

Anti-oxydants et prévention des maladies cardiovasculaires

3^{ème} partie: caroténoïdes et vitamine A

J Pincemail, JO Defraigne, M Meurisse et R Limet

Services de Chirurgie Cardiovasculaire et de Transplantation d'Organes, ULg, Liège

Mots-clés: maladies cardiovasculaires - stress oxydatif - espèces oxygénées activées - caroténoïdes - β -carotène - vitamine A - prévention - diagnostic - traitement

Introduction

De plus en plus d'études expérimentales chez l'homme et l'animal suggèrent que les lipoprotéines oxydées résultant d'un stress oxydatif provoqué par une production excessive d'espèces oxygénées activées (EOA) peuvent jouer un rôle prépondérant dans le développement de l'athérosclérose et des diverses maladies cardiovasculaires qui peuvent en résulter. Si cette hypothèse est vraie, l'utilisation d'une thérapie anti-oxydante devrait jouer un rôle significatif dans la prévention de ces maladies. Après deux articles consacrés aux vitamines C et E (1, 2), nous examinerons dans celui-ci les effets d'une autre grande famille d'antioxydants, les caroténoïdes dont le β -carotène est la molécule la plus connue.

Propriétés biologiques des caroténoïdes

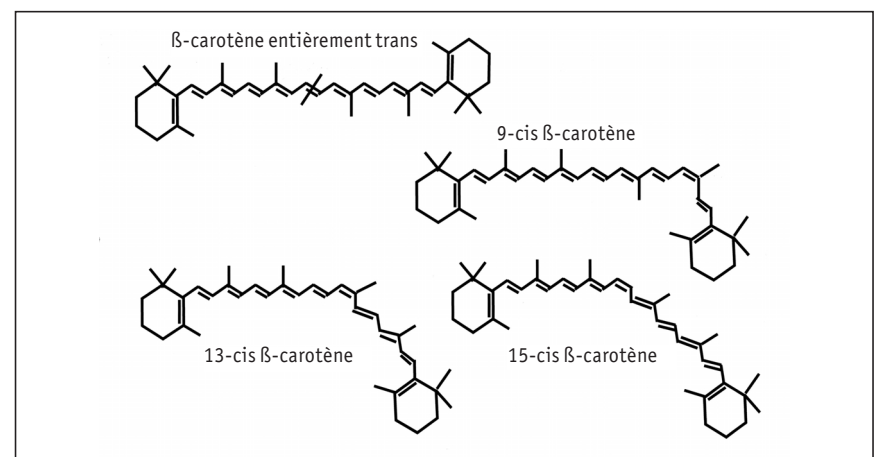
Les caroténoïdes, dont plus de 500 composés différents ont été identifiés jusqu'à présent, sont de longues molécules à caractère lipophile. Ces composés naturels possèdent pour la plupart dans leur structure chimique de très nombreuses doubles liaisons conjuguées qui sont responsables de leur activité anti-oxydante (Figure 1). Ils sont très abondants comme pigments dans les plantes mais seul un petit nombre d'entre eux se retrouvent en quantité appréciable dans le sang et les tissus humains. Malgré de grandes similitudes dans leur structure, les

caroténoïdes ont des fonctions biologiques différentes d'un composé à l'autre. Par dégradation oxydative, certains caroténoïdes (\pm une petite soixantaine) servent de précurseurs à la vitamine A (rétinol) dont le rôle est primordial dans la perception visuelle. Parmi tous les caroténoïdes, le β -carotène, isolé pour la première fois par Euler en 1928, est celui qui possède le plus grand potentiel d'activité provitaminique A (Figure 1).

Indépendamment de cette activité, d'autres caroténoïdes peuvent augmenter la réponse immunitaire chez l'homme. Dans différentes lignées cellulaires, certains caroténoïdes (lycopène, lutéine, zéaxanthine, crytoxanthine) agissent de manière spécifique et très efficace dans la suppression de tumeurs cellulaires. Le lycopène et le β -carotène sont susceptibles d'améliorer la communication des signaux régulateurs de croissance entre cellules empêchant ainsi certaines d'entre elles intoxiquées par des produits carcinogènes de devenir malignes.

La découverte en 1968 par Foote et al (3) que le β -carotène était un puissant désactivateur de l'oxygène singulet (1O_2), une espèce oxygénée activée particulièrement toxique, et donc un protecteur de la membrane lipidique, fut une étape importante dans la compréhension des effets biologiques des caroténoïdes. Par la suite, différentes études ont montré que le lycopène, un caroténoïde structurellement proche du β -carotène, était le piègeur (*quencher*) le plus efficace de l'oxygène singulet (4). Les caroténoïdes peuvent aussi interagir avec des radicaux lipidiques et inhiber ainsi la peroxydation lipidique (5). Le β -carotène peut-il inhiber l'oxydation des lipoprotéines? L'analyse de la littérature montre que ce sujet est matière à controverse. Une étude chez l'homme (6) révèle qu'une prise orale et unique de 20.000UI de vitamine A permet de réduire significativement la susceptibilité à l'oxydation des *low density lipoproteins* (LDL). Par contre, Gaziano et al (7) ne confirment pas ce

Figure 1: Isomères trans et cis du β -carotène. Dans l'isomère entièrement trans, le trait indiqué le point de coupure oxydative conduisant à la vitamine A



résultat chez 16 sujets ayant pris pendant 3 semaines entre 50 et 100mg de β -carotène par jour. Sun et al (8) et Shaish et al (9) montrent qu'un apport en β -carotène peut inhiber le développement de l'athérosclérose chez des lapins hypercholestérolémiques. En revanche, Burchenal et al (10) n'ont mis en évidence aucun effet du β -carotène sur la resténose chez des lapins recevant une alimentation enrichie en cholestérol.

Toxicité des caroténoïdes et de la vitamine A

Les apports journaliers recommandés (AJR) en β -carotène et vitamine A sont respectivement de 3mg et 800 μ g. Le premier cas de toxicité de la vitamine A fut observé en 1857 chez des explorateurs de l'Arctique qui consommaient de grandes quantités de foie d'ours polaire. Chez l'enfant, des doses de 45 à 180mg de vitamine A provoquent une toxicité aiguë (anorexie, vomissements, somnolence) tandis qu'une absorption de 1,2g chez un adulte entraînent une altération de la vision, des nausées et des faiblesses musculaires.

Des doses de 10 à 36mg de vitamine A par jour provoquent une toxicité chronique chez l'enfant tandis que celle-ci s'observe chez l'adulte consommant de 60 à 360mg de vitamine A par jour pendant plusieurs mois. Dans notre organisme, la vitamine A est liée à une protéine qui est produite par le foie (*retinol binding protein*). L'hypervitaminose A résulte donc d'une déficience en cette protéine. L'ingestion excessive de carottes ou de 30mg de β -carotène par jour provoque la caroténémie qui se traduit par une coloration de la peau en jaune orange. Cette situation considérée comme étant bénigne ne risque toutefois pas de déboucher sur un empoisonnement à vitamine A car la conversion du β -carotène en cette dernière est lente.

Aspects préventifs du β -carotène

Etudes épidémiologiques reposant sur les apports alimentaires et complémentaires en β -carotène

Contrairement au cancer, relativement peu de travaux examinant l'effet du β -carotène sur la prévention des maladies cardiovasculaires sont disponibles. L'étude la plus conséquente est celle de Gaziano et al (11) qui, dans une étude prospective de 5 ans sur 1.299 sujets âgés, ont mis en évidence une relation inverse entre l'apport alimentaire en β -carotène et les décès pour causes cardiovasculaires. Dans la *Health Professionals Follow-up Study*, des questionnaires évaluant l'alimentation ont été envoyés à 51.529 hommes (40-75 ans) ayant des professions en rapport avec la santé aux Etats-Unis. Après 4 années de suivi, Rimm et al (12) ont observé que la prise de

β -carotène par l'alimentation n'était pas associée à un risque réduit d'accidents cardiovasculaires chez les personnes n'ayant jamais fumé. Par contre, chez les fumeurs chroniques, le risque relatif qui est de 1 pour un apport < 5.030UI de β -carotène, diminue jusqu'à 0,66 avec un apport alimentaire en β -carotène compris entre 7.020 et 9.592UI et atteint 0,30 lorsque l'apport est supérieur ou égal à 14.388UI. Cette observation ne se retrouve toutefois pas chez les 87.245 femmes (34-59 ans) ayant participé à la *Nurses' Health Study* réalisée par Masson et al (13). La *Western Electric Study* publiée par Pandey et al (14) a montré sur une population américaine de 1.556 hommes (40-55 ans) que la mortalité coronarienne était réduite de 30% chez les sujets ayant une consommation élevée en vitamine C et β -carotène. En Europe, la *Scottish Heart Health Study* de Todd et al (15) réalisée sur 10.359 personnes et l'étude finlandaise de Heliovaara et al (16) a confirmé ces observations chez les hommes.

Etudes épidémiologiques basées sur le taux sanguin de β -carotène

Au début des années 90, plusieurs études ont montré qu'il existait une relation inverse entre des taux sanguins bas en β -carotène et l'apparition ou la présence de problèmes cardiovasculaires. Riemersma et al (17) ont observé dans la *Edinburgh Angina Control Study* une valeur plasmatique de $0,30 \pm 0,03\mu\text{mol/l}$ chez 110 patients souffrant d'angine de poitrine contre un taux de $0,49 (0,02\mu\text{mol/l})$ dans une population témoin de 394 personnes, la moyenne d'âge pour tous les sujets étant comprise entre 35 et 54 ans. Cette différence reste significative après ajustement pour l'âge, la pression sanguine, le cholestérol, le poids relatif et la consommation de cigarettes. Chez 216 hommes hypercholestérolémiques, Salonen et al (18) ont montré une corrélation inverse entre le β -carotène et l'augmentation de l'épaisseur maximale intima-média au niveau carotidien après ajustement pour l'âge, le cholestérol lié aux LDL et la pression sanguine. Ce résultat fut confirmé récemment pour d'autres caroténoïdes (lutéine et zéaxanthine) dans l'étude *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) d'Iribarren et al (19) mais avec une association beaucoup plus modeste. Street et al (20) ont publié les résultats préliminaires de la *Washington County Study* portant sur 25.802 personnes ayant donné 15 ml de sang en 1974 en vue de constituer une banque de sérum. Les échantillons furent ensuite soigneusement gardés congelés pendant une quinzaine d'années avant de déterminer leur taux de β -carotène. Il apparaît de manière significative que les 123 personnes pour lesquelles un infarctus du myocarde a été diagnostiqué, soit dès 1974 ou entre 1981 et 1988, présentaient au départ de l'étude un taux sanguin de β -carotène (mais aussi de lutéine, un autre caroténoïde) significativement plus faible que celui d'une population témoin ne

développant aucun trouble cardiaque. La présence de ce risque se limite toutefois aux fumeurs.

Dans une étude réalisée à Ankara en Turquie, Torun et al (21) ont montré que la valeur moyenne de β -carotène circulant est de $1,53\mu\text{mol/l}$ chez 195 patients ayant développé un accident cardiovasculaire contre $2,2\mu\text{mol/l}$ dans une population témoin; les plus basses concentrations en β -carotène ($0,72\mu\text{mol/l}$) se retrouvant chez les patients ayant développé un infarctus aigu du myocarde. Dans cette étude, aucun ajustement n'était toutefois fait pour la consommation d'alcool et de cigarettes.

La même association inverse entre taux réduits de β -carotène circulant et prévalence accrue d'accidents coronariens se retrouve également dans l'étude indienne *Peerzada Prospective Study* de Singh et al (22) ($0,33 \pm 0,06\mu\text{mol/l}$ vs $0,55 \pm 0,08\mu\text{mol/l}$ dans une population sans risque; cette relation persistant après ajustement pour le diabète et la consommation de cigarettes) ainsi que dans l'étude coréenne de Kim et al (23). La récente étude suédoise de Kristenson et al (24) est très intéressante car elle a comparé les taux sanguins en β -carotène entre 101 et 109 hommes âgés de 50 ans respectivement originaires de Linköping en Suède et de Vilnius en Lituanie. Il faut savoir qu'entre ces deux populations, il existe, pour cette tranche d'âge, un risque de développer des accidents coronariens qui est 4 fois plus grand chez les Lithuaniens que chez les Suédois. L'analyse sanguine a montré que les Lithuaniens présentent des taux de β -carotène mais aussi de lycopène beaucoup plus bas que les Suédois (377 vs 510nmol/l pour le premier caroténoïde et 327 vs 615nmol/l pour le second). Parallèlement, il apparaît que la résistance des LDL à l'oxydation est plus faible chez les hommes de Vilnius.

Dans l'*Euramic Study* portant sur des patients provenant de huit pays européens et d'Israël, Kardinaal et al (25) ont observé que la concentration en β -carotène du tissu adipeux est significativement plus faible chez 674 sujets ayant développé un premier infarctus du myocarde ($0,35\mu\text{g/g}$) que dans une population témoin de 725 personnes ($0,42\mu\text{g/g}$). Ce risque accru est principalement relié aux fumeurs. Dans la même étude, une association inverse identique a été mise en évidence par Kohlmeier et al (26) avec le lycopène.

Tous ces résultats obtenus sur des échantillons restreints de population ont été confirmés dans des études de type cohortes. Dans la *Prospective Basel Study* (déjà évoquée dans le cadre de la vitamine E), Eichholzer et al (27) ont montré que, sur une population de 2.974 personnes, les 163 sujets décédés des suites d'un accident cardiovasculaire présentaient au départ de l'étude des taux sanguins de β -carotène beaucoup plus bas que ceux d'une population témoin. Morris et al (28) ont

publié ensuite les résultats de la *Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial and Follow-up Study* (LCR-CPPT population) portant sur 1.899 Américains (40-59 ans) présentant une hyperlipémie de type IIA. Sur un suivi de 13 ans, il se dégage que l'apparition d'accidents cardiovasculaires est beaucoup plus basse chez les patients ayant des taux sanguins en caroténoïdes élevés au début de l'étude. Cette observation a été confirmée un peu plus tard par l'autre étude américaine de Greenberg et al (29) portant sur 1.188 hommes et 532 femmes d'une moyenne d'âge de 63 ans.

Etudes d'intervention avec apport en β -carotène

La *Physician's Health Study*, étude randomisée et réalisée en double aveugle contre un placebo, fut la première étude du genre réalisée sur 22.071 médecins américains âgés de 40 à 84 ans. Après deux ans de suivi, Gaziano et al (30) ont conclu qu'une supplémentation journalière de 50mg par jour en β -carotène réduit significativement de 44% l'incidence des accidents coronariens. Après 12 ans de suivi, Hennekens et al (31) modèrent fortement la portée de ces résultats encourageants puisqu'ils ne peuvent, par contre, observer de différence significative dans la mortalité coronarienne entre groupes placebo et traité.

Au milieu des années 80, fut lancée l'*Alpha-Tocopherol Beta Carotene Study* (ATBC) dont le but était d'évaluer sur l'apparition de maladies cardiovasculaires l'effet d'un apport quotidien de 20mg de β -carotène pendant 8 ans chez 29.133 Finlandais ayant un tabagisme important mais ne présentant au départ aucun problème cardiovasculaire (32). Sur 1.473 cas à issue fatale, l'étude montra un nombre plus important de décès dans le groupe β -carotène (taux de mortalité: 77,1 pour mille) que dans le groupe placebo (taux de mortalité: 68,9 pour mille). Cette observation fut confirmée dans la *Carotene and Retinol Efficacy Trial* (CARET) réalisée par Omenn et al (33) sur 18.300 personnes prenant chaque jour 30mg de β -carotène et 25.000UI de vitamine A. Cette étude multicentrique fut d'ailleurs interrompue prématurément à 21 mois de son terme en raison d'un nombre accru de décès par cancer (risque relatif de 1,28) et par accidents cardiovasculaires (risque relatif de 1,26) par rapport au groupe placebo. Par contre, Greenberg et al (34) n'ont observé aucun effet ni positif ni négatif sur l'incidence de la mortalité cardiaque chez 1.188 hommes et 532 femmes (âge moyen: 63 ans) ayant pris pendant 4 ans 50mg de β -carotène. Récemment, une étude finlandaise menée par Rapola et al (35) a montré qu'une absorption de 20mg par jour de β -carotène n'avait aucun effet sur les symptômes, la progression et le diagnostic de l'angine de poitrine dans une population de 1.795 fumeurs âgés de 50 à 69 ans.

Dans une étude randomisée et placebo contrôlée, van Poppel et al (36) n'ont observé aucun effet sur la balance hémostatique chez 149 fumeurs en bonne santé ayant pris journalièrement 20mg de β -carotène pendant 14 semaines.

Commentaires

Comme pour les vitamines C et E, les études épidémiologiques montrent que le β -carotène peut jouer un rôle important dans la prévention des maladies cardiovasculaires. Cet effet ne se limite d'ailleurs pas uniquement au β -carotène. Ainsi, Howard et al (37) ont montré que les taux sanguins d'hydroxy caroténoïdes comme la lutéine et la β -cryptoxanthine sont deux fois plus élevés chez les habitants de Toulouse que chez ceux de Belfast. Or, les Toulousains, très grands consommateurs de fruits et légumes, ont une incidence plus basse d'accidents coronariens que les habitants de Belfast.

Les résultats des deux grandes études d'intervention aux Etats-Unis et en Finlande sont, par contre, très décevants puisqu'ils montrent non seulement que le β -carotène n'offre aucune protection mais qu'en plus il accentue la mortalité par accident cardiovasculaire chez les fumeurs. Il est indéniable que ces observations ont jeté dans le monde scientifique et le grand public une énorme suspicion quant à l'action préventive des antioxydants en général. Il convient toutefois de replacer ces études dans leur contexte et de relativiser ces résultats. Les études ATBC et CARET ont uniquement porté sur des sujets à très haut risque de cancer du poumon puisqu'il s'agit de très grands fumeurs et de travailleurs de l'amiante. Dans ces deux études, l'apport portait respectivement sur des doses de 20 à 30mg de β -carotène (+ 25.000UI de vitamine A pour l'étude CARET) correspondant à 6,6 et 10 fois la valeur de l'apport journalier recommandé. Les taux sanguins de β -carotène ont ainsi été multipliés par 18 dans l'étude ATBC et 12 dans l'étude CARET. Il s'agit donc là de doses relativement fortes qui peuvent, faut-il le rappeler, induire un effet pro-oxydant et entraîner donc des effets antagonistes. Un article récent de Palozza (38) confirme cet effet pour le β -carotène dans les systèmes biologiques. Il convient toutefois de garder à l'esprit que les espèces oxygénées activées ont des rôles physiologiques importants. A dose raisonnable, les EOA peuvent tuer les bactéries et stimuler la production de lymphocytes T. D'autre part, les EOA peuvent aussi induire un processus génétiquement déterminé, l'apoptose, qui est connu comme étant un processus bénéfique qui protège contre le cancer et diverses anomalies immunitaires. L'apoptose est en fait une mort programmée de la cellule ou un suicide altruiste des cellules éventuellement endommagées (comme les cellules cancéreuses) et aboutit à leur élimination. Des fortes doses d'anti-

oxydants peuvent donc réduire ou supprimer ces mécanismes, ce qui, dans le cas des sujets à risque des études ATBC et CARET, n'était certainement pas un facteur favorable. Voilà certainement des arguments convaincants qui doivent faire réfléchir le lecteur quant à la portée réelle des études sus-mentionnées.

Au vu de l'absence d'effets observée dans les études d'intervention de Greenberg et al (39) et de Rapola et al (40), il convient également de se poser la question suivante: le β -carotène sur lequel de nombreux travaux se sont focalisés est-il vraiment un antioxydant approprié? L'analyse de sa structure chimique permet de donner des éléments de réponse à cette question. Comme le montre la figure 1, le β -carotène présente une isomérisation cis-trans de sorte qu'il est possible d'obtenir soit un composé β -carotène entièrement trans ou trois composés cis que sont les 9-cis, 13-cis et 15-cis β -carotène. Or, de nombreuses études montrent que les composés cis, et plus particulièrement le 9-cis, ont une activité anti-oxydante largement supérieure (41) au composé trans qui est celui utilisé dans toutes les études. Ceci est un facteur dont il faudra tenir compte dans les études futures.

Conclusions

Si les études épidémiologiques sont largement en faveur de l'utilisation du β -carotène dans la prévention des maladies cardiovasculaires, les résultats des études d'intervention se sont avérées par contre largement négatives. Il ressort clairement que donner de fortes doses de β -carotène chez les fumeurs n'est absolument pas recommandé. Toutefois, l'utiliser à des doses correspondant aux apports journaliers recommandés et surtout en synergie avec d'autres anti-oxydants apparaît comme étant une approche plus réaliste. Ainsi, Blot et al (42) ont montré dans l'étude "Linxian" portant sur 29.584 personnes vivant en Chine, qu'un apport journalier de 15mg en β -carotène associé à 30mg de vitamine E et 50 μ g de sélénium entraînait une diminution de la mortalité globale de 9% et de la mortalité par cancer de 13%. Dans une étude indienne randomisée, placebo contrôlée et conduite en double aveugle, Singh et al (43) ont montré chez 63 patients ayant développé un infarctus aigu du myocarde qu'un traitement journalier avec un mélange de vitamine A (50.000UI), de vitamine C (1.000mg), de vitamine E (400mg) et de β -carotène (25mg) pendant 28 jours réduisait de manière significative la taille de la nécrose cardiaque en comparaison à 62 patients non traités. En Europe, les résultats de l'étude française SUVIMAX (*Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants*) qui se propose d'évaluer l'incidence de la prise journalière d'un mélange d'anti-oxydants à des doses physio-

logiques sur la prévention des maladies cardiovasculaires, sont attendus avec beaucoup d'impatience.

Il faut aussi souligner que des caroténoïdes naturels autres que le β -carotène peuvent trouver leur place dans l'arsenal thérapeutique contre l'agression des EOA. Il ne fait nul doute que les dérivés cis du β -carotène, la lutéine, la β -cryptoxanthine ou le lycopène feront dans le futur l'objet de prochaines études de prévention.

Enfin, terminons cette revue de littérature avec cette découverte intéressante de Ye et Abela (44) montrant que le β -carotène peut être utilisé en clinique pour la détection précoce des maladies cardiovasculaires. Administré par voie intraveineuse, le β -carotène se fixe en effet spécifiquement sur les plaques d'athérome, ce qui améliore le coefficient d'absorption de celles-ci et décroît leur émission de fluorescence induite par laser. Entre plaques ne fixant pas le β -carotène (condition normale) et celles le fixant (condition pathologique), une différence de fluorescence de 17 fois peut être observée, ce qui améliore de manière remarquable la détection et la discrimination entre les plaques d'athérome et l'épithélium sain.

Références

1. Pincemail J, Defraigne JO, Meurisse M et Limet R. Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires; 1^{ère} partie: vitamine C. *Medi-Sphere* 89: 27-30.
2. Pincemail J, Defraigne JO, Meurisse M et Limet R. Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires; 2^{ème} partie: vitamine E. *Medi-Sphere* 90: 7-11.
3. Foote et al. *JACS* 1968; 90: 6233-5.
4. Coon et al. *J Photochem Photobiol* 1991; 11: 41-7.
5. Canfield et al. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 260-5.
6. Livrea et al. *Free Rad Biol Med* 1995; 18: 401-9.
7. Gaziano et al. *Atherosclerosis* 1995; 20: 187-95.
8. Sun et al. *Int J Vit Nutr Res* 1997; 67: 155-63.
9. Shaish et al. *J Clin Invest* 1995; 96: 2075-82.
10. Burchenal et al. *Atherosclerosis* 1996; 123: 157-67.
11. Gaziano et al. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19: 377.
12. Rimm et al. *N Engl J Med* 1993; 328: 1450-6.
13. Masson et al. *Circulation* 1991; 84 (suppl II): 2168.
14. Pandey et al. *Am J Epidemiol* 1995; 142: 1269-78.
15. Todd et al. *J Clin Epidemiol* 1995; 48: 297-305.
16. Heliövaara et al. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 1180-9.
17. Riemersma et al. *Lancet* 1991; 337: 1-5.
18. Salonen et al. *Circulation* 1993; 87: 67.
19. Iribarren et al. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1171-7.
20. Street et al. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 719-20.
21. Torun et al. *J Clin Pharm Ther* 1994; 19: 61-3.
22. Singh et al. *Acta Cardiol* 1994; 49: 453-67.
23. Kim et al. *Biomed Environ Sci* 1996; 9: 229-35.
24. Kristenson et al. *BMJ* 1997; 314: 629-33.
25. Kardinaal et al. *Lancet* 1993; 342: 1379-84.
26. Kohlmeier et al. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 618-26.
27. Eichholzer et al. *Experientia* 1992; 62: 398-410.
28. Morris et al. *JAMA* 1994; 272: 1439-61.
29. Greenberg et al. *JAMA* 1996; 275: 699-703.
30. Gaziano et al. *Circulation* 82 1990; (suppl II): 202.
31. Hennekens et al. *N Engl J Med* 1996; 334: 1145-9.
32. *N Engl J Med* 1994; 330: 1029-35.
33. Omenn et al. *N Engl J Med* 1996; 334: 1150-5.
34. Greenberg et al. *JAMA* 1996; 275: 699-703.
35. Rapola et al. *Heart* 1998; 79: 454-8.
36. van Poppel et al. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995; 6: 55-9.
37. Howard et al. *Int J Vitam Nutr Res* 1996; 66: 113-8.
38. Palozza. *Nutr Rev* 1998; 56: 257-65.
39. Greenberg et al. *Int J Vitam Nutr Res* 1996; 66: 113-8.
40. Rapola et al. *Heart* 1998; 79: 454-58.
41. Levin et al. *Nutr Cancer* 1997; 27: 293-7.
42. Blot et al. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1482-92.
43. Singh et al. *Am J Cardiol* 1996; 77: 232-6.
44. Ye et Abela. *Lasers Surg Med* 1993; 13: 393-404.