

Série de Publicações ILSI Brasil

FUNÇÕES PLENAMENTE  
RECONHECIDAS DE NUTRIENTES  
  
CAROTENOIDES

Maria Aderuza Horst

*Laboratório de Dieta Nutrição e Câncer do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo*

Fernando Salvador Moreno

*Laboratório de Dieta Nutrição e Câncer do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo*

---

ILSI



International  
Life Sciences  
INSTITUTE®

---

FORÇA-TAREFA ALIMENTOS FORTIFICADOS E SUPLEMENTOS  
COMITÊ DE NUTRIÇÃO  
ILSI BRASIL  
JULHO 2009

---



## 1. INTRODUÇÃO

São convincentes as evidências da associação entre a dieta e o risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (Doll & Peto, 1981). Baseando-se nessas premissas foram elaborados, em todo o mundo, guias dietéticos visando à prevenção de doenças como as oculares, cardiovasculares e o câncer. Entre as recomendações, destaca-se o aumento do consumo de frutas e hortaliças, importantes fontes de carotenoides e outros compostos bioativos, aos quais se atribui a atividade protetora desses alimentos (Kurahashi *et al.*, 2009).

O termo “carotenoides” refere-se a uma classe de pigmentos, sintetizados em plantas, algas e bactérias fotossintetizantes, mas não em animais. São responsáveis pelas cores amarelo, alaranjado e vermelho nas plantas, por exemplo. Existem aproximadamente 600 carotenoides na natureza, entretanto, apenas de 30 a 40 deles estão presentes na alimentação, e 13 compostos e 8 metabólitos são encontrados em tecidos humanos, variando de acordo com as dietas individuais. Destes,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína, zeaxantina e licopeno são responsáveis por aproximadamente 90% das concentrações plasmáticas dos carotenoides (Khachik *et al.*, 1997). Contudo, o plasma apresenta apenas 1% dos carotenoides do organismo. As concentrações mais elevadas são encontradas no fígado, mas os carotenoides também podem ser depositados no tecido adiposo, colón, pâncreas, próstata, mácula lútea e pele (Perez-Galvez & Minguez-Mosquera, 2005).

O organismo humano não é capaz de sintetizar carotenoides; assim, frutas e hortaliças constituem suas principais fontes. Alfa e  $\beta$ -carotenos,  $\beta$ -criptoxantina, luteína, zeaxantina e licopeno consistem nos principais carotenoides presentes na alimentação (Alaluf *et al.*, 2002).

Carotenoides são os compostos bioativos dos alimentos (CBAs) mais estudados em vários de seus aspectos, incluindo a elucidação de suas propriedades físico-químicas, estabilidade e alterações durante o processamento e estocagem, biossíntese e metabolismo, bem como biodisponibilidade, implicações na saúde humana, e relação entre estrutura e função biológica. Além disso, são amplamente utilizados no desenvolvimento de produtos alimentícios enriquecidos, devido às suas propriedades como corantes naturais, antioxidantes e fontes de vitamina A (Ishida & Chapman, 2009).

Atribui-se a esses compostos atividades biológicas. Entre estas, a mais reconhecida é sua função como pró-vitamina A. Contudo, podem-se destacar outras ações, como capacidade antioxidante, filtração da luz solar, facilitação da comunicação celular e atuação na resposta imune. Destacam-se também algumas associações, como a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, incluindo alguns tipos de câncer (Maiani *et al.*, 2008).

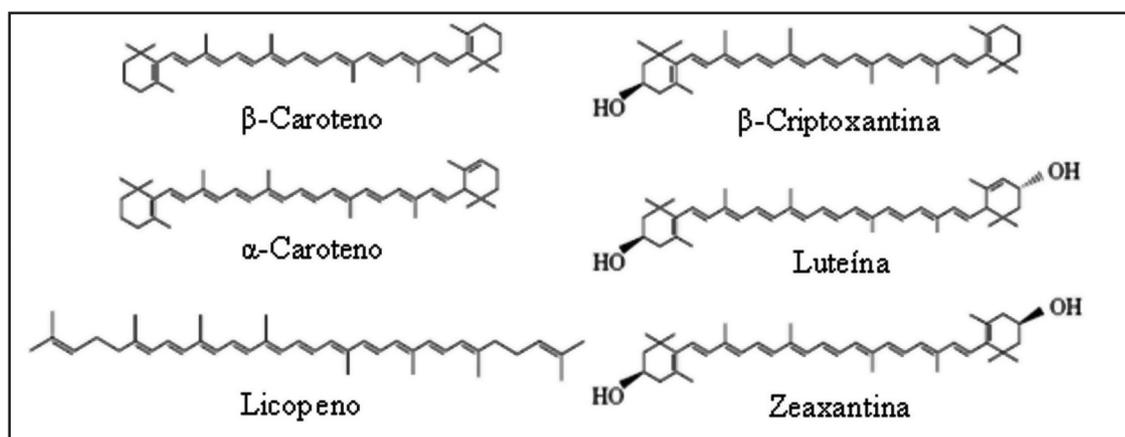
Assim, estudos vêm sendo conduzidos a fim de se confirmarem as atividades biológicas desses CBAs. Todavia, as pesquisas ainda são inconclusivas e os resultados controversos, o que impossibilita a alegação comprovada de efeitos.

## 2. ESTRUTURA

Carotenoides apresentam uma estrutura de cadeia longa com duplas ligações entre carbonos e

simetria bilateral. Os diferentes compostos são gerados essencialmente por modificações em uma estrutura básica, especialmente com formação de anéis nas extremidades e pela adição de átomos de oxigênio, que fornece as características de cor e capacidade antioxidante. A estrutura dos carotenoides mais comuns está demonstrada na figura 1. A presença de duplas ligações conjugadas favorece a isomerização da forma *cis* para a *trans*, sendo a última mais estável e a mais comum em plantas. Contudo, pouco se conhece a respeito da influência biológica dessa isomerização na saúde humana (Rao & Rao, 2007).

Os carotenoides podem ser distribuídos em duas classes: os carotenos, altamente apolares, formados apenas por carbono e hidrogênio, como o  $\beta$ -caroteno e o licopeno, e as xantofilas, carotenoides polares como a luteína e zeaxantina, que apresentam, além de carbono e hidrogênio, oxigênio em sua estrutura (Rodríguez-Amaya, 1999).



Fonte: Krinsky e Johnson, 2005 (adaptado).

**Figura 1.** Estrutura dos principais carotenoides presentes na alimentação.

### 3. BIODISPONIBILIDADE

Carotenoides não estão livres nos alimentos, mas associados a proteínas e a uma variedade de estruturas celulares, como fibras e polissacarídeos; para que ocorra a absorção, é necessária sua liberação do alimento de origem. Esse processo ocorre de forma incompleta durante a cocção, mastigação, deglutição e também no estômago, o que resulta em 11% a 50% de biodisponibilidade (Khachik *et al.*, 1995; Borel *et al.*, 2005).

No estômago, os carotenoides liberados da matriz dissolvem-se na emulsão do conteúdo gástrico, que passa, a seguir, ao duodeno. Nessa emulsão, a solubilidade e localização dos carotenoides diferem, tendendo os não polares, ou seja, os carotenos, a permanecerem na região interna, e as xantofilas, mais polares, distribuindo-se na superfície (Borel, 2003). Subseqüentemente, ocorre transferência desses, da emulsão para as micelas, onde os carotenoides também adotam uma solubilização independente em diferentes regiões, de acordo com sua polaridade; após a incorporação a micelas, carotenoides são absorvidos por difusão passiva. No interior dos enterócitos, aqueles não convertidos em vitamina A são incorporados em quilimícrons e, a seguir,

transportados na linfa até a circulação central, onde a lipase de lipoproteínas hidrolisa grande parte do triacilglicerol, resultando em remanescentes de quilomícrons. Estes últimos, por sua vez, interagem com receptores em hepatócitos. Uma vez no fígado, carotenoides podem ser convertidos a retinoides ou incorporados em lipoproteínas, sendo, a seguir, transportados para os outros órgãos pela corrente sanguínea. Carotenoides são em sua maioria hidrofóbicos, o que possibilita sua interação com componentes lipofílicos da célula (Yonekura e Nagao, 2007).

Carotenoides que apresentam estrutura com anel  $\beta$ -ionona não substituído, associado a uma cadeia lateral poliênica com ao menos 11 átomos de carbono, podem ser clivados a vitamina A. Nesse sentido, o  $\beta$ -caroteno parece ser o composto que apresenta maior eficiência de conversão. Entretanto, seu mecanismo de clivagem é controverso, tendo sido sugeridas duas hipóteses: clivagem central ou excêntrica da molécula. No caso da primeira, pode ocorrer cisão nos dois átomos centrais de carbono do  $\beta$ -caroteno, resultando em duas moléculas de retinaldeído que são subseqüentemente reduzidas a retinol (vitamina A) (Lakshman *et al.*, 1989). Já a clivagem excêntrica do  $\beta$ -caroteno dá origem a diferentes metabólitos denominados  $\beta$ -apocarotenais, que podem ser, então, convertidos em retinaldeídos ou oxidados em ácidos  $\beta$ -apo-carotenóicos. Estes últimos são também eventuais precursores do ácido retinoico. Além disso, alguns dos apocarotenais são relativamente polares, podendo ser transportados do intestino ao fígado pelo sistema porta (Furr e Clark, 1997).

#### 4. RECOMENDAÇÕES

Com relação a recomendações de consumo de carotenoides, o Instituto de Medicina (IOM) alega que os resultados existentes na literatura são ainda inconsistentes para o estabelecimento das respectivas “ingestões dietéticas recomendadas” (*recommended dietary allowances* – RDAs) ou das “ingestões adequadas” (*adequate intake* – AIs). A única indicação nesse sentido é a sugestão de um consumo elevado de frutas e hortaliças, que visa ao aumento da ingestão de alimentos com alto teor de CBAs com capacidade antioxidante, entre eles, carotenoides (Institute of Medicine, 2000).

#### 5. TOXICIDADE

A principal manifestação visível relativa ao consumo elevado de carotenoides (acima de 30 mg/dia) é a carotenodermia. Caracteriza-se por coloração amarelada da pele, não associada a qualquer condição deletéria à saúde. A carotenodermia é facilmente revertida com redução da ingestão de carotenoides (Linus Pauling Institute, 2009).

Doses elevadas de  $\beta$ -caroteno não são tidas como causa de toxicidade de vitamina A. Uma explicação seria que, por ocasião de estoques adequados dessa vitamina, ocorreria redução da conversão de carotenoides com função pró-vitáminica A (Solomons, 2001). Assim, doses farmacológicas (acima de 180 mg/dia) de  $\beta$ -caroteno estão indicadas para o tratamento da protoporfiria eritropoiética (ver adiante), com ausência de efeitos tóxicos.

## 6. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DOS CAROTENOIDES

Devido ao grande número de propriedades atribuídas aos carotenoides, sugeriu-se que estas poderiam ser distribuídas em três categorias, ou seja: funções, ações e associações, úteis para se classificar as várias relações entre carotenoides e processos fisiológicos ou biológicos (Olson 1999; Bendich, 2004).

Funções podem ser definidas como papéis essenciais que estes desempenham, ao menos sob determinadas condições. Portanto, a ausência do carotenoide resulta, neste caso, em incapacidade fisiológica. Já ações podem ser consideradas fisiológicas ou farmacológicas em decorrência da administração de carotenoides; entretanto, a resposta, que pode ser benéfica ou deletéria, não é essencial ao adequado funcionamento do organismo. Finalmente, as associações definem correlações entre carotenoides e algum evento fisiológico ou biológico que possa ou não apresentar efetivamente uma relação causal (Krinski, 1993; Bendich, 2004).

Em animais e humanos, os carotenoides apresentam, entre suas principais funções, a conversão em vitamina A e a proteção contra a foto-oxidação, esta última em decorrência de sua atuação como sequestradores de espécies reativas de oxigênio (EROs) e por interagirem sinergicamente com outros antioxidantes (Krinski, 1993; Lorenzo *et al.*, 2009).

Ações biológicas dos carotenoides resultam, por exemplo, de sua capacidade antioxidante, atuação no sistema imune e aumento da densidade da mácula em primatas (Krinski, 1993). Porém, estudos mais recentes demonstram que os carotenoides também apresentam ações relacionadas ao controle da expressão gênica, à regulação da comunicação e proliferação celular e à modulação de enzimas metabolizadoras de xenobióticos (Tapiero *et al.*, 2004; Rao & Rao, 2007). Contudo, vale destacar que as diferentes ações biológicas destes compostos não ocorrem de forma isolada, mas sim em interação.

Como associações, pode-se ressaltar a redução do risco de desenvolvimento de degeneração macular relacionada à idade, de catarata, de doenças cardiovasculares e de alguns tipos de câncer. Estudos epidemiológicos apontam para a existência de uma relação positiva entre maior consumo de carotenoides, com consequente aumento de suas concentrações plasmáticas e teciduais, e uma redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (Johnson, 2002; Wang *et al.*, 2007). Nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA) não permite alegações de funcionalidade, argumentando que os estudos são ainda inconsistentes (Food and Drug Administration, 2009). Por outro lado, apesar de nem todas as associações serem plenamente reconhecidas, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aceita alegações de capacidade antioxidante relacionadas ao licopeno, luteína e zeaxantina (ANVISA, 2009).

## 6.1 Funções

### 6.1.1 Atividade pró-vitáminica A

Descreve-se que, para um carotenoide apresentar atividade pró-vitáminica A, o composto deve apresentar ao menos um anel  $\beta$ -ionona (trimetil ciclohexano conjugado) não substituído e uma cadeia lateral poliênica ligada. A outra extremidade da molécula pode variar quanto à estrutura cíclica ou acíclica e ser alongada, mas não encurtada a um fragmento poliênico contendo menos do que 11 carbonos (Olson, 1997). Por esta razão, nem todos os carotenoides apresentam função de pró-vitamina A. Esta consiste, na verdade, na principal função nutricional dos carotenoides.

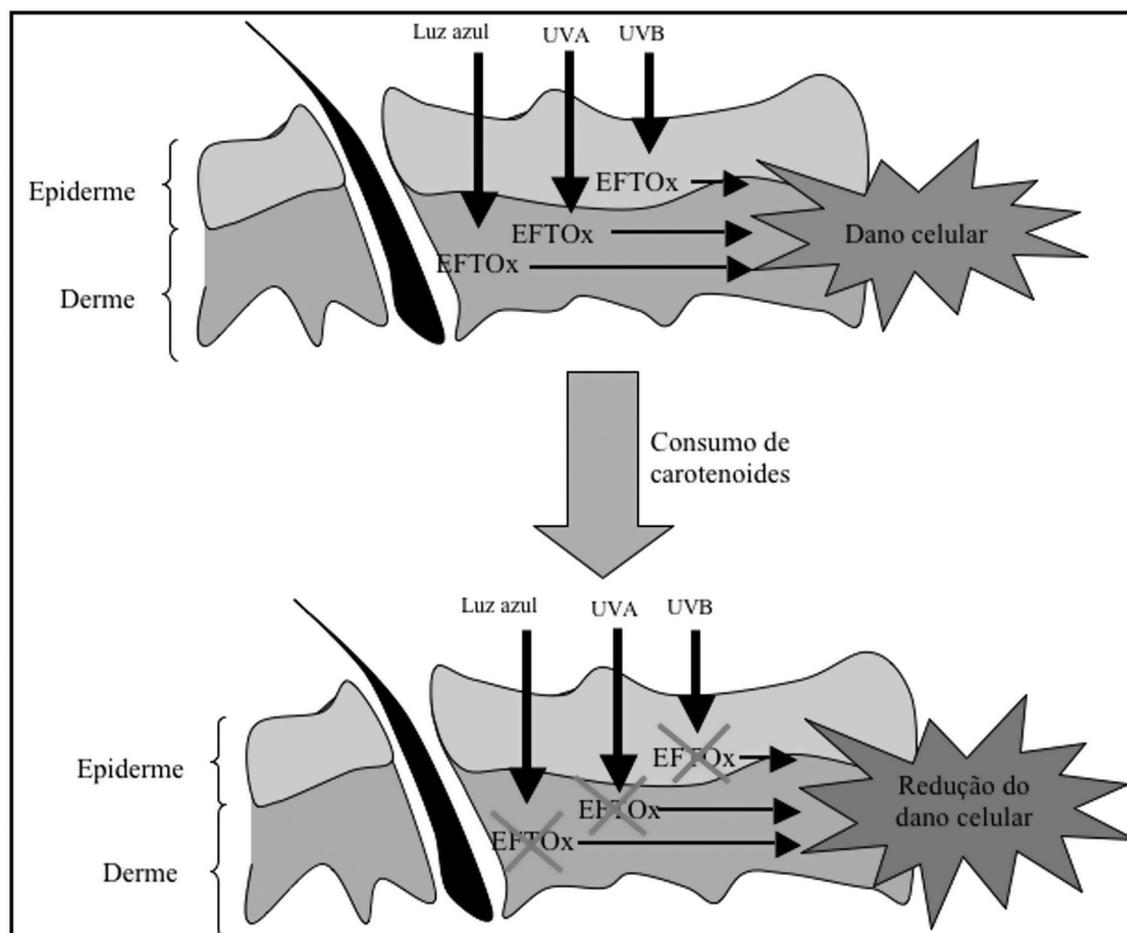
A vitamina A é essencial aos processos normais de crescimento e desenvolvimento, para proteção da pele, bom funcionamento do sistema imune e para a visão. Frequentemente, essas funções são atribuídas apenas aos carotenoides que apresentam função pró-vitáminica A, especialmente o  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos e a  $\beta$ -criptoxantina (Linus Pauling Institute, 2009).

O principal carotenoide com atividade pró-vitáminica A é o  $\beta$ -caroteno, que apresenta 100% de eficiência nessa conversão, uma vez que sua clivagem resulta, em última instância, em 2 moléculas de vitamina A (Krinsky & Russell, 2001). Em países emergentes, carotenoides com função de pró-vitamina A consistem na principal fonte alimentar dessa vitamina.

### 6.1.2 Proteção da pele

A exposição da pele a raios solares ultravioleta (UV) do tipo A (UVA) e/ou B (UVB), bem como a emitidos no comprimento de onda na faixa da luz azul (430 a 500 nm), resulta em reações químicas e biológicas denominadas de estresse foto-oxidativo. Biomoléculas celulares como lipídios, proteínas e DNA podem ser afetadas por danos foto-oxidativos, o que resulta em eritema (vermelhidão), envelhecimento precoce da pele, desenvolvimento de fotodermatoses e câncer de pele (Stahl & Sies, 2007). A figura 2 ilustra danos causados pelos diferentes raios solares e a ação antioxidante de carotenoides.

Compostos com função pró-vitáminica A exercem papel crítico na manutenção, crescimento e diferenciação epiteliais. O  $\beta$ -caroteno foi considerado inúmeras vezes um protetor solar. Conseqüentemente, aventa-se que possa ser benéfico o consumo de suplementos orais quando há exposição prolongada ao sol (Alemzadeh & Feehan, 2004; Kelly *et al.*, 2007).



EFTOx: estresse foto-oxidativo; UVA: raios ultravioleta A; UVB: raios ultravioleta B.

**Figura 2:** Efeito dos Carotenoides na Proteção da Pele Contra Raios Solares.

O  $\beta$ -caroteno é normalmente prescrito na forma de suplemento a portadores de protoporfiria eritropoiética, uma doença que tem como característica fotossensibilidade incomum da pele (Harper & Wahllins, 2007). Esse carotenoide também é utilizado no tratamento de outras doenças induzidas ou agravadas pela exposição a raios UV, como urticária solar, erupções polimórficas, reações alérgicas a fármacos e lúpus eritematoso (Bayerl, 2008).

Estudos de intervenção indicam que suplementos ou dietas com alimentos que apresentam elevado conteúdo de carotenoides são eficientes em fotoproteção sistêmica, avaliada como redução da sensibilidade na formação de eritema induzido por raios UV. O sucesso da intervenção depende da dose (acima de 20 mg) e do tempo de administração, que deve ser superior a 10 semanas. O aumento no consumo de alimentos com teor elevado de carotenoides pode contribuir para a proteção contra raios UV durante toda a vida (Sies & Stahl, 2004). Alguns estudos de intervenção e suplementação estão relacionados na tabela 1.

Por suas propriedades químicas e biológicas, outro carotenoide com função fotoprotetora é o licopeno. Quando administrado a indivíduos saudáveis, o licopeno de diferentes fontes (molho e suco de tomate, suco de cenoura enriquecido com licopeno e cápsulas de licopeno contendo  $\beta$ -caroteno) resultou em proteção da pele, avaliada por aumento da dose mínima de raios UV necessária para causar eritema (Stahl *et al.*, 2005).

Contudo, estudos com duração de 3 a 8 semanas não demonstraram proteção. Baseando-se nos dados expostos na tabela 1, pode-se concluir que doses moderadas de  $\beta$ -caroteno não são suficientes para resultar em fotoproteção.

**tabela 1.** Fotoproteção e estudos de intervenção dietética e suplementação com carotenoides.

Intervenção	Duração (semanas)	Resultado	Referência
40 g de pasta de tomate (16 mg de licopeno/dia)	10	Redução de eritema	Stahl <i>et al.</i> , 2001
60 mg de $\beta$ -caroteno + 90 mg de cantaxantina	4	Ausência de proteção	Wolf <i>et al.</i> , 1988
$\beta$ -caroteno			
90 mg/dia	3	Ausência de proteção	Garmyn <i>et al.</i> , 1995
30 mg/dia	12	Redução de eritema	Gollnick <i>et al.</i> , 1996
30-90 mg/dia	24	Redução de eritema	Stahl <i>et al.</i> , 2000
24 mg/dia	12	Redução de eritema	Lee <i>et al.</i> , 2000
24 mg/dia	12	Redução de eritema	Heinrich <i>et al.</i> , 2003
15mg/dia	8	Ausência de proteção	McArdle <i>et al.</i> , 2004
Mistura de carotenoides ( $\beta$ -caroteno, licopeno e luteína, 8 mg cada/dia)	12	Redução de eritema	Cesarini <i>et al.</i> , 2003

## 6.2 Ações

### 6.2.1 Capacidade antioxidante

Espécies reativas de oxigênio (EROs) são geradas endogenamente pelo metabolismo normal, por atividade física e pela alimentação. Essa situação pode causar danos oxidativos por meio de uma reação em cadeia que culmina em efeitos deletérios. Por exemplo, a reação de EROs com biomoléculas essenciais, como os lipídios, proteínas e DNA, acompanhada de eventos iniciadores, resulta em doenças crônicas não transmissíveis como as oculares, cardiovasculares e o câncer (Maher, 2000). Consequentemente, antioxidantes alimentares com capacidade de inativar EROs resultam em proteção contra danos oxidativos e são considerados importantes preventivos.

Como carotenoides são altamente hidrofóbicos, espera-se que sua ação antioxidante ocorra em um ambiente lipofílico, como membranas celulares ou lipoproteínas. Reações antioxidantes, especificamente em membranas, podem ocorrer tanto na presença de carotenoides apolares (carotenos) como polares (xantofilas). A capacidade antioxidante dessas duas classes de carotenoides depende de sua localização na membrana. Assim,  $\beta$ -caroteno e licopeno são capazes de sequestrar EROs na porção hidrofóbica; já as xantofilas são mais efetivas na região polar, hidrofílica (Tapiero *et al.*, 2004).

A eficácia dos carotenoides como antioxidantes depende do número de duplas ligações de sua estrutura. Nesse sentido, o mais eficiente é o licopeno, que representa aproximadamente 30% dos carotenoides totais do plasma (Di Mascio *et al.*, 1989). Alfa- e  $\beta$ -carotenos, luteína, zeaxantina e criptoxantina plasmáticos também apresentam, entretanto, pronunciada capacidade antioxidante (Tapiero *et al.*, 2004).

Assim, carotenoides exercem efeitos em biomarcadores de estresse oxidativo, reduzindo a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e aumentando a capacidade antioxidante total do plasma. A utilização de cápsulas contendo uma mistura de carotenoides (6,0 mg de  $\beta$ -caroteno, 1,4 mg de  $\alpha$ -caroteno, 4,5 mg de licopeno, 11,7 mg de bixina, 4,4 mg de luteína e 2,2 mg de carotenoides da páprica) resultou em redução do estresse oxidativo induzido por consumo de óleo de peixe e melhora da estabilidade oxidativa da LDL *ex vivo*; além disso, atuou sinergicamente com o óleo de peixe, reduzindo triacilgliceróis plasmáticos (Kiokias & Gordon, 2003).

Liebler *et al.* (1997) observaram, *in vitro*, que o  $\beta$ -caroteno incorporado a lipossomos é um efetivo inibidor da peroxidação lipídica induzida por agente químico oxidante. Apesar de testes *in vitro* indicarem que os carotenoides atuam como inibidores da peroxidação lipídica sob certas circunstâncias, em humanos essa ação ainda não está clara (Young & Lowe, 2001). Nesse sentido, alguns pesquisadores discordam de que carotenoides são capazes de exercer atividade antioxidante *in vivo* (Halliwell, 1996; Briviba *et al.*, 2004).

Carotenoides também podem apresentar efeitos antioxidantes indiretos, via indução de enzimas de fase II. O controle transcricional dessas enzimas é mediado, em parte, pelo elemento de resposta antioxidante (ERA). Essa ação é descrita em mais detalhe no tópico de indução da expressão gênica.

Entretanto, como todos os antioxidantes, os carotenoides também podem exercer atividade pró-oxidante em determinadas circunstâncias. Em particular, quando ocorre o consumo de doses elevadas e em condições de estresse oxidativo intensificado (Palozza *et al.*, 1997). Interações cooperativas entre o  $\beta$ -caroteno e outros antioxidantes são essenciais para determinar, em última instância, o efeito antioxidante/pró-oxidante desse carotenoide em cultura de células. A presença de outros antioxidantes como, por exemplo, a vitamina E, pode limitar o caráter pró-oxidante do  $\beta$ -caroteno. Em cultura de células neoplásicas de diferentes linhagens, a adição de vitamina E possibilitou a reversão completa dos efeitos pró-oxidantes desse carotenoide (Palozza *et al.*, 2001).

### 6.2.2 Filtro da luz solar

A longa cadeia de ligações simples e duplas alternadas, comum a todos os carotenoides, confere a estes capacidade de filtrar a luz visível. Essa propriedade é importante, mais especificamente para os olhos, onde carotenoides exercem função de absorção da luz azul, o que resulta em proteção de estruturas essenciais contra danos oxidativos. A região da retina conhecida como mácula lútea é assim denominada devido a sua cor amarelada, resultante do acúmulo de luteína e zeaxantina (Krinsky & Jonhson, 2005). Esses carotenoides, que não podem ser sintetizados pelo organismo humano, devem ser obtidos a partir da alimentação. Fontes incluem gema de ovos, milho, suco de laranja, melão “orange”, pimenta e hortaliças verde-escuro, como couve, espinafre e brócolis (Semba & Dagnelie, 2003).

A capacidade de filtrar a luz azul, atribuída aos carotenoides, foi classificada na sequência: luteína > zeaxantina >  $\beta$ -caroteno > licopeno (Junghans *et al.*, 2001). A identificação de subprodutos de oxidação de luteína e zeaxantina na retina humana e em outros tecidos oculares endossa o papel antioxidante de xantofilas no olho humano (Bernstein *et al.*, 2001).

Um grupo específico de estudos a respeito de carotenoides e doenças oculares relacionadas à idade (*Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study* – CAREDS) associou a catarata senil ao consumo e às concentrações plasmáticas de luteína e zeaxantina em mulheres inicialmente saudáveis, com mais de 50 anos. Mulheres com consumo elevado de luteína e zeaxantina tiveram menor (–23%) prevalência de catarata que mulheres com consumo reduzido desses carotenoides. Os resultados possibilitaram a conclusão de que dietas com teores elevados de carotenoides estão moderadamente associadas à redução da prevalência de catarata nessa população (Moeller *et al.*, 2008).

### 6.2.3 Expressão gênica

Uma das ações mais abordadas na literatura atual em relação aos carotenoides é sua capacidade de modulação da expressão gênica. Nesse sentido, a tecnologia genômica pode contribuir para a elucidação dos efeitos dos carotenoides em benefício da saúde humana. Esse entendimento torna-se necessário ao estabelecimento de biomarcadores de efeito, ainda em estágios iniciais de doenças. Assim, seria possível se definirem os mecanismos de ação dos carotenoides na presença ou ausência de fatores de risco ambientais, como o tabagismo e a exposição ao amianto. Ensaio *in vitro* e *in vivo* podem ser úteis nesse contexto; entretanto, é difícil a transposição desses resultados para humanos. Dessa forma, a melhor alternativa seria a utilização de arranjos de sequências de cDNA de genes humanos, o que possibilitaria uma nova perspectiva para a análise molecular dos efeitos dos carotenoides na saúde. Keijer *et al.* (2005) revisaram a aplicação da genômica funcional na avaliação dos riscos e benefícios que o  $\beta$ -caroteno pode acarretar à saúde humana.

Entre os genes mais estudados, estão os que codificam para as enzimas metabolizadoras de xenobióticos, as quais são responsáveis pela destoxificação de compostos nocivos ao organismo. Alguns estudos sugerem que essa atividade está relacionada aos efeitos antineoplásicos dos carotenoides.

Ben-Dor *et al.* (2005) estudaram, em cultura de células de mama e de fígado, a ação de carotenoides em nível da transcrição. Nesse sentido, o licopeno induziu a expressão de enzimas detoxificadoras, via estimulação do sistema de transcrição ativado pelo ERA.

Outra enzima que parece ser regulada por carotenoides é a 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMGCoA) redutase, fundamental à síntese do colesterol em tecidos de origem animal e de carotenoides em tecido vegetal. A administração de  $\beta$ -caroteno a ratos reduziu a expressão dessa enzima no fígado dos animais (Moreno *et al.*, 1995). Além disso,  $\beta$ -caroteno e licopeno suprimiram a síntese celular do colesterol em cultura de macrófagos. Esses dados foram confirmados *in vivo*, com a suplementação de voluntários saudáveis com licopeno, o que resultou em 14% de redução de LDL-c. Os autores sugeriram que esse efeito ocorreu graças à capacidade desses carotenoides de inibir a atividade da HMGCoA redutase (Fuhrman *et al.*, 1997).

#### 6.2.4 Resposta Imune

O sistema imune está associado à patogenia de doenças crônicas não transmissíveis. Nesse sentido, a ação protetora dos carotenoides pode estar relacionada a atividades imunomoduladoras. Chew e Park (2004), em uma extensa revisão a respeito de carotenoides e sistema imune, afirmam que esses compostos estão envolvidos com a atividade de imunoglobulinas, com a linfoblastogênese, atividade citotóxica de linfócitos e produção de citocinas.

O aumento de atividade de células *natural killer* foi observado em pacientes suplementados com  $\beta$ -caroteno, quando comparados àqueles do grupo controle (Santos *et al.*, 1996). A suplementação de homens com  $\beta$ -caroteno (suco de cenoura), licopeno (suco de tomate) ou luteína (suco de espinafre) resultou em aumento da proliferação de células T (Jyonouchi, 1994). Watzl *et al.* (1999) também estudaram os efeitos da suplementação de voluntários, submetidos previamente a um período de dieta restrita em carotenoides, durante 2 semanas, com os sucos citados anteriormente. Os autores observaram que a restrição reduziu a proliferação de células sanguíneas mononucleadas. Além disso, a suplementação com suco de tomate não reverteu esse quadro, porém aumentou a secreção de interleucinas. Já os sucos de cenoura e espinafre não apresentaram, nesse sentido, efeitos pronunciados.

A suplementação de voluntários tabagistas com  $\beta$ -caroteno resultou em aumento das concentrações plasmáticas do carotenoide e consequente indução da proliferação de linfócitos, quando comparados ao grupo placebo (Van Poppel, 1993). Em outro estudo com esse mesmo carotenoide, agora com voluntários não-tabagistas, constatou-se melhora da resposta imune avaliada pelo aumento da secreção de citocinas (Hughes *et al.*, 1997). Entretanto, carotenoides sem atividade pró-vitamínica A, como o licopeno e a luteína, não apresentaram capacidade de modulação do sistema imune (Hughes *et al.*, 2000). O mesmo grupo de autores não observou efeitos no sistema imune de idosos, após suplementação com licopeno ou  $\beta$ -caroteno (Corridan *et al.*, 2001).

Levando-se em consideração que a vitamina A é um nutriente imunomodulador, sugere-se que os efeitos dos carotenoides descritos anteriormente possam ocorrer após seu metabolismo e conversão em vitamina A, especialmente pela mediação das respostas via receptores do ácido retinoico. Entretanto, nesse sentido, os mecanismos de ação desses compostos foram apenas parcialmente

elucidados. A maioria das evidências da literatura têm como foco o  $\beta$ -caroteno, porém, carotenoides que não apresentam atividade pró-vitáminica A, como luteína, zeaxantina, cantaxantina e licopeno, parecem também exercer efeitos no sistema imune (Chew & Park, 2004).

Os carotenoides influenciam ainda a resposta imune graças a sua capacidade de conferir fluidez à membrana celular, ou por sequestrarem EROs. Contudo, as ações desses compostos no sistema imune dependem de um tênue equilíbrio entre o tipo celular envolvido e características do carotenoide, como sua estrutura e concentração plasmática (Chew & Park, 2004).

### 6.2.5 Comunicação celular

Junções comunicantes do tipo hiato (JCH, do inglês *gap junctions*) constituem canais de comunicação célula-célula, formados por proteínas denominadas conexinas, responsáveis pela troca de compostos de baixo peso molecular, como nutrientes e moléculas de sinalização. Virtualmente, todas as neoplasias humanas são deficientes em comunicação celular, e sua restauração, via aumento da expressão de proteínas conexinas, reduz neoplasias (Bertram & Vine, 2005). Assim, a função de indução da comunicação celular pelos carotenoides pode ser discutida no contexto de suas ações promotoras da saúde humana.

Nesse sentido, o  $\beta$ -caroteno mostrou-se eficiente na indução de JCH em cultura de fibroblastos. Os autores constataram uma fraca correlação entre a capacidade antioxidante dos carotenoides e sua atividade nas JCH, sugerindo que seu efeito quimiopreventivo possa estar relacionado a esses dois mecanismos, porém de forma independente (Stahl *et al.*, 1997). Esses dados confirmam os achados de Zhang *et al.* (1991), que observaram, também *in vitro*, que a atividade inibidora da transformação neoplásica de células 10T1/2 pelos carotenoides  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos, cantaxantina, luteína e licopeno, está relacionada à indução da comunicação celular e da inibição da peroxidação lipídica. Essas ações apresentaram uma fraca correlação.

Em cultura de células de câncer de mama tratadas com licopeno, observou-se aumento da expressão de conexinas, tanto em nível de RNAm, quanto de proteína (Chalabi *et al.*, 2007). O  $\beta$ -caroteno e a astaxantina também foram capazes de aumentar a expressão de conexinas em cultura de fibroblastos (Bertran & Vine, 2005).

O aumento das JCH, induzido pelo tratamento com carotenoides, pode estar relacionado à indução da expressão de genes e ao conseqüente aumento das proteínas conexinas. Nesse sentido, um dos poucos trabalhos da literatura realizado *in vivo* demonstrou a capacidade do  $\beta$ -caroteno de modular a expressão de genes que codificam para a conexina 43 em fígado de ratos, submetidos a modelo de diferenciação hepática. Esse resultado indica que o  $\beta$ -caroteno está relacionado com o processo de diferenciação celular, via modulação da expressão de conexinas (Naves *et al.*, 2001). Essa função parece ser independente da capacidade antioxidante ou da função de pró-vitamina A dos carotenoides.

## 6.3 Associações

### 6.3.1 *Protoporfiria eritropoiética*

O  $\beta$ -caroteno já é utilizado como tratamento de doenças fotossensíveis há mais de 40 anos (Mathews, 1964). A principal indicação desse tratamento é a fotossensibilidade associada à protoporfiria eritropoiética. Porfirias constituem um grupo de distúrbios metabólicos provocados por deficiências de enzimas envolvidas com a síntese do heme. Quando existe deficiência de uma dessas enzimas, as porfirinas, precursoras químicas do heme, podem se acumular nos tecidos (especialmente na medula óssea ou no fígado). O excesso dessas substâncias causa fotossensibilidade, e o indivíduo torna-se diretamente sensível à luz solar (Badminton & Elder, 2002).

Em pacientes com protoporfiria eritropoiética, a suplementação com  $\beta$ -caroteno melhorou a tolerância aos raios solares (Pimstone *et al.*, 1973). Em crianças com essa doença, a administração oral de doses elevadas de  $\beta$ -caroteno (90-180 mg/dia) resultou em neutralização de EROs e consequente fotoproteção, ocasionando melhora dos sintomas (Mathews-Roth *et al.*, 1986).

Apesar dos estudos publicados na segunda metade do século passado, as evidências são ainda insuficientes para que o  $\beta$ -caroteno seja aceito como fotoprotetor para a pele saudável, ou como tratamento de fotodermatites adquiridas. No entanto, parece ser eficiente na fotodermatite resultante de protoporfiria eritropoiética (Mathews-Roth, 2000).

### 6.3.2 *Degeneração macular relacionada à idade (DMRI)*

A degeneração macular é uma doença que resulta, em última instância, em cegueira irreversível. Ocorre principalmente em indivíduos com mais de 65 anos e tem múltiplos fatores de risco, entre eles, o estresse oxidativo. Por prevenir danos oxidativos iniciados pela luz, o pigmento macular (luteína e zeaxantina) pode proteger a retina de degeneração relacionada à idade. Teoricamente, quanto mais densa a mácula, menor o risco de sua degeneração relacionada à idade (Leung, 2008).

Concentrações plasmáticas reduzidas ou ingestão insuficiente de luteína e zeaxantina estão relacionadas com menor densidade da mácula ocular e aumento do risco de desenvolvimento de DMRI. Duas principais ações foram atribuídas à proteção conferida aos olhos pela luteína e zeaxantina. A primeira envolve o pigmento macular e sua capacidade de filtrar a luz azul, que danifica principalmente os fotorreceptores e o epitélio da retina. A segunda ação está relacionada à atividade antioxidante desses compostos, com consequente limitação do estresse oxidativo.

Estudos em humanos sugerem que uma ingestão alimentar elevada de carotenoides pode resultar em seu acúmulo na retina e proteção contra a DMRI. Assim, Hammond *et al.* (1997) acrescentaram 60 g de espinafre (contendo 11 mg de luteína e 0,3 g de zeaxantina) na dieta de 11 indivíduos saudáveis durante 15 semanas. Entre os participantes, 8 apresentaram aumento na concentração sérica de luteína e na densidade do pigmento macular. De forma semelhante, a suplementação com luteína (30 mg/20 semanas) resultou em seu aumento no soro e na mácula (Landrum *et al.*, 1997).

Recentemente, a suplementação diária de pacientes com degeneração macular durante 6 meses e com 3 diferentes doses de luteína (2, 5 ou 10 mg) resultou em aumentos dos níveis séricos de luteína e zeaxantina, que atingiram um platô a partir do terceiro mês de intervenção, com ausência de sinais de toxicidade. Entretanto, as concentrações séricas de luteína não apresentaram correlação com a gravidade da doença, e também não foi detectada melhora na acuidade visual ou na determinação do campo visual (Rosenthal *et al.*, 2006).

Estudos com depleção de luteína e zeaxantina em primatas resultaram em anormalidades estruturais na retina e em alterações patológicas na mácula. Assim, nesse sentido, esses carotenoides preencheriam os critérios necessários para que fossem designados como nutrientes condicionalmente essenciais (Semba & Dagnelie, 2003). Entretanto, o papel dos carotenoides no olho humano ainda não está devidamente esclarecido, devendo assim serem ainda confirmados os efeitos potenciais da suplementação com luteína e zeaxantina em doenças oculares. Estudos clínicos controlados são necessários para confirmar se a suplementação nutricional com luteína e zeaxantina consiste em medida adequada de prevenção de doenças oculares em estágios iniciais ou até mesmo da progressão da DMRI e de outras afecções relacionadas a danos em fotorreceptores.

### 6.3.3 Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares (DCVs) consistem na principal causa de morbidade e mortalidade nos países desenvolvidos. Evidências sugerem que a LDL oxidada (LDLox) representa um importante fator de risco para desenvolvimento das DCVs. Sabe-se que, por apresentarem características lipossolúveis, os carotenoides circulantes encontram-se geralmente associados a lipoproteínas. Esses fatos estimularam os cientistas a direcionarem suas investigações no sentido de avaliar o papel de carotenoides, compostos com alta capacidade antioxidante, na prevenção e desenvolvimento de DCVs.

Sugere-se que fatores de risco para desenvolvimento de DCVs são influenciados pelas concentrações plasmáticas de carotenoides (Willcox *et al.*, 2008). Tanto a ingestão alimentar como o consumo de suplementos de  $\beta$ -caroteno constituem alvos de estudos prospectivos do tipo coorte. Resultados desses estudos estão relacionados na tabela 2.

**Tabela 2.** Estudos do tipo coorte com o objetivo de associar  $\beta$ -caroteno e doenças cardiovasculares.

População	N	Duração (anos)	Resultado	Referência
População da Finlândia (30 a 69 anos)		12-16		Knekt <i>et al.</i> , 1994
Homens	2.748		RRR (de 30% para -48 %)	
Mulheres	2.385		RRR (de 70% para -29 %)	
Homens dos EUA (40 a 59 anos)	1.899	13	ARRR	Morris <i>et al.</i> , 1994
Homens dos EUA (> 66 anos)	1.299	4	ARRR	Gaziano <i>et al.</i> , 1995
População alemã (55 a 95 anos)	4.802	4	ARRR	Klipstein-Grobusch <i>et al.</i> , 1999
População dos EUA (35 a 90 anos)	11.327	10	ARRR	Ford <i>et al.</i> , 2000
Enfermeiras dos EUA (34 a 59 anos)	73.286	12	ARRR	Osganian <i>et al.</i> , 2003
População holandesa (acima de 72 anos)	5.744	15	RRR	Buijsse <i>et al.</i> , 2008

ARRR: ausência de redução do risco relativo ; RRR: redução do risco relativo.

Estudos epidemiológicos com grande número de participantes, homens e mulheres de diferentes populações, dão suporte à hipótese do papel cardioprotetor de carotenoides. Contudo, estudos de intervenção são controversos, com achados positivos, nulos ou, inclusive, com sugestão de aumento do risco, especialmente em populações propensas a desenvolverem DCVs (revisado por Willcox *et al.*, 2008).

A concentração plasmática de  $\beta$ -criptoxantina, luteína e zeaxantina apresentou correlação inversa com a espessura da camada íntima da carótida, exame que indica aterosclerose em estágios iniciais. Esse resultado sugere papel protetor por parte desses carotenoides (Iribarren *et al.*, 1997).

O licopeno reduz de forma pronunciada o risco de DCVs (Arab *et al.*, 2000; Rissanen *et al.*, 2000). A suplementação de pacientes com molho ou suco de tomate ou cápsulas de licopeno resultou na redução da LDLox (Agarwal & Rao, 1998). Em outro estudo, a suplementação com licopeno ou  $\beta$ -caroteno reduziu o colesterol total e, conseqüentemente, o risco para DCVs (Fuhrman *et al.*, 1997).

Em um estudo populacional, foi avaliada a relação entre as concentrações plasmáticas dos carotenoides  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina, e a concentração plasmática de lipídios, hemoglobina glicada (HG) e proteína C reativa (PCR), considerados biomarcadores para o risco de DCVs. Alguns resultados não foram promissores, sendo constatada

correlação inversa entre o licopeno e a lipoproteína de alta densidade (HDL), bem como correlação positiva entre a concentração plasmática de licopeno,  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos e a LDL, e entre o licopeno e os níveis de HG. Um resultado positivo foi a constatação de que concentrações plasmáticas mais elevadas de  $\beta$ -caroteno relacionavam-se a um menor índice de PCR (Wang *et al.*, 2008).

Apesar de estudos epidemiológicos evidenciarem de forma consistente o papel protetor dos carotenoides em DCVs, essas observações precisam ser validadas por estudos de intervenção em humanos. Aspectos importantes a serem considerados nesses estudos incluem definição da população a ser estudada, padronização das medidas de estresse oxidativo e do estágio da doença, bem como controle da biodisponibilidade dos carotenoides em questão.

#### 6.3.4. Câncer

Evidências têm se acumulado na literatura a respeito do papel preventivo de carotenoides contra o câncer. A interpretação dos resultados pode ser prejudicada pelo fato de este ocorrer em múltiplas etapas, envolvendo uma sequência de eventos que pode durar décadas. Além disso, a natureza complexa de alimentações é uma das principais limitações de estudos epidemiológicos em nutrição, o que dificulta o estabelecimento de associação clara entre o risco do desenvolvimento de câncer e um único fator de exposição.

Nesse sentido, o papel dos carotenoides na etiologia do câncer parece ser ainda inconclusivo. CBAs, mais especificamente carotenoides, apresentam muitas variações interindividuais quanto a sua absorção, metabolismo e excreção. Devido a este fato, as determinações de concentrações plasmáticas são mais confiáveis do que as de ingestão, uma vez que tendem a melhor refletir as concentrações dos carotenoides efetivamente disponíveis nos tecidos-alvo, e possibilitando, assim, o estabelecimento de uma associação mais fidedigna entre os compostos e sua respectiva atividade quimiopreventiva.

Um dos tipos de câncer mais comum é o de pele, e a radiação UV é sua principal causa ambiental. Estudos indicam que antioxidantes ajudam a reduzir danos causados por radiação UV na pele. Isso inclui o  $\beta$ -caroteno, um eficiente inibidor de danos oxidativos *in vitro* (Heinen *et al.*, 2007). Entretanto, em revisão recente, pondera-se que são poucas as evidências a respeito da relação entre o consumo de  $\beta$ -caroteno e a redução do risco de câncer de pele (Mcnaughton *et al.*, 2005). A maioria dos estudos nesse sentido não apresenta resultados promissores (Wald *et al.*, 1988; Breslow *et al.*, 1995; Karagas *et al.*, 1997; Van Dam *et al.*, 2000; Fung *et al.*, 2002; Fung *et al.*, 2003).

Foram conduzidos estudos prospectivos com o objetivo de relacionar a ingestão de carotenoides e o risco de desenvolvimento do câncer de pele. Assim, em pacientes australianos com histórico desse câncer o consumo de luteína e zeaxantina correlacionou-se inversamente com a incidência de carcinoma de células escamosas. No entanto, o  $\beta$ -caroteno foi positivamente associado com a reincidência de câncer de pele de células basais. Esses dados sugerem que podem ocorrer diferentes associações entre carotenoides e tipos de câncer de pele (Heinen *et al.*, 2007). Em outro estudo, os resultados sugerem que não há relação entre a concentração sérica dos carotenoides  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos, luteína, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina e o risco de câncer de pele de células basais. Os

carotenoides licopeno e  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos não apresentaram correlação individual com o risco de câncer de pele de células escamosas. Contudo, os resultados apontaram para um possível efeito da  $\beta$ -criptoxantina, da luteína e da zeaxantina séricas no aumento do risco de câncer de pele de células escamosas (Dorgan *et al.*, 2004). Desta forma, ainda são necessárias mais investigações para elucidar o papel dos carotenoides no câncer de pele não melanoma, especialmente estudos que levem em consideração aspectos como a pré-disposição genética e a exposição ao sol.

Estudos observacionais prospectivos não demonstraram que a ingestão aumentada e/ou concentrações plasmáticas elevadas de carotenoides individuais reduzem o risco de câncer de pulmão. A atividade quimiopreventiva de carotenoides contra o câncer de pulmão também foi investigada em experimentos *in vitro* e *in vivo* em animais de experimentação, bem como em estudos epidemiológicos e clínicos. Entre estes, vale destacar o estudo do  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno na prevenção do câncer (*The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group – ATBC*, 1994) e o teste de eficácia do  $\beta$ -caroteno e retinol (*Beta Carotene and Retinol Efficacy Trial – CARET – Omenn et al.*, 1996; Omenn, 2007). Em resumo, a suplementação crônica de milhares de indivíduos com doses farmacológicas de  $\beta$ -caroteno (15 a 30 mg isolado ou em associação com outros micronutrientes) resultou, em ambos, em aumento do risco de câncer de pulmão em tabagistas e em trabalhadores expostos ao amianto. Entretanto, a suplementação crônica, com doses farmacológicas (15 a 30 mg/dia) de  $\beta$ -caroteno, foi benéfica a populações com baixa ingestão de micronutrientes (Blot *et al.*, 1993), ou não apresentou efeito em indivíduos aparentemente saudáveis (Hennekens *et al.*, 1996). Em estudo clínico, indivíduos saudáveis receberam 50 mg de  $\beta$ -caroteno, em dias alternados. Não se constataram diferenças em marcadores moleculares associados ao câncer de pulmão, o que sugere que a administração do carotenoide não resulta em redução ou aumento do risco de câncer de pulmão (Liu *et al.*, 2009). Entretanto, carotenoides plasmáticos totais foram inversamente relacionados ao risco de desenvolvimento desse câncer. É importante reforçar que estudos clínicos indicam que a suplementação com  $\beta$ -caroteno não protege contra o câncer de pulmão, e que de fato parece ocorrer um aumento do risco em tabagistas (Albanes, 2009).

Galicchio *et al.* (2008), em uma revisão ampla a respeito de carotenoides e a redução do risco de câncer de pulmão, apresentaram conclusões interessantes: “a suplementação com  $\beta$ -caroteno não está associada à redução do risco de câncer de pulmão”; “é provável que alimentos que contenham carotenoides protejam contra o câncer de pulmão”; “estudos de coorte sugerem uma associação inversa entre carotenoides e o câncer de pulmão; contudo a proteção é geralmente não significativa”. “As evidências são convincentes de que a suplementação com  $\beta$ -caroteno aumenta o risco de câncer de pulmão em tabagistas.” Face essas afirmações, fica claro nesse sentido que as pesquisas ainda são inconclusivas de uma forma geral.

Experimentos *in vitro*, bem como *in vivo*, em animais de experimentação, evidências epidemiológicas e investigações clínicas indicam que o licopeno consiste em um promissor agente quimiopreventivo contra o câncer de próstata (Dahan *et al.*, 2008). Em revisão recente, foram compilados 72 estudos epidemiológicos que investigaram a relação entre o consumo de produtos derivados de tomate e/ou licopeno e o risco de câncer. Destes, 57 apresentaram relação inversa, apontando para um possível papel quimiopreventivo do licopeno em diversos tipos de câncer (Van Breemen & Pajkovic, 2008).

A suplementação diária durante 3 semanas com molho de tomate, de pacientes diagnosticados com adenocarcinoma de próstata, resultou em aumento das concentrações plasmáticas de licopeno e redução de danos oxidativos em linfócitos em células de tecido prostático, efeito possivelmente relacionado à capacidade antioxidante do licopeno. Porém, a ação mais surpreendente neste caso foi uma redução sanguínea do antígeno específico da próstata (PSA). Uma plausível explicação para esses resultados promissores é a atuação do licopeno na modulação da expressão de genes que regulam a produção de andrógenos envolvidos com aumento da próstata, evidenciada recentemente em estudos de nutrigenômica. Os autores não descartam a possibilidade da ocorrência de efeito sinérgico entre o licopeno e outros componentes do tomate (Stacewicz-Sapuntzakis & Bowen, 2005).

Um estudo prospectivo mostrou que homens com consumo elevado de tomates e produtos derivados têm menor risco de desenvolver câncer de próstata (Giovannucci *et al.*, 1995). Entretanto, em investigação do tipo caso-controle, não foram observadas associações entre os níveis plasmáticos de  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos e licopeno e a redução do risco de câncer de próstata. Quando os dados foram tratados separadamente, constatou-se relação entre concentrações plasmáticas elevadas de licopeno e redução de câncer de próstata em adultos jovens e com mais de 65 anos e histórico familiar negativo para essa neoplasia, o que sugere potencial efeito protetor contra o câncer de próstata esporádico (Wu *et al.*, 2004).

Uma meta-análise comparou o risco de câncer de próstata entre indivíduos que não consumiam produtos de tomate e aqueles que consumiam frequentemente. Nesse caso, os efeitos da ingestão de tomate foram modestos e restritos àqueles com um consumo muito elevado (Etminan *et al.*, 2004). Em estudos epidemiológicos realizados em 2006 (Kirsh *et al.*) e 2007 (Peters *et al.*), não se detectou associação entre o consumo de licopeno e o risco de câncer de próstata.

Tratando-se de xantofilas, apesar de alguns autores afirmarem que há relação inversa entre sua concentração plasmática e o risco de câncer de próstata (Lu *et al.*, 2001), a maioria dos estudos prospectivos não evidenciou essa associação (Giovannucci *et al.*, 1995; Huang *et al.*, 2003).

Tamimi *et al.* (2005) avaliaram a ocorrência ou não de associação entre as concentrações plasmáticas dos carotenoides  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno e luteína/zeaxantina e o risco de desenvolvimento do câncer de mama em 969 pacientes. Alfa ou  $\beta$ -carotenos estavam inversamente associados à redução do risco dessa doença. Entretanto, essa relação não foi encontrada para os outros carotenoides quantificados.

Na China, em estudo do tipo caso-controle em mulheres, o licopeno plasmático apresentou associação inversa em relação ao risco de desenvolvimento do câncer de mama, entretanto, essa associação não foi constatada para carotenoides totais (Dorjgochoo *et al.*, 2008).

Com relação ao carcinoma hepatocelular, em estudo caso-controle avaliou-se a associação entre este e o consumo de nutrientes, determinado por questionário de frequência alimentar. Entre outros achados, a ingestão de  $\beta$ -caroteno apresentou associação inversa com o risco de desenvolvimento do hepatocarcinoma (Polesel *et al.*, 2007). Da mesma forma, em estudo de coorte no Japão, observou-se associação inversa entre o risco de carcinoma hepatocelular e o consumo de hortaliças. Os autores atribuíram esse efeito à presença de CBAs; entre eles,  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos plasmáticos foram quantificados e associados a risco relativo reduzido (Kurahashi *et al.*, 2009).

Em se tratando do carcinoma hepatocelular, estudos em humanos relacionando-o à alimentação e/ou CBAs são escassos, e uma alternativa interessante é a utilização de modelos experimentais de hepatocarcinogênese em ratos, uma vez que seu desenvolvimento é bastante semelhante em ambos. Nesse sentido, o  $\beta$ -caroteno apresentou atividade quimiopreventiva nesses animais submetidos à hepatocarcinogênese química (Moreno *et al.*, 1991; 1995; Rizzi *et al.*, 1997; Moreno *et al.*, 2002; Fonsceca *et al.*, 2005; Chattopadhyay *et al.*, 2004; 2005). Posteriormente, em trabalho comparativo entre o  $\beta$ -caroteno e a vitamina A, demonstrou-se que a atividade quimiopreventiva estava relacionada a uma atividade intrínseca do carotenoide, independente de sua função como pró-vitamina A (Moreno *et al.*, 1995). Da mesma forma que o  $\beta$ -caroteno, outros dois carotenoides, a luteína e o licopeno, também apresentaram atividade quimiopreventivas nesse modelo em ratos. Atribuiu-se, no caso, esse efeito à proteção contra danos no DNA, atividade possivelmente relacionada a sua capacidade antioxidante (Toledo *et al.*, 2003).

Com relação ao câncer gástrico, redução do risco foi aventada apenas para alguns carotenoides. Em estudo do tipo caso-controle, observou-se uma relação inversa entre a incidência desse câncer e os níveis plasmáticos de  $\beta$ -criptoxantina e zeaxantina, o que não ocorreu para licopeno, luteína, cantaxantina, e nem para o  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos (Jenab *et al.*, 2006).

Na Itália, em estudo caso-controle conduzido durante 5 anos em 304 pacientes com carcinoma de células escamosas do esôfago e 743 controles, o consumo dos carotenos, bem como de luteína e zeaxantina, foi inversamente relacionado ao risco de desenvolvimento deste câncer (Franceschi *et al.*, 2000).

O consumo elevado de luteína também reduziu em um estudo caso-controle o risco de cânceres de esôfago e de cárdia (Zhang *et al.*, 1997). Da mesma forma, Olmedilla *et al.* (1996) constataram que pacientes recém-diagnosticados ou parcialmente laringectomizados por câncer de laringe apresentaram concentrações séricas de  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno e luteína e zeaxantina significativamente menores do que o grupo controle, sugerindo que seria interessante a realização de uma eventual suplementação enteral desses pacientes com fórmulas enriquecidas com carotenoides, especialmente devido a seu efeito antioxidante e modulador da resposta imune.

Ao contrário dos achados epidemiológicos, que destacavam a eventual ocorrência de um papel protetor do  $\beta$ -caroteno, esse carotenoide não demonstrou atividade quimiopreventiva eficaz de neoplasias primárias. Inesperadamente, as evidências sugeriram um efeito deletério por parte dos carotenoides, possivelmente relacionado a uma ação pró-oxidante inerente da atividade de antioxidantes (revisado por Naves & Moreno, 1998).

Assim, recomendações recentes do *World Cancer Research Fund* (2009) dos Estados Unidos ressaltam que não se utilizem suplementos visando-se à redução do risco de desenvolvimento de cânceres e sugerem que a melhor opção nesse sentido seria um consumo elevado de frutas e hortaliças (5 a 9 porções diárias) associado a uma alimentação equilibrada.

## 7. ALEGAÇÕES DE FUNCIONALIDADE

As alegações de saúde devem relacionar uma substância (alimento ou componente alimentar) a uma doença (por exemplo, o câncer, a degeneração macular relacionada à idade ou as cardiovasculares) ou condições relacionadas à saúde (como a hipertensão). Para que sejam aprovadas, uma série de critérios deve ser respeitada; entre eles, exigem-se evidências científicas de estudos epidemiológicos e clínicos, baseados em experimentos *in vitro* e *in vivo*. Também é exigida comprovação de que a substância ou alimento em questão não causará prejuízos a indivíduos saudáveis que venham a consumir o produto (Guidance for the Industry e FDA).

Essas alegações devem ser pré-aprovadas por agências reguladoras. Nos Estados Unidos, a FDA é responsável por aprová-las. Assim, em 1975, foi aprovada a utilização do  $\beta$ -caroteno para tratamento da protoporfiria eritropoiética, apesar dos dados ainda conflitantes. Porém, esse carotenoide não foi aprovado para o tratamento de outras porfrias (Anstey, 2002), pois a maioria dos estudos que apresentou resultados positivos utilizou dosagens elevadas, o que resulta em carotenodermia (Suhonen & Plosila, 1981).

A posição da FDA com relação a licopeno, tomate ou produtos derivados é de que são limitados e pouco consistentes os dados para aprovação de alegações de saúde. Algumas indústrias requereram junto ao FDA a aprovação de alegações de funcionalidade do licopeno, do tomate ou molho de tomate na redução do risco de câncer de próstata, ovário, mama, gástrico e pancreático. Todavia, a agência reguladora americana entende que alegações nesse sentido poderiam iludir os consumidores (Kavanaugh *et al.*, 2007).

Giovanucci (2007) teceu críticas a respeito dessa posição da FDA, alegando que as evidências de proteção dos carotenoides são muitas e que não podem ser ignoradas.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA permite apenas alegações de capacidade antioxidante para licopeno, luteína e zeaxantina. O rótulo deve conter as seguintes informações em se tratando desses carotenoides: tem ação antioxidante que protege as células contra radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis.

## 8. CONCLUSÕES E DIREÇÕES FUTURAS

Estudos epidemiológicos têm como objetivo evidenciar o papel de carotenoides na prevenção de doenças. Já estudos *in vitro* e *in vivo* testam hipóteses geradas a partir destes. Entretanto, as afirmações só poderão ser conclusivas quando comprovadas em estudos clínicos de intervenção, rigorosamente controlados.

Com base em inúmeras investigações epidemiológicas, pode-se afirmar que frutas e hortaliças, importantes fontes de carotenoides, proporcionam benefícios à saúde, especialmente reduzindo o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, mais especificamente as oculares, cardiovasculares e de alguns tipos de câncer. Nesse sentido, os carotenoides mais estudados são o  $\beta$ -caroteno, a luteína, a zeaxantina e, mais recentemente, o licopeno. Em parte, os efeitos desses compostos se devem a sua ação antioxidante. Aos efeitos antioxidantes do  $\beta$ -caroteno pode-se

somar sua propriedade de ser convertido em vitamina A. A luteína e zeaxantina, carotenoides sem função pró-vitáminica A, podem também proteger os olhos devido a sua capacidade de absorver a luz azul.

Historicamente, carotenoides apresentam propriedades benéficas à saúde humana. Seu papel biológico na prevenção e, por que não, no tratamento de algumas doenças foi extensivamente estudado. Atualmente, as novas metodologias de alto desempenho da biologia molecular contribuem para a elucidação de mecanismos de ação desses compostos, especialmente com relação à modulação da expressão gênica.

Carotenoides estão disponíveis na forma de suplementos; contudo, recomenda-se cautela em sua utilização, pois estudos de intervenção com doses elevadas de  $\beta$ -caroteno resultaram em efeitos adversos, com aumento da incidência de câncer de pulmão em fumantes e trabalhadores expostos ao amianto. Assim, até que mais investigações estejam concluídas, a recomendação dietética de ingestão diária de 5 a 9 porções de frutas e hortaliças consiste em medida prudente.

Estudos epidemiológicos dão suporte à hipótese de proteção dos carotenoides contra doenças crônicas não transmissíveis, incluindo doenças oculares e cardiovasculares, além de certos tipos de câncer. Contudo, os resultados não são conclusivos. A razão para essas controvérsias pode residir nas diferentes metodologias ou grupos populacionais estudados. Assim, os resultados ainda não são suficientes para validar a eficácia dos carotenoides como agentes promotores da saúde humana. Esse fato impossibilita às agências reguladoras permitirem alegações de funcionalidade.

## REFERÊNCIAS

- 1- Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids* 1998;33(10):981-4.
- 2- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/alimentos.htm>. Acesso em 01/02/2009.
- 3- Alaluf S, Heinrich U, Stahl W, Tronnier H, Wiseman S. Dietary carotenoids contribute to normal human skin color and UV photosensitivity. *J Nutr* 2002;132:399-403.
- 4- Albanes D. Vitamin supplements and cancer prevention: where do randomized controlled trials stand? *J Natl Cancer Inst* 2009;101(1):2-4.
- 5- Alemzadeh R, Feehan T. Variable effects of beta-carotene therapy in a child with erythropoietic protoporphyria. *Eur J Pediatr* 2004;163:547-9.
- 6- Anstey AV. Systemic photoprotection with  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) and  $\beta$ -carotene. *Clin Exp Dermatol* 2002;27:170-6.
- 7- Arab L, Steck S. Lycopene and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1691S-5S.
- 8- Badminton MN, Elder GH. Management of acute and cutaneous porphyrias. *Int J Clin Pract* 2002;56(4):272-8.
- 9- Bayerl C. Beta-carotene in dermatology: does it help? *Acta Dermatoven APA*. 2008;17(4).

- 10- Bendich A. From 1989 to 2001: what have we learned about the “biological actions of beta-carotene”? *J Nutr* 2004;134(1):225S-30S.
- 11- Ben-Dor A, Nahum A, Danilenko M, Giat Y, Stahl W, Martin HD. Effects of acyclo-retinoic acid and lycopene on activation of the retinoic acid receptor and proliferation of mammary cancer cells. *Arch Biochem Biophys* 2001;391:295-302.
- 12- Bernstein PS, Khachik F, Carvalho LS, Muir GJ, Zhao DY, Katz NB. Identification and quantitation of carotenoids and their metabolites in the tissues of the human eye. *Exp Eye Res* 2001;72:215-223.
- 13- Bertram JS, Vine AL. Cancer prevention by retinoids and carotenoids: independent action on a common target. *Biochim Biophys Acta* 2005;1740(2):170-8.
- 14- Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang GQ et al. Nutrition intervention trials in Linxian, china: supplementation with specific vitamin/mineral combination, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1483-91.
- 15- Borel P. *Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols)*. *Clin Chem Lab Med* 2003;41(8):979-94.
- 16- Borel P, Draï J, Faure H, Fayol V, Galabert C, Laromiguière M et al. Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes. *Ann Biol Clin* 2005;63(2):165-77.
- 17- Breslow RA, Alberg AJ, Helzlsouer KJ, Bush TL, Norkus EP, Morris JS et al. *Serological precursors of cancer: malignant melanoma, basal and squamous cell skin cancer, and prediagnostic levels of retinol, beta-carotene, lycopene, alpha-tocopherol, and selenium*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995;4(8):837-42.
- 18- Briviba K, Schnäbele K, Rechkemmer G, Bub A. Supplementation of a diet low in carotenoids with tomato or carrot juice does not affect lipid peroxidation in plasma and feces of healthy men. *J Nutr* 2004;134(5):1081-3.
- 19- Buijsse B, Feskens EJ, Kwape L, Kok FJ, Kromhout D. Both alpha- and beta-carotene, but not tocopherols and vitamin C, are inversely related to 15-year cardiovascular mortality in Dutch elderly men. *J Nutr* 2008;138(2):344-50.
- 20- Cesarini JP, Michel L, Maurette JM, Adhoute H, Bejot M. Immediate effects of UV radiation on the skin: modification by an antioxidant complex containing carotenoids. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2003;19:182-9.
- 21- Chalabi N, Delort L, Satih S, Déchelotte P, Bignon YJ, Bernard-Gallon DJ. Immunohistochemical expression of RARalpha, RARbeta, and Cx43 in breast tumor cell lines after treatment with lycopene and correlation with RT-QPCR. *J Histochem Cytochem* 2007;55(9):877-83.
- 22- Chattopadhyay MB, C B MK, Kanna PS, Ray RS, Roy S, Chatterjee M. Combined supplementation of vanadium and beta-carotene suppresses placental glutathione S-transferase-positive foci and enhances antioxidant functions during the inhibition of diethylnitrosamine-induced rat liver carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19(6):683-93.

- 23- Chattopadhyay MB, Mukherjee S, Kulkarni I, Vijayan V, Doloi M, Kanjilal N et al. Proton-Induced X-ray Emission (PIXE) Analysis and DNA-chain Break study in rat hepatocarcinogenesis: A possible chemopreventive role by combined supplementation of vanadium and beta-carotene. *Cancer Cell Int* 2005;26:5-16.
- 24- Chew BP, Park JS. Carotenoid Action on the Immune Response. *J Nutr* 2004;134:257S-61S.
- 25- Corridan BM, O'Donoghue M, Hughes DA, Morrissey PA. Low-dose supplementation with lycopene or beta-carotene does not enhance cell-mediated immunity in healthy free-living elderly humans. *Eur J Clin Nutr* 2001;55(8):627-35.
- 26- Dahan K, Fennal M, Kumar NB. Lycopene in the prevention of prostate cancer. *J Soc Integr Oncol* 2008;6(1):29-36.
- 27- Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* 1989;274(2):532-8.
- 28- Doll R, Peto R. The causes of cancer; quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981;66:1191-308.
- 29- Dorgan JF, Boakye NA, Fears TR, Schleicher RL, Helsel W, Anderson C et al. Serum carotenoids and alpha-tocopherol and risk of nonmelanoma skin cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(8):1276-82.
- 30- Dorjgochoo T, Gao YT, Chow WH, Shu XO, Li H, Yang G et al. Plasma carotenoids, tocopherols, retinol and breast cancer risk: results from the Shanghai Women Health Study (SWHS). *Breast Cancer Res Treat* 2008.
- 31- Etminan M, Takkouche B, Caamano-Isorna F. The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:340-5.
- 32- Evans, J. Antioxidant supplements to prevent or slow down the progression of AMD: a systematic review and meta-analysis. *Eye* 2008;22(6):751-60.
- 33- Fonseca EM, Chagas CE, Mazzantini RP, Heidor R, Ong TP, Moreno FS. All-trans and 9-cis retinoic acids, retinol and beta-carotene chemopreventive activities during the initial phases of hepatocarcinogenesis involve distinct actions on glutathione S-transferase positive preneoplastic lesions remodeling and DNA damage. *Carcinogenesis* 2005;26(11):1940-6.
- 34- Food and Drug Administration. Disponível em <http://www.fda.gov>. Acesso em 17/01/2009.
- 35- Ford ES, Giles WH. Serum vitamins, carotenoids, and angina pectoris: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III. *Ann Epidemiol* 2000;10:106-16.
- 36- Franceschi S, Bidoli E, Negri E, Zambon P, Talamini R, Ruol A et al. Role of micronutrients, vitamins and minerals in the aetiology of squamous-cell carcinoma of the oesophagus. *Int J Cancer* 2000;86:626-31.

- 37- Fuhrman B, Elis A, Aviram M. Hypocholesterolemic effect of lycopene and b-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;233:658-62.
- 38- Fung TT, Hunter DJ, Spiegelman D, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC. Vitamins and carotenoids intake and the risk of basal cell carcinoma of the skin in women (United States). *Cancer Causes & Control* 2002;13:221-30.
- 39- Fung TT, Spiegelman D, Egan KM, Giovannucci E, Hunter DJ, Willett WC. Vitamin and carotenoid intake and risk of squamous cell carcinoma of the skin. *Int J Cancer* 2003;103:110-5.
- 40- Furr HC, Clark RM. Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids. *J Nutr Biochem* 1997;8:364-77.
- 41- Gallicchio L, Boyd K, Matanoski G, Tao X, Chen L, Lam TK et al. Carotenoids and the risk of developing lung cancer: a systematic Review. *Am J Clin Nutr* 2008;88:372-83.
- 42- Garmyn M, Ribaya-Mercado JD, Russell RM, Bhawan J, Gilchrest BA. Effect of beta-carotene supplementation on the human sunburn reaction. *Exp Dermatol* 1995;4:104-11.
- 43- Gaziano JM, Manson JE, Branch LG, Colditz GA, Willett WC, Buring JE. A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Ann Epidemiol* 1995;5:255-60.
- 44- Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1767-76.
- 45- Giovannucci E. Does prostate-specific antigen screening influence the results of studies of tomatoes, lycopene, and prostate cancer risk? *J Natl Cancer Inst* 2007;99(14):1060-2.
- 46- Gollnick HPM, Hopfenmüller W, Hemmes C, Chun SC, Schmid C. Systemic beta carotene plus topical UV-sunscreen are an optimal protection against harmful effects of natural UVsunlight: results of the Berlin-Eilath study. *Eur. J Dermatol* 1996;6:200-5.
- 47- Guidance for the Industry and FDA: interim evidence-based ranking system for scientific data guidance. Disponível em [http://www.cfsan.fda.gov/\\_dms/hclmgui4.html](http://www.cfsan.fda.gov/_dms/hclmgui4.html).
- 48- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 1996;16:33-50.
- 49- Hammond BR, Johnson EL, Russell RM, Krinsky NI, Yeum KJ, Edward RB. Dietary modification of human macular pigment density. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:1795-801.
- 50- Harper P, Wahlin S. Treatment options in acute porphyria, porphyria cutanea tarda, and erythropoietic protoporphyria. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2007;10(6):444-55.
- 51- Heinen MM, Hughes MC, Ibiebele TI, Marks GC, Green AC, van der Pols JC. Intake of antioxidant nutrients and the risk of skin cancer. *Eur J Cancer* 2007;43(18):2707-16.
- 52- Heinrich U, Gartner C, Wiebusch M, Eichler O, Sies H. Supplementation with beta-carotene or a similar amount of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema. *J Nutr* 2003;133:98-101.

- 53- Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Eng J Med* 1996;334:1145-9.
- 54- Huang HY, Alberg AJ, Norkus EP, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Prospective study of antioxidant micronutrients in the blood and the risk of developing prostate cancer. *Am J Epidemiol* 2003;157:335-44.
- 55- Hughes DA, Wright AJ, Finglas PM, Polley AC, Bailey AL, Astley SB et al. Effects of lycopene and lutein supplementation on the expression of functionally associated surface molecules on blood monocytes from healthy male nonsmokers. *J Infect Dis* 2000;182(1):11S-5S.
- 56- Hughes DA, Wright AJ, Finglas PM, Polley AC, Bailey AL, Astley SB et al. The effect of beta-carotene supplementation on the immune function of blood monocytes from healthy male nonsmokers. *J Lab Clin Med* 1997;129(3):309-17.
- 57- Institute of Medicine. National Academies Press. *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids*. Washington: National Academy Press, 2000. Disponível em: <http://books.nap.edu/catalog/9810.html>. Acesso em 17/01/2006.
- 58- Iribarren C, Folsom AR, Jacobs DR Jr, Gross MD, Belcher JD, Eckfeldt JH. Association of serum vitamin levels, LDL susceptibility to oxidation, and autoantibodies against MDA-LDL with carotid atherosclerosis. A case-control study. The ARIC Study Investigators. Atherosclerosis Risk in Communities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(6):1171-7.
- 59- Ishida BK, Chapman MH. Carotenoid Extraction from Plants Using a Novel, Environmentally Friendly Solvent. *J Agric Food Chem* 2009;12 in press.
- 60- Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Friesen M, Sabate J, Norat T et al. Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Br J Cancer* 2006;95(3):406-15.
- 61- Johnson EJ. The role of carotenoids in human health. *Nutr Clin Care* 2002;5(2):47-9.
- 62- Junghans A, Sies H, Stahl W. Macular pigments lutein and zeaxanthin as blue light filters studied in liposomes. *Arch Biochem Biophys* 2001;391:160-4.
- 63- Jyonouchi H, Zhang L, Gross M, Tomita Y. Immunomodulating actions of carotenoids: enhancement of in vivo and in vitro antibody production to T-dependent antigens. *Nutrition and Cancer* 1994;21:47-58.
- 64- Karagas MR, Greenberg ER, Nierenberg D, Stukel TA, Morris JS, Stevens MM et al. Risk of squamous cell carcinoma of the skin in relation to plasma selenium,  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene, and retinol: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers & Prev* 1997;6:25-9.
- 65- Kavanaugh CJ, Trumbo PR, Ellwood KC. The U.S. Food and Drug Administration - evidence-based review for qualified health claims: tomatoes, lycopene, and cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007;18(14):1074-85.

- 66- Keijer J, Bunschoten A, Palou A, Nicole LW, Van Hal H. Beta-carotene and the application of transcriptomics in risk-benefit evaluation of natural dietary components. *Biochim Biophys Acta* 2005;1740(2):139-46.
- 67- Kelly SC, Purcell SM, Griffin TD. Erythropoietic Protoporphyria (Erythrohepatic Protoporphyria). *Pediatr Dermatol* 2007;24(3):E5-E9.
- 68- Khachik F, Spangler CJ, Smith JC, Can-field LM, Steck A, Pfander H. Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem* 1997;69:1873-81.
- 69- Khachik F, Englert G, Beecher GR, Smith JC Jr. "Isolation, structural elucidation, and partial synthesis of lutein dehydration products in extracts from human plasma". *Journal of chromatography B* 1995;670:219-33.
- 70- Kiokias S, Gordon MH. Dietary supplementation with a natural carotenoid mixture decreases oxidative stress. *European J Cl Nut* 2003;57:1135-40.
- 71- Kirsh VA, Mayne ST, Peters U, Chatterjee N, Leitzmann MF, Dixon LB et al. A prospective study of lycopene and tomato product intake and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:92-8.
- 72- Klipstein-Grobusch K, Geleijnse JM, Den Breeijen JH, Boeing H, Hofman A, Grobbee DE et al. Dietary antioxidants and risk of myocardial infarction in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr* 1999;69:261-6.
- 73- Knekt P, Reunanen A, Jarvinen R, Seppanen R, Heliovaara M, Aromaa A. Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study. *Am J Epidemiol* 1994;139:1180-9.
- 74- Krinsky N, Russell RM. Regarding the conversion of beta-carotene to vitamin A. *Nutr Rev* 2001;59(9):309.
- 75- Krinsky NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* 2005;26(6):459-516.
- 76- Krinsky NI. Actions of carotenoids in biological systems. *Annu Rev Nutr* 1993;13:561-87.
- 77- Kurahashi N, Inoue I M, Iwasaki M, Tanaka Y, Mizokami M, Tsugane S for the JPHC Study Group. Vegetable, fruit and antioxidant nutrient consumption and subsequent risk of hepatocellular carcinoma: a prospective cohort study Japan. *Br J Cancer* 2009;100:181-4.
- 78- Lakshman, MR, Mychkovsky I, Attlesey M. Enzymatic conversion of all-trans-  $\beta$ -carotene to retinal by cytosolic enzyme from rabbit and rat intestinal mucosa. *Proc Natl Acad Sci* 1989;86:9124-8.
- 79- Landrum JT, Bone RA, Joa H, Kilburn MD, Moore LL, Sprague KE. A one year study of the macular pigment: the effect of 140 days of a lutein supplement. *Exp Eye Res* 1997;65:57-62.
- 80- Lee J, Jiang S, Levine N, Watson RR. Carotenoid supplementation reduces erythema in human skin after simulated solar radiation exposure. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223:170-4.
- 81- Leung IY-F. Macular pigment: New clinical methods of detection and the role of carotenoids in age-related macular degeneration. *Optometry* 2008;79:266-72.

- 82- Liebler DC, Stratton SP, Kaysen KL. Antioxidant actions of beta-carotene in liposomal and microsomal membranes: role of carotenoid-membrane incorporation and alpha-tocopherol. *Arch Biochem Biophys* 1997;338(2):244-50.
- 83- Linus Pauling Institute. Disponível em <http://lpi.oregonstate.edu>. Acesso em 06/02/2009.
- 84- Liu C, Wang XD, Mucci L, Gaziano JM, Zhang SM. Modulation of lung molecular biomarkers by beta-carotene in the Physicians' Health Study. *Cancer* 2009;13 *in press*.
- 85- Lorenzo Y, Azqueta A, Luna L, Bonilla F, Domínguez G, Collins AR. The carotenoid beta-cryptoxanthin stimulates the repair of DNA oxidation damage in addition to acting as an antioxidant in human cells. *Carcinogenesis* 2009;30(2):308-14.
- 86- Lu QY, Hung JC, Heber D, Go VLW, Reuter VE, Cordon-Cardo C et al. Inverse associations between plasma lycopene and other carotenoids and prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:749-56.
- 87- Maiani G, Periago Castón MJ, Catasta G, Toti E, Cambrodón IG, Bysted A et al. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res* 2008.
- 88- Mathews MM. Protective effect of B-carotene against lethal photosensitization by haematoporphyrin. *Nature* 1964;203:1092-5.
- 89- Mathews-Roth MM. Carotenoids quench evolution of excited species in epidermis exposed to UV-B (290–320 nm) light. *Photochem Photobiol* 1986;43:91-3.
- 90- Mathews-Roth MM. Erythropoietic protoporphyria: treatment with antioxidants and potential cure with gene therapy. *Methods Enzymol* 2000;319:479-84.
- 91- McArdle F, Rhodes LE, Parslew RA, Close GL, Jack CI, Friedmann PS et al. Effects of oral vitamin E and beta-carotene supplementation on ultraviolet radiation-induced oxidative stress in human skin. *Am J Clin Nutr* 2004;80(5):1270-5.
- 92- McNaughton SA, Marks GC, Green AC. Role of dietary factors in the development of basal cell cancer and squamous cell cancer of the skin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1596-607.
- 93- Moeller SM, Volland R, Tinker L, Blodi BA, Klein ML, Gehrs KM et al. and the CAREDS Study Group. Associations between age-related nuclear cataract and lutein and zeaxanthin in the diet and serum in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study (CAREDS), an ancillary study of the Women's Health Initiative. *Arch Ophthalmol* 2008;126(3):354-64.
- 94- Moreno FS, Rizzi MB, Dagli ML, Penteado MV. Inhibitory effects of beta-carotene on preneoplastic lesions induced in Wistar rats by the resistant hepatocyte model. *Carcinogenesis* 1991;12(10):1817-22.
- 95- Moreno FS, S-Wu T, Naves MM, Silveira ER, Oloris SC, Costa MA et al. Inhibitory effects of beta-carotene and vitamin a during the progression phase of hepatocarcinogenesis involve inhibition of cell proliferation but not alterations in DNA methylation. *Nutr Cancer* 2002;44(1):80-8.

- 96- Moreno FS, Wu TS, Penteadó MV, Rizzi MB, Jordão Júnior AA, Almeida-Muradian LB et al. A comparison of beta-carotene and vitamin A effects on a hepatocarcinogenesis model. *Int J Vitam Nutr Res* 1995;65(2):87-94.
- 97- Morris DL, Kritchevsky SB, Davis CE. Serum carotenoids and coronary heart disease: the Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial and Follow-up Study. *JAMA* 1994;272:1439-41.
- 98- Naves MMV, Silveira ER, Dagli MLZ, Moreno FS. Effects of  $\beta$ -carotene and vitamin A on oval cell proliferation and connexin 43 expression during hepatic differentiation in the rat. *J Nutritional Biochemistry* 2001;12:685-92.
- 99- Olmedilla B, Granada F, Blanco I, Rojas-Hidalgo E. Evaluation of retinol, alpha-tocopherol, and carotenoids in serum of men with cancer of the larynx before and after commercial enteral formula feeding. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1996;20(2):145-9.
- 100- Olson JA. Carotenoids and human health. *Arch Latinoam Nutr* 1999;49(3):7S-11S.
- 101- Olson JA. The conversion of carotene to vitamin A (Thomas Moore, 1930). *J Nutr* 1997;127(5):1036S-1038S.
- 102- Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A et al. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst* 1996;88(21):1550-9.
- 103- Omenn GS. Chemoprevention of lung cancers: lessons from CARET, the beta-carotene and retinol efficacy trial, and prospects for the future. *Eur J Cancer Prev* 2007;16(3):184-91.
- 104- Osganian SK, Stampfer MJ, Rimm E, Spiegelman D, Manson JAE, Willett WC. Dietary carotenoids and risk of coronary artery disease in women. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1390-9.
- 105- Palozza P, C. Luberto, G. Calviello, P. Ricci and G.M. Bartoli, Antioxidant and prooxidant role of  $\beta$ -carotene in murine normal and tumor thymocytes: effects of oxygen partial pressure. *Free Rad Biol Med* 1997;22:1065-73.
- 106- Palozza P, Calviello G, Serini S, Maggiano N, Lanza P, Ranelletti FO et al.  $\beta$ -carotene at high concentrations induces apoptosis by enhancing oxy-radical production in human adenocarcinoma cells. *Free Radical Biology & Medicine* 2001;30(9):1000-7.
- 107- Perez-Galvez A, Minguez-Mosquera MI. Esterification of xanthophylls and its effect on chemical behavior and bioavailability of carotenoids in the human. *Nutr Res* 2005;25:631-40.
- 108- Polesel J, Talamini R, Montella M, Maso LD, Crovatto M, Parpinel M et al. Nutrients intake and the risk of hepatocellular carcinoma in Italy. *Eur J Cancer* 2007;43(16):2381-7.
- 109- Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res* 2007;55(3):207-16.
- 110- Rissanen T, Vontilainen S, Nyyssonen K, Salonen R, Salonen JT. Low plasma lycopene concentration is associated with increased intima-media thickness of the carotid artery wall. *Arteriocler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2677-87.

- 111- Rizzi MB, Dagli ML, Jordão AA Jr, Penteado MV, Moreno FS. Beta-carotene inhibits persistent and stimulates remodeling gamma GT-positive preneoplastic lesions during early promotion of hepatocarcinogenesis. *Int J Vitam Nutr Res* 1997;67(6):415-22.
- 112- Rodriguez-Amaya DB. *Carotenoides y preparación de alimentos: la retención de los carotenoides provitamina A en alimentos preparados, processados y almacenados*. Campinas: USAID, 1999.
- 113- Rosenthal JM, Kim J, de Monasterio F, Thompson DJ, Bone RA, Landrum JT et al. Dose-ranging study of lutein supplementation in persons aged 60 years or older. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(12):5227-33.
- 114- Santos MS, Meydani SN, Leka L, Wu D, Fotouhi N, Meydani M et al. Natural killer cell activity in elderly men is enhanced by beta-carotene supplementation. *Am J Clin Nutr* 1996;64:772-7.
- 115- Semba RD, Dagnelie G. Are lutein and zeaxanthin conditionally essential nutrients for eye health. *Med Hypotheses* 2003;61(4):465-72.
- 116- Sies H, Stahl W. Carotenoids and UV protection. *Photochem Photobiol Sci* 2004;3(8):749-52.
- 117- Solomons NW. Vitamin A and carotenoids. In: Bowman BA, Russell RM (eds.) *Present Knowledge in Nutrition*. 8.ed. Washington, D.C.: ILSI Press, 2001; pp.127-45.
- 118- Stacewicz-Sapuntzakis M, Bowen PE. Role of lycopene and tomato products in prostate health. *Biochim Biophys Acta* 2005;1740(2):202-5.
- 119- Stahl W, Sies H. Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. *Mol Biotechnol* 2007;37:26-30.
- 120- Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, Sies H, Tronnier H. Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans. *Am J Clin Nutr* 2000;71:795-8.
- 121- Stahl W, Heinrich U, Wiseman S, Eichler O, Sies H, Tronnier H. Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans. *J Nutr* 2001;131:1449-51.
- 122- Stahl W, Nicolai S, Briviba K, Hanusch M, Broszeit G, Peters M et al. Biological activities of natural and synthetic carotenoids: induction of gap junctional communication and singlet oxygen quenching. *Carcinogenesis* 1997;18(1):89-92.
- 123- Stahl W, Heinrich U, Aust O, Tronnierb H, Sies H. Lycopene-rich products and dietary photoprotection. *Photochem Photobiol Sci* 2006;5:238-42.
- 124- Suhonen R, Plosila M. The effect of beta-carotene in combination with canthaxanthin, Ro 8-8427 (Phenoro), in treatment of polymorphous light eruptions. *Dermatologica* 1981;163(2):172-6.
- 125- Tamimi RM., Hankinson SE, Campos H, Spiegelman D, Zhang S, Colditz GA et al. Plasma Carotenoids, Retinol, and Tocopherols and Risk of Breast Cancer. *Am J of Epidemiol* 2005;161(2):153-60.
- 126- Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2004;58:100-10.

- 127- The 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 male smokers. *New Engl J Med* 1994;330:1029-35.
- 128- Toledo LP, Ong TP, Pinho AL, Jordão A Jr, Vanucchi H, Moreno FS. Inhibitory effects of lutein and lycopene on placental glutathione S-transferase-positive preneoplastic lesions and DNA strand breakage induced in Wistar rats by the resistant hepatocyte model of hepatocarcinogenesis. *Nutr Cancer* 2003;47(1):62-9.
- 129- Peters U, Leitzmann MF, Chatterjee N, Wang Y, Albanes D, Gelmann EP et al. Serum lycopene, other carotenoids, and prostate cancer risk: a nested case-control study in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:962-8.
- 130- Pimstone NR, Blekkenhorst G, Eales L. Enzymatic defects in hepatic porphyria. Preliminary observations in patients with porphyria cutanea tarda and variegate porphyria. *Enzyme* 1973;16(1):354-66.
- 131- Van Breemen RB, Pajkovic N. Multitargeted therapy of cancer by lycopene. *Cancer Lett* 2008;269(2):339-51.
- 132- Van Dam RM, Huang Z, Giovannucci E *et al.* Diet and basal cell carcinoma of the skin in a prospective cohort of men. *Am J Clin Nutr* 2000;71:135-41.
- 133- Van Poppel G, Spanhaak S, Ockhuizen T. Effect of beta-carotene on immunological indexes in healthy male smokers. *Am J Clin Nutr* 1993;57(3):402-7.
- 134- Wald NJ, Thompson SG, Densem JW, Boreham J, Bailey A. Serum  $\beta$ -carotene and subsequent risk of cancer: results from the BUPA Study. *Br J Cancer* 1988;57:428-33.
- 135- Wang L, Gaziano JM, Norkus EP, Buring JE, Sesso HD. Associations of plasma carotenoids with risk factors and biomarkers related to cardiovascular disease in middle-aged and older women. *Am J Clin Nutr* 2008;88:747-54.
- 136- Wang W, Connor SL, Johnson EJ, Klein ML, Hughes S, Connor WE. Effect of dietary lutein and zeaxanthin on plasma carotenoids and their transport in lipoproteins in age-related macular degeneration. *Am J Clin Nutr* 2007;85:762-9.
- 137- Watzl B, Bub A, Brandstetter BR, Rechkemmer G. Modulation of human T-lymphocyte functions by the consumption of carotenoid-rich vegetables. *Bri J Nut* 1999;82:383-9.
- 138- Willcox BJ, Curb JD, Rodriguez BL. Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies. *Am J Cardiol* 2008;101:75D-86D.
- 139- Wolf C, Steiner A, Hönigsmann H. Do oral carotenoids protect human skin against ultraviolet erythema, psoralen phototoxicity, and ultraviolet-induced DNA damage? *J Invest Dermatol* 1988;90(1):55-7.
- 140- World Cancer Research Fund. Disponível em [http://www.wcrf-uk.org/research\\_science/recommendations.lasso](http://www.wcrf-uk.org/research_science/recommendations.lasso). Acesso em 16/01/2009.

141- Wu K, Erdman JW, Jr Schwartz SJ, Platz EA, Leitzmann M, Clinton SK et al. Plasma and dietary carotenoids, and the risk of prostate cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:260-9.

142- Yonekura L, Nagao A. Intestinal absorption of dietary carotenoids. *Mol Nutr Food Res* 2007;51(1):107-15.

143- Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys* 2001;385(1):20-7.

144- Zhang LX, Cooney RV, Bertram JS. Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells: relationship to their cancer chemopreventive action. *Carcinogenesis* 1991;12(11):2109-14.

145- Zhang ZF, Kurtz RC, Yu GP, Sun M, Gargon N, Karpeh Jr M et al. Adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia: the role of diet. *Nutr Cancer* 1997;27:298-309.









**ILSI BRASIL**

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE DO BRASIL

Rua Hungria, 664 - conj. 113 - 01455-904 - São Paulo - SP - Brasil  
Tel./Fax: 55 (11) 3035-5585 - e-mail: [ilsibr@ilsis.org.br](mailto:ilsibr@ilsis.org.br)