

A atuação da vitamina A e carotenóides na hepatocarcinogênese

The role of vitamin A and carotenoids in the liver carcinogenesis

Wilza Arantes Ferreira Peres,¹ Tatiana Pereira de Paula,² Rejane Andréa Ramalho Nunes da Silva³ e Henrique Sérgio Moraes Coelho⁴

Resumo

O carcinoma hepatocelular (CHC) é um tumor maligno de baixo prognóstico. Evidências demonstrando a relação entre nutrição e risco de desenvolvimento de câncer são freqüentes na literatura. Vários estudos epidemiológicos têm sugerido que o consumo freqüente de alimentos com elevado teor de carotenóides e vitamina A está associado ao risco reduzido de desenvolvimento de certos tipos de neoplasias. Objetivando verificar o volume de evidências científicas da atuação da vitamina A e dos carotenóides no processo de hepatocarcinogênese, foram revisados dados na literatura. Diversos estudos realizados até o momento apontam os retinóides como agentes que controlam tanto a diferenciação como a proliferação celular, podendo, dessa forma, serem úteis na quimioprevenção do câncer. Os mecanismos propostos pelos quais a vitamina A e os carotenóides exercem sua ação protetora incluem o aumento da função imunológica, dos canais de comunicação intercelular e da atividade antioxidante, apresentando ação inibitória nas lesões pré-neoplásicas. A quimioprevenção por meio da vitamina A ou carotenóides, pode resultar em melhor prognóstico e aumento de sobrevida para população de alto risco, tais como, pacientes com cirrose e CHC.

Palavras-chave: carcinoma hepatocelular; neoplasias hepáticas; prognóstico; retinóides; vitamina A; carotenóides; quimioprevenção.

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a highly malignant neoplasm with an extremely poor prognosis. Considerable evidence in literature suggests a relationship between nutrition and cancer. Many epidemiological studies suggested that an increased consumption of vitamin A and carotenoids may prevent the development of a wide range of cancers. The objective of this work, therefore, was to review in the scientific literature the effects of vitamin A and carotenoids on hepatocarcinogenesis. A number of studies suggests that retinol acts as an agent that controls both cellular proliferation and differentiation, which may affect carcinogenesis. The antitumor action of vitamin A and carotenoids can be correlated with an enhancement of the immune response, gap junction communications, antioxidant properties and protection against pre-neoplastic changes. The cancer chemopreventive action in individuals with life-threatening liver disease, such as those with cirrhosis and hepatocellular carcinoma, may offer longer survival time and a better prognosis.

Key words: hepatocellular carcinoma; liver neoplasms; prognostic; retinoids; vitamin A; carotenoids; chemoprevention.

¹Professora Assistente do Departamento de Nutrição Básica e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Doutoranda do Departamento de Clínica Médica do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho-UFRJ. *Enviar correspondência para W.A.F.P* Praça General Lamartine 7, Ilha do Governador; 22941-600 Rio de Janeiro, RJ - Brasil. *E-mail:* wilza.peres@uol.com.br

²Mestranda pelo Departamento de Clínica Médica - Setor de Nutrologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho-UFRJ.

³Professora Titular do Departamento de Nutrição Social e Aplicada-UFRJ. Doutora em Ciências pela ENSP-FIOCRUZ.

⁴Doutor em Doenças Infecto-Parasitárias pelo Hospital Universitário Clementino Fraga Filho-UFRJ. Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica, Setor de Gastroenterologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho-UFRJ.

INTRODUÇÃO

O carcinoma hepatocelular (CHC) está entre os dez tumores mais freqüentes em âmbito mundial, com incidência variável nas diversas áreas geográficas. A maioria dos CHC ocorre em pacientes portadores de cirrose por vírus B e C, respectivamente em 2-2,5 por 100 pessoas/ano.¹ O Brasil é considerado um país de média prevalência, com 5-10 casos/100.000 habitantes/ano. Existe forte associação com a cirrose hepática em 70% dos casos de CHC. O vírus da hepatite C nos países ocidentais está presente em cerca de 2/3 dos casos. A ressecção cirúrgica definitiva é possível em apenas 15 a 30% dos pacientes com CHC, sendo que esses pacientes apresentam um número de recorrências significativamente alto. A busca ativa da doença nos grupos de risco, por meio da realização de ultrassonografia e da dosagem sérica de α -fetoproteína, tem permitido o diagnóstico de tumores menores e com maiores chances de ressecção ou transplante hepático.^{2,3}

Evidências demonstrando a relação entre nutrição e risco de desenvolvimento de câncer são freqüentes na literatura.⁴⁻⁷ A quimioprevenção do câncer resulta da ação de uma substância que possa bloquear o início do processo neoplásico, deter ou reverter a progressão das células transformadas para fenótipos malignos.⁸ O consumo elevado de alimentos fontes de β -caroteno e vitamina A tem sido associado ao risco reduzido de desenvolvimento de certos tipos de tumores.⁹⁻¹¹ Ming-Whwi Yu et al¹² observaram forte associação inversa entre consumo de vegetais com teor elevado de β -caroteno (pró-vitamina A), níveis normais de retinol sérico e risco de desenvolvimento de CHC. Porém, apesar de fortes evidências epidemiológicas estabelecerem essas associações, o mecanismo de inibição da carcinogênese pela vitamina A e carotenóides não está completamente elucidado.

O objetivo do presente trabalho foi revisar dados na literatura referentes ao papel da vitamina A e carotenóides no processo de hepatocarcinogênese. Inicialmente será feita breve consideração sobre a atuação da vitamina A e carotenóides no processo geral de carcinogênese, o que servirá de base para situar e compreender seu papel no câncer hepático.

Os artigos incluídos na presente revisão foram selecionados em pesquisa na base de dados MedLine considerando o período 1992-2002. Foram utilizados os termos: *Vitamin A and carcinogenesis, carotenoids and carcinogenesis, vitamin A and hepatocellular carcinoma, carotenoids and hepatocellular carcinoma, vitamin A and gap junctions, carotenoids and gap junctions, vitamin A and apoptosis, carotenoids and apoptosis, vitamin A and*

cell proliferation, carotenoids and cell proliferation, vitamin A and tumor suppressor gen, carotenoids and tumor suppressor gen, vitamin A and immune system, carotenoids and immune system, vitamin A and antioxidant properties, carotenoids and antioxidant properties.

Foram destacadas informações relevantes referentes ao assunto proposto em cada artigo consultado na íntegra. Publicações clássicas citadas nos artigos consultados assim como livros textos sobre o assunto também foram analisados.

O PAPEL DA VITAMINA A E CAROTENÓIDES NA CARCINOGENESE

Vitamina A é um termo genérico muito utilizado para designar qualquer composto com atividade biológica de retinol, enquanto o termo retinóides inclui tanto as formas de ocorrência natural da vitamina A como os muitos análogos sintéticos do retinol com ou sem atividade biológica. Cerca de 90% da vitamina A ingerida é armazenada no fígado.¹³ Os carotenóides são um grupo de pigmentos cuja coloração varia de desde o amarelo até o vermelho.^{14,15} A função fisiológica da pró vitamina A, característica de alguns carotenóides, dentre eles o β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno e β -criptoxantina, é a única confirmada no homem.¹⁶ O tecido adiposo juntamente com o fígado constituem-se os principais locais de depósitos em humanos.¹⁷

Carcinogênese é um termo genérico que compreende vários mecanismos que participam do desenvolvimento de neoplasia(s). A carcinogênese pode ser considerada um processo ativo, induzido por agentes físicos, químicos, biológicos, genéticos ou pode ocorrer de forma espontânea, sem nenhuma intervenção intencional ou ativa.¹⁸

Pitot e Dragan¹⁹ classificam o processo de carcinogênese em três estágios: iniciação, promoção e progressão. A fase de iniciação é caracterizada por alteração do material genético, que pode ou não resultar em mutação. Embora a mutação não necessariamente resulte no desenvolvimento do câncer, indica risco aumentado para neoplasia. A fase de promoção, caracterizada pela conversão da célula iniciada em célula pré-maligna, é um processo reversível e que apresenta longo período de latência, sendo este um ponto estratégico para ação de agentes quimiopreventivos do câncer. A progressão da célula pré-maligna para maligna é um processo irreversível e que ocorre em consequência de dano adicional ao cromossomo, resultando em divisão celular incontrolada devido à reduzida dependência dessas células aos fatores de crescimento.²⁰

A transição entre as etapas do processo de

carcinogênese depende, dentre outros fatores, dos mecanismos de defesa do hospedeiro. O sistema imune tem três tipos de células capazes de reconhecer e eliminar células tumorais: macrófagos, células *natural killer* (NK) e células T citotóxicas.²¹ Embora os tumores malignos possam expressar antígenos protéicos reconhecidos como estranhos pelo hospedeiro e a imunovigilância possa limitar o crescimento excessivo de alguns tumores, o sistema imunológico nem sempre pode impedir a ocorrência de vários tipos de câncer humanos letais. O rápido crescimento e propagação de um tumor são capazes de superar os mecanismos efetores das respostas imunes, além disso, alguns tumores adquirem a capacidade de se evadir das respostas imunes, processo conhecido como escape tumoral.^{22,23}

Durante a resposta imune os fagócitos ativados, fibroblastos e linfócitos produzem espécies reativas de oxigênio. Como a geração destas espécies está relacionada à ativação de carcinógenos na fase de iniciação, assim como alterações nas atividades celulares na fase de promoção e progressão, é concebível que a inativação destas possa resultar na proteção contra a carcinogênese.²⁴ Além disso, durante a reação inflamatória pode ocorrer superprodução de radicais livres, que resulta em dano oxidativo aos leucócitos e às células de tecidos circunvizinhos ao processo inflamatório, podendo levar ao dano oxidativo do DNA, resultando em mutação genética. O β -caroteno, um conhecido agente antioxidante, apresenta propriedade de interceptar certos radicais livres e desativar moléculas reativas de oxigênio singlete, que são geradas como subprodutos de muitos processos metabólicos normais.²⁵ Logo, é possível que o β -caroteno livre circulante tenha efeito protetor na carcinogênese, independente de sua conversão a retinol, desativando estes tipos de moléculas ou prevenindo dano oxidativo. O reconhecimento de antígenos ou células tumorais envolve receptores de macrófagos. O dano oxidativo gerado durante a resposta inflamatória decresce o número de receptores de membrana de macrófagos, porém o β -caroteno e a cantaxantina parecem inibir a perda de receptores de macrófagos após a exposição a espécies reativas de oxigênio.^{22,26}

Corroborando com esses achados, o β -caroteno quando incubado com as células NK de humanos aumentou significativamente a capacidade destas células de eliminar células tumorais.²⁷ Da mesma forma, animais alimentados com β -caroteno, cantaxantina e vitamina A apresentaram macrófagos com maior habilidade para eliminar células tumorais.²⁸

As respostas imunológicas são apenas uma parte do espectro de reações do organismo ao processo de

carcinogênese. As células apresentam em suas membranas junções comunicantes ou *nexus*, que servem como canais de comunicação célula a célula. Esses canais permitem a passagem de moléculas informacionais, que regulam o crescimento celular. As junções comunicantes são compostas de proteínas transmembranas chamadas conexinas, que formam uma família de proteínas. Um membro desta família é a conexina 43, que é a principal proteína da junção comunicante em várias células de mamíferos.^{29,30}

A comunicação entre células tem sido bastante discutida no processo de carcinogênese. As células tumorais são, em geral, deficientes em junções comunicantes.^{31,32} Agentes promotores do crescimento tumoral podem inibir a comunicação intercelular mediada pelas junções comunicantes, por meio da inibição da expressão da conexina 43. Sabe-se que a comunicação intercelular é importante para o controle do crescimento celular normal, portanto a inibição desta pode ser um importante mecanismo para que as células pré-neoplásicas escapem do mecanismo normal de regulação de crescimento celular e progridam para neoplasia.^{33,34} Gerster³⁴ observou que o aumento dos canais de comunicação parece inibir a transformação em célula maligna, por permitir a passagem de sinais regulatórios do crescimento entre a célula iniciada e a célula normal.

Um modelo tem sido proposto para explicar a ação de carotenóides e retinóides na estabilização de células iniciadas, evitando a conseqüente transformação em células malignas.²⁰ Este modelo propõe que os carotenóides aumentem as junções comunicantes por meio da elevação dos níveis de RNA mensageiro da conexina 43 e de sua expressão, sendo a conexina 43 o primeiro gene induzido por carotenóides em mamíferos.³⁵ O retinol, assim como o ácido retinóico, tem mostrado aumentar as junções comunicantes significativamente e de forma dose dependente. O β -caroteno e a cantaxantina, quando comparados aos retinóides, foram igualmente potentes em aumentar as junções comunicantes, sendo também ativos em inibir futuras expressões de fenótipos neoplásicos em células iniciadas.³⁶

Zhang et al,³⁷ em estudo com cultura de células tratadas com β -caroteno, cantaxantina e licopeno durante sete dias, observaram aumento significativo nos níveis de conexina 43 em comparação ao grupo controle tratado com solvente. No entanto, o tratamento com bixina, carotenóide ativo, na proteção da oxidação de membrana e com α -tocoferol, antioxidante de fase lipídica altamente potente, não alterou os níveis de conexina 43. Desta forma, os autores concluíram que o

efeito dos carotenóides no aumento da expressão da conexina 43 parece não estar relacionado a sua propriedade pró-vitamina A ou antioxidante, já que carotenóides com ou sem atividades de pró-vitamina A aumentaram os níveis de conexina 43 e os antioxidantes bixina e α -tocoferol se mostraram ineficazes.

A morte celular programada ou apoptose, resposta fisiológica normal a vários estímulos incluindo lesão irreversível no DNA, desempenha importante papel no crescimento de células normais e malignas.³⁸ No câncer o balanço entre proliferação e morte celular programada é rompido, e defeitos nas vias de sinalização que levam à apoptose permitem que células com anormalidades genéticas sobrevivam.^{38,39} O P53 é um gene supressor de tumor (TP53) que codifica uma fosfoproteína de 53 kDa que desempenha importante papel no controle do ciclo celular.⁴⁰ Essa fosfoproteína é capaz de limitar a proliferação celular após uma lesão do DNA por dois mecanismos: atraso no ciclo celular para permitir reparação do DNA ou ativação da apoptose.³⁸ A mutação deste gene pode estar relacionada tanto à iniciação quanto à progressão tumoral; além disso, parece tornar as células cancerosas resistentes a vários agentes quimioterápicos que agem induzindo a apoptose.⁴¹ Experimentos *in vitro* têm demonstrado que o β -caroteno pode proteger o processo de reparo do DNA por meio de prevenção de dano oxidativo do gen supressor tumoral P53 diminuindo, conseqüentemente, a expressão do gene mutante desta proteína.^{20,42} Brivba et al⁴³ em estudo *in vitro* com cultura de células observaram que o β -caroteno inibiu o crescimento de carcinoma de cólon humano por indução da apoptose. Provavelmente, os produtos oxidativos gerados do β -caroteno em alta concentração podem estar envolvidos na mediação da apoptose. Ainda neste contexto, sabe-se que os retinóides são potentes reguladores do crescimento celular, da diferenciação e da apoptose. Estudos realizados até o momento, apontam os retinóides, naturais e sintéticos, como capazes de controlar tanto a diferenciação como a proliferação celular.^{44,45} Dessa forma, além das ações já estabelecidas, sugere-se que os retinóides possam ser potentes agentes na quimioprevenção do câncer, já que este é um processo caracterizado por crescimento anormal com perda de diferenciação celular.^{8,46}

AÇÃO DA VITAMINA A E CAROTENÓIDES NA HEPATOCARCINOGENESE

O carcinoma hepatocelular (CHC) é o tumor maligno primário mais comum do fígado. De um modo global, é um dos dez tumores que mais atingem a espécie

humana, com incidência mundial estimada em 1.250.000 novos casos ao ano. A sobrevida, ao final de cinco anos, encontra-se abaixo de 5%, sendo que 70-80% falecem, em média de quatro a seis meses a partir do diagnóstico. Tais dados realçam a gravidade dessa doença.⁴⁷

Estudos epidemiológicos apresentam evidências de que a hepatocarcinogênese é um processo que envolve múltiplos estágios, precedido pelo aparecimento de nódulos hepáticos, sendo a incidência em homens duas vezes maior que em mulheres. Os principais fatores de risco para o CHC são o vírus B e C da hepatite, aflatoxina B1, hemocromatose e outros fatores como álcool e fumo em algumas populações.⁴⁸⁻⁵¹

Em estudos realizados por Clemente et al⁵² e Newsome et al⁵³ foi observado que pacientes com cirrose e CHC apresentavam níveis séricos de retinol significativamente menores que pacientes com cirrose apenas, sugerindo que a deficiência de retinol pode ser fator predisponente para desenvolvimento de hepatocarcinoma em pacientes de alto risco, tais como indivíduos com cirrose.

A hepatocarcinogênese química induzida por dietilnitrosamina (DEN), 2-acetilaminofluoreno (2-AAF) e aflatoxina B1 (AFB1) tem sido considerada um dos melhores modelos experimentais de carcinogênese hepática,⁵⁴ permitindo identificar a ação de compostos como a vitamina A nos diferentes estágios do processo neoplásico. Estudos sobre etiologia e histopatogênese do carcinoma hepatocelular em animais têm sido relevantes, já que carcinógenos conhecidos para o homem são também carcinogênicos para os animais de experimentação. Além disso, o CHC em animais assemelha-se nas características biológicas e morfológicas ao CHC em humanos, inclusive em suas propriedades seletivas, como a produção de α -fetoproteína.^{55,56} A indução do câncer hepático em roedores é considerado um indicador válido de risco de câncer para o homem, não somente para o câncer hepático, mas também para outros órgãos. Por esta razão, muita atenção tem sido dada à patogênese e histogênese dos tumores hepáticos.⁵⁷

Existem evidências demonstrando que a hepatocarcinogênese, em ratos e em humanos, é um processo de múltiplos estágios precedido pelo aparecimento de focos de hepatócitos alterados e nódulos hepáticos hiperplásicos, sendo estes considerados lesões pré-neoplásicas (LPN) decorrentes de expansão clonal a partir de hepatócitos iniciados.^{63,64} Uma propriedade característica dos focos e nódulos de hepatócitos é a capacidade de expressar uma das seguintes opções: remodelamento para um fígado aparentemente normal (95 a 98% dos casos) ou proliferação celular e evolução

para câncer em uma minoria (2 a 5%).⁶⁵

Baseados nesta metodologia, estudos vêm demonstrando a ação da vitamina A na histopatologia do CHC. Moreno et al,⁵⁹ utilizando modelo hepatócito resistente em ratos usando DEN como agente iniciador e 2-AAF como promotor compararam os efeitos da administração do β -caroteno e da vitamina A por oito semanas em diferentes grupos de animais, sendo que o grupo controle recebeu somente óleo de milho. O tratamento com β -caroteno resultou em significativa redução da incidência de nódulos e número total de nódulos hepáticos quando comparados ao controle. Em contraste, o tratamento com vitamina A apresentou uma incidência de 100% dos nódulos e apenas um moderado decréscimo no número total de nódulos hepáticos. Nesse estudo não foi especificada a fase de atuação do β -caroteno e da vitamina A na carcinogênese.

Sarkar et al⁵⁸ trataram ratos com 2-AAF, conhecido agente iniciador e promotor da carcinogênese. Os animais receberam β -caroteno antes da fase de iniciação e durante a fase de iniciação e promoção. Os animais tratados apresentaram decréscimo no número de nódulos hiperplásicos e redução do volume nodular em relação ao volume total do fígado quando comparados ao controle. Nesse estudo, o β -caroteno apresentou efeito protetor significativo em limitar a ação do 2-AAF na fase de iniciação e efeito protetor parcial na fase de promoção.

Berberian et al,⁶⁰ objetivando verificar os efeitos da vitamina A dietética na fase de promoção da carcinogênese, utilizaram modelo experimental usando DEN como iniciador e 3,3',4,4'-TCB e/ou 2,2',4,4',5,5'-HCB como promotor. Durante a fase de promoção, um grupo de animais recebeu dieta contendo baixa suplementação de vitamina A (2000 UI) e outro grupo dieta contendo alta concentração de vitamina A (100.000 UI) na forma de palmitato de retinil. Os principais achados do estudo mostram que a alta concentração dietética do palmitato de retinil protegeu contra lesões pré-neoplásicas induzidas por 3,3',4,4'-TCB, o que foi observado pela redução do número de focos de hepatócitos alterados por cm³, volume médio focal e fração volumar em relação ao fígado total. A alta concentração dietética de palmitato de retinil ofereceu proteção limitada contra o efeito promotor do 2,2',4,4',5,5'-HCB, porém foi capaz de reverter a supressão da concentração hepática de palmitato de retinil, uma das principais formas de estoque da vitamina A, causada por esse agente promotor.

Rizzi et al⁶¹ utilizaram modelo de hepatocarcinogênese com DEN como agente iniciador e 2-AAF como promotor associado a hepatectomia parcial para estímulo

mitogênico. Os animais foram divididos em três grupos que receberam: óleo de soja (controle), β -caroteno e acetato de retinol, durante a fase de promoção. O fígado de animais tratados com β -caroteno apresentou redução na incidência e no número total de nódulos hepáticos e redução no número total de LPN, além do aumento significativo do número de LPN em remodelação para fígado normal, sugerindo, então, dois modos de ação do β -caroteno: inibição das LPN e aumento da atividade de remodelação. O grupo que recebeu acetato de retinol apresentou aumento não significativo no número de lesões pré-neoplásicas em processo de remodelação. A administração de β -caroteno durante a fase de promoção elevou a concentração hepática de carotenóides e palmitato de retinil, mas não modificou os níveis de retinol no fígado. Porém, o tratamento com vitamina A resultou em altas concentrações hepáticas de retinol e palmitato de retinil, mas não afetou os níveis de β -caroteno no fígado.

Bishayee et al,⁶² em estudo da hepatocarcinogênese utilizando DEN como agente iniciador e fenobarbital como agente promotor, tratou animais com β -caroteno ou ácido retinóico antes da iniciação ou durante a fase de promoção por 20 semanas. O tratamento com β -caroteno aumentou significativamente a concentração hepática de β -caroteno e vitamina A total nos nódulos hepáticos e no parênquima não nodular circunvizinho. O β -caroteno antes da fase de iniciação e durante a fase de iniciação e promoção reduziu de forma significativa a incidência, multiplicidade, número e volume de nódulos hepáticos. Os resultados do tratamento com ácido retinóico foram menos expressivos que os apresentados pelo grupo que recebeu β -caroteno. Dessa forma, o efeito benéfico do β -caroteno e da vitamina A foi exercido principalmente na fase de iniciação e secundariamente na fase de promoção da carcinogênese, sendo que o β -caroteno demonstrou melhor resposta quimiopreventiva quando comparado à vitamina A.

O mecanismo de ação do β -caroteno não está completamente elucidado, em especial no que concerne a sua fase de atuação, o que é evidenciado no trabalho de Astorg e colaboradores,⁶⁶ onde o β -caroteno administrado a animais, durante a fase de iniciação, não foi capaz de inibir o processo de hepatocarcinogênese induzida por DEN, em contraste com os estudos anteriormente citados, em que os efeitos benéficos do β -caroteno ocorreram principalmente nesta fase. Alguns autores referem sua ação na fase de iniciação^{67,68} enquanto outros, na fase de promoção,^{24,61,69} bem como em ambas as fases.⁷⁰ É importante destacar que os diferentes modelos experimentais dificultam a comparação entre os estudos e, conseqüentemente, a

definição do papel exato do β -caroteno no processo de carcinogênese.

CONCLUSÃO

A quimioprevenção do câncer é um dos maiores desafios da medicina. Os retinóides e carotenóides são considerados quimiopreventivos, porque inibem, principalmente, a iniciação e promoção da carcinogênese. A quimioprevenção pode aplicar-se a hepatomas primários e recorrentes. Em pacientes com CHC, a taxa de recidiva, com desenvolvimento de um segundo tumor, é alta independente do tipo de tratamento utilizado. Nesses pacientes, a quimioprevenção por meio da vitamina A e carotenóides poderia melhorar o prognóstico e sobrevida, em especial nas doenças crônicas virais onde recidivas freqüentemente ocorrem.

Dessa forma, reforça-se a necessidade de novos estudos nesta área buscando elucidar o uso potencial da vitamina A e carotenóides na quimioprevenção de hepatomas primários e recorrentes em pacientes de alto risco, o que proporcionaria o aumento da sobrevida e qualidade de vida nessa população a nível mundial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Conte VP. Carcinoma hepatocelular: considerações gerais e diagnóstico. *Arq Gastroenterol* 2000;37:133-42.
2. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geografic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 2000;20:1-16.
3. Paixão JBA. Aspectos epidemiológicos das hepatites virais. In: Coelho HSM, editor. *Hepatites*. 1a ed. Rio de Janeiro: Rubio; 2001. p. 1-10.
4. Steinmertz KA, Potter JD. Vegetables, fruit and cancer prevention: a review. *J Am Diet Assoc* 1996;96:1027-39.
5. Bertram JS, Bortkiewicz H. Dietary carotenoids inhibit neoplastic transformation and modulate gene expression in mouse and human cells. *Am J Clin Nutr* 1995;62 Suppl:1327S-36S.
6. Hinnekens 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 neoplasm and cardiovascular disease. *New Engl J Med* 1996;334:1145-9.
7. Greenberg RE. Retinoids and carotenoids: is there another choice? *Prev Med* 1993;22:723-7.
8. Moon RC. Comparative aspects of carotenoids and retinoids as chemopreventive agents for cancer. *J Nutr* 1989;119:127-34.
9. Lambert LA, Warner WG, Wei RR, Lavu S, Chirtel SJ, Kornhauser AI. The protective but nonsynergistic effect of dietary β -carotene and vitamin E on skin tumorigenesis in SKh mice. *Nutr Cancer* 1994;21:1-12.
10. Singh VN, Gabi SK. Premalignant lesions: role of antioxidant vitamins and β -carotene in risk reduction and prevention of malignant transformation. *Am J Clin Nutr* 1991;53:386S-90S.
11. Ziegler RG. Review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. *J Nutr* 1989;119:116-22.
12. Ming-Whei Yu, Yueh-Hsia C, Yi-Ching C, Chien-Hung C, Tzong-Hsi L, Regina MS, et al. Plasma carotenoids, glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms, and risk of hepatocellular carcinoma: independent and interactive effects. *Am J Epidemiol* 1999;149: 621-9.
13. Blomhoff R. Transport and metabolism of vitamin A. *Nutr Rev* 1994;53:513-23.
14. Bendich A, Olson JA. Biological actions of carotenoids. *FASEB J* 1989;3:1927-32.
15. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols and thiols. *Am J Clin Nutr* 1991;53:194S-200S.
16. Hughes DA. Dietary carotenoids and human immune function. *Nutrition* 2001;17:823-7.
17. Kaplan LA, Lau JM, Stein EA. Carotenoids composition, concentrations and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem* 1990;8:1-10.
18. Dragan YP, Pitot HC. The role of the stages of initiation and promotion in phenotypic diversity during hepatocarcinogenesis in the rat. *Carcinogenesis* 1992;13:739-50.
19. Pitot HC, Dragan YP. The multistage nature of chemically induced hepatocarcinogenesis in the rat. *Drug Metab Rev* 1994;26:209-20.
20. Gester H. β -carotene, vitamin E and vitamin C in different stages of experimental carcinogenesis. *Eur J Clin Nutr* 1995;49:155-68.
21. Semba RD. The role of vitamin A and related retinoids in immune function. *Nutr Rev* 1998;56:38-48.
22. Bendich A. Carotenoids and the immune response. *J Nutr* 1988;119:112-5.
23. Abbas AK, Lichtman AH, Pober J. Imunidade contra tumores. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober J, editores. *Imunologia celular e molecular*. 2a ed. Rio de Janeiro: Revinter; 1998. p. 378-97.
24. Gester H. Anticarcinogenic effects of common carotenoids. *Int J Nutr Res* 1992;63:93-121.
25. Packer JÁ, Mahood JS, Mora-Arellano VO, Slater TF, Willson RL, Wolfenden RS. Free radicals and singlet oxygen scavengers: reaction of a peroxy-radical with β -carotene, diphenylfuran and 1,4-diazo-bicyclo (2,2,2)-octane. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 98:901-6.

26. Pryor WA, Stahl W, Rocky C. β -carotene: from biochemistry to clinical trials. *Nutr Rev* 2000;58:39-53.
27. Leslie CA, Dubey DP. Carotene and natural killer cell activity. *Fed Proc* 1982;41:331.
28. Shklar G, Schwartz J. Tumor necrosis factor in experimental cancer regression with vitamin E, beta carotene, canthaxantin and algae extract. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988;24:839-50.
29. Beyer EC, Paul D, Goodenough DA. Connexin family of gap junction proteins. *J Membrane Biol* 1990;116:187-94.
30. Beyer EC, Paul D, Goodenough DA. Connexin 43: a protein from heart homologous to a gap junction protein from liver. *J Cell Biol* 1987;105:2621-9.
31. Klaunig JE, Ruch RJ. Role of inhibition of intercellular communication in carcinogenesis. *Lab Invest* 1990;62:135-46.
32. Sies H, Stahl W. The role of carotenoids and retinoids in gap functional communication. *Int J Vitam Nutr Res* 1998;68:354-9.
33. Ruch RJ, Klaunig JE, Pereira MA. Inhibition of intercellular communication between mouse hepatocytes by tumor promoters. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987;87:111-20.
34. Gerster H. Intermediate cancer biomarkers and their use in β -carotene studies in humans. *Int J Vitam Nutr Res* 1996;66:3-18.
35. Guo H, Acevedo P, Parsa FD, Bertram JS. The gap junctional protein connexin 43 is expressed in dermis and epidermis of human skin: differential modulations by retinoids. *J Invest Dermatol* 1992;99:460-7.
36. Zhang LX, Cooney RV, Bertram JS. Carotenoids enhance gap junctional communications and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells: relationship to their cancer chemopreventive action. *Carcinogenesis* 1991;12:2109-114.
37. Zhang LX, Cooney RV, Bertram JS. Carotenoids Up-regulate connexin 43 gene expression independent of their provitamin A or antioxidant properties. *Cancer Res* 1992;52:5707-12.
38. Sjöström J, Bergh J. How apoptosis is regulated, and what goes wrong in cancer. *BMJ* 2001;322:1538-9.
39. White MK, McCubrey JA. Suppression of apoptosis: role in cell growth and neoplasia. *Leukemia* 2001;15:1011-21.
40. Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA, Butel JS, et al. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 1992;356:215-22.
41. Reed JC. Bcl-2 family proteins: regulators of apoptosis and chemoresistance in hematologic malignancies. *Semin Hematol* 1997;34:9-19.
42. Schwartz SG. A common pathway for the destruction of cancer cells: experimental evidence and clinical implications. *Int J Oncol* 1994;4:215-24.
43. Briviba K, Schnäbele K, Schwertle E, Blockhaus M, Rechkemmer G. Beta carotene inhibits growth of human color carcinoma cells in vitro by induction of apoptosis. *Biol Chem* 2001;382:1663-8.
44. Sporn MB, Roberts AB. Role of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *Cancer Res* 1983;43:3034-40.
45. Gudas LJ. Retinoids, retinoid-responsive genes, cell differentiation and cancer. *Cell Growth Differ* 1992;3:655-62.
46. Mangelsdorf DJ. Vitamin A receptors. *Nutr Rev* 1994;52:S32-44.
47. Gonçalves CS, Pereira FEL. Tumores do fígado. In: Dani R, Castro LP, editores. *Gastroenterologia clínica*. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p. 1455-80.
48. Kaklamani E, Trichopoulos A, Tzonou A, Zavitsanos X, Koumantaki Y, Hatzakis A, et al. Hepatitis B and C viruses and their interaction in the origin of hepatocellular carcinoma. *JAMA* 1991;265:1974-6.
49. Hansan F, Jeffers LJ, Medina M, Reddy R, Parker T, Schiff E, et al. Hepatitis C-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1990;12:589-91.
50. Simonetti RS, Cammà C, Fiorello F, Cottone M, Rapicetta M, Marino L, et al. Hepatitis C virus infection as a risk for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Ann Intern Med* 1992;116:97-102.
51. Yu MC, Yuan JM, Govindarajan S, Ross RK. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Can J Gastroenterol* 2000;14:703-9.
52. Clemente C, Elba S, Buongiorno G, Berloco P, Guerra V, Di Leo A. Serum retinol and risk of hepatocellular carcinoma in patients with Child-Pugh class A cirrhosis. *Cancer Lett* 2002;178:123-9.
53. Newsome PN, Beldon I, Moussa Y, Delahooke TE, Pouloupoulos G, Ha PC, et al. Low serum retinol levels are associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:1295-301.
54. Scherer E, Emmelot P. Kinetics of induction and growth of precancerous liver-cell foci and liver tumour formation by diethylnitrosamine in the rat. *Eur J Cancer* 1975;11:689-696.
55. Clayson DB, Arnold DL. The classification of carcinogenesis identified in the rodent bioassay as potential risks to humans: what type of substance should be tested next? *Mutat Res* 1991;257:91-106.
56. Farber E. On the pathogenesis of experimental hepatocellular carcinoma. In: *Hepatocellular carcinoma*. 1st ed. Canada: John Wiley & Sons; 1976. p. 3-18.
57. Grasso P. Experimental liver tumours in animals. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1987;1:183-205.
58. Sarkar A, Mukherjee B, Chatterjee M. Inhibitory effect of dietary β -carotene during chronic 2-acetylaminofluorene induced hepatocarcinogenesis in rat: reflection in hepatic drug metabolism. *Carcinogenesis* 1994;15:1055-60.
59. Moreno FS, Wu TS, Penteadó MVC, Rizzi MB, Jordão Junior AA, Almeida-Muradian LB, et al. A comparison of β -carotene and vitamin A effects on hepatocarcinogenesis

- model. *Int J Nutr Res* 1995;65:87-94.
60. Barberian I, Chen LC, Robinson FR, Glauert HP, Chow CK, Robertson LW. Effect of dietary retinyl palmitate on the promotion of altered hepatic foci by 3,3', 4,4'-tetrachlorobiphenyl and 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl in rats initiated with diethylnitrosamine. *Carcinogenesis* 1995;16:393-8.
 61. Rizzi MB, Dagli ML, Jordão AA Jr, Penteado MV, Moreno FS. β -carotene inhibits persistent and stimulates remodeling γ GT-positive preneoplastic lesions during early promotion of hepatocarcinogenesis. *Int J Vitam Nutr Res* 1997;67:415-22.
 62. Bishayee A, Sarkar A, Chatterjee M. Further evidence for chemopreventive potential of beta-carotene against experimental carcinogenesis: diethylnitrosamine-initiated and phenobarbital-promoted hepatocarcinogenesis is prevented more effectively for β -carotene than by retinoic acid. *Nutr and Cancer* 2000;37:89-98.
 63. Sherman M, Campbell JAH, Titmuss AS, Kew MC, Kirsch RE. Glutathione S-transferase in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1983;3:170-6.
 64. Teebor GW, Becker FF. Regression and persistence of hyperplastic hepatic nodules induced by N-2-fluorenylacetamide and their relationship to hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 1971;31:1-3.
 65. Farber E, Rubin H. Cellular adaptation in the origin and development of cancer. *Cancer Res* 1991;51:2751-61.
 66. Astorg P, Gradelet S, Berges R, Suschetet M. No evidence for an inhibitory effect of β -carotene or canthaxanthin on the initiation of liver preneoplastic foci by diethylnitrosamine in the rat. *Nutr Cancer* 1996;25:27-34.
 67. Moreno FS, Rizzi MB, Dagli ML, Penteado MV. Inhibitory effects of β -carotene on preneoplastic lesions induced in wistar rats by the resistant hepatocyte model. *Carcinogenesis* 1991;12:1817-22.
 68. Stark AA, Russel JJ, Langenbach R, Pagano DA, Zeiger E, Huberman E. Localization of oxidative damage by glutathione- γ -glutamyl transpeptidase system in preneoplastic lesions in sections of liver from carcinogen-treated rats. *Carcinogenesis* 1994;15:343-8.
 69. Matheus-Roth MM. Carotenoids and cancer prevention: experimental and epidemiological studies. *Pure Appl Chem* 1985;57:717-22.
 70. Suda D, Schwartz A, Shklar G. Inhibition of experimental oral carcinogenesis by topical β -carotene. *Carcinogenesis* 1986;7:711-5.