

BETA - CAROTENO E CÂNCER

BETA - CAROTENE AND CANCER

Maria Margareth Veloso NAVES¹

RESUMO

Há mais de vinte anos tem-se pesquisado sobre a relação entre β -caroteno e câncer. Inúmeros trabalhos têm tentado esclarecer a hipótese, formulada a partir de achados epidemiológicos e experimentais, de que o carotenóide poderia agir como anticarcinogênico de origem alimentar. Estudos epidemiológicos observacionais, tipo caso-controle e coorte, sugerem que o consumo elevado de frutas e vegetais ricos em β -caroteno reduz o risco de câncer, especialmente de pulmão. Estudos de intervenção em humanos, administrando doses farmacológicas crônicas a milhares de indivíduos, têm demonstrado resultados contraditórios. Pesquisas em animais experimentais e em cultura de células apontam o carotenóide como quimiopreventivo, agindo sobretudo como retinóides, através de conversão metabólica extra-intestinal e como antioxidante de membrana. Conclui-se que o β -caroteno pode proteger contra o câncer, quando suplementado em doses fisiológicas, isto é, cerca de 4 a 6mg/dia. Doses farmacológicas crônicas não estão recomendadas para indivíduos saudáveis e particularmente para tabagistas.

Termos de indexação: *epidemiologia nutricional, quimioprevenção, neoplasias, carcinógenos, carotenóides, beta-caroteno.*

ABSTRACT

The subject β -carotene and cancer has been studied for more than twenty years, through epidemiologic and experimental researches. Observational epidemiologic studies, both prospective and retrospective, have suggested strongly that high intake of vegetables and fruits which are sources of β -carotene is associated with reduced risk of cancer, specially of lung cancer. However, the results of intervention trials do not demonstrate a preventive potential of β -carotene. Nevertheless, in many studies in experimental animals and in cell cultures, this carotenoid had been shown to act as a potent cancer chemopreventive agent and mechanisms have been proposed to explain this protective effect on biological systems. Researchers suggest that β -carotene protects against cancer, in the amounts easily attained by the consumption of a wide variety of diets, and the chronic pharmacological supplementation is not recommended for healthy populations and for heavy smokers.

Index terms: *nutritional epidemiology, chemoprevention, neoplasms, experimental carcinogens, carotenoids, beta-carotene.*

⁽¹⁾ Professora Assistente da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás; Doutoranda em Ciência dos Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/FCF/ USP. Correspondência para Rua 227, Quadra 68, Setor Leste Universitário, 74605-080, Goiânia, GO. Tel (062) 202-3549 Fax (062) 202-1748.

INTRODUÇÃO

Beta-caroteno constitui um pigmento natural e o mais abundante do grupo dos carotenóides, presente nos alimentos. É encontrado, especialmente, em vegetais e frutas de cor amarelo-alaranjada e em vegetais folhosos de cor verde-escura. Nestes, a cor natural do carotenóide é mascarada pela clorofila, presente nos cloroplastos (MANGELS et al., 1993; RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

As funções biológicas do β -caroteno, consideradas como propriedades essenciais para o bem estar dos organismos, incluem transferência de energia na fotossíntese; transferência de energia para fotoproteção, e conversão metabólica a retinóides, em animais com ingestão inadequada de vitamina A pré-formada (KRINSKY, 1994). Esta última constitui, até o momento a única função biológica comprovada do carotenóide em humanos (OLSON, 1996).

A conversão metabólica do β -caroteno à vitamina A é quimicamente possível devido a sua estrutura molecular que contém anéis β -ionona não substituídos, ligados à cadeia lateral poliênica (rica em ligações duplas conjugadas). Sendo assim, o carotenóide pode, teoricamente, gerar duas moléculas de vitamina A (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

A maior parte do β -caroteno absorvido pela mucosa duodenal é convertida a retinol (60 a 70%) que em seguida é metabolizado a esteres de retinila no enterócito. Estes, juntamente com a molécula intacta do carotenóide, atingem o fígado através da linfa, veiculados por remanescentes de quilomicrons, conforme esquema de PARKER (1996). O β -caroteno é transportado no plasma por lipoproteínas e estocado principalmente no tecido adiposo e fígado. A conversão metabólica do carotenóide a retinóides pode ocorrer também em tecidos de diferentes órgãos, tais como o fígado, pulmão e rins (OLSON, 1994; WANG, 1994; VAN VLIET, 1996).

Estima-se que cerca de 70% do aporte de vitamina A da dieta humana advém dos carotenóides, presentes nas frutas e vegetais, especialmente do β -caroteno (FOOD..., 1988). O fator preconizado para conversão do carotenóide a retinol é de 6:1, considerando-se a absorção de cerca de um terço e que, da quantidade absorvida, a metade seria convertida a retinol (NATIONAL..., 1989). No entanto, na prática esta proporção pode ser bem maior

devido sobretudo à absorção reduzida de β -caroteno em humanos, isto é, cerca de 9-17% (WANG, 1994).

Por outro lado, a incidência de câncer tem aumentado em todo o mundo, com predominância dos cânceres de pulmão, estômago e mama, constituindo-se em importante causa de morte, inclusive em países em desenvolvimento como o Brasil (SICHERI et al., 1992; PARKIN et al., 1993). A dieta, por sua vez, tem sido considerada de grande potencial mutagênico e carcinogênico, mas também como fonte de compostos naturais protetores contra o câncer (AMES, 1983; BRUCE, 1987; KRINSKY, 1993a).

Têm-se acumulado na literatura, por mais de vinte anos, evidências de que o β -caroteno pode desempenhar um papel relevante na redução do risco de câncer. As investigações nesta área são dificultadas pelo fato de que o processo carcinogênico é constituído de inúmeras etapas, que se sucedem no decorrer de um longo período. Isto torna complexa a tarefa de se avaliar o risco de câncer associado a um único fator de exposição, presente em um sistema alimentar (DOLL, 1996; OLSON, 1996).

As múltiplas etapas envolvidas no processo neoplásico têm sido alinhadas em três estágios assim definidos: iniciação, promoção e progressão. Iniciação refere-se à fase que ocorre dano irreversível no material genético da célula, por ação de um agente carcinogênico, que pode ser de natureza química, física (radiações) ou biológica (vírus). A etapa de promoção é caracterizada por expansão clonal de células "iniciadas", gerando lesões pré-neoplásicas, na sua grande maioria, de caráter reversível. Na fase de progressão, lesões pré-neoplásicas resistentes evoluem para a forma neoplásica, de modo autônomo, invasivo e irreversível (FARBER & SARMA, 1987; PITOT & DRAGAN, 1996). As alterações genéticas e epigenéticas características da carcinogênese, resultam em perda do controle da proliferação e diferenciação celulares, e da morte celular programada, ou apoptose (HARRIS, 1991; PITOT & DRAGAN, 1996).

A quimioprevenção do câncer, que caracteriza-se pela administração de um ou mais agentes químicos, constitui a forma mais potente e viável de controle da doença, inibindo ou revertendo o processo neoplásico, especialmente nas fases de iniciação e promoção (BERTRAM et al., 1987; GERSTER, 1995).

O potencial quimiopreventivo do β -caroteno contra o câncer, tem sido evidenciado em inúmeros trabalhos, incluindo epidemiológicos observacionais e experimentais, notadamente a partir da publicação do artigo de PETO et al. (1981), sugerindo que o carotenóide poderia agir como um anticarcinogênico de origem alimentar. Entretanto, estudos de intervenção em humanos não têm confirmado claramente esta hipótese (ERDMAN Jr. et al., 1996).

Contudo, permanece a recomendação, de diversos organismos internacionais, de se consumir dietas variadas, ricas em frutas e vegetais, como uma estratégia de prevenção contra o câncer (BRUCE, 1987; HAVAS et al., 1994; HUNT, 1996).

Ainda, a associação entre β -caroteno e câncer tem gerado uma explosão de interesse nos mecanismos de ação do carotenóide como quimiopreventivo (KRINSKY, 1993b). Têm-se proposto uma série de mecanismos, entre os quais a atividade do β -caroteno como pró-vitamina A; como agente antioxidante, além de regulador das comunicações intercelulares tipo hiato (*gap junctions*) e modulador da síntese endógena de colesterol (BURRI, 1997).

Neste contexto, objetiva-se revisar as evidências acumuladas na literatura sobre a relação entre β -caroteno e câncer, e os mecanismos propostos para explicar a ação quimiopreventiva do carotenóide.

ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS OBSERVACIONAIS

As evidências epidemiológicas observacionais disponíveis sobre a relação entre β -caroteno e câncer foram extraídas de estudos epidemiológicos nutricionais, do tipo caso-controle e coorte. O primeiro consiste em estudo clínico-nutricional, que compara hábitos alimentares de pacientes com câncer (casos), com aqueles de indivíduos “controles” (não diagnosticados como tendo câncer). Os dados de consumo alimentar devem corresponder à dieta usual dos “casos”, antes de terem apresentado os sinais e sintomas da doença (estudo retrospectivo). Estudos tipo coorte (prospectivo) baseiam-se na coleta de informações sobre a dieta ou de amostras de sangue, de um grupo de indivíduos saudáveis, que são observados por um longo período de tempo, até que um número suficiente de casos de câncer ou morte tenha ocorrido. Os dados coletados previamente são então comparados entre “casos” e “não-casos”. Este

último tipo de estudo fornece fortes evidências epidemiológicas relevantes, uma vez que estudam um grande número de indivíduos, por vários anos, geralmente populações de alto risco, onde um maior número de casos tem maiores possibilidades de ocorrer durante o período de observação.

Estudos caso-controle são mais simples pois requerem menor tempo, menor número de pesquisadores envolvidos e amostras menores. Entretanto, são mais susceptíveis a erros na coleta de dados sobre a dieta pregressa e na seleção do grupo controle, em relação aos estudos coorte. Estes, por sua vez, são mais onerosos e sujeitos a problemas relacionados às condições de estocagem das amostras de sangue, entre outros. Vantagens e limitações destes métodos foram revisadas por ZIEGLER (1989), FREUDENHEIM (1993) e VAN POPPEL & GOLDBOHN (1995).

Atualmente dispomos de dados de cerca de 200 estudos epidemiológicos observacionais, descritos na literatura, que evidenciam uma forte associação inversa entre consumo de frutas e vegetais ricos em carotenóides e risco de câncer, especialmente de pulmão, cavidade oral, estômago e esôfago (BENDICH, 1994; ERDMAN JR. et al., 1996). BLOCK et al. (1992) constataram um efeito protetor significativo em 128 dos 156 estudos analisados. Indivíduos com menor ingestão de frutas e vegetais (abaixo do menor quartil) apresentavam risco aumentado, cerca de duas vezes, em relação àqueles de consumo mais elevado, para diversos tipos de cânceres, tais como de pulmão, esôfago, cavidade oral, laringe, pâncreas e estômago. Segundo ERDMAN Jr. et al. (1996) membros do *Carotenoid Research Interactive Group* (CARIG), estas evidências sugerem que indivíduos que consomem três ou mais porções de frutas e vegetais ricos em carotenóides, diariamente, têm menor risco de câncer, de diferentes tipos.

Peto e colaboradores, revisando dados disponíveis em 1981, especularam que o β -caroteno seria o fator responsável pelo efeito protetor contra o câncer, associado à ingestão de vegetais verdes e de vitamina A. Basearam-se no fato de que vegetais verdes são ricos em β -caroteno; que este constituía a fonte mais importante de vitamina A na maioria das dietas estudadas e que o consumo dessas dietas elevava a concentração de β -caroteno no sangue, mas não a de retinol. Sendo assim, sugeriram uma ação

deste carotenóide independente da sua função pró-vitamínica A. Ainda, enfatizaram a necessidade de se investigar diferentes mecanismos de ação, através de trabalhos experimentais, e esclarecer a relação proposta através de estudos de intervenção em humanos.

Estudos posteriores passaram a investigar a ingestão de retinol e carotenos separadamente, em relação ao risco de câncer (STÄHELIN, 1990). Ao mesmo tempo foram se intensificando as pesquisas sobre métodos de análises químicas e bioquímicas dos diferentes tipos de carotenóides. Até então, os dados disponíveis sobre composição de alimentos em carotenóides eram limitados, quantitativa e qualitativamente (ZIEGLER, 1989).

Ainda em 1981, SHEKELLE et al. divulgaram resultados de um estudo prospectivo (*Western Electric Study*) envolvendo 3102 trabalhadores da *W.E. Company* de Chicago, EUA. Estes indivíduos foram avaliados inicialmente em 1959, então com cerca de 40 a 55 anos de idade e observados por 19 anos. Os autores constataram uma relação inversa entre ingestão de caroteno (α - e β -) e posterior incidência de câncer de pulmão, conforme hipotetizado por Peto e associados. Por outro lado, a ingestão de vitamina A pré-formada (retinol) ou de outros nutrientes, não foi relacionada, de forma significativa, com o risco de câncer de pulmão.

Outro estudo merece ser destacado - o estudo de Basel (Suíça). Foi iniciado em 1959, como um estudo prospectivo, tipo coorte, sobre as principais causas de morte. No terceiro período de avaliação deste estudo, entre 1971 e 1973, foram coletadas amostras de sangue de 3 528 homens, com 48 ± 10 anos de idade, para análise de vitaminas e de caroteno (α - e β -). Estes indivíduos foram observados até 1985 para coleta de dados de mortalidade, tendo-se ao final da avaliação, dados disponíveis de 2974 pessoas (STÄHELIN, 1990; STÄHELIN et al., 1991). Foi constatado que a concentração média de caroteno no plasma de indivíduos que morreram de câncer (todos os tipos), de câncer de pulmão e de estômago, foi significativamente menor ($p < 0,01$), comparada à dos indivíduos sobreviventes. Além disso, o risco de câncer de pulmão foi significativamente mais elevado ($RR = 1,76$, $p < 0,05$) entre os homens com níveis mais baixos de caroteno no plasma (menor que $0,23 \mu\text{mol/L}$) e independente do tabagismo.

Estudos observacionais disponíveis podem fornecer evidências do papel do β -caroteno no risco de câncer?

Ziegler e seu grupo de trabalho, entre outros, têm procurado responder a esta pergunta. Através de estudos de revisão (ZIEGLER, 1989, 1991; ZIEGLER et al., 1992), a autora, membro do *National Cancer Institute* (NCI/EUA), analisou dezenas de trabalhos, entre prospectivos e retrospectivos, publicados desde 1977, e concluiu que :

- O consumo reduzido de vegetais e frutas e de carotenóides está associado, de maneira consistente, com o risco aumentado de câncer de pulmão;

- Baixos níveis sanguíneos de β -caroteno estão associados consistentemente com o desenvolvimento posterior de câncer de pulmão.

Além disso, Ziegler ressalta limitações existentes nos dados, tais como:

- Estudos de consumo analisaram vegetais e frutas, ou mais especificamente, carotenóides totais. O consumo de β -caroteno não foi estimado, por falta de dados confiáveis de sua composição específica nos alimentos;

- Concentração de β -caroteno no sangue pode refletir apenas o consumo de vegetais e frutas e ser afetada por diversos fatores de confusão, que não foram adequadamente controlados na maioria dos estudos, como por exemplo o tabagismo;

- Estudos não exploraram o papel de cada carotenóide separadamente, de outros fatores presentes nos vegetais e frutas e no padrão dietético em geral, e portanto, não se pode estabelecer uma relação exclusiva entre β -caroteno e risco de câncer.

Recentemente, Van Poppel, pesquisador do *Nutrition and Food Research Institute*, Holanda (TNO), analisou resultados de mais de 100 trabalhos, conforme o tipo de estudo e de câncer, (VAN POPPEL, 1993; VAN POPPEL & GOLDBOEHM, 1995; VAN POPPLE 1996) concluindo que :

- Estudos caso – controle: consumo elevado de vegetais e frutas ricos em β -caroteno reduz o risco de câncer, de diferentes tipos, e de forma mais consistente para câncer de pulmão e de estômago (em até 70%);

- Estudos prospectivos: esta relação é mais consistente para câncer de pulmão.

Ainda, na tentativa de elucidar a associação entre β -caroteno e câncer, ZIEGLER et al. (1996a) reanalisaram dados de um antigo estudo retrospectivo conduzido em New Jersey (EUA), utilizando informações então recém-publicadas sobre composição dos principais carotenóides presentes nos alimentos (MANGELS et al., 1993). Constataram que o consumo reduzido de vegetais amarelo-laranja e verde-escuros foram mais preditivos de maior risco de câncer de pulmão (risco relativo [RR] = 2,47, com 95% de intervalo de confiança [CI]), do que um baixo consumo de α - e β -caroteno (RR = 1,85, CI = 95%), e estes em relação ao β -caroteno sozinho (RR = 1,59, CI = 95%). Sendo assim, os autores recomendam, para prevenção do câncer de pulmão, a ingestão de vegetais e frutas variados e, segundo eles, a medida mais importante - não fumar. Enquanto uma dieta rica em vegetais e frutas reduz o risco em cerca de duas vezes, a proteção contra o tabaco reduz vinte vezes (ZIEGLER et al., 1996b).

De uma forma geral, o achado mais consistente dos estudos epidemiológicos observacionais resume-se no efeito protetor dos vegetais e frutas contra câncer de pulmão. Indivíduos com menor consumo apresentam um risco aumentado cerca de 30 a 100%, em relação àqueles com maior ingestão de frutas e vegetais (ZIEGLER et al., 1996b). Estes alimentos, por sua vez, constituem misturas complexas de carotenóides, vitaminas, fibras e outros fitoquímicos, o que dificulta vincular o efeito protetor apenas ao β -caroteno (VAN POPPEL & GOLDBOHM, 1995; MAYNE, 1996).

Pode-se concluir ainda destes estudos que o β -caroteno, se protetor, seria efetivo em quantidades fisiológicas, isto é, de 4 a 6 mg/dia (SHEKELLE et al., 1981; ZIEGLER et al., 1992; ZIEGLER et al., 1996a). Além disso, os estudos prospectivos, tipo coorte, por serem de longa duração (geralmente mais de uma década), sugerem que o carotenóide, se protetor, teria ação nos estágios iniciais da carcinogênese (STÄHELIN, 1990; VAN POPPEL & GOLDBOHM, 1995).

ESTUDOS DE INTERVENÇÃO EM HUMANOS

Estes estudos podem ser de prevenção primária e secundária. No primeiro caso, também chamados de estudos da fase III, envolvem milhares de indivíduos

(mais de 20 mil) aparentemente saudáveis, selecionados de maneira aleatória, em geral de populações de alto risco, acima de 40 anos de idade, divididos em grupo "tratado" (que recebe o agente) e placebo. Estes estudos abrangem muitos anos de intervenção, tendo como meta (desfecho) a incidência de câncer e/ou a mortalidade (ALBERTS & GARCIA, 1995; ZIEGLER et al., 1996b). São extremamente onerosos e complexos, sendo, em geral, conduzidos por grandes instituições, através de cooperação nacional e até internacional.

Estudos de prevenção secundária se baseiam na suplementação do agente a grupos de indivíduos que apresentam lesões pré-neoplásicas ou que já foram portadores de neoplasias. Têm como meta a reversão do processo pré-neoplásico ou a redução da incidência de tumores recorrentes. O tempo de duração é geralmente mais curto que o dos estudos de prevenção primária, envolvem menor número de pessoas e, portanto, são menos onerosos (ZIEGLER et al., 1996b).

Estudos de intervenção são necessários para esclarecer a relação causal sugerida em estudos epidemiológicos, como a relação entre β -caroteno e câncer. Estudos observacionais não podem determinar se o efeito observado é devido, especificamente, ao β -caroteno (VAN POPPEL, 1996).

Sendo assim, na década de oitenta foram iniciados inúmeros estudos de suplementação farmacológica crônica com β -caroteno, em grupos de indivíduos, na maioria dos casos, de alto risco para câncer. Instituições e pesquisadores foram motivados a conduzir estudos de intervenção, baseados nos achados promissores de estudos observacionais e experimentais então disponíveis, que evidenciavam o β -caroteno com possível ação quimiopreventiva intrínseca, além de sua função como pró-vitamina A, e ainda, sem efeitos tóxicos (MATHEWS-ROTH, 1985; BENDICH, 1994).

Estudos de prevenção primária

Os estudos de intervenção, utilizando o β -caroteno com objetivo de prevenção primária, têm sido, em geral, conduzidos pelo NCI/EUA, em

parceria com outras instituições (MATHEWS-ROTH, 1985; MALONE, 1991).

Na Tabela 1 encontra-se uma descrição resumida dos principais estudos de intervenção já concluídos. Estes estudos foram realizados com indivíduos a partir de 40 anos de idade, expostos a fatores de risco, para câncer de pulmão *Alpha-*

-tocopherol, Beta-carotene Cancer Prevention Study (ATBC) e Beta-carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET) e para cânceres de estômago e esôfago (Linxian Study), suplementados com doses farmacológicas crônicas de β -caroteno (15 a 30mg/dia), sozinho ou associado a outros micronutrientes.

Tabela 1. Estudos de intervenção em populações (fase III) com β -caroteno, na prevenção primária de câncer.

Estudo [#] Descrição	PHS (EUA)	ATBC (Finlândia)	CARET (EUA)	Linxian Study (China)
Características Gerais				
Ano de início	1982	1985	1991	1986
Duração média	12 anos	5 - 8 anos	4 - 5 anos [*]	5 anos
Dose/dia	25 mg	20 mg e 20 mg + 50mg α -tocoferol	30 mg + 25.000 UI de vitamina A	15mg + 30mg α -tocoferol +50 μ g Se
Características da amostra				
n, sexo*	22.071, m	29.133, m	18.314, m/f	29.584, m/f
Idade	40-84 anos	50-69 anos	50-69 anos	40-69 anos
Fator de risco	nenhum	tabagistas	tabagistas (14.254) ou trabalhadores expostos ao amianto (4.060)	população com alta incidência de câncer de esôfago e estômago e baixa ingestão de micronutrientes
β-Caroteno no sangue				
-em μ mol/L [∞] (basal - final)				
Grupo tratado	0,56 - 2,24	0,32 - 5,59	0,32 - 3,91	0,11 - 1,59
Grupo não tratado	- [*] - 0,56	0,32 - 0,34	- [*] - 0,32	0,13 - 0,22
Efeito				
	nulo	negativo ↑ 18% incidência câncer de pulmão ↑ 8% mortalidade total	negativo ↑ 28% incidência de câncer de pulmão ↑ 17% mortalidade total	positivo ↓ 21% mortalidade câncer de estômago ↓ 9% mortalidade total
Referência				
	HENNEKENS et al. (1996)	ALPHA-TOCOPHEROL... (1994) ALBANES et al. (1995)	OMENN et al. (1996)	BLOT et al. (1993 e 1995)

[#] PHS: Physicians'Health Study; ATBC: Alpha-tocopherol, Beta-carotene Cancer Prevention Study; CARET: Beta-carotene RetinolEfficacy Trial

♦ Interrompido 21 meses antes do término. * m: masculino; f: feminino.

∞ Valores médios no plasma para PHS e Linxian Study; valores de mediana no soro para ATBC e CARET. Para conversão em mg/L, dividir os valores pelo fator 1,863. •Dados não relatados.

Observa-se que o β -caroteno foi benéfico para indivíduos de populações com baixo consumo de micronutrientes, associado à vitamina E ao selênio (*Linxian Study*). Por outro lado, foi prejudicial a grupos de populações de alto risco para câncer de pulmão (tabagistas e trabalhadores expostos ao amianto) e ainda, sem efeito para indivíduos aparentemente saudáveis e bem nutridos, no caso do *Physicians Health Study* (PHS) (HENNEKENS et al., 1996).

Vale acrescentar que, em estudos realizados com populações de diferentes países têm-se constatado que o consumo médio diário de β -caroteno é aproximadamente 1,5 a 2,0mg (BENDICH, 1994; BLOCK & LANGSETH, 1994). A concentração de β -caroteno no sangue (soro ou plasma), por sua vez, é de cerca de 0,2 a 0,6 μ mol/L (0,11 a 0,32mg/L), sendo em média 0,34 μ mol/L (0,18mg/L) para a população americana (BURRI, 1997).

Conforme pode ser observado na Tabela 1, a resposta bioquímica à suplementação de β -caroteno foi drástica, gerando níveis significativamente maiores de β -caroteno no sangue, em relação aos grupos não tratados, em todos os casos. Constatou-se um aumento acima de dez vezes em relação ao nível basal, com exceção do estudo realizado com médicos americanos, o PHS (aumento de quatro vezes), talvez porque estes indivíduos apresentavam valores basais relativamente mais elevados. Por outro lado, encontrou-se baixos níveis de β -caroteno no plasma dos chineses de Linxian (0,11 e 0,13 μ mol/L) sugerindo dieta deficiente em vegetais e frutas, uma vez que o β -caroteno constitui o melhor marcador biológico, até o momento disponível, do consumo destes alimentos (ZIEGLER et al., 1996b).

O efeito positivo da suplementação com β -caroteno no estudo de Linxian (BLOT et al., 1993; BLOT et al., 1995), tem sido relacionado ao estado nutricional marginal dos chineses ao início do estudo, associado a uma suplementação de β -caroteno em quantidades mais fisiológicas (15mg/dia), e ainda, em conjunto com outros micronutrientes - vitamina E e selênio (ERDMAN JR., 1996; HUNT, 1996; BURRI, 1997).

O grupo de tabagistas finlandeses (estudo ATBC), que recebeu β -caroteno, não respondeu de forma positiva à suplementação (ALPHA-TOCOPHEROL..., 1994). Entretanto, observou-se

no grupo placebo, que a concentração de β -caroteno no plasma foi inversamente proporcional à incidência de câncer de pulmão, conforme achados de estudos epidemiológicos observacionais (ALBANES et al., 1995; ZIEGLER et al., 1996b). É possível que o β -caroteno seja apenas um biomarcador da ingestão de vegetais e frutas, que podem conter outras substâncias de efeito protetor contra o câncer (HUNT, 1996). Por outro lado, a dose administrada representava mais que dez vezes o consumo médio de β -caroteno, que correspondia a 1,7mg/dia. Doses farmacológicas diárias, por longo período, poderiam desencadear problemas relacionados à absorção de outras substâncias (como outros carotenóides), bem como ao acúmulo excessivo de β -caroteno, ou seus metabólitos, no organismo. Isto poderia exercer efeito pró-oxidante no pulmão danificado de tabagistas (ERDMAN Jr. et al., 1996; OLSON, 1996).

O estudo realizado com tabagistas americanos, o CARET (OMENN et al., 1996), confirma os resultados do estudo ATBC, embora naquele a suplementação com β -caroteno tenha sido associada à vitamina A (Tabela 1). Devido a estes achados semelhantes, o CARET foi interrompido 21 meses antes da data prevista, o que pode ter comprometido uma avaliação mais a longo prazo. Subgrupos de indivíduos ainda serão observados por cerca de cinco anos, para um estudo mais completo dos efeitos dessa suplementação.

Outros fatores poderiam estar influenciando os resultados, até o momento disponíveis, dos estudos de intervenção em populações, que não têm confirmado a relação inversa entre consumo de β -caroteno e risco de câncer. Os tabagistas estudados poderiam estar com um processo carcinogênico em andamento, embora sem apresentar sintomas, pois tinham história antiga de exposição ao tabaco ou ao amianto (asbesto). Por outro lado, estes estudos tiveram a duração máxima de oito anos, enquanto o processo neoplásico pode envolver décadas (BERTRAM et al., 1987). Sendo assim, o β -caroteno não teria efeito como quimiopreventivo (ERDMAN Jr., 1996; ZIEGLER et al., 1996b).

Outro fator de confusão poderia ser a dose administrada. O β -caroteno somente seria protetor em doses fisiológicas (no máximo 10mg/dia), e em associação a substâncias antioxidantes ou outros fitoquímicos (ZIEGLER et al., 1996b; BURRI, 1997).

De uma forma geral, estes achados levam a comunidade científica a reconsiderar a relação entre β -caroteno e câncer, à luz da influência relativa de fatores tais como idade dos indivíduos, dose suplementada, fator de risco, duração do estudo, etc. É preciso esclarecer porque β -caroteno aumentou o risco para câncer de pulmão e seguir as populações estudadas para verificar o efeito a longo prazo (ERDMAN Jr. et al., 1996; De LUCA & ROSS, 1996).

Estudos de prevenção secundária

O β -caroteno tem sido usado para tratamento de lesões pré-neoplásicas, como a leucoplaquia oral. Vários estudos têm mostrado uma reversão ou supressão de 50 a 60% dos casos de leucoplaquia, tratados com β -caroteno (25 a 60mg/dia, por cerca de seis meses), com vantagens sobre a vitamina A, por não ser tóxico em altas doses (GAREWAL, 1995).

Leucoplaquia caracteriza-se pela presença de manchas ou placas brancas na mucosa, que não podem ser removidas por raspagem e que, à biópsia, mostram hiperqueratose, com graus variados de displasia. É considerada uma lesão pré-maligna do câncer da cavidade oral (GAREWAL & SHAMDAS, 1991), que constitui um dos seis mais freqüentes tipos de cânceres no mundo, cuja causa predominante é o tabaco (PARKIN et al., 1993).

STICH et al. (1988) conduziram vários estudos, principalmente na Índia, nos quais constataram ação do β -caroteno, sozinho ou em combinação com a vitamina A, na remissão de leucoplaquias e na inibição do aparecimento de novas lesões, em mascadores de fumo ou de noz de areca.

Estudos realizados com tabagistas americanos, por Garewal e associados, em 1990 e 1992, revisado por GAREWAL (1995), evidenciaram resultados semelhantes. Os autores observaram que a suplementação com β -caroteno (30mg/dia, por 3-6 meses) causou remissão parcial ou completa de lesões pré-neoplásicas da cavidade oral, em mais de 70% dos casos.

Por outro lado, não se tem constatado efeito do β -caroteno em outros tipos de lesões pré-neoplásicas, como displasia esofagiana (LI et al., 1993), displasia cervical, papilomas de pele, ou na recorrência de cânceres de pele revisado por VAN POPPEL (1993).

ESTUDOS EXPERIMENTAIS

Estudos em cultura de células (*in vitro*)

Estudos conduzidos desde a década de oitenta têm revelado uma ação inibitória do β -caroteno nas transformações neoplásicas, tanto em cultura de células, quanto de tecidos de diferentes órgãos (KRINSKY, 1993b; GERSTER, 1995). Esta ação é dependente da dose, do agente genotóxico e do tipo de células em cultura, o que dificulta a comparação e extrapolação dos resultados. Além disso, o carotenóide tem se mostrado protetor nas fases de iniciação e de promoção, em diferentes modelos de carcinogênese experimental *in vitro* (KRINSKY, 1991; IFTIKHAR et al., 1996).

Assim, STICH & DUNN (1986) investigaram alterações na estrutura genética de células de ovário de *hamster* chinês (células CHO) em cultura, tratadas com β -caroteno antes de serem expostas a diferentes agentes genotóxicos. Os autores observaram um efeito inibitório seletivo, conforme o agente, e dose-dependente, segundo os parâmetros de resposta considerados, ou seja, aberrações cromossômicas, translocações e desenvolvimento de células micronucleadas (correspondem a fragmentos de DNA).

A natureza altamente lipofílica dos carotenóides foi, por muito tempo, um fator limitante na execução de estudos *in vitro* e na interpretação de resultados, uma vez que estas substâncias são de difícil veiculação nos sistemas aquosos dos meios de cultura (KRINSKY, 1993a; GERSTER, 1995). BERTRAM (1994) e seu grupo desenvolveram um sistema que garante a biodisponibilidade do β -caroteno nos meios de cultura, através do uso de tetrahydrofurano (THF) como solvente. Este grupo tem trabalhado também com um sistema *in vitro* bem padronizado, utilizando células C3H/10T1/2, que correspondem a uma linhagem de fibroblastos de embriões de camundongos. Nesse sentido, PUNG et al. (1988) adicionaram β -caroteno ou cataxantina (carotenóide sem atividade pró-vitamina A) à células C3H/10T1/2 em cultura, após iniciação com metilcolantreno ou raios-X. Na concentração de 10 μ M, estes carotenóides eliminaram 100% dos focos de células transformadas presentes no meio de cultura.

Estudos *in vitro* têm, portanto, confirmado a relação entre β -caroteno e câncer evidenciada em estudos epidemiológicos observacionais, e ainda, contribuído para o esclarecimento dos mecanismos

de ação deste pigmento no processo carcinogênico, gerando modelos para pesquisas experimentais *in vivo* (BERTRAM, 1994).

Estudos em animais (in vivo)

Evidências do potencial preventivo do β -caroteno contra o câncer, extraídas de estudos em animais, na maioria dos casos apontam efeito protetor, especialmente em modelos de hepatocarcinogênese experimental (MORENO et al., 1991; SARKAR et al., 1994; MORENO et al., 1995a) e de carcinomas de pele (KRINSKY, 1991; GERSTER, 1995).

Os animais mais utilizados em pesquisas nesta área são o camundongo, como modelo para câncer de pele; o *hamster*, cuja bolsa facial é utilizada para investigação de tumores da cavidade oral, e o rato, para estudo de carcinogênese de cólon, de fígado, entre outros sítios. No entanto, estes animais diferem dos humanos em relação à capacidade de absorção do β -caroteno como molécula intacta. Eles têm capacidade reduzida de absorção de carotenóides e, em consequência, é necessário se utilizar doses farmacológicas para produzir algum efeito biológico (KRINSKY, 1993b; BERTRAM, 1994). Como alternativa, têm-se proposto o uso do furão, muito utilizado como modelo para estudos de absorção e metabolismo de carotenóides (WANG, 1994).

Na década de setenta, investigadores motivados pelo efeito protetor da vitamina A contra o câncer, em modelos animais, iniciaram estudos em camundongos, induzindo tumores de pele, e tratando com β -caroteno, como um precursor de retinol (MATHEWS-ROTH, 1985). Assim, EPSTEIN (1977) constatou, pela primeira vez, de forma controlada, que o carotenóide retardava significativamente o aparecimento e crescimento de carcinomas de pele.

Para verificar se esse efeito observado era devido à molécula intacta do β -caroteno, e não devido a sua conversão à vitamina A, o grupo de Mathews-Roth iniciou uma série de pesquisas testando outros carotenóides não precursores da vitamina A, como cataxantina e fitoeno. No início da década de oitenta publicaram vários trabalhos que evidenciavam o efeito protetor desses carotenóides contra câncer de pele induzido por radiação UV-B ou por indução química e física combinadas, revisado por (MATHEWS-ROTH, 1985). Ainda, observaram que o β -caroteno, ou

cataxantina, exibia ação protetora, na concentração de 0,7 ou 2,0g/Kg de dieta. Nesse período, outros grupos de pesquisadores também publicaram trabalhos com achados semelhantes, sugerindo que o β -caroteno *per se*, tem a habilidade de prevenir ou retardar o desenvolvimento de tumores de pele (KRINSKY, 1991).

Além disso, MATHEWS-ROTH & KRINSKY (1987) constataram que o β -caroteno somente era protetor se administrado após radiação com UV-B, usada como agente iniciante. De Luca e seu grupo, após realizarem diversas pesquisas utilizando um modelo de carcinogênese química em duas etapas, combinando agentes iniciante e promotor, observaram que o β -caroteno aumentou a incidência de papilomas, mas inibiu a conversão de papilomas a carcinomas de pele, em camundongos (CHEN et al., 1993). Posteriormente, NISHINO (1995) constatou que o carotenóide inibiu tumores de pele em camundongos, por aplicação tópica, na fase de promoção. Os relatos acima sugerem, portanto, que o β -caroteno interfere na promoção e/ou na progressão de carcinomas de pele. Estes e outros trabalhos sobre carcinogênese experimental, em diferentes órgãos, estão resumidos na Tabela 2.

Por outro lado, em cânceres da cavidade oral, a ação inibitória do β -caroteno parece mais evidente nas fases de iniciação e promoção, conforme demonstrado por SUDA et al. (1986) e GIJARE et al. (1990) descritos na Tabela 2. Estes últimos observaram que *hamsters* tratados por 4 meses e meio com β -caroteno (aplicação tópica), após iniciação com DMBA (dimetilbenzantraceno), não desenvolveram tumores de mucosa oral, enquanto 66% dos animais do grupo placebo apresentaram câncer.

Da mesma forma, Moreno e seu grupo têm constatado ação inibitória do β -caroteno em lesões pré-neoplásicas, de ratos Wistar submetidos ao modelo RH (hepatócito resistente), nas fases de iniciação e promoção precoce do processo de hepatocarcinogênese (MORENO et al., 1991; MORENO et al., 1995a; RIZZI et al., 1997). Resultados semelhantes também foram observados por SARKAR et al. (1994). Ainda, MORENO et al. (1995a) comprovaram *in vivo*, que os efeitos quimiopreventivos do β -caroteno não se relacionavam à sua função pró-vitamina A, uma vez que encontraram concentrações elevadas de β -caroteno, e não de vitamina A total, no fígado de animais tratados com o carotenóide. Ao contrário, não observaram efeito inibitório da vitamina A na incidência de lesões pré-neoplásicas.

Tabela 2. Estudos *in vivo* com β -caroteno em diferentes sítios e etapas de carcinogênese experimental.

Sítio	Animal	Carcinógeno	Dose de β -caroteno	Efeito	Referência
Pele	camundongo (sem pêlo)	radiação UV-B	1g/Kg de dieta	reduziu incidência de câncer (quando administrado após UV-B)	MATHEWS-ROTH & KRINSKY (1987)
	camundongo (Sencar)	DMBA + TPA	0,6g/Kg de dieta (após DMBA)	inibiu conversão de papilomas à carcinoma	CHEN et al. (1993)
	camundongo	DMBA + TPA	2 x 200 μ mol/semana (aplicação tópica, junto com TPA)	inibiu incidência de tumor	NISHINO (1995)
Cavidade oral (mucosa da bolsa facial)	<i>hamster</i> (Syrian)	DMBA + BP	3 x 190 μ g/mL/semana (aplicação tópica)	inibiu incidência de tumor (quando aplicado junto ou após DMBA)	SUDA et al. (1986)
	<i>hamster</i>	DMBA	2 x 250mg/semana (aplicação tópica após DMBA)	inibiu o aparecimento de tumor em 100% dos animais	GIJARE et al. (1990)
Fígado	rato (Wistar)	DEN + 2-AAF (modelo RH)	70mg/Kg de peso corpóreo (entubação gástrica em dias alternados)	inibiu incidência de lesões pré - neoplásicas (se fornecido antes da DEN ou o tempo todo)	MORENO et al. (1991 e 1995a)
	rato (Sprague - Dawley)	2 - AAF (0,05% na dieta)	0,1g/Kg de dieta	inibiu incidência de lesões pré-neoplásicas (se fornecido antes do AAF ou o tempo todo)	SARKAR et al. (1994)
	rato (Wistar, SPF)	DEN + 2-AAF+ PHB	0,3g/Kg de dieta ou i.p. - 9 x 1mg/Kg de peso corpóreo	nenhum efeito (administrado antes e após DEN)	ASTORG et al. (1996)
Outros Cólon	rato (F-344)	AOM	0, 1, 10 ou 20mg/Kg de dieta (\uparrow gordura e \downarrow ou \uparrow em fibra)	inibiu incidência de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas (administrado o tempo todo)	ALABASTER et al. (1995)
Pâncreas	rato (Wistar)	AZA	0,1 e 1g/Kg de dieta ou + Se (1 ou 2mg/Kg de dieta)	inibiu incidência de lesões pré-neoplásicas (quando administrado durante e após AZA)	APPEL & WOUTERSEN (1996)

DMBA: 7,12 dimetilbenzantraceno.
DEN: dietilnitrosamina.
PHB: fenobarbital.

TPA: 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato.
2-AAF: acetilaminofluoreno. RH: hepatócito resistente.
F-344: Fischer-344. AOM: azoximetano.

BP: peróxido de benzoila.
SPF: "specific pathogen free".
AZA: azaserina.

Outros estudos têm evidenciado ação protetora do β -caroteno contra carcinogênese conduzida em animais, em associação a determinados nutrientes. Nesse sentido, ALABASTER et al. (1995) estudaram o efeito da suplementação com o carotenóide, associado ao consumo de dietas tipicamente americanas (alto teor de gordura e pobre em fibra)

sobre a incidência de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas de cólon, em ratos isogênicos, da linhagem Fisher-344. Constataram que o β -caroteno, em concentrações mais fisiológicas, isto é, 10 ou 20mg/Kg de dieta, inibiu significativamente a incidência de criptas aberrantes e de tumores, tanto em dietas pobres quanto naquelas ricas em fibra (1% e

8% da dieta, respectivamente). Ainda, os autores observaram que o β -caroteno nestas concentrações, tem efeito protetor semelhante ao da dieta rica em fibras, e sugerem que a suplementação com o carotenóide, em doses fisiológicas, poderia minimizar o efeito da dieta típica ocidental sobre a incidência de câncer de cólon em humanos.

APPEL & WOUTERSEN (1996), por sua vez, comprovaram efeito inibitório do β -caroteno e/ou selênio na carcinogênese pancreática induzida por azaserina, em ratos Wistar, de forma mais evidente, quando administrados durante a fase de promoção do processo neoplásico (Tabela 2).

Ainda, constatou-se efeito protetor do β -caroteno contra tumores de glândulas mamárias e salivar, e de bexiga. Ao contrário, observou-se nulo na carcinogênese pulmonar (MOON, 1989; NISHINO, 1995). Contudo, os dados disponíveis sugerem um papel protetor evidente do β -caroteno contra o câncer, em animais experimentais (KRINSKY, 1993b).

MECANISMOS DE AÇÃO PROPOSTOS

O grande interesse em se esclarecer a relação entre β -caroteno e câncer, tem motivado pesquisadores a investigar o papel do carotenóide na biologia celular e molecular do processo carcinogênico, cujos resultados são de importância crítica para seu uso na quimioprevenção e tratamento do câncer. O avanço das pesquisas nesta área tem evidenciado o β -caroteno não somente como fonte endógena de vitamina A, mas como um modulador fisiológico ativo (OLSON, 1996).

Têm-se proposto vários mecanismos anticarcinogênicos, tanto em nível genético quanto epigenético, tais como a função pró-vitamínica A do β -caroteno, isto é, como fonte de retinóides (retinol e ácidos retinóicos); bem como as ações antioxidante, modulatória da comunicação célula à célula (*gap junctions*), e regulatória da biossíntese de colesterol e outras substâncias isoprênicas (VAN POPPEL, 1993; KRINSKY, 1994; BURRI, 1997). Estes mecanismos não são excludentes e podem atuar concomitantemente no processo neoplásico (MORENO et al., 1995b), tendo sido comprovados *in vitro*, e em alguns casos, *in vivo*.

Beta-caroteno como fonte de retinóides

A conversão metabólica do β -caroteno a retinóides ocorre através de clivagem central ou excêntrica da molécula de acordo com o esquema de PARKER (1996). A clivagem central resultará em duas moléculas de retinal, enquanto a excêntrica dará origem a β -apo-carotenóis, os quais podem ser metabolizados a retinal, mas provavelmente também oxidados a ácidos β -apo-carotenóicos, e em seguida convertidos a ácido-retinóico (WANG, 1994; PARKER, 1996; VAN VLIET, 1996).

A ação quimiopreventiva do β -caroteno poderia, portanto, ser resultado de sua conversão a retinóides nos tecidos periféricos (conversão extra-intestinal). Sabe-se que o ácido retinóico *todo-trans*, e seu isômero *9-cis*, podem agir no nível genômico, através de receptores nucleares específicos, das famílias RAR e RXR, modulando a expressão gênica de fatores que controlam a diferenciação celular, entre outros, envolvidos no processo carcinogênico (De LUCA, 1991; MANGELSDORF, 1994).

A importância relativa da conversão metabólica do β -caroteno a retinóides nos tecidos periféricos, bem como os aspectos quantitativos destes processos, permanecem obscuros (PARKER, 1996). No entanto, este mecanismo pode explicar, em parte, o efeito anticarcinogênico do carotenóide.

Beta-caroteno como antioxidante

O poder redutor do β -caroteno e demais carotenóides, se deve à estrutura molecular destes compostos, rica em insaturações, que são altamente reativas e facilmente oxidadas. Têm-se demonstrado que o β -caroteno é um potente neutralizador de espécies reativas de oxigênio e sequestrador de radicais livres, à baixas pressões parciais de oxigênio, semelhantes às encontradas nos tecidos de mamíferos (BURTON, 1989). Desse modo, reage com radicais livres, preferencialmente com radicais peróxila ($\text{ROO}\cdot$) e com o oxigênio molecular *singlet* ($^1\text{O}_2$), inibindo peroxidação lipídica no interior das membranas, mantendo assim a integridade e fluidez das mesmas (ROUSSEAU et al., 1992).

A ação antioxidante do β -caroteno foi comprovada através de estudos *in vitro*, em modelos

de soluções aquosas e em membranas biológicas ou células, bem como através de estudos *in vivo*, tanto em animais, quanto em humanos. Têm-se constatado, sobretudo, inibição da peroxidação lipídica de acordo com KRINSKY (1993b e 1994) e, conforme achado recente de PALOZZA et al. (1997), esta ação é modulada pela pressão parcial de oxigênio até mesmo na célula neoplásica, fato já evidenciado em células normais.

Os radicais livres são formados no metabolismo normal da célula. Falha no sistema de proteção antioxidante (enzimático e não enzimático) da célula ou desequilíbrio provocado pela presença de agentes agressores (químicos, físicos ou biológicos), provoca estresse oxidativo. Esta condição pode gerar uma variedade de efeitos adversos como peroxidação lipídica, oxidação de ácidos nucleicos, perda funcional de membranas, inativação de proteínas e ativação de pró-carcinogênicos e outros xenobióticos (THOMAS, 1994).

A ação quimiopreventiva do β -caroteno pode envolver, portanto, mecanismos antioxidantes, relacionados particularmente ao dano oxidativo no DNA e à ativação metabólica de carcinógenos químicos. Estes mecanismos estão associados às fases de iniciação e promoção do processo neoplásico, o que tem sido constatado em estudos experimentais (ROUSSEAU et al., 1992; VAN POPPEL, 1993; GERSTER, 1995).

Além disso, têm-se vinculado a ação antioxidante do β -caroteno a uma melhora na resposta imune, através da inibição de dano oxidativo nas células do sistema imune e de formação de peróxidos, que são fortes imunossupressores (BENDICH, 1989; KRINSKY, 1991).

Beta-caroteno como modulador das *gap junctions*

As *gap junctions* são junções intercelulares tipo hiato, que permitem a comunicação citossólica direta entre células, ligando virtualmente todas as células dentro de um órgão. São formadas por hemicanal, ou conexon, constituído de 6 subunidades de proteínas (conexinas) ao redor de um poro central. Conexons de células adjacentes se conectam formando um canal completo (BEYER et al., 1990). Na carcinogênese observa-se ausência ou inibição dessas comunicações (KRUTOVSKIKH et al., 1995).

Estas comunicações intercelulares permitem a veiculação de importantes fatores relacionados à homeostase, crescimento e diferenciação celulares. Desse modo, servem como um canal condutor de sinais regulatórios, da célula normal adjacente para a célula "iniciada", inibindo sua transformação para pré-neoplásica, conforme observado em cultura de células (BERTRAM, 1994).

Bertram e seus associados (ZHANG et al., 1991) têm constatado *in vitro*, no sistema de células C3H/10T1/2, que o β -caroteno, bem como outros carotenóides não precursores de vitamina A, aumentam a comunicação intercelular através da formação de *gap junctions*. Além disso, o grupo observou que carotenóides aumentam a expressão do gene que codifica a proteína conexina 43, a mais abundante nestas junções, em células 10T1/2 (ZHANG et al., 1992).

Recentemente, ACEVEDO & BERTRAM (1995) testaram a ação do β -caroteno na presença de liarozole, um inibidor das enzimas do sistema P450, responsáveis pelo catabolismo do ácido retinóico. Observou-se que, em modelo de transformações neoplásicas *in vitro*, liarozole potencializou a ação quimiopreventiva do carotenóide. Os autores sugerem, portanto, que parte da ação regulatória do β -caroteno, sobre as *gap junctions* e sobre a expressão da conexina 43, é resultado da sua conversão a ácido retinóico no meio de cultura.

Beta-caroteno como regulador da síntese endógena de colesterol

Outro mecanismo de ação do β -caroteno foi proposto por MORENO et al. (1995b). Os autores observaram, em ratos tratados com o carotenóide e submetidos à hepatectomia parcial, como modelo de proliferação celular, que o β -caroteno é capaz de inibir a expressão do gene que codifica a enzima HMGCoA redutase, através de mecanismos pós-transcricionais. A 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMGCoA) redutase (EC 1.1.1.34) converte HMGCoA a mevalonato, uma etapa limitante na biossíntese do colesterol e de outros isoprenóides não esteróis.

Sabe-se que a síntese endógena de isoprenóides está associada à síntese de DNA e proliferação celular, importantes no desenvol-

vimento do processo carcinogênico (HE eta l., 1997). Portanto, especula-se que um dos mecanismos pelos quais o β -caroteno exerce seus efeitos quimiopreventivos, pode ser através da inibição da enzima HMGCoA redutase, e conseqüente regulação da biossíntese de isoprenóides.

CONCLUSÃO

Estudos epidemiológicos evidenciam uma forte associação entre o consumo elevado de frutas e vegetais ricos em β -caroteno e risco reduzido de câncer, especialmente de pulmão. Estudos em animais, por sua vez, comprovam que o carotenóide é capaz de inibir lesões hepáticas pré-neoplásicas e lesões neoplásicas, sobretudo em modelos de carcinogênese de pele.

O β -caroteno, como agente quimiopreventivo, tem-se revelado eficaz na reversão de lesões pré-neoplásicas da cavidade oral, e de efeito protetor contra o câncer, em populações com baixas concentrações plasmáticas (0,15mmol/L ou menor) ou com consumo abaixo de 700mg/dia do carotenóide, quando suplementado na quantidade máxima de 10mg/dia (BURRI, 1997). Além disso, pode exercer efeito protetor contra o câncer, em populações saudáveis, quando ingerido em quantidades fisiológicas, normalmente encontradas em uma dieta rica em vegetais e frutas, ou seja, 4-6mg/dia (BENDICH, 1994; BLOCK & LANGSETH, 1994). A suplementação farmacológica crônica não está recomendada para indivíduos saudáveis, e particularmente para tabagistas.

Necessita-se de mais pesquisas experimentais para determinar em quais casos e por quais mecanismos o β -caroteno modula o processo carcinogênico. A função pró-vitáminica A e a ação antioxidante do carotenóide, têm sido bem evidenciadas nesse processo, ao passo que outros mecanismos propostos necessitam de maior comprovação biológica.

Finalmente, um maior entendimento sobre os passos e mecanismos envolvidos na absorção, transporte, distribuição para os tecidos e metabolismo em geral, do β -caroteno e de outros carotenóides, certamente contribuirá para elucidar a associação entre o carotenóide e o câncer, e o potencial protetor do β -caroteno contra diferentes tipos de neoplasias.

AGRADECIMENTOS

À Coordenadoria de Apoio à Pesquisa (CAPES/PICDT) pelo apoio financeiro e ao Prof. Dr. Fernando Salvador Moreno, do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, por importantes orientações técnicas e científicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, P., BERTRAM, J.S. Liarozole potentiates the cancer chemopreventive activity of and the up-regulation of gap junctional communication and connexin 43 expression by retinoic acid and β -carotene in 10T1/2 cells. *Carcinogenesis*, London, v.16, n.9, p.2215-2222, 1995.
- ALABASTER, O., TANG, Z.C., FROST, A., SHIVAPURKAR, N. Effect of β -carotene and bran fiber on colonic aberrant crypt and tumor formation in rats exposed to azoxymethane and high dietary fat. *Carcinogenesis*, London, v.16, n.1, p.127-132, 1995.
- ALBANES, D., HEINONEN, O.P., HUTTUNEN, J.K., TAYLOR, P.R., VIRTAMO, J., EDWARDS, B.K., HAAPAKOSKI, J., RAUTALAHTI, M., HARTMAN, A.M., PALMGREN, J., GREENWALD, P. Effects of α -tocopherol and β -carotene supplements on cancer incidence in the Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.62, Supplement 6, p.1427S-1430S, 1995.
- ALBERTS, D.S., GARCIA, D.J. An overview of clinical cancer chemoprevention studies with emphasis on positive phase III studies. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.125, Supplement 3, p.692S-697S, 1995.
- ALPHA-TOCOPHEROL, beta carotene cancer prevention study group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in males smokers. *New England Journal of Medicine*, Boston, v.330, n.15, p.1029-1035, 1994.
- AMES, B.N. Dietary carcinogens and anticarcinogens. *Science*, Washington DC, v.221, n.4617, p.1256-1263, 1983.
- APPEL, M.J., WOUTERSEN, R.A. Effects of dietary β -carotene and selenium on initiation and promotion of pancreatic carcinogenesis in azaserine-treated rats. *Carcinogenesis*, London, v.17, n.7, p.1411-1416, 1996.

- ASTORG, P., GRADELET, S., BERGÈS, R., SUSCHETET, M. No evidence for an inhibitory effect of β -carotene or of canthaxanthin on the initiation of liver preneoplastic foci by diethylnitrosamine in the rat. *Nutrition and Cancer*, Philadelphia, v.25, n.1, p.27-34, 1996.
- BENDICH, A. Carotenoids and the immune response. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.119, n.1, p.112-115, 1989.
- BENDICH, A. Recent advances in clinical research involving carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, London, v.66, n.5, p.1017-1024, 1994.
- BERTRAM, J.S., KOLONEL, L.N., MEYSKENS Jr., F.L. Rationale and strategies for chemoprevention of cancer in humans. *Cancer Research*, Chicago, v.47, p.3012-3031, 1987.
- BERTRAM, J.S. The chemoprevention of cancer by dietary carotenoids: studies in mouse and human cells. *Pure and Applied Chemistry*, London, v.66, n.5, p.1025-1032, 1994.
- BEYER, E.C., PAUL, D.L., GOODENOUGH, D.A. Connexin family of gap junction protein. *Journal of Membrane Biology*, New York, v.116, p.187-194, 1990.
- BLOCK, G., PATTERSON, B., SUBAR, A. Fruits, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, Philadelphia, v.18, n.1, p.1-29, 1992.
- BLOCK, G., LANGSETH, L. Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technology*, Chicago, v.48, n.7, p.80-84, 1994.
- BLOT, W.J., LI, J.Y., TAYLOR, P.R., GUO, W., DAWSEY, S., WANG, G.Q., YANG, C.S., ZHENG, S.-F., GAIL, M., LI, G.-Y., YU, Y., LIU, B.-Q., TANGREA, J., SUN, Y.-H., LIU, F., FRAUMENI Jr, J.F., ZHANG, Y.-H., LI, B. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combination, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *Journal of the National Cancer Institute*, Bethesda, v.85, n.18, p.1483-1491, 1993.
- BLOT, W.J., LI, J.Y., TAYLOR, P.R., GUO, W., DAWSEY, S.M., LI, B. The Linxian trials: mortality rates by vitamin-mineral intervention group. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.62, Supplement 6, p.1424S-1426S, 1995.
- BRUCE, A. Dietary recommendations in cancer prevention. *Annals of Clinical Research*, Helsinki, v.19, n.5, p.313-320, 1987.
- BURRI, B.J. Beta-carotene and human health: a review of current research. *Nutrition Research*, Los Angeles, v.17, n.3, p.547-580, 1997.
- BURTON, G.W. Antioxidant action of carotenoids. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.119, n.1, p.109-111, 1989.
- CHEN, L.-C., SLY, L., JONES, C.S., TARONE, R., De LUCA, L.M. Differential effects of dietary β -carotene on papilloma and carcinoma formation induced by an initiation-promotion protocol in SENCAR mouse skin. *Carcinogenesis*, London, v.14, n.4, p.713-717, 1993.
- De LUCA, L.M. Retinoids and their receptors in differentiation, embryogenesis, and neoplasia. *FASEB Journal*, Bethesda, v.5, n.14, p.2924-2933, 1991.
- De LUCA, L.M., ROSS, S.A. Beta-carotene increases lung cancer incidence in cigarette smokers. *Nutrition Reviews*, New York, v.54, n.6, p.178-180, 1996.
- DOLL, R. Nature and nurture: possibilities for cancer control. *Carcinogenesis*, London, v.17, n.2, p.177-184, 1996.
- EPSTEIN, J.H. Effects of β -carotene on ultraviolet induced cancer formation in the hairless mouse skin. *Photochemistry and Photobiology*, Oxford, v.25, n.2, p.211-213, 1977.
- ERDMAN Jr., J.W., RUSSELL, R.M., ROCK, C.L., BARUA, A.B., BOWEN, P.E., BURRI, B.J., CURRAN-CELENTANO, J., FURR, H., MAYNE, S.T., STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M. Beta-carotene and the carotenoids: beyond the intervention trials. *Nutrition Reviews*, New York, v.54, n.6, p.1185-1188, 1996.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. *Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B₁₂*. Rome, 1988. (FAO Food and Nutrition Series, 23).
- FARBER, E., SARMA, D.S.R. Hepatocarcinogenesis: a dynamic cellular perspective. *Laboratory Investigation*, Washington DC, v.56, n.1, p.4-22, 1987.
- FREUDENHEIM, J.L. A review of study designs and methods of dietary assessment in nutritional epidemiology of chronic disease. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.123, n.2, p.401-405, 1993.
- GAREWAL, H.S., SHAMDAS, G.J. Intervention trials with beta-carotene in precancerous conditions of the upper aerodigestive tract. In: BENDICH, A., BUTTERWORTH Jr., C.E., (Ed). *Micronutrients in health and in disease prevention*. New York: Marcel Dekker, 1991. p.127-140.
- GAREWAL, H.S. Antioxidants in oral cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.62, Supplement 6, p.1410S-1416S, 1995.
- GERSTER, H. β -carotene, vitamin E and vitamin C in different stages of experimental carcinogenesis. *European Journal of Clinical Nutrition*, London, v.49, p.155-168, 1995.

- GIJARE, P.S., RAO, K.V.K., BHIDG, S.V. Modulatory effects of snuff, retinoic acid, and β -carotene on DMBA - induced hamster cheek pouch carcinogenesis in relation to keratin expression. *Nutrition and Cancer*, Philadelphia, v.14, n.3-4, p.253-259, 1990.
- HARRIS, C.C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. *Cancer Research*, Chicago, v.51, Supplement 18, p.5023S-5044S, 1991.
- HAVAS, S., HEIMENDINGER, J., REYNOLDS, K., BARANOWSKI, T., NICKLAS, T.A., BISHOP, D., BULLER, D., SORENSEN, G., BERESFORD, S.A.A., COWAN, A., DAMRON, D. A day for better health: a new research initiative. *Journal of the American Dietetic Association*, Chicago, v.94, n.1, p.32-36, 1994.
- HE, L., MO, H., HADISUSILO, S., QURESHI, A.A., ELSON, C.E. Isoprenoids suppress the growth of murine B₁₆ melanomas in vitro and in vivo. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.127, p.668-674, 1997.
- HENNEKENS, C.H., BURING, J.E., MANSON, J.E., STAMPFER, M., ROSNER, B., COOK, N.R., BELANGER, C., LaMOTTE, F., GAZIANO, J.M., RIDKER, P.M., WILLET, W., PETO, R. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, Boston, v.334, n.18, p.1145-1149, 1996.
- HUNT, J.R. Position of the American Dietetic Association: vitamin and mineral supplementation. *Journal of the American Dietetic Association*, Chicago, v.96, n.1, p.73-77, 1996.
- IFTIKHAR, S., LIETZ, H., MOBARHAN, S., FROMMEL, T.O. In vitro β -carotene toxicity for human colon cancer cells. *Nutrition and Cancer*, Philadelphia, v.25, n.3, p.221-230, 1996.
- KRINSKY, N.I. Effects of carotenoids in cellular and animal systems. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.53, n.1, p.238S-246S, 1991.
- KRINSKY, N.I. Micronutrients and their influence on mutagenicity and malignant transformation. *Annals of New York Academy of Sciences*, New York, v.686, p.229-242, 1993a.
- KRINSKY, N.I. Actions of carotenoids in biological systems. *Annual Review of Nutrition*, Palo Alto, v.13, p.561-587, 1993b.
- KRINSKY, N.I. The biological properties of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, London, v.66, n.5, p.1003-1010, 1994.
- KRUTOVSKIKH, V.A., MESNIL, M., MAZZOLENI, G., YAMASAKI, H. Inhibition of rat liver gap junction intercellular communication by tumor - promoting agents in vivo. *Laboratory Investigation*, Washington DC, v.72, n.5, p.571-577, 1995.
- LI, J-Y., TAYLOR, P.R., LI, B., DAWSEY, S., WANG, G-Q., ERSHOW, A.G., GUO, W., LIU, S-F., YANG, C.S., SHEN, Q., WANG, W., MARK, S.D., ZOU, X-N., GREENWALD, P., WU, Y-P., BLOT, W.J. Nutrition intervention trials in Linxian, China: multiple vitamin/mineral supplementation, cancer incidence, and disease - specific mortality among adults with esophageal dysplasia. *Journal of the National Cancer Institute*, Bethesda, v.85, n.18, p.1492-1498, 1993.
- MALONE, W.F. Studies evaluating antioxidants and β -carotene as chemopreventives. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.53, n.1, p.305S-313S, 1991. Supplement.
- MANGELS, A.R., HOLDEN, J.M., BEECHER, G.R., FORMAN, M.R., LANZA, E. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *Journal of the American Dietetic Association*, Chicago, v.93, n.3, p.284-296, 1993.
- MANGELSDORF, D.J. Vitamin A receptors. *Nutrition Reviews*, New York, v.52, n.2 (Part 2), p.S32-S44, 1994.
- MATHEWS-ROTH, M.M. Carotenoids and cancer prevention: experimental and epidemiological studies. *Pure and Applied Chemistry*, London, v.57, n.5, p.717-722, 1985.
- MATHEWS-ROTH, M.M., KRINSKY, N.I. Carotenoids affect development of UV-B induced skin cancer. *Photochemistry and Photobiology*, Oxford, v.46, n.4, p.507-509, 1987.
- MAYNE, S.T. Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *FASEB Journal*, Bethesda, v.10, n.7, p.690-701, 1996.
- MOON, R.C. Comparative aspects of carotenoids and retinoids as chemopreventive agents for cancer. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.119, n.1, p.127-134, 1989.
- MORENO, F.S., RIZZI, M.B.S.L., DAGLI, M.L.Z., PENTEADO, M.C.V. Inhibitory effects of β -carotene on preneoplastic lesions induced in wistar rats by the resistant hepatocyte model. *Carcinogenesis*, London, v.12, n.10, p.1817-1822, 1991.
- MORENO, F.S., WU, T.-S., PENTEADO, M.C.V., RIZZI, M.B.S.L., JORDÃO Jr., A.A., ALMEIDA-MURADIAN, L.B., DAGLI, M.L.Z. A comparison of β -carotene and vitamin A effects on a hepatocarcinogenesis model. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, Bern, v.65, p.87-94, 1995a.

- MORENO, F.S., ROSSIELLO, M.R., MANJESHWAR, S., NATH, R., RAO, P.M., RAJALAKSHMI, S., SARMA, D.S.R. Effect of β -carotene on expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in rat liver. *Cancer Letters*, Shanon, v.96, p.201-208, 1995b.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (USA). *Recommended Dietary Allowances*. 10. ed. Washington DC: National Academy Press, 1989. p.78-92.
- NISHINO, H. Cancer chemoprevention by natural carotenoids and their related compounds. *Journal of Cellular Biochemistry*, New York, Supplement 22, p.231S-235S, 1995.
- OLSON, J.A. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. *Pure and Applied Chemistry*, London, v.66, n.5, p.1011-1016, 1994.
- OLSON, J.A. Benefits and liabilities of vitamin A and carotenoids. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.126, Supplement 4, p.1208S-1212S, 1996.
- OMENN, G.S., GOODMAN, G.E., THORNOUIST, M. D., BALMES, J., CULLEN, M. R., GLASS, A., KEOGH, J.P, MEYSKENS Jr., F.L., VALANIS, B., WILLIAMS Jr., J.H., BARNHART, S. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, Boston, v.334, n.18, p.1150-1155, 1996.
- PALOZZA, P., LUBERTO, C., CALVIELLO, G., RICCI, P., BARTOLI, C.M. Antioxidant and prooxidant role of β -carotene in murine normal and tumor thymocytes: effects of oxygen partial pressure. *Free Radical Biology and Medicine*, New York, v.22, n.6, p.1065-1073, 1997.
- PARKER, R.S. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB Journal*, Bethesda, v.10, n.5, p.542-551, 1996.
- PARKIN, D.M., PISANI, P., FERLAY, J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. *International Journal of Cancer*, Geneva, v.54, n.4, p.594-606, 1993.
- PETO, R., DOLL, R., BUCKLEY, J.D., SPORN, M.B. Can dietary β -carotene materially reduce human cancer rates? *Nature*, London, v.290, n.5803, p.201-208, 1981.
- PITOT, H.C., DRAGAN, Y.P. Chemical carcinogenesis. In: KLAASSEN, C.D. (ed). *Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*. 5.ed. New York: McGraw-Hill, 1996. p.201-267.
- PUNG, A., RUNDHAUG, E., YOSHIZAWA, C.N., BERTRAM, J.S. β -carotene and canthaxanthin inhibit chemically - and physically - induced neoplastic transformation in 10T1/2 cells. *Carcinogenesis*, London, v.9, n.9, p.1533-1539, 1988.
- RIZZI, M.B.S.L., DAGLI, M.L.Z., JORDÃO Jr., A.A., PENTEADO, M.V.C., MORENO, F.S. β -carotene inhibits persistent and stimulates remodeling γ GT-positive preneoplastic lesions during early promotion of hepatocarcinogenesis. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, Bern, v.67, p.415-422, 1997.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. *Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin a carotenoids in prepared, processed, and stored foods*. Arlington : John Snow, 1997.
- ROUSSEAU, E.J., DAVISON, A.J., DUNN, B. Protection by β -carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, New York, v.13, n.4, p.407-433, 1992.
- SARKAR, A., MUKHERJEE, B., CHATTERJEE, M. Inhibitory effect of β -carotene on chronic 2-acetylaminofluorene induced hepatocarcinogenesis in rat: reflection in hepatic drug metabolism. *Carcinogenesis*, London, v.15, n.5, p.1055-1060, 1994.
- SHEKELLE, R.B., LIU, S., RAYNOR Jr., W.J., LEPPER, M., MALIZA, C., ROSSOF, A.H. Dietary vitamin A and risk of cancer in the Western Electric Study. *Lancet*, London, v.2, n.8257, p.1185-1189, 1981.
- SICHERI, R., LOLIO, C.A. de, CORREIA, V.R., EVERHART, J.E. Geographical patterns of proportionate mortality for the most common causes of death in Brazil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v.26, n.6, p.424-430, 1992.
- STÄHELIN, H.B. Beta-carotene and cancer. *British Journal of Clinical Practice*, Hove, v.44, p.543-545, 1990.
- STÄHELIN, H.B., GEY, K.F., EICHHOLZER, M., LÜDIN, E. β -Carotene and cancer prevention: the Basel Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.53, Supplement 1, p.265S-269S, 1991.
- STICH, H.F., DUNN, B.P. Relationship between cellular levels of beta-carotene and sensitivity to genotoxic agents. *International Journal of Cancer*, Geneva, v.38, n.5, p.713-717, 1986.
- STICH, H.F., ROSIN, M.P., HORNBY, A.P., MATHEW, B., SANKARANARAYANAN, R., NAIR, M.K. Remission of oral leukoplakias and micronuclei in tobacco/betel quid chewers treated with beta-carotene and with beta-carotene plus vitamin A. *International Journal of Cancer*, Geneva, v.42, n.2, p.195-199, 1988.
- SUDA, D., SCHWARTZ, J., SHKLAR, G. Inhibition of experimental oral carcinogenesis by topical beta carotene. *Carcinogenesis*, London, v.7, n.5, p.711-715, 1986.

- THOMAS, J.A. Oxidative stress, oxidative defense, and dietary constituents. In: SHILS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M. (ed). *Modern nutrition in health and disease*. 8.ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1994. v.1.p.501-512.
- VAN POPPEL, G. Carotenoids and cancer : an update with emphasis on human intervention studies. *European Journal of Cancer*, Oxford, v.29A, n.9, p.1335-1344, 1993.
- VAN POPPEL, G., GOLDBOHM, R.A. Epidemiologic evidence for β -carotene and cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.62, Supplement 6, p.1393S-1402S, 1995.
- VAN POPPEL, G. Epidemiological evidence for β -carotene in prevention of cancer and cardiovascular disease. *European Journal of Clinical Nutrition*, London, v.50, Supplement 3, p.57S-61S, 1996.
- VAN VLIET, T. Absorption of β -carotene and other carotenoids in humans and animal models. *European Journal of Clinical Nutrition*, London, v.50, Supplement 3, p.32S-37S, 1996.
- WANG, X-D. Review: absorption and metabolism of β -carotene. *Journal of the American College of Nutrition*, New York, v.13, n.4, p.314-325, 1994.
- ZHANG, L-X., COONEY, R.V., BERTRAM, J.S. Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells : relationship to their cancer chemopreventive action. *Carcinogenesis*, London, v.12, n.11, p.2109-2114, 1991.
- ZHANG, L-X., COONEY, R.V., BERTRAM, J.S. Carotenoids up-regulate connexin 43 gene expression independent of their provitamin A or antioxidant properties. *Cancer Research*, Chicago, v.52, n.20, p.5707-5712, 1992.
- ZIEGLER, R.G. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.119, n.1, p.116-122, 1989.
- ZIEGLER, R.G. Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.53, Supplement 1, p.251S-259S, 1991.
- ZIEGLER, R.G., SUBAR, A.F., CRAFT, N.E., URSIN, G., PATTERSON, B.H., GRAUBARD, B.I. Does β -carotene explain why reduced cancer risk is associated with vegetable and fruit intake? *Cancer Research*, Chicago, v.52, Supplement 7, p.2060S-2066S, 1992.
- ZIEGLER, R.G., COLAVITO, E.A., HARTGE, P., McADAMS, M.J., SCHOENBERG, J.B., MASON, T.J., FRAUMENI Jr., J.F. Importance of α -carotene, β -carotene, and other phytochemicals in the etiology of lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, Bethesda, v.88, n.9, p.612-615, 1996a.
- ZIEGLER, R.G., MAYNE, S.T., SWANSON, C.A. Nutrition and lung cancer. *Cancer Causes and Control*, London, v.7, n.1, p.157-177, 1996b.

Recebido para a publicação em 27 de agosto e aceito em 19 de dezembro de 1997.