

Ingestão Dietética, Concentrações Séricas e Teciduais Oraís de Carotenoides em Pacientes com Carcinoma Epidermoide da Cavidade Oral e da Orofaringe

Dietary Intake, Serum Concentrations, and Oral Tissue Concentrations of Carotenoids in Patients with Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer

Ingesta Dietética, Concentraciones Séricas y Tisulares Bucales de Carotenoides en Pacientes con Carcinoma Epidermoide de Cavidad Bucal y Orofaringe

Regiane Maio¹, José Carlos Berto², Camila Renata Corrêa³, Álvaro Oscar Campana⁴, Sérgio Alberto Rupp Paiva⁵

Resumo

Com o objetivo de caracterizar pacientes com cânceres da cavidade oral e da orofaringe, quanto à ingestão alimentar e às concentrações de carotenoides no soro e tecido oral, foi realizado estudo transversal envolvendo 37 pacientes homens e 11 mulheres, com idade entre 39 e 77 anos, sem tratamento anterior da doença. As biópsias orais foram obtidas durante o ato cirúrgico em todos pacientes. Determinação tecidual de carotenoides foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando a coluna C18. As ingestões dietéticas habituais diárias de carotenoides foram 3.859, 1.994, 1.345, 508, 102 e 78µg/dia para o total de carotenoides, licopeno, betacaroteno, luteína/zeaxantina, alfacaroteno e betacriptoxantina, respectivamente. As maiores concentrações de carotenoides no soro foram verificadas para o licopeno (0,54µmol/L) e a luteína/zeaxantina (0,31µmol/L). No tecido normal, as concentrações encontradas foram 3,49; 1,15; 0,12 e 0,09µmol/kg para a luteína/zeaxantina, licopeno, betacaroteno e betacriptoxantina, respectivamente; esses valores não foram estatisticamente diferentes em relação aos do tecido neoplásico. O licopeno foi o carotenoide predominante na dieta (53%) e no soro (45%). Nos tecidos, houve predomínio da luteína/zeaxantina (64%-65%). Correlações significativas ($r=0,28$ a $r=0,70$), entre os valores de carotenoides na dieta, no soro e tecido oral, foram observadas para a maioria dos carotenoides. O licopeno foi identificado como o principal carotenoide na dieta e no soro, enquanto a luteína/zeaxantina predominou no tecido oral. Não foi observada depleção dos carotenoides investigados no tecido oral neoplásico no grupo estudado.

Palavras-chave: Carotenoides; Tecidos; Mucosa Bucal; Neoplasias Bucais; Ingestão de Alimentos; Estudos Transversais

Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu (SP), Brasil.

¹Professor Adjunto do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife (PE), Brasil.

²Mestre pelo Hospital Heliópolis (HOSPHEL) e especialista em cirurgia pela UNESP, Botucatu (SP), Brasil.

³Doutora em Patologia. Departamento de Clínica Médica - Laboratório Experimental da Faculdade de Medicina da UNESP, Botucatu (SP), Brasil.

⁴Professor Emérito do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UNESP, Botucatu (SP), Brasil.

⁵Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UNESP, Botucatu (SP), Brasil.

Endereço para correspondência: Regiane Maio. Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Nutrição. Av. Prof. Moraes Rego, 1.235. Cidade Universitária. Recife (PE), Brasil. CEP: 50670-901. E-mail: regmaio@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Os carotenoides são um grupo de mais de 600 pigmentos (não contando com seus isômeros), existentes na natureza e responsáveis por algumas das cores características das plantas, hortaliças, frutas e animais. Dos 40 tipos de carotenoides encontrados em nossa alimentação, os predominantes são o licopeno, a luteína/zeaxantina, a betacriptoxantina, o alfacaroteno e o betacaroteno. Estudos epidemiológicos mostram existir relação inversa entre o risco de vários tipos de câncer e a ingestão alimentar ou a concentração sanguínea dos carotenoides¹.

Além de seu possível papel em relação à prevenção do câncer, existem evidências de que os carotenoides são importantes no tratamento dessa doença. Em vários tipos de câncer, seu poder antiproliferativo é observado em estudos em cultura de células neoplásicas, em modelos animais de carcinogênese induzida, e em estudos clínicos. Por exemplo, o betacaroteno, o licopeno e a luteína mostram-se eficazes na fase de iniciação e/ou nas fases de promoção e/ou progressão do câncer, em carcinomas de pele, de fígado, de próstata, e da cavidade oral, induzidos em animais^{1,2}. Vários mecanismos de ação anticarcinogênicos são atribuídos aos carotenoides, sendo o de ação antioxidante amplamente aceito. Outros mecanismos de proteção são a atividade vitamínica A, a ação modulatória da comunicação célula a célula, e a ação imunomoduladora. Também é descrito que os carotenoides podem atuar no aumento da diferenciação de células normais e no aumento da apoptose em células neoplásicas¹. Como esses mecanismos de ação protetora podem estar ocorrendo em tecidos, a disponibilidade dos carotenoides, no tecido oral, é de interesse para a saúde.

Embora sejam disponíveis dados de ingestão alimentar e de concentração sanguínea de carotenoides, não há estudos publicados sobre a concentração dos carotenoides mais comuns em tecido oral neoplásico e não neoplásico obtido por biópsia, em pacientes com cânceres da cavidade oral e da orofaringe. O objetivo deste estudo foi caracterizar um grupo de pacientes com carcinoma epidermoide da cavidade oral e da orofaringe quanto à ingestão alimentar e às concentrações dos carotenoides no soro e no tecido normal e neoplásico da cavidade oral. Pretendeu-se, pois, descrever o estado nutricional deste grupo relacionado aos carotenoides.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado estudo transversal, no qual foram incluídos 48 pacientes com cânceres da cavidade oral e da orofaringe atendidos pelo Serviço de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital Amaral Carvalho em Jaú (SP). Os dados foram coletados no período de maio de 2001 a novembro de 2002. Para composição da casuística, formada a partir

de pacientes atendidos em ambulatório, consideraram-se os seguintes critérios de inclusão: 1) indivíduos com idade igual ou maior a 20 anos, de qualquer sexo e raça; 2) casos novos (sem nenhum tipo de tratamento prévio da doença); 3) tumores malignos primários do tipo epidermoide confirmados histologicamente; 4) indivíduos em qualquer estágio clínico da doença (estádios de 0 a IV). A participação no estudo foi voluntária, após obtenção do consentimento dos pacientes. A pesquisa foi conduzida após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, Unesp (Ofício nº234/2000), em obediência à Resolução 196/96 sobre "Pesquisa envolvendo Seres Humanos", do Conselho de Saúde do Ministério da Saúde. Todos os pacientes participantes do estudo realizaram avaliação laboratorial geral, compreendendo glicemia, exames das funções hepática e renal e hemograma. Os seguintes critérios de exclusão foram considerados: presença concomitante de insuficiência renal crônica terminal, cardiopatia, hepatopatia e pneumopatia graves, glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL e pacientes em uso recente de polivitamínicos.

Dos pacientes estudados, 37 foram do sexo masculino e 11, do feminino. A faixa etária foi de 39 a 77 anos, sendo a média 56 anos de idade. O grupo constituiu-se predominantemente de indivíduos da raça branca (98%). Quanto à distribuição da localização do tumor primário, o acometimento da língua (2/3 anteriores) por neoplasia foi mais frequente e ocorreu em 35,4% dos casos; o câncer de assoalho de boca foi o seguinte mais prevalente (25%); o restante dos pacientes apresentou cânceres na área retromolar (12,5%), palato duro (8,3%), região jugal (2,2%) e palato mole (10,4%). O acometimento dos dois sítios (língua e assoalho bucal) ocorreu em três casos (6,3%). Com relação ao estágio clínico da doença, 48% dos pacientes apresentavam-se em fase inicial (estágios I e II) da doença, enquanto 52%, em fase avançada (estágios III e IV).

As informações sobre o hábito de fumar foram obtidas por meio de questionário epidemiológico². Para operacionalização das variáveis sobre o hábito de fumar, foram consideradas as seguintes medidas: idade de início, anos de fumo, número de cigarros por dia, tempo de parada do hábito em anos e carga tabágica, expressa pelo índice maços/ano (obtida multiplicando-se o número de maços de cigarros fumados por dia pelo número de anos de fumo)². Com relação ao hábito de beber, as informações foram obtidas pela aplicação de perguntas sobre o tipo e a quantidade de bebida alcoólica consumida. A ingestão de álcool, em gramas por dia, foi estimada utilizando o Programa de Apoio à Nutrição do Centro de Informática em Saúde Pública da Escola Paulista de Medicina – *NutWin*, versão 1.5.2.1.

Para avaliação da ingestão alimentar habitual individual no período de seis meses, foi utilizado o questionário de frequência alimentar quantitativo (QFAq). O questionário

foi formulado e aplicado, sempre pela pesquisadora, durante a entrevista com o paciente. O QFAq é uma modificação existente do Questionário de Frequência Alimentar (QFA), utilizado para avaliar a ingestão habitual de grupos específicos de alimentos, no qual o indivíduo relata a quantidade dos alimentos ingeridos para se estimar o tamanho das porções. No presente estudo, o questionário constou de uma lista que compreendeu o total aproximado de 118 itens de alimentos, preparações e bebidas; sendo cerca de 45 itens referentes ao consumo de hortaliças e frutas. Para cada item alimentar do QFAq, os pacientes referiram a frequência média habitual de consumo, a respectiva unidade de tempo (se por dia, por semana ou por mês) e o tamanho da porção individual usual, em medidas caseiras ou em unidades (pequena, média ou grande). As medidas caseiras descritas pelos pacientes foram convertidas em grama ou mililitro, conforme a tabela de composição de alimentos de Pinheiro *et al.*² Os dados foram transformados em quantidades de consumo diárias (gramas/dia do alimento) para que se procedesse à análise da ingestão alimentar, que foi feita usando o cálculo: da quantidade diária de licopeno (Li), luteína/zeaxantina (L/Z), betacriptoxantina (BCr), alfacaroteno (AC), betacaroteno (BC), e total dos carotenoides (TC). A ingestão total de carotenoides obteve-se pela soma das ingestões dos carotenoides individuais (Li+L/Z+BCr+AC+BC). A estimativa da ingestão de carotenoides foi baseada em dados brasileiros de composição alimentar para a maioria dos alimentos². Contudo, outras fontes foram utilizadas para valores de carotenoides não disponíveis, sendo usado, principalmente, o banco de dados mais recente do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos². Para calcular a ingestão alimentar desses nutrientes, os alimentos e seus respectivos teores de carotenoides foram incorporados ao Programa de Apoio à Nutrição do Centro de Informática em Saúde Pública da Escola Paulista de Medicina, *NutWin*, versão 1.5.2.1. Sendo a gordura importante para absorção dos carotenoides, na lista de frequência de alimentos foram incluídos os alimentos fontes deste macronutriente para estimativa de sua ingestão habitual. As quantidades referidas em medidas caseiras pelos pacientes foram transformadas em gramas diárias de consumo para cada alimento. Para o cômputo da ingestão de gordura foi multiplicada a frequência de consumo de cada alimento pelo conteúdo de gordura das porções específicas, o valor obtido foi dividido por sete dias, obtendo-se, assim, a ingestão diária de gordura proveniente de cada alimento. Estes cálculos foram realizados com o auxílio do *NutWin*.

As biópsias orais, do tecido normal e neoplásico, foram obtidas durante o ato cirúrgico, sendo os fragmentos de tecidos retirados pelos cirurgiões. O fragmento de tecido normal foi obtido da região contralateral à lesão, na mesma área anatômica. Logo após a retirada, as amostras

de tecido oral foram submetidas ao congelamento em nitrogênio líquido. Em seguida, foram congeladas em tubos tipo *Eppendorf* e armazenadas à temperatura de -70°C . As dosagens dos carotenoides foram realizadas aproximadamente seis meses após o último paciente ter sido avaliado. Para extração dos carotenoides do tecido, foi utilizado o método descrito por Handelman *et al.*² As concentrações dos carotenoides foram analisadas utilizando a metodologia por CLAE. Foi utilizado o cromatógrafo *Alliance da Waters 2.695* com detector *Waters 2.996* - fotodiodo. A coluna utilizada foi a C18, *Pecosphere-3*, e o comprimento de onda do detector foi fixado em 455nm.

A estatística descritiva dos dados estudados foi apresentada em tabelas, sendo as variáveis categóricas expressas em porcentagem. As variáveis contínuas com distribuição normal foram expressas em valores médios e desvios-padrão, e as variáveis com distribuição não paramétrica foram apresentadas em valores de mediana e percentis 25 e 75. O teste t pareado e a Prova de Wilcoxon foram utilizados na comparação de dois grupos dependentes para dados com distribuição normal e não paramétrica, respectivamente. O teste de Kruskal-Wallis foi empregado na comparação entre mais de dois grupos para dados com distribuição não paramétrica; a diferença entre os grupos foi obtida aplicando-se o teste de Dunn. Os coeficientes de correlação de Spearman foram calculados para analisar as inter-relações entre as variáveis contínuas estudadas. Para todos os testes estatísticos, empregou-se o pacote estatístico *Sigma Stat for Windows*, versão 2.03 (SPSS; Chicago, IL, EUA). A significância dos resultados foi fornecida ao nível de 5%.

RESULTADOS

Entre os pacientes estudados, 45 foram fumantes e 41 usuários de bebidas alcoólicas. Entre os pacientes fumantes e ex-fumantes, 49% deles referiram somente uso de cigarro com filtro, 33% fizeram uso tanto de cigarros com filtro como sem filtro (cigarro de palha ou corda), 16% somente usaram cigarros de palha ou corda e 2%, cachimbo. Os valores médios e desvios-padrão ou medianos (percentis 25 e 75) das variáveis relacionadas ao hábito de fumar foram: idade de início 16 ± 6 , anos de fumo 39 ± 14 , cigarros por dia $10(5-20)$, e maços/ano $20(12-30)$. Dos pacientes que consumiam álcool, a ingestão média foi 56 gramas de álcool por dia. Dos usuários e ex-usuários de álcool, 24% deles referiram consumir apenas cachaça, 59% referiram uso associado de cachaça e cerveja e 10% uso associado de cachaça com outras bebidas alcoólicas.

A comparação da proporção de carotenoides individuais na dieta, no soro e nos tecidos orais dos pacientes estudados está registrada na Tabela 1. O licopeno foi o carotenoide predominante na dieta e no soro, enquanto a luteína/zeaxantina foi o segundo carotenoide predominante no

soro e o terceiro na dieta. Nos tecidos, a luteína/zeaxantina representou 64%–65% dos carotenoides totais no tecido oral. Não foram encontradas diferenciações estatísticas entre as proporções de licopeno e luteína/zeaxantina presentes no soro e nos tecidos. Também não foram verificadas diferenças estatísticas significantes entre as proporções de licopeno e betacaroteno na dieta (Tabela 1).

Os valores médios e desvios-padrão ou as medianas e os percentis 25 e 75 da ingestão habitual diária (mg/dia) de carotenoides são apresentados na Tabela 2. Os valores de ingestão habitual de carotenoides foram menores do que os valores de ingestão da população no estudo do NHANES III. Não foram observadas diferenças significativas entre as ingestões dos carotenoides entre os pacientes do sexo masculino e feminino: licopeno (p=0,92), luteína/zeaxantina (p=0,46), betacriptoxantina (p=0,19), alfacaroteno (p=0,87), betacaroteno (p=0,36) e total dos carotenoides (p=0,71). Quanto à ingestão de gordura, os valores medianos e correspondentes aos percentis 25 e 75 foram 51 (47–61) g de gordura.

Os valores médios e desvios-padrão ou medianos (percentis 25 e 75) das concentrações séricas (µmol/L) dos carotenoides estão apresentados na Tabela 3. Os carotenoides presentes em maiores concentrações no soro foram o licopeno e a luteína/zeaxantina. Não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações séricas dos carotenoides entre os pacientes do sexo masculino e feminino: licopeno (p=0,46), luteína/zeaxantina (p=0,40), betacriptoxantina (p=0,91), alfacaroteno (p=0,61), betacaroteno (p=0,36) e total dos carotenoides (p=0,10). No tecido oral, a luteína/zeaxantina foi detectada em maiores concentrações no tecido normal (3,49±2,56µmol/kg), e no tecido neoplásico (2,90±2,27µmol/kg). Para o licopeno, verificaram-se concentrações similares entre tecido normal 1,13 (0,75–1,76)µmol/kg e tecido neoplásico 1,15 (0,80–1,90)µmol/kg. As concentrações de betacriptoxantina, alfacaroteno e betacaroteno no tecido oral normal foram 0,09 (0,02–0,31)

mmol/kg, 0 (0–0,12)µmol/kg, 0,12 (0,07–0,19)µmol/kg, respectivamente. No tecido oral neoplásico foram: betacriptoxantina 0,09 (0–0,24)µmol/kg, alfacaroteno 0 (0–0,11)mmol/kg e betacaroteno 0,10 (0,06–0,25)µmol/kg. Não houve diferenças estatísticas significativas entre as concentrações de todos os carotenoides na comparação de tecidos normal e neoplásico: licopeno (p=0,73), luteína/zeaxantina (p=0,21), betacriptoxantina (p=0,61), alfacaroteno (p=0,52) e betacaroteno (p=0,34).

As correlações positivas e significativas encontradas entre carotenoides dietéticos e séricos foram: licopeno (r=0,28;p≤0,05), betacriptoxantina (r=0,41;p≤0,01), alfacaroteno (r=0,40;p≤0,01). A betacriptoxantina (r=0,32;p≤0,05) e o alfacaroteno (r=0,54;p≤0,001) dietéticos também se correlacionaram com suas concentrações no tecido neoplásico. As correlações encontradas entre carotenoides séricos e teciduais (tecido neoplásico) foram: licopeno (r=0,46;p≤0,0001), betacriptoxantina (r=0,70;p≤0,001), alfacaroteno (r=0,45;p≤0,01) e betacaroteno (r=0,59;p≤0,001). As correlações entre tecido normal e tecido neoplásico foram verificadas para o licopeno (r=0,29;p≤0,05), a betacriptoxantina (r=0,58;p≤0,001), o alfacaroteno (r=0,52;p≤0,001) e o betacaroteno (r=0,42;p≤0,01).

DISCUSSÃO

Conforme o tipo e a quantidade de tabaco utilizado, os tabagistas apresentam probabilidade quatro a 15 vezes maior de desenvolver câncer de boca do que os não tabagistas². No grupo estudado, poucos pacientes (quatro) fumavam entre 30 a 40 cigarros por dia. Apesar de a carga tabágica (anos/maço) ser elevada em indivíduos com câncer, verificou-se nos pacientes estudados carga tabágica não muito elevada. Na população geral, é descrito que a ingestão diária de quatro doses de bebidas alcoólicas aumenta o risco de câncer oral em três vezes^{2,3}. No presente estudo, encontrou-se ingestão diária média de 2,4 doses

Tabela 1. Composição (percentual do valor total) de carotenoides dietéticos, séricos e teciduais orais de pacientes com cânceres da cavidade oral e da orofaringe

	Dieta* (n=46)	Soro* (n=46)	Tecido normal* (n=46)	Tecido neoplásico* (n=46)
Li	53 (33–65) ^c	45 (36–55) ^b	25 (18–33) ^b	26 (20–36) ^b
L/Z	14 (7–22) ^b	28 (21–38) ^b	64 (52–73) ^b	65 (49–72) ^b
BcR	2 (1–7) ^a	9 (4–16) ^a	3 (0,3–8) ^a	3 (0–6) ^a
AC	3 (1–7) ^a	4 (2–6) ^c	0 (0–3) ^a	0 (0–4) ^a
BC	26 (18–36) ^{bc}	7 (5–12) ^a	3 (1–5) ^a	3 (1–4) ^a

Li=licopeno; L/Z=luteína e zeaxantina; BcR=betacriptoxantina; AC=alfacaroteno; BC=betacaroteno

*Os dados foram expressos como porcentagem (mediana) do total de carotenoides; números em parênteses representam os percentis 25 e 75. Testes estatísticos usados: Kruskal-Wallis (mediana); comparações das proporções de carotenoides em cada grupo (dieta, soro e tecidos): método de Dunn [letras diferentes mostram diferenças significativas (P>0,05)]

Obs.: n=46, uma vez que ocorreram perdas de amostras: uma de tecido normal e uma de tecido neoplásico de pacientes diferentes

Tabela 2. Valores de ingestão alimentar habitual diária de carotenoides de pacientes com cânceres da cavidade oral e da orofaringe

Variáveis ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	Resultados			Valores médios* de referência NHANES III ($\mu\text{g}/\text{dia}$)
	Homens n=37	Mulheres n=11	Total n=48	
Li	2.023 (1.032–2.823)	2.500 \pm 2.064	1.994 (1.144–3.114)	9.378
L/Z	446 (252–786)	713 \pm 488	508 (269–848)	1.719
BCr	83 (19–326)	23 (4,2–214)	78 (17–288)	145
AC	107 (47–271)	93 (42–244)	102 (47–265)	-
BC	1.279 \pm 1.016	1.602 \pm 1.059	1.345 \pm 1.013	1.985
TC	3.469 (2.371–6.728)	5.139 \pm 3.526	3.859 (2.565–7.266)	-

Os valores são apresentados na forma de médias e desvios-padrão, e medianas e percentis 25 e 75. Li=licopeno; L/Z=luteína e zeaxantina; BCr=betacriptoxantina; AC=alfacaroteno; BC=betacaroteno; TC=total dos carotenoides (Li+L/Z+BCr+AC+BC); - = sem dado.

*Valores médios (ingestão habitual) de todos indivíduos, independente do sexo e da faixa etária (NHANES III, 1988-1994); fonte: *Institute of Medicine* (IOM)

Tabela 3. Valores séricos de carotenoides de pacientes com cânceres da cavidade oral e da orofaringe

Variáveis ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Resultados			Valores médios* de referência NHANES III ($\mu\text{mol}/\text{L}$)
	Homens n=37	Mulheres n=11	Total n=48	
Li	0,56 \pm 0,31	0,48 \pm 0,33	0,54 \pm 0,32	0,44
L/Z	0,31(0,28–0,35)	0,33 \pm 0,05	0,31 (0,28–0,36)	0,37
BCr	0,09 (0,04–0,16)	0,08 (0,06–0,13)	0,09 (0,05–0,16)	0,17
AC	0,04 (0,02–0,06)	0,06 \pm 0,05	0,04 (0,02–0,07)	0,09
BC	0,07 (0,05–0,10)	0,21 \pm 0,21	0,09 (0,05–0,13)	0,35

Os valores são apresentados na forma de médias e desvios-padrão, e medianas e percentis 25 e 75. Li=licopeno; L/Z=luteína e zeaxantina; BCr=betacriptoxantina; AC=alfacaroteno; BC=betacaroteno

*Valores médios de todos indivíduos, independente do sexo e da faixa etária (NHANES III, 1988-1994) transformados de mg/dL para mmol/L; fonte: *Institute of Medicine* (IOM)

ou 60 gramas de álcool. As relações entre fumo, álcool e carotenoides podem refletir o efeito específico do fumo ou álcool sobre o carotenoide, o próprio padrão alimentar do indivíduo, ou a combinação destes fatores⁴.

Em seres humanos, maiores concentrações de licopeno são encontradas nos testículos, nas glândulas adrenais e no fígado, em comparação às concentrações em outros órgãos². Na próstata, o licopeno predomina⁵; a zeaxantina e a luteína/zeaxantina estão presentes em maiores proporções no tecido adiposo, ovário e pigmento macular⁵. No presente trabalho, o licopeno foi o carotenoide predominante na dieta ingerida e no soro; entretanto, foi o segundo carotenoide no tecido oral em termos de concentração (Tabela 1). El-Sohemy *et al.*⁶ também observaram que o licopeno foi o carotenoide abundante na dieta e no sangue e, apesar disso, foi o menos abundante no tecido adiposo. Portanto, observa-se que a concentração tecidual de licopeno não mantém em todos os tecidos a proporção em relação às concentrações na dieta e no soro. Quanto à distribuição dos carotenoides, no tecido oral, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os

carotenoides predominantes no tecido normal (luteína/zeaxantina 64% e licopeno 25%) e no tecido neoplásico (luteína/zeaxantina 65% *versus* licopeno 26%) (Tabela 1). Este achado permite sugerir que há maior consumo no tecido, visando à proteção antioxidante, ou menor taxa de captação tecidual de licopeno, ou, por outro lado, captação seletiva ou acúmulo de luteína/zeaxantina no tecido^{6,7}.

O *World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research* recomenda, como nível prudente para a prevenção do câncer, aproximadamente 9.000 a 18.000mg/dia de carotenoides dietéticos⁸. No presente estudo, o grupo de pacientes apresentou valor mediano de ingestão total de carotenoides inferior à recomendada (3.859mg/dia). Em relação ao licopeno, o valor de 35.000mg/dia é sugerido como ingestão média diária apropriada deste nutriente para proteção antioxidante². Com base neste nível, os pacientes estudados apresentaram valores de ingestão de licopeno expressivamente diminuídos.

Por outro lado, o estudo amplo do *United States Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III, 1988-1994)¹ tem sido utilizado como

dado populacional de referência para o consumo de carotenoides. Dessa maneira, os valores de ingestão verificados no presente estudo são menores dos que os valores médios relatados pelo NHANES III (Tabela 2). Em relação ao licopeno, foi observada elevada frequência de pacientes (44%) cuja ingestão habitual diária estava abaixo do quinto percentil do NHANES III. A ingestão alimentar diminuída de carotenoides pode estar associada à própria doença, por interferência na mastigação e deglutição dos alimentos, bem como pela anorexia⁹. Nesse contexto, note-se ter sido verificada desnutrição energético-proteica em 37% dos pacientes estudados². Outro fator que pode ter contribuído para a reduzida ingestão de carotenoides é a má qualidade da dieta entre os alcoolistas crônicos e indivíduos fumantes.

Com relação à disponibilidade domiciliar *per capita* de carotenoides na população brasileira, Padovani¹⁰ verificou que os valores de ingestão do licopeno variaram de 530mg/dia a 2.760mg/dia para as famílias residentes nos diferentes estratos de renda, na região metropolitana de São Paulo. Assim, o valor mediano da ingestão do grupo de pacientes com câncer estudado (1.994mg/dia) esteve dentro da faixa de variação média observada por Padovani¹⁰. O mesmo pôde ser constatado com os outros carotenoides.

A ingestão de licopeno pelos pacientes estudados foi semelhante aos valores de ingestão encontrados em outros estudos, em indivíduos com esse tipo de câncer. Schantz *et al.*¹¹, estudando pacientes com câncer de cabeça e pescoço (não previamente tratado) verificaram que 69% deles tinham ingestão de licopeno inferior a 1.898µg/dia. Destes pacientes, 53% apresentavam câncer oral. Mayne *et al.*⁴ verificaram, em pacientes com cânceres de cavidade oral, faringe e laringe, já tratados, valor mediano de ingestão de licopeno de 1.290µg/dia, enquanto Steward *et al.*¹² encontraram valor médio de 4.225mg/dia.

As concentrações séricas de carotenoides em populações ocidentais variam de 0,29–0,60µmol/L para o licopeno, 0,28–0,52µmol/L para o betacaroteno e 0,2–0,28µmol/L para a luteína². Quando se confrontaram os valores das concentrações séricas de carotenoides no grupo estudado com os dados da população do NHANES III, o valor médio da concentração sérica de licopeno revelou-se superior ao valor médio da população norte-americana. Com relação aos outros carotenoides, valores séricos de luteína/zeaxantina, betacriptoxantina e alfacaroteno foram ligeiramente inferiores, enquanto o valor de betacaroteno estava acentuadamente diminuído.

Em indivíduos com câncer de vários órgãos, Abiaka *et al.*¹³ observaram concentrações séricas de licopeno variando de 0,12 a 1,55µmol/L, e as de betacaroteno, de 0,18 a 0,76µmol/L. Esses autores, ao comparar os valores séricos de licopeno de pacientes com câncer oral e controles, observaram valor significativamente maior (1,55µmol/L) nos pacientes do que nos indivíduos do grupo controle (0,72µmol/L).

Mayne *et al.*⁴, estudando indivíduos já tratados por cânceres de cavidade oral, faringe e laringe, verificaram valor médio de licopeno no sangue de 0,59µmol/L. No presente trabalho, o valor médio de licopeno encontrado (0,54µmol/L) esteve muito próximo ao verificado no estudo de Mayne *et al.*⁴; porém foi inferior aos valores obtidos por Abiaka *et al.*¹³, tanto em relação ao grupo de indivíduos com câncer oral como em relação ao grupo de indivíduos do grupo controle.

Pela falta de dados disponíveis para interpretar os valores de carotenoides encontrados no tecido oral do grupo estudado, foram confrontados os resultados com os valores observados em outros tecidos de seres humanos. Desse modo, foi observado que o valor médio de luteína/zeaxantina encontrado no tecido oral (2,90–3,49µmol/kg) esteve acima do verificado no tecido adiposo (1,71µmol/kg em homens; 2,25µmol/kg em mulheres) por El-Soheemy *et al.*⁶ em 531 indivíduos controles, participantes de estudo caso-controle sobre dieta e doença cardíaca na Costa Rica. Segundo os estudos de Clinton *et al.*⁵ e Freeman *et al.*¹⁴, os valores médios de luteína no tecido normal da próstata são 0,26µmol/kg e 0,37µmol/kg, respectivamente, resultados, entretanto, que se referem à concentração conjunta de luteína e zeaxantina. No presente trabalho, a luteína/zeaxantina foi, entre os carotenoides estudados, aquela detectada em maior concentração no tecido oral.

Em outros tecidos de seres humanos, foi observada faixa de concentração média de licopeno de 0,12–0,80µmol/kg na próstata^{5,14}, de 0,20–1,30µmol/kg no tecido adiposo^{6,15}, e de 0,017–0,31µmol/kg no cólon^{16,17}. Assim, verificou-se que a concentração tecidual oral de licopeno do grupo de pacientes estudado foi próxima às concentrações de licopeno reportadas no tecido da próstata por Clinton *et al.*⁵ e no tecido adiposo por Kaplan *et al.*² e maior do que os valores observados no cólon por Nierenberg & Nann¹⁶ e Pappalardo *et al.*¹⁷. Quanto ao betacaroteno, observou-se, no grupo estudado, concentração tecidual oral diminuída (0,12µmol/kg) em relação à observada em outros tecidos, como no tecido adiposo de indivíduos controles (0,37µmol/kg em homens; 0,76µmol/kg em mulheres)⁶, e no tecido normal da próstata (0,48µmol/kg)⁵ e (0,24µmol/kg)¹⁴. Um dos fatores que pode ter influenciado a concentração de betacaroteno no tecido oral, em nosso estudo, é a alimentação.

Quanto à comparação da concentração de carotenoides em tecidos neoplásicos e não neoplásicos, os resultados publicados não são consistentes. Clinton *et al.*⁵ observaram maiores concentrações de carotenoides no tecido neoplásico da próstata. Entretanto, menores concentrações teciduais de carotenoides foram relatadas em tecido neoplásico de cólon¹⁷, estômago⁷ e em adenoma colorretal¹⁸. A menor concentração de carotenoides em tecido neoplásico sugere aumento da degradação neste tecido, com conseqüente depleção tecidual^{7,17}. O aumento da degradação de carotenoides, no tecido

neoplásico, pode ser compensado pela maior captação, por este tecido, de carotenoides circulantes provenientes da alimentação. Neste contexto, Paiva *et al.*⁷, apesar de verificarem aumento da degradação de betacaroteno no tecido neoplásico gástrico, não encontraram diferença significativa da sua concentração, quando comparados os tecidos neoplásico e não neoplásico. No presente estudo, não foi verificada diferença estatística significativa entre os valores teciduais de carotenoides na comparação de tecido normal com o tecido neoplásico. Este achado pode ter sido devido ao fato de as variáveis envolvidas apresentarem variabilidade bastante acentuada.

Vários estudos relatam correlações significativas, consideradas modestas, entre os valores da concentração sanguínea e da ingestão de carotenoides⁴, sendo isto também encontrado neste estudo. Esses níveis de valores das correlações entre os valores da ingestão e as concentrações séricas de carotenoides podem depender da influência de vários fatores, como a variação da biodisponibilidade entre as fontes alimentares de carotenoides, a diferença de absorção devida à composição da dieta e a estimativa errônea da ingestão alimentar¹. Em oposição, tem sido descrita a ausência de associação entre a ingestão dietética e a concentração tecidual de carotenoides, como verificado para o licopeno em relação à concentração tecidual da próstata¹⁴, do tecido adiposo da mama¹⁵ e de células da mucosa bucal². Semelhantemente, verificou-se que as ingestões dietéticas de licopeno, luteína/zeaxantina e betacaroteno não se correlacionaram com suas concentrações no tecido oral.

Enquanto os métodos de avaliação do consumo alimentar - Recordatório de 24 horas e Registro Alimentar - podem ser utilizados em qualquer população sem maiores problemas, os QFAs devem ser validados em função da população a ser avaliada, pois a inclusão ou a exclusão de itens de consumo frequente podem afetar o instrumento, porém existem poucos estudos publicados de reprodutibilidade e validade dos instrumentos que avaliam o consumo de alimentos. Uma limitação do presente estudo foi a não utilização de um QFA validado para estimativa da ingestão de carotenoides; porém foram verificadas correlações positivas e significativas entre carotenoides dietéticos, séricos e teciduais. Em 2006, Matarazzo *et al.*¹⁹, avaliando a reprodutibilidade e a validade do Questionário de Frequência do Consumo Alimentar utilizado no Estudo Latino-Americano sobre câncer oral e de laringe, observaram que o mesmo superestimou moderadamente o consumo de alguns grupos de alimentos, como os das frutas e hortaliças, que contribuem significativamente para a ingestão dos carotenoides dietéticos. Esses autores concluíram que o instrumento testado apresentou razoável validade.

CONCLUSÕES

No grupo de pacientes estudados pôde-se concluir que: 1) a luteína/zeaxantina e o licopeno representaram juntos cerca de 90% dos carotenoides do tecido oral, não apresentando diferença estatística entre si quando se comparou a proporcionalidade da distribuição em ambos os tecidos (normal e neoplásico); 2) a ingestão habitual de carotenoides foi inferior aos níveis “prudentes” de ingestão, e menores do que os valores de ingestão da população no estudo do NHANES III, porém dentro da variação média encontrada na população brasileira; 3) a ingestão de licopeno também foi semelhante aos valores encontrados em indivíduos com câncer; 4) a concentração sérica de carotenoides foi superior para o licopeno, e diminuída para o betacaroteno, quando se comparou com os dados da população norte-americana de estudo do NHANES III; 5) a concentração sérica de licopeno também foi próxima ou inferior aos valores encontrados em indivíduos já tratados por câncer ou com câncer; 6) os carotenoides sem atividade de vitamina A - luteína/zeaxantina e licopeno - apresentaram concentrações elevadas no tecido oral; 7) não foi encontrada depleção de carotenoides na comparação de tecidos neoplásico e normal do mesmo indivíduo; e 8) valores de correlação mais elevados foram observados entre os carotenoides do soro e tecido oral neoplásico do que com a ingestão dietética.

Neste estudo, foi verificado que o tecido oral contém predominantemente luteína/zeaxantina; contudo, porém, não está determinado se isto poderia explicar o risco reduzido de câncer oral associado com o consumo de alimentos ricos em luteína/zeaxantina presente em grande variedade de hortaliças e frutas. O presente estudo traz contribuições para o conhecimento do estado dos carotenoides em tecido neoplásico e tecido normal exposto a agentes pró-carcinogênicos, como é o tecido oral. Entretanto, o papel dos carotenoides, no seu relacionamento com o câncer oral, necessita, sob o ponto de vista do seu possível papel protetor, de investigações adicionais neste tipo de população.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPESP pelo apoio financeiro. Aos cirurgiões Guilherme A. Cestari Filho, Antonio F. Bortolucci, João F. Neto, Afonso do C. Javaroni e José V. Tagliarini, pelo gentil encaminhamento dos pacientes. Ao Hospital Amaral Carvalho e à Faculdade de Medicina de Botucatu, que viabilizaram a realização deste estudo.

Declaração de Conflito de Interesses: Nada a Declarar

REFERÊNCIAS

1. Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium, and Carotenoids.

- [acesso em jun 2008]. Disponível em: <<http://www.nap.edu/openbook>>
2. Maio R. Fatores determinantes da concentração de licopeno no tecido oral neoplásico em pacientes com cânceres da cavidade oral e da orofaringe. [tese]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2005.
 3. Carrard VC, Pires AS, Paiva RL, Chaves ACM, Sant'Ana Filho M. Álcool e câncer bucal: considerações sobre os mecanismos relacionados. *Revista brasileira de cancerologia* 2008; 54:49-56.
 4. Mayne ST, Cartmel B, Silva F, Kim CS, Fallon BG, Briskin K, et al. Plasma lycopene concentrations in humans are determined by lycopene intake, plasma cholesterol concentrations and selected demographic factors. *J Nutr* 1999;129: 849-54.
 5. Clinton SK, Emehiser C, Schwartz SJ, Bostwick DG, Williams AW, Moore BJ, et al. Cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5:823-33.
 6. El-Sohemy A, Baylin A, Kabagambe E, Ascherio A, Spiegelman D, Campos H. Individual carotenoid concentrations in adipose tissue and plasma as biomarkers of dietary intake. *Am J Clin Nutr* 2002;76(1):172-9.
 7. Paiva SAR, Yeum KJ, Lee KS, Park IS, Lee-Kim YC, Russel RM. Endogenous carotenoid concentrations in cancerous and non-cancerous tissues of gastric cancer patients in Korea. *Asia Pacific J Clin Nutr* 1999; 8:160-6.
 8. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR). *Food, nutrition and prevention of cancer: A global perspective*. Menasha, WI: BANTA Book group; 1997.
 9. Maio R, Tagliarini JV, Burini RC. Implicações nutricionais protéico-energéticas da presença e/ou tratamento dos cânceres de cabeça e pescoço. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2000;66:673-8.
 10. Padovani RM. Disponibilidade de carotenóides em relação à energia e proteínas nos domicílios de famílias das regiões metropolitanas brasileiras. [dissertação]. Campinas-SP: Universidade Estadual de Campinas; 2003.
 11. Schantz SP, Zhang Z-F, Spitz MS, Sum M, Hsu TC. Genetic susceptibility to head and neck cancer: interaction between nutrition and mutagen sensitivity. *Laryngoscope* 1997;107:765-81.
 12. Steward DL, Wiener F, Gleich LL, Falciglia G. Dietary antioxidant intake in patients at risk for second primary cancer. *Laryngoscope* 2003; 113:1487-93.
 13. Abiaka CD, Al-Awadi FM, Al-Sayer H, Gulshan S, Behbehani A, Farghaly M. Plasma micronutrient antioxidants in cancer patients. *Cancer Detec Prev* 2001; 25: 245-53.
 14. Freeman VL, Meydani M, Yong S, Pyle J, Wan Y, Arvizu-Durazo R, et al. Prostatic levels of tocopherols, carotenoids, and retinol in relation to plasma levels and self-reported usual dietary intake. *Am J Epidemiol* 2000 Jan;151:109-18.
 15. Zhang S, Tang G, Russell RM, Maysel KA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Measurement of retinoids and carotenoids in breast adipose tissue and a comparison of concentrations in breast cancer cases and control subjects. *Am J Clin Nutr* 1997;66: 626-32.
 16. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentration of retinal, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr* 1992;56:417-26.
 17. Pappalardo G, Maiani G, Mobarhan S, Guadalaxara A, Azzini E, Raguzzini A, et al. Plasma (carotenoids, retinol, alpha-tocopherol) and tissue (carotenoids) levels after supplementation with beta-carotene in subjects with precancerous and cancerous lesions of sigmoid colon. *Eur J Clin Nutr* 1997Oct;51(10):661-6.
 18. Muhlhofer A, Buhler-Ritter B, Frank J, Zoller WG, Merkle P, Bosse A, et al. Carotenoids are decreased in biopsies from colorectal adenomas. *Clin Nutr* 2003; 22:65-70.
 19. Matarazzo HCZ, Marchioni DML, Figueiredo RAO, Slater B, Eluf Neto J, Wünsch Filho V. Reprodutibilidade e validade do questionário de frequência de consumo alimentar utilizado em estudo caso-controle de câncer oral. *Revista brasileira de epidemiologia* 2006;9(3):316-24.

Abstract

The aim of this article is to characterize a group of patients with oral cavity and oropharyngeal cancer in regard to their dietary intake, as well as serum and oral tissue concentrations of carotenoids. A transversal study was undertaken with 37 male and 11 female patients, aging from 39 to 77, without previous treatment for the disease. Oral biopsies were taken during surgery in all patients. Tissue determination of carotenoids was done by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using C18 columns. It was verified that the habitual daily dietary intakes of carotenoids were 3,859; 1,994; 1,345; 508; 102 and 78 μ g/day for all carotenoids, lycopene, beta-carotene, lutein/zeaxantin, alpha-carotene and beta-cryptoxanthin, respectively. The largest concentrations of carotenoids in the serum were verified for lycopene (0.54 μ mol/L) and lutein/zeaxantin (0.31 μ mol/L). In the normal tissue, concentrations were 3.49; 1.15; 0.12 and 0.09 μ mol/kg for lutein/zeaxantin, lycopene, beta-carotene and beta-cryptoxanthin, respectively. These figures were not statistically different from neoplastic tissues. Lycopene was the predominant carotenoid in the diet (53%) and serum (45%), whereas in the tissues it was lutein/zeaxantin (64-65%). Significant correlations ($r=0.28$ to $r=0.70$) between the amount of carotenoids in the diet, in the serum and in the oral tissue were observed for the majority of the carotenoids. Lycopene was identified as the main carotenoid in the diet and in the serum, whereas lutein/zeaxantin was predominant in the oral tissue. No depletion was observed in carotenoids investigated in the neoplastic tissue in the studied group.

Key words: Carotenoids; Tissues; Mouth Mucosa; Mouth Neoplasms; Eating; Cross-Sectional Studies

Resumen

Con el objetivo de caracterizar pacientes con cáncer de cavidad bucal y orofaríngea, en cuanto a la ingesta alimentaria y concentraciones de carotenoides en el suero y tejido bucal, se llevó a cabo un estudio transversal implicando 37 pacientes hombres y 11 mujeres, de edades comprendidas entre 39 y 77 años, sin tratamiento previo de la enfermedad. Las biopsias en la cavidad bucal se lograron durante la cirugía en todos los pacientes. La determinación tisular de carotenoides fue realizada por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), utilizando la columna C18. Las ingestas habituales diarias de carotenoides fueron 3.859, 1.994, 1.345, 508, 102 e 78 μ g/día para el total de carotenoides, licopeno, betacaroteno, luteína/zeaxantina, alfacaroteno y betacriptoxantina, respectivamente. Las mayores concentraciones de carotenoides en el suero fueron observadas para el licopeno (0,54 μ mol/L) y para la luteína/zeaxantina (0,31 μ mol/L). En el tejido normal, las concentraciones encontradas fueron 3,49; 1,15; 0,12 e 0,09 μ mol/kg para la luteína/zeaxantina, el licopeno, el betacaroteno y la betacriptoxantina, respectivamente; esos valores no fueron estadísticamente diferentes en relación a los del tejido neoplásico. El licopeno fue el carotenoide predominante en la dieta (53%) y en el suero (45%). En los tejidos, hubo un predominio de la luteína/zeaxantina (64-65%). Correlaciones significativas ($r=0,28$ a $r=0,70$), entre los valores de carotenoides en la dieta, en el suero y tejido bucal fueron observadas en la mayoría de los carotenoides. El licopeno fue identificado como el principal carotenoide en la dieta y en el suero, en cambio la luteína/zeaxantina predominó en el tejido bucal. No se observó agotamiento de los carotenoides investigados en el tejido bucal neoplásico del grupo estudiado.

Palabras clave: Carotenóides; Tejidos; Mucosa Bucal; Neoplasias de la Boca; Ingestión de Alimentos; Estudios Transversales