

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**EFEITO DO LICOPENO E DO EXTRATO DE TOMATE SOBRE OS NÍVEIS
SÉRICOS DE PSA TOTAL E LIVRE, TESTOSTERONA, IGF-1 E SINTOMAS
PROSTÁTICOS EM PACIENTES COM HIPERPLASIA PROSTÁTICA
BENIGNA: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO CONTROLADO**

MAGDA EDINGER DE SOUZA BOZZETTO

Orientador: Prof. Dr. Walter José Koff

Co-orientadora: Profa. Dra. Tania Weber Furlanetto

TESE DE DOUTORADO

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**EFEITO DO LICOPENO E DO EXTRATO DE TOMATE SOBRE OS NÍVEIS
SÉRICOS DE PSA TOTAL E LIVRE, TESTOSTERONA, IGF-1 E SINTOMAS
PROSTÁTICOS EM PACIENTES COM HIPERPLASIA PROSTÁTICA
BENIGNA: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO CONTROLADO**

MAGDA EDINGER DE SOUZA BOZZETTO

Orientador: Prof. Dr. Walter José Koff

Co-orientadora: Profa. Dra. Tania Weber Furlanetto

TESE DE DOUTORADO

2009

AGRADECIMENTOS

A Deus por me oportunizar a vida e tantas coisas boas.

À minha Mãe que há tempos não está de corpo presente ao meu lado, mas com certeza, de onde estiver, sempre me guia, protege e acompanha.

Ao meu Pai Alison, companheiro, amigo, incentivador e exemplo de caráter e dedicação, a todos e em tudo que faz. Obrigada por todos os ensinamentos, apoio em todos os momentos de minha vida e à proteção que sinto ao seu lado.

À Elina, minha mãe de corpo presente, que contribuiu em muito em minha formação e sempre me auxilia quando mais preciso.

Ao meu marido Alessandro, meu grande amor, sempre me apoiando, incentivando, e me inspirando para sempre lutar pelos meus objetivos. Que bom que você faz parte de minha vida...

Ao meu orientador Prof. Dr. Walter José Koff que depositou sua confiança em mim e no meu projeto. Agradeço pelas grandes oportunidades, pelo crescimento científico e profissional que adquiri neste trabalho e com sua convivência.

À minha querida co-orientadora Profa. Dra. Tania Weber Furlanetto, que me adotou quando precisei. Sempre me auxiliando em diversos aspectos deste trabalho, obrigada pela dedicação e por compartilhar seus grandes conhecimentos.

Às minhas pupilas-bolsistas, Fairuz Helena Souza de Castro e Natália Kirsch Koff, que me auxiliaram na triagem, atendimento, formação do banco de dados e divulgação em eventos.

Ao Sr. Cláudio Oderich, que mais uma vez colaborou para realização deste projeto. Obrigada pelo incentivo à pesquisa científica. Às secretárias Norma da Silva e Patrícia Oliveira da Rosa pela dedicação e eficiência de seus trabalhos e, principalmente, pela amizade.

Às secretárias da Zona Oito do HCPA pelo excelente serviço que prestam ao ambulatório de urologia.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

A toda equipe do Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo apoio a análise estatística deste trabalho, pelo auxílio com pendências burocráticas e, principalmente, a Marta Dotto pelo zelo com as finanças deste projeto.

A todos meus amigos e demais familiares que sempre estiveram comigo nos bons e em outros momentos não muito bons.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Fundação Médica do Rio Grande do Sul e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que financiaram esta pesquisa.

E finalmente, a todos os pacientes, que são o motivo de nosso empenho para realização de pesquisas na área da saúde, e que sem eles, nada disto seria possível, o meu profundo agradecimento por terem participado deste projeto.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS.....	VII
RESUMO.....	1
INTRODUÇÃO	2
1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	4
1.1 Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) e Câncer de Próstata (CaP)	4
1.2 Antígeno Prostático Específico (PSA).....	9
1.2.1 Estrutura, expressão, função e liberação para o sangue.....	9
1.2.2 Formas de PSA.....	11
1.2.3 Fatores que alteram os níveis plasmáticos de PSA.....	12
1.2.4 Possíveis funções do PSA na próstata	13
1.2.5 Uso do PSA como marcador tumoral e valores de referência	14
1.3 Dieta e Saúde da Próstata	16
1.4 Alimentos Funcionais	18
1.4.1 Tomate e derivados.....	19
1.4.1.1 Polpa de tomate	20
1.4.1.2 Molho de tomate.....	21

1.4.1.3 <i>Ketchup</i>	21
1.4.1.4 Extrato e purê de tomate	22
1.4.2 Tomate: fonte de licopeno	22
1.5 Licopeno ($\Psi\Psi$ -caroteno).....	25
1.5.1 Estrutura e biossíntese.....	26
1.5.2 Outras fontes	28
1.5.3 Forma e biodisponibilidade do licopeno nos tomates.....	29
1.5.4 Metabolismo e distribuição nos tecidos.....	32
1.5.5 Estudos científicos sobre o efeito do licopeno em doenças da próstata.....	35
1.5.5.1 Estudo de coorte de dieta, estilo de vida e CaP (1989)	35
1.5.5.2 Ingestão de carotenóides e retinol em relação ao risco de CaP (1995)....	36
1.5.5.3 Produtos de tomates, licopeno e risco de CaP (2002)	37
1.5.5.4 Dieta e CaP: um estudo de caso-controle na Grécia (1999).....	37
1.5.5.5 Ingestão de frutas e vegetais e risco de CaP (2000)	37
1.5.5.6 Altos níveis de licopeno plasmático e menor risco de CaP (1999)	38
1.5.5.7 Suplementação de licopeno antes de prostatectomia radical (2001).....	39
1.5.5.8 Licopeno e modulação de biomarcadores da carcinogênese (2002).....	39
1.5.5.9 Licopeno plasmático e tecidual como biomarcadores da oxidação (1999) ..	40
1.5.5.10 Pó de tomate, licopeno e restrição de energia em ratos (2003).....	40
1.5.5.11 Dieta contendo tomate, brócolis e licopeno em ratos (2004)	41
1.5.5.12 Meta-análise de estudos observacionais (2004).....	41
1.5.5.13 Licopeno inibe a progressão de HPB (2008).....	42

1.5.5.14 Marcadores e resposta a suplementação de licopeno em homens com CaP e HPB (2005)	42
1.5.5.15 Influência do extrato de tomate nos níveis de PSA em homens com HPB (2006)	43
1.5.6 Mecanismos de ação do licopeno	44
1.5.6.1 Função antioxidante	44
1.5.6.2 Inibição da progressão do ciclo celular	45
1.5.6.3 Indução da apoptose	46
1.5.6.4 Aumento da comunicação juncional do tipo gap	47
1.5.6.5 Inibição da transdução do sinal IGF-1	48
1.5.6.6 Inibição da expressão de interleucina-6 (IL-6)	49
1.5.6.7 Indução das enzimas de fase II	49
1.5.6.8 Inibição da sinalização e ativação androgênica	50
1.5.6.9 Mecanismos de interação dos efeitos do licopeno e perspectivas.....	52
1.5.7 Consumo de licopeno na prática nutricional.....	54
2 JUSTIFICATIVA	55
3 OBJETIVOS	56
3.1 Objetivo primário	56
3.2 Objetivos específicos	56
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
5 ARTIGO EM LÍNGUA INGLESA	73
6 CONSIDERAÇÕES GERAIS	74
7 APÊNDICES.....	76

7.1 APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	77
7.2 APÊNDICE B – Questionário de Coleta de Dados.....	79
7.3 APÊNDICE C – Controle de Ingestão.	82
7.4 APÊNDICE D – Orientações ao Término da Pesquisa.	83
7.5 APÊNDICE E – Escore Internacional de Sintomas Prostáticos (I-PSS) e Índice de Qualidade de Vida (IQV)	84

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CaP	Câncer de Próstata
Cdna	Ácido Desoxirribonucléico Clonado
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
Eros	Espécies Reativas de Oxigênio
GSTP1	Glutathione-S-transferase π 1
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
hK1	Caliceína Renal-pancreática
hK2	Caliceína Glandular
hK3	Antígeno Prostático Específico
HPFS	<i>Health Professionals Follow-up Study</i>
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LNCaP	Linhagem Celular de CaP Humano
LUTS	Sintomas do Trato Urinário Inferior
mRNA	Ácido Ribonucléico Mensageiro
p/p	Parte Por Milhão
p/v	Peso Por Volume
PIA	Inflamação Atrófica Proliferativa
PIN	Neoplasia Intraepitelial Prostática

PSA	Antígeno Prostático Específico
PTHrP	Proteína Relacionada ao Hormônio da Paratireóide
TGF- β	Fator de Transformação do Crescimento-Beta
VEGF	Fator de Crescimento Vascular Epitelial
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
DU-145	Linhagem Celular de CaP Humano
IL-6	Interleucina-6
IGFBP-3	Proteína Ligadora do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina-3
PC-3	Linhagem Celular de CaP Humano
FGF-2	Fator de Crescimento dos Fibroblastos-2
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à insulina-1
KB-1	Linhagem Celular de Câncer Oral Humano
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
Ψ	Psi
ξ	Csi
Π	Pi
ω	Ômega
8-OH-dG	8-Hidroxi-dioxiguanosina

RESUMO

Em um ensaio clínico, randomizado, controlado, foram estudados 156 homens, com idades entre 45 e 75 anos, com diagnóstico histológico de hiperplasia prostática benigna (HPB) e níveis séricos do antígeno prostático específico (PSA) entre 4 a 10 ng/ml. Foram constituídos três grupos de tratamento: licopeno (15 mg/dia), extrato de tomate (50 g/dia) e placebo. Após 10 semanas, não foram encontrados resultados significativos para o desfecho primário que era os níveis séricos de PSA total. Porém, o único grupo de tratamento em que os valores séricos de PSA total não se elevaram foi o do extrato de tomate. Foi encontrada uma diminuição ($p=0,005$) nos níveis séricos de PSA livre entre o grupo que recebeu extrato de tomate (de $1,27 \pm 0,64$ ng/ml para $1,08 \pm 0,50$ ng/ml) e o grupo que recebeu licopeno (de $1,16 \pm 0,54$ ng/ml para $1,33 \pm 0,93$ ng/ml). Os demais desfechos secundários, isto é, níveis séricos do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) e testosterona total e sintomas relacionados ao prostatismo e índice de qualidade de vida (IQV) foram semelhantes entre os três grupos, após tratamento. Neste estudo houve efeito dos três grupos de tratamento sobre as variáveis subjetivas, evidenciando um efeito placebo. A redução do PSA livre nos pacientes que consumiram extrato de tomate, quando comparado aos pacientes tratados com licopeno, pode ser resultado de um efeito protetor de outra substância presente no alimento sobre as células prostáticas. Concluindo, no presente estudo, observou-se redução dos níveis séricos de PSA livre nos indivíduos que utilizaram extrato de tomate, quando comparado ao grupo que recebeu licopeno. Ensaio clínico comparando indivíduos ingerindo extrato de tomate com indivíduos que restrinjam esse alimento por tempo longo podem ser úteis para determinar se a ingestão de extrato de tomate tem impacto em desfechos clínicos, em homens com HPB.

INTRODUÇÃO

Estudos sugerem que alguns fatores alimentares podem estar envolvidos no processo de crescimento maligno e benigno da próstata, entre estes fatores estão os alimentos à base de tomates ou ricos em licopeno. A maioria dos estudos publicados envolve homens com o câncer de próstata (CaP) e a suplementação de licopeno.

Na área da nutrição a melhor ferramenta de trabalho para o profissional nutricionista é o alimento, pois se acredita que o nível de absorção de nutrientes e compostos bioativos é mais eficaz via consumo de alimentos do que por suplementação de cápsulas. A prevenção é outro foco considerado muito importante pelo nutricionista. Porém é reconhecida a grande dificuldade de se pesquisar alimentos na prevenção de doenças.

Esta tese de doutorado propôs um ensaio clínico em homens com o diagnóstico de hiperplasia prostática benigna (HPB) e níveis de antígeno prostático específico (PSA) alterados. Neste estudo foram avaliados três grupos de tratamento: placebo, suplementação de licopeno e alimento à base de tomates.

Neste modelo foi estudado um alimento, por um período curto, assim, não se avaliou o caráter preventivo do tomate ou licopeno no CaP. No entanto, como foram analisados vários fatores envolvidos no crescimento maligno e benigno da próstata,

estes resultados podem contribuir para o conhecimento sobre o papel do consumo de tomate ou suplementação de licopeno na saúde da próstata.

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) e Câncer de Próstata (CaP)

A próstata é uma glândula (Figura 1) que faz parte do aparelho reprodutor masculino, tem seu nome derivado do grego, *pro-histamai*, que significa “estar à frente”, designando a estrutura que está logo distal à bexiga. Sua forma é comparada a de uma castanha e é atravessada pela uretra. A próstata é responsável pela produção do líquido prostático, secreção que, juntamente com o produto das vesículas seminais e das glândulas periuretrais, irá constituir o esperma, líquido expelido durante a ejaculação. As secreções da próstata e das vesículas seminais representam 70% do esperma. A secreção prostática contém a espermina, a qual atua na liquefação do esperma. O líquido prostático participa na nutrição e preservação dos espermatozoides (1).

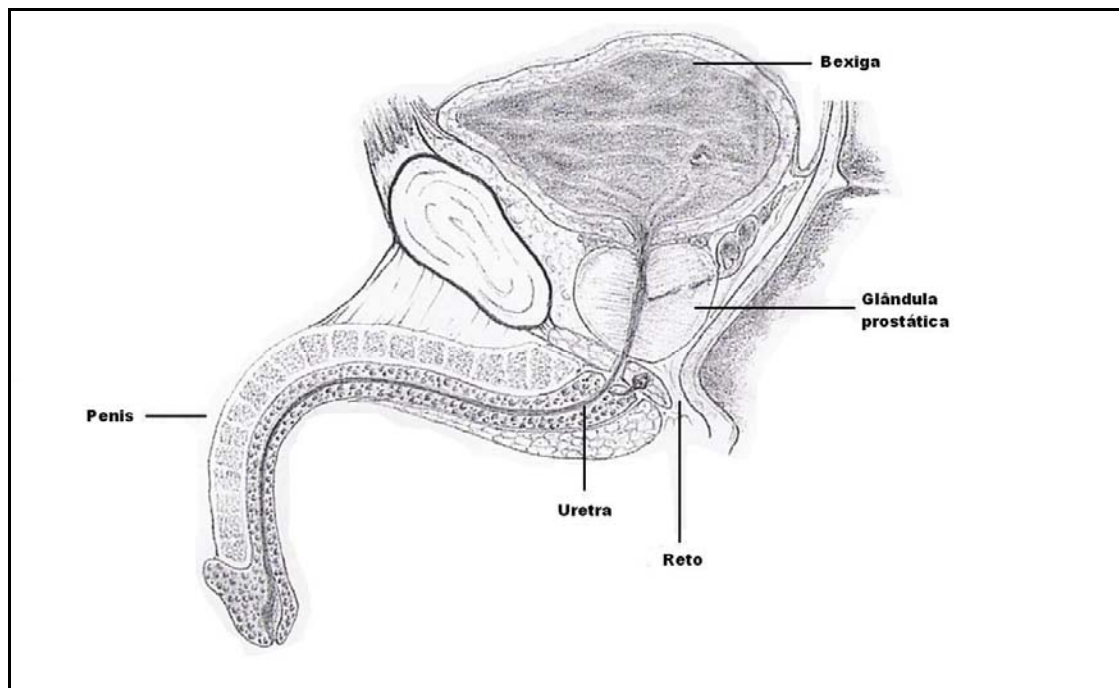


Figura 1. Localização da próstata

Fonte: Adaptado de Edinger MS in Preedy VR, 2008 (2)

A próstata é onde ocorrem as duas doenças que mais acometem os homens com o passar dos anos: a hiperplasia prostática benigna (HPB) e o câncer de próstata (CaP) (3, 4).

A definição de HPB engloba diversos aspectos. Histologicamente a HPB é a hiperplasia epitelial e estromal da próstata. Este processo ocorre exclusivamente na zona de transição e glândulas periuretrais (5). Macroscopicamente a HPB representa o alargamento da próstata. Não há um consenso estabelecido para determinar qual o grau de crescimento da próstata que confere o diagnóstico da HPB. Clinicamente a HPB representa uma série de manifestações clínicas, como sintomas do trato urinário inferior (LUTS), obstrução urinária, incompleto esvaziamento da bexiga, retenção urinária aguda e crônica, infecção do trato urinário, cálculos na bexiga e hematúria (6).

A HPB é a doença mais prevalente da próstata, com aproximadamente 50% dos homens apresentando evidências histológicas de HPB aos 50 anos e 90%

aos 80 anos de idade. A HPB é considerada uma doença progressiva, com o crescimento contínuo da próstata levando à intensificação de sintomas e ao aumento do risco de complicações ao longo do tempo, como retenção urinária aguda e cirurgia devido à HPB (7).

Apesar de estudos mostrarem que as taxas de mortalidade devido à HPB são baixas, em torno de 0 a 0,25%, esta doença afeta a qualidade de vida (8, 9). Os gastos com o tratamento da HPB no Brasil são estimados em 2,26 a 3,83 bilhões de dólares por ano (10).

O CaP é o câncer não-cutâneo mais diagnosticado nos EUA, sendo relatados anualmente mais de 200 mil casos, o que representa mais de 35% de todos os tumores que afetam os homens. Ao contrário da HPB, o CaP resulta em 40 mil mortes anuais, motivo pelo qual é classificado como o de maior incidência entre os homens e o segundo, como causa de morte (11).

A incidência do CaP varia de 50 a 150 vezes entre diferentes áreas (12). As mais altas taxas de incidência e morte são encontradas entre os homens afro-americanos, seguidos pelos suecos e canadenses. Por outro lado, as mais baixas taxas são detectadas em países asiáticos como, por exemplo, a China, onde as taxas representam 4% daquelas encontradas no Canadá (13).

Estudos com migrações têm demonstrado que o risco para o CaP é provavelmente influenciado por fatores ambientais tais como, o estilo de vida e dieta. Quando indivíduos provenientes de áreas de baixa incidência da doença migram para regiões com elevada incidência, irá observar-se, em alguns anos, maior incidência de CaP neste grupo e nas gerações seguintes, tornando-se similar às altas taxas encontradas no local para o qual migraram (14, 15). Somente 9% de todos os casos têm sido diretamente relacionados com história familiar, os quais contribuem

principalmente para o risco em homens jovens. Nestes casos a atribuição do risco a fatores genéticos pode ser maior que 43% (16).

O número de casos novos de CaP estimados para o Brasil, em 2010, é de 52.350. Estes valores correspondem a um risco estimado de 54 casos novos a cada 100 mil homens. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o CaP será o mais freqüente em todas as regiões e a região Sul possui a maior estimativa de risco: 69 casos a cada 100 mil homens (4).

A mortalidade por CaP é relativamente baixa, o que reflete, em parte, seu bom prognóstico. Nos países desenvolvidos a sobrevida média estimada, em cinco anos, é de 64%, variando entre 79 e 22%; enquanto que, para os países em desenvolvimento, a sobrevida média é de 41% (entre 39 e 43%). A média mundial estimada é de 58% (17).

Assim como em outros cânceres, a idade é um marcador de risco importante, uma vez que tanto a incidência como a mortalidade aumenta exponencialmente após a idade de 50 anos. História familiar de pai ou irmão com CaP, antes dos 60 anos de idade, pode aumentar o risco em 3 a 10 vezes em relação a população geral; podendo refletir tanto características herdadas geneticamente quanto estilos de vida compartilhados (18).

O CaP envolve a proliferação de células epiteliais localizadas predominantemente na zona periférica da glândula prostática. Contudo, a exata etiologia da doença ainda é desconhecida. O CaP pode ir de uma lesão latente focal para um estágio localmente avançado, ou para uma doença metastática sem passar pelas fases de nódulos localizados no interior da glândula (19).

A importância da testosterona no desenvolvimento do CaP se baseia na observação que a doença raramente ocorre em homens castrados ou homens com

deficiência da 5- α -redutase, enzima que converte a testosterona no metabólito ativo 5- α -dihidrotestosterona (20).

Estudos da biologia da próstata sugerem que a 5- α -dihidrotestosterona é o principal andrógeno responsável pelo crescimento tumoral maligno e benigno da próstata (21).

Em grande número de casos, o tumor pode apresentar um crescimento lento, podendo levar até 15 anos para atingir um cm³ de massa tumoral, independente do crescimento normal da glândula, fazendo com que não apresente qualquer sintoma. Por esse motivo, o exame periódico deve ser realizado, mesmo sem sintomas, para uma detecção precoce da doença, com maiores oportunidades de tratamento e cura (22).

A mortalidade por CaP é particularmente suscetível a intervenções médicas primárias, tais como níveis plasmáticos do antígeno prostático específico (PSA) e o toque retal. De 1988 a 1995, a diminuição da percentagem de mortes devido ao CaP, em relação às mortes em geral, deveu-se ao grande aumento do número de homens diagnosticados com CaP, que morreram por outras causas. A detecção de doença localizada e de baixo grau, ao invés da doença em estágio avançado e com grau histológico desfavorável, tem sugerido o benefício do rastreamento na redução da mortalidade (23).

O teste de PSA em conjunto com o toque retal, realizados anualmente, são considerados o cuidado padrão para o rastreamento de CaP em homens com 50 anos ou mais e, a partir dos 40 anos, em descendentes de afro-americanos ou com história familiar da doença (24, 25).

O diagnóstico do CaP é realizado pelo estudo histopatológico do tecido obtido pela biópsia da próstata, que deve ser considerada sempre que houver

anormalidades no toque retal ou na dosagem de PSA. O relatório anatomopatológico deve fornecer a graduação histológica do sistema Gleason, cujo objetivo é informar sobre a provável taxa de crescimento do tumor e sua tendência à disseminação, além de auxiliar na determinação do tratamento ideal para o paciente (18).

1.2 Antígeno Prostático Específico (PSA)

O antígeno prostático específico, mais conhecido na sua sigla, em inglês, PSA – *Prostate Specific Antigen*, foi identificado pela primeira vez, em 1970, em extratos de tecido prostático (26). Já, em 1971 foi detectado no fluido seminal (27). Porém, foi em 1979 que foi purificado e caracterizado (28) e, finalmente em 1980, foi detectado no soro (29). Assim, desde fins dos anos 80, o PSA tem sido usado amplamente na prática clínica e tornou-se o mais importante marcador tumoral para o CaP. O PSA juntamente com o toque retal, melhorou a detecção de CaP (25).

Embora o PSA não seja “câncer específico”, podendo estar aumentado em outras doenças prostáticas, é considerado um dos melhores marcadores tumorais disponíveis atualmente na medicina (25).

1.2.1 Estrutura, expressão, função e liberação para o sangue

O PSA é uma serino-protease de cadeia simples de 33 quiloDaltons (28) que pertence a família das calicreínas teciduais, localizando-se no cromossomo 19q13.4 (30).

Calicreínas foram, inicialmente, definidas como serino proteases que digerem certas proteínas de alto peso molecular para liberar peptídeos bioativos. As calicreínas são divididas entre duas famílias: calicreínas teciduais e calicreínas plasmáticas (31). Atualmente existem três calicreínas humanas teciduais identificadas:

calicreína renal-pancreática (hK1), calicreína glandular (hK2) e PSA (hK3). Porém, a clonagem de cDNA e o sequenciamento do genoma humano, revelou um total de 15 genes de calicreínas teciduais no cromossomo 19q13.3-q13.4. Estas são codificadas por cinco exons de tamanho similar e possuem 40-80% de homologia na seqüência (30).

O PSA enzimaticamente ativo contém 237 aminoácidos. Baseado no seu cDNA, o PSA é sintetizado com uma seqüência sinal de 17 aminoácidos (preproPSA), a qual é removida durante a síntese, gerando uma proteína precursora inativa de 244 aminoácidos (proPSA) (32). Na ativação, o pró-peptídeo (Ala-Pro-Leu-Ile-Leu-Ser-Arg) aminoterminal é liberado pela quebra da ligação peptídica entre Arg-Ile (33).

Os genes das calicreínas são expressos em múltiplos tecidos e na maioria são regulados por hormônios esteroidais. O PSA e o hK2 são expressos primariamente na próstata e regulados por andrógenos (34).

O gene PSA é um alvo do receptor de andrógenos, que interage com os elementos de resposta aos andrógenos, na região promotora do gene de PSA. Assim, o gene do receptor de andrógenos regula a transcrição do gene de PSA. Os genes alvos específicos, que induzem à proliferação celular na próstata são desconhecidos, mas um dos candidatos é o PSA, regulado pelos andrógenos na próstata (35).

Os substratos do PSA incluem semenogelina I, semenogelina II e fibronectina. A hidrólise destas proteínas causa a liquefação do sêmen e a liberação da motilidade do espermatozóide (36).

O PSA é elaborado pelas células colunares acinares e ductais da próstata, que são limitadas por células basais. As células basais, por sua vez, são cercadas por uma membrana basal que geralmente está presente. A membrana basal é circundada pelo estroma prostático, compreendido primariamente por fibras musculares lisas e

fibroblastos. Embebida no estroma encontra-se a vascularização prostática, que é limitada pela membrana basal capilar e pelas células endoteliais. Assim, para atingir a circulação sistêmica, o PSA deve cruzar todas estas barreiras. Isto explica porque a quantidade de PSA na circulação é de milhares a milhões de vezes inferior à encontrada no sêmen (27).

O tecido de CaP libera 30 vezes mais PSA, na circulação, do que o tecido normal e, 10 vezes mais, do que o tecido de HPB (27). Um aspecto precoce do CaP é o rompimento da camada de células basais e da membrana basal, esta perda da arquitetura glandular normal parece permitir que se amplie o acesso de PSA a circulação periférica (37).

1.2.2 Formas de PSA

No ejaculado, o PSA apresenta-se sob a forma livre, que é ativa, mas no plasma, a maior parte encontra-se complexado a inibidores da protease e somente uma pequena porção na forma livre (38). Aproximadamente 70-90% do *pool* de PSA total está covalentemente complexado à proteína α_1 -antiquimiotripsina. O PSA aparece complexado, em menores quantidades, a membros da super família de inibidores de serino-proteases (serpinas), como a α_1 -antitripsina e o inibidor de proteína C (39). O PSA também pode estar complexado a outro inibidor de protease chamado α_2 -macroglobulina, mas esta forma não é detectada pelos imunoenaios disponíveis, pois os epitopos do PSA estão bloqueados pela α_2 -macroglobulina (40).

O PSA plasmático remanescente, entre 10 e 30% do *pool* de PSA total, existe em um estado não complexado e é conhecido como PSA livre (41).

Clinicamente, a diferença entre PSA total e PSA livre equivale ao PSA complexado. A percentagem de PSA livre relativa ao PSA total, ou à relação PSA

livre/PSA total é calculada. O índice PSA livre/PSA total aparece mais baixo em muitos pacientes com CaP e auxilia na discriminação entre o normal e o CaP (42).

1.2.3 Fatores que alteram os níveis plasmáticos de PSA

Além do CaP, muitos fatores podem causar aumento de PSA total, incluindo manipulação prostática pelo toque retal, biópsia de próstata, cistoscopia, ressecção transuretral da próstata, ou condições benignas como a HPB, retenção urinária e prostatite (43). Portanto, é sugerido determinar os níveis de PSA plasmáticos antes do exame de toque retal e cistoscopia para eliminar qualquer fator de confusão, que possa colaborar para a elevação dos níveis de PSA (44). Em pacientes que realizaram biópsia de próstata, foi verificado que o retorno aos valores basais de PSA ocorrem numa mediana de 14 a 17 dias após o procedimento, com vários pacientes mantendo a elevação persistente por um mês. Portanto, é prudente aguardar de quatro a seis semanas após um evento como biópsia de próstata ou prostatite, antes de usar um valor de PSA para conduta clínica (25).

O nível plasmático de PSA pode ser alterado por algumas terapias farmacológicas. O tratamento para próstatas volumosas com a finasterida, que é um potente inibidor da 5- α -redutase tipo 2, enzima intracelular que converte a testosterona em 5- α -dihidrotestosterona (1), diminui os valores de PSA total em aproximadamente 50%. Assim, sugere-se que os níveis de PSA sejam corrigidos para pacientes que usam finasterida, multiplicando-se o valor do PSA por dois (25).

A quantidade de PSA total também pode ser influenciada por dieta rica em fibras, terapias com anti-andrógenos e estrógenos, disfunção hepática e ejaculação, embora o último seja controverso (44).

1.2.4 Possíveis funções do PSA na próstata

A concentração de PSA tem sido usada como um marcador tumoral na progressão do CaP, embora o PSA pareça desempenhar importante função no crescimento normal da próstata e na carcinogênese desse órgão. Há alguns estudos que indicam mecanismos pelos quais o PSA pode ter efeitos promotores ou inibidores do tumor. O PSA possui uma capacidade proteolítica no micro-ambiente do tumor, podendo influenciar no desenvolvimento e progressão do CaP (42).

Uma das proteínas que pode ser digerida pelo PSA é a proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina-3 (IGFBP-3), que é produzida por células epiteliais da próstata. A IGFBP-3 é o principal transportador de fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) no plasma (45, 46). O IGF-1 é um fator de crescimento para o CaP e o aumento dos níveis plasmáticos de IGF-1 tem se mostrado um fator de risco para o CaP (47, 48).

O PSA pode também fragmentar proteínas que interferem na migração das células e metástases. O PSA possui capacidade de fragmentar glicoproteínas da matriz extracelular, como a fibronectina e a lamina, e estudos *in vitro* tem mostrado que a microinvasão de linhagem celular de CaP humano (LNCaP) podem ser inibidas por anticorpos neutralizantes de PSA (49). A própria matriz extracelular pode ter efeitos na produção de PSA, uma vez que as células de CaP, cultivadas sobre a matriz extracelular, secretam mais PSA do que células que crescem sobre plásticos dos frascos de cultura (50). O PSA e a hK2 podem quebrar e ativar o plasminogênio tipo uroquinase, o qual pode aumentar a invasão das células tumorais, contudo o hK2, provavelmente, possui uma maior capacidade para esta atividade que o PSA (51).

Um outro alvo do PSA na próstata é a proteína relacionada ao hormônio da paratireóide (PTHrP), pois a clivagem e inativação do PTHrP pelo PSA pode ter

importância fundamental no aparecimento da metástase óssea no CaP (52). O PSA tem uma potente atividade mitogênica *in vitro* para os osteoblastos, o qual pode ser mediada por ativação de fator de transformação de crescimento- β (TGF- β) ou por modulação proteolítica dos receptores de superfície dos osteoblastos (53). Estes achados são significativos, uma vez que sugerem não só uma função para o PSA nas metástases dos ossos, mas também respostas osteoblásticas. Todavia, o PSA pode também degradar a PTHrP, o qual anula os efeitos mitogênicos do TGF- β nos osteoblastos (54).

Em contraste à atividade promotora do tumor, o PSA pode ter efeitos antiangiogênicos pela quebra do plasminogênio, gerando peptídeos com atividade semelhante à angiostatina (55), ou por inativação de indutores angiogênicos como o fator de crescimento dos fibroblastos-2 (FGF-2) e fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (56).

Porém, todos os mecanismos de ação sugeridos para o PSA ainda precisam ser melhores estabelecidos *in vivo*. E também, há uma escassez de modelos animais adequados para estudar *in situ* os efeitos do PSA no desenvolvimento tumoral. Por isso, ainda não está esclarecido se o PSA é um simples marcador tumoral ou se tem alguma habilidade intrínseca de alterar a progressão do tumor (42).

1.2.5 Uso do PSA como marcador tumoral e valores de referência

Os testes padrões iniciais para detecção precoce do CaP em rastreamento, sugeridos pela *American Urologic Association*, *American Cancer Society* e Sociedade Brasileira de Urologia, são o toque retal e o PSA total plasmático (57, 58). Estes exames devem ser realizados anualmente em todos os homens de 50 anos ou mais ou, iniciar aos 40 anos, para aqueles de descendência afro-americana ou com uma história familiar de CaP (24, 25).

A dosagem do PSA surgiu como teste promissor na detecção precoce do CaP, porém a relação custo-benefício deve ser cuidadosamente avaliada. A primeira dificuldade na avaliação da sensibilidade e especificidade do teste é a falta de consenso sobre o ponto de corte ideal e clinicamente significativo, com autores propondo valores que vão de 3 a 10 ng/ml. Considerando um ponto de corte em 4 ng/ml, a sensibilidade estimada varia de 35 a 71% e a especificidade, de 63 a 91%. Estudos que estimaram seu valor preditivo positivo apontam para valores em torno de 28%, o que significa que cerca de 72% dos pacientes com dosagem de PSA alterada são submetidos a biópsias desnecessárias (18).

Estudos dos anos 90 confirmam que o PSA total poderia ser usado para identificar pacientes com CaP (59, 60). Como uma ferramenta de rastreamento do CaP, o PSA foi claramente mais sensível que o toque retal, mas é pouco específico. Quando comparado com a fosfatase ácida prostática, o PSA plasmático demonstrou ser o marcador mais sensível para detecção do CaP. Contudo, nenhum foi altamente específico (61). Estes achados tem guiado para o amplo uso do teste de PSA para detecção precoce do CaP, contudo o valor apropriado para o teste de PSA permanece incerto (42).

Resultados de um grande ensaio multicêntrico sugerem o uso de PSA total maior que 4 ng/ml como ponto de corte para realizar uma biópsia de próstata (62). Porém, o uso de um único valor para homens de todas as idades resultam na exclusão de um alto número de pacientes com a doença precoce, clinicamente significativa, uma vez que 20-50% do CaP ocorrem em homens com PSA total menor que 4 ng/ml (63, 64).

Há esforços para melhorar a acurácia diagnóstica da dosagem de PSA total no rastreamento do CaP. Como o PSA no sangue normalmente aumenta com a idade, refletindo em parte a HPB, e é influenciado pela raça foi sugerido o uso de uma

tabela (Tabela 1) de valores de PSA idade-específica (65-67). Já, com o auxílio do ultrassom transretal para medir o volume da próstata, o PSA pode ser normalizado conforme o tamanho da próstata dando a “densidade do PSA”, que com densidade maior que 0,15 ng/ml sugere CaP (68). Outra abordagem tem sido o índice de aumento do PSA, chamado “velocidade do PSA”, cujos valores maiores que 0,75 ng/ml por ano sugerem CaP (69). Porém, fica claro, que apesar de todos estes ajustes o valor diagnóstico dos níveis séricos de PSA é limitado e merece uma análise médica rigorosa.

Tabela 1 – Níveis Séricos Normais do Antígeno Prostático Específico (PSA) em Homens, conforme a Idade

Idade (anos)	PSA (ng/ml)
40 – 49	0 – 2,5
50 – 59	0 – 3,5
60 – 69	0 – 4,5
70 – 79	0 – 6,5

Fonte: Stefani *et al.*, 2002, p283 (67)

O início e crescimento do CaP são tipicamente acompanhados pelo aumento dos níveis plasmáticos de PSA, bem como o aparecimento de metástases (25, 70, 71). Assim, é razoável presumir que alguma intervenção que retarde ou previna o CaP, poderia também modificar os níveis de PSA no plasma (72).

1.3 Dieta e Saúde da Próstata

Evidências de um aumento do risco de CaP e HPB em associação com o modelo de dieta ocidental pode ser encontrada em estudos epidemiológicos e animais.

Homens que migram de países com baixo risco destas doenças, como o Japão, para países de alto risco, como os EUA, tem aumento do risco de CaP em uma geração. Embora os dados similares sejam indisponíveis para HPB, alguns estudos mostram que alto consumo de energia, proteína e certos ácidos graxos podem ter associação com o aumento do risco de HPB (73-76).

Um estudo mostrou que o aumento da proliferação e inflamação associada pode evoluir para lesões pré-neoplásicas na glândula prostática (77). Apesar de HPB claramente não ser CaP, fatores na dieta que aumentam a proliferação celular na próstata podem ter papel no aumento do risco de CaP (78).

Duas recentes revisões de alimentação e políticas de nutrição concluíram que um alto consumo energético, excessivo consumo de carne vermelha e gordura de origem animal, bem como as aminas heterocíclicas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, podem aumentar o risco de CaP. Já o consumo de frutas, vegetais ricos em carotenóides, leguminosas, cereais integrais, alimentos ricos em vitaminas A, D e E e o mineral selênio podem exercer um efeito protetor contra o CaP, como também em outras doenças crônicas não transmissíveis (79, 80).

Numerosos estudos epidemiológicos (81, 82), estudos de caso-controle (83, 84) e alguns ensaios prospectivos randomizados (85, 86) têm tentado definir a relação entre dieta ou hábitos alimentares e desenvolvimento de CaP. Porém, na grande maioria, estes estudos são considerados de fraca evidência, pois são estudos observacionais. O ideal seria que todas as hipóteses sobre dieta e câncer fossem evoluindo para ensaios clínicos randomizados controlados em humanos. Mas estes estudos na área de nutrição são raros, pois além de serem por períodos muito longos e requererem grandes investimentos, há uma grande dificuldade para testar alimentos ou hábitos alimentares em um estudo deste tipo (87). Somente seria possível através de suplementos, como no estudo SELECT (88). Porém, sabe-se que a absorção dos

nutrientes dos alimentos íntegros é mais efetiva que por cápsulas de suplemento alimentar (89).

Vários estudos (90-92) têm identificado várias substâncias dietéticas com propriedades antioxidantes e um efeito inibitório no desenvolvimento e/ou na progressão do CaP. As substâncias encontradas em alimentos com potencial antioxidante mais estudadas são vitaminas A, C, E, o mineral selênio, compostos fenólicos, fitoestrógenos e polifenóis, e os carotenóides. Também há outras substâncias que alguns estudos indicam como protetores do CaP, mas não por mecanismos antioxidantes, que são as fibras, o cálcio e a vitamina D.

1.4 Alimentos Funcionais

“Qualquer alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios à saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças, além de satisfazer os requerimentos nutricionais tradicionais”, é assim que pode ser definido o termo alimento funcional, que surgiu pela primeira vez, publicado em 1993, na revista *Nature* (93). Nem terminologia ou conceito de alimentos funcionais existiam até 1984, quando um grupo de pesquisadores no Japão iniciou um grande projeto de escala nacional sob o patrocínio do governo japonês, para explorar a interface entre medicamento e alimento (94).

A Portaria nº 398 de 30/04/1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde no Brasil diz que “é alimento funcional todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produza efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (95).

Cientistas de todo o mundo têm descoberto diversas substâncias existentes nos alimentos com potencial antioxidante, anti-carcinogênico, anti-hipertensivo e imunomoduladores (96).

Entre os alimentos funcionais de origem vegetal mais estudado atualmente está o tomate e produtos derivados, ricos na substância licopeno, que serão relacionados nesta tese de forma específica com o tecido prostático.

1.4.1 Tomate e derivados

O tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*) é um fruto verdadeiro que é, usualmente, colhido no estágio verde-maduro, pelo fato dos centros de comercialização estarem distantes dos locais de colheita. Sendo um fruto climatérico, o seu amadurecimento inicia-se com a elevação da atividade respiratória, o que acarreta uma série de transformações em suas características físico-químicas. Dentre elas, as mais importantes são a perda da clorofila, a síntese de carotenóides e o amolecimento dos tecidos (97).

O tomate é proveniente da Região Andina, que vai do norte do Chile, passando pelo Peru até o Equador, entre o Oceano Pacífico, os Andes e as Ilhas Galápagos. Mas foi no México que começou a ser cultivado. Seu nome vem do *Nahuatl* (grupo étnico mexicano) onde a espécie era conhecida como *tomatl*. A planta foi levada para a Espanha e Itália no início do século XVI. Da Itália, o tomate se espalhou para França e Inglaterra. De início, o tomateiro era usado somente como ornamento, visto que era considerado venenoso pelos europeus. Somente a partir do século XIX é que passou a ser consumido como alimento e se difundiu pelo resto do mundo (98, 99).

No Brasil, o cultivo do tomate foi introduzido pelos imigrantes italianos no final do século XIX. Entretanto, o real desenvolvimento ocorreu com a vinda dos imigrantes japoneses que produziam o fruto somente para fins de consumo *in natura*. Mas foi a partir da Segunda Guerra Mundial que a indústria do tomate teve início no Brasil (98).

Tomates são importantes na agricultura de todo o mundo, tanto em termos de produção quanto em valor econômico, estando entre os frutos mais industrializados do mundo. Nos EUA o consumo *per capita* de tomate ocupa o segundo lugar na lista dos produtos de origem vegetal, perdendo apenas para a batata (100, 101).

O fruto tomate é composto de pele, pericarpo e conteúdos loculares. As cavidades loculares são preenchidas com um parênquima celular gelatinoso que circundam as sementes. Normalmente os tomates contêm de 5-10% de matéria seca, das quais aproximadamente 75% são solúveis e cerca de 1-3% consiste de pele e sementes. Aproximadamente metade do total da matéria seca é reduzida em açúcares e cerca de 10% é ácido orgânico, principalmente ácido cítrico e maléico. Mais que 80% dos tomates processados são consumidos sob forma de suco, polpa, molho, purê e extrato de tomate (102).

Tomate e produtos derivados são considerados saudáveis por várias razões. Eles são pobres em gorduras e calorias, são ricos em vitaminas A e C, potássio e carotenóides (102, 103).

1.4.1.1 Polpa de tomate

A polpa de tomate é obtida através dos processos de extração e refinação do tomate previamente triturado e aquecido, cuja finalidade é separar pele e semente da polpa. Após esta etapa, a polpa ainda é muito líquida para ser empregada sem ser

concentrada, por isso precisa ser evaporada até atingir a consistência desejada, antes de ser enlatada ou usada para preparo de produtos à base de tomate. Após a evaporação, a polpa pode ser diretamente transformada em produtos como: extratos de diferentes concentrações, *ketchup*, molhos ou então ser embalada e armazenada. A polpa pode ser estocada a várias concentrações, entre 18 a 33°Brix, porém a mais comum é de 22-26°Brix (98, 104).

1.4.1.2 Molho de tomate

Geralmente os molhos de tomates são constituídos de tomate despelado, suco parcialmente concentrado (6-8°Brix) e uma série de condimentos, tais como sal, cebola, alho, orégano, pimenta do reino e outros. O número de ingredientes e suas respectivas quantidades variam conforme a indústria (98).

1.4.1.3 *Ketchup*

O *ketchup* é classificado como um condimento ou tempero que tem como elemento básico polpa concentrada de tomate. Dentre os principais condimentos utilizados em sua elaboração estão: sal, vinagre, especiarias e/ou flavorizantes, cebola e/ou alho; adoça-se com açúcar, dextrose, xarope de milho, xarope de glicose ou uma mistura destes. O produto deve ser engarrafado e, após seu fechamento, deve sofrer um tratamento térmico para evitar a deterioração por microorganismos, bem como aumentar a vida de prateleira (98, 100).

Para a produção de *ketchup*, o valor recomendado para concentração da polpa é de 14-22°Brix (104).

1.4.1.4 Extrato e purê de tomate

Segundo a Resolução nº 12 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos de 24/07/1978, extrato de tomate é o produto resultante da concentração da polpa de frutos maduros e sãos por processo tecnológico adequado. Ele pode também ser denominado “massa de tomate” ou “concentrado de tomate”. Nesta mesma legislação destaca-se que para concentração entre 9 e 17,9% p/p de substância seca, menos cloreto de sódio, o produto deve ser denominado de purê. Aos 18% ou mais p/p de substância seca é atribuído o nome de extrato de tomate, que pode ser simples (mínimo 18% p/p), duplo (mínimo 25% p/p) e triplo (mínimo 35% p/p). O purê é comercializado geralmente com 12°Brix e os extratos com concentrações variáveis (98, 105).

Estes produtos são adicionados geralmente de 1 a 3% de cloreto de sódio, sendo que o permitido pela legislação é um máximo de 5%, sendo também permitido 1% de açúcar (98, 105).

1.4.2 Tomate: fonte de licopeno

O pigmento presente em maior quantidade no tomate é o carotenóide licopeno ($\Psi\Psi$ -caroteno), o qual é responsável por conferir a coloração vermelha do fruto (102, 106).

Licopeno compreende aproximadamente 80-90% de todos os pigmentos presentes. Os outros carotenóides: α -caroteno, β -caroteno, ξ -caroteno, γ -caroteno, fitoflueno, neurosporeno, luteína e β -criptoxantina são encontrados em pequenas quantidades (106).

A quantidade de licopeno em tomates frescos depende da variedade, grau de maturação e condições do meio ambiente sob as quais os frutos são amadurecidos. Normalmente, tomates contêm cerca de 3-5 mg de licopeno em cada 100 g de matéria crua. Algumas variedades vermelhas intensas contêm mais de 15 mg de licopeno/100 g de tomate, enquanto que as variedades amarelas contêm somente 0,5 mg de licopeno a cada 100 g de tomate (107). Porém, são os produtos processados ou os que são submetidos à cocção que possuem maior quantidade de licopeno biodisponível (108). O processamento térmico rompe a parede celular e permite a extração do licopeno dos cromoplastos (90).

Um estudo (109) realizado em Porto Alegre comparou a análise de algumas variedades de tomates e alguns produtos à base de tomates processados com valores da literatura internacional. Na Tabela 2 estão os resultados.

Tabela 2 - Comparação do teor de licopeno em produtos de tomate obtidos em Porto Alegre e no exterior (109) realizado em Porto Alegre comparado com o encontrado na literatura internacional

Produtos	Porto Alegre (mg/100 g)	Exterior (mg/100 g)	Referências
Tomate <i>in natura</i>			
Longa Vida	3,72		Tonucci <i>et al.</i> , 1995 (110)
Super Marmante	3,53	1,58 – 4,83	Hart, Scott, 1995 (107)
Santa Cruz Kada	8,21		
Tomate Processado			
Molho	6,61	6,51-19,45	Tonucci <i>et al.</i> , 1995 (110)
Polpa	9,26	9,28	Nguyen, Schwatz, 1999 (111)
<i>Catchup</i>	10,03	10,29-41,4	Tavares, Rodrigues-Amaya, 1994 (112)
Extrato	27,24	30,07	Nguyen, Schwatz, 1999 (111)

Fonte: Pimentel FA, 2003 (109)

Heinonen *et al.* (113), relatou que a concentração de licopeno dos tomates foi maior no verão e menor no inverno. Tomates que crescem em estufas, seja no inverno ou verão, são menores em teor de licopeno do que os frutos produzidos ao ar livre. Frutas apanhadas verdes e amadurecidas em estoque tem substancialmente menos licopeno que frutos amadurecidos no pé (102).

A pele e o pericarpo do tomate são ricos em licopeno (114). De acordo com Al-Wandawi *et al.* (115) a pele do tomate contém 12 mg de licopeno/100 g de pele, enquanto o conteúdo total maduro do tomate é somente 3,4 mg de licopeno/100 g de tomate. Assim, a concentração de licopeno na pele do tomate é aproximadamente três vezes maior que em todo o tomate maduro. Isto indica que a maior parte do licopeno é encontrado na porção insolúvel da fibra do tomate (102).

Esse pigmento sofre influência acentuada da temperatura, pois sua síntese somente ocorre em temperatura superior a 10°C e abaixo de 37°C. A redução de

oxigênio restringe a síntese, enquanto o etileno a promove. Com o avanço da maturação do fruto aumenta o conteúdo dos carotenóides do tomate, inclusive o licopeno (97, 107).

Estudos epidemiológicos prospectivos e de caso-controle tem associado o aumento de consumo de tomates e produtos derivados, bem como, as maiores concentrações de licopeno plasmático, com a redução do risco de CaP (90, 116, 117). Estas observações identificam uma hipótese: que o licopeno, o principal carotenóide dos tomates, pode ser o componente ativo dos tomates e seus subprodutos (118).

1.5 Licopeno ($\Psi\Psi$ -caroteno)

Carotenóides são amplamente distribuídos em frutas e vegetais. Quimicamente, os carotenóides são divididos em duas grandes classes. Na primeira classe os carotenóides são hidrocarbonetos altamente insaturados como licopeno, α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno, ξ -caroteno. Estes, não contêm oxigênio e são geralmente de cores laranja e vermelho. As espécies da segunda classe são as xantofilas, como β -criptoxantina, luteína e zeaxantina, as quais são derivados oxigenados e contém um ou mais grupo oxigenado substituto em lugares particulares nos anéis terminais (102).

O licopeno é um dos mais de 600 carotenóides encontrados na natureza. É um pigmento natural sintetizado exclusivamente por plantas e microorganismos, para absorver luz durante a fotossíntese e proteger contra a fotossensitização (102, 111).

Visto que tanto o licopeno como outros carotenóides são fotossintetizados por plantas e microorganismos, eles constituem a principal fonte de carotenóides para todos os animais. Carotenóides também contribuem para cores de alguns pássaros (flamingo e canário), insetos e animais marinhos (camarão, lagosta e salmão) (102).

1.5.1 Estrutura e biossíntese

A estrutura geral do licopeno, mostrada na Figura 2, é de um hidrocarboneto alifático, contendo 11 ligações duplas carbono-carbono conjugadas e duas não conjugadas, arranjado de forma linear pertencendo ao subgrupo dos carotenos, carotenóides formados apenas por átomos de carbono e hidrogênio (111, 119).

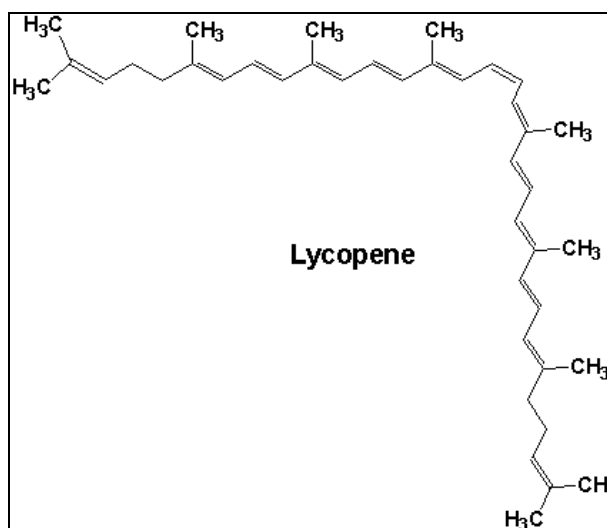


Figura 2. Estrutura molecular do licopeno

Fonte: Bramley PM, 2000 (119)

Como resultado destas 11 ligações duplas, o licopeno pode assumir, teoricamente, 2^{11} configurações geométricas. No entanto, devido ao impedimento estérico da molécula, somente alguns grupos etilênicos do licopeno podem participar da isomerização *cis-trans*, permitindo a existência de apenas 72 isômeros *cis* na natureza (111).

A fórmula molecular do licopeno é $C_{40}H_{56}$ e o peso molecular é de 536,85 daltons (102). Quanto à solubilidade, o licopeno é um composto lipofílico e é insolúvel em água. Outras propriedades físicas do licopeno estão na Tabela 3.

Tabela 3 - Propriedades físicas do licopeno

Fórmula molecular	$C_{40}H_{56}$
Peso molecular	536,85 daltons
Ponto de fusão	172 – 175°C
Forma de cristal	Agulhas vermelhas longas de uma mistura de bissulfito de carbono e etanol
Forma de pó	Marrom-avermelhado escuro
Solubilidade	Solúvel em clorofórmio, hexano, benzeno, bissulfito de carbono, acetona e éter de petróleo Insolúvel em água, etanol e metanol
Sensibilidade	Luz, oxigênio, temperatura alta e ácidos

Fonte: Shi J, Maguer ML, 2000 (102)

A cor e a atividade antioxidante do licopeno são uma consequência da estrutura única, um sistema amplo de ligações duplas conjugadas. O licopeno não possui atividade provitamina A devido a falta de uma estrutura anelar β -ionona (102).

Nas células, o licopeno é localizado nos cloroplastos dos frutos e pode ser encontrado entre a membrana tilacóide no complexo proteína-pigmento fotossintético (120). No estágio recente da maturação, o pigmento predominante nos cloroplastos é a clorofila verde. Quando ocorre a degradação da clorofila nos cloroplastos, a cor muda de verde para branca. Quando a clorofila nos cloroplastos é reduzida, ocorre a biossíntese do licopeno com concomitantes mudanças na ultraestrutura do fruto, as quais resultam em mudança de cor branca para a vermelha (121, 122). O estágio final

do desenvolvimento do cromoplasto é a formação de cristais de licopeno que ocupam uma grande porção do cromoplasto (123). As maiores concentrações do licopeno são encontradas no pericarpo (124).

É a partir do mevalonato que os carotenóides são biossintetizados por uma ramificação especial da rota biossintética dos terpenos. A primeira unidade de hidrocarboneto C_{40} formada é o fitoeno, um carotenóide com três duplas ligações conjugadas, as quais são enzimaticamente desnaturadas para produzir sucessivamente o ξ -caroteno, o neurosporeno e o licopeno. Outros carotenóides como o β -caroteno e os oxocarotenóides são produzidos a partir do licopeno seguindo as reações de ciclização e hidroxilação. Portanto, o licopeno é a molécula central das reações de biossíntese dos carotenóides (125).

1.5.2 Outras fontes

Tomate e seus produtos derivados contribuem com mais de 80% do total da ingestão de licopeno dos americanos (126). Assim, são considerados as maiores fontes de licopeno (127, 128). Mas há outros alimentos vermelhos que também são fontes do licopeno: goiaba, melancia, mamão e pitanga (102). Na Tabela 4 são listados alimentos e seu conteúdo de licopeno.

Tabela 4 - Teor de licopeno de algumas frutas vermelhas

Frutas	Licopeno (mg/100 g)
Melancia	2,3 – 7,2
Goiaba Vermelha	5,23 – 5,50
Toranja	0,35 – 3,36
Mamão Papaya	0,11 – 5,3
Cenoura	0,65 – 0,78
Abóbora	0,38 – 0,46
Batata-doce	0,02 – 0,11
Polpa de Maçã	0,11 – 0,18
Abriçó	0,01 – 0,05

Fonte: Shi J, Maguer ML, 2000 (102)

1.5.3 Forma e biodisponibilidade do licopeno nos tomates

O licopeno de configuração *trans* é o isômero geométrico mais proeminente em tomates frescos, mas a mudança de configuração permite que os produtos processados de tomate contenham entre 1,7 e 10% de *cis*-isômeros. A isomeração de *trans* para mono ou poli-*cis*-licopeno pode ocorrer pela luz, energia térmica ou durante reações químicas (119, 125, 129).

As formas isoméricas mais comumente identificadas do licopeno são as *trans*, *5-cis*, *9-cis*, *13-cis* e *15-cis*-licopeno (129, 130). As estruturas das formas isoméricas podem ser observadas na Figura 3.

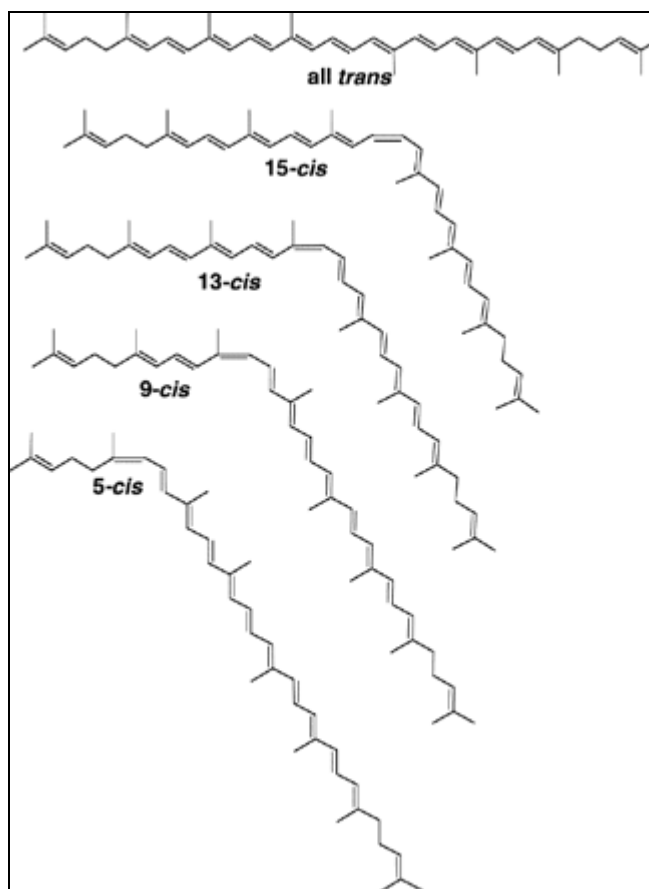


Figura 3. Estrutura dos isômeros *cis* e *trans* do licopeno

Fonte: Agarwal S, Rao AV, 2000 (129)

Apesar do licopeno existente nos tecidos humanos e animais encontrar-se, principalmente, na forma *cis*-isômero, o licopeno é encontrado na maioria dos alimentos na forma *trans*. Vários estudos tem investigado a possibilidade que alimentos processados e cozidos resultem na isomeração do licopeno da forma *trans* para *cis*-isômeros (102, 131, 132). Porém, estes estudos sugerem que o tratamento térmico e o processamento resultam em somente um pequeno aumento em *cis*-licopeno dos alimentos. Assim, outros processos fisiológicos são responsáveis pela grande diferença na proporção *cis:trans* observadas entre alimentos e tecidos. Foi verificado que a concentração sangüínea de licopeno foi maior em quem consumiu produtos de tomates processados pelo calor do que aqueles que consumiram o tomate

in natura (108, 117, 133). Também foi confirmado que produtos derivados de tomates submetidos a uma temperatura de 100°C por uma hora podem ter até 20-30% do licopeno na forma *cis*-isômeros (134). Mas, há estudos que sugerem somente um pequeno aumento (<10%) no conteúdo da forma *cis* (135). Assim, o processamento térmico como o cozimento e a destruição mecânica da textura como cortar e triturar, são úteis para aumentar a biodisponibilidade do licopeno, pois rompendo a resistente estrutura da parede celular e destruindo a membrana dos cromoplastos, reduz-se a integridade celular, permitindo que o licopeno fique mais acessível (102).

Boileau *et al.* (136) demonstrou que *cis*-isômeros de licopeno são mais biodisponíveis que as formas *trans*, provavelmente porque *cis*-isômeros são mais solúveis nas micelas do ácido biliar e podem ser, preferencialmente, incorporadas dentro dos quilomícrons.

A matriz do tomate e outras frutas vermelhas com todos seus constituintes íntegros, como fibras e lipídeos, contribuem muito para a estabilidade de todas as formas *trans* do licopeno (131, 137).

Mas a biodisponibilidade do licopeno não está vinculada somente a forma isomérica do licopeno, pois numerosos fatores e propriedades dos alimentos, como: fibras, esteróis, drogas, gorduras e outros carotenóides, podem afetar a absorção do licopeno (102).

Certas fibras dietéticas (138), substitutos de gorduras (139), alimentos enriquecidos com esteróis (140) e drogas que reduzem os níveis de colesterol plasmático (141) interferem com a incorporação do licopeno dentro das micelas, podendo diminuir a eficiência pelas quais os carotenóides são absorvidos.

Outro aspecto importante na biodisponibilidade do licopeno é sua melhor absorção quando co-ingerido com óleo. Foi verificado que a ingestão de suco de

tomate cozido com óleo aumentou em 2-3 vezes mais a concentração plasmática de licopeno um dia após a ingestão. Mas o mesmo não ocorreu com a ingestão de suco não processado e sem o óleo (134). Isto indica que o tratamento térmico e o óleo são requeridos para extrair o licopeno da fase lipofílica (125).

Interações entre carotenóides podem ocorrer em vários estágios no processo de absorção, especialmente em condições de altas doses. A absorção do licopeno parece ser mais eficiente quando ingerido em dosagens menores e junto com o β -caroteno, do que quando ingerido sozinho (142).

Resultados controversos foram relatados do efeito do tabagismo nos níveis plasmáticos de licopeno (143, 144). Um recente estudo não encontrou diferença significativa nos níveis de licopeno plasmáticos entre fumantes e não fumantes. Porém, os níveis de licopeno no plasma baixaram 40% com um aumento de 40% na peroxidação lipídica em fumantes imediatamente após fumarem três cigarros (145).

O consumo de álcool também parece alterar os níveis de licopeno no plasma (143).

1.5.4 Metabolismo e distribuição nos tecidos

Licopeno é o carotenóide predominante no plasma humano e tem uma meia vida de aproximadamente 2-3 dias no corpo humano (125). No plasma humano o licopeno é uma mistura isomérica contendo 50% do licopeno total como *cis*-isômero (102).

A entrada do licopeno para dentro das células da mucosa intestinal é auxiliada pela formação de micelas de ácido biliar. A produção biliar é estimulada pela gordura da dieta e, assim, o consumo de gordura e licopeno na mesma refeição, aumenta a eficiência da absorção do carotenóide (134). Dados de estudos em

humanos, na Índia, tem sugerido um mínimo de 5-10 g de gordura nas refeições para a melhor absorção de carotenóides (146).

A entrada do licopeno pela membrana da borda em escova das células da mucosa intestinal é por difusão passiva, mas pouco se sabe sobre o processo que sofre o licopeno intramucosa. Ainda não está esclarecido se o licopeno é transportado intracelularmente por proteínas específicas ou se é levado nas gotículas de lipídeos (147).

O licopeno existe na mucosa celular dos quilomícrons, que são secretados via sistema linfático mesentérico para dentro da corrente sangüínea. Através da ação da lipase lipoprotéica nos quilomícrons, o licopeno e outros carotenóides possuem o potencial de serem tomados por processo passivo por vários tecidos, incluindo glândulas adrenais e renais, baço, mama e órgãos reprodutores, antes da remoção dos quilomícrons remanescentes pelo fígado via o receptor de quilomícron. Carotenóides podem acumular-se no fígado ou podem ser empacotados para dentro das lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e enviados de volta para a corrente sangüínea. A entrada de carotenóides para dentro de tecidos originários de VLDL e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) se dá através da via corrente do receptor LDL. Os tecidos com altas concentrações de carotenóides, como fígado, adrenais e próstata, tendem a ter alta atividade nos receptores de LDL. Assim, o licopeno é o carotenóide predominante no fígado humano, adrenais, tecido adiposo, mama e próstata (91, 118, 137, 148, 149).

O licopeno existente, tanto em tecidos humanos como nos tecidos animais, é de 50% na forma *cis*-isômeros, pois esta mistura é mais estável e representa um equilíbrio entre *trans* e *cis*-isômeros (136). Como a maior parte das fontes de licopeno está disponível na forma *trans* (135), tem-se investigado, recentemente, a hipótese de que o licopeno é isomerizado dentro do estômago, resultante do baixo pH gástrico. Re

et al. (150) realizou um experimento *in vitro* que indicou um aumento da percentagem de *cis*-isômeros após a incubação de licopeno com sucos gástricos. Já um estudo *in vivo* com o animal furão (136) sustentou uma isomeração gástrica modesta de licopeno e a percentagem de licopeno *cis*-isômeros aumentou de 6,2% no conteúdo estomacal para 17,5% no conteúdo intestinal.

Stahl e Sies foram os pioneiros que sugeriram que os *cis*-isômeros de licopeno são preferencialmente absorvidos, se comparados com os *trans*-isômeros. Eles observaram que após o consumo de suco de tomate com aproximadamente 20% de *cis*-isômeros, por voluntários saudáveis, o plasma foi composto de aproximadamente 50% *cis*-isômeros (134).

Portanto, como já discutido, vários estudos indicam que o processamento térmico e a exposição ao baixo pH do estômago, resultam em um aumento nos isômeros *cis*-licopeno (135).

A concentração de licopeno em tecidos e sangue, tanto de humanos como de animais, estão na maior parte na forma *trans* e 5-*cis*-isômeros, sendo que os *cis*-isômeros contribuem com a maior parte (58-88%) do total de licopeno (132, 137, 151).

Poucos metabólitos de licopeno têm sido identificados em tecidos e plasma humanos. O primeiro relato foi do 5,6-diidroxil-5',6'-diidroxilicopeno resultante da oxidação de licopeno (152, 153). Também foi relatado que 2,6-ciclicopeno-1,5-diol A e B são metabólitos *in vivo* do licopeno em humanos (154). Um estudo demonstrou que metabólitos oxidativos de licopeno podem reduzir a proliferação de culturas de células humanas de CaP (155).

A distribuição tecidual de carotenóides incluindo o licopeno não é uniforme. A distribuição de carotenóides em tecidos específicos sugere que certos carotenóides podem exercer um efeito biológico em alguns tecidos e em outros não. As variações

inter-individuais nos níveis teciduais de licopeno ocorrem em até 100 vezes (129). O exato mecanismo bioquímico para altas concentrações em determinados tecidos ainda não está esclarecido. Uma das hipóteses é que esses tecidos possuem um grande número de receptores lipoprotéicos e o licopeno é transportado principalmente através de lipoproteínas (148).

O licopeno também tem sido identificado em vários fluidos corporais (129). No leite humano foi relatado recentemente que foram identificados 34 carotenóides, incluindo 13 isômeros geométricos e dois produtos da oxidação do licopeno (153). Licopeno e β -caroteno também foram identificados no líquido humano seminal, sendo seus níveis menores em homens não férteis comparado com os férteis (156).

1.5.5 Estudos científicos sobre o efeito do licopeno em doenças da próstata

Há diversos estudos relacionando tomates e seus derivados ou somente o licopeno com a possível prevenção do CaP e, até mesmo, como auxílio no tratamento de paciente com CaP. A maioria dos estudos com humanos já são realizados no curso da doença maligna. Foram encontrados apenas três estudos em pacientes com HPB, apenas um utilizou um alimento à base de tomates (157), os outros dois utilizaram a suplementação de licopeno (158, 159).

Serão, a seguir, relatados alguns estudos com seus principais resultados e conclusões.

1.5.5.1 Estudo de coorte de dieta, estilo de vida e CaP (1989)

Foi um dos primeiros estudos, o qual estabeleceu uma relação entre o consumo de tomates e o risco de CaP. Este estudo de coorte iniciou em 1976, participaram aproximadamente 14 mil homens Adventistas e foi aplicado um

questionário de frequência alimentar por sete dias. Após seis anos, 180 homens desenvolveram CaP. O consumo de produtos derivados de tomates, feijões, lentilhas e ervilhas foram significativamente associados com a redução do risco de CaP. Para homens que consumiram tomates com uma frequência de cinco vezes por semana comparados com os que consumiram menos de uma porção por semana, o risco relativo (RR) de CaP foi 0,60 (95% IC 0,37-0,97), $P=0,02$ (160).

1.5.5.2 Ingestão de carotenóides e retinol em relação ao risco de CaP (1995)

Este estudo estabeleceu a hipótese que produtos com tomates podem prevenir o CaP. Foi um estudo de coorte prospectivo que iniciou em 1986, com o objetivo de examinar a relação de vários carotenóides com o risco de CaP. Participaram aproximadamente 47 mil homens, todos profissionais da área da saúde (HPFS – *Health Professionals Follow-up Study*). Foi aplicado um questionário detalhado relatando condições médicas, estilo de vida, dieta e nutrição em 1988, 1990 e 1992. Em 1992 foram registrados 812 casos novos de CaP. Somente frutas e vegetais foram significativamente associados com a redução do risco de CaP. As análises estatísticas indicaram que o consumo de 2-4 porções por semana de tomates crus foi associado com uma redução significativa de 26% do risco de CaP quando comparado com o consumo de uma porção por semana. Já, os produtos à base de tomates como pizza e molho de tomate, também foram significativamente associados com a redução do risco de CaP em 15 e 34% respectivamente, quando consumidos 2-4 vezes por semana comparados a nenhum consumo. Quando todas as fontes de tomates foram combinadas, o consumo de >10 porções por semana, foram associadas com uma redução significativa de 35% no risco de CaP, quando comparado com homens que consumiram pouco mais de 1,5 porção por semana (117).

1.5.5.3 Produtos de tomates, licopeno e risco de CaP (2002)

Este estudo publicado é uma continuação do HPFS, 1995 (117). Desde a primeira publicação, ocorreram 1.708 novos casos de CaP, totalizando 2.481 casos de CaP, em 1998. Esta publicação enfatizou duas hipóteses: o efeito protetor de produtos à base de tomates pode ser maior para CaP desenvolvido em indivíduos mais velhos e, também, para CaP avançado. A relação entre consumo de molho de tomate e risco de CaP não foi notada em homens com menos de 65 anos, porém houve uma forte associação entre consumo de molho de tomate e risco de CaP em homens com mais de 65 anos de idade. Foi notada uma redução de um marcador no risco de metástases em quem consumiu tomates ou produtos derivados duas vezes por semana, comparado com quem consumiu <1 porção por mês (161).

1.5.5.4 Dieta e CaP: um estudo de caso-controle na Grécia (1999)

Este estudo comparou os hábitos alimentares de 320 homens com CaP (casos) e 246 homens sem CaP (controle), relatando que homens com CaP tinham uma ingestão menor de tomates cozidos ($P < 0,005$) e crus ($P = 0,12$). Os autores concluíram que o aumento de consumo de tomates cozidos de 8 para 16 vezes por mês, foi associado com 15% menor risco de CaP (162).

1.5.5.5 Ingestão de frutas e vegetais e risco de CaP (2000)

Esse é um dos mais interessantes estudos de caso-controle. Num total de aproximadamente 1.200 homens, na faixa etária de 40-64 anos, sendo os casos 628 homens com CaP e o grupo controle selecionado da mesma população. O estudo examinou os efeitos do total de frutas e vegetais ingeridos, bem como frutas e vegetais, individualmente específicos no risco de CaP, como: frutas e sucos cítricos,

vegetais crucíferos, vegetais verde-escuros, cenouras, feijões, tomates crus e cozidos. Homens que consumiram ≥ 28 porções do total de vegetais por semana (≥ 4 porções por dia) tiveram um risco significativamente menor de 35% de CaP, quando comparado com aqueles que consumiram < 14 porções por semana (< 2 porções por dia). Não foi observada redução ao risco de CaP relacionada ao consumo total de frutas. Já, quanto aos grupos específicos, somente foi observada redução do risco de CaP, estatisticamente significativa, relacionada aos vegetais crucíferos; os tomates crus e cozidos não tiveram associação. Mas é importante relatar que, neste estudo, o foco foi CaP em pacientes jovens (60% dos casos foram em < 60 anos), e muitos com suscetibilidade genética para câncer. Os fatores dietéticos podem somente interagir, na maior parte dos casos de CaP diagnosticados em idade mais avançada, quando possuem uma causa mais ligada a fatores ambientais, como os hábitos alimentares (163).

1.5.5.6 Altos níveis de licopeno plasmático e menor risco de CaP (1999)

Este estudo foi conduzido para determinar se concentrações plasmáticas de diferentes antioxidantes, como os carotenóides, α -tocoferol ou γ -tocoferol possuem alguma relação com o risco de CaP. Foi um estudo de caso-controle e as amostras de plasma foram obtidas de participantes de um ensaio clínico randomizado duplo-cego com β -caroteno (164). Após 13 anos, 578 homens desenvolveram CaP (casos) e foram comparados com 1.294 controles emparelhados por idade e tabagismo. As concentrações plasmáticas de licopeno foram definidas como altas ($> 580 \mu\text{g/L}$) e baixas ($< 262 \mu\text{g/L}$). Entre todos os antioxidantes analisados, somente o licopeno foi significativamente menor nos casos de CaP, quando comparado com os controles emparelhados. A razão de chances (*odds ratios*) para o CaP declinou levemente com o aumento da concentração plasmática de licopeno, havendo uma relação

significativamente inversa entre os casos de CaP agressivo e o aumento de licopeno no plasma (90).

1.5.5.7 Suplementação de licopeno antes de prostatectomia radical (2001)

Neste pequeno ensaio clínico randomizado de fase II, foram selecionados 26 homens com diagnóstico de CaP com indicação de prostatectomia radical. Após a randomização, 15 homens receberam 30 mg de licopeno diariamente e os outros 11 homens receberam placebo, estendendo-se o processo por três semanas antes de ser realizada a prostatectomia sugerida. Foi o primeiro estudo que relatou intervenção clínica investigando a modulação de fatores biológicos e clínicos em amostra de próstata com CaP. Houve uma redução de 18% dos níveis de PSA plasmático nos pacientes do grupo intervenção e os que receberam placebo, aumentaram 14% os níveis de PSA plasmático. O tumor de 84% do grupo que recebeu licopeno mediu 4 ml ou menos comparados com 45% do grupo placebo. Talvez, devido ao pequeno tamanho da amostra estudada, alguns fatores analisados não tiveram significância, mas foi sugerido que 30 mg de licopeno, por três semanas, pode ser suficiente para modular os marcadores clínicos da doença (165).

1.5.5.8 Licopeno e modulação de biomarcadores da carcinogênese (2002)

Este estudo acompanhou 32 homens com CaP que receberam 30 mg/dia de licopeno através de massa de tomate distribuída em diferentes preparações, como macarrão, lasanha, molhos, por três semanas, antes de realizarem a prostatectomia radical programada. O plasma e o tecido prostático foram analisados antes e após o uso da massa de tomate. As concentrações de licopeno aumentaram no plasma e na próstata 1,97 e 2,92 vezes respectivamente ($P < 0,001$). Os níveis de PSA diminuíram 17,5% ($P < 0,002$). O indicador 8-OH-dioxiguanosina (8-OH-dG), marcador de lesão

oxidativa do DNA, diminuiu 21,3% ($P < 0,005$) após o consumo da massa de tomate. Apesar de ser um estudo sem um grupo controle, mostra fortes evidências que o tecido prostático pode se modificar com o uso de dieta rica em licopeno (166).

1.5.5.9 Licopeno plasmático e tecidual como biomarcadores da oxidação (1999)

Este foi outro estudo com amostra pequena que comparou as concentrações plasmáticas de licopeno e também as concentrações de licopeno no tecido prostático. A população alvo foi 12 homens com diagnóstico de CaP e 12 homens emparelhados pela idade com diagnóstico de câncer de bexiga invasivo ao músculo, estudados antes do tratamento cirúrgico. Homens com CaP tiveram 44% menos ($P = 0,004$) concentração de licopeno plasmático e 78% menos ($P = 0,05$) concentração de licopeno no tecido prostático quando comparado com os homens com câncer de bexiga (116).

1.5.5.10 Pó de tomate, licopeno e restrição de energia em ratos (2003)

Este foi um estudo muito interessante realizado com 194 ratos alimentados com três dietas: dieta com restrição calórica de 20%, dieta com suplementação de licopeno (0,025%) e dieta com pó de tomate (10%). Comparados com o grupo controle, os ratos alimentados com o pó de tomate tiveram uma diminuição significativa na mortalidade específica por CaP de 26%. O grupo que recebeu licopeno diminuiu somente 9% e não foi significativo. Já a dieta de restrição diminuiu, independentemente, a mortalidade específica por CaP para 32% comparado com ratos sem restrição dietética. Foi observado que o consumo da dieta com pó de tomate, e não a dieta suplementada de licopeno, inibiu o CaP, sugerindo que tomates possuem compostos, além do licopeno, que podem modificar a carcinogênese da próstata. A dieta de restrição calórica também reduziu o risco de CaP, porém o

mecanismo de restrição calórica e fitoquímicos do tomate podem agir por mecanismos independentes (167).

1.5.5.11 Dieta contendo tomate, brócolis e licopeno em ratos (2004)

Pelo contínuo interesse em descobrir a influência dos alimentos ou de componentes bioativos no processo de CaP, foi elaborado um estudo com grupos de ratos alimentados com dietas contendo 0,025% de licopeno de cápsula, 10% pó de tomate e 10% de pó de brócolis, individualmente ou em combinação dos pós de tomate e brócolis, para determinar qual é a dieta melhor para prevenir o crescimento tumoral na próstata. Resultados preliminares de um estudo piloto indicaram que dietas contendo brócolis, tomate, licopeno e a combinação de tomate e brócolis reduziram o crescimento do tumor prostático em ratos no modelo *Dunning R-3327-H* quando comparados com a dieta controle (168).

1.5.5.12 Meta-análise de estudos observacionais (2004)

Um total de 11 estudos de caso-controle e 10 estudos de coorte ou caso-controle aninhado foram incluídos nesta meta-análise. Os autores concluíram que produtos à base de tomates podem ter um papel na prevenção de CaP. O acúmulo de dados nos estudos epidemiológicos em humanos sustentam a hipótese de que tomate e produtos derivados podem reduzir o risco de CaP. Também há uma sugestão de que componentes específicos destes alimentos, além do licopeno, podem mediar os benefícios para a saúde da próstata (169).

1.5.5.13 Licopeno inibe a progressão de HPB (2008)

Este é o primeiro estudo controlado com licopeno em homens com HPB publicado na íntegra. Foram randomizados 40 pacientes com o diagnóstico de HPB, para receber licopeno (15 mg/dia) ou placebo por seis meses. O desfecho principal era os níveis de PSA, os quais tiveram uma redução de 0,74 ng/ml ($P < 0,05$) no grupo de homens que recebeu licopeno. Os desfechos secundários analisados foram a concentração de licopeno no plasma e nas células da mucosa bucal, níveis séricos de IGF-1 e IGFBP-3. Foi encontrado um aumento dos níveis de licopeno no plasma e nas células da mucosa bucal no grupo licopeno com significância estatística. Também foi analisado o crescimento da próstata pelo IPSS (Escore Internacional de Sintomas Prostáticos), toque retal e ultrasonografia trans-retal. No grupo placebo ocorreu um aumento detectado pelo toque retal ($P < 0,01$) e pela ultrasonografia transretal ($P < 0,05$). A conclusão deste estudo foi que a suplementação de licopeno inibiu a progressão da HPB (158).

1.5.5.14 Marcadores e resposta a suplementação de licopeno em homens com CaP e HPB (2005)

Este é um ensaio duplo cego fase II que está em andamento. Foram recrutados 120 homens com os níveis de PSA superior a 4 ng/ml que tinham diagnóstico de HPB ou CaP (Figura 4). O objetivo deste estudo é verificar os marcadores biológicos na HPB e CaP com a suplementação de 30 mg de licopeno. Os resultados ainda não foram publicados (159).

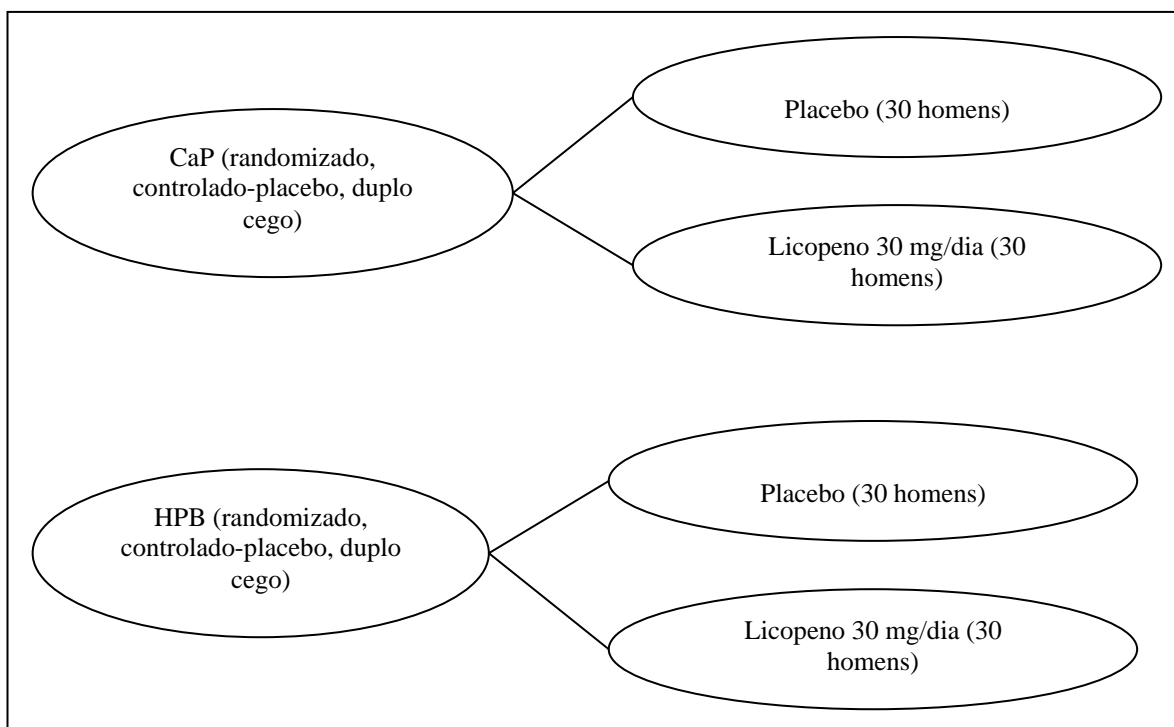


Figura 4. Diagrama do ensaio fase II controlado-placebo, duplo cego com suplementação de licopeno nos marcadores de efeito biológico na HPB e CaP

Fonte: adaptado de van Breemen (159)

1.5.5.15 Influência do extrato de tomate nos níveis de PSA em homens com HPB (2006)

Este foi o primeiro estudo publicado que estudou um produto à base de tomates na HPB. Este ensaio clínico não controlado acompanhou 43 homens com diagnóstico de HPB e níveis de PSA entre 4-10 ng/ml por 10 semanas. Os voluntários consumiram 50 g de extrato de tomate diariamente, distribuído ou não junto a outros alimentos, com o objetivo de observar os níveis de PSA após as 10 semanas. Houve uma redução de 10,8 % nos níveis séricos de PSA, após uso de massa de tomate ($P=0,005$). A média \pm SD inicial dos níveis de PSA foi $6,51 \pm 1,48$ ng/mL e após 10 semanas ficou em $5,81 \pm 1,58$ ng/mL. Também foi observado que 88,3% dos pacientes consideraram o consumo do produto como sendo bom. O estudo concluiu que houve algum efeito na biologia da próstata, porém não pode ser afirmado com certeza que pode melhorar a HPB ou prevenir o CaP. São necessários mais estudos,

principalmente ensaios controlados, com o tomate e produtos derivados em relação às doenças que acometem a próstata (157).

1.5.6 Mecanismos de ação do licopeno

Há muitas evidências de que o carotenóide licopeno, encontrado principalmente em tomates e produtos derivados, seja um dos principais responsáveis pela suposta capacidade de prevenir o CaP. Assim, será feita uma relação dos possíveis mecanismos atribuídos ao licopeno que o tornam um fitoquímico importante para a saúde da próstata.

1.5.6.1 Função antioxidante

A ação seqüestrante de radicais é proporcional ao número de ligações duplas conjugadas presentes nas moléculas dos carotenóides (170). O licopeno é considerado o carotenóide que possui maior capacidade seqüestrante do oxigênio livre (171).

Durante o seqüestramento do oxigênio livre, energia é transferida do oxigênio livre para a molécula de licopeno, convertendo esta para estado triplo de alta-energia. O licopeno no estado triplo pode retornar para o estado original por dissipação de energia como calor ou por seqüestramento físico, deixando a molécula de licopeno intacta e pronta para posteriores eventos seqüestrantes (171). Foi mostrado que o licopeno é também um excelente seqüestrador de oxigênio livre nos modelos de membrana biológica, como os lipossomas (172). Em soluções orgânicas, o licopeno foi o mais rápido carotenóide destruidor na reação com radicais peróxidos (173), indicando sua presença na primeira linha de defesa. Tendo esta potente função

antioxidante *in vitro*, o licopeno pode proteger, também *in vivo*, contra oxidação de lipídeos, proteínas e DNA (171).

A mudança oxidativa de DNA origina mutações, podendo, assim, influenciar na iniciação do câncer. A prevenção da mudança oxidativa do DNA, conseqüentemente, é de interesse para prevenção primária do câncer. E o licopeno tem mostrado reduzir a quantidade de mudança de DNA oxidativo em culturas celulares *in vivo* em ratos (174). Há ainda estudos *in vitro*, demonstrando que o consumo de tomates protege leucócitos humanos contra mudança oxidativa (175, 176). Bowen *et al.* (166) mostraram pela primeira vez *in vivo*, que a dieta rica em licopeno reduz a mudança oxidativa de DNA também na próstata.

1.5.6.2 Inibição da progressão do ciclo celular

O licopeno tem mostrado inibir o crescimento celular de uma variedade de linhas celulares de câncer, incluindo células do CaP (155, 177-179), células do câncer de mama (180), células de câncer endometrial (181) e células da leucemia promielocítica (182).

Foi descrita a influência do licopeno no crescimento de linhagem celular de CaP humano insensível-androgênio DU-145 e PC-3. Porém, o licopeno não atuou sozinho, foi um co-tratamento com concentrações fisiológicas de licopeno (<1 μM) e α -tocoferol (<50 μM) que inibiu a proliferação de células de CaP, aproximadamente, 10 vezes (183).

Mas há estudos que relataram efeito do licopeno inibindo o crescimento de linhagem de células do CaP: DU-145 (155, 179), PC-3 (155) e LNCaP (155, 178). Kim *et al.* (178) observaram redução da proliferação de células LNCaP tratadas com concentrações fisiológicas (1 μM) de licopeno. Kotake-Nara *et al.* (155) demonstraram

inibição do crescimento de todas as três linhagens de células de CaP: PC-3, DU-145 e LNCaP, embora concentrações supra-fisiológicas (20 μM) tenham sido usadas. De outro lado, Hall (179) descreveu inibição do crescimento de DU-145 pelo licopeno em concentrações extremamente baixas (10 μM).

O mecanismo pelo qual o licopeno inibe o crescimento celular envolve baixa regulação da ciclina D1, mas não ciclina E, detendo a fase G0/G1 do ciclo celular (184).

Em relação ao crescimento celular de células de CaP, o licopeno também inibiu o crescimento celular de células epiteliais da próstata normal de modo dose-dependente (177). As células epiteliais da próstata normal foram, cada vez mais, sensíveis à inibição do crescimento por licopeno que células cancerosas. O crescimento começou a ser inibido por concentrações acima de 1 μM e o grau de inibição alcançou 80% em concentrações de 2 μM ou maiores. Esta descoberta é a mais relevante, desde os relatos da atividade do licopeno em prevenção primária de CaP e HPB (184).

1.5.6.3 Indução da apoptose

Há poucos achados na indução de apoptose por licopeno em células da próstata. Hall (179) e Kotake-Nara *et al.* (155) não encontraram indução de apoptose por licopeno em células de CaP, PC-3, DU-145 e LNCaP, mesmo em altas concentrações de licopeno. Em contraste, os metabólitos oxidativos de licopeno, acido RA, induziu apoptose em linhagens de células do CaP independente-andrógeno PC-3 e DU-145, mas não em linhagem de células com resposta-androgênica LNCaP. Concentrações supra-fisiológicas de compostos acima de 40 μM foram requeridos (185).

Uma intervenção de três semanas com ingestão de molho de tomate causou um aumento do índice de apoptose nas células hiperplásicas e neoplásicas em tecido prostático de pacientes com CaP (166).

1.5.6.4 Aumento da comunicação juncional do tipo gap

Vários estudos sugerem um efeito do licopeno na comunicação juncional celular do tipo gap, um fator chave no tecido homeostático. Junções gap são canais conectando duas células vizinhas e, deste modo, possibilitando troca de moléculas pequenas, tal como nutrientes ou moléculas de sinalização intracelular (186).

Junções gap consistem de duas metades-canalais (conexões), cada uma constituída por complexos hexaméricos de conexões diferentes. A expressão da conexina 43 tem sido associada ao potencial neoplásico das células do CaP (187). Relativo ao tecido normal, uma diminuição da expressão de conexinas, incluindo conexina 43, tem sido detectado em diferentes tumores humanos (184).

Na próstata saudável, a conexina 43 é expressa em células basais e a conexina 32 em células epiteliais no lúmen. A abundância de ambas conexinas é aumentada na HPB. Em contraste, conexinas 32 e 43 são diminuídas no CaP (188).

Em cultura celular, o licopeno aumenta as comunicações juncionais do tipo gap em fibroblastos de pele fetal humana (189) e em células do câncer oral humano KB-1 (190). Isto foi acompanhado por aumento da produção de mRNA da conexina 43 e níveis de proteína.

O licopeno tem mostrado inibir a transformação neoplásica induzida por carcinógenos em cultura celular (191). Essa ação envolve aumento da expressão da conexina 43, bem como, melhora das junções gap (192), independentemente da atividade antioxidante ou atividade da pró-vitamina A (193). Os primeiros dados em

humanos indicam que o licopeno pode realmente aumentar a expressão da conexina 43 na próstata (165).

1.5.6.5 Inibição da transdução do sinal IGF-1

Concentrações plasmáticas de IGF-1 estão associadas com um aumento do risco para vários tipos de câncer, incluindo o CaP (194, 195). Além disso, IGF-1 aumentado se associa a progressão do tumor em modelos de CaP em ratos TRAMP (196). Também, o aumento da expressão do IGF-1 no epitélio da próstata é foi associado à presença de neoplasia intraepitelial prostática em ratos transgênicos (197). Isto mostra que IGF-1 não é somente um marcador para o risco de câncer, mas provavelmente está envolvido na causa da tumorigênese (184).

Recentemente foi demonstrado no modelo de CaP *MatLyLu Dunning* que a expressão local de IGF-1 nos tumores de próstata foram diminuídos por suplementação de licopeno em 200 ppm na alimentação (198). Dados clínicos disponíveis indicam que o consumo de tomates cozidos foi inversamente associado aos níveis plasmáticos de IGF-1 (199). Em contraste, a suplementação com extrato oleoresina de tomate (Lyc-O-Mato[®], Indústria de Produtos Naturais LycoRed, Israel), por três semanas, não diminuiu os níveis plasmáticos de IGF-1 (165). A razão para estes resultados diferentes não é conhecida (184).

Como a maior parte do IGF-1 é secretado pelo fígado, uma baixa regulação de IGF-1 na próstata por licopeno não é necessariamente refletida na concentração de IGF-1 no plasma. Isto pode explicar as observações de Kucuk *et al.* (165), que sugerem que os efeitos do licopeno deveriam ser avaliados, além do soro (184).

1.5.6.6 Inibição da expressão de interleucina-6 (IL-6)

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica, a qual promove inflamação e atua como um fator de crescimento parácrino e autócrino nas células epiteliais da próstata (200). Há evidências que a história de prostatites pode estar associada a um maior risco de CaP (201). Além disso, lesões atróficas focais no epitélio da próstata são frequentemente associadas com inflamação crônica e aumento do *turnover* celular (inflamação atrófica proliferativa - PIA). Esta poderia representar a lesão pré-cancerosa, a qual pode progredir para neoplasia intraepitelial prostática (PIN) e/ou adenocarcinoma (202, 203).

Além disto, IL-6 pode trans-ativar os receptores de andrógenos (204). Níveis plasmáticos de IL-6 têm sido correlacionados com o estágio do CaP. Assim, níveis de IL-6 no soro são considerados como um fator prognóstico para o CaP (184).

Em um estudo com ratos (198), a suplementação do licopeno puro reduziu a expressão local da IL-6 em CaP. Assim, este efeito pode significar mais um mecanismo envolvendo o licopeno na redução do risco para o CaP.

1.5.6.7 Indução das enzimas de fase II

A indução das enzimas da fase II representa um papel crucial no fornecimento da primeira barreira contra agentes tóxicos de baixo peso molecular, incluindo carcinógenos exógenos (205). O silenciamento da enzima de fase II glutationa-S-transferase $\pi 1$ (GSTP1) por promover metilação ocorre muito frequentemente no CaP (206). Contudo, o silenciamento da GSTP1 tem sido detectado em células das lesões de PIA (207).

O licopeno aumenta a atividade das enzimas da fase II glutathiona peroxidase, GSTP1 e glutathiona redutase, bem como, os níveis de hormônios das gônadas sexuais em vários modelos animais (208-210).

A co-regulação de genes codificantes das enzimas de fase II e o sistema de defesa oxidativo são mediados via elemento de resposta-antioxidante na ativação destes genes (211).

Ainda não é claro como o licopeno induz enzimas de fase II. Um mecanismo antioxidante é concebível. Frequentemente, o mesmo conjunto de reações redox é responsável para ativação ou detoxificação de carcinógenos e muitos inibidores da iniciação do câncer objetivam estas reações (212).

1.5.6.8 Inibição da sinalização e ativação androgênica

Andrógenos são hormônios esteróides responsáveis pelo fenótipo masculino (213). Há evidências, sugerindo que andrógenos possuem influência no desenvolvimento de CaP (214).

Estudos da biologia da próstata sugerem que a 5- α -diidrotestosterona é o principal andrógeno responsável pelo crescimento tumoral benigno e maligno da próstata. A 5- α -diidrotestosterona é produzida a partir do esteróide testosterona através da ação da enzima 5- α -redutase. Em caso da expressão elevada da desidrogenase 3- α -hidroxiesteróide oxidativa, esta pode ser formada da 3- α -androstanediol (215).

A 5- α -redutase ocorre em duas isoformas, I e II. Na próstata saudável, ambas isoformas são expressas (216), sendo a isoforma tipo II predominante (217, 218). Já, nas linhagens celulares do CaP DU-145 e PC-3, a 5- α -redutase I é muito

expressa (219). Já a expressão da 5- α -redutase II é menor em amostras de CaP que em amostras de HPB (220). A função da 5- α -redutase no CaP é evidente, já que foi observado que a próstata em homens com deficiência desta enzima é hipoplásica e não desenvolve CaP (217, 221, 222).

Foi encontrado que o licopeno reduziu a expressão da 5- α -redutase I em tumores prostáticos em ratos *MatLyLu Dunning* e, não foi detectada a expressão de 5- α -redutase II nos tumores. Como consequência, vários genes alvos de andrógenos tiveram sua expressão drasticamente reduzida nestes tumores. Dentre esses, estão os genes de cistatina relacionada à proteína 1 e 2, proteína ligadora-espermina prostática, proteína ligadora-esteróide prostática de cadeia C1, C2 e C3 e probasina. Deste modo foi mostrado, pela primeira vez, que o licopeno suprime a chave do caminho para o desenvolvimento do CaP e da HPB. A supressão da sinalização de andrógenos foi acompanhada com aumento da taxa de necrose dos tumores prostáticos, como demonstrados por ressonância magnética *in vivo* em ratos *MatLyLu Dunning* (198).

Privação de andrógenos é uma terapia de escolha contra o CaP. Além disso, anti-andrógenos estão entre os agentes quimiopreventivos promissores (223), desde que estudos epidemiológicos sugeriram fortemente que a castração prévia na idade de 40 anos previne tanto a HPB como o CaP (222). Deste modo os achados comprovam um mecanismo promissor para explicar os benefícios do licopeno na prevenção do CaP (184).

Desde a formação de CaP em modelos de ratos com o tratamento exógeno de testosterona (167), o caminho pelo qual o licopeno age, é constantemente ativado. Em um sistema que é inundado com níveis supra-fisiológicos de testosterona, é esperado que o efeito anti-androgênico local do licopeno se torne superior (184).

Não somente o licopeno afeta o metabolismo androgênico na próstata, os andrógenos também influenciam nos níveis de licopeno. Boileau *et al.* (151, 224) encontraram que o licopeno era acumulado em maior quantidade no fígado de ratos castrados comparado a fígado de ratos intactos.

Concluindo, os dados obtidos em animais sugerem que o licopeno possui um efeito anti-androgênico na próstata (167).

Há alguns relatos de ensaios clínicos para o estudo do licopeno em curto período em pacientes com CaP ou HBP. Os dados demonstraram que o licopeno ou tomates e seus alimentos derivados, reduziram os níveis de PSA (157, 158, 165, 166, 225). O gene codificante do PSA é um dos bem conhecidos genes alvos de andrógenos (226). Assim, a diminuição dos níveis plasmáticos de PSA pode significar um efeito anti-androgênico do licopeno na próstata humana e, com isso, ter potencial de prevenção do CaP (184).

1.5.6.9 Mecanismos de interação dos efeitos do licopeno e perspectivas

Tem sido descrita uma variedade de eventos induzidos por licopeno, que resultam em redução da proliferação e aumento da defesa oxidativa em nível celular (Figura 5). A cascata de eventos moleculares, contudo, não é conhecida. O licopeno, devido ao seu caráter lipofílico, é esperado na membrana celular. O primeiro efeito molecular do licopeno, o qual inicia uma série de mudanças celulares, não foi ainda sido definido. Também, ainda não está determinado se o licopeno media estes efeitos por função antioxidante ou por outros mecanismos desconhecidos (184).

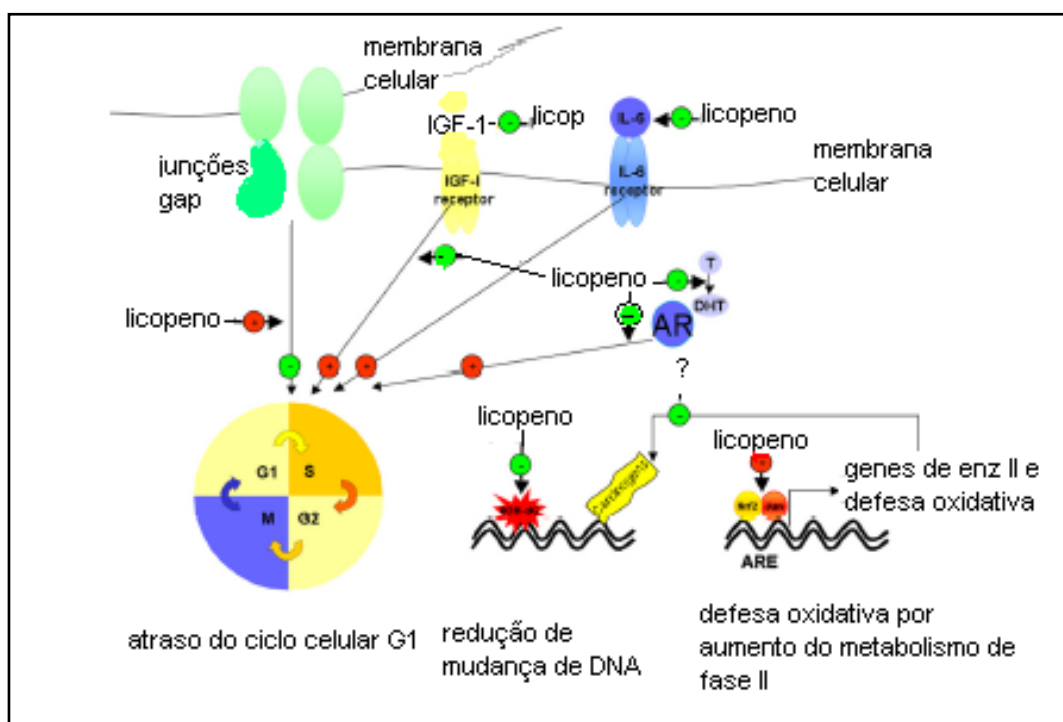


Figura 5. Modelos de ação propostos do licopeno para redução do risco de CaP

O licopeno atrasa a progressão da fase G1 do ciclo celular por diferentes mecanismos. Contudo, o licopeno reduz a mudança de DNA oxidativa, como mostrado pela prevalência reduzida de 8-OH-dG. Licopeno também induz gene de defesa oxidativa e promove metabolismo da fase II, o qual é envolvido na detoxificação da carcinogênese. Já que a ação carcinogênica frequentemente envolve a formação de DNA mutagênico, o licopeno pode também reduzir a mutação de DNA via aumento do metabolismo da fase II. IGF-1 (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina-1), IL-6 (Interleucina-6), AR (Receptor de Andrógenos), T (Testosterona), DHT (5- α -diidrotestosterona), 8-OH-dG (8-hidroxi-2'-dioxiguanosina), ARE (Elementos de Resposta-Antioxidante).

Fonte: Wertz K *et al.*, 2004 (184)

A indução de enzimas da fase II, bem como genes de defesa oxidativa via *trans*-ativação de elementos de resposta-antioxidante, podem ser mediados por mecanismos antioxidantes. O licopeno pode também contribuir para redução da sinalização de fator de crescimento por função antioxidante. A sinalização através do receptor tirosina quinase e IGF-1 envolvem a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (227). Conseqüentemente, a ativação durante a geração de EROs do receptor trans-membrana da tirosina quinase poderia ser bem reduzida por moléculas de licopeno. Pode ser esperado que cada efeito possa inibir a sinalização do fator de crescimento e subsequente proliferação celular (184).

Também foi relatado que a sinalização androgênica pode causar geração de EROs (228). Neste caso, não são gerados EROs durante a sinalização, mas provavelmente, são conseqüências indiretas do metabolismo celular estimulado e do consumo de oxigênio. Todavia, antioxidantes podem inibir tardiamente eventos sinalizadores de indução-androgênica, os quais são associados com o estresse oxidativo e regulam eventos inflamatórios e proliferativos (229).

O licopeno também poderia agir por mecanismos independentes da função antioxidante. Possíveis modelos de ação incluem mudanças na fluidez da membrana e interação do licopeno com proteínas de trans-membrana, assim como proteínas transportadoras ou transdutores de sinal. Licopeno poderia também agir através de metabólitos; contudo, nenhum metabólito tem sido detectado em altas concentrações na próstata *in vivo* (184).

Vários genes são regulados pelo licopeno. Mas não é conhecido se as mudanças relatadas são induzidas individualmente e convergidas para induzir atraso de crescimento celular, ou se genes e proteínas, regulados por licopeno, poderiam se organizar em um caminho, aonde as mudanças moleculares observadas influenciariam umas às outras. Dados publicados na literatura, realmente, sugerem mecanismos ligados entre IGF-1, IL-6, comunicação juncional do tipo gap e sinalização androgênica (230-233).

1.5.7 Consumo de licopeno na prática nutricional

O licopeno, como os demais carotenóides, se encontra em maiores quantidades na casca dos alimentos, aumentando consideravelmente durante seu amadurecimento. Sua concentração é maior nos alimentos produzidos em regiões de climas quentes (234).

Segundo Rao *et al.* (235), a média de ingestão de licopeno, verificada por meio de questionários de frequência alimentar, foi de 25 mg/dia, com 50% desta ingestão representada por tomates frescos. Considerando que os tomates frescos tem licopeno menos biodisponíveis que os tomates processados, os autores concluíram que uma maior ingestão de tomates processados seria aconselhada. Desta forma, Rao e Agarwal (236) sugerem que o valor de 35 mg/dia seria uma ingestão média diária apropriada de licopeno. Já, a *American Dietetic Association* recomenda 30 mg/dia de licopeno (237).

2 JUSTIFICATIVA

A maioria dos estudos sobre ingestão de tomates e derivados em relação com a saúde da próstata em humanos são observacionais e fazem uma relação com o CaP. Alguns ensaios clínicos publicados utilizando a suplementação de licopeno ou produtos derivados de tomates também fazem mais relação com o CaP, encontramos apenas três ensaios clínicos que relacionam o consumo de tomates ou suplementação de licopeno com a HPB: um não controlado utilizando extrato de tomate (157) e dois ensaios clínicos duplo-cego randomizado utilizando suplemento de licopeno (158, 159), porém a análise de dados deste último ainda está em andamento. Em função disso propomos um ensaio clínico randomizado para estudar o efeito de um produto à base de tomates e também a suplementação de licopeno sobre desfechos clínicos e bioquímicos em pacientes com HPB.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

Comparar os níveis séricos de PSA total após a ingestão de licopeno, dieta com extrato de tomate ou placebo, em pacientes com HPB.

3.2 Objetivos específicos

Comparar o efeito da ingestão de licopeno, dieta com extrato de tomate ou placebo, nas seguintes variáveis de pacientes com HPB:

- Níveis séricos de PSA livre, testosterona total, IGF-1 e licopeno;
- Sintomas relacionados ao prostatismo e o Índice de Qualidade de Vida (IQV) (Apêndice-E);
- Fluxo urinário.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Netto Júnior NR, Wroclawski ER. Urologia: fundamentos para o clínico. São Paulo: Sarvier; 2000.
2. Edinger M, Koff WJ, Furlanetto TW. Consumption of Tomato Paste and Benign Prostate Hyperplasia. In: Preedy VR, Watson RR (Org.). Tomatoes and Tomato Products Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties. London: Science Publishers, 2008. p. 413-429. .
3. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. J Urol 1984;132(3):474-9.
4. Brasil, Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Estimativa: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2010. Disponível em: <<http://www.inca.org.br>>; Acesso em: 27 nov. 2009.
5. McNeal JE. Regional morphology and pathology of the prostate. Am J Clin Pathol 1968;49(3):347-57.
6. Lepor H. Pathophysiology, epidemiology, and natural history of benign prostatic hyperplasia. Rev Urol 2004;6 Suppl 9:S3-S10.
7. Lee C, Kozlowski JM, Grayhack JT. Etiology of benign prostatic hyperplasia. Urol Clin North Am 1995;22(2):237-46.
8. Rassweiler J, Teber D, Kuntz R, Hofmann R. Complications of Transurethral Resection of the Prostate (TURP)-Incidence, Management, and Prevention. Eur Urol 2006.
9. Furuya S, Furuya R, Ogura H, Araki T, Arita T. [A study of 4,031 patients of transurethral resection of the prostate performed by one surgeon: learning curve, surgical results and postoperative complications]. Hinyokika Kyo 2006;52(8):609-14.
10. Suaid HJ, Goncalves MA, Rodrigues AA, Jr., Cunha JP, Cologna AJ, Martins AC. Estimated costs of treatment of benign prostate hyperplasia in Brazil. Int Braz J Urol 2003;29(3):234-7.
11. Stephan DA, Howell GR, Teslovich TM, Coffey AJ, Smith L, Bailey-Wilson JE, et al. Physical and transcript map of the hereditary prostate cancer region at xq27. Genomics 2002;79(1):41-50.

12. Rothman N, Wacholder S, Caporaso NE, Garcia-Closas M, Buetow K, Fraumeni JF, Jr. The use of common genetic polymorphisms to enhance the epidemiologic study of environmental carcinogens. *Biochim Biophys Acta* 2001;1471(2):C1-10.
13. Parkin DM, Muir CS. Cancer Incidence in Five Continents. Comparability and quality of data. *IARC Sci Publ* 1992(120):45-173.
14. Zaridze DG, Boyle P, Smans M. International trends in prostatic cancer. *Int J Cancer* 1984;33(2):223-30.
15. Zaridze DG, Boyle P. Cancer of the prostate: epidemiology and aetiology. *Br J Urol* 1987;59(6):493-502.
16. Giovannucci E. How is individual risk for prostate cancer assessed? *Hematol Oncol Clin North Am* 1996;10(3):537-48.
17. Brasil, Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Atlas de Mortalidade por câncer no Brasil 1979-1999. Rio de Janeiro: INCA, 2002. Disponível em: <<http://inca.org.br>>;Acesso em: 10 out. 2009.
18. Brasil, Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Câncer da próstata: consenso. Rio de Janeiro: INCA, 2002. Disponível em: <<http://inca.org.br>>;Acesso em: 22 fev. 2005.
19. SBU. I Consenso Brasileiro - Câncer de Próstata: Ed BG Cultural; 1998.
20. Aquilina JW, Lipsky JJ, Bostwick DG. Androgen deprivation as a strategy for prostate cancer chemoprevention. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(10):689-96.
21. Rizner TL, Lin HK, Penning TM. Role of human type 3 3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C2) in androgen metabolism of prostate cancer cells. *Chem Biol Interact* 2003;143-144:401-9.
22. Brasil, Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Tipos de câncer: câncer de próstata. Rio de Janeiro: INCA, 2005. Disponível em: <<http://inca.org.br>>;Acesso em: 04 mar. 2009.
23. Etzioni R, Legler JM, Feuer EJ, Merrill RM, Cronin KA, Hankey BF. Cancer surveillance series: interpreting trends in prostate cancer--part III: Quantifying the link between population prostate-specific antigen testing and recent declines in prostate cancer mortality. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(12):1033-9.
24. Roehrborn CG, Gregory A, McConnell JD, Sagalowsky AI, Wians FH, Jr. Comparison of three assays for total serum prostate-specific antigen and percentage of free prostate-specific antigen in predicting prostate histology. *Urology* 1996;48(6A Suppl):23-32.
25. Polascik TJ, Oesterling JE, Partin AW. Prostate specific antigen: a decade of discovery--what we have learned and where we are going. *J Urol* 1999;162(2):293-306.
26. Oesterling JE. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 1991;145(5):907-23.
27. Brawer MK. Prostate-specific antigen. *Semin Surg Oncol* 2000;18(1):3-9.

28. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 1979;17(2):159-63.
29. Kuriyama M, Wang MC, Papsidero LD, Killian CS, Shimano T, Valenzuela L, et al. Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enzyme immunoassay. *Cancer Res* 1980;40(12):4658-62.
30. Yousef GM, Diamandis EP. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev* 2001;22(2):184-204.
31. Deperthes D, Marceau F, Frenette G, Lazure C, Tremblay RR, Dube JY. Human kallikrein hK2 has low kininogenase activity while prostate-specific antigen (hK3) has none. *Biochim Biophys Acta* 1997;1343(1):102-6.
32. Lundwall A, Lilja H. Molecular cloning of human prostate specific antigen cDNA. *FEBS Lett* 1987;214(2):317-22.
33. Takayama TK, Fujikawa K, Davie EW. Characterization of the precursor of prostate-specific antigen. Activation by trypsin and by human glandular kallikrein. *J Biol Chem* 1997;272(34):21582-8.
34. Nelson PS, Gan L, Ferguson C, Moss P, Gelinias R, Hood L, et al. Molecular cloning and characterization of prostase, an androgen-regulated serine protease with prostate-restricted expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(6):3114-9.
35. Hobisch A, Culig Z, Radmayr C, Bartsch G, Klocker H, Hittmair A. Distant metastases from prostatic carcinoma express androgen receptor protein. *Cancer Res* 1995;55(14):3068-72.
36. Lilja H. Structure, function, and regulation of the enzyme activity of prostate-specific antigen. *World J Urol* 1993;11(4):188-91.
37. Bostwick DG. Prostate-specific antigen. Current role in diagnostic pathology of prostate cancer. *Am J Clin Pathol* 1994;102(4 Suppl 1):S31-7.
38. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem* 1991;37(9):1618-25.
39. Christensson A, Lilja H. Complex formation between protein C inhibitor and prostate-specific antigen in vitro and in human semen. *Eur J Biochem* 1994;220(1):45-53.
40. Vessella RL, Lange PH. Issues in the assessment of prostate-specific antigen immunoassays. An update. *Urol Clin North Am* 1997;24(2):261-8.
41. Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 1991;51(1):222-6.
42. Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ. Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol* 2003;21(2):383-91.

43. Lechevallier E, Eghazarian C, Ortega JC, Roux F, Coulange C. Effect of digital rectal examination on serum complexed and free prostate-specific antigen and percentage of free prostate-specific antigen. *Urology* 1999;54(5):857-61.
44. Stein AC. Detecção de auto-anticorpos antiPSA em pacientes submetidos a um programa para rastreamento de câncer de próstata. Porto Alegre: UFRGS, 2003. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2003.
45. Cohen P, Graves HC, Peehl DM, Kamarei M, Giudice LC, Rosenfeld RG. Prostate-specific antigen (PSA) is an insulin-like growth factor binding protein-3 protease found in seminal plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75(4):1046-53.
46. Cohen P, Peehl DM, Graves HC, Rosenfeld RG. Biological effects of prostate specific antigen as an insulin-like growth factor binding protein-3 protease. *J Endocrinol* 1994;142(3):407-15.
47. Mantzoros CS, Tzonou A, Signorello LB, Stampfer M, Trichopoulos D, Adami HO. Insulin-like growth factor 1 in relation to prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Br J Cancer* 1997;76(9):1115-8.
48. Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, Gann PH, Ma J, Wilkinson P, et al. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. *Science* 1998;279(5350):563-6.
49. Webber MM, Waghray A, Bello D. Prostate-specific antigen, a serine protease, facilitates human prostate cancer cell invasion. *Clin Cancer Res* 1995;1(10):1089-94.
50. Fong CJ, Sherwood ER, Braun EJ, Berg LA, Lee C, Kozlowski JM. Regulation of prostatic carcinoma cell proliferation and secretory activity by extracellular matrix and stromal secretions. *Prostate* 1992;21(2):121-31.
51. Yoshida E, Ohmura S, Sugiki M, Maruyama M, Mihara H. Prostate-specific antigen activates single-chain urokinase-type plasminogen activator. *Int J Cancer* 1995;63(6):863-5.
52. Koeneman KS, Yeung F, Chung LW. Osteomimetic properties of prostate cancer cells: a hypothesis supporting the predilection of prostate cancer metastasis and growth in the bone environment. *Prostate* 1999;39(4):246-61.
53. Killian CS, Corral DA, Kawinski E, Constantine RI. Mitogenic response of osteoblast cells to prostate-specific antigen suggests an activation of latent TGF-beta and a proteolytic modulation of cell adhesion receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;192(2):940-7.
54. Iwamura M, Hellman J, Cockett AT, Lilja H, Gershagen S. Alteration of the hormonal bioactivity of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) as a result of limited proteolysis by prostate-specific antigen. *Urology* 1996;48(2):317-25.
55. Heidtmann HH, Nettelbeck DM, Mingels A, Jager R, Welker HG, Kontermann RE. Generation of angiostatin-like fragments from plasminogen by prostate-specific antigen. *Br J Cancer* 1999;81(8):1269-73.
56. Fortier AH, Nelson BJ, Grella DK, Holaday JW. Antiangiogenic activity of prostate-specific antigen. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(19):1635-40.

57. Gohagan JK, Prorok PC, Hayes RB, Kramer BS. The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial of the National Cancer Institute: history, organization, and status. *Control Clin Trials* 2000;21(6 Suppl):251S-272S.
58. Kramer BS, Brown ML, Prorok PC, Potosky AL, Gohagan JK. Prostate cancer screening: what we know and what we need to know. *Ann Intern Med* 1993;119(9):914-23.
59. Labrie F, Dupont A, Suburu R, Cusan L, Tremblay M, Gomez JL, et al. Serum prostate specific antigen as pre-screening test for prostate cancer. *J Urol* 1992;147(3 Pt 2):846-51; discussion 851-2.
60. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *Jama* 1993;270(8):948-54.
61. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1987;317(15):909-16.
62. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol* 1994;151(5):1283-90.
63. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. *Jama* 1995;273(4):289-94.
64. Schroder FH, van der Crujisen-Koeter I, de Koning HJ, Vis AN, Hoedemaeker RF, Kranse R. Prostate cancer detection at low prostate specific antigen. *J Urol* 2000;163(3):806-12.
65. Oesterling JE, Cooner WH, Jacobsen SJ, Guess HA, Lieber MM. Influence of patient age on the serum PSA concentration. An important clinical observation. *Urol Clin North Am* 1993;20(4):671-80.
66. Morgan TO, Jacobsen SJ, McCarthy WF, Jacobson DJ, McLeod DG, Moul JW. Age-specific reference ranges for prostate-specific antigen in black men. *N Engl J Med* 1996;335(5):304-10.
67. Stefani SD, Barros E, colaboradores. *Clínica Médica: consulta rápida*. Porto Alegre: Artmed; 2002.
68. Benson MC, Whang IS, Pantuck A, Ring K, Kaplan SA, Olsson CA, et al. Prostate specific antigen density: a means of distinguishing benign prostatic hypertrophy and prostate cancer. *J Urol* 1992;147(3 Pt 2):815-6.
69. Carter HB, Morrell CH, Pearson JD, Brant LJ, Plato CC, Metter EJ, et al. Estimation of prostatic growth using serial prostate-specific antigen measurements in men with and without prostate disease. *Cancer Res* 1992;52(12):3323-8.
70. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *Jama* 1998;279(19):1542-7.

71. Harris CH, Dalkin BL, Martin E, Marx PC, Ahmann FR. Prospective longitudinal evaluation of men with initial prostate specific antigen levels of 4.0 ng./ml. or less. *J Urol* 1997;157(5):1740-3.
72. Shike M, Latkany L, Riedel E, Fleisher M, Schatzkin A, Lanza E, et al. Lack of effect of a low-fat, high-fruit, -vegetable, and -fiber diet on serum prostate-specific antigen of men without prostate cancer: results from a randomized trial. *J Clin Oncol* 2002;20(17):3592-8.
73. Suzuki S, Platz EA, Kawachi I, Willett WC, Giovannucci E. Intakes of energy and macronutrients and the risk of benign prostatic hyperplasia. *Am J Clin Nutr* 2002;75(4):689-97.
74. Bravi F, Bosetti C, Dal Maso L, Talamini R, Montella M, Negri E, et al. Macronutrients, fatty acids, cholesterol, and risk of benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2006;67(6):1205-11.
75. Bravi F, Bosetti C, Dal Maso L, Talamini R, Montella M, Negri E, et al. Food groups and risk of benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2006;67(1):73-9.
76. Lagiou P, Wu J, Trichopoulou A, Hsieh CC, Adami HO, Trichopoulos D. Diet and benign prostatic hyperplasia: a study in Greece. *Urology* 1999;54(2):284-90.
77. Nelson WG, DeMarzo AM, DeWeese TL. The molecular pathogenesis of prostate cancer: focus on the earliest steps. *Eur Urol* 2001;39 Suppl 4:8-11.
78. Heber D. Prostate enlargement: the canary in the coal mine? *Am J Clin Nutr* 2002;75(4):605-6.
79. World Cancer Research Fund. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC: American Institute for Cancer Research, 2007.
80. Nutritional aspects of the development of cancer. Report of the Working Group on Diet and Cancer of the Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy. *Rep Health Soc Subj (Lond)* 1998;48:i-xiv, 1-274.
81. Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* 1975;15(4):617-31.
82. West DW, Slattery ML, Robison LM, French TK, Mahoney AW. Adult dietary intake and prostate cancer risk in Utah: a case-control study with special emphasis on aggressive tumors. *Cancer Causes Control* 1991;2(2):85-94.
83. Graham S, Haughey B, Marshall J, Priore R, Byers T, Rzepka T, et al. Diet in the epidemiology of carcinoma of the prostate gland. *J Natl Cancer Inst* 1983;70(4):687-92.
84. Heshmat MY, Kaul L, Kovi J, Jackson MA, Jackson AG, Jones GW, et al. Nutrition and prostate cancer: a case-control study. *Prostate* 1985;6(1):7-17.
85. Michaud DS, Augustsson K, Rimm EB, Stampfer MJ, Willet WC, Giovannucci E. A prospective study on intake of animal products and risk of prostate cancer. *Cancer Causes Control* 2001;12(6):557-67.

86. Giovannucci E, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Ascherio A, Chute CC, et al. A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(19):1571-9.
87. Byers T. What can randomized controlled trials tell us about nutrition and cancer prevention? *CA Cancer J Clin* 1999;49(6):353-61.
88. Klein EA, Thompson IM, Lippman SM, Goodman PJ, Albanes D, Taylor PR, et al. SELECT: the next prostate cancer prevention trial. Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. *J Urol* 2001;166(4):1311-5.
89. Block G, Sinha R, Gridley G. Collection of dietary-supplement data and implications for analysis. *Am J Clin Nutr* 1994;59(1 Suppl):232S-239S.
90. Gann PH, Ma J, Giovannucci E, Willett W, Sacks FM, Hennekens CH, et al. Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. *Cancer Res* 1999;59(6):1225-30.
91. 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;151(2):109-18.
92. Daviglus ML, Dyer AR, Persky V, Chavez N, Drum M, Goldberg J, et al. Dietary beta-carotene, vitamin C, and risk of prostate cancer: results from the Western Electric Study. *Epidemiology* 1996;7(5):472-7.
93. Swinbanks D, O'Brien J. Japan explores the boundary between food and medicine. *Nature* 1993;364(6434):180.
94. Arai S. Studies on functional foods in Japan--state of the art. *Biosci Biotechnol Biochem* 1996;60(1):9-15.
95. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Brasília: Diário Oficial da União de 03 de maio de 1999.
96. Arai S, Morinaga Y, Yoshikawa T, Ichiishi E, Kiso Y, Yamazaki M, et al. Recent trends in functional food science and the industry in Japan. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002;66(10):2017-29.
97. Barret LCR, Chitarra MIF, Chitarra AB. Choque a frio e atmosfera modificada no aumento da vida pós colheita de tomates: 2- coloração e textura. *Cien Tecn Alim* 1994;14(1):14-26.
98. Minami K, Homero F. Tomate - Produção, Pré-Processamento e Transformação Agroindustrial. São Paulo: Fealq; 1983.
99. Silva JBC, Giordano LB. Tomate para processamento industrial. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; 2000.
100. Garcia-Cruz CH, Hoffmann FL, Bueno SM, Vinturim TM. Análise microbiológica de "catchup". *Hig Alim* 1997;11(52):43-6.
101. Gann PH, Khachik F. Tomatoes or lycopene versus prostate cancer: is evolution anti-reductionist? *J Natl Cancer Inst* 2003;95(21):1563-5.

102. Shi J, Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2000;40(1):1-42.
103. Mangels AR, Holden JM, Beecher GR, Forman MR, Lanza E. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *J Am Diet Assoc* 1993;93(3):284-96.
104. Ely D, Lakus F, Brinques G. Catchup: evaporação. In: Nitzke, JA. A feira. Porto Alegre: UFRGS; 2001.
105. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - CNNPA nº 12, de 1978. Normas Técnicas Especiais. Brasília: Diário Oficial da União de 24 de julho de 1978.
106. Curl AL. The xanthophylls of tomatoes. *J Food Sci* 1961;26:106-11.
107. Hart DJ, Scott KJ. Development and evaluation of HPLC method for the analysis of carotenoid in foods, and the measurement of carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chem* 1995;54:101-11.
108. Gartner C, Stahl W, Sies H. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *Am J Clin Nutr* 1997;66(1):116-22.
109. Pimentel FA. Efeito do processamento térmico da disponibilidade de licopeno em produtos processados de tomate. Porto Alegre: UFRGS/ICTA, 2003. Monografia para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2003.
110. Tonucci LH, Holden JM, Beecher GR, Khachik F, Davis C, Mulokozi G. Carotenoid content of thermally processed tomato-based food products. *J Agric Food Chem* 1995;43:579-86.
111. Nguyen ML, Schwartz SL. Lycopene: chemical and biological properties. *Food Techn* 1999;53(2):38-45.
112. Tavares CA, Rodrigues-Amaya DBR. Carotenoid composition of brazilian tomatoes and tomato products. *Leb Wis Techn* 1994;27:219-24.
113. Heinonen MI, Ollilainen V, Linkola EK, Varo PT, Koivistoinen PE. Carotenoids in Finnish foods, vegetables, fruits, and berries. *J Agric Food Chem* 1989;37:655-9.
114. D'Souza MC, Singha S, Ingle M. Lycopene concentration of tomato fruit can be estimated from chromaticity values. *HortScience* 1992;27:465-6.
115. Al-Wandawi H, Abdul-Rahman M, Al-Shaikhly K. Tomato processing waste as essential raw materials source. *J Agric Food Chem* 1985;33:804-7.
116. Rao AV, Fleshner N, Agarwal S. Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study. *Nutr Cancer* 1999;33(2):159-64.
117. 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(23):1767-76.

118. Clinton SK. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev* 1998;56(2 Pt 1):35-51.
119. Bramley PM. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 2000;54(3):233-6.
120. Bouvier F, Backhaus RA, Camara B. Induction and control of chromoplast-specific carotenoid genes by oxidative stress. *J Biol Chem* 1998;273(46):30651-9.
121. Harris WM. Chromoplasts of tomato fruits. III. The high-delta tomato. *Bot Gaz* 1970;131:163-6.
122. Khudairi AK. The ripening of tomatoes. *Am Sci* 1972;60:696-707.
123. Laval-Martin D. [Maturation of the cherry tomato fruit: evidence, by freeze-etched studies, of the evolution of chloroplasts in two classes of chromoplasts (author's transl)]. *Protoplasma* 1974;82(1):33-59.
124. Simpson DJ, Lee TH. Plastoglobules of leaf chloroplasts of two cultivars of *Capsicum annuum*. *Cytobios* 1976;15(58-59):139-47.
125. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? *Arch Biochem Biophys* 1996;336(1):1-9.
126. Arab L, Steck S. Lycopene and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2000;71(6 Suppl):1691S-5S; discussion 1696S-7S.
127. Djuric Z, Powell LC. Antioxidant capacity of lycopene-containing foods. *Int J Food Sci Nutr* 2001;52(2):143-9.
128. Takeoka GR, Dao L, Flessa S, Gillespie DM, Jewell WT, Huebner B, et al. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *J Agric Food Chem* 2001;49(8):3713-7.
129. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Cmaj* 2000;163(6):739-44.
130. Lee MT, Chen BH. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chem* 2002;78:425-32.
131. Nguyen ML, Schwartz SJ. Lycopene stability during food processing. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;218(2):101-5.
132. Schierle J, Bretzel W, Buhler I, Faccin N, Hess D, Steiner K, et al. Content and isomeric ratios of lycopene in food and human blood plasma. *Food Chem* 1997;59:459-65.
133. Porrini M, Riso P, Testolin G. Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato. *Br J Nutr* 1998;80(4):353-61.
134. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* 1992;122(11):2161-6.
135. Boileau TW, Boileau AC, Erdman JW, Jr. Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene. *Exp Biol Med (Maywood)* 2002;227(10):914-9.

136. Boileau AC, Merchen NR, Wasson K, Atkinson CA, Erdman JW, Jr. Cis-lycopene is more bioavailable than trans-lycopene in vitro and in vivo in lymph-cannulated ferrets. *J Nutr* 1999;129(6):1176-81.
137. Clinton SK, Emenhiser 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(10):823-33.
138. Erdman JW, Jr., Fahey GC, Jr., White CB. Effects of purified dietary fiber sources on beta-carotene utilization by the chick. *J Nutr* 1986;116(12):2415-23.
139. Weststrate JA, van het Hof KH. Sucrose polyester and plasma carotenoid concentrations in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1995;62(3):591-7.
140. Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr* 1998;52(5):334-43.
141. Elinder LS, Hadell K, Johansson J, Molgaard J, Holme I, Olsson AG, et al. Probuocol treatment decreases serum concentrations of diet-derived antioxidants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(8):1057-63.
142. Johnson EJ, Qin J, Krinsky NI, Russell RM. Ingestion by men of a combined dose of beta-carotene and lycopene does not affect the absorption of beta-carotene but improves that of lycopene. *J Nutr* 1997;127(9):1833-7.
143. Brady WE, Mares-Perlman JA, Bowen P, Stacewicz-Sapuntzakis M. Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and lifestyle factors. *J Nutr* 1996;126(1):129-37.
144. Ross MA, Crosley LK, Brown KM, Duthie SJ, Collins AC, Arthur JR, et al. Plasma concentrations of carotenoids and antioxidant vitamins in Scottish males: influences of smoking. *Eur J Clin Nutr* 1995;49(11):861-5.
145. Rao AV, Agarwal S. Effect of diet and smoking on serum lycopene and lipid peroxidation. *Nutr Res* (in Press) 1998.
146. Reddy V. Vitamin A status and dark green leafy vegetables. *Lancet* 1995;346(8990):1634-5; author reply 1635-6.
147. Gugger ET, Erdman JW, Jr. Intracellular beta-carotene transport in bovine liver and intestine is not mediated by cytosolic proteins. *J Nutr* 1996;126(5):1470-4.
148. Kaplan LA, Lau JM, Stein EA. Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem* 1990;8(1):1-10.
149. Stahl W, Schwarz W, Sundquist AR, Sies H. cis-trans isomers of lycopene and beta-carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Biophys* 1992;294(1):173-7.
150. Re R, Fraser PD, Long M, Bramley PM, Rice-Evans C. Isomerization of lycopene in the gastric milieu. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;281(2):576-81.
151. Boileau TW, Clinton SK, Erdman JW, Jr. Tissue lycopene concentrations and isomer patterns are affected by androgen status and dietary lycopene concentration in male F344 rats. *J Nutr* 2000;130(6):1613-8.

152. Khachik F, Beecher GR, Smith JC, Jr. Lutein, lycopene, and their oxidative metabolites in chemoprevention of cancer. *J Cell Biochem Suppl* 1995;22:236-46.
153. Khachik F, Spangler CJ, Smith JC, Jr., Canfield LM, Steck A, Pfander H. Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem* 1997;69(10):1873-81.
154. King TJ, Khachik F, Bortkiewicz H, Fukushima LH, Morioka S, Bertram JS. Metabolites of dietary carotenoids as potential cancer preventive agents. *Pure & Appl Chem* 1997;69(10):2135-40.
155. Kotake-Nara E, Kushiro M, Zhang H, Sugawara T, Miyashita K, Nagao A. Carotenoids affect proliferation of human prostate cancer cells. *J Nutr* 2001;131(12):3303-6.
156. Palan P, Naz R. Changes in various antioxidant levels in human seminal plasma related to immunoinfertility. *Arch Androl* 1996;36(2):139-43.
157. Edinger MS, Koff WJ. Effect of the consumption of tomato paste on plasma prostate-specific antigen levels in patients with benign prostate hyperplasia. *Braz J Med Biol Res* 2006;39(8):1115-9.
158. Schwarz S, Obermuller-Jevic UC, Hellmis E, Koch W, Jacobi G, Biesalski HK. Lycopene inhibits disease progression in patients with benign prostate hyperplasia. *J Nutr* 2008;138(1):49-53.
159. van Breemen RB. How do intermediate endpoint markers respond to lycopene in men with prostate cancer or benign prostate hyperplasia? *J Nutr* 2005;135(8):2062S-4S.
160. Mills PK, Beeson WL, Phillips RL, Fraser GE. Cohort study of diet, lifestyle, and prostate cancer in Adventist men. *Cancer* 1989;64(3):598-604.
161. Giovannucci E, Rimm EB, Liu Y, Stampfer MJ, Willett WC. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(5):391-8.
162. Tzonou A, Signorello LB, Laggiou P, Wu J, Trichopoulos D, Trichopoulou A. Diet and cancer of the prostate: a case-control study in Greece. *Int J Cancer* 1999;80(5):704-8.
163. Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL. Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(1):61-8.
164. 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 Engl J Med* 1996;334(18):1145-9.
165. Kucuk O, Sarkar FH, Sakr W, Djuric Z, Pollak MN, Khachik F, et al. Phase II randomized clinical trial of lycopene supplementation before radical prostatectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(8):861-8.
166. Bowen P, Chen L, Stacewicz-Sapuntzakis M, Duncan C, Sharifi R, Ghosh L, et al. Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 2002;227(10):886-93.

167. Boileau TW, Liao Z, Kim S, Lemeshow S, Erdman JW, Jr., Clinton SK. Prostate carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea (NMU)-testosterone-treated rats fed tomato powder, lycopene, or energy-restricted diets. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(21):1578-86.
168. Campbell JK, Canene-Adams K, Lindshield BL, Boileau TW, Clinton SK, Erdman JW, Jr. Tomato phytochemicals and prostate cancer risk. *J Nutr* 2004;134(12 Suppl):3486S-3492S.
169. 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(3):340-5.
170. Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med* 2003;24(6):345-51.
171. Shami NJIE, Moreira EAM. Licopeno como agente antioxidante. *Rev Nutr Campinas* 2004;17(2):227-36.
172. Cantrell A, McGarvey DJ, Truscott TG, Rancan F, Bohm F. Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment. *Arch Biochem Biophys* 2003;412(1):47-54.
173. Woodall AA, Lee SW, Weesie RJ, Jackson MJ, Britton G. Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochim Biophys Acta* 1997;1336(1):33-42.
174. Matos HR, Di Mascio P, Medeiros MH. Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. *Arch Biochem Biophys* 2000;383(1):56-9.
175. Rehman A, Bourne LC, Halliwell B, Rice-Evans CA. Tomato consumption modulates oxidative DNA damage in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;262(3):828-31.
176. Porrini M, Riso P. Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption. *J Nutr* 2000;130(2):189-92.
177. Obermuller-Jevic UC, Olano-Martin E, Corbacho AM, Eiserich JP, van der Vliet A, Valacchi G, et al. Lycopene inhibits the growth of normal human prostate epithelial cells in vitro. *J Nutr* 2003;133(11):3356-60.
178. Kim L, Rao AV, Rao LG. Effect of lycopene on prostate LNCaP cancer cells in culture. *J Med Food* 2002;5(4):181-7.
179. Hall AK. Liarozole amplifies retinoid-induced apoptosis in human prostate cancer cells. *Anticancer Drugs* 1996;7(3):312-20.
180. Karas M, Amir H, Fishman D, Danilenko M, Segal S, Nahum A, et al. Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signaling in mammary cancer cells. *Nutr Cancer* 2000;36(1):101-11.
181. Nahum A, Hirsch K, Danilenko M, Watts CK, Prall OW, Levy J, et al. Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27(Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes. *Oncogene* 2001;20(26):3428-36.

182. Amir H, Karas M, Giat J, Danilenko M, Levy R, Yermiahu T, et al. Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin D3 cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. *Nutr Cancer* 1999;33(1):105-12.
183. Pastori M, Pfander H, Boscoboinik D, Azzi A. Lycopene in association with alpha-tocopherol inhibits at physiological concentrations proliferation of prostate carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250(3):582-5.
184. Wertz K, Siler U, Goralczyk R. Lycopene: modes of action to promote prostate health. *Arch Biochem Biophys* 2004;430(1):127-34.
185. Kotake-Nara E, Kim SJ, Kobori M, Miyashita K, Nagao A. Acyclo-retinoic acid induces apoptosis in human prostate cancer cells. *Anticancer Res* 2002;22(2A):689-95.
186. Saez JC, Berthoud VM, Branes MC, Martinez AD, Beyer EC. Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions. *Physiol Rev* 2003;83(4):1359-400.
187. Mehta PP, Perez-Stable C, Nadji M, Mian M, Asotra K, Roos BA. Suppression of human prostate cancer cell growth by forced expression of connexin genes. *Dev Genet* 1999;24(1-2):91-110.
188. Habermann H, Ray V, Habermann W, Prins GS. Alterations in gap junction protein expression in human benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *J Urol* 2002;167(2 Pt 1):655-60.
189. Stahl W, von Laar J, Martin HD, Emmerich T, Sies H. Stimulation of gap junctional communication: comparison of acyclo-retinoic acid and lycopene. *Arch Biochem Biophys* 2000;373(1):271-4.
190. Livny O, Kaplan I, Reifen R, Polak-Charcon S, Madar Z, Schwartz B. Lycopene inhibits proliferation and enhances gap-junction communication of KB-1 human oral tumor cells. *J Nutr* 2002;132(12):3754-9.
191. Bertram JS, Pung A, Churley M, Kappock TJt, Wilkins LR, Cooney RV. Diverse carotenoids protect against chemically induced neoplastic transformation. *Carcinogenesis* 1991;12(4):671-8.
192. 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.
193. Zhang LX, Cooney RV, Bertram JS. Carotenoids up-regulate connexin43 gene expression independent of their provitamin A or antioxidant properties. *Cancer Res* 1992;52(20):5707-12.
194. Furstenberger G, Senn HJ. Insulin-like growth factors and cancer. *Lancet Oncol* 2002;3(5):298-302.
195. Pollak M. Insulin-like growth factors and prostate cancer. *Epidemiol Rev* 2001;23(1):59-66.
196. Kaplan PJ, Mohan S, Cohen P, Foster BA, Greenberg NM. The insulin-like growth factor axis and prostate cancer: lessons from the transgenic adenocarcinoma of mouse prostate (TRAMP) model. *Cancer Res* 1999;59(9):2203-9.

197. DiGiovanni J, Kiguchi K, Frijhoff A, Wilker E, Bol DK, Beltran L, et al. Deregulated expression of insulin-like growth factor 1 in prostate epithelium leads to neoplasia in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(7):3455-60.
198. Siler U, Barella L, Spitzer V, Schnorr J, Lein M, Goralczyk R, et al. Lycopene and vitamin E interfere with autocrine/paracrine loops in the Dunning prostate cancer model. *Faseb J* 2004;18(9):1019-21.
199. Mucci LA, Tamimi R, Laggiou P, Trichopoulou A, Benetou V, Spanos E, et al. Are dietary influences on the risk of prostate cancer mediated through the insulin-like growth factor system? *BJU Int* 2001;87(9):814-20.
200. Smith PC, Hobisch A, Lin DL, Culig Z, Keller ET. Interleukin-6 and prostate cancer progression. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001;12(1):33-40.
201. De Marzo AM, Meeker AK, Zha S, Luo J, Nakayama M, Platz EA, et al. Human prostate cancer precursors and pathobiology. *Urology* 2003;62(5 Suppl 1):55-62.
202. Putzi MJ, De Marzo AM. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology* 2000;56(5):828-32.
203. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol* 1999;155(6):1985-92.
204. Culig Z, Bartsch G, Hobisch A. Interleukin-6 regulates androgen receptor activity and prostate cancer cell growth. *Mol Cell Endocrinol* 2002;197(1-2):231-8.
205. Kwak MK, Egner PA, Dolan PM, Ramos-Gomez M, Groopman JD, Itoh K, et al. Role of phase 2 enzyme induction in chemoprotection by dithiolethiones. *Mutat Res* 2001;480-481:305-15.
206. Lee WH, Isaacs WB, Bova GS, Nelson WG. CG island methylation changes near the GSTP1 gene in prostatic carcinoma cells detected using the polymerase chain reaction: a new prostate cancer biomarker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;6(6):443-50.
207. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL, Epstein JI, Platz EA, Nelson WG, et al. Hypermethylation of the human glutathione S-transferase-pi gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: a detailed study using laser-capture microdissection. *Am J Pathol* 2003;163(3):923-33.
208. Breinholt V, Lauridsen ST, Daneshvar B, Jakobsen J. Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett* 2000;154(2):201-10.
209. Bhuvanewari V, Velmurugan B, Nagini S. Induction of glutathione-dependent hepatic biotransformation enzymes by lycopene in the hamster cheek pouch carcinogenesis model. *J Biochem Mol Biol Biophys* 2002;6(4):257-60.
210. Velmurugan B, Bhuvanewari V, Burra UK, Nagini S. Prevention of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and saturated sodium chloride-induced gastric carcinogenesis in Wistar rats by lycopene. *Eur J Cancer Prev* 2002;11(1):19-26.

211. Dhakshinamoorthy S, Long DJ, 2nd, Jaiswal AK. Antioxidant regulation of genes encoding enzymes that detoxify xenobiotics and carcinogens. *Curr Top Cell Regul* 2000;36:201-16.
212. Cantelli-Forti G, Hrelia P, Paolini M. The pitfall of detoxifying enzymes. *Mutat Res* 1998;402(1-2):179-83.
213. Brinkmann AO. Molecular basis of androgen insensitivity. *Mol Cell Endocrinol* 2001;179(1-2):105-9.
214. Brawley OW. Hormonal prevention of prostate cancer. *Urol Oncol* 2003;21(1):67-72.
215. Rizner TL, Lin HK, Peehl DM, Steckelbroeck S, Bauman DR, Penning TM. Human type 3 3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase (aldo-keto reductase 1C2) and androgen metabolism in prostate cells. *Endocrinology* 2003;144(7):2922-32.
216. Aumuller G, Eichel W, Renneberg H, Adermann K, Vilja P, Forssmann WG. Immunocytochemical evidence for differential subcellular localization of 5 alpha-reductase isoenzymes in human tissues. *Acta Anat (Basel)* 1996;156(4):241-52.
217. Imperato-McGinley J, Sanchez RS, Spencer JR, Yee B, Vaughan ED. Comparison of the effects of the 5 alpha-reductase inhibitor finasteride and the antiandrogen flutamide on prostate and genital differentiation: dose-response studies. *Endocrinology* 1992;131(3):1149-56.
218. Pelletier G, Luu-The V, Huang XF, Lapointe H, Labrie F. Localization by in situ hybridization of steroid 5alpha-reductase isozyme gene expression in the human prostate and preputial skin. *J Urol* 1998;160(2):577-82.
219. Negri-Cesi P, Colciago A, Poletti A, Motta M. 5alpha-reductase isozymes and aromatase are differentially expressed and active in the androgen-independent human prostate cancer cell lines DU145 and PC3. *Prostate* 1999;41(4):224-32.
220. Luo J, Dunn TA, Ewing CM, Walsh PC, Isaacs WB. Decreased gene expression of steroid 5 alpha-reductase 2 in human prostate cancer: implications for finasteride therapy of prostate carcinoma. *Prostate* 2003;57(2):134-9.
221. Bartsch G, Rittmaster RS, Klocker H. Dihydrotestosterone and the concept of 5alpha-reductase inhibition in human benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 2000;37(4):367-80.
222. Geller J, Sionit L. Castration-like effects on the human prostate of a 5 alpha-reductase inhibitor, finasteride. *J Cell Biochem Suppl* 1992;16H:109-12.
223. Kucuk O. Chemoprevention of prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2002;21(2):111-24.
224. Boileau TW, Clinton SK, Zaripheh S, Monaco MH, Donovan SM, Erdman JW, Jr. Testosterone and food restriction modulate hepatic lycopene isomer concentrations in male F344 rats. *J Nutr* 2001;131(6):1746-52.
225. Ansari MS, Gupta NP. A comparison of lycopene and orchidectomy vs orchidectomy alone in the management of advanced prostate cancer. *BJU Int* 2003;92(4):375-8; discussion 378.

226. Denmeade SR, Sokoll LJ, Dalrymple S, Rosen DM, Gady AM, Bruzek D, et al. Dissociation between androgen responsiveness for malignant growth vs. expression of prostate specific differentiation markers PSA, hK2, and PSMA in human prostate cancer models. *Prostate* 2003;54(4):249-57.
227. Aslan M, Ozben T. Oxidants in receptor tyrosine kinase signal transduction pathways. *Antioxid Redox Signal* 2003;5(6):781-8.
228. Ripple MO, Henry WF, Rago RP, Wilding G. Prooxidant-antioxidant shift induced by androgen treatment of human prostate carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(1):40-8.
229. Ripple MO, Henry WF, Schwarze SR, Wilding G, Weindruch R. Effect of antioxidants on androgen-induced AP-1 and NF-kappaB DNA-binding activity in prostate carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(14):1227-32.
230. Culig Z. Role of the androgen receptor axis in prostate cancer. *Urology* 2003;62(5 Suppl 1):21-6.
231. El Sheikh SS, Domin J, Abel P, Stamp G, Lalani el N. Androgen-independent prostate cancer: potential role of androgen and ErbB receptor signal transduction crosstalk. *Neoplasia* 2003;5(2):99-109.
232. Huynh HT, Alpert L, Laird DW, Batist G, Chalifour L, Alaoui-Jamali MA. Regulation of the gap junction connexin 43 gene by androgens in the prostate. *J Mol Endocrinol* 2001;26(1):1-10.
233. Lin D, Boyle DL, Takemoto DJ. IGF-I-induced phosphorylation of connexin 43 by PKCgamma: regulation of gap junctions in rabbit lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(3):1160-8.
234. Rodriguez-Amaya DB. Latin American food sources of carotenoids. *Arch Latinoam Nutr* 1999;49(3 Suppl 1):74S-84S.
235. Rao AV, Waseem Z, Agarwal S. Lycopene contents of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Res Intl* 1998;31:737-41.
236. Rao AV, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr* 2000;19(5):563-9.
237. Hasler CM, Bloch AS, Thomson CA, Enrione E, Manning C. Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *J Am Diet Assoc* 2004;104(5):814-26.
238. Srougi M. *Próstata: isso é com você*. São Paulo: Publifolha; 2003.
239. Berger M, Luz JPN, Neto BS, Koff WJ. Validação estatística do escore internacional de sintomas prostáticos (I-PSS) na língua portuguesa. *J Bras Urol* 1999;25:225-234.

5 ARTIGO EM LÍNGUA INGLESA

O artigo apresenta-se nas normas da revista a qual foi enviado, com numeração de páginas próprias.

COVER LETTER.....	1
COVER PAGE.....	2
ABSTRACT.....	3
INTRODUCTION.....	4
PATIENTS AND METHODS.....	5
RESULTS.....	8
DISCUSSION.....	9
REFERENCES.....	9
FIGURE-1.....	13
FIGURE-2.....	14
FIGURE-3.....	15
TABLE-1.....	16

...

Dr. John Fitzpatrick
BJU International
47 Eccles Street, Dublin 7, Ireland
telephone +353 1 803 2098
fax +353 1 803 4389
e-mail editor.bjuint@mater.ie

Porto Alegre, October 30th, 2009

Dear Dr. Fitzpatrick:

The objective of the present is to submit a manuscript entitled “**Effect of lycopene and tomato paste on serum total and free PSA , testosterone, and IGF-1 levels and prostatic symptoms in patients with benign prostatic hyperplasia: A randomized controlled trial**”, to be published in the British Journal of Urology International.

We believe that this original work is appropriate for the **BJU International** and that its publication may contribute to the understanding of the effect of tomatoes and its derivatives on benign prostate hyperplasia.

All authors contributed substantially to the conception, design and writing of the manuscript and had approved the final version submitted for publication.

We look forward to your evaluation of this work.

Yours truly,

Magda de Souza Edinger – corresponding author (magdaed@terra.com.br)

Walter José Koff

Fairuz Helena Souza de Castro

Natália Kirsch Koff

Tania Weber Furlanetto

Effect of lycopene and tomato paste on serum total and free PSA, testosterone, and IGF-1 levels and prostatic symptoms in patients with benign prostatic hyperplasia: A randomized controlled trial

Magda de Souza Edinger^{1,2,*}

Walter José Koff^{1,2}

Fairuz Helena Souza de Castro²

Natália Kirsch Koff²

Tania Weber Furlanetto^{1,2}

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Program of Graduate Studies in Medicine: Medical Sciences

² Hospital de Clínicas de Porto Alegre: Urology Division

Correspondence*

Rua Demétrio Ribeiro, 244/ap 603, Centro

Porto Alegre – RS – Brazil CEP: 90010-312

E-mail: magdaed@terra.com.br

ABSTRACT

In a randomized, controlled trial, we studied 156 men aged 45 to 75 years, with histological diagnosis of benign prostatic hyperplasia (BPH) and serum prostate specific antigen (PSA) levels ranging between 4 and 10 ng/ml. Three treatment groups were formed: lycopene (15 mg/day), tomato paste (50 g/day), and placebo. After 10 weeks, no significant results were found for the primary outcome, which comprised serum total PSA levels. However, the only treatment group in which the serum total PSA levels did not increase was the tomato paste group. There was a decrease ($p = 0.005$) in mean serum free PSA levels between the group that received tomato paste (1.27 ± 0.64 ng/ml to 1.08 ± 0.50 ng/ml) and the group that received lycopene (from 1.16 ± 0.54 ng/ml to 1.33 ± 0.93 ng/ml). The other secondary outcomes, i.e., serum insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and total testosterone levels and symptoms related to prostatism and quality of life (QOL) were similar among the three groups after treatment. In this study, there were effects of the three treatment groups on subjective variables, indicating a placebo effect. The reduction in mean serum free PSA levels in patients who consumed the tomato paste, in comparison with patients treated with lycopene, may be due to a protective effect of another substance present in food on the prostate cells. In conclusion, in this study, we observed reduction of mean serum free PSA levels in patients who used tomato paste, in comparison with the group that received lycopene. Clinical trials comparing subjects consuming tomato paste with individuals that restrict this food item for a longer period may be useful to determine whether tomato paste has an impact on clinical outcomes in men with BPH.

Keywords: benign prostatic hyperplasia, prostate cancer, tomato products, lycopene, serum prostate specific antigen.

INTRODUCTION

The prostate is the organ where the two diseases that most affect males occur: benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate cancer (PCa) [1, 2]. Although mortality from BPH is low, around 0 to 0.25 %, this disease affects quality of life [3, 4] and has a high cost. The cost of its treatment in Brazil is estimated at 2.26 to 3.83 billion dollars per year [5].

BPH is the most prevalent prostate disease, with approximately 50 % of men having histologic evidence of BPH at 50 years and 90% at 80 years of age. It is considered a progressive disease, with continued growth, intensification of symptoms, and increased risk of complications over time. [6]. It begins at the transition zone, or periurethral zone, under the influence of 5- α -dihydrotestosterone (DHT), which acts on the epithelium of ducts and acini. Substances such as epidermal growth factor, fibroblast growth factor, vascular growth factor, insulin-like growth factor 1 (IGF-1), and others stimulate hyperplasia of the prostate [7, 8].

Dietary and nutritional factors can act on the prostate through a variety of mechanisms not yet fully understood [9-13]. Many studies have associated the consumption of tomatoes and their derivatives with benefits to the prostate health, especially by reducing the risk of PCa [14]. Lycopene, the main carotenoid in tomatoes, is hypothesized to be responsible for a direct effect on the prostate [15, 16]. However, there are indications that tomatoes may have other compounds in addition to lycopene, which may influence prostate carcinogenesis [17].

The amount of lycopene in fresh tomatoes depends on the variety, degree of maturation, and environmental conditions under which the fruit is ripened [18]. However, industrially processed tomatoes or cooked tomatoes have higher amounts of bioavailable lycopene [19]. The thermal process breaks the cell wall and allows for the extraction of lycopene from chromoplasts [20]. The serum lycopene concentration was found to be higher in those who consumed tomato products processed by heat than those who consumed fresh tomatoes [19].

There are several mechanisms of action proposed for lycopene effects on the prostate, including IGF-1 signal transduction, signaling inhibition, and transduction activation [15]. The latter is perhaps of greater importance, as male hormones have significant influence on the development of BPH and PCa [7, 21].

Serum IGF-1 levels were associated with increased risk for various cancers, including PCa [22, 23] and BPH [8]. In an experimental animal PCa model, called MatLyLu Dunning, local IGF-1 expression in prostate tumors decreased with the

supplementation of lycopene, 200 ppm, in the diet [24]. On the other hand, the consumption of cooked tomatoes was inversely associated with serum IGF-1 levels [25]. Nevertheless, supplementation with tomato oleoresin extract (Lyc-O-Mato[®], LycoRed Natural Product Industries, Israel), for three weeks, did not decrease serum IGF-1 levels in patients with PCa [26]. The reason for such discrepancy is unknown [15].

Serum prostate specific antigen (PSA) levels rise in most men with PCa, infections, or BPH. Each gram of cancerous prostate tissue is estimated to increase PSA by 3 ng/ml and each gram of benign prostatic tissue is estimated to increase it by 0.3 ng/ml [27, 28]. There are studies showing that lycopene or tomatoes and tomato products have reduced PSA levels in patients with PCa [16, 26] and BPH [29]. The gene coding sequence of the PSA coding gene is a well-known target of androgens [30]. Therefore, the decrease in serum PSA levels could reflect an anti-androgen effect of lycopene in human prostate, and thus lycopene could have a potential for the prevention of BPH and PCa [29, 31].

This literature review was conducted in the PubMed database, with the search made by combining the keywords: *benign prostate hyperplasia*, *prostate cancer*, *tomato*, *lycopene*, and *diet*. We reviewed all studies in English, Portuguese and Spanish until May 2009. Most studies on the intake of tomatoes and derivatives in relation to prostate health in humans are observational. Three clinical trials studied the consumption of tomatoes or lycopene supplementation in men with BPH: one of them was an uncontrolled study using tomato paste [29] and two were randomized double-blind controlled trials using lycopene supplement [32, 33], however data analysis of one of them is still in progress. As a result, we have proposed a randomized clinical trial to study the effect of tomato products and lycopene supplementation on biochemical and clinical outcomes in patients with BPH.

PATIENTS AND METHODS

This was a randomized double-blind trial for lycopene supplementation and placebo; tomato paste was studied in parallel. All men had a histological diagnosis of BPH and were monitored at the Division of Urology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Patients were selected at the Urology Division at HCPA and through biopsy results, since March 2006. The invitation to participate in the study were carried out in the outpatient clinic or by telephone.

We included men aged 45 to 75 years, with serum total PSA levels of 4 to 10 ng/mL, who used oral feeding and had a telephone contact. We excluded men diagnosed with any type of cancer except non-melanoma skin cancer; or who used sex hormones or hormone synthesis or action inhibitors, including finasteride, spironolactone, flutamide, cyproterone acetate, and cimetidine; or who used medications for treatment of BPH, such as α -adrenergic blockers; or with food intolerance or allergy to tomato and its derivatives; or who used supplements of any antioxidant substance, such as vitamins A, C, E, selenium, phenolic compounds, and carotenoids; or with any serious problem regarding absorption of food through the gastrointestinal tract; or hospitalized patients.

In order to detect a difference of 1 ng/ml (standard deviations from 1.48 to 1.59) in mean serum total PSA levels between the groups, 51 subjects were calculated for each group, considering a significance level of 0.05 with 90 % in power.

The primary outcome was the serum total PSA level and the secondary outcomes were serum free PSA, total testosterone, and IGF-1 levels, lower urinary tract symptoms (LUTS) and quality of life (QOL).

Serum total PSA levels were measured by the Roche[®] (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) total PSA immunoassay Elecsys[®]. Intra-assay coefficient of variation (CV) was 2.9 % at concentrations ranging from 4.76 to 17.2 ng/ml. Inter-assay CV was 5.74 %. Serum free PSA levels were measured by the Roche[®] (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) Elecsys[®] Free PSA immunoassay. Intra-assay CV was 2.7 – 3.3 % for free PSA from 0.15 to 26.1 ng/ml. Inter-assay CV was 7.0 – 7.8 %. Serum testosterone levels were measured by radioimmunoassay by the DSL-4000 ACTIVE™ Testosterone (Diagnostics Systems Laboratories, Webster, Texas, USA). The intra-assay CV was 7.8 - 9.6 %. Inter-assay CV was 8.4 – 9.1 %. IGF-1 levels were measured by immunoradiometric assay by the IGF-1 DSL-5600 ACTIVE™ (Diagnostics Systems Laboratories, Webster, Texas, USA). Intra-assay CV was 1.5 – 3.4 %. Inter-assay CV was 1.5 – 8.2 %.

Serum was stored at -70 °C and measurements were made after the end of the collection of all patients.

Symptoms related to BPH were evaluated subjectively through the International Prostate Symptom Score (IPSS). The answers were quantified 0 to 5, and total score was quantified 0 to 35, reflecting the intensity of symptoms. Cases were classified as mild (0 to 7), moderate (8 to 19), and severe (20 to 35) [34].

Quality of life was assessed by a single question: "If you were to spend the rest of your life urinating as it is now, how would you feel?" The answers ranged from good to bad,

with a rating of 0 to 6 points. Both the IPSS and the QOL were measured by properly validated questionnaires in Portuguese [35].

Patients were randomly assigned to receive placebo, 15 mg lycopene, or 50 g of tomato paste per day. Patients and researchers were unaware of the content of the capsules containing lycopene and placebo, as the blinding of capsules was carried out by the supplier, Apsen Farmacêutica S. A., which was not involved in the outcome measures. The tomato paste group was opened.

The tomato paste in cans was donated by the company Conservas Oderich S. A., which did not participate in the outcome measures. We used two different batches of the product in the course of 20 months. The approximate nutritional values of 50 g of the product were 18 Kcal, 2.8 g carbohydrates, 1.3 g protein, 0.2 g total fat, 0.1 g saturated fat, 180 mg sodium, and 13 mg lycopene [29].

Randomization was performed by the drawing of one of three letters: A (blind capsule), B (blind capsule), and C (tomato paste). Thus, all patients always had the same chance of being selected for any of the three groups. The entry of patients in the experimental protocol was interrupted when it reached the minimum number (51 patients) in all study groups, yet more patients were included, providing for possible losses.

The study duration was 10 weeks and there were two visits for each patient. At visit 1, after signing an informed consent term, randomization was done, as well as the application of the questionnaire for data collection, IPSS and QOL questionnaires, and blood sampling. At visit 2 blood collection was carried out, the IPSS and QOL questionnaires were applied, and possible adverse effects were identified.

Placebo and lycopene supplementation groups were instructed to take the capsule at lunch. No way of consumption was imposed to the tomato paste group. All individuals should consume 50 grams of tomato paste per day, without boiling it. Along with each can of tomato paste, a weekly intake control sheet was given, on which the patient should enter the way the product was consumed: pure, mixed with food, or both. Each can contained 350 g of tomato paste, and should last a week, stored at 4 °C.

In the fifth week of monitoring, the patients received a call from one of the researchers in order to check the consumption of capsules or tomato paste and assess the potential side-effects. The fact that the effect of tomato paste was being assessed was not revealed to patients during the study, in order not to induce these patients to consume the product.

Comparison between the means was performed by ANOVA, or Kruskal-Wallis test, or repeated measures analysis of variance. The analysis of the difference between groups was performed by the Bonferroni test. Differences were considered significant when alpha was lower than 0.05.

RESULTS

The entry and follow-up of patients in the study is described in the flowchart contained in Figure 1.

Baseline characteristics of the three groups were similar, as seen in Table 1.

There was no difference between the mean serum total PSA levels in the three groups after treatment, as seen in Figure 2-A. The mean serum total testosterone and IGF-1 levels were also similar in the three groups after treatment, respectively at 3.83 ± 3.06 ng/mL and 186.58 ± 87.94 ng/mL after placebo; 3.19 ± 0.61 ng/mL and 203.20 ± 135.92 ng/mL after lycopene; and 3.71 ± 1.40 ng/mL and 178.62 ± 71.93 ng/mL after tomato paste.

The mean serum free PSA level was lower in the group treated with tomato paste compared to the lycopene-treated group, but did not differ from placebo, as seen in Figure 2-B.

There was no difference in mean IPSS and QOL scores between the three groups, as seen in Figures 3-A and 3-B.

Among the 56 patients who consumed tomato paste, some reported side effects such as weight gain (two: 3.6 %), weight loss (one: 1.8 %), diarrhea (two: 3.6 %), abdominal pain (one: 1.8 %), removal of kidney stones (two: 3.6 %), flatulence (three: 5.3 %), malaise (two: 3.6 %), pyrosis (one: 1.8 %), pruritus (one: 1.8 %), and disgust to tomato paste (four: 7.1 %). As for evaluation of the food (good, regular, and bad), 85.7 % considered it good and 14.3 % considered it regular. Thirty-two percent consumed it alone or with water; 41 % consumed it mixed with food, and 27% consumed it in both ways.

As for patients who consumed lycopene, no side-effects were reported. Two patients reported improvement in sexual function (two: 3.8 %).

In the placebo group (n = 55), the following side effects were reported: weight loss (one: 1.8 %), gastric pain (one: 1.8 %), and erectile dysfunction (two: 3.6 %).

DISCUSSION

Clinical trials evaluating food as treatment are uncommon, possibly due to the difficulty of standardizing food, the impossibility of blinding, and the long time required for changes to occur in clinical outcomes. Although this study had a short duration, it standardized a food item for treatment, and allowed for a blind control group. No reduction was observed in mean serum total PSA levels in the groups using lycopene or tomato paste. However, the group that used tomato paste maintained the mean serum PSA level practically stable, while it increased in the other two groups, yet not significantly. It is possible that the use of tomato paste for longer than 10 weeks can contribute to the non elevation of serum PSA levels in patients with BPH.

A non-controlled trial using tomato paste (50 g/day) in patients with BPH showed a reduction of almost 11% of mean serum total PSA levels with a mean \pm SD of serum total PSA baseline levels of 6.51 ± 1.48 ng/ml and 5.81 ± 1.58 ng/ml after 10 weeks of treatment ($p = 0.005$), however, biases could explain these results as the exams were carried out in routine care [29]. This discrepancy between current and previous results could also be explained by less adherence problems in patients of the first study. A controlled trial using lycopene supplementation (15 mg/day) showed a decrease in mean serum total PSA levels after six months of treatment [33]. We were unable to reproduce these results.

The reduction of mean serum free PSA levels in patients who consumed tomato paste in comparison with patients treated with lycopene may be due to a protective effect of another substance present in the food on the prostate cells.

As previously noted in a study on the effect of lycopene supplementation for six months [33], mean serum total testosterone and IGF-1 levels did not change.

The placebo effect observed in the subjective variables, IPSS and QOL, had been described previously [33]. Participating in a clinical trial itself brought symptomatic improvement.

There is no evidence that 15 mg of lycopene or 50 g of tomato paste, administered daily for 10 weeks, may cause any intoxication in humans. Other trial using up to 30 mg of lycopene on a daily basis did not report any toxic effects in humans [16, 26]. In a previous study, 43 patients with BPH ingesting 50 g/day of tomato paste had some mild adverse effects, such as pruritus (4.6 %), pyrosis (7 %), and flatulence (2.3 %) [29]. Comparing this study with the one previously mentioned, the tomato paste group showed a lower frequency of pruritus and pyrosis, although flatulence was a little higher.

In conclusion, in this study, we observed reduction of mean serum free PSA levels in patients who used tomato paste, in comparison with the group that received lycopene. No difference was observed with these treatments in clinical outcomes when compared to the placebo group. Clinical trials comparing subjects consuming tomato paste with individuals that restrict this food item for a longer period may be useful to determine whether tomato paste has an impact on clinical outcomes in men with BPH.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Mr. Claudio Oderich from Conservas Oderich S.A., São Sebastião do Caí, RS, Brazil; Apsen Farmacêutica S/A, SP, Brazil; Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Fundação Médica do Rio Grande do Sul and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERENCES

1. Berry, S.J., et al., *The development of human benign prostatic hyperplasia with age*. J Urol, 1984. **132**(3): p. 474-9.
2. Brasil., *Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Estimativa: Incidência de Câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2006. Acesso em: 28 set. 2006. Disponível em: <http://www.inca.org.br>.
3. Rassweiler, J., et al., *Complications of Transurethral Resection of the Prostate (TURP)-Incidence, Management, and Prevention*. Eur Urol, 2006.
4. Furuya, S., et al., *[A study of 4,031 patients of transurethral resection of the prostate performed by one surgeon: learning curve, surgical results and postoperative complications]*. Hinyokika Kyo, 2006. **52**(8): p. 609-14.
5. Suaid, H.J., et al., *Estimated costs of treatment of benign prostate hyperplasia in Brazil*. Int Braz J Urol, 2003. **29**(3): p. 234-7.
6. Lee, C., J.M. Kozlowski, and J.T. Grayhack, *Etiology of benign prostatic hyperplasia*. Urol Clin North Am, 1995. **22**(2): p. 237-46.
7. Lepor, H., *Pathophysiology, epidemiology, and natural history of benign prostatic hyperplasia*. Rev Urol, 2004. **6 Suppl 9**: p. S3-S10.
8. Oliver, S.E., et al., *Serum insulin-like growth factor-I is positively associated with serum prostate-specific antigen in middle-aged men without evidence of prostate cancer*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004. **13**(1): p. 163-5.
9. Gu, F., *Changes in the prevalence of benign prostatic hyperplasia in China*. Chin Med J (Engl), 1997. **110**(3): p. 163-6.
10. Lagiou, P., et al., *Diet and benign prostatic hyperplasia: a study in Greece*. Urology, 1999. **54**(2): p. 284-90.
11. Suzuki, S., et al., *Intakes of energy and macronutrients and the risk of benign prostatic hyperplasia*. Am J Clin Nutr, 2002. **75**(4): p. 689-97.

12. Bravi, F., et al., *Macronutrients, fatty acids, cholesterol, and risk of benign prostatic hyperplasia*. Urology, 2006. **67**(6): p. 1205-11.
13. Bravi, F., et al., *Food groups and risk of benign prostatic hyperplasia*. Urology, 2006. **67**(1): p. 73-9.
14. Etminan, M., B. Takkouche, and F. Caamano-Isorna, *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**(3): p. 340-5.
15. Wertz, K., U. Siler, and R. Goralczyk, *Lycopene: modes of action to promote prostate health*. Arch Biochem Biophys, 2004. **430**(1): p. 127-34.
16. Bowen, P., et al., *Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis*. Exp Biol Med (Maywood), 2002. **227**(10): p. 886-93.
17. Campbell, J.K., et al., *Tomato phytochemicals and prostate cancer risk*. J Nutr, 2004. **134**(12 Suppl): p. 3486S-3492S.
18. Hart, D.J. and K.J. Scott, *Development and evaluation of HPLC method for the analysis of carotenoid in foods, and the measurement of carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK*. Food Chem, 1995. **54**: p. 101-11.
19. Gartner, C., W. Stahl, and H. Sies, *Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes*. Am J Clin Nutr, 1997. **66**(1): p. 116-22.
20. Gann, P.H., et al., *Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis*. Cancer Res, 1999. **59**(6): p. 1225-30.
21. Brawley, O.W., *Hormonal prevention of prostate cancer*. Urol Oncol, 2003. **21**(1): p. 67-72.
22. Furstenberger, G. and H.J. Senn, *Insulin-like growth factors and cancer*. Lancet Oncol, 2002. **3**(5): p. 298-302.
23. Pollak, M., *Insulin-like growth factors and prostate cancer*. Epidemiol Rev, 2001. **23**(1): p. 59-66.
24. Siler, U., et al., *Lycopene and vitamin E interfere with autocrine/paracrine loops in the Dunning prostate cancer model*. Faseb J, 2004. **18**(9): p. 1019-21.
25. Mucci, L.A., et al., *Are dietary influences on the risk of prostate cancer mediated through the insulin-like growth factor system?* BJU Int, 2001. **87**(9): p. 814-20.
26. Kucuk, O., et al., *Phase II randomized clinical trial of lycopene supplementation before radical prostatectomy*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2001. **10**(8): p. 861-8.
27. Balk, S.P., Y.J. Ko, and G.J. Bubley, *Biology of prostate-specific antigen*. J Clin Oncol, 2003. **21**(2): p. 383-91.
28. Brawer, M.K., *Prostate-specific antigen*. Semin Surg Oncol, 2000. **18**(1): p. 3-9.
29. Edinger, M.S. and W.J. Koff, *Effect of the consumption of tomato paste on plasma prostate-specific antigen levels in patients with benign prostate hyperplasia*. Braz J Med Biol Res, 2006. **39**(8): p. 1115-9.
30. Hobisch, A., et al., *Distant metastases from prostatic carcinoma express androgen receptor protein*. Cancer Res, 1995. **55**(14): p. 3068-72.
31. Shike, M., et al., *Lack of effect of a low-fat, high-fruit, -vegetable, and -fiber diet on serum prostate-specific antigen of men without prostate cancer: results from a randomized trial*. J Clin Oncol, 2002. **20**(17): p. 3592-8.

32. van Breemen, R.B., *How do intermediate endpoint markers respond to lycopene in men with prostate cancer or benign prostate hyperplasia?* J Nutr, 2005. **135**(8): p. 2062S-4S.
33. Schwarz, S., et al., *Lycopene inhibits disease progression in patients with benign prostate hyperplasia.* J Nutr, 2008. **138**(1): p. 49-53.
34. Mebust, W.K., et al., *Symptom Evaluation, Quality of Life and Sexuality.* In: Cockett ATK, Murphy G (eds.). *The 2nd International Consultation on BPH: Proceedings.* New Jersey, Scientific Communication International Ltd, 1993;129-149.
35. Berger, M., et al., *Validação estatística do escore internacional de sintomas prostáticos (I-PSS) na língua portuguesa.* J Bras Urol, 1999. **25**: p. 225-234.

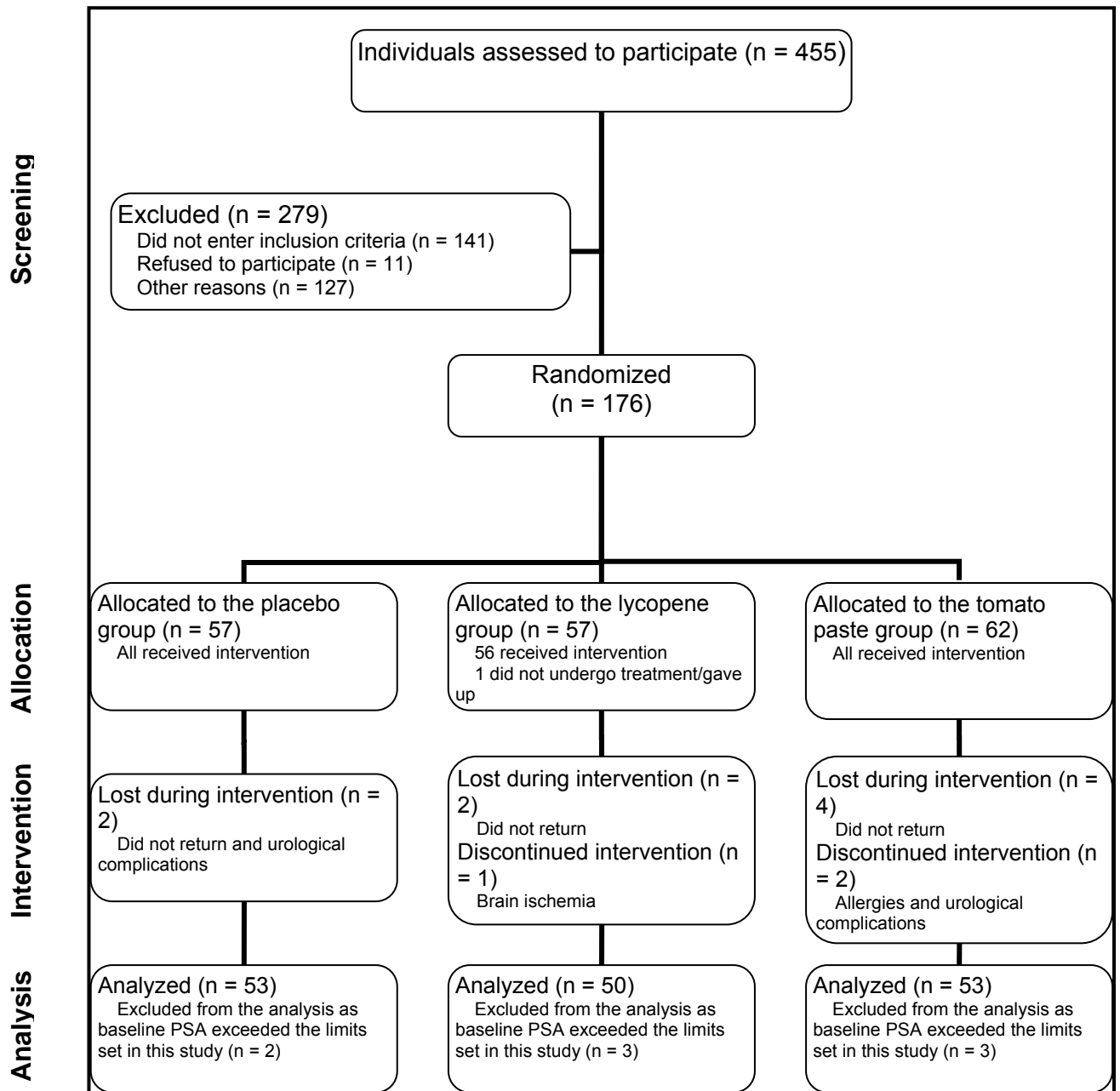


Figure 1. Study flowchart

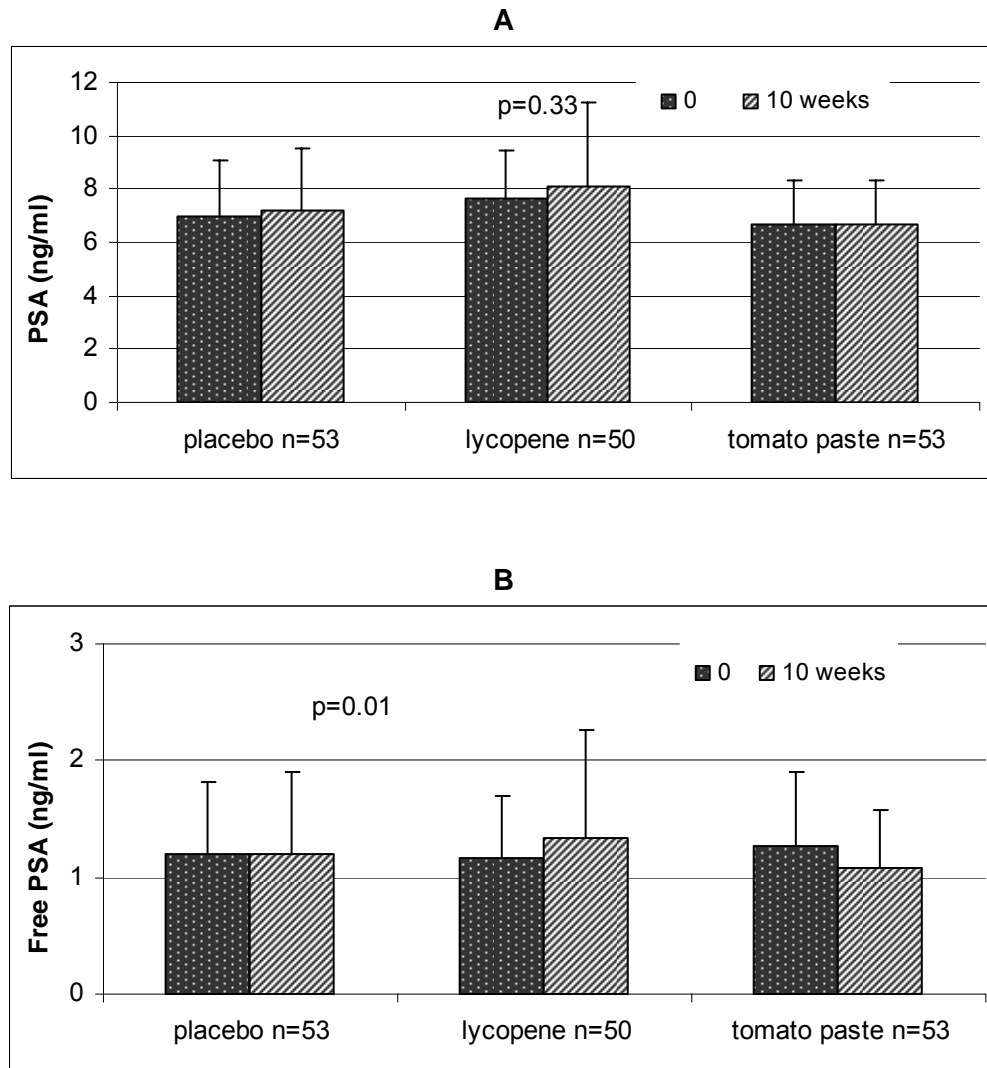


Figure 2. Effect of lycopene and tomato paste, for 10 weeks, on mean serum total prostate specific antigen (PSA) levels (A) and mean serum free PSA levels (B) in men with benign prostate hyperplasia. $p = 0.005$ when comparing lycopene and tomato paste treated groups. Data are shown as mean \pm SD.

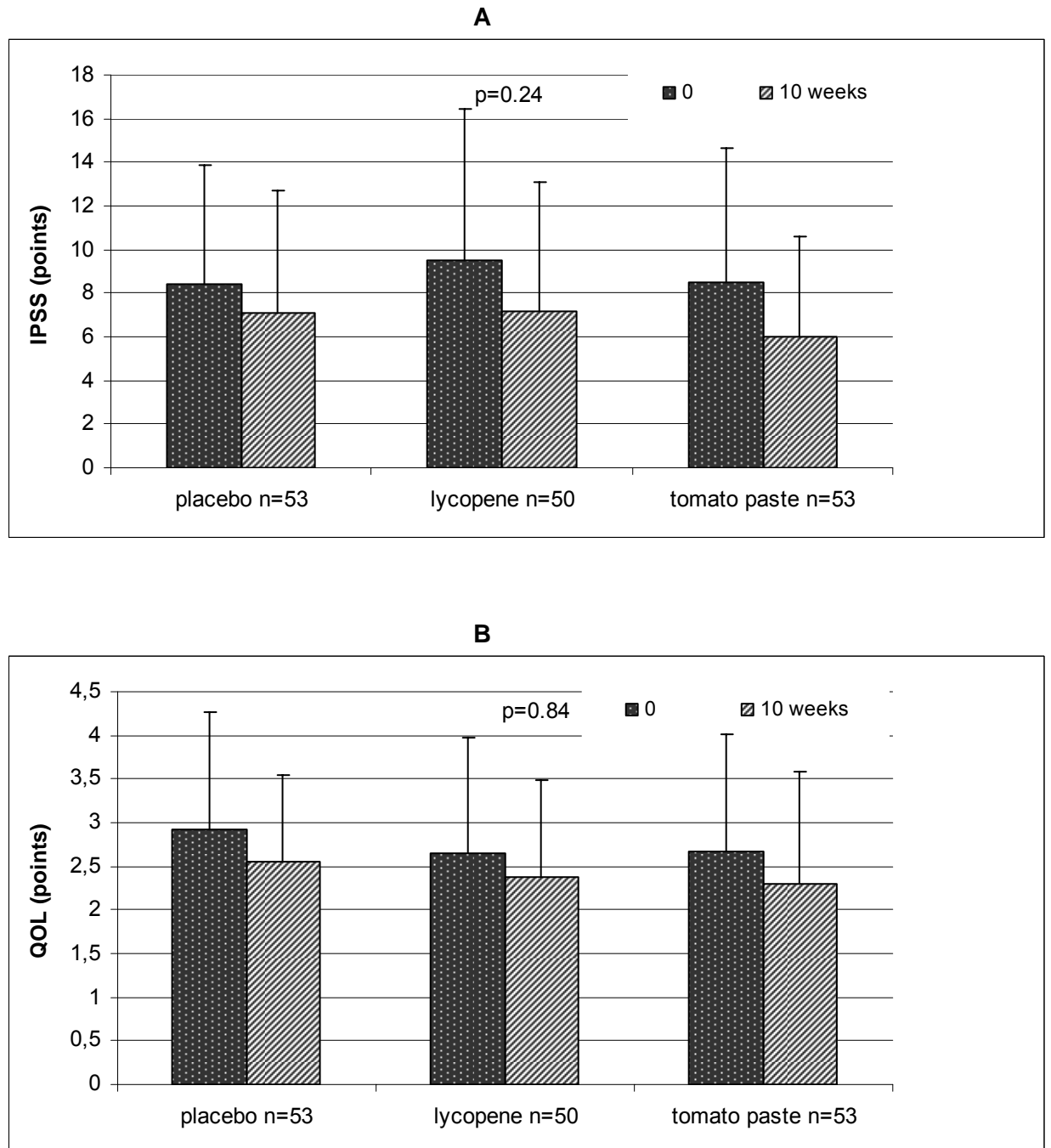


Figure 3: Effect of lycopene and tomato paste, for 10 weeks, on urinary symptoms (IPSS) (A) and quality of life (QOL) (B) in men with benign prostate hyperplasia. Data are shown as mean \pm SD.

Table 1. Baseline characteristics of the three studied groups

	Placebo	Lycopene 15mg	Tomato paste 50 g	P
n	53	50	53	
Age (years) [*]	66.35 ± 5.80	65.04 ± 5.68	64.77 ± 6.40	0.352
Serum total PSA (ng/ml) ^{**}	6.71 (5.25/8.83)	7.7 (6.29/8.96)	6.76 (5.3/8.01)	0.103
Serum free PSA (ng/ml) ^{**}	1.02 (0.75/1.58)	1.06 (0.71/1.54)	1.18 (0.81/1.64)	0.982
Serum total testosterone (ng/ml) ^{**}	3.36 (2.83/4.01)	3.45 (2.85/3.84)	3.33 (2.78/4.03)	0.968
Serum IGF-1 (ng/ml) ^{**}	160.7 (116.7/229.75)	173.85 (137.25/235.25)	174.3 (133.05/242.25)	0.270
IPSS (points) ^{**}	7 (5/12)	7 (5/12.25)	6 (4/13.5)	0.706
LQI (points) ^{**}	3 (2/4)	2 (2/3)	2 (2/3)	0.381

^{*} Values are shown as mean ± SD; the test used was ANOVA.

^{**} Values are shown as median (P₂₅/P₇₅); the test used was Kruskal-Wallis.

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os ensaios clínicos avaliando alimentos como tratamento são incomuns, provavelmente devido à dificuldade de padronizar os alimentos, à impossibilidade de cegamento e ao tempo longo presumivelmente necessário para ocorrerem mudanças em desfechos clínicos. Este ensaio, embora por curto período de tempo, padronizou um alimento para tratamento, e ainda foi possível fazer um grupo controle cego. Não foi observada redução na média do nível sérico de PSA total nos grupos que utilizaram licopeno ou extrato de tomate. No entanto, o grupo que utilizou extrato de tomate manteve a média do nível sérico de PSA praticamente estável, enquanto nos dois outros grupos esta aumentou, embora não significativamente. É possível que o uso de extrato de tomate por tempo maior que 10 semanas possa contribuir para a não elevação dos níveis séricos de PSA, em pacientes com HPB.

Um ensaio não controlado utilizando extrato de tomate (50 g/dia) em pacientes com HPB mostrou uma redução de quase 11% dos níveis séricos de PSA total, sendo a média \pm DP dos níveis séricos de PSA total basal de $6,51 \pm 1,48$ ng/ml e $5,81 \pm 1,58$ ng/ml após 10 semanas de tratamento ($p=0,005$), no entanto, vieses de aferição poderiam explicar esses resultados, pois os exames foram feitos na rotina assistencial (157). Essa discrepância entre os resultados atuais e prévios poderia também ser explicada por maior adesão dos pacientes do primeiro estudo ao uso do extrato de tomate. Um ensaio controlado utilizando a suplementação de licopeno (15 mg/dia) mostrou uma redução similar ao estudo anterior, sendo a média \pm DP dos níveis séricos de PSA total basal de $6,56 \pm 2,3$ ng/ml e $5,82 \pm 1,8$ ng/ml após seis meses de tratamento (158). Não conseguimos reproduzir esses resultados.

A redução do PSA livre nos pacientes que consumiram extrato de tomate, quando comparado aos pacientes tratados com licopeno, pode ser resultado de um efeito protetor de outra substância presente no alimento sobre as células prostáticas.

Conforme observado previamente em um estudo do efeito da suplementação de licopeno por seis meses (158), os níveis séricos de testosterona total e IGF-1 não se alteraram.

O efeito placebo observado nas variáveis subjetivas, IPSS e IQV, já tinha sido descrito anteriormente (158). Participar de um ensaio clínico, por si só, trouxe melhora sintomática.

Não há evidências que 15 mg de licopeno ou 50 g de extrato de tomate, administrados diariamente, por 10 semanas, cause algum excesso ou intoxicação em humanos. Outras pesquisas utilizando licopeno em até 30 mg diários não reportaram qualquer efeito tóxico em humanos (165, 166). O ensaio não controlado utilizando extrato de tomate (50 g/dia) em 43 pacientes com HPB mostrou alguns efeitos adversos considerados leves como prurido (4,6%), pirose (7%) e flatulência (2,3%) (157). Comparando este estudo com citado anteriormente, o grupo extrato de tomate mostrou uma menor frequência de prurido e pirose, porém a flatulência foi um pouco maior.

Concluindo, no presente estudo, observou-se redução dos níveis séricos de PSA livre nos indivíduos que utilizaram extrato de tomate, quando comparado ao grupo que recebeu licopeno. Não se observou diferença com esses tratamentos nos desfechos clínicos, quando comparados ao grupo que recebeu placebo. Ensaio clínico comparando indivíduos ingerindo extrato de tomate com indivíduos que restrinjam esse alimento por tempo longo podem ser úteis para determinar se o extrato de tomate tem impacto em desfechos clínicos, em homens com HPB.

7 APÊNDICES

- APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....77
- APÊNDICE B – Questionário de Coleta de Dados.....79
- APÊNDICE C – Controle de Ingestão.....82
- APÊNDICE D – Orientações ao Término da Pesquisa.....83
- APÊNDICE E – Escore Internacional de Sintomas Prostáticos (I-PSS) e Índice de Qualidade de Vida (IQV).....84

7.1 APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Estamos realizando uma pesquisa com pacientes do Ambulatório de Urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta pesquisa pretende verificar se o uso de uma substância chamada licopeno, que é encontrada em alguns alimentos, pode modificar, no sangue, substâncias relacionadas à Hiperplasia Prostática Benigna, como também melhorar os sintomas relacionados à doença.

Existem estudos que indicam que o licopeno possa prevenir o Câncer da Próstata.

Haverá três grupos nesta pesquisa: um recebendo cápsula de licopeno (15 mg), um recebendo placebo (pílula de farinha) e outro recebendo um alimento rico em licopeno. O paciente será sorteado para cada um dos grupos, não haverá a hipótese do paciente ou pesquisadores escolherem o grupo para qual será destinado o paciente.

A pesquisa terá duração de 10 semanas nas quais o paciente deverá consumir diariamente uma cápsula de licopeno ou de farinha ou uma quantidade do alimento rico em licopeno a ser fornecido. Não existe qualquer contra-indicação tanto para a suplementação do licopeno como para o alimento da pesquisa.

Haverá duas consultas e três telefonemas, o seguimento será o seguinte:

- 1ª Consulta: Serão realizados exames de sangue e urina, aplicação de questionários e o paciente será sorteado para o grupo da cápsula ou do alimento.
- 1º Telefonema: Na 5ª semana de tratamento, algum dos pesquisadores irá ligar para o paciente para saber informações.
- 2ª Consulta: Após 10 semanas da primeira consulta, serão realizados exames de sangue e urina, serão aplicados novamente questionários e será fornecida uma orientação de alimentação saudável. Não será mais fornecido cápsulas ou alimento.
- 2º Telefonema: Para fornecer o resultados dos exames.
- 3º Telefonema: Para informar o resultado geral do estudo e revelar aos pacientes das cápsulas o que estavam tomando.

Pretende-se com esta pesquisa estudar maneiras de melhorar os sintomas relacionados à Hiperplasia Prostática Benigna sem o uso de medicamentos.

O paciente poderá se recusar a participar ou se retirar do estudo, a qualquer momento, sem que isto represente qualquer tipo de prejuízo para seu atendimento dentro do hospital.

Este é um estudo em fase experimental, portanto não há nenhuma garantia que este tratamento irá melhorar os sintomas urinários ou diminuir a Hiperplasia Prostática Benigna.

O nome do participante, em momento algum será divulgado, nem durante a pesquisa e nem após os resultados terem sido obtidos para publicação.

Se durante o estudo ocorrer qualquer problema ou dúvida, entre em contato pelos telefones: (0-xx-51)-2101-8877 ou 9815-2362 com a pesquisadora Magda Edinger de Souza.

Eu _____,
aceito participar da pesquisa.

Assinatura

Data: _____

Pesquisadores responsáveis:

Nutricionista Magda Edinger de Souza – CRN 4734

Professora de Medicina Dra. Tania Weber Furlanetto

Professor de Medicina Dr. Walter José Koff

7.2 APÊNDICE B – Questionário de Coleta de Dados

Nome:
Nº do prontuário:
Data de nascimento: **Idade:**
Endereço:
Cidade: **CEP:**
Mora a quanto tempo neste endereço:
Telefones:
Nível de PSA:
Última biópsia:
Último TR:

VISITA 1 – QUESTIONÁRIO, RANDOMIZAÇÃO, EXAMES E INÍCIO DO TRATAMENTO

Data:

Randomização nº:

1. Você segue alguma dieta especial? Em caso positivo, qual?
2. Possui alergia a algum alimento? Em caso positivo, qual?
3. Você toma algum suplemento vitamínico ou mineral? Em caso positivo, qual?
4. Você toma alguma medicação? Em caso positivo, qual?
5. Doenças:
6. História familiar:

7. Possui algum dos seguintes itens:

SINTOMAS	SIM	NÃO
Azia		
Gastrite		
Úlcera péptica		
Intolerância ou alergia a tomates ou alimentos enlatados		

8. Está motivado a participar desta pesquisa

TELEFONEMA 1

Data a ser realizado:

Informações:

VISITA 2 – QUESTIONÁRIO, EXAMES E ORIENTAÇÃO DE ALTA

1. Consome os seguintes alimentos? Qual a frequência e quantidade?

ALIMENTOS	FREQUÊNCIA				
	Quant. p/ refeição	Todos os dias	2-5 x p/ semana	Raro	Nunca
Tomate cru					
Molho de tomate					
Extrato de tomate					
Polpa de tomate					
Catchup					
Suco de tomate					
Goiaba crua					
Suco de goiaba					
Doce de goiaba					
Melancia					
Mamão Papaya					
Pimentão vermelho					

Consumo estimado de licopeno em mg:

2. Se você consumiu o extrato de tomate, o que você achou?

Bom

Regular

Ruim

3. De que maneira consumiu?

Puro

Misturado

Misto

RESULTADOS DOS EXAMES

EXAMES	V-1	V-2	Valores referência
PSA total			
PSA livre			
Testosterona total			
Licopeno			
IGF-1			

TELEFONEMA 2 em:**TELEFONEMA 3 em:**

7.3 APÊNDICE C – Controle de Ingestão*

Nome:

Data da entrega:

Retorno:

Nº de latas recebidas:

DIAS	2ª-Feira	3ª-Feira	4ª-Feira	5ª-Feira	6ª-Feira	Sábado	Domingo
Especifique quantidade utilizada e modo de preparo utilizado							

- Consumir três colheres de sopa de extrato de tomate por dia
- Pode ser acrescentado em qualquer preparação
- Pode ser dividido em duas ou mais refeições
- Pode ser consumido em forma de suco: bater a quantidade em 1 copo de água gelada
- Pode ser levemente aquecido
- Após aberta a lata, colocar o conteúdo em pote plástico ou vidro com tampa e armazenar na geladeira
- Cada lata aberta deve durar por uma semana

Responsável pela entrega

Recebedor

*Tamanho adaptado do original fornecido ao paciente.

7.4 APÊNDICE D – Orientações ao Término da Pesquisa*

INFLUÊNCIA DOS HÁBITOS ALIMENTARES NA SAÚDE DA PRÓSTATA

GRUPO DE ALIMENTOS	CONSUMA	EVITE
Carnes	Carnes magras e brancas: frango sem pele e peixe Carne vermelha magra: até 2x por semana Sardinha ou atum enlatados Ovo cozido	Carnes vermelhas e gordas, salsicha, lingüiça, presunto, salsichão, copa, patês e outros embutidos cárneos Ovo frito
Doces	Frutas frescas e secas, chocolate meio amargo ou amargo (25-30 g/dia), mel	Bombons, chocolate branco ou ao leite, doces à base de cremes de leite
Grãos e cereais	Pães e farinhas integrais, aveia, gérmen de trigo, soja e todos os tipos de feijões	Pão branco, biscoitos industrializados e salgadinhos
Leite e derivados	Leite, iogurte, requeijão e queijos brancos (ricota, queijo minas e keeschmia)	Nata, manteiga e queijos amarelos
Gorduras	Óleos vegetais líquidos (soja, canola, milho, oliva), abacate, sementes oleaginosas (amêndoas, castanhas, amendoim, nozes)	Banha de porco, manteiga e margarinas vegetais (gordura hidrogenada)
Frutas e vegetais	Todos os tipos	Coco
Modo de preparação	Preparações cozidas ou assadas no forno	Preparações fritas e assadas na brasa (churrasco)

ALIMENTOS ESTUDADOS COM POSSÍVEL POTENCIAL PREVENTIVO PARA ALGUNS TIPOS DE CÂNCERES

Soja
Tomate e derivados: extrato de tomate, molhos, polpa e sucos
Crucíferas: repolho, couve-flor, couve e brócolis
Linhaça
Maçã
Mel
Alho
Frutas cítricas: limão, lima, laranja e bergamota
Chá verde
Uvas/vinho: 1 cálice diário
Cereais: aveia e farinhas integrais
Peixes e óleos de peixe
Laticínios: leite, iogurte e queijos magros

*Tamanho adaptado do original fornecido ao paciente

7.5 APÊNDICE E – Escore Internacional de Sintomas Prostáticos (I-PSS) e Índice de Qualidade de Vida (IQV)

Com o objetivo de definir a magnitude da obstrução prostática e a necessidade de seu tratamento, a Associação Americana de Urologia propôs em 1993 um questionário, conhecido como I-PSS (*International Prostate Symptom Score*) e foi homologado pela Organização Mundial de Saúde. Consiste de sete questões e uma pergunta que avalia a qualidade de vida (IQV). As respostas são quantificadas de 0 a 5, e o escore total, de 0 a 35, refletindo a intensidade dos sintomas, enquanto o IQV varia de 0 a 6 pontos. De acordo com os pontos decorrentes da soma dos sintomas irritativos e obstrutivos, os casos são catalogados em leve (0 a 7), moderado (8 a 19) e severo (20 a 35) (1, 238).

Será utilizado um questionário em língua portuguesa devidamente validado (239) e impresso para o Serviço de Urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre que está sem numeração na próxima página.



SERVIÇO DE UROLOGIA
ESCORE INTERNACIONAL DE SINTOMAS PROSTÁTICOS

Data:

/ /

Número:

Nome: _____ Prontuário: _____

	nenhuma vez	menos de 1 vez em cada 5	menos que a metade das vezes	cerca da metade das vezes	mais que a metade das vezes	quase sempre
1- No último mês, quantas vezes você teve a sensação de não esvaziar completamente a bexiga, depois de terminar de urinar?						
2- No último mês, quantas vezes você teve que urinar de novo menos de 2 horas depois de terminar de urinar?						
3- No último mês, quantas vezes você notou que parava e recomeçava várias vezes quando urinava?						
4- No último mês, quantas vezes você notou que foi difícil conter a vontade de urinar?						
5- No último mês, quantas vezes você notou que o jato urinário estava fraco?						
6- No último mês, quantas vezes você teve que se espremer ou forçar para começar a urinar?						

	nenhuma vez	1 vez	2 vezes	3 vezes	4 vezes	5 vezes ou mais
7- No último mês, quantas vezes, em média, você teve que se levantar à noite para urinar?						

	ótimo	muito bem	satisfeito	mais ou menos	insatisfeito	mal	péssimo
1- Se você tivesse que passar o resto da vida urinando como está agora, como é que você se sentiria?							