química en 1937 y fue la primera vez en la historia en que la estructura de una vitamina o provitamina fue identificada.

Tras el descubrimiento de la vitamina A en 1913, los pigmentos amarillos de frutas y verduras fueron propuestos como compuestos con efectos nutricionales. Moore, en

1929, demostró que el β -caroteno es convertido en vitamina A, cuya estructura química junto con la del β -caroteno fueron determinadas años más tarde. Así, la función del β -caroteno en la salud humana es la conversión a vitamina A.¹¹

Estructura química

De los más de 600 carotenoides ya conocidos, aproximadamente 50 son precursores de vitamina A. Como se mencionó, el β -caroteno es un precursor de la vitamina A debido a la acción de ciertas enzimas de la mucosa intestinal, en tanto que los no provitamínicos son incorporados a los quilomicrones y secretados a la linfa para su transporte hacia el hígado. Es importante resaltar que su bioconversión es altamente variable entre individuos y dependiendo de su forma de consumo. La provitamina A más importante es el β -caroteno, tanto en términos de bioactividad como por su amplia presencia.

Desde el punto de vista estructural, la vitamina A es esencialmente la mitad de la molécula de β -caroteno, con una molécula adicional de agua en el extremo de la cadena lateral. Así, el β -caroteno es una potente provitamina A, a la cual se le asigna un 100% de actividad. Un anillo β no sustituido con una cadena poliónica de 11 carbonos es el requerimiento mínimo para la actividad de la vitamina A. Por lo tanto, no se consideran provitaminas al fitoflueno, ζ -caroteno y licopeno, ya que carecen de anillos β , mientras que en la zeaxantina, luteína, violaxantina y astaxantina ambos anillos β tienen sustituyentes hidroxilo, epoxi o ceto. Sin embargo, el γ -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina y α -criptoxantina presentan un anillo β no sustituido, con actividad de vitamina A y poseen aproximadamente la mitad de la bioactividad del β -caroteno.³

Desde el punto de vista estructural, el β -caroteno es un tetraterpenoide que se caracteriza por contener 40 átomos de carbonos con 15 dobles enlaces conjugados y 2 anillos β -ionone en ambos extremos de la molécula. El mayor pico de absorción en el espectro visible es a un máximo de 450 nm, que es responsable de los compuestos para los colores naranja a rojo. En sistemas biológicos, el isómero predominante es el all-trans β -caroteno (isómero E). Sin embargo, las formas isoméricas cis- se han encontrado en organismos animales y vegetales; entre ellas se encuentran 9-cis-, 13-cis- y 15-cis- β -caroteno (Z-isómeros), además de análogos di y poly-cis.¹² De acuerdo con sus propiedades estructurales es altamente hidrofóbico y no polar, propiedad que caracteriza a todos los carotenoides.¹³

Mecanismos moleculares para el tratamiento y prevención de enfermedades

Estudios epidemiológicos llevados a cabo a mediados de la década de 1970-1979 relacionaron a los carotenoides como

agentes protectores contra el cáncer de pulmón y una gran variedad de enfermedades crónicas. Los estudios realizados para determinar el efecto del β -caroteno en la salud han mostrado que puede reducir las probabilidades de ataques cardíacos, al funcionar como un antioxidante liposoluble que aumenta la eficiencia del sistema inmunitario.¹⁴

β -caroteno, enfermedades cardiovasculares y sistema inmunitario

Diversos estudios han asociado el consumo de β -caroteno y de otros carotenos con un menor riesgo a desarrollar enfermedades relacionadas con el corazón o los vasos sanguíneos (p. ej., un ataque al corazón o aterosclerosis).¹⁵ Estudios experimentales han demostrado que el β -caroteno pueden reducir los niveles de radicales libres debido a su acción antioxidante, con importantes efectos sobre el estrés oxidativo y la inflamación.¹⁶

Además, se ha reportado que el tratamiento con β -caroteno a diferentes dosis puede disminuir el daño del tejido del hígado en ratas con carcinoma hepatocelular, además de mejorar la función inmunitaria e inhibir el crecimiento tumoral.¹⁷ Se ha demostrado que el consumo de β -carotenos en pacientes con insuficiencia cardíaca incrementa los niveles séricos de citocinas inflamatorias, y se ha sugerido que dicha actividad antiinflamatoria se ejerce a través de la inducción de la muerte celular programada en células inmunes activadas.¹⁸ La activación del sistema inmune y la disminución de infecciones se han demostrado en diferentes modelos animales.

Se ha sugerido que dicho efecto ocurre a través de la vitamina A como regulador de la función inmune, y de manera particular el ácido retinoico (metabolito de la oxidación de la vitamina A), el cual promueve la diferenciación y migración de células T, así como la liberación adecuada de anticuerpos. Son pocos los estudios realizados en humanos, sin embargo, el consumo de vitamina A, retinol o β -caroteno son importantes para mantener un equilibrio apropiado de las células T y con ello prevenir reacciones inflamatorias excesivas o prolongadas.¹⁹

β -caroteno y cáncer

Los hallazgos de ensayos aleatorios sobre la relación entre el consumo de antioxidantes y el riesgo de cáncer han sido en su mayoría negativos. En este sentido, el consumo de β -carotenos en relación con el desarrollo de cáncer es controversial, dado que algunos estudios indican que a mayor ingesta de frutas y verduras ricas en β -caroteno, el riesgo de desarrollar diferentes tipos de cáncer puede disminuir. Sin embargo, no está claro si estos efectos pueden ser atribuidos solo al β -caroteno, dado a que en estos estudios no se ha analizado el papel de otros carotenoides o vitaminas presen-

tes en frutas y verduras, ni patrones dietéticos o estilos de vida asociados.

Por otro lado, existe evidencia de que el consumo de β -caroteno a diferentes dosis y en combinación con algunas vitaminas en asociación con el estilo de vida se puede relacionar a un mayor riesgo de cáncer. Un estudio de metaanálisis reporta que no existe efecto del consumo del β -caroteno en la incidencia de cáncer de páncreas, colorrectal, prostático, de mama y cáncer no melanoma de piel.

Además, se menciona que la incidencia de cáncer de pulmón y estómago fue significativamente superior en individuos fumadores que consumían β -caroteno a una dosis de 20 a 30 mg al día, en comparación con el grupo placebo. Este estudio se suma a la evidencia de que la prevención nutricional de cáncer a través de la administración de suplementos de β -caroteno no debe ser recomendada.²⁰ Por otro lado, un estudio controlado a doble ciego con placebo de seguimiento durante 18 años en sujetos fumadores reportó el efecto del α -tocoferol, el β -caroteno, y la combinación de ambos o placebo sobre la incidencia de desarrollar cáncer de pulmón. Dicho estudio demostró que la suplementación con α -tocoferol (50 mg al día) y β -caroteno (20 mg al día) no parece tener efectos sobre la incidencia de cáncer. Sin embargo, se reporta una menor mortalidad del cáncer de próstata por efecto de dosis moderada α -tocoferol.²¹ Por otro lado, existe la evidencia de que una dieta saludable mediante el consumo suficiente de frutas y verduras proporciona la dosis necesaria de diversos antioxidantes en lugar de suplementos con β -caroteno.²²

β -caroteno, sensibilidad solar y trastornos oculares

El β -caroteno, solo o en combinación con otros carotenoides o vitaminas antioxidantes, puede proteger la piel contra los daños solares. Un estudio aleatorio a doble ciego realizado con pacientes expuestos a la radiación solar reporta que el suplemento oral de licopeno y β -caroteno proporciona protección contra el desarrollo de lesiones en la piel inducidas por radiación ultravioleta.²³ Es probable que dicho efecto se deba a la actividad antioxidante del β -caroteno sobre las especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, existen trabajos en los cuales se menciona que el consumo de frutas y verduras puede contribuir a la actividad observada.

Cabe mencionar que la fotoprotección a través del β -caroteno o licopeno es considerablemente menor que la alcanzada mediante el uso de filtros solares tópicos. Sin embargo, un suministro óptimo de micronutrientes antioxidantes en la piel aumenta la defensa dérmica contra la irradiación ultravioleta.²⁴ La eficacia de β -caroteno en la fotoprotección sistémica depende de la duración del tratamiento antes de la exposición y de la dosis (**cuadro 46.5-1**).

Cuadro 46.5-1. Carotenoides y su protección contra la radiación ultravioleta.

Complemento alimenticio o suplemento	Duración (semanas)	Resultado
β -caroteno, 60 mg/día + Cantaxantina, 90 mg/día	4	Protección ausente
β -caroteno		
180 mg/día	10	Mínimo incremento de eritema
90 mg/día	3	Protección ausente
30 mg/día	12	Eritema leve
24 mg/día	12	Eritema leve
30-90 mg/día	24	Mínimo incremento de eritema
24 mg/día	12	Eritema leve

La farmacopea de numerosos países reporta que se utiliza como protector de la radiación ultravioleta a una dosis de 100 mg diarios vía oral. Estos reportes han demostrado que puede reducir la probabilidad de incidencia de algunos tipos de cáncer de piel; sin embargo, para algunos autores, el caroteno sintético puede aumentar la probabilidad de cáncer de pulmón en personas fumadoras.²⁰ Dichos estudios sugieren que dosis altas de β -caroteno pueden disminuir la sensibilidad a la luz solar y que personas con protoporfiria eritropoyética, un raro defecto genético que causa una dolorosa sensibilidad a la luz solar, pueden ser tratadas con β -caroteno.

Otra de las bondades del β -caroteno es su efecto sobre los trastornos oculares asociados con la edad. En este sentido, ensayos clínicos han reportado que el uso de formulación rica en vitaminas y minerales (vitaminas C y E, cinc, cobre y β -caroteno) disminuye la progresión de la catarata nuclear, sin embargo incrementa el riesgo de catarata subcapsular. Además, dicha formulación disminuye el riesgo de desarrollar degeneración macular asociada a la edad (deterioro de la mácula, parte de la retina responsable de la visión central). Al respecto, debido a que el β -caroteno se ha asociado a un incremento en la incidencia de cáncer de pulmón en exfumadores, la luteína o zeaxantina podrían reemplazarlo.²⁵

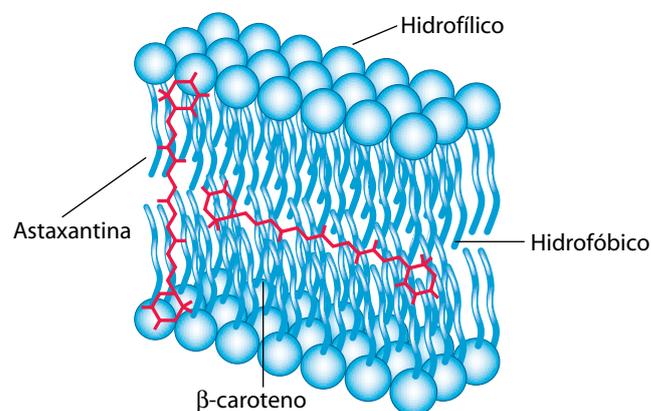
β -caroteno y actividad antioxidante

El estrés oxidativo parece ser un factor común en diversas enfermedades, como las cardiovasculares, el cáncer y la diabetes, entre otras. En este sentido, los carotenoides son una clase de antioxidantes capaces de eliminar los radicales libres en sis-

temas biológicos. El β -caroteno se considera como la primera línea de defensa de los carotenoides. Sin embargo, varios experimentos *in vitro* confirmaron que la β -criptoxantina y zeaxantina (carotenoides presentes en la naranja y el maíz, respectivamente) mostraron mayor capacidad de protección contra los radicales peroxilo en membranas de liposomas, en comparación con el β -caroteno o el licopeno. Los autores reportan que esto puede deberse a la ubicación y orientación de estos dos carotenoides en las membranas biológicas.²⁶

De manera general, el efecto antioxidante de los carotenoides contra los radicales libres se asocia con la ingesta equilibrada de frutas y verduras. Los carotenoides pertenecen a un grupo de antioxidantes hidrofóbicos, cuyo principal mecanismo de acción se encuentra dentro de las membranas biológicas. Los carotenoides se encuentran en los sistemas biológicos como monómeros de moléculas libres y frecuentemente asociados con las proteínas o lipoproteínas. Las diferencias estructurales y localización en las membranas biológicas de los carotenoides sugieren diferentes tipos de interacción con los lípidos de membrana que afectan la fluidez y, por tanto, la termoestabilidad de las membranas biológicas.

Dicha localización depende de las características estructurales de los carotenoides y de la composición de la membrana.²⁷ Diversas técnicas espectroscópicas se han aplicado para estudiar la orientación de los carotenoides dentro de las membranas biológicas. En este sentido, se ha demostrado que los carotenoides, como el β -caroteno y el licopeno, están orientados de forma paralela a la superficie de la membrana. Por el contrario, la zeaxantina y la astaxantina, que contienen dos grupos hidroxilos polares, están ancladas a través de las membranas con grupos funcionales polares hacia afuera de la membrana (**figura 46.5-4**). En general, los carotenoides polares atraviesan la membrana y la fortalecen, pero suprimen la penetración de oxígeno. Esto también puede afectar a las vías de transducción de señales.²⁸

**Figura 46.5-4.** Localización de los carotenoides en las membranas biológicas

Fuentes dietéticas

Las principales carotenoides de la dieta incluyen a los hidrocarburos como al β -caroteno, α -caroteno y licopeno, y las xantofilas o carotenoides que contienen oxígeno, como β -criptoxantina, luteína y zeaxantina. Las principales fuentes de β -caroteno en la dieta son las verduras de hoja verde, así como frutas y verduras de color naranja y amarillo. Sin embargo, se piensa que la biodisponibilidad de β -caroteno de los vegetales de hoja verde como las espinacas es baja (**cuadro 46.5-2**).²⁹

Su biodisponibilidad depende de distintos factores, entre ellos la forma de obtenerlos, prepararlos, cortarlos y la presencia de grasa en la dieta. De los 50 diferentes carotenoides que pueden metabolizar vitamina A, el β -caroteno tiene la mayor actividad de provitamina A. Sin embargo, esta bioconversión es altamente variable entre los individuos y quizás entre las diferentes fuentes de alimentos.^{30,31}

Dosis benéficas para el efecto esperado en humanos

La biodisponibilidad de los carotenoides depende de diversos factores, como: la fuente; el consumo y su relación con la liberación del compuesto a partir del alimento;^{32,33} la absorción en el tracto gastrointestinal, así como su distribución, metabolismo y excreción en el organismo, además de la interacción con otros compuestos presentes en el alimento, y la presencia o ausencia de enzimas. Por otro lado, factores individuales como el estilo de vida (consumo de tabaco, al-

Cuadro 46.5-2. Contenido de β -carotenos en algunos alimentos.

Alimento	Nombre científico	Contenido (mg/100 g de peso húmedo)
Zanahorias cruda	<i>Daucus carota</i>	18.3
Mangos enlatados	<i>Mangifera indica</i>	13.5
Camote cocido	<i>Dioscorea remotiflora</i>	9.5
Zanahoria cocida	<i>Daucus carota</i>	8.0
Calabaza enlatada	<i>Cucurbita pepo L</i>	6.9
Espinaca cruda	<i>Spinacia oleracea</i>	5.6
Espinaca cocida	<i>Spinacia oleracea</i>	5.2
Acelga cruda	<i>Beta vulgaris</i>	6.9
Pimiento rojo crudo	<i>Capsicum annum</i>	2.5
Pimiento rojo cocinado	<i>Capsicum annum</i>	2.2
Lechuga romana	<i>Lactuca sativa L</i>	1.3

cohol), alimentación, sexo, edad o el estado de salud/enfermedad afectan a la biodisponibilidad de los carotenoides.

Dichas diferencias interindividuales modulan fuertemente la biodisponibilidad y se asocian con las variaciones genéticas que afectan de forma directa o indirecta la absorción, la distribución y el metabolismo de un compuesto dentro del cuerpo.³⁴ A pesar de que se sabe que los vertebrados pueden convertir β -caroteno en vitamina A, no se ha aislado y caracterizado la enzima responsable de la conversión (dioxigenasa). Se ha mencionado que la baja exigencia humana de vitamina A (alrededor de 200 μ g/día en un adulto sano), además de la baja concentración de la enzima para convertir una molécula de β -caroteno en vitamina A, pueden ser las razones de que la enzima no se haya aislado aún.³⁵

Si bien el requerimiento de vitamina A en humanos es poco, su exceso puede ser tóxico. La enzima de escisión está presente en niveles tan bajos que incluso la administración oral de 200 mg de β -caroteno/día no conduce a toxicidad por vitamina A. Cabe mencionar que el β -caroteno se ha utilizado con éxito para tratar la fotosensibilidad por más de 15 años a dosis de 180 mg/día o más, sin efectos adversos diferentes a hipercarotenemia. Estudios de toxicidad realizados en animales han demostrado que el β -caroteno no es cancerígeno, mutagénico, embriotóxico o teratogénico y no causa hipervitaminosis A.³⁶

El β -caroteno natural es ingerido y transformado en vitamina A en la mucosa del intestino delgado, después es almacenado principalmente en el hígado en forma de ésteres de retinol. También puede ser absorbido y almacenado en el tejido graso sin ser modificado, produciendo una coloración ligeramente amarilla o anaranjada en las palmas de las manos y las plantas de los pies; esa es la razón por la cual el exceso en el consumo de caroteno es la causa más común de pseudoictericia (tinte amarillento cutáneo ajeno a la retención biliar).

Los métodos utilizados para investigar la biodisponibilidad de los carotenoides de la dieta incluyen mediciones de plasma de vitamina A, la evaluación visual de la adaptación a la oscuridad, y la respuesta a la dosis de retinol. El uso de isótopos radioactivos y la espectroscopia de masas han permitido determinar la concentración necesaria de vitamina A en humanos.³⁷

Luteína

Historia del descubrimiento

Entre 1868 y 1869, el médico y bioquímico alemán John Louis William Thudichum (1829-1901) describió a la “luteína” como una sustancia amarilla cristalizable que estudió en 42 diferentes plantas.³⁸ Así, definió distintas propiedades químicas a la luteína, como su insolubilidad en agua y su solubilidad en etanol y cloroformo, formando soluciones de coloración amarilla.³⁸

Estructura química

La luteína pertenece a la clasificación del grupo de carotenoides oxigenados o xantofilos.^{11,39} La estructura química corresponde a un tetraterpenoide acíclico, formado de ocho unidades isoprenoides C₅. La luteína también es conocida como transluteína, filoxantina, xantofila, luteína éster, *all-trans*-xantofila, entre otros (figura 46.5-1).⁴⁰

Mecanismos moleculares para el tratamiento y prevención de enfermedades

El 95% de los carotenoides que se pueden obtener de los alimentos lo representan aquellos con actividad provitamínica A (β -caroteno, α -caroteno y β -criptoxantina); los que carecen de esta actividad pero tienen otras funciones importantes para la salud humana son el licopeno, la luteína y la zeaxantina. De los 750 carotenoides reportados en la Naturaleza, sólo dos, luteína y zeaxantina, se pueden encontrar en el tejido de la retina y en el cristalino.^{41,42} Ambos, y su isómero mesozeaxantina, forman parte del pigmento macular en el ojo humano.⁴³ Luteína y zeaxantina (isómero de la luteína) protegen a la mácula del daño por luz azul, mejoran la agudeza visual y unen especies reactivas de oxígeno que son dañinas.⁴⁴

El papel de la luteína en la salud humana comprende en particular la salud del ojo, que se ha establecido tanto en estudios epidemiológicos como clínicos y de intervención. Además, se han asociado como reductores del riesgo de enfermedad por degeneración macular relacionada a la edad (AMD, *age-related macular degeneration*) y a la formación de cataratas.⁴⁵ A su vez, la ingesta de luteína a razón de aproximadamente 6 mg/día se ha asociado a una reducción del riesgo de padecer degeneración macular relacionada con la edad.⁴⁶

Otro estudio resalta a la luteína y zeaxantina como los únicos carotenoides que cruzan la barrera hemática-retina para formar el pigmento macular en el ojo. Esto las correlaciona con una posible concentración similar encontrada entre la densidad del pigmento macular y la función global cognitiva en adultos mayores. La suplementación de luteína fue relacionada positivamente a un mejoramiento de la fluidez verbal, lo que concuerda con las concentraciones cerebrales de luteína significativamente menores en individuos con alteración cognitiva leve.⁴⁷

Por otra parte, se ha realizado un estudio donde la administración de luteína en sujetos sanos no fumadores (20 mg por 12 semanas) redujo la concentración sérica de proteína C reactiva, lo cual se relaciona con el aumento de la capacidad antioxidante total, de manera dependiente de la dosis, por lo que se podría establecer la posibilidad de que la suplementación con luteína puede reducir los biomarcadores de enfermedad cardiovascular. Esto sería posible por la reducción en la peroxidación de lípidos y la respuesta inflamatoria.⁴⁸

En otro importante estudio donde se utilizó un modelo de células endoteliales en cultivo, se demostró que la luteína y el licopeno logran inhibir la sobreexpresión de marcadores inflamatorios (TNF- α , ICAM-1, VCAM-1) y de los componentes en la vía de señalización, potenciando la cadena ligera del factor kappa de las células B activadas, lo cual atenúa la adhesión de leucocitos al endotelio por inflamación.⁴⁹

Otros hallazgos que apoyan el papel de protección cardiovascular de la luteína, mostraron que las concentraciones séricas de ésta y de zeaxantina en pacientes con aterosclerosis temprana es menor que en individuos sanos. A su vez, se encontró que los carotenoides séricos están asociados significativamente a un menor riesgo de arterosclerosis.⁵⁰

En otro estudio se ha enfatizado la importancia de la ingesta de luteína como antioxidante, ya que se encontraron niveles bajos de este carotenoide, de vitamina C y β -criptoxantina en individuos mayores de 60 años con depresión. Además, el consumo de frutas y vegetales (determinantes primarios del consumo de antioxidantes), fue significativamente menor en individuos con esta alteración. Estas asociaciones marcan un foco de alarma en el tratamiento integral de las personas mayores que padecen depresión, ya que es necesario que se integren los alimentos ricos en antioxidantes para prevenir esta enfermedad.⁵¹

Por otro lado, la luteína también es capaz de limitar el daño por estrés oxidativo en los eritrocitos en presencia del compuesto carcinogénico benzopireno posiblemente por su capacidad de combatir los radicales libres del estrés oxidativo.⁵²

De acuerdo a información obtenida de la Base de datos de toxigenómica comparativa,⁵³ se ha demostrado que existen 12 genes modulados por luteína, los cuales engloban funciones celulares importantes, por ejemplo, en la respuesta celular a la radiación ionizante, regulación del potencial de membrana mitocondrial, regulación de la vía de señalización de la apoptosis, respuesta a estrés oxidativo (especies reactivas de oxígeno), respuesta a estímulo luminoso, entre otros.

De dichos genes, 10 interactúan entre sí en un modelo predictivo de interacción de proteínas donde se utilizan criterios de coocurrencia, coexpresión de genes, experimentos que se han realizado y bases de datos. Esta red muestra cómo interactúan los genes y sus funciones importantes como la protección contra radicales libres (*SOD1*, *SOD2*, *CAT*, *GPX1*), la regulación inflamatoria (*PTGS2*, *RELA*) y la regulación de la apoptosis (*BAX*, *BCL2*, *BCL2L1*, *CCND1*).

La luteína, por tanto, puede ayudar a la eliminación de las especies reactivas de oxígeno y los radicales libres pueden ser eliminados por enzimas como la superóxido dismutasa (SOD 1 y 2), la cual elimina O₂⁻ para producir H₂O₂,⁵⁴ que a su vez es eliminado por la glutatión peroxidasa (GPX1) o por la catalasa (CAT), la cual puede a su vez proteger a la hemoglobina de los eritrocitos contra el daño oxidativo (figura 46.5-5).

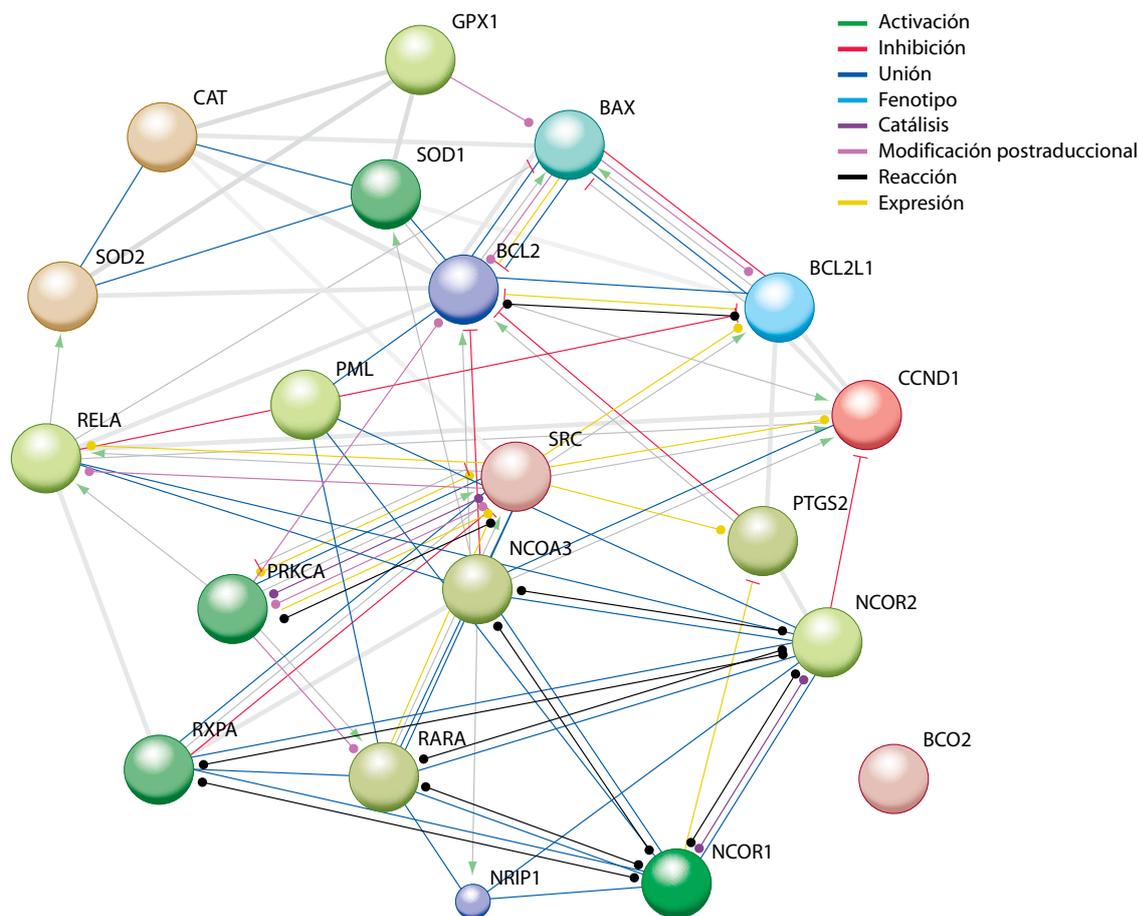


Figura 46.5-5. Modelo de interacción en red de los genes modulados por luteína, genes relacionados y sus funciones celulares más relevantes. SOD2, superóxido dismutasa 2; GPX1, glutatión peroxidasa 1; CAT, catalasa; SOD1, superóxido dismutasa 1; BCL2, célula B CLL/linfoma 2; BAX, proteína X asociada a BCL2; BCL2L1, BCL2-similar 1; RELA, oncogén v-rel reticuloendoteliosis viral homólogo A (aviar); CCND1, ciclina D1; PTGS2, prostaglandina endoperóxido sintasa 2; BCO2, betacaroteno oxigenasa 2; RARA, receptor de ácido retinoico alfa; PML, leucemia promielocítica; NCOR1, receptor nuclear correceptor 1; PRKCA, proteína cinasa alfa; NRIP1, proteína de interacción con receptor nuclear; NCOR2, receptor nuclear correceptor 2; SRC, homólogo oncogén v-SRC sarcoma; NCOA3, coactivador de receptor nuclear 3; RXRA, receptor X de retinoides alfa. Modelo obtenido con el programa STRING v 9.05 (Search Tool for de Retrieval of Interacting Genes/Proteins. Realizado por: Ana E. González S.)

Dentro de la red también se encuentran genes regulados por retinoides en general que interactúan con los genes regulados por luteína. Entre ellos se encuentra el gen RARA (receptor de retinoides alfa) que promueve y lleva a cabo la función de retinoides, como el desarrollo, la morfogénesis, la granulopoesis, el metabolismo glucolítico, la movilidad celular y la coactivación en la regulación hormonal (**figura 46.5-5**).

Finalmente, la acción de la luteína en diversas enfermedades humanas relacionadas con el estrés oxidativo (como la aterosclerosis) ha sido atribuido principalmente a su propiedad antioxidante, al coadyuvar en la remoción de especies reactivas de oxígeno.⁵² Otros mecanismos incluyen la protección contra la luz azul, su participación como parte de la pigmentación de la mácula en el ojo y ser un factor importante para el mantenimiento de la agudeza visual.⁴⁵

Otros posibles mecanismos a explorar en investigaciones más profundas pueden ser la modulación del metabo-

lismo de carcinógenos, la inhibición de la proliferación celular, la potenciación de la diferenciación celular, la estimulación de la comunicación celular y la protección de la piel contra la luz ultravioleta.

Fuentes dietéticas

La luteína es un carotenoide presente en la yema del huevo, algas, espinacas, acelgas, apio verde, pétalos de flores amarillas, melón, zanahoria, maíz, pimiento amarillo y naranja, salmón, entre otras fuentes (**cuadro 46.5-3**).⁵⁵⁻⁶⁰ La yema de huevo es una de las mejores fuentes de luteína y zeaxantina comparada con frutas y vegetales por su mayor biodisponibilidad debido al mayor contenido de grasas en el huevo (**cuadro 46.5-3**).^{59,60} Luteína y zeaxantina son los principales carotenoides en el maíz (constituyen 70% del total); esto hace a la harina de maíz un ingrediente prometedor en el desarrollo de alimentos funcionales altos en luteína.

Cuadro 46.5-3. Contenido de luteína en alimentos seleccionados en µg/100 g de porción comestible.

Alimento (variedad o procesamiento)	Nombre científico	Contenido de luteína
Aceite de oliva virgen (hojiblanca)	<i>Olea europaea</i>	599
Aceite de oliva virgen (picual)	<i>Olea europaea</i>	934
Acelgas, tallos y hojas (cocidos)	<i>Beta vulgaris</i>	1 960
Aguacate	<i>Persea americana</i>	314
Apio verde (cocido)	<i>Apium graveolens</i>	1 335
Espinacas (cocidas)	<i>Spinacia oleracea L</i>	6 422
Pimiento verde (cocido)	<i>Capsicum annum</i>	377
Zanahoria (cruda)	<i>Daucus carota L</i>	288
Yema de huevo	<i>Gallus gallus domesticus</i>	1 000-1 600

Licopeno

Historia de su descubrimiento

Durante el transcurso de sus extensas investigaciones dentro de la química de la clorofila, mientras trabajaba en el Politécnico de Suiza en Zúrich, Richard Willstatter prestó atención a los pigmentos amarillos de las plantas cuyo resultado apareció entre 1907 y 1913. Willstatter y su asistente, Walter Miege, fueron los primeros en diferenciar entre el caroteno hidrocarbonado, al cual le asignaron la fórmula $C_{40}H_{56}$, y a su similar (pero que contenía oxígeno) al cual nombraron xantofila y le asignaron la fórmula $C_{40}H_{56}O_2$. Estos compuestos se diferenciaron por sus contrastantes solubilidades: el caroteno era fácilmente soluble en éter de petróleo, pero no en alcohol, y las xantofilas mostraron propiedades solubles contrarias.⁶¹

Heinrich Escher y Willstatter identificaron el pigmento del licopeno en los jitomates, y comparando este pigmento con la estructura de cristales purificada del caroteno y con otras propiedades físicas, demostraron que el licopeno es un isómero del caroteno.⁶²

Estructura química

El licopeno, $C_{40}H_{56}$, es un compuesto hidrocarbonado alifático, soluble en grasas y en lípidos; presenta un peso molecular de 536.9 g. La biosíntesis de este compuesto tiene lugar en el interior de los plástidos. Puede presentarse como isómero *cis* y *trans*; su forma natural en las plantas es esta última configuración, que a su vez constituye la forma química más estable a los tratamientos térmicos.⁶³

A diferencia de otros carotenoides, como el α - y β -caroteno, el licopeno no tiene actividad provitamina A debido a que carece de la estructura de anillo γ -iónico común en estos carotenoides. Los efectos biológicos del licopeno en humanos se atribuyen a otros mecanismos de la vitamina A.⁶⁴

En relación con el metabolismo vegetal, el licopeno es quien da inicio a la síntesis de otros compuestos, constituyendo la base molecular de los carotenoides.⁹

Mecanismos moleculares para el tratamiento y prevención de enfermedades

Las propiedades biológicas y las funciones del licopeno, y en general de los carotenoides, están determinadas por las propiedades químicas de estos compuestos y, por tanto, de su estructura química. Al depender su efecto biológico de su estructura química, la forma y el tamaño de la molécula son determinantes de las funciones que pueden realizar *in vivo*.

Los efectos del licopeno se basan en su propiedad biológica de actuar como sustancias antioxidantes al reaccionar con agentes oxidantes, reduciendo la reacción de oxidación tanto *in vitro* como *in vivo*, al eliminar estos agentes de los sistemas biológicos o al detener la reacción de formación de radicales libres,^{65,66} de manera que actúan como antioxidantes que secuestran especies reactivas de oxígeno. El licopeno se destaca al tener una mayor capacidad de secuestrar radicales libres, comparado con el resto de los carotenoides.^{67,68} El efecto antioxidante no sólo dependerá de su correcta localización a nivel orgánico, sino que tendrá que encontrarse en una concentración relativa al agente oxidante para ejercer el efecto protector.⁶⁵

El licopeno es uno de los carotenoides con mayor distribución en el suero humano (21 a 43% de los carotenoides totales) y los diferentes tejidos (hígado, riñón, glándulas renales, testículos, ovarios y próstata). Su concentración depende de su ingestión alimentaria, pero está poco influida por la variación del día a día, debido a que la vida media del licopeno en plasma es de 12 a 33 días.^{69,70} Después de unos 30 minutos de su ingestión, el licopeno se incorpora dentro de las micelas de los lípidos que forman parte de la dieta y se absorbe por difusión pasiva en la mucosa intestinal, donde se incorpora a los quilomicrones y luego se libera para ser transportado por las lipoproteínas de baja densidad y muy baja densidad (LDL y VLDL, respectivamente) a través del sistema linfático hacia el hígado y otros órganos.⁷¹

La posterior distribución de los carotenoides en los distintos tejidos no se realiza de modo uniforme, ya que se cree que existen tejidos específicos en los cuales realizan su acción. Diferentes estudios han detectado la presencia de licopeno en testículos, glándulas suprarrenales, hígado, próstata, tejido adiposo, glándulas mamarias, páncreas, pulmón, riñón, ovario, mucosa bucal y estómago.⁷²⁻⁷⁵ Sin embargo, la concentración de este compuesto depende de numerosos factores, como son la concentración en la dieta, la composición de

la misma y la forma de preparación del alimento, así como otros aspectos que afectan a su absorción y los mecanismos que determinan su incorporación en los tejidos.⁷⁴

Sólo entre 10 y 30% del licopeno es absorbido, el resto se excreta en una cantidad que depende de algunos factores biológicos y de estilo de vida, como el sexo, la edad, la composición corporal, el estado hormonal, los niveles de lípidos en sangre, el consumo de alcohol y tabaco, y la presencia de carotenoides en la dieta.⁷⁶

Al licopeno se le atribuyen funciones entre las que se distinguen la inhibición de la proliferación celular y su importante potencial antioxidante, capaz de eliminar el singlete de oxígeno y los radicales peroxilo derivados del estrés oxidativo.

En 1996, Miller y colaboradores estudiaron la actividad antioxidante de distintos carotenos y xantofilas mediante una técnica *in vitro* basada en la capacidad de secuestrar el radical ABTS^{•+}, encontrando que el licopeno presenta una actividad antioxidante tres veces superior a la vitamina E, con valores de 2.9 mM de equivalentes Trolox.⁶⁸

Con el descubrimiento hecho por Dimascio y colaboradores acerca de la gran capacidad del licopeno para actuar como agente antioxidante,⁶⁷ éste ha sido evaluado desde el punto de vista epidemiológico para relacionar la actividad antioxidante con la disminución del riesgo para desarrollar determinados tipos de cáncer, ante todo aquellos relacionados con los tejidos epiteliales. Es por ello que se ha observado un menor riesgo de cáncer de estómago, esófago, colon, próstata, pulmón, páncreas, mamas, piel, vesícula y cérvix en aquellos casos donde existe un mayor consumo de licopeno, y niveles superiores en plasma.^{74,75,77-88}

A su vez, Van Breemen y colaboradores estudiaron líneas celulares cancerosas de diferentes tejidos humanos y demostraron que el licopeno es capaz de promover la apoptosis en estas células y por lo tanto podría funcionar como agente quimioterapéutico.⁸⁹ A este compuesto también se le atribuyen funciones antiinflamatorias, puesto que tanto en concentraciones bajas como fisiológicas en suero, es capaz de suprimir la proliferación de células mitógenas que inhiben la activación de las células T a través de la modulación de la expresión del activador precoz linfocitario CD69 y la secreción de la interleucina 2 (IL-2).⁹⁰

Se ha demostrado que el licopeno también puede reducir el riesgo de aterogénesis, al interferir el daño oxidativo del DNA y de las lipoproteínas, como consecuencia de su actividad antioxidante. Los estudios realizados *in vivo* han demostrado una clara reducción de la peroxidación de los lípidos plasmáticos, así como en la formación de productos derivados de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).^{74,75,83}

Fuentes dietéticas

El licopeno puede ser preparado por síntesis química o encontrarse de manera natural en el tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) y los productos elaborados con éste (salsas, purés, jugos, sopas concentradas, etc.), que son la principal fuente en la dieta, misma que contiene una porción variable de 60 a 64% de este carotenoide. El licopeno es responsable del color rojo y naranja de algunas frutas y verduras, y una de sus funciones es absorber la luz durante la fotosíntesis para proteger al vegetal contra la fotosensibilización.⁷¹

Otras frutas y vegetales que incluyen licopeno en su composición, y que contribuyen a la ingesta de este compuesto en la dieta de distintos países, son: el albaricoque, la sandía, la alfalfa, la papaya, la guayaba rosa, la toronja y el pimiento rojo (**cuadro 46.5-4**).^{74,75,91}

Dosis benéficas para humanos

Algunos autores han coincidido en que el consumo de 7 a 10 porciones de alimentos ricos en este carotenoide a la semana (30 a 60 mg/día) son adecuados,^{92,93} en tanto que otros autores como Rao y Agarwal sugieren 35 mg/día, mientras que algunos aseguran que entre 5 y 10 mg/día es una cantidad suficiente.⁹⁴ El panel de la Autoridad Europea de Sanidad Alimentaria (EFSA) determinó una ingesta

Cuadro 46.5-4. Contenido de licopeno en varios alimentos.⁶⁹

Fuente	Nombre científico	Contenido de licopeno (mg/100 g base húmeda)
Jugo de tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	5.00-11.60
Salsa de tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	6.20
Sopa de tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	7.99
Salsa "cátsup"		9.90-13.44
Tomate fresco	<i>Lycopersicon esculentum</i>	0.72-20.00
Sandía	<i>Citrullus lanatus</i>	2.30-7.20
Guayaba rosa	<i>Psidium guajaba</i>	5.23-5.50
Toronja	<i>Citrus paradisi</i>	0.35-3.36
Papaya	<i>Carica papaya</i>	0.11-5.30
Zanahoria	<i>Daucus carota</i> L.	0.65-0.78
Calabaza	<i>Cucurbita pepo</i> L.	0.38-0.46

diaria admisible (IDA) de 0.5 mg/kg/día, misma que incluye las fuentes naturales y colorantes de licopeno (EUFIC). En el **cuadro 46.5-5** se menciona la dosis requerida diaria en algunos alimentos.

Cuadro 46.5-5. Dosis requerida de carotenoides en alimentos.

Nutrimento	Dosis/indicación	Fuente alimentaria	Cantidad de fuente alimentaria/suplemento para cubrir la dosis necesaria	Aplicación en patologías	Efecto
β-caroteno (Biesalki HK, Grimm P ⁹⁵)	2-4 mg/día	Brócoli	800-1 000 g	Enfermedades cardiovasculares/cáncer	Antioxidante Inhibición de las ERON
β-caroteno (Biesalki HK, Grimm P ⁹⁵)	2-4 mg/día	Zanahoria	50-100 g	Enfermedades cardiovasculares/cáncer	Antioxidante Inhibición de la oxidación de DNA
β-caroteno (Biesalki HK, Grimm P ⁹⁵)	2-4 mg/día	Toronja	300-600 g	Enfermedades cardiovasculares/cáncer	Antioxidante
β-caroteno (Biesalki HK, Grimm P ⁹⁵)	2-4 mg/día	Papaya	500-1 000 g	Enfermedades cardiovasculares/cáncer	_____
β-caroteno (Biesalki HK, Grimm P ⁹⁵)	2-4 mg/día	Lechuga Boston	100-200 g	Enfermedades cardiovasculares/cáncer	_____
Luteína	6 mg/día	Huevo		Prevenir degeneración macular relacionada a la edad	Disminución de estrés oxidativo en piel y retina
Licopeno (http://www.nlm.nih.gov ⁹⁶)	23 mg/día	Jugo de Tomate	240 ml	Enfermedades cardiovasculares/cáncer	Antioxidante Efecto fotoprotector
Licopeno (Waliszewski y cols) ⁶⁹	_____	Guayaba rosa	5.23-5.50 mg/100 g	Enfermedades cardiovasculares/cáncer de próstata hormonal/inmune	Antioxidante Inhibe la oxidación de LDL
Licopeno (Waliszewski <i>et al</i>) ⁶⁹	_____	Calabaza	0.38-0.46 mg/100 g	Enfermedades cardiovasculares/cáncer Modulación hormonal/inmune	Antioxidante Enzimas de la fase II

REFERENCIAS

1. Armstrong GA, Hearst JE. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *FASEBJ*, 1996;10:228-237.
2. Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 2003;24:345-351.
3. Rodríguez-Amaya DB. Carotenoides y preparación de alimentos: la retención de los carotenoides provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. USAID, JSI, 1999:5-13.
4. Hannoufa AY, Hossain Z. Regulation of carotenoid accumulation in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2012;1:198-202.
5. Vílchez C, Forján E, Cuaresma M, Bédmar F, Garbayo I, Vega JM. Marine carotenoids: biological functions and commercial applications. *Mar Drugs*, 2011;9:319-333.
6. Olmedilla AB, Granado LF, Blanco NI. Carotenoides y salud humana. España: Fundación Española de la Nutrición (Fen). 2001.
7. Waizel-Bucay J, Camacho Morfín R. El género *Capsicum* Vss-Fkloh. Una versión panorámica. *Aleph Zero*, 2011;60:e60-0067-e60-0079.
8. Salinas-Moreno Y, Saavedra AS, Soria RJ, Espinosa TE. Características fisicoquímicas y contenido de carotenoides en maíces (*Zea mays* L) amarillos cultivados en el Estado de México. *Agricultura Técnica en México*, 2008;34(3):357-364.
9. Carranco-Jáuregui ME, Calvo-Carrillo MC, Pérez-Gil Romo F. Carotenoides y su función antioxidante: revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 2011;61(3):233-241.
10. Olson JA, Hayaishi O. The enzymatic cleavage of β -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1965;54(5):1364-1370.
11. Rao A, Rao L. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 2007;55:207-216.
12. Grune T, Lietz G, Palou A, Ross AC, Stahl W, Guan-gweng Tang *et al.* β -Carotene is an important vitamin a source for humans. *J Nutr*, 2010;140(12):2268S-2285S.
13. Shete V, Quadro L. Mammalian metabolism of β -carotene: Gaps in knowledge. *Nutrients*, 2013;5:4849-4868.
14. Dorgan JF, Schatzkin A. Antioxidant micronutrients in cancer prevention. *Hematol Oncol Clin North Am*, 1991;5(1):43-68.
15. Karppi J, Kurl S, Mäkikallio TH, Ronkainen K, Laukkanen JA. Serum β -carotene concentrations and the risk of congestive heart failure in men. A population-based study. *Int J Cardiol*, 2013;168(3):1841-1846.
16. Novoselova EG, Lunin SM, Novoselova TV *et al.* Naturally occurring antioxidant nutrients reduce inflammatory response in mice. *Eur J Pharmacol*. 2009. 615 (1-3):234-240.
17. Cui B, Liu S, Wang Q, Lin X. Effect of β -carotene on immunity function and tumour growth in hepatocellular carcinoma rats. *Molecules*, 2012;17(7):8595-8603.
18. Palozza P, Parrone N, Catalano A, Simone R. Tomato lycopene and inflammatory cascade: basic interactions and clinical implications. *Curr Med Chem*, 2010;17(23):2547-2563.
19. Ross AC (2012). Vitamin A and retinoic acid in T cell-related immunity. *Am J Clin Nutr*, 2012;96(5):1166S-1172S.
20. Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Norat T, Barrandon E, Bertrais S, Galan P, Hercberg S. Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Int J Cancer*, 2010;100,127(1):172-184.
21. Virtamo J, Taylor PR, Kontto J, Männistö S, Utriainen M *et al.* Effects of α -tocopherol and β -carotene supplementation on cancer incidence and mortality: 18-Year postintervention follow-up of the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Int J Cancer*, 2014;135(1):178-185. doi: 10.1002/ijc.28641.
22. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Friesen M, Sabate J *et al.* Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Br J Cancer*, 2006;95(3):406-415.
23. Marini A, Jaenicke T, Grether-Beck S, Le Floc'h C, Cheniti A, Piccardi N, Krutmann J. Prevention of polymorphic light eruption by oral administration of a nutritional supplement containing lycopene, β -carotene, and *Lactobacillus johnsonii*. results from a randomized, placebo-controlled, double-blinded study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2014;30(4):189-194. doi: 10.1111/phpp.12093.
24. Stahl W, Sies H. β -Carotene and other carotenoids in protection from sunlight. *Am J Clin Nutr*, 2012;96(5):1179S-1184S.
25. Chew EY. Nutrition effects on ocular diseases in the aging eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013;54(14):ORSF42-47.
26. Burke M, Edge R, Land EJ, McGarvey DJ, Truscott TG. One-electron reduction potentials of dietary carotenoid radical cations in aqueous micellar environments. *FEBSJ Lett*, 2001;500(3):132-136.
27. Ramel F, Birtic S, Cuiñé S, Triantaphylidès C, Ravanat JL, Havaux M. Chemical quenching of singlet oxygen by carotenoids in plants. *Plant Physiol*, 2012;158(3):1267-1278.

28. Jomova K, Valko M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *Eur J Med Chem*, 2013;70:102-110.
29. Castenmiller JJ, Lauridsen ST, Dragsted LO, van het Hof KH, Linssen JP, West CE. β -Carotene does not change markers of enzymatic and nonenzymatic antioxidant activity in human blood. *J Nutr*, 1999;129(12):2162-2169.
30. Tang G, Ferreira ALA, Grusak MA, Qin J, Dolnikowski GG, Russell RM, Krinsky NI. Bioavailability of synthetic and biosynthetic deuterated lycopene in humans. *J Nutr Biochem*, 2005;16(4):229-235.
31. Krinsky NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005;26:459-516.
32. Maiani G, Castón MJ, Catasta G, Toti E, Cambrodón IG *et al.* Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res*, 2009;53(Suppl 2):S194-218.
33. Yeum KJ, Russell RM. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annu Rev Nutr*, 2002;22:483-504.
34. Lietz G, Lange J, Rimbach G. Molecular and dietary regulation of beta,beta-carotene 15,15'-monooxygenase 1 (BCMO1). *Arch Biochem Biophys*, 2010;502(1):8-16.
35. Olson JA. Vitamin A. En: Ziegler EE, Filer LJ Jr (ed.) Present knowledge of nutrition. Washington, DC: ILSI, 1996:204.
36. Bendich A. The safety of beta-carotene. *Nutrition and Cancer*, 1988;11(4):207-214.
37. Ribaya-Mercado JD, Mazariegos M, Tang G *et al.* Assessment of total body stores of vitamin A in Guatemalan elderly by the deuterated-retinol-dilution method. *Am J Clin Nutr*, 1999;69(2):278-284.
38. Thudichum JL W. Results of researches on luteine and the spectra of yellow organic substances contained in animals and plants. *Proc R Soc*, 1868-1869;17:252-256.
39. Rodriguez-Amaya DB, Kimura M. Harvestplus handbook for carotenoid analysis. HarvestPlus Technical Monograph 2. Washington, DC y Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT), 2004:2.
40. PubChem Compound. Lutein compound summary. Disponible en: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5368396#x395>.
41. Yeum KJ, Taylor A, Tang G, Russell RM. Measurement of carotenoids, retinoids, and tocopherols in human lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1995;36(13):2756-2761.
42. Yeum KJ, Shang FM, Schalch WM, Russell RM, Taylor A. Fat-soluble nutrient concentrations in different layers of human cataractous lens. *Curr Eye Res*, 1999;19(6):502-505.
43. Bone RA, Landrum JT, Friedes LM, Gomez CM, Kilburn MD *et al.* Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina. *Exp Eye Res*, 1997;64(2):211-218.
44. Bone RA, Landrum, JT, Fernandez L, Tarsis SL. Analysis of the macular pigment by HPLC. Retinal distribution and age study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1988;28:843-884.
45. Abdel-Aal el-SM, Akhtar H, Zaheer K, Ali R. Dietary sources of lutein and zeaxanthin carotenoids and their role in eye health. *Nutrients*, 2013;5(4):1169-1185.
46. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, Hiller R, Blair N *et al.* Dietary carotenoids, vitamin A, C and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA*, 1994;272:1413-1420.
47. Johnson EJ. A possible role for lutein and zeaxanthin in cognitive function in the elderly. *Am J Clin Nutr*, 2012;96(5):1161S-1165S.
48. Wang MX, Jiao JH, Li ZY, Liu RR, Shi Q, Ma L. Lutein supplementation reduces plasma lipid peroxidation and C-reactive protein in healthy nonsmokers. *Atherosclerosis*, 2013;227(2):380-385.
49. Armoza A, Haim Y, Bashiri A, Wolak T, Paran E. Tomato extract and the carotenoids lycopene and lutein improve endothelial function and attenuate inflammatory NF- κ B signaling in endothelial cells. *J Hypertens*, 2013;31(3):521-529. *Free Radic Biol Med*, 2013;53(7):1381-1391.
50. Xu XR, Zou ZY, Huang YM, Xiao X, Ma L, Lin XM. Serum carotenoids in relation to risk factors for development of atherosclerosis. *Clin Biochem*, 2012;45(16-17):1357-1361.
51. Payne ME, Steck SE, George RR, Steffens DC. Fruit, vegetable, and antioxidant intakes are lower in older adults with depression. *J Acad Nutr Diet*, 2012;112(12):2022-2027.
52. Vijayapadma V, Ramya P, Pavithra D, Krishnaswamy R. Protective effect of lutein against benzo(a)pyrene-induced oxidative stress in human erythrocytes. *Toxicol Ind Health*, 2014;30(3):284-293.
53. Comparative Toxicogenomics Database (CTD). Disponible en: <http://ctdbase.org/detail.go?type=chem&acc=D014975>, actualizado el 6 de agosto de 2013. Revisión 13355. Mount Desert Island Biological Lab, 2004-2013.
54. Halliwell B, Gutteridge MC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J*, 1984;219:1-14.
55. West CE, Poortvliet EJ. The carotenoid content of foods with special reference to developing countries. Arlington, Virginia: VITAL, International Science and Technology Institute, 1993.

56. Granado F, Olmedilla B, Blanco I, Rojas-Hidalgo E. Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. *J Agric Food Chem*, 1992;40:2135-2140.
57. Olmedilla B, Granado F, Rojas-Hidalgo E. Quantitation of provitamin and non provitamin A carotenoids in fruits most frequently consumed in Spain. Food and cancer prevention: chemical and biological aspects, 1993:141-145.
58. Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Gil-Martínez E. Carotenoid content in fruit and vegetables and its relevance to human health: Some of the factors involved. *Recent Res Devel in Agricultural & Food Chem*, 1998;2(1):57-70.
59. Rasmussen-Helen M, Tawanda-Muzhingi E, Eggert EJ. Lutein, zeaxanthin, meso-zeaxanthin content in egg yolk and their absence in fish and seafood. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2012;27(2):139-144.
60. Mangels AR, Holden JM, Beecher GR, Forman MR, Lanza E. Carotenoid contents of fruits and vegetables—An evaluation of analytical data. *J Am Diet Assoc*, 1993;93:284-296.
61. Sourkes TL. The discovery and early history of carotene. *Bull Hist Chem*, 2009;31(1):32-38.
62. Willstatter R, Escher HH. Über den Farbstoff de Tomate. *Z Physiolog Chem*, 1910;64:47-61.
63. Wilberg VC, Rodríguez-Amaya DB. HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guayava, mango and papaya. *Lebensm-Wiss u-Technol*, 1995;28:474-480.
64. Hernández-Almanza A, Martínez-Ávila G, Valdivia-Urdiales B, Rodríguez-Herrera R, Noé-Aguilar C. Propiedades biológicas y de producción del licopeno. *Acta Química Mexicana*, 2012;4(7):1-7.
65. Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEBJ*, 1995;9:1551-1558.
66. Handelman GJ. Carotenoids as scavengers of active oxygen species. En: Cadenas E, Packer L (ed). *Handbook of antioxidants*. Nueva York: Marcel Dekker, Inc, 1996:259-314.
67. Di-Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Bioph*, 1989;274:535-538.
68. Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramle YPM, Rice-Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 1996;384:240-242.
69. Waliszewski KN, Blasco G. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud Pública Mexicana*, 2010;52:254-265.
70. Lu R, Dan H, Wu R, Meng W, Liu N, Jin X *et al*. Lycopene features and potential significance in the oral cancer and precancerous lesions. *J Oral Pathol Med*, 2011;40:361-368.
71. Cruz-Bojorquez RM, González-Gallego J, Sánchez-Collado P. Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno. *Nutr Hosp*, 2013;28(1):6-15.
72. Kaplan LA, Lau JM, Stein EA. Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem*, 1990;8:1-10.
73. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in human. *J Nutr*, 1992;122:2161-2166.
74. Clinton SK. Lycopene: Chemistry, biology and implications for human health and disease. *Nutrition Rev*, 1998;56:35-51.
75. Nguyen ML, Schwartz SJ. Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technol*, 1999;53:38-53.
76. Galhardo R, Ferraz-Da Silva E. Tomatoes and tomato products as dietary sources of antioxidants. *Food Rev Int*, 2009;25:313-325.
77. Comstock GW, Alberg AJ, Huang HY, Wu K, Buke AE, Hoffman SC *et al*. The risk of developing lung cancer associated with antioxidants in blood: ascorbic acid, carotenoids, α -tocopherol, selenium, and total peroxy radical absorbing capacity. *Cancer Epidem. Biomarkers Prevent*, 1997;6:907-916.
78. Nishino H. Cancer prevention by natural carotenoids. *J Cell Biochem*, 1997;27:86-91.
79. Sharoni Y, Giron E, Rise M, Levy J. Effects of lycopene enriched tomato oleoresin on 7,12-dimethyl-66 benz(a)anthracene-induced rat mammary tumors. *Cancer Detect Prevent*, 1997;21:118-123.
80. Narisawa T, Fukaura Y, Hasebe M, Nomura S, Oshima S, Sakamoto H *et al*. Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats by lycopene and tomato juice rich in lycopene. *Jap J Cancer Res*, 1998;89:1003-1008.
81. Nishino H. Cancer prevention by carotenoids. *Mutation Research*, 1998;402:159-163.
82. Okajima E, Tsutsumi M, Ozono S, Akai H, Denda A, Nishino H *et al*. Inhibitory effect of tomato juice on rat urinary bladder carcinogenesis after N-butyl-N-(4-Hydroxybutyl) nitrosamine initiation. *Jap J Cancer Res*, 1998;89:22-26.
83. Rao AV, Agarwal S. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr Cancer*, 1998;31:199-203.
84. Gann PH, Ma J, Giovannucci E, Willet W, Sacks FM, Hennekens CH, Stampfer MJ. Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. *Cancer Res*, 1999;59:1225-1230.
85. Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of epidemiologic literature. *J Nat Cancer Res*, 1999;91:317-331.

86. Grant WB. An ecologic study of dietary links to prostate cancer. *Alter Medicine Rev*, 1999;4:162-169.
87. Rao AV, Fleshner N, Agarwal S. Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study. *Nutr Cancer*, 1999;33:159-164.
88. Sengupta A, Das S. The anti-carcinogenic role of lycopene, abundantly present in tomato. *Eur J Cancer Prev*, 1999;8:325-330.
89. Van Breemen RB, Pajkovic N. Multitargeted therapy of cancer by lycopene. *Cancer Lett*, 2008;269:339-351.
90. Mills L, Wilson H, Thies F. Lycopene inhibits lymphocyte proliferation through mechanisms dependent on early cell activation. *Mon Nutr Food Res*, 2012;56:1034-1042.
91. ILSI, North American Technical Committee on Food Components for Health Promotion. Safety assessment and potential health benefits of food components based on selected scientific criteria. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1999;39:285-295.
92. Rao A, Shen H. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. *Nutr Res*, 2002;22:1125-1131.
93. Sesso H, Liu S, Gaziano J, Buring J. Dietary lycopene, tomato based food products and cardiovascular disease in women. *J Nutr*, 2003;133:2336-2341.
94. Rao A, Agarwal S. Role of oxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr*, 2000;19:563-569.
95. Biesalski HK, Grimm P. Nutrimentos. En: Biesalski HK, Grimm P. *Pocket Atlas of Nutrition*. Thieme, 2005. ISBN 1-58890-238-2(TNY).146-150.
96. Natural Medicines. Licopeno. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/natural/554.html>. Acceso el 18 de febrero de 2014.

BIBLIOGRAFÍA

- Kean EG, Hamaker BR, Ferruzzi MG. Carotenoids bioaccessibility from whole grain and degermed maize meal products. *J Agric Food Chem*, 2008;56:9918-9926.
- Stahl W, Schwarz W, Sundquis AR, Sies H. Cis-trans isomers of lycopene and β -carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Bioph*, 1993;294:173-177.
- U-NC 1998. USDA-NCC Carotenoid Database for US Foods-1998. Disponible en: www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/car98/car98.html.

6. Cafeína

Elizabeth Gordillo Bastidas

Daniela Gordillo Bastidas

La cafeína (CFA) es un alcaloide del grupo de las xantinas, que pertenece a la familia de las metilxantinas, lo mismo que la teofilina (té), la teobromina (chocolate), la guaranina (guaraná), la mateína (mate), la cola y el yopo. La CFA está presente en la dieta diaria del humano y, según estadísticas, es la sustancia psicoactiva más consumida en el mundo, al igual que en Norteamérica, pues 90% de los adultos la consumen todos los días.

Su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$ (1,3,7-trimetilxantina; **figura 46.6-1**); en estado puro es un polvo blanco y amargo.

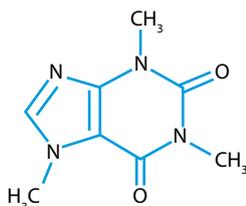


Figura 46.6-1. Estructura química de la cafeína (CFA).

La CFA tiene propiedades físicas de densidad de 1.2 g/cm^3 , es ligeramente soluble en agua, su punto de fusión es de $237 \text{ }^\circ\text{C}$ y su punto de ebullición es de $178 \text{ }^\circ\text{C}$.

Fuentes alimentarias

Las fuentes dietéticas de la CFA son el café, té, mate, guaraná, cacao y nuez de cola, siendo la principal el café, del cual se ha reportado que es la bebida más consumida a nivel mundial. El contenido de CFA en una taza (240 ml) de café regular es de 137 mg y de 100 mg en una taza de café expreso. La dosis letal media de la CFA es igual a 10 g, lo cual corresponde a 51 tazas de café regular.

Se denomina “café” a la bebida que se obtiene por infusión a partir de los frutos y semillas tostadas y molidas del café. Este arbusto se cultiva en 11 Estados de la República Mexicana, de los cuales los más importantes son Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla y Guerrero.

Existen muchas variedades, tipos de tostado y molido, que pueden cambiar las características organolépticas del café. Las especies arábica y robusta son las principales que se cultivan a nivel mundial. La primera de ellas es originaria de Etiopía, crece en zonas con altitudes mayores a 600 m sobre el nivel del mar (msnm), se caracteriza por tener un sabor suave, acidez notoria y ser muy aromático. Por otro lado, el robusta proviene de África central, crece en zonas bajas

donde el arábica no crece, presenta una mayor resistencia a plagas y enfermedades, y posee un sabor fuerte con mucho cuerpo, así como un mayor contenido de cafeína.

El café contiene otras sustancias como vitaminas, minerales y otros antioxidantes por lo que, en función de la cantidad y regularidad de las ingesta podría ser considerado un alimento funcional. Incluso, en países mediterráneos como España, el café es una de las mayores fuentes de antioxidantes en la dieta diaria, a la que aporta muchas otras sustancias, como ácido clorogénico, kahweol y cafestol.

Metabolismo de la CFA

La CFA es completamente absorbida en el estómago e intestino delgado 45 min después de ser ingerida, y es eliminada por cinética de primer orden. Es metabolizada principalmente en el hígado por los hepatocitos, por el sistema de oxidación enzimático citocromo P450, específicamente el CYP1A2, en tres dimetilxantinas: paraxantina (1,7-dimetilxantina) en ≈84%, teobromina (3,7-dimetilxantina) en ≈12%, y teofilina (1,3-dimetilxantina) en ≈4%. Después, estos metabolitos sufren desmetilación y oxidación, formando derivados de uratos y uracilos, que son eliminados por la orina (figura 46.6-2).

En diversas revistas científicas se han reportado los efectos benéficos del consumo de café y su relación inversa con

la presencia de enfermedades crónicas, como diabetes mellitus, cáncer, Parkinson y Alzheimer. Las investigaciones demuestran que el consumo disminuye el estrés oxidativo, al regular genes de vías antioxidantes.

Evidencia científica: clasificación por tipo de estudios

Estudios clínicos

El estudio de la CFA como sustancia con potencial anti-fibrogénico inició al analizar los resultados de estudios epidemiológicos como la *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) I y III, un estudio prospectivo que incluyó 9 849 personas con seguimiento clínico con un promedio de 19 años; los individuos fueron agrupados dependiendo su consumo de café/CFA, en tres grupos: < 1 taza/día, 1 a 2 tazas/día y > 2 tazas/día. Los resultados arrojaron que el consumo de café regular, de grano y/o CFA estaba asociado a una baja incidencia de enfermedad hepática crónica (EHC). Mediante un análisis multivariado se observó que los individuos con un consumo de más de 2 tazas de café al día tenían menos de la mitad del rango de EHC que los que consumían menos de 1 taza/día. Existe un estudio que asocia el consumo de CFA (particularmente del café regular) con una disminución en la severidad de la

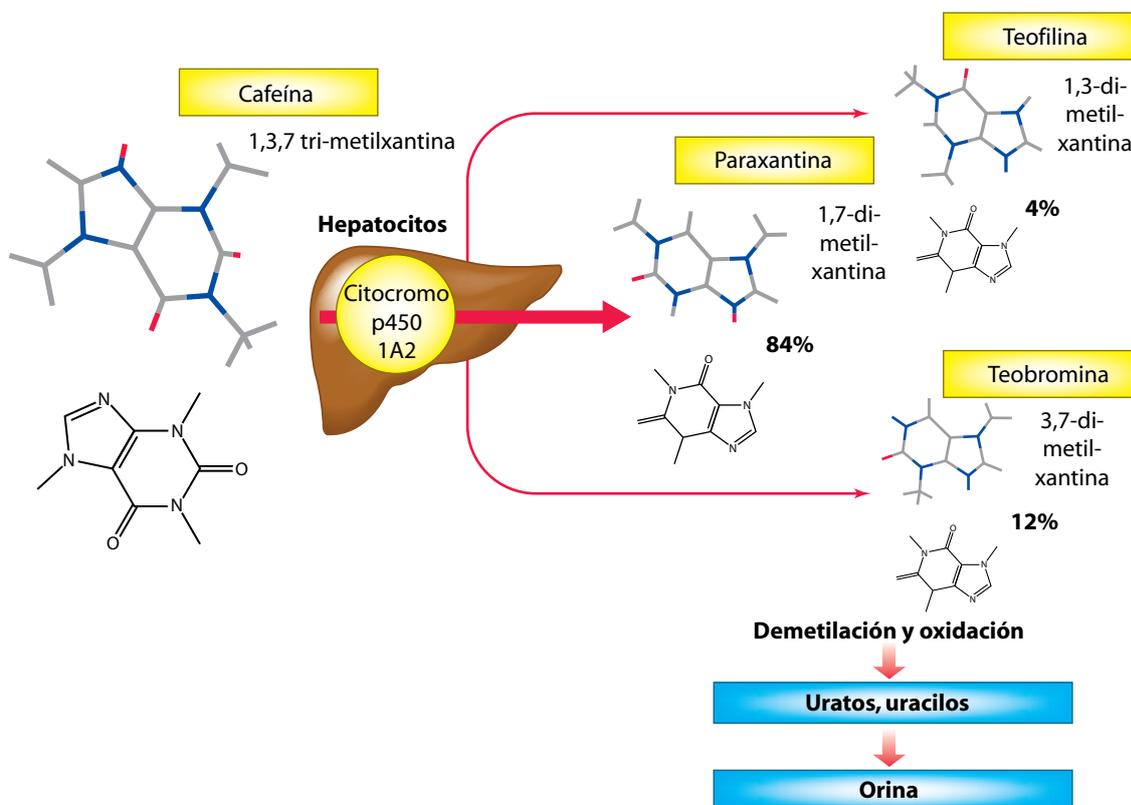


Figura 46.6-2. Metabolismo de la cafeína.

fibrosis hepática; otro estudio retrospectivo observó resultados similares en 300 pacientes.

Se ha reportado en estudios clínicos que el consumo de café disminuye la oxidación del DNA y la inflamación subclínica. También se ha observado que dicho consumo (200 ml) aumenta la capacidad antioxidante del plasma humano.

El consumo de 3 tazas/día disminuye el riesgo a desarrollar diabetes mellitus 2, conclusión que se obtuvo de un metaanálisis en el que se revisaron 18 estudios que incluían la información de 457 922 personas.

Estudios clínicos reportan que el consumo de 4 tazas/día disminuye el riesgo de presentar un infarto al miocardio, así como el riesgo de mortalidad por alguna enfermedad cardiovascular, o podría mejorar el pronóstico posterior a un infarto.

Un estudio en pacientes con hepatitis C, a los cuales se les dio seguimiento por 3.8 años, observó que el consumo de 3 tazas/día disminuyó la progresión de la enfermedad.

Modelos *in vivo*

En modelos animales se ha demostrado que el café posee una gran capacidad antioxidante y disminuye marcadores inflamatorios; esta inhibición es debida a que el café disminuye la expresión del factor de transcripción NFκB.

La cafeína inhibe la expresión de genes profibrogénicos como TGF-β en hepatocitos, lo cual se relaciona con otras publicaciones científicas que mencionan los efectos benéficos del consumo de café y la prevención de la cirrosis hepática. En un modelo animal de daño hepático agudo, se administró cafeína a un grupo de ratas, y se observó que los individuos presentaron una menor mortalidad y menos niveles de TNF-α. Otro modelo animal refiere que al administrar cafeína a las ratas disminuye la expresión de TGF-β. Por último, en un estudio reciente en ratas se observó que el tratamiento con cafeína podría ser preventivo para cirrosis, ya que aumenta la respuesta de enzimas antioxidantes y disminuye la inflamación y la fibrosis.

Modelos *in vitro*

En modelos *in vitro* en células intestinales, se observó que el café disminuye la producción de TNF-α.

GLUT4

Como se sabe, GLUT4 es una proteína que transporta la glucosa desde el exterior de la célula hacia su interior, y es sensible a la insulina. Actúa en músculo esquelético, hígado y tejido adiposo. Para que la proteína de GLUT4 pueda sintetizarse, el gen de GLUT4 debe estar descondensado, lo que le permitirá transcribirse para producir su RNAm, y posteriormente traducirse para formar la proteína de GLUT4. La síntesis de GLUT4 puede estar alterada en un estado de resistencia a la insulina o en diabetes mellitus tipo 2.

Recientemente se realizó un estudio para probar los efectos de la cafeína en células musculares y se observó que es capaz de regular epigenéticamente la expresión de GLUT4. La cafeína aumenta la acetilación de la región del DNA donde se encuentra el gen de GLUT4, por lo tanto, el gen queda descondensado y puede activarse y expresarse, es decir, se sintetiza la proteína GLUT4.

Evidencia científica: clasificación por tipo de efecto

Efecto antifibrogénico

Se conoce que el proceso fibrogénico en el hígado es predominantemente regulado por TGF-β (producido por las células de Kupffer), y que las CEH son inducidas por TGF-β para ser diferenciadas a miofibroblastos y sintetizar la matriz extracelular (MEC), causante de la fibrosis. Los hepatocitos también se encuentran involucrados en el proceso fibrogénico, pues el TGF-β dirige a los hepatocitos a apoptosis y a TEM a células tipo fibroblastos. Los hepatocitos sintetizan CTGF, cuya síntesis está sobrerregulada por TGF-β. El CTGF regula la unión del TGF-β y de la proteína morfogénica de hueso (BMP) a sus receptores. El papel fibrogénico del CTGF está documentado en estudios con modelos *knock-down* del CTGF por un RNA de interferencia (siRNA), cuyo uso resultó en la disminución de fibrosis hepática.

La CFA tiene estructura de purina, por ello actúa directamente sobre nucleótidos y nucleósidos relacionados a adenosina, provocando antagonismo de los receptores de adenosina e inhibición no competitiva de la AMPc fosfodiesterasa, convirtiendo el trifosfato de adenosina (ATP) en el segundo mensajero monofosfato cíclico de adenosina (AMPc). Además, se observó en un estudio *ex vivo* que la CFA se une a los receptores de adenosina clase A_{2A} (encontrados en hígado en las CEH y los HP), lo cual provoca antagonismo no selectivo del receptor de adenosina. Por lo general, la unión de la adenosina a su receptor genera una cascada de señalización que promueve la reparación de tejido y la producción de MEC, por lo que, la CFA al unirse al receptor A_{2A}, provoca la interrupción de esta vía, resultando en la disminución de la producción de MEC.

El AMPc es un inhibidor del CTGF. En un estudio reciente se observó que la CFA elevó los niveles de AMPc. La cafeína inhibe la fosfodiesterasa, enzima responsable de la desactivación del AMPc que, a su vez, favorece el crecimiento de la tasa de AMPc intracelular y amplifica sus acciones de segundo mensajero.

El AMPc es un segundo mensajero que transmite sus señales vía receptores acoplados a proteína G y a proteína cinasa A (PKA), desde la membrana celular hasta

el núcleo. En su estado inactivo, la PKA reside en el citoplasma, la inducción mediante AMPc libera sus subunidades catalíticas, mismas que son capaces de translocar hasta el núcleo donde fosforilan factores de transcripción como la proteína de unión a elementos de respuesta a AMPc (CREB) en la serina 133; esto activa genes de respuesta a AMPc mediante la unión dimérica a una secuencia palindrómica conservada de 8pb (TGACGTCA), que es un elemento de respuesta a AMPc.

La expresión de CTGF inducida por TGF- β es afectada por la vía anterior.

Las Smad 2 y 3 fosforiladas forman complejos heteroméricos con Smad4, la cual es una Smad común a múltiples vías de señalización de la superfamilia TGF- β ; esto les permite translocar dentro del núcleo, donde regulan la actividad de los genes blanco.

Se observó en un estudio *in vitro* que la CFA inhibe la expresión hepatocelular de CTGF mediante la inducción de la degradación del mediador de señales del TGF- β -Smad 2, por medio del aumento de actividad Smurf2 (miembro de la familia de ubiquitina ligasas E3), que en consecuencia aumenta la unión de Smad 2 a ubiquitina y es degradada en los proteosomas. Asimismo, la CFA induce la degradación del T β RI Alk5 (receptor tipo 1 de TGF- β) mediante Smurf 2, resultando en la inhibición de la fosforilación de Smad 1 y 3 (**figura 46.6-3**).

Además, varios estudios han reportado una sobreexpresión del gen Snail1 en condiciones patológicas asociadas con la deposición de tejido fibrótico. Estos procesos patológicos pueden estar inducidos por TGF- β , un potente activador de Snail1, y por estímulos fibrogénicos para las CEH.

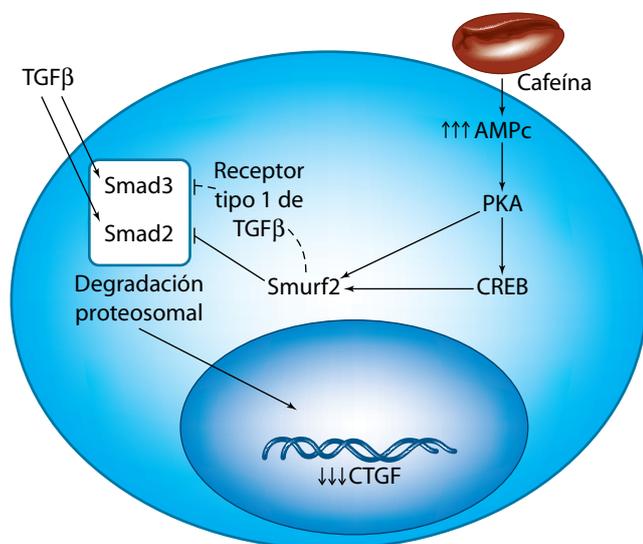


Figura 46.6-3. Efecto antifibrótico de la CFA.

Actualmente existen estudios *in vivo* que demuestran la asociación de Snail1 en la cirrosis hepática y su modulación con el tratamiento con CFA; es sabido que la expresión de Snail1 está sobreexpresada en un estado de cirrosis hepática y —de acuerdo con la información anterior— la CFA, por la disminución en la expresión de TGF- β , el aumento en la expresión de enzimas antioxidantes SOD y CAT, y el aumento en la expresión de PPAR γ en CEH, puede disminuir la expresión de Snail1 y alterar su función.

Efecto antiinflamatorio

Como ya se citó, el NF κ B regula la expresión de varias citocinas proinflamatorias, como TNF- α y la IL-1 β . La proliferación de las CEH y la síntesis de colágena son influidas por TGF- β , TNF- α , IL1 β , IL6, IL4, PDGF e IGF. A su vez, todas estas moléculas son reguladas por el NF κ B. Se ha observado que la CFA disminuye la expresión de estas moléculas proinflamatorias. La CFA actúa en alguno de los niveles que son señalados con flechas rojas en la **figura 46.6-4**, ya sea en la inhibición de la I κ B cinasa para impedir la fosforilación del inhibidor del NF κ B (I κ B κ), impedir la disociación del complejo NF κ B-I κ B κ , o impedir la unión del heterodímero de NF κ B con el DNA, lo cual resulta en la falta de expresión de genes de citocinas proinflamatorias y, consecuentemente, en la interrupción de la vía de señalización de NF κ B.

Genes proinflamatorios dependientes de NF κ B

Durante los procesos inflamatorios, diferentes agentes como las citocinas, quimosinas, moléculas de adhesión y receptores están mal regulados cuando no hay presencia de Nrf2 (estudios en ratones Nrf2^{-/-}). El TNF- α es considerado una de las citocinas de respuesta temprana a la inflamación, después se aumentan los niveles de IL-1 β e IL-6, dando como resultado una mayor inflamación. Todos estos agentes proinflamatorios responden a la señalización por NF κ B. Estos factores, a su vez, aumentan la activación de NF κ B y, por tanto, aumenta el nivel de los productos inflamatorios. El Nrf2 modula la inflamación mediante la inhibición de la vía de NF κ B; un nivel elevado de ROS activa la vía de señalización de NF κ B, en tanto que Nrf2 disminuye el nivel de ROS, resultando en la inactivación de la vía NF κ B proinflamatoria sensible a redox y, por tanto, en el mantenimiento de la homeostasis redox (**figura 46.6-4**).

Nrf2 e inflamación

Se ha sugerido que los niveles de expresión de los genes de las enzimas inflamatorias (iNOS, phox-47, gp91-phoxy phox-67), citocinas (IFN γ , IL-1 α , TNF α e IL-12) y quimosinas (BLC y MIG) están aumentados en los ratones Nrf2 deficientes, en comparación con los de tipo silvestre. De modo que se piensa que el Nrf2 está implicado en la inmunidad mediada por Th2 orquestada por células dendríticas.

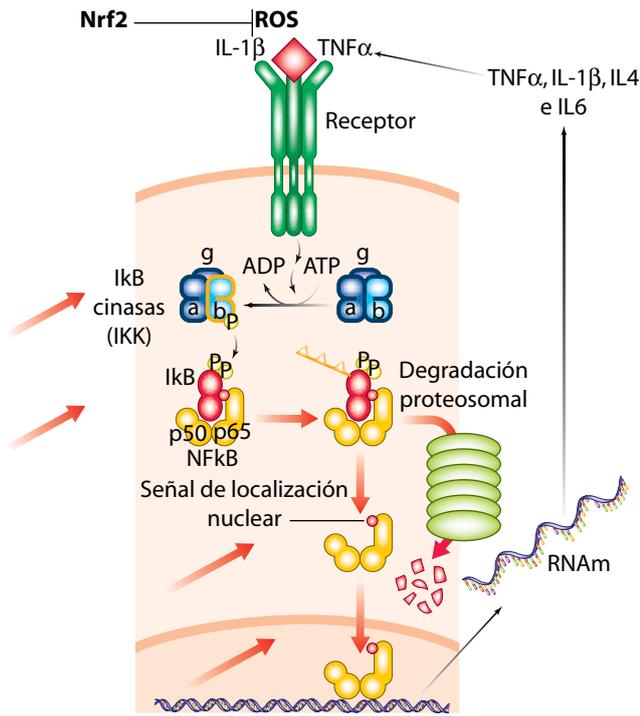


Figura 46.6-4. Efecto antiinflamatorio de la CFA.

Activadores/moduladores de Nrf2: implicación en la intervención en enfermedades crónicas e inflamatorias

Hay un aumento en cuanto a investigaciones de varias sustancias que puedan actuar como moduladores de Nrf2 y de su actividad. Existen varios agentes que pueden tener esta función, como los antioxidantes fenólicos, antioxidantes sintéticos, análogos de tirpenoides, isotiocianatos y xantinas, como la cafeína. El mecanismo básico de estos citoprotectores involucra la alteración directa o indirecta de la vía de Nrf2/Keap1. Entre los inductores de la defensa antioxidante están la curcumina, la quercetina, los organosulfurados, el éster del ácido cafeico y el carnosol.

Efecto antioxidante

El concepto de estrés oxidativo sugiere que debe existir un equilibrio entre las especies oxidantes y las antioxidantes para que la célula se encuentre en homeostasis y que el estado de estrés oxidativo —que con el tiempo conlleva al daño celular— se presente sólo cuando exista un aumento de los oxidantes o una disminución de los antioxidantes. Al respecto, se han descrito mecanismos que promueven la reducción de las ROS, o bien, estimulan su detoxificación en dos fases iniciales. En la fase I, en la cual participan enzimas que metabolizan carcinógenos y xenobióticos (principalmente enzimas de la familia de los citocromos P450), y llevan a cabo reacciones de oxidorreducción que introducen o exponen grupos funcionales en dichas moléculas.

Por otro lado, las reacciones de fase II reducen la electrofilicidad de los metabolitos carcinógenos y xenobióticos modificados mediante su conjugación enzimática con ligandos endógenos, como el glutatión (GSH). Tal es el caso del factor de transcripción factor nuclear relacionado al factor eritroide 2 (Nrf2), que regula la expresión inducible de numerosos genes de enzimas detoxificantes y antioxidantes, mediante su unión a una secuencia específica del DNA conocida como elemento de respuesta antioxidante (ARE), que puede ser activada por diversos compuestos oxidantes y/o electrófilos de naturaleza química muy diversa.

La actividad del factor Nrf2 se encuentra constitutivamente reprimida debido a su unión con una proteína citoplásmica llamada Keap1 y al citoesqueleto. Dicha unión fomenta la permanente degradación de Nrf2 por el proteosoma, por lo que el control primario de su función radica principalmente en su distribución subcelular, más que en la síntesis *de novo*. Se ha sugerido que el sistema Nrf2-Keap1 contribuye a la protección contra varias patologías como el cáncer, la toxicidad hepática y la inflamación.

Se ha observado en estudios *in vitro* que la CFA fosforila a Nrf2 a través de la vía MAPK, la cual realiza una modificación tiol en los residuos de cisteína en Keap1, que interrumpe el complejo Keap1/Nrf2 citoplásmico, liberando así Nrf2 y permitiendo su translocación al núcleo, donde activa la transcripción de genes dependientes de ARE (figura 46.6-5).

El Nrf2 es un factor de transcripción sensible a reacciones redox y tiene un papel pivote en la homeostasis redox durante el estrés oxidativo. Nrf2 es secuestrado en el citosol por la proteína inhibitoria Keap1, que causa su degradación proteosomal. En respuesta al estrés oxidativo, el Nrf2 es activado, translocado a núcleo, donde se une al elemento de respuesta antioxidante (ARE) en la región promotora de sus genes blanco (genes antioxidantes y detoxificantes), y sobreexpone su expresión.

La función de Nrf2 puede ser significativa en enfermedades que cursan con un estado de estrés oxidativo, como la cirrosis hepática. Para combatir estos tipos de estrés, las células tienen sistemas de defensa regulados a nivel molecular. Dentro de estos sistemas hay grupos especializados de proteínas conocidas como factores de transcripción, mismos que regulan la expresión basal e inducible de numerosos genes de detoxificación de fase II, a través del reconocimiento de elementos de DNA específicos en su región promotora conocidos como elementos de respuesta antioxidante (ARE).

La región de ARE contiene 5-(A/G)TGA(C/G)NNNGC(A/G)-3, donde los tres nucleótidos designados como “NNN” pueden contribuir a la actividad del elemento *cis*. La CFA activa estas vías antioxidantes (figura 46.6-5). Hay elementos presentes en la región promotora o intensificadora que actúan en *cis*, los cuales se encuentran en los genes con respuesta antioxidante. Se ha reportado que la

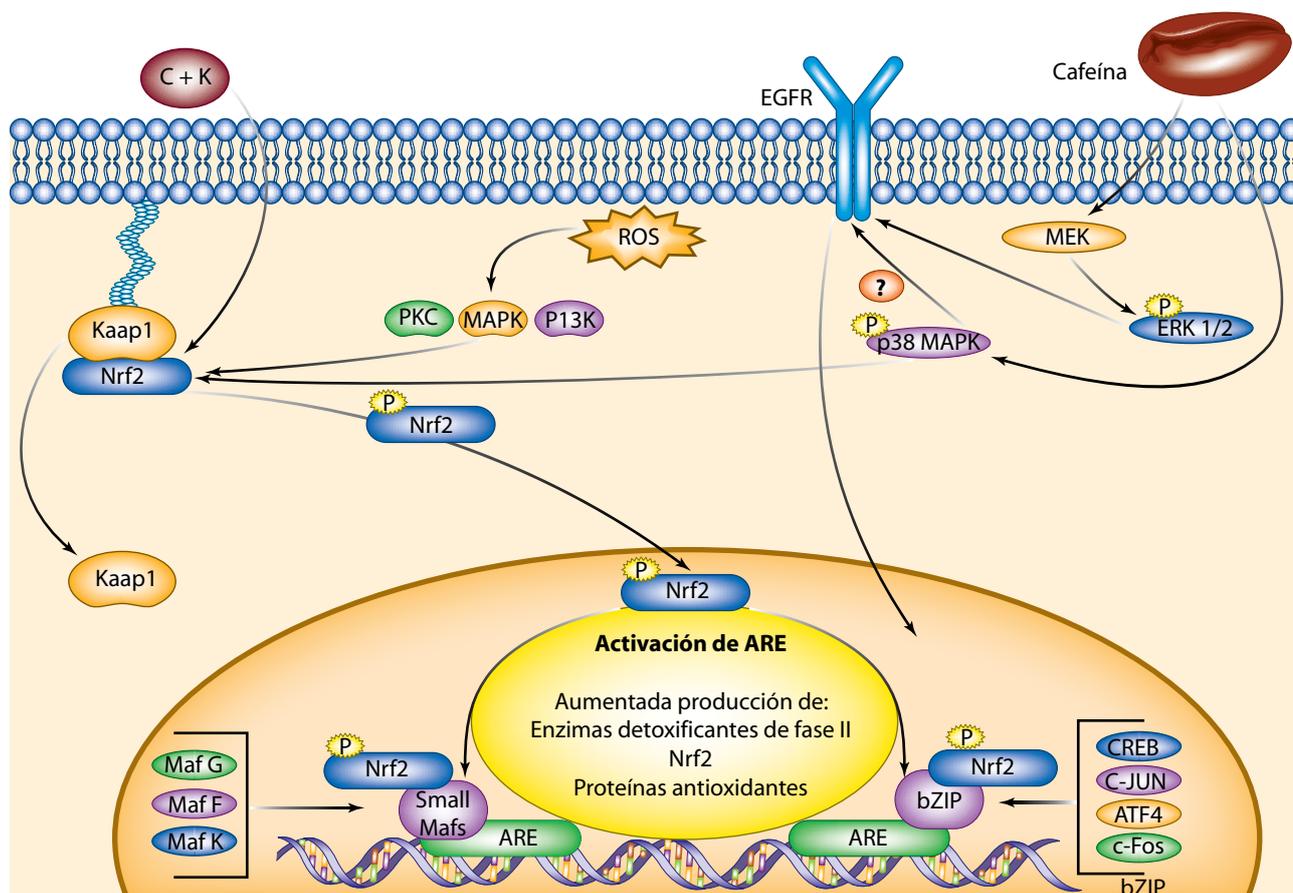


Figura 46.6-5. Efecto antioxidante de la CFA (Fuente: Muriel P *et al.* Fitoterapia, 2010;81:297-305).

glutación-S-transferasa (GST), la NAD(P)H quinona-reductasa (NQO-1) y la hemooxigenasa 1 (HO-1) son reguladas por ARE.

El Nrf2 tiene una vida media de 13 a 20 min debido a su degradación proteosomal continua, que es alargada durante situaciones de estrés; sin embargo, se ha observado que se puede duplicar en presencia de elementos antioxidantes como la quercetina y probablemente la CFA tenga el mismo efecto. También se ha sugerido que, durante el estrés oxidativo, el Nrf2 tiene una tasa de síntesis normal, pero su tasa de degradación disminuye, provocando su acumulación nuclear, y probablemente, una aumentada actividad transcripcional en sus genes blanco, como lo podrían ser SOD y CAT (no existen estudios al respecto).

En un estudio *in vivo* se observó que la CFA no sólo aumenta la expresión de CAT a nivel de RNAm, sino que también aumenta su actividad antioxidante hasta más de 500 veces, y el Nrf2 se vio aumentado en los grupos tratados con CFA; éste podría ser activado, translocado a núcleo, unirse a ARE en la región promotora de sus genes blanco (probablemente SOD y CAT), sobreregular su expresión y duplicar su vida media.

Efecto en la transición epitelio-mesénquimal de las CEH

En un hígado normal, las CEH son almacenadoras de vitamina A. Las CEH son consideradas la pieza clave del proceso fibrogénico. Después de una agresión al hígado, las CEH cursan por un proceso llamado “activación” o transición epitelio-mesénquimal (TEM), de un estado de reposo característico por su fenotipo de almacenaje de lípidos, a un fenotipo tipo fibroblasto. La TEM de las CEH es caracterizado por cambios morfológicos, como: la expresión de la proteína de citoesqueleto α -actina de músculo liso (α -SMA) y producción de colágena tipo I, lo cual promueve un estado de fibrosis y, potencialmente, de cirrosis hepática. Este estado de activación es perpetuado por factores de crecimiento como TGF- β y CTGF, moléculas proinflamatorias como TNF- α IL-1 β e IL6, y ROS.

El gen de Snail1 pertenece a la familia de genes Snail, los cuales son factores de transcripción tipo dedos de cinc, esenciales para las decisiones de muerte y supervivencia. Éstos actúan como represores transcripcionales

mediante su unión a las secuencias E-box, que son sitios consenso del sitio de unión de los factores de transcripción básicos (hélice-asa-hélice).

La función mejor conocida de los genes Snail es la inducción de la transición epitelio-mesénquima (TEM) durante el desarrollo embrionario y la progresión de tumor; también pueden regular la adhesión celular y la migración, y conferir propiedades de supervivencia. Existe evidencia de la regulación de Snail1 a nivel transcripcional mediante la activación de diferentes vías de señalización, incluyendo ERK2, NFκB y PI3-quinasa, y todas han sido involucradas en el proceso de activación de las CEH.

El Snail1 se une a la secuencia consenso E-box en la región promotora de genes blanco, actuando como un represor transcripcional, también es posible que actúe de forma indirecta en la represión de genes antifibrogénicos y antiinflamatorios, factores de transcripción y/o enzimas modificadoras de la cromatina.

La represión de PPARγ es crucial para la transdiferenciación de CEH en reposo a miofibroblastos, y podría ser un blanco potencial de Snail1, ya que el promotor del gen de PPARγ contiene seis elementos E-box, y se ha observado que el silenciamiento de Snail1 resulta en un aumento significativo de la expresión de PPARγ.

En un estudio se observó que la CFA es capaz de disminuir los niveles de Snail1 a nivel transcripcional y de proteína, impidiendo la TEM de los hepatocitos. Se ha reportado una sobreexpresión del gen Snail1 en condiciones patológicas asociadas con la deposición de tejido fibrótico, como la TEM. Probablemente la CFA, por algún mecanismo, como la dis-

minución en la expresión de TGF-β, el aumento en la expresión de enzimas antioxidantes SOD y CAT y el aumento en la expresión de PPARγ en CEH pueda ya sea disminuir la expresión de Snail1 o alterar su función. En general, los estudios demuestran que el factor de transcripción Snail1 está involucrado en el proceso de activación de las CEH y la reparación hepática, ofreciendo las bases para la realización de futuros estudios y el probable desarrollo de estrategias terapéuticas para la prevención de la fibrosis hepática, como la CFA.

Dosis

Con objetivo de gozar los efectos antioxidantes y benéficos de la cafeína para la prevención de enfermedades crónico-degenerativas, se recomienda el consumo de 2 a 4 tazas de café al día. Es recomendada en guías de consumo de bebidas saludables para la población mexicana y tiene un bajo contenido calórico (5 kcal/taza). La dosis de cafeína puede variar según el tipo de bebida (figura 46.6-6) y es importante mencionar que la preparación de las bebidas debe ser lo más natural posible para conservar estos efectos y evitar azúcares añadidos.

Conclusión

Las bebidas naturales que contienen cafeína, como el café, tienen gran capacidad antioxidante y se pueden incluir de manera sencilla en la dieta, dado que dicha sustancia ha presentado efectos benéficos para la salud al consumirla en las dosis recomendadas en investigaciones científicas. Es importante tener en cuenta si la persona que va a consumir café tiene alguna patología, ya que la mayoría de los efectos mostrados son de carácter preventivo.

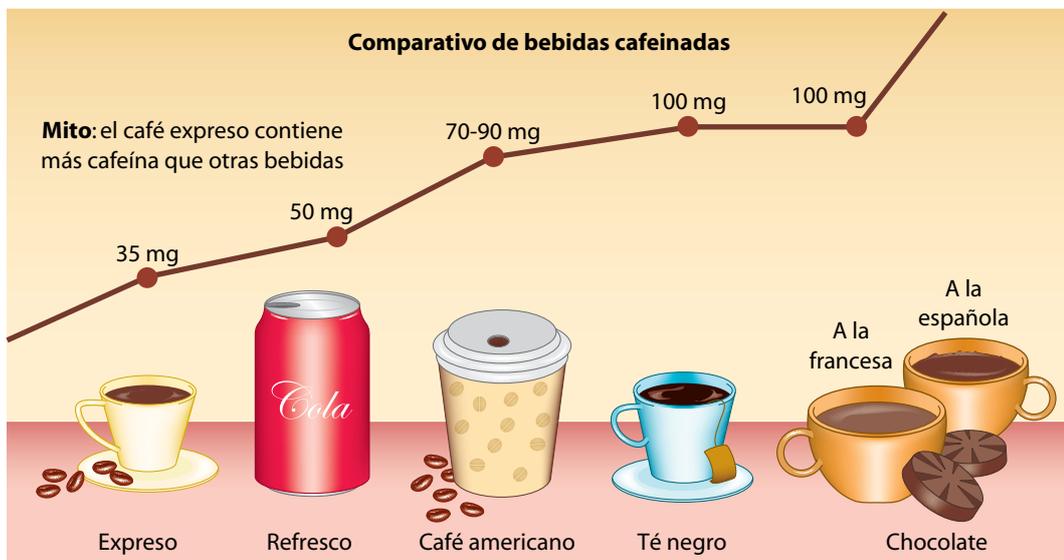


Figura 46.6-6. Contenido de cafeína en bebidas.

Dentro de los efectos preventivos de la CFA que se observaron en diferentes estudios en fibrosis hepática se encuentran los siguientes:

- a) Antifibrogénico, mediante la inhibición de la expresión hepatocelular del factor de crecimiento de tejido conjuntivo (CTGF) debido a la inducción de la degradación proteosomal del mediador de señales del TGF- β Smad2 y la inhibición de la fosforilación de Smad 1 y 3.
- b) Antiinflamatorio, disminuyendo la expresión de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IL-6, y la disminución del infiltrado inflamatorio en tejido hepático.
- c) Antioxidante, ya que la CFA fosforila Nrf2 a través de la vía MAPK. La forma activa de Nrf2 se transloca al

núcleo donde induce la transcripción de genes dependientes de elementos de respuesta antioxidante (ARE), y un aumento en la actividad de la enzima antioxidante CAT, por lo que previene la producción y acumulación de MEC (fibrosis).

En los estudios analizados también se observó que el consumo de café disminuye la progresión de hepatitis C, disminuye el riesgo a desarrollar diabetes mellitus 2, reduce el riesgo de presentar un infarto al miocardio, disminuye el riesgo de mortalidad por alguna enfermedad cardiovascular y/o podría mejorar el pronóstico posterior a un infarto.

En resumen, la CFA es una molécula con capacidad antifibrogénica, antiinflamatoria y antioxidante (**figura 46.6-7**).

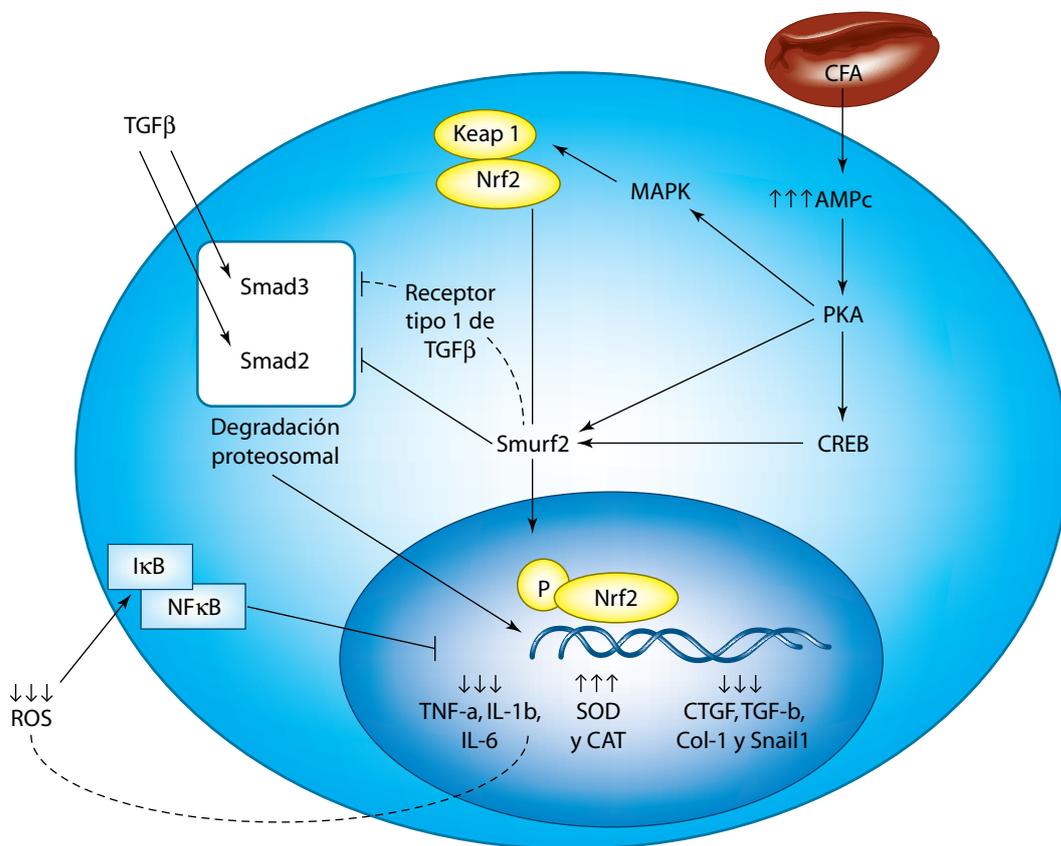


Figura 46.6-7. Mecanismos de la CFA en la prevención de la cirrosis hepática.

BIBLIOGRAFÍA

- Akashi I, Keisuke K, Toshihiko H, Kitaro O. Protective effects of coffe-derived compound on lipopolysaccharide/D-galactosamine induced acute liver injury in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2009;61:473-478.
- Aleksunes LM, Manautou JE. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease. *Toxicol Pathol*, 2007;35:459-473.
- Apurva A, Modi J, Park Y, Kleiner DE, Everhart JE, Liang J, Hoofnagle JH. Increased caffeine consumption is associated with reduced hepatic fibrosis. *Hepatology*, 2010;51:201-209.
- Bachelder RE, Yoon SO, Franci C, García de Herreros A, Mercurio AM. Glycogen synthase kinase-3 is an endogenous inhibitor of Snail transcription: implications for the epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Biol*, 2005;168:29-33.
- Barbera MJ, Puig I, Dominguez D, Julien-Grille S, Guaita-Esteruelas S, Peiró S *et al.* Regulation of Snail transcription during epithelial to mesenchymal transition of tumor cells. *Oncogene*, 2004;23:7345-7354.
- Barrallo-Gimeno A, Nieto MA. The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer. *Development*, 2005;132:3151-3161.
- Benowitz NL, Jacob P, Mayan H, Denaro C. Sympathomimetic effects of paraxanthine and caffeine in humans. *Clin Pharmacol Ther*, 1995;58:684-691.
- Brigstock DR. Regulation of angiogenesis and endothelial cell function by connective tissue growth factor (CTGF) and cysteine-rich 61 (CYR61). *Angiogenesis*, 2002;5:153-165.
- Carrillo JA, Benitez J. Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications. *Clin Pharmacokinet*, 2000;39:127-153.
- Chan ESL, Montesinos MC, Fernandez P, Desai A, Delano DL, Yee H *et al.* Adenosine A2A receptors play a role in the pathogenesis of hepatic cirrhosis. *British Journal of Pharmacology*, 2006;148:1144-1155.
- Chen G, Goeddel DV. (2002) TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*, 2002;296(5573):1634-1635.
- Cho HY, Kleeberger SR. Nrf2 protects against airway disorders. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010;244:43-56.
- Cicchini C, Filippini D, Coen S, Marchetti A, Cavallari C, Laudadio I *et al.* Snail controls differentiation of hepatocytes by repressing HNF4alpha expression. *J Cell Physiol*, 2006;209:230-238.
- Cruz M, Velasco E, Kumate J. Señales intracelulares que intervienen en el control de la glucosa. *Gac Méd Méx*, 2011;137(2):134-146.
- De Craene B, Van Roy F, Berx G. Unraveling signalling cascades for the Snail family of transcription factors. *Cell Signal*, 2005;17:535-547.
- Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med*, 1916;17:863-871.
- Du Bois D, Du Bois EF. The measurement of the surface area of man. *Arch Intern Med*, 1915;15:868-881.
- Fajas L, Auboeuf D, Raspé E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R *et al.* The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR gamma gene. *J Biol Chem*, 1997;272:18779-18789.
- Friedman SL. Liver fibrosis—from bench to bedside. *J Hepatol*, 2003;38:S38-S53.
- Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterol*, 2008;134:1655-1669.
- Gordillo-Bastidas D, Ocegüera-Contreras E. Molecular mechanism of caffeine in the prevention of experimental liver cirrhosis. *Hepatology*, 2011;54(S1):360A-1455A.
- Gordillo-Bastidas D, Ocegüera-Contreras E, Salazar-Montes A, González-Cuevas J, Hernández-Ortega LD, Armendáriz-Borunda J. Nrf2 and Snail-1 in the prevention of experimental liver fibrosis by caffeine. *World Journal of Gastroenterology*, 2013;19(47):9020-9033.
- Gressner OA. Less Smad2 is good for you! A scientific update on coffee's liver benefits. *Hepatology*, 2009;50:970-978.
- Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Liver Int*, 2008;28:1065-1079.
- Gressner OA, Lahme B, Rehbein K, Siluschek M, Weiskirchen R, Gressner AM. Pharmacological application of caffeine inhibits TGF- α -stimulated connective tissue growth factor expression in hepatocytes via PPAR α and SMAD2/3-dependent pathways. *J Hepatol*, 2008;49:758-767.
- Hayden M, Ghosh S. Signaling to NF- κ B. *Genes & Development*, 2004;18:2195-2224.
- Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, Yamamoto M. Keap-1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev*, 1999;13:76-86.
- Jain AK, Jaiswal AK. Phosphorylation of tyrosine 568 controls nuclear export of Nrf2. *J Biol Chem*, 2006;281:12132-12142.
- Jin W, Wang H, Yan W, Xu L, Wang X, Zhao X, Yang X *et al.* Disruption of Nrf2 enhances upregulation of NF- κ B activity, proinflammatory cytokines, and intercellular adhesion molecule-1 in the brain after traumatic brain injury. *Mediators Inflamm*, 2008;2008:725174.
- Kalthoff S, Ehmer U, Freiberg N, Manns MP, Strassburg CP. Coffee induces expression of glucuronosyltransferases by the aryl hydrocarbon receptor and Nrf2 in liver and stomach. *Gastroenterol*, 2010;139(5):1699-1710.

- Katoh Y, Iida K, Kang MI, Kobayashi A, Mizukami M, Tong KI *et al.* Evolutionary conserved N-terminal domain of Nrf2 is essential for the Keap1-mediated degradation of the protein by proteasome. *Arch Biochem Biophys*, 2005;433:342-350.
- Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007;47:89-116.
- Kobayashi A, Kang MI, Watai Y, Tong KI, Shibata T, Uchida K, Yamamoto M. Oxidative and electrophilic stresses activate Nrf2 through inhibition of ubiquitination activity of Keap1. *Mol Cell Biol*, 2006;26:221-229.
- Kobayashi A, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species. *Advan Enzyme Regul*, 2006;46:113-140.
- Kot M, Wladyslawa D. Relative contribution of rat cytochrome P450 isoforms to the metabolism of caffeine: The pathway and concentration dependence. *Biochemical Pharmacology*, 2008;75:1538-1549.
- Kot M, Wladyslawa D. The relative contribution of human cytochrome P450 isoforms to the four caffeine oxidation pathways: An in vitro comparative study with cDNA-expressed P450s including CYP2C isoforms. *Biochemical Pharmacology*, 2008;76:543-551.
- Lee JM, Johnson JA. An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. *J Biochem Mol Bio*, 2004;37:139-143.
- Lo SC, Li X, Henzl MT, Beamer LJ, Hannink M. Structure of the Keap1:Nrf2 interface provides mechanistic insight into Nrf2 signaling. *EMBO J*, 2006;25:3605-3617.
- McMahon M, Thomas N, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD. Redox-regulated turnover of Nrf2 is determined by at least two separate protein domains, the redox-sensitive Neh2 degron and the redox-insensitive Neh6 degron. *J Biol Chem*, 2004;279:31556-31567.
- Modi A, Feld JJ, Park Y, Kleiner DE, Everhart JE, Liang TJ, Hoofnagle JH. Increased caffeine consumption is associated with reduced hepatic fibrosis. *Hepatology*, 2010;51:201-209.
- Mukwevho E, Kohn TA, Lang D, Nyatia E, Smith j, Ojuka EO. Caffeine induces hyperacetylation of histones at the MEF2 site on the Glut4 promoter and increases MEF2A binding to the site via a CaMK-dependent mechanism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008;294:E582-E588.
- Muriel P, Arauz J. Coffee and liver diseases. *Fitoterapia*, 2010;81:297-305.
- Nguyen T, Sherrat PJ, Huang HC, Yang CS, Pickett CB. Increased protein stability as a mechanism that enhances Nrf2 mediated transcriptional activation of the antioxidant response element. Degradation of Nrf2 by the 26S proteasome. *J Biol Chem*, 2003;278:4536-4541.
- Nieto MA. The snail superfamily of zinc-finger transcription factors. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002;3:155-166.
- Novo E, Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogen Tissue Repair*, 2008;1:5-62.
- Okano J, Nagahara T, Matsumoto K, Murawaki Y. Caffeine inhibits the proliferation of liver cancer cells and activates the MEK/ERK/EGFR signalling pathway. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008;102:543-55.
- Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarotto E. Oxidative stress and cell signaling. *Curr Med Chem*, 2004;11:1163-1182.
- Reagan-Shaw S. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J*, 2007;22:659-661.
- Rivera JA, Muñoz-Hernández O, Rosas-Peralta M, Aguilar-Salinas CA, Popkin BM, Willett WC. Consumo de bebidas para una vida saludable: Recomendaciones para la población mexicana. *Salud Pública de México*, 2008;50:173-195.
- Rowe RG, Li XY, Hu Y, Saunders TL, Virtanen I, Garcia de Herreros A *et al.* Mesenchymal cells reactivate Snail1 expression to drive three-dimensional invasion programs. *J Cell Biol*, 2009;184:399-408.
- Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and tea consumption are associated with a lower incidence of chronic liver disease in the United States. *Gastroenterol*, 2005;129:1928-1936.
- Rushmore TH, Morton MR, Pickett CB. The antioxidant responsive element activation by oxidative stress and identification of the DNA consensus sequence required for functional activity. *J Biol Chem*, 1991;266:11632-11639.
- Saile B, Ramadori G. Inflammation, damage repair and liver fibrosis – Role of cytokines and different cell types. *Z Gastroenterol*, 2007;45:77-86.
- Sato M, Muragaki Y, Saika S, Roberts AB, Ooshima A. Targeted disruption of TGF-beta1/Smad3 signalling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *J Clin Invest*, 2003;112:1486-1494.
- Scarpa M, Grillo AR, Brun P, Macchi V, Stefani A, Signori S *et al.* Snail1 transcription factor is a critical mediator of hepatic stellate cell activation following hepatic injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011;300:G316-G326.
- Serpaggi J, Carnot F, Nalpas B, Canioni D, Guéchet J, Lebray P *et al.* Direct and indirect evidence for the reversibility of cirrhosis. *Hum Pathol*, 2006;37(12):1519-1526.
- Shulman AI, Mangelsdorf DJ. Retinoid X receptor heterodimers in the metabolic syndrome. *New Engl J Med*, 2005;353(6):604-615.

- Sokol R, Straka M, Dahl R, Devereaux MW, Verushalmi B, Gumprich E *et al.* Role of oxidant stress in the permeability transition induced in rat hepatic mitochondria by hydrophobic bile acids. *Pediatr Res*, 2001;49:519-531.
- Sotos-Prieto M, Carrasco P, Sorlí JV, Guillén M, Guillém-Sáiz P, Quiles L, Corella D. Coffee and tea consumption in a high cardiovascular risk Mediterranean population. *Nutr Hosp*, 2010;25(3):388-393.
- Sun Z, Huang Z, Zhang DD. Phosphorylation of Nrf2 at multiple sites by MAP kinases has a limited contribution in modulating the Nrf2-dependent antioxidant response. *PLoS One*, 2009;4:e6588-e6596.
- Tobar N, Villar V, Santibanez JF. ROS-NFkappaB mediates TGF-beta1-induced expression of urokinase-type plasminogen activator, matrix metalloproteinase-9 and cell invasion. *Mol Cell Biochem*, 2010;340(1-2):195-202.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006;160:1-40.
- Yang Z, Rayala S, Nguyen D, Vadlamudi RK, Chen S, Kumar R. Pak1 phosphorylation of Snail, a master regulator of epithelial-to-mesenchyme transition, modulates snail's subcellular localization and functions. *Cancer Res*, 2005;65:3179-3184.
- Yoshikawa M, Hishikawa K, Marumo T, Fujita T. Inhibition of histone deacetylase activity suppresses epithelial-to-mesenchymal transition induced by TGF-beta1 in human renal epithelial cells. *J Am Soc Nephrol*, 2007;18(1):58-65.
- Zhao C, Chen W, Yang L, Chen L, Stimpson SA, Diehl AM. PPAR α agonists prevent TGF β 1/Smad3-signaling in human hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006;350(2):385-391.
- Zhou BP, Deng J, Xia W, Xu J, Li YM, Gunduz M, Hung MC. Dual regulation of Snail by GSK-3 β -mediated phosphorylation in control of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Cell Biol*, 2004;6:931-940.