

LETHICIA SOKOLOSKI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO FOTOPROTETOR SISTÊMICO
À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA B PELO CONSUMO REGULAR
DE LICOPENO SINTÉTICO OU *IN NATURA*:
ESTUDO COMPARATIVO E RANDOMIZADO**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Ciências

São Paulo

2013

LETHICIA SOKOLOSKI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO FOTOPROTETOR SISTÊMICO
À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA B PELO CONSUMO REGULAR
DE LICOPENO SINTÉTICO OU *IN NATURA*:
ESTUDO COMPARATIVO E RANDOMIZADO**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Ciências

Orientadora: Profa. Dra. Ediléia Bagatin

São Paulo

2013

Sokoloski, Lethicia

Avaliação do efeito fotoprotetor sistêmico à radiação ultravioleta B pelo consumo regular de licopeno sintético ou *in natura*: estudo comparativo e randomizado. / Lethicia Sokoloski. -- São Paulo, 2013.

xii, 84f.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Medicina Translacional.

Título em inglês: Evaluation of systemic photoprotection against ultraviolet B radiation through regular consumption of synthetic or *in natura* lycopene: comparative and randomized study.

1. Carotenoides. 2. Licopeno. 3. Fotoproteção.

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP
Departamento de Dermatologia
Programa de Pós-graduação em Medicina Translacional

Chefe de Departamento:

Prof. Sérgio Talarico Filho

Coordenadora da Pós-graduação:

Profa. Dra. Dulce Elena Casarini

A pesquisa recebeu apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP. Número do Processo FAPESP: 2011/51.160-2

*Dedico este trabalho aos meus pais Henio e Ivete,
meus maiores incentivadores, e que com muito esforço,
dedicaram suas vidas para que eu e minha irmã tivéssemos uma formação.*

*Dedico também a minha irmã Vanessa,
por quem tenho eterna admiração.*

*Ao meu noivo Leandro,
por ser meu exemplo de conduta e perseverança.*

Dedico a eles não só este trabalho, mas também todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à minha orientadora Profa. Dra. Ediléia Bagatin, por toda dedicação, confiança, paciência e orientações repassadas.

Agradeço aos meus pais Henio e Ivete, a minha irmã Vanessa, e ao meu noivo Leandro, pois sem eles nada disso seria possível.

Às amigas, Marlene, Maria do Carmo e Marina, por todo o apoio em minha estadia em São Paulo.

Aos voluntários participantes do estudo, pela disposição concedida.

À FAPESP, pelo apoio financeiro.

À Professora Gianni M. S. dos Santos, pela assistência estatística.

RESUMO

Sokoloski L. **Avaliação do efeito fotoprotetor sistêmico à radiação ultravioleta B pelo consumo regular de licopeno sintético ou *in natura*: estudo comparativo e randomizado.** [Dissertação]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina; 2013. 96p.

Fundamentos: os carotenóides são agentes que contribuem para a fotoproteção endógena. O licopeno, o mais potente dos carotenóides, é encontrado em alimentos, como o tomate. **Objetivo:** comparar o efeito fotoprotetor do licopeno sintético (em cápsulas) ao *in natura* (pasta de tomate). **Material e Método:** estudo de intervenção terapêutica, randomizado e comparativo, com duração de 10 semanas e inclusão de 21 sujeitos de pesquisa, 11 no grupo cápsula e 10 no grupo pasta de tomate. Para avaliar o efeito fotoprotetor, foram realizadas dosagens de licopeno sérico pelo método de cromatografia líquida de alta resolução e colorimetria antes e após 24 h. da irradiação da pele com simulador de radiação ultravioleta B, para medir a variação da cor *a* (ponto máximo do eritema após 24 horas da irradiação, comparada à pele normal). As avaliações foram realizadas no início e após 4, 8 e 10 semanas. Os dados foram analisados por ANOVA com medidas repetidas. **Resultados:** três sujeitos abandonaram o estudo após 4 semanas. As dosagens de licopeno sérico apresentaram grande variabilidade, impossibilitando análise estatística. No grupo cápsula variaram entre 0,15 μmol a 0,55 μmol antes do tratamento e, após 10 semanas, entre 0,20 μmol a 0,73 μmol e no grupo pasta de tomate variaram entre 0,2 μmol a 0,5 μmol antes do tratamento e, após 10 semanas, entre 0,25 μmol a 0,42 μmol . Não foi possível visualizar clinicamente alteração da dose eritematosa mínima em todas as avaliações, nos dois grupos. Foi avaliada a cor *a* pela colorimetria na pele não irradiada e 24 h. após a irradiação, antes e após o tratamento. Observou-se redução do Δa após 10 semanas, nos dois grupos, com diferença marginalmente significativa em relação ao tempo ($p=0,054$) e ao grupo ($p=0,066$), favorável à cápsula. **Conclusão:** o consumo regular de licopeno, em cápsula ou *in natura*, demonstrou tendência favorável à fotoproteção sistêmica, o que indica a utilidade de estimular a sua utilização através de fontes naturais ou sintéticas.

ABSTRACT

Sokoloski L. **Evaluation of systemic photoprotection against ultraviolet B radiation through regular consumption of synthetic or *in natura* lycopene: comparative and randomized study.** [Dissertação]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina; 2013. 96p.

Background and objective: carotenoids are endogenous antioxidant agents. Lycopene, the most powerful carotenoid, reduces the immediate erythema after exposure to ultraviolet B (UVB) radiation. The objective was to evaluate and compare the photoprotective effect of synthetic (capsule) or *in natura* (tomato paste) lycopene. **Methods:** interventional, randomized, comparative 10-weeks study, including 21 subjects, divided in two groups: 11 for capsule and 10 for tomato paste intake. Blood samples were collected for serum lycopene dosage by high performance liquid chromatography. Colorimetry was used to measure minimal erythematous dose 24 hours after UVB irradiation and variation of color *a* (maximum erythema 24 hours after skin irradiation compared to normal skin). Evaluations were made at baseline and after 4, 8, 10 weeks. Data were analysed by ANOVA with repeated measures. **Results:** three subjects dropped out after 4 weeks. Serum lycopene demonstrated great variability with no possibility of statistical analysis; for subjects taking capsules it ranged from 0.15 $\mu\text{mol/L}$ to 0.55 $\mu\text{mol/L}$ at baseline and, after 10 weeks, from 0.2 $\mu\text{mol/L}$ to 0.73 $\mu\text{mol/L}$; for those receiving tomato pasta it ranged from 0.2 $\mu\text{mol/L}$ to 0.5 $\mu\text{mol/L}$ at baseline and, after 10 weeks, from 0.25 $\mu\text{mol/L}$ to 0.42 $\mu\text{mol/L}$. No visual change for minimal erythematous dose was observed in all evaluations, for both groups. Colorimetry showed variation of color *a* from baseline to 10 weeks [marginally significant ($p=0.054$)]. Therefore, reduction in Δa occurred, with a tendency to be greater for capsule [marginally significant ($p=0.066$)]. **Conclusions:** Lycopene regular intake, in capsule or *in natura*, has demonstrated some positive effect for systemic photoprotection that indicates the advantage of promoting its regular intake.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Discrepância entre aumento significativo no nível sérico do licopeno sem redução do eritema ou aumento da DEM, após quatro semanas de consumo regular de licopeno.....	41
Figura 2 –	Comparação do Δa^* correspondente às medidas antes e 10 semanas após a suplementação, entre os grupos cápsula (C) e extrato de tomate (T).....	48
Figura 3 –	Comparação da média do Δa^* para sujeitos do grupo cápsula (C) e do grupo extrato de tomate (T).....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Dosagem de licopeno sérico.....	40
Tabela 2 –	Valores de leitura de colorímetro, ITA° e DEM - Visita 1.....	42
Tabela 3 –	Valores da DEM Real individual e tempo respectivo de irradiação – Visita 2.....	43
Tabela 4 –	Valores de leitura da cor <i>a</i> antes e após a irradiação – Visita 1 e 2.....	44
Tabela 5 –	Valores de leitura da cor <i>a</i> antes e após a irradiação – Visita 3 e 4.....	45
Tabela 6 –	Valores de Leitura da cor <i>a</i> antes e após a irradiação – Visita 5 e 6.....	46
Tabela 7 –	Valores de Leitura da cor <i>a</i> antes e após a irradiação – Visita 7 e 8.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOs	Substâncias antioxidantes
CIE	<i>Comission Internationale de L`eclairage</i>
COLIPA	<i>The European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association</i>
DEM	Dose eritematosa mínima
EGCG	<i>Epigallocatequina galato</i>
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FPS	Fator de proteção solar
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
RUV	Radiação ultravioleta
RUVA	Radiação ultravioleta A
RUVB	Radiação ultravioleta B
TCM	Triglicérides de cadeia média
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C
VLDL	Lipoproteína de muita baixa densidade

SUMÁRIO

Dedicatória.....	v
Agradecimentos.....	vi
Resumo.....	vii
Abstract.....	viii
Listas.....	ix
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	16
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1 Antioxidantes.....	19
3.2 Carotenóides.....	20
3.3 Licopeno.....	22
3.4 Efeitos da radiação ultravioleta B na pele.....	25
3.5 Fotoproteção oral.....	27
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Delineamento.....	31
4.2 População.....	31
4.3 Materiais.....	31
4.4 Critérios de inclusão e exclusão.....	33
4.5 Intervenção.....	34
4.6 Parâmetros de eficácia.....	35
4.7 Parâmetros de segurança.....	37
5 RESULTADOS.....	38
5.1 Retiradas prematuras.....	39
5.2 Dosagem do licopeno sérico.....	39
5.3 Medida da dose eritematosa mínima e eritema.....	42
5.4 Eventos adversos.....	50
6 DISCUSSÃO.....	51
7 CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS.....	58
APÊNDICE.....	65
ANEXOS.....	72

1 INTRODUÇÃO

A radiação ultravioleta (RUV) é responsável por danos oculares e cutâneos, incluindo queimaduras, reações de fotosensibilidade, envelhecimento precoce, lesões pré-cancerosas e câncer de pele.⁽¹⁾

A RUV é dividida em três categorias, dependendo do comprimento de onda: UVC (270-290 nm), UVB (290-320 nm) e UVA, que é subdividido em UVA 2 (320-340nm) e UVA1 (340-400nm). O UVC é filtrado pelo ozônio da atmosfera, portanto, a radiação que atinge a superfície da terra abrange UVB (5%) e UVA (95%).^(2,3)

A RUVB é absorvida pela epiderme e é a principal causa do eritema (resposta inflamatória). Geralmente, a RUVA não causa eritema e, dependendo do fototipo e da intensidade da radiação, o eritema causado pela RUVA é mínimo. Quando comparada à RUVB, sua capacidade em induzir eritema na pele humana é aproximadamente mil vezes menor, porém a RUVA penetra mais profundamente atingindo a derme.^(3,4)

Os carotenóides são micronutrientes lipofílicos com atividade antioxidante. Existe correlação entre dieta rica em carotenóides e menor ocorrência de doenças degenerativas. Estudos *in vitro* indicam que entre os carotenóides, o licopeno é o que possui maior poder antioxidante.^(5,6,7)

O licopeno é encontrado no plasma e tecidos humanos. Caracterizado por uma estrutura simétrica e acíclica, é constituído somente por átomos de carbono e hidrogênio e é responsável pela coloração vermelho-alaranjada de frutas e vegetais.^(8,9) Apresenta efeito protetor direto contra radicais livres^(6,7), sendo considerado um importante antioxidante protetor da membrana celular por reação com os radicais peróxidos e com o oxigênio molecular.⁽¹⁰⁾

A relação entre o consumo oral de carotenóides e a fotoproteção à RUV tem sido estudada através da redução no aparecimento do eritema na pele humana.^(11,12) O eritema induzido por irradiação com UVB é medido e a dose eritematosa mínima (DEM) é calculada, correspondendo à quantidade mínima

de energia necessária para induzir o eritema em determinado indivíduo, sendo detectável 24hs após irradiação da pele.⁽¹³⁾

A DEM é definida em função do tempo necessário para que haja aparecimento de eritema discreto, com bordas bem definidas e sem formação de bolhas, após exposição única à RUVB, sendo expressa como energia por unidade de superfície (KJ/m²), ou seja, 1 DEM = 210 J / m² = 0,021 J / cm² = 21 MJ / cm².⁽¹⁴⁾

Estudos epidemiológicos mostram que a exposição predominante à RUV ocorre sob circunstâncias cotidianas, ou seja, quando a pele não está protegida. Assim, o uso de componentes dietéticos com propriedades protetoras pode ter um efeito benéfico significativo, constituindo o conceito de proteção endógena basal.⁽¹³⁾

Estudos indicam que o licopeno, principal antioxidante entre os carotenóides, apresenta um efeito fotoprotetor, pois reduz o aparecimento do eritema se consumido diariamente e por período igual ou maior que oito semanas.^(5,13) A biodisponibilidade do licopeno nos alimentos é variável, o que justifica a necessidade de avaliar o seu efeito fotoprotetor através de fonte *in natura* comparada ao consumo de licopeno sintético, em cápsula.

2 OBJETIVOS

- Verificar o efeito fotoprotetor sistêmico do carotenóide licopeno através da observação da redução do eritema induzido pela RUVB ou aumento da DEM.
 - Comparar a eficácia fotoprotetora entre duas fontes, ou seja, pasta de tomate e cápsulas de licopeno sintético.
 - Avaliar a segurança das duas fontes de licopeno para uso oral.
-

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Antioxidantes

As substâncias antioxidantes (AOs) reduzem ou inibem a oxidação de um substrato oxidável de maneira eficaz. Dessa forma retardam ou impedem os danos devidos à oxidação, desde que presentes em pequenas concentrações, quando comparadas ao agente oxidante.

Os AOs são classificados em primários e secundários, pois apresentam propriedades de proteção de maneira diversificada, agindo em diferentes etapas do processo oxidativo e funcionando por mecanismos distintos. Os primários são os compostos AOs capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres devido à doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, o que transforma os radicais em substâncias estáveis. Já os secundários têm diferentes modos de ação: inativação de espécies reativas de oxigênio (ERO), ligação de íons metálicos pela alteração de valência; conversão de hidroperóxidos em espécies não-radicalares ou absorção da RUV.⁽¹⁵⁾

Compostos enzimáticos e não enzimáticos são os componentes do sistema de defesa AO presente no organismo, no interior das células ou na circulação sanguínea e também nos alimentos ingeridos.^(16,17,18) O organismo humano desenvolveu sistemas para lidar com o estresse oxidativo, incluindo os enzimáticos que são reconhecidos pela eficiência em neutralizar as ERO. O sistema enzimático inclui as enzimas superóxido-dismutase, glutathiona-peroxidase e catalases. Várias enzimas AOs são metaloenzimas, que contêm traços de minerais. A glutathiona-peroxidase é uma enzima dependente de selênio e a enzima superóxido-dismutase contém manganês, zinco ou cobre, dependendo da sua localização nos compartimentos celulares.

Os principais AOs não enzimáticos são: glutathiona, bilirrubina, hormônios sexuais estrogênicos, ácido úrico, coenzima Q, melanina, melatonina, alfa-tocoferol e ácido lipóico.⁽¹⁹⁾

Os componentes não-enzimáticos da defesa AO incluem: minerais como cobre, manganês, zinco, selênio e ferro; vitaminas, como ácido ascórbico, vitamina E e vitamina A; carotenoides, como betacaroteno, licopeno e luteína; bioflavonóides, como genisteína, quercetina e taninos (catequinas).⁽²⁰⁾

Os AOs absorvem os radicais livres e inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas.⁽²¹⁾

O estresse oxidativo, causado pelo desbalanço entre os sistemas AOs e a produção de compostos oxidativos (radicais livres, ERO) aparentemente está associado a diversas doenças multifatoriais, especialmente câncer, doenças cardiovasculares e inflamatórias. Os mecanismos pelos quais essas doenças se desenvolvem, geralmente envolvem alterações oxidativas de moléculas consideradas críticas, o que inclui proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos além das substâncias envolvidas na modulação da expressão gênica e respostas inflamatórias.^(22,23)

3.2 Carotenóides

Os carotenóides são corantes naturais lipossolúveis, presentes nas frutas e vegetais, com estrutura química composta por ligações duplas conjugadas responsáveis pela cor e algumas de suas funções biológicas.⁽²⁴⁾

Estão localizados em organelas subcelulares (cloroplastos e cromoplastos). Nos cloroplastos encontram-se associados principalmente às proteínas e são, normalmente, mascarados pela presença de outros pigmentos clorofílicos dominantes. Atuam como pigmentos fotoprotetores na fotossíntese e como estabilizadores de membranas. Nos cromoplastos, eles são depositados na forma cristalina (tomate e cenoura), ou como gotículas de óleo (manga).⁽²⁵⁾

Existem 600 pigmentos carotenóides na natureza, O organismo humano não é capaz de sintetizar carotenoides que são obtidos exclusivamente pela dieta. Os carotenóides modulam a carcinogênese, inibem a proliferação celular, estimulam a comunicação entre as células (junções *gap*) e estimulam a resposta imune.⁽²⁶⁾ Testes *in vitro* e *in vivo* sugerem que os carotenóides são excelentes AOs, sequestrando e inativando radicais livres e as ERRO.⁽²⁷⁾

A estrutura comum aos carotenóides é a cadeia polieno, representado por um longo sistema de ligação dupla conjugada. Esta cadeia pode conter grupos terminais cíclicos. O sistema conjugado e rico em elétrons do polieno é responsável pela atividade AO dos carotenóides, como absorção de oxigênio *singlet* e radicais livres, a fim de inibir as reações em cadeia onde estão envolvidos.⁽²⁸⁾ A presença dessas ligações também facilita a oxidação dos carotenóides, o que provoca uma perda da coloração nos alimentos. Sugere-se que por serem facilmente oxidados, apresentem atividade AO. Além da proteção celular e *in vitro* contra o oxigênio *singlet*, os carotenóides inibem a peroxidação de lipídios em baixas pressões de oxigênio. O poder AO varia entre os carotenóides e o licopeno é considerado o mais eficiente sequestrador de oxigênio *singlet*.⁽²⁹⁾

Os níveis de carotenóides na pele humana variam de 0,2 a 0,6 nmol g⁻¹ em tecido úmido, sem a gordura subcutânea.⁽³⁰⁾ No entanto, existem diferenças significativas em relação ao nível de um único carotenóide e na sua distribuição nas diferentes áreas da pele.⁽³¹⁾

Os carotenóides reagem, sequestram os radicais livres, como os radicais peróxidos e o oxigênio *singlet*, sendo a base de sua ação AO. Carotenóides como o betacaroteno, licopeno, zeaxantina e luteína, exercem funções AOs em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas, através da peroxidação lipídica.⁽³²⁾

A biodisponibilidade dos constituintes do alimento é um processo complexo, que envolve a digestão, a captação intestinal e absorção, distribuição e

utilização pelos tecidos.^(6,33,34) Existem vários fatores que podem influenciar na biodisponibilidade dos carotenóides, como: matriz alimentar, forma isomérica, quantidade e tipo de gordura na dieta, processo de absorção, interações entre os carotenóides, presença de fibra alimentar e processamento dos alimentos fontes.⁽⁶⁾

3.3 Licopeno

O licopeno é um dos 25 pigmentos carotenóides que pode ser encontrado no organismo humano e se concentra no plasma e tecidos como o fígado, pulmão, mama e pele. É lipossolúvel e sua estrutura é simétrica e acíclica, sendo constituído somente por átomos de carbono e hidrogênio, contendo 11 ligações duplas conjugadas e duas não conjugadas.^(8,9) É responsável pela coloração vermelho-alaranjada de frutas e vegetais.⁽⁶⁾

Não apresenta atividade de pró-vitamina A, porém apresenta um efeito protetor direto contra os radicais livres^(6,35), sendo considerado um potente AO protetor celular por reação com os radicais peróxidos e com o oxigênio molecular^(10,32), possivelmente devido à presença das duas ligações duplas não conjugadas que determinam maior reatividade.^(36,37) Considerado atualmente como um dos mais potentes AOs, é referido na prevenção da carcinogênese e aterogênese por proteger moléculas como lipídios, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), proteínas e DNA.⁽³⁸⁾

O carotenóide licopeno é encontrado em número limitado de alimentos. O tomate e seus derivados são as melhores contribuições dietéticas, mas outras boas fontes são: mamão, goiaba vermelha, pitanga, melancia.^(6,38)

A quantidade de licopeno nas frutas e vegetais varia de acordo com a estação do ano, estágio de maturação, variedade, fatores climático e geográfico, local de plantio, manejo pós-colheita e armazenamento; em geral, quanto mais

avermelhado for o alimento, maior será a concentração de licopeno. As maiores concentrações de licopeno estão, em geral, nas cascas dos alimentos fontes, quando comparadas à polpa dos frutos, sendo mais concentrado em alimentos produzidos em regiões de climas quentes.⁽³⁹⁾ O licopeno está presente especialmente no tecido do pericarpo de tomates, localizado no compartimento celular dos cloroplastos, nos quais cristais são associados à estrutura da membrana.⁽⁴⁰⁾

Altas concentrações de licopeno também são encontradas nos produtos comerciais à base de tomates, como molhos, polpa, purê, extratos, massa, suco e *ketchup*. Essas concentrações também dependem do tomate utilizado e da produção da matéria-prima.⁽⁴¹⁾

A absorção do licopeno é maior em refeições que utilizam tomates cozidos e é influenciada pela quantidade de gordura. Além disso, algumas fibras, como a pectina, podem reduzir a absorção devido ao aumento da viscosidade.⁽⁴²⁾ Alguns carotenóides também podem afetar a absorção do licopeno como a luteína e o betacaroteno, pois ocorre uma competição no intestino.^(6,8)

Ainda não foi definida na literatura uma dose específica, mínima ou máxima, de licopeno que possa ser considerada eficaz e segura para ingestão.⁽⁴³⁾ São relatadas doses de 5 mg, 10 mg, até 35 mg/dia, esta para proteção contra câncer de pele e doença cardíaca.^(10,43,44,45,46)

O processamento dos alimentos fontes de licopeno tem demonstrado um aumento na sua biodisponibilidade, devido à liberação da matriz. Com isso, molho de tomate ou o purê de tomate são tidos como as melhores fontes biodisponíveis.⁽⁴⁷⁾

O processo de absorção do licopeno ocorre de forma passiva, sem gasto de energia, mas o aproveitamento no interior da mucosa ainda é pouco esclarecido. Estudos sugerem que seja transportado entre as células por proteínas específicas ou migre agregado a gotas lipídicas. No enterócito, ao

contrário do que ocorre com outros carotenoides, o licopeno não é transformado em vitamina A. Metabólitos oxidados do licopeno têm sido encontrados no soro humano, embora pouco se saiba sobre os locais e mecanismos envolvidos na sua formação. O licopeno sai do enterócito carregado por quilomícrons que, pela ação da enzima lipase lipoprotéica, vão sendo retirados e absorvidos de forma passiva por vários tecidos, incluindo os adrenais, renais, adiposos, esplênicos, pulmonares e órgãos reprodutivos. Esses carotenóides podem se acumular no fígado ou serem envolvidos pela lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL) e carregados novamente ao sangue.⁽⁴⁷⁾

A biodisponibilidade do licopeno parece estar relacionada também às suas formas isoméricas. O licopeno é encontrado, na maioria dos seus alimentos fontes, na forma de trans-isômero (80% a 97%), mas parece que os cis-isômeros constituem a forma melhor absorvida e encontrada no organismo humano, devido ao comprimento reduzido e melhor solubilidade nas micelas. O pH ácido do estômago pode contribuir, em pequena proporção, na transformação de *all-trans* para cis-isômeros de licopeno. É sugerido também que isômeros lineares *all-trans* podem agregar-se dentro do intestino e formar cristais, reduzindo grandemente sua absorção pelas micelas.⁽³⁴⁾

A absorção do licopeno sofre influência direta da gordura na dieta uma vez que, para ser absorvido, precisa ser incorporado às micelas, que dependem diretamente da presença de gordura no intestino. Desta maneira torna-se fundamental a ingestão de gordura junto com o licopeno, para que haja estímulo à produção de bile.⁽³³⁾ Todas as formas de licopeno são solúveis em água, porém se torna um componente não polar que se dissolve muito melhor em óleo, devido à sua estrutura química.⁽⁴⁸⁾ A absorção do licopeno pelas células da mucosa intestinal é impulsionada pela formação de micelas de ácidos biliares. Em razão da produção de bile ser influenciada pela ingestão de gordura, consumi-la em refeição contendo licopeno aumenta a absorção. A quantidade de gordura necessária depende do tipo de carotenoide⁽⁴⁷⁾, sendo sugerida a

quantidade de 5 a 10 gramas para uma absorção eficaz. Outro estudo refere que a quantidade de gordura necessária para absorção dos carotenóides varia de 3 a 5g por refeição.⁽³³⁾

A biodisponibilidade também depende do tipo de gordura consumida. Os triglicérides de cadeia média (TCM) diminuem a biodisponibilidade, já que são absorvidos via veia porta, diminuindo, assim, a formação de quilomícrons após a refeição. Além disso, drogas responsáveis pela redução do colesterol sérico e esteróides de plantas, podem influenciar na incorporação do licopeno às micelas, diminuindo a absorção. Alguns substitutos de gordura podem criar uma base hidrofóbica no lúmen do intestino, unindo-se ao licopeno e tornando-o indisponível para absorção.⁽⁴⁷⁾

Sugere-se que a ingestão de fibras interfira na formação de micelas, levando a uma diminuição na absorção dos carotenóides. Entretanto, os estudos até hoje são contraditórios.⁽³³⁾

Em relação à apresentação do licopeno, sugere-se que a fonte sintética possa ser equivalente ao licopeno *in natura* quando considerada a biodisponibilidade, com semelhante conteúdo isomérico.^(9,49)

3.4 Efeitos da radiação ultravioleta B na pele

A exposição à luz solar desencadeia uma série de eventos bioquímicos. Como reação primária, cada comprimento de onda interage com um cromóforo.^(50,51) O cromóforo pode ser diretamente danificado ou atua como um fotossensibilizador para subseqüentes reações. Processos foto-oxidativos são iniciados na presença de oxigênio, que é encontrado em todos os tecidos expostos à luz.. As ERO, como oxigênio *singlet* e radicais peroxila, são danosas para moléculas biológicas, prejudicando sua função. As respostas celulares

incluem modificação na expressão de genes, respostas imunológicas e inflamatórias, bem como indução de apoptose.⁽¹¹⁾

Na pele, a queimadura é uma resposta comum após excessiva exposição à luz solar. O eritema é devido à estimulação de vias inflamatórias e é acompanhado por sensibilidade, podendo evoluir para formação de bolhas, dor e injúria mais profunda, caracterizando a queimadura solar de segundo grau.

A RUVB é a principal causa de queimaduras na pele. A DEM caracteriza a sensibilidade do indivíduo à RUV e é definida como a menor dose de RUV necessária para produzir eritema detectável num período de 18 a 24 horas após a exposição. O espectro de RUVB é cancerígeno e a exposição excessiva e descontrolada ao sol tem sido associada ao aumento da incidência do câncer de pele não-melanoma. A foto-oxidação também desempenha papel importante no envelhecimento precoce da pele e reações de fotossensibilidade.⁽⁵²⁾

A radiação solar se propaga na forma de ondas e, quanto menor o comprimento de onda, maior a quantidade de energia. Os raios UV são responsáveis pela maioria das alterações cutâneas fotoinduzidas.

A RUVB é absorvida pela epiderme e a resposta aguda da pele inclui: eritema, edema, pigmentação, seguida de espessamento da epiderme e derme e síntese da vitamina D. As consequências crônicas incluem: envelhecimento precoce, imunossupressão, lesões pré-neoplásicas (queratoses actínicas) e carcinogênese, com desenvolvimento dos cânceres de pele não-melanoma - carcinomas baso e espinocelular⁽⁵³⁾.

O eritema induzido pela RUVB surge após aproximadamente quatro horas da exposição, com pico entre 16 e 24 horas e, na maioria das vezes, desaparece após um dia.

A RUV desempenha, ainda, um papel fundamental na patogênese de doenças com fotossensibilidade como lúpus eritematoso, dermatite actínica crônica, erupção polimorfa à luz, prurigo actínico, fotoalergias e reações fototóxicas a drogas.

3.5 Fotoproteção oral

A pele apresenta sistemas AOs enzimáticos e não enzimáticos de defesa contra a RUV, além do sistema imunológico representado principalmente pelas células de Langerhans presentes na epiderme.

A exposição excessiva à radiação solar pode esgotar os sistemas de defesa desencadeando alterações agudas e crônicas. A agressão relacionada à RUV se dá por ação direta e indireta, levando ao dano celular e geração das ERO. Há também alteração no número, morfologia e função das células de Langerhans e, como consequência, diminuição da defesa cutânea, maior risco de infecções e desenvolvimento do câncer de pele.

Diferentes estratégias são disponíveis para a proteção da pele contra os danos causados pela RUV.⁽⁵⁴⁾ Evitar exposição solar, buscar a sombra, usar roupas protetoras e produtos fotoprotetores são medidas largamente recomendadas. A fotoproteção sistêmica atuaria através de componentes ingeridos, com contribuição importante na defesa contra os efeitos da RUV, desde que combinada à aplicação tópica dos fotoprotetores.⁽⁵⁵⁾

A nutrição pode auxiliar através de uma dieta adequada e rica em nutrientes como vitaminas C e E presentes em alimentos fontes de carotenoides, como betacaroteno e licopeno. Também já foi descrito o benefício do *Polipodium leucotomus*. Estudos sugerem que o consumo regular de nutrientes com poder AO diminui o eritema induzido pela RUV e a fotocarcinogênese. Propriedades AOs dos polifenóis, chá verde, isoflavona, ácidos graxos poli-insaturados, têm demonstrado efeitos contra a RUV. O *Lactobacillus johnsonii* foi o primeiro probiótico com eficácia demonstrada clinicamente na pele exposta à RUV.⁽⁵⁶⁾

A atividade fotoprotetora dos carotenóides está relacionada à sua propriedade AO, por sequestrar os radicais peroxila e o oxigênio molecular *singlet* produzidos, principalmente, por via física, envolvendo a transferência de

energia de excitação do O_2 ao carotenóide, resultando em oxigênio no estado fundamental.⁽¹⁸⁾

Vários carotenóides tem sido sugeridos como protetores solares ou AOs orais. No entanto, estudos que demonstrem, com boa metodologia, a proteção da pele pelo uso oral do betacaroteno, por exemplo, são escassos e os resultados são contraditórios.⁽¹³⁾

A suplementação nutricional com probióticos associados aos carotenóides tem sido relatada como uma estratégia complementar ao uso dos protetores solares e medidas gerais de fotoproteção. A eficácia foi comprovada, quando utilizada antes da exposição solar, na prevenção de imunossupressão e da ocorrência de dermatoses com fotossensibilidade.⁽¹¹⁾

A suplementação oral de carotenóides protege a pele contra o eritema induzido pela RUVB. Estudo realizado nos Estados Unidos, demonstrou o efeito do alfa e betacaroteno, 0,36 mg e 29,4 mg, respectivamente, no eritema induzido pela exposição à RUV. Nesse estudo, o valor da DEM e os níveis plasmáticos de beta e alfacaroteno aumentaram significativamente. A peroxidação lipídica foi inibida de maneira dose-dependente.⁽⁵⁷⁾

Os resultados de estudo em animais mostrou que o chá verde é capaz de impedir a degradação do tecido colágeno pelo mecanismo AO, sendo potencializado quando combinado às vitaminas C e E.⁽⁵⁸⁾ Outro estudo verificou as propriedades protetoras da epigallocatequina galato (EGCG) e do chá verde no dano ao DNA UV-induzido. Os resultados indicaram que a EGCG, administrada sob a forma de chá verde (540 ml), promoveu uma proteção dose-dependente e o efeito fotoprotetor da ingestão de chá verde foi demonstrado pela redução dos marcadores de dano ao DNA⁽⁵⁹⁾.

Em relação ao resveratrol, estudo *in vitro* realizado por meio da irradiação gama de lipossomas confirmou que essa substância é também varredora eficiente de radicais livres. Além disso, os resultados mostraram que o resveratrol foi eficaz na prevenção da peroxidação lipídica.⁽⁶⁰⁾

Outro estudo demonstrou atividades fotoprotetora e AO da luteína relacionadas à peroxidação lipídica na pele. Na pesquisa placebo-controlada, 40 mulheres saudáveis e com sinais de envelhecimento cutâneo precoce, com idades entre 25 e 50 anos, foram randomizadas para receber luteína 5 mg e zeaxantina 0,3 mg, duas vezes ao dia, por vias oral e tópica, por 12 semanas. Os resultados mostraram que a combinação oral e tópica apresentou atividade AO e que a administração isolada da luteína promoveu melhor proteção relacionada à peroxidação lipídica e atividade fotoprotetora na pele.⁽⁶¹⁾

Estudo que avaliou os efeitos da ingestão contínua de um produto rico em flavonóides do cacau (18 g/dia de dois tipos de cacau dissolvidos em 100 ml de água: cacau rico e pobre em flavonóides), em 24 mulheres, durante 12 semanas, concluiu que o cacau em pó contribuiu para a fotoproteção endógena, melhorou a circulação sanguínea na derme e a hidratação da pele.⁽⁶²⁾

Estudo realizado com pycnogenol demonstrou redução do eritema, aumento da DEM e inibição da expressão de genes fator NF-κB-dependentes induzidos pela RUV. O pycnogenol é um extrato da casca do pinho marítimo francês rico em procianidinas e tem sido investigado devido ao seu efeito na proteção contra o eritema induzido por simuladores de RUV. Neste estudo, foram avaliados os efeitos da suplementação oral de pycnogenol, 1,10 mg/kg/dia nas primeiras 4 semanas e 1,66mg/kg/dia, durante as 4 semanas seguintes, na DEM. Os resultados indicaram que o pycnogenol reduziu o eritema através da inibição da expressão de genes NF-κB-dependentes, contribuindo para o aumento da DEM.⁽⁶³⁾

Baseados na literatura sobre fotoproteção oral através de orientação dietética ou suplementação, considerando que os carotenóides são os agentes mais citados e que o licopeno é considerado o mais potente, desenvolvemos este estudo para avaliar e comparar o efeito fotoprotetor do licopeno sintético e *in natura* contra o eritema induzido por simulador de RUVB.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento

Estudo de intervenção terapêutica, randomizado e comparativo, com duração de 10 semanas.

4.2 População

Foram elegíveis 21 sujeitos da pesquisa saudáveis recrutados no complexo - Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP – Campus Vila Clementino / Hospital São Paulo (HSP). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – UNIFESP / HSP, número 0473/11. Os sujeitos da pesquisa foram orientados sobre os objetivos e desenvolvimento do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Através de lista de randomização gerada em programa de computador constituíram-se dois grupos: 11 sujeitos para uso das cápsulas de licopeno (grupo C) e 10 para pasta de tomate (grupo T), avaliados antes do início da suplementação, após 4, 8 e 10 semanas, de acordo com ficha clínica (Anexo 1).

4.3 Materiais

4.3.1 Colorímetro

Chromatometer Minolta CR400, Konica Minolta Sensing Inc., Japão. O CR400 é utilizado definindo-o para “impressão: Y”, Espaço Cor: $L^* a^* b^*$, e Luz fonte: D65. Calibra-se o colorímetro com a peça de cerâmica de cor branca e as medições devem ser feitas em L^* , a^* e b^* . Para medições confiáveis sobre a cor

de pele, o voluntário deve descansar por 10 minutos, com a área de pele escolhida descoberta, para eliminar o eritema e marcas relacionados a contatos ou estresse. Durante a medição, deve-se tomar cuidado para aplicar a abertura do cone com a cabeça de detecção do colorímetro de maneira que só entre em contato com a pele, sem qualquer tipo de pressão. A pressão excessiva pode causar um efeito de "branqueamento" na pele, conduzindo a medições incorretas. Uma posição ergonômica deve ser adotada, até que um desvio padrão inferior a 0,2 (0,1, preferencialmente) nas medidas L^* , a^* b^* ou coordenadas é obtido por meio de medições repetidas três vezes na mesma área.

4.3.2 Simulador de radiação UV

SPF Ultraviolet Solar Simulator Model 16S – 300 watts, Solar Light Co., Inc., Estados Unidos. O simulador de radiação UV Solar Light 16S-300 de única porta foi desenvolvido como fonte de alta intensidade de luz UV e para a determinação de valores do fator de proteção solar (FPS) contra RUVB em produtos relacionados. Com 2 a 5 DEM / min. estes simuladores permitem testes de curta duração para produtos de alto valor de FPS. Seguindo as recomendações da *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (COLIPA)* para conteúdo espectral e as diretrizes de teste do *Food and Drug Administration*, Estados Unidos (FDA, US), o simulador permite determinação rápida do FPS. O simulador gera luz UV na faixa de 290 a 400nm, excluindo todo comprimento de onda menor que 290 nm e limitando a radiação acima de 400nm a menos de 2% do total. O equipamento deve ser ligado 15 minutos antes do início de sua utilização para que a lâmpada comece a emitir uma intensidade de luz estável. Para o processo de irradiação, a pele deve ficar posicionada de modo a encostar ao apoio do equipamento que possui distância de segurança da saída da luz.

4.3.3 Cápsulas de licopeno

Foram produzidas em farmácia de manipulação (Formulativa - Farmácia de Manipulação, São Paulo), com composição de 16mg de licopeno extrato seco e excipientes - aerosil 2%, talco farmacêutico 15%, amido glicolato de sódio 5%, lactose 40% e amido de milho q.s. para cada cápsula.

4.3.4 Extrato de tomate enlatado

Marca Elefante. O grupo que consumiu a pasta de tomate como fonte de licopeno foi orientado a ingerir diariamente duas colheres de sopa do produto aquecido com uma colher de sopa de azeite de oliva extra virgem. Ambos os produtos foram fornecidos gratuitamente aos sujeitos da pesquisa. Para facilitar a adesão foi dada orientação de consumir a pasta de tomate no almoço ou no jantar, em carnes, pães e massas.

4.4 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão foram: ambos os sexos, idades entre 20 e 40 anos, não fumantes e fototipos II ou III, de acordo com a classificação de Fitzpatrick⁽⁶⁴⁾ (Anexo 2). Os critérios de exclusão foram: hipersensibilidade ou intolerância conhecida ao licopeno; histórico de doenças de má absorção e/ou hepáticas; fotossensibilidade e/ou histórico de câncer de pele; uso de vitaminas ou medicamentos com risco de hepatotoxicidade; gestantes e/ou lactantes e excesso de pelos na região dorsal.

4.5 Intervenção

Os sujeitos da pesquisa iniciaram a ingestão regular de 16mg de licopeno durante 10 semanas, através do consumo de uma cápsula ou duas colheres das de sopa de pasta de tomate com uma colher das de sopa de azeite de oliva diariamente. Foi solicitado o preenchimento de um diário alimentar para ser analisado e discutido em todas as visitas.

A DEM individual foi definida através do uso do gráfico $ITA^\circ \times DEM$ (Anexo 3), o valor ITA° é definido pelo cálculo do ângulo tipológico individual $ITA^{\circ(65)}$, baseado nas cores L^* , a^* , b^* , observadas pelo colorímetro, na visita inicial (visita 1, semana 0). Foi realizada leitura de cinco pontos na região dorsal do indivíduo e feita a média das cores L^* , a^* , b^* e então calculado o valor ITA° .

$$ITA^\circ = [\text{Arc Tangente } ((L^* - 50) / b^*)] 180 / 3.1416$$

A opção de cores selecionada para o colorímetro CR 400 foi CIELAB: L^* , a^* , b^* , sendo calibrado para Iluminant D65, indicado para ser utilizado para leitura de cor da pele pela *Commission Internationale de L'éclairage* (CIE).

Para determinação do tempo de exposição necessário para determinar a DEM foi utilizado o calibrador do equipamento que lê a quantidade de radiação por minuto que a lâmpada emite. Este processo foi realizado em todas as visitas a fim de regular o tempo de exposição, considerando a quantidade de luz emitida. Em todas as visitas o leitor forneceu o valor de 3,4 DEM / minuto.

Considerando que o ITA° e sua respectiva DEM são baseados em pessoas de origem europeia e que a população brasileira apresenta grande miscigenação, foi irradiado o valor da DEM encontrado para o indivíduo segundo seu ITA° (denominado DEM *teórico*) e também irradiação de mais 4 pontos, com diferenças de 25%. Desta forma, foi observado o eritema melhor formado após

24 horas da irradiação. O valor da DEM real para cada indivíduo foi o que apresentou o melhor eritema, ou seja, com bordas bem definidas.

Nas visitas subsequentes, foi utilizado o valor da DEM *real* e também mais 4 pontos, com diferenças de 12%, a fim de observar se a DEM individual com eritema bem formado teria valor aumentado pela ingestão regular de licopeno e, se houvesse, observar através das diferenças de 12%, a intensidade com que este valor aumentava. No retorno 24 horas após a irradiação, foi realizada a leitura da cor da pele (L^* , a^* , b^*) através do colorímetro e também a avaliação clínica do melhor eritema.

O dorso foi escolhido para realização da irradiação, por ser mais amplo e também por não ser exposto ao sol diretamente. Para as irradiações e medições de cor dos cinco pontos, foi desenvolvido um modelo utilizando uma régua com cinco pontos vazados. Como padrão, foi determinada a altura entre o cóccix e a 1ª vértebra abaixo do término escápula, dividindo a região em quadrantes. A régua foi ajustada logo após o término da saliência óssea vertebral.

Para a leitura da cor da região a ser irradiada, o colorímetro foi posicionado sem causar pressão na pele, para evitar rubor e/ou indução de coloração diferente da pele em condições normais. Para o uso do equipamento de irradiação UVB, o indivíduo permaneceu sentado em cadeira giratória e com altura ajustável, a fim de garantir o posicionamento exato da região escolhida.

4.6 Parâmetros de eficácia

Antes de iniciar a suplementação e após 4, 8 e 10 semanas foram realizadas as seguintes avaliações:

- Coleta de sangue para a dosagem de licopeno sérico pelo método denominado *high performance liquid chromatography* (HPLC) ou
-

cromatografia líquida de alta resolução, que é o método padronizado na literatura.⁽⁶⁶⁾

O tipo e o volume de amostra são 2,0ml de palma (heparina) em frasco âmbar que deve ser protegido da luz. Os equipamentos utilizados para esta dosagem são: bomba isocrática P 100 TSP, injetor Rheodyne 7725i com *loop* de 20 µL, detector eletroquímico BAS e sistema de dados Clarity. Procedimento padrão:

- Pipetar 100µL de soro/plasma em frasco âmbar;
- Adicionar 50µL de reagente precipitador e agitar em vortex por 30 segundos;
- Adicionar 200µL de reagente de extração e agitar em vortex por 30 segundos;
- Centrifugar por 10 minutos a 13000 rpm;
- Transferir o sobrenadante para um frasco de vidro âmbar e deixar evaporar com nitrogênio;
- Resuspender com 200µL de metanol, agitar por 1 minuto e injetar 20µL no sistema HPLC.

O laboratório privado que realizou a análise de cromatografia líquida de alta resolução foi o Vitae Cromatografia Líquida em Análises Clínicas, São Paulo.

- Medida da cor da pele por colorimetria (*Chromatometer Minolta CR400, Konica Minolta Sensing Inc.*, Japão). O colorímetro possui sistema de cores em três dimensões, ou seja, proporciona a medida dos valores L^* , a^* , b^* sendo que o valor a^* corresponde ao pico de eritema.
-

- Exposição à irradiação com luz UVB emitida pelo Simulador de radiação UV (*SPF Ultraviolet Solar Simulator Model 16S – 300 watts, Solar Light Co., Inc., Estados Unidos*). A DEM ou o valor a^* para cada indivíduo foi determinada 24 horas após a irradiação da pele.

Para avaliar a redução do eritema ou o aumento da DEM foi utilizado o Δ valor (valor a^* 24h após a irradiação menos valor a^* antes da irradiação) que é padronizado para quantificar a resposta da pele à RUVB. Cada voluntário foi o seu próprio controle pela medida da DEM realizada antes do início do consumo do licopeno. A análise estatística dos resultados foi realizada pelo teste ANOVA com medidas repetidas.

4.7 Parâmetros de segurança

Relato e observação de eventos adversos.

Os eventos adversos esperados em relação ao consumo de licopeno eram intolerância ao consumo da pasta de tomate, pela impalatabilidade e/ou possível irritação da mucosa gástrica pelo consumo regular.

Em relação à irradiação UVB, os eventos adversos esperados eram prurido, ardor e hiperpigmentação na área irradiada.

5 RESULTADOS

5.1 Retiradas prematuras

Três sujeitos da pesquisa desistiram após quatro semanas do início do estudo, dois por razões pessoais (um de cada grupo) e um por evento adverso, ou seja, gastralgia pelo consumo da pasta de tomate. Assim, 10 sujeitos do grupo cápsula (C) e 8 sujeitos do grupo pasta de tomate (T) concluíram o estudo.

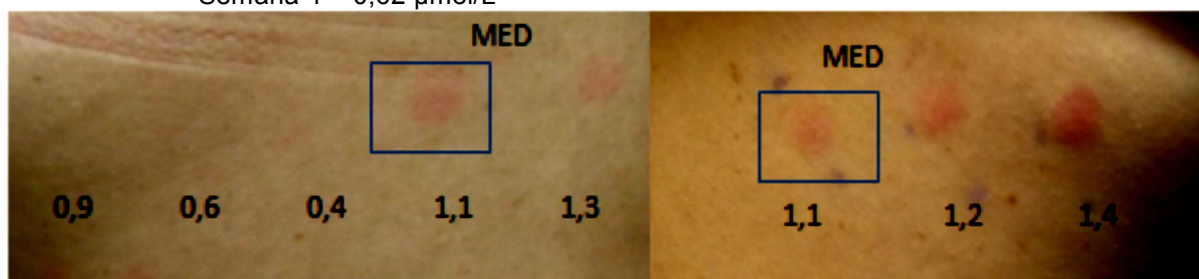
5.2 Dosagem do licopeno sérico

Houve grande variabilidade nas dosagens do licopeno sérico nas quatro avaliações para todos os sujeitos da pesquisa (Tabela 1). Assim, foram considerados os resultados antes da suplementação e após 10 semanas, através da comparação da média dos valores mínimo e máximo em cada grupo. No grupo C os valores variaram entre 0,15 μ mol e 0,55 μ mol na coleta inicial e, após 10 semanas, entre 0,20 μ mol e 0,73 μ mol; no grupo T variaram entre 0,2 μ mol e 0,5 μ mol na coleta inicial e, após 10 semanas, entre 0,25 μ mol e 0,42 μ mol. Desse modo, não foi possível estabelecer correlação entre as modificações nos níveis séricos do licopeno e intensidade do eritema induzido pela RUVB. Para alguns sujeitos da pesquisa, verificou-se que, apesar do aumento significativo no nível de licopeno sérico, não houve redução do eritema ou aumento da DEM, quatro semanas após o tratamento, como exemplificado na figura 1. Entretanto, para outros, não houve diferença significativa nos níveis séricos mesmo depois de 10 semanas de ingestão regular de licopeno.

Tabela 1 – Dosagem de licopeno sérico – C = Cápsula; T = pasta de tomate

Paciente	Licopeno Sérico	Semana			
		0	4	8	10
1	Cápsula	0,52	0,33	0,29	0,42
2	<i>Drop out</i>	-	-	-	-
3	Extrato	0,23	0,53	0,49	0,3
4	Cápsula	0,55	0,18	0,61	0,26
5	Cápsula	0,47	0,25	0,28	0,2
6	Extrato	0,42	0,46	0,62	0,25
7	<i>Drop out</i>	-	-	-	-
8	<i>Drop out</i>	-	-	-	-
9	Extrato	0,5	0,54	0,41	0,25
10	Cápsula	0,34	0,35	0,47	0,3
11	Cápsula	0,19	0,62	0,4	0,73
12	Extrato	0,22	0,75	0,75	0,32
13	Extrato	0,24	0,52	0,39	0,28
14	Cápsula	0,34	0,3	0,45	0,26
15	Cápsula	0,3	0,42	0,63	0,2
16	Extrato	0,2	0,27	0,51	0,26
17	Extrato	0,21	0,52	0,37	0,32
18	Cápsula	0,15	0,54	0,24	0,32
19	Extrato	0,37	0,64	0,68	0,42
20	Cápsula	0,19	0,2	0,18	0,28
21	Cápsula	0,32	0,45	0,3	0,31

C – CÁPSULA Licopeno Sérico
Semana 0 = 0,19 $\mu\text{mol/L}$
Semana 4 = 0,62 $\mu\text{mol/L}$



T – Pasta de Tomate Licopeno Sérico
Semana 0 = 0,37 $\mu\text{mol/L}$
Semana 4 = 0,64 $\mu\text{mol/L}$

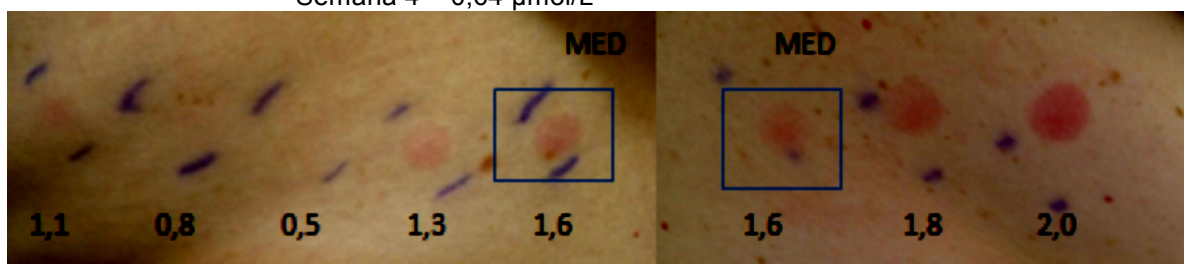


Figura 1 – Discrepância entre aumento significativo no nível sérico de licopeno sem redução do eritema ou aumento da DEM, após quatro semanas de consumo regular de licopeno.

5.3 Medida da dose eritematosa mínima e eritema

A DEM não teve alteração na avaliação visual do investigador, em ambos os grupos, durante todo o período do estudo. Para detectar a diminuição do eritema e aumento da DEM, foi usado o valor *a* obtido pelo sistema de cor em três dimensões do colorímetro, uma vez que corresponde à intensidade do eritema em todas as visitas conforme demonstrado nas tabelas 2 a 7.

Tabela 2 – Valores de leitura de colorímetro, ITA° e DEM – Visita 1

Paciente	Randomização	VALOR					Tempo Valor DEM Teórico (segundos)
		<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ITA°	DEM teórico	
1	Cápsula	68,2	7,05	17,712	46,6	1,3	22,6
2	<i>Drop out</i>						
3	Extrato	58,22	10,6	22,51	20,05	2,5	43,6
4	Cápsula	60,97	9,48	19,76	29	1,9	33,13
5	Cápsula	69,79	6,54	14,32	54,1	1	17,44
6	Extrato	63,89	10,16	19,95	34,8	1,6	27,9
7	<i>Drop out</i>						
8	<i>Drop out</i>						
9	Extrato	65,79	6,94	19,34	39,21	1,5	26,16
10	Cápsula	64,23	9,13	20,45	34,8	1,6	27,9
11	Cápsula	70,34	6,02	13,11	57,1	0,9	15,69
12	Extrato	66,93	8,878	16,53	45,56	1,3	22,67
13	Extrato	67,99	6,178	16,3	47,72	1,2	20,9
14	Cápsula	63,47	9,17	22,88	30,45	1,9	33,13
15	Cápsula	69,69	6,41	16,12	50,65	1,1	19,18
16	Extrato	53,98	13,86	19,75	11,3	3,3	57,55
17	Extrato	62,68	10,53	17,95	35,37	1,6	27,9
18	Cápsula	63,64	10,71	16,47	47,45	1,2	20,9
19	Extrato	68,23	8,03	15,56	49,4	1,1	19,18
20	Cápsula	66,24	7,56	17,88	42,3	1,4	24,4
21	Cápsula	69,29	10,72	19,55	29,98	1,9	33,13

Tabela 3 – Valores da DEM Real individual e tempo respectivo de irradiação – Visita 2

Paciente	Randomização	Nº do ponto eritema	DEM Real	Tempo para DEM Real
1	Cápsula	4	1,625	28,25
2	<i>Drop out</i>			
3	Extrato	4	3,125	54,5
4	Cápsula	5	2,85	49,69
5	Cápsula	1	1	17,44
6	Extrato	1	1,6	27,9
7	<i>Drop out</i>			
8	<i>Drop out</i>			
9	Extrato	4	1,875	32,7
10	Cápsula	4	2	34,8
11	Cápsula	4	1,125	19,62
12	Extrato	5	1,95	34
13	Extrato	5	1,8	31,35
14	Cápsula	1	1,9	33,13
15	Cápsula	5	1,65	28,77
16	Extrato	4	4,125	71,93
17	Extrato	5	2,4	41,8
18	Cápsula	1	1,2	20,9
19	Extrato	5	1,65	28,77
20	Cápsula	5	2,1	36,6
21	Cápsula	2	1,425	24,84

Tabela 4 – Valores de leitura da cor *a* antes e após a irradiação – Visitas 1 e 2

Paciente	COR <i>a</i> ANTES DA IRRADIAÇÃO	COR <i>a</i> DA DEM
1	7,05	11,37
2	-	-
3	10,6	15,86
4	9,48	16,56
5	6,54	13,67
6	10,16	16,04
7	-	-
8	-	-
9	6,94	14,55
10	9,13	12,25
11	6,02	11,05
12	8,878	14,62
13	6,178	14,53
14	9,17	17,11
15	6,41	15,51
16	13,86	22,76
17	10,53	18,28
18	10,71	15,66
19	8,03	15,39
20	7,56	13,21
21	10,72	15,39

Tabela 5 – Valores de leitura da cor a antes e após a irradiação – Visitas 3 e 4

Paciente	Cor a antes da irradiação	Cor a da DEM
1	6,99	15,42
2	-	-
3	9,63	17,67
4	9,94	16,33
5	6,93	11,17
6	10,09	18,03
7	-	-
8	-	-
9	9,66	17,81
10	7,47	13,61
11	5,45	11,1
12	8,9	13,51
13	5,32	14,59
14	8,17	15,01
15	5,44	21,53
16	14,06	23,58
17	8,98	17,95
18	11,14	16,36
19	6,5	13,59
20	6,32	12,33
21	9,95	17,36

Tabela 6 – Valores de Leitura da cor *a* antes e após a irradiação – Visita 5 e 6

Paciente	Cor <i>a</i> antes da irradiação	Cor <i>a</i> da DEM
1	6,6	13,3
2	-	-
3	7,42	18,67
4	7,54	12,12
5	5,63	15,62
6	11,48	14,71
7	-	-
8	-	-
9	10,42	17,54
10	7,37	12,23
11	6,73	14,62
12	8,63	13,95
13	5,6	18,78
14	8,18	17,04
15	6,09	18,01
16	12,38	20,43
17	7,46	20,73
18	11,71	16
19	8,31	15,62
20	5,68	11,09
21	7,53	11,1

Tabela 7. Valores de leitura da cor a antes e após a irradiação – Visitas 7 e 8

Paciente	Cor a antes da irradiação	Cor a da DEM
1	6,5	12,88
2		
3	8,46	17,25
4	10,97	15,46
5	5,43	9,33
6	10,4	14,62
7		
8		
9	9,12	15,32
10	7,29	10,87
11	6,12	10,63
12	8,96	13,24
13	6,29	13,65
14	8,36	14,26
15	6,35	14,91
16	14,13	20,86
17	8,7	15,44
18	13,91	18,06
19	6,63	13,36
20	5,5	10,9
21	9,45	12,57

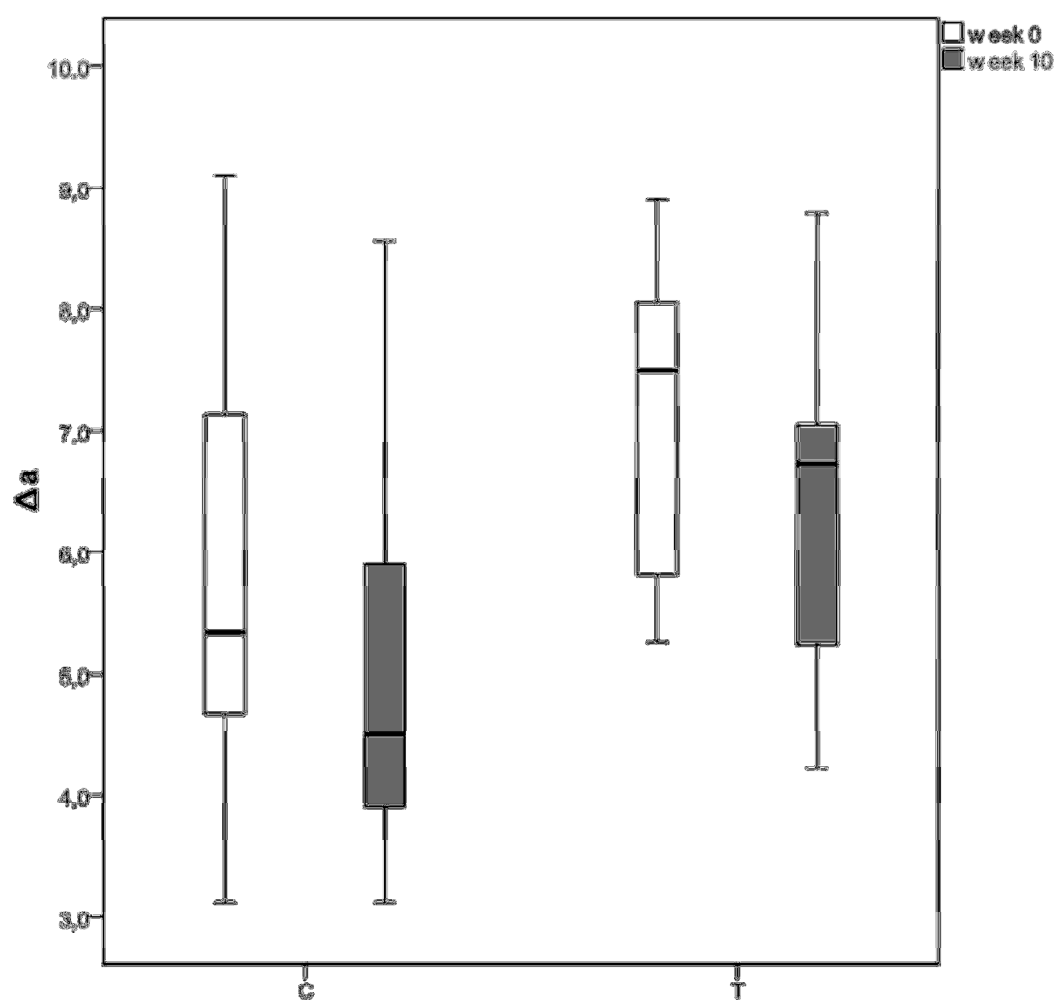


Figura 2 – Comparação do Δa^* correspondente às medidas antes e 10 semanas após a suplementação, entre os grupos cápsula (C) e extrato de tomate (T).

A comparação da redução média do Δa^* dez semanas após a ingestão da cápsula e da pasta de tomate revelou uma tendência a ser maior para a cápsula, com diferença marginalmente significativa ($p=0,066$), como mostrado na figura 3.

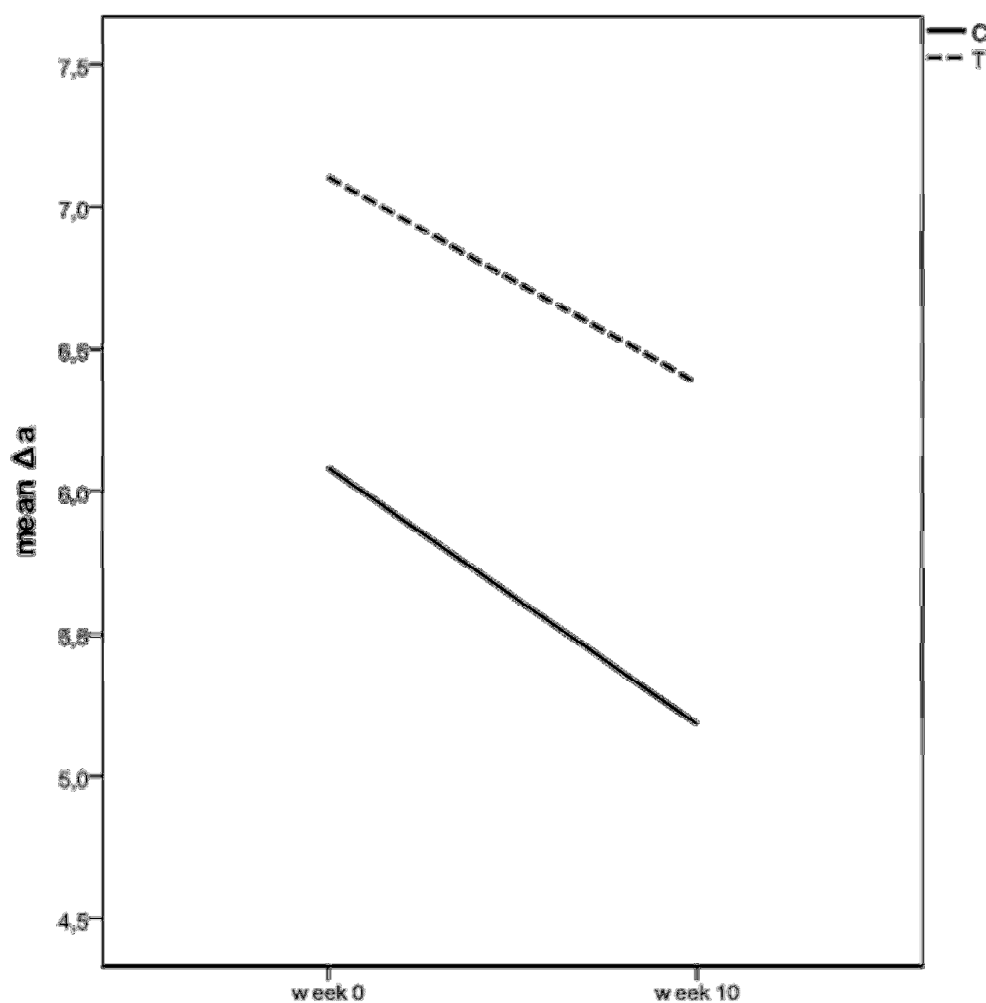


Figura 3 – Comparação da média do Δa^* para sujeitos do grupo cápsula (C) e do grupo extrato de tomate (T).

5.4 Eventos adversos

Um (1/10) sujeito da pesquisa relatou gastralgia pelo consumo da pasta de tomate e foi retirado prematuramente do estudo. Todos apresentaram hiperpigmentação pós-eritema nos locais irradiados, com remissão em 10 a 30 dias após uso de creme clareador e não exposição ao sol.

Os carotenóides sequestram os radicais livres, peróxidos e oxigênio *singlet*, que danificam as membranas lipoproteicas através da peroxidação lipídica. Esta é a base de sua ação AO demonstrada *in vitro* e *in vivo* ^(27,32). Carotenóides como o betacaroteno, licopeno, zeaxantina e luteína apresentam esse efeito desde que em fases lipídicas. Estudos sugerem que esses compostos podem modular a carcinogênese, inibir a proliferação celular, estimular a comunicação entre as células e melhorar a resposta imune.⁽²⁶⁾

Sabe-se que o dano cumulativo causado pela RUV na pele deve-se muito mais à exposição diária sem proteção do que em situações recreacionais. Assim, o uso de componentes dietéticos com propriedades AOs pode ter um efeito benéfico significativo.⁽¹³⁾

Estudo randomizado, duplo-cego comparado ao placebo, com suplementação através do *Lactobacillus johnsonii* e os carotenóides, betacaroteno e licopeno, mostrou uma recuperação mais eficaz das células de Langerhans após a exposição à RUV, menor alteração na morfologia e número dessas células e menor quantidade de células inflamatórias. Concluiu-se pela eficácia do suplemento na função imunológica da pele.⁽⁶⁷⁾

A associação de probióticos e carotenoides determinou aumento de 20% na DEM após seis semanas de consumo, sendo considerada diminuição significativa da sensibilidade da pele ao sol.⁽⁶⁸⁾ Os autores sugeriram que o uso de probióticos poderia auxiliar o sistema imunológico na resposta à radiação solar. Estudo multicêntrico avaliou a eficácia dessa mesma suplementação durante três semanas, antes e durante o verão, em 86 voluntários de 15 centros de Dermatologia. Os resultados sugeriram potencial de prevenção de 93,1% para as erupções cutâneas induzidas pela RUV (fotoalergias), 85,7% para o herpes labial, 76,2% para queimadura solar, 61,4% para pigmentações, 37,5% para alteração de nevos pigmentados e 21,8% para xerose cutânea.⁽⁶⁷⁾

O licopeno atua na neutralização dos radicais livres^(6,7), sendo considerado um importante AO protetor da membrana celular por reação com os

radicais peróxidos e com o oxigênio molecular.⁽¹⁰⁾ No entanto, ainda não foi determinada a dose mínima e máxima que seja eficaz e segura, nem tampouco a duração da suplementação, para as diferentes indicações relatadas com a finalidade de reduzir o stress oxidativo.⁽⁴³⁾

De acordo com Rao e Shen (2002)⁽¹⁰⁾, a ingestão entre 5mg e 10mg de licopeno diariamente seria suficiente para obtenção dos seus benefícios. Outros autores^(44,45) sugeriram a dose de 4mg/dia de carotenóides, não excedendo 10mg/dia. Rao e Agarwal (2000)⁽⁴⁶⁾, consideraram que o consumo médio desse AO deveria ser de 35mg/dia para proteção contra o câncer de pele e doença cardíaca. Por outro lado, em relação ao câncer de próstata, foi relatado o uso de licopeno em dose diária média de 43 ± 15 mg, durante oito semanas, com aumento significativo do nível sérico, ou seja, de $0,72 \pm 0,09 \mu \text{mol/l}$ a $1,21 \pm 0,10 \mu \text{mol/l}$ ($p < 0,0001$).⁽⁶⁹⁾

Neste estudo optou-se pela dose de 16 mg ao dia que está abaixo das recomendações máximas descritas na literatura e que poderia proporcionar melhor aceitação pelos sujeitos da pesquisa devido à palatabilidade da fonte *in natura*.

O efeito protetor do licopeno observado, apesar de discreto nas condições deste estudo, está de acordo com resultados relatados em relação à fotoproteção sistêmica contra o eritema provocado pela RUVB na pele humana, após a suplementação com carotenoides.^(5,70,71) Nenhuma proteção foi obtida em estudos em que o consumo de carotenóides foi feito por período inferior a oito semanas.^(72,73) Pesquisadores alemães conduziram um estudo placebo-controlado, de grupos paralelos e verificaram que a suplementação de licopeno, luteína e betacaroteno (8 mg/dia de cada), por 12 semanas, reduziu o eritema induzido pela RUV.⁽⁷⁴⁾

Os fatores que interferem na biodisponibilidade do licopeno são: matriz alimentar; processo de absorção; interações entre os carotenóides; presença de fibra alimentar e digestão dos alimentos fontes.⁽⁷⁾ A sua absorção é maior em refeições com tomates cozidos e é influenciada pela quantidade de gordura. Além

disso, algumas fibras como a pectina podem reduzir a absorção devido ao aumento da viscosidade.⁽⁴²⁾ Alguns carotenóides também podem afetar a absorção do licopeno como a luteína e o betacaroteno pela competição no intestino.^(6,8)

O consumo de molho de tomate aumentou as concentrações séricas de licopeno em taxas maiores do que o consumo de tomates crus ou suco de tomate fresco. A ingestão de molho de tomate cozido em óleo resultou em aumento de 2 a 3 vezes na concentração sérica de licopeno, um dia após sua ingestão, mas nenhuma alteração ocorreu quando se administrou suco de tomate fresco.⁽⁷⁵⁾

Por outro lado, pela escassez de métodos adequados para avaliar as propriedades farmacocinéticas do uso sistêmico dos carotenoides, a biodisponibilidade em relação à pele é desconhecida. Assim, neste estudo, as cápsulas oleosas e o extrato de tomate misturado ao azeite de oliva como transportador favoreceram o seu efeito uma vez que a biodisponibilidade é maior quando processado e oferecido em meio lipídico.⁽²⁶⁾

As variações individuais na absorção, biodisponibilidade e distribuição podem explicar as discrepâncias observadas entre o aumento dos níveis séricos de licopeno e a limitada ação protetora contra o eritema, para uma mesma dose ingerida. Estes resultados contrastam com o observado em estudo conduzido em 22 voluntários que comparou ao placebo os níveis séricos, medidos por *HPLC* e na pele das palmas e fronte, medidos por espectroscopia Raman, após a ingestão por quatro semanas de um extrato natural de carotenoides. Houve aumento significativo, embora na pele tenha sido mais demorado e dependente da região. O licopeno, presente em baixa quantidade no extrato, apresentou níveis mais elevados na pele do que no sangue.⁽⁶⁶⁾

Os resultados deste estudo indicam fotoproteção oral ligeiramente superior com a fonte sintética, o que pode estar relacionado à dificuldade de adesão ao consumo diário da pasta de tomate, pela falta de praticidade e pela redução da palatabilidade ao longo do tempo.

Ressaltamos que a análise do diário alimentar dos sujeitos desta pesquisa mostrou que todos apresentavam maus hábitos, com refeições sem horários fixos, baixa ingestão de frutas e hortaliças e consumo acima do recomendado de gorduras saturadas e sódio, provenientes de produtos industrializados.

Na literatura consultada, este é o primeiro estudo que demonstrou, ainda que de forma marginalmente significativa, o papel do licopeno na proteção contra o eritema induzido na pele humana, *in vivo*, pela radiação UVB. A limitação dos resultados pode estar relacionado ao pequeno número de sujeitos da pesquisa e período relativamente curto de ingestão do licopeno.

7 CONCLUSÕES

- O consumo regular de licopeno sintético ou *in natura* demonstrou uma tendência favorável à fotoproteção sistêmica, ligeiramente maior para o uso das cápsulas, sem efeitos adversos, indicando a utilidade de estimular a sua utilização associada à alimentação equilibrada e uso diário de produto fotoprotetor.
 - Não foi possível concluir se o efeito protetor contra a RUVB pelo consumo regular de licopeno oral, *in natura* ou por fonte sintética, correlacionou-se com a sua concentração plasmática que apresentou grande variabilidade.
 - Novos estudos são necessários para avaliar a interface entre a realidade alimentar das pessoas e a função antioxidante dos nutrientes habituais da dieta.
-

REFERÊNCIAS

-
1. González S, Fernández-Lorente M, Gilaberte-Calzada Y. The latest on skin photoprotection. *Clin Dermatol*. 2008;26:614-26.
 2. Maier T, Korling HC. Sunscreens - which and what for? *Skin Pharmacol Physiol*. 2005;18:253-62.
 3. Kullavanijaya P, Lim HW. Photoprotection. *J Am Acad Dermatol*. 2005;32(6):937-58.
 4. Antoniou C, Kosmadaki MG, Stratigos AJ, Katsambas AD. Sunscreens - what's important to know. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22:1110-9.
 5. Stahl W, Heinrich U, Wiseman S, et al. Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans. *J Nutr*. 2001;20:1449-51.
 6. Bramley PM. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry*. 2000;54(3):233-6.
 7. Lugasi A, Hovarie J, Biro L, et al. Factors influencing lycopene content of foods, and lycopene of Hungarian population. *Nutr Res*. 2003;23:1035-44.
 8. Khachik F, Carvalho L, Bernstein PS, et al. Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med*. 2002;227(10):845-51.
 9. McClain RM, Bausch J. Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2003;37(2):274-85.
 10. Rao AV, Shen H. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. *Nutr Res*. 2002;22:1125-31.
 11. Stahl W, Sies H. Protection against solar radiation – protective properties of antioxidants. In: Giacomoni PU: *Sun protection in man*, ed. Elsevier, Amsterdam, 2001, pp 561-72.
 12. Sies H, Stahl W. Nutritional protection against skin damage from sunlight. *Ann Rev Nutr*. 2004;24:173-200.
 13. Sies H, Stahl W. Carotenoids and UV protection. *Photochem Photobiol Sci*. 2004;3:749-52.
 14. Nasser N. UVB: Susceptibilidade no melanoma maligno. *An Bras Dermatol*. 2010;85(6):843-8.
-

-
15. Maisuthisakui P, Suttajit M, Pongssawatmanit R. Assesment of Phenolic content and free radical-scavenging capacity of some thai indigenous plants. Food Chemistry. London. 2007;100:1409-18.
 16. Aust O, Sies H, Stahl W, Polidori MC. Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. J Chromatogr. 2001;936:83-93.
 17. Handelman GJ. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. Nutrition. 2001;17:818-22.
 18. Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. Am J Clin Nutr. 1995;62(6):1315-21.
 19. McLean JA, Surai F, Surai P, McDevitti R, Speake B. Lipid-Soluble and water-soluble antioxidant activitis of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. Comparative Biochemistry and Physiology. 2005;141(B):366-72.
 20. Halliwell B, Gutterdge JMC. Free radical, other reactive species and disease. *In*: Free radicals in biology and medicine. 3rd Oxford: Clarenton Press. 1999:617-783.
 21. Podsedek A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables. A review. LWT-Food Sci Technol. 2007;40:1-11.
 22. Kawanishi S, Murata M, Takanishi A, Saito I. The role of metals in site-specific DNA damage with reference to carcinogenesis. Free Radic Biol Med. San Diego, USA. 2002;32:822-32.
 23. Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Review. Progress in Lipid Research. 2007;46:244-82.
 24. Stahl W, Sies H. Carotenoids: occurrence, biochemical activities, and bioavailability. *In*: Packer L, Hiramatsu M, Yoshikawa T. Antioxidant food supplements in human health. San Diego: Academic Press. 1999. p.183-98.
 25. Kurz C, Carle R, Schieber A. HPLC-DAD-MSn characterization of carotenoids from apricots and pumpkins for the evalution of fruit product authenticity. Food Chemistry, London. 2008;110:522-30.
 26. Olson JA. Carotenoids and human health. Arch Latinoam Nutr. 1999;49(3 Suppl 1):7-11.
-

-
27. Erdman Jr JW. Variable bioavailability of carotenoids from vegetables. *Am J Clin Nutr.* 1999;70(2):179-80.
 28. McNulty HP, Byun J, Lockwood SF, Jacob RF, Mason P. Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis. *Biochimica et Biofizica Acta.* 2007;1768(1):167-74.
 29. Damodaran S, Parkin K, Fennema OR. Fennema's food chemistry. 4^a ed. Boca Raton: CRC Press, 2008, 1144 p.
 30. Peng Y-M., Peng Y-S. Lin Y. A nonsaponification method for the determination of carotenoids, retinoids, and tocopherols in solid human tissues. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1993;2:139-44.
 31. Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, von Laar J, Schietzel M, Sies H, Tronnier H. Increased dermal carotenoid levels assessed by noninvasive reflection spectrophotometry correlate with serum levels in women ingesting Betatene, *J. Nutr.* 1998;128:903-7.
 32. Shami N, Moreira E. Licopeno como agente antioxidante. *Rev Nutr.* 2004;17(2):227-36.
 33. Van Het Hof KH, West CE, Weststrate JA, Hautvast JG. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr.* 2000;130(3):503-6.
 34. 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.
 35. Nunes LI, Mercadante AZ. Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. *Cienc Tecnol Aliment.* 2004;24(3):440-7.
 36. Di Mascio P, Kaiser S, Sies S. Lycopene as the most eficiente biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys.* 1989;274(2):532-8.
 37. Krinsky NI. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition.* 2001;17:815-7.
 38. Agarwal S, Rao AV. Tomato Lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Cand Med Assoc J.* 2000;163(6):739-44.
 39. Cozzolino SMF. Biodisponibilidade de nutrientes. In: Fatores que interferem na biodisponibilidade de vitamina A e carotenóides. São Paulo: Manole; 2005. p.229-36.
-

-
40. Richelle M, Bortlik K, Liardet S, Hager C, Lambelet P, Baur M, et al. A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *J Nutr.* 2002;132(3):404-8.
 41. Rodriguez-Amaya DB. Latin American food sources of carotenoids. *Arch Latinoamer Nutr.* 1999;49(3):74-84S1.
 42. Johnson-Down L. Food habits of Canadians: lutein and lycopene intake in the Canadian population. *JADA.* 2002;102(7):9988-91.
 43. Amaya-Farfan J, Domene SMA, Padovani RM. DRI: síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. *Rev Nutr.* 2001;14(2):71-8.
 44. Naves MMV. Betacaroteno e câncer. *Rev Nutr.* 1998;11(2):99-115.
 45. Ziegler RG, Colavito EA, Hartge P, et al. Importance of alpha-carotene e betacarotene, and other phytochemicals in the etiology of lung cancer. *J Nat Cancer Inst.* 1996;88(9):612-5.
 46. Rao AV, Agarwal S. Role of oxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr.* 2000;19(5):563-9.
 47. Boileau TW, Boileau AM, Erdman Jr JW. Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene. *Exp Biol Med.* 2002;227(10):914-9.
 48. Weisburger JH. Lycopene and tomato products in health promotion. *Exp Biol Med.* 2002;227(10):924-7.
 49. Hoppe PP, Kramer K, van den Berg H, Steenge G, van Vliet T. Synthetic and tomato-based lycopene have identical bioavailability in humans. *Eur J Nutr.* 2003;42(5):272-8.
 50. Krutmann J. Ultraviolet A radiation-induced biological effects in human skin: relevance for photoaging and photodermatosis. *J Dermatol Sci.* 2000;23(1):S22-S26.
 51. Kulms D, Schwarz T. Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis, Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. 2000;16:195-201.
 52. Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol.* 2003;48:1-19.
 53. Gil EM, Kim TH. UV-induced immune suppression and sunscreen. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2000;16:101-10.
-

-
54. Wolf P, Young A. Photoprotection, in *Dermatological Phototherapy and Photodiagnostic Methods*. (ed): Krutmann J, Hönigsmann H, Elmetts CA. Bergstresser PR. Springer Verlag, Heidelberg, 2001:pp.303-26.
 55. Black HS, Rhodes LE. Systemic photoprotection; dietary intervention and therapy, in *Sun Protection in Man*, ed. P.U. Giacomoni, Elsevier, Amsterdam, 2001, pp. 573-91.
 56. Guenich A, Benyacoub J, Buetler TM, Smola H, Blum S. Supplementation with oral probiotic bacteria maintains cutaneous immune homeostasis after UV exposure. *Eur J Dermatol*. 2006;16(5):511-7.
 57. Lee J, Jiang S, Levine N, Watson RR. Carotenoid supplementation reduces erythema in human skin after simulated solar radiation exposure. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000;223(2):170-4.
 58. Rutter K, Sell DR, Fraser N, Obrenovich M, Zito M, StarkeReed P, Monnier VM. Green tea extract suppresses the age-related increase in collagen crosslinking and fluorescent products in C57BL/6 mice. *Int J Vitam Nutr Res*. 2003;73(6):453-60.
 59. Morley N, Clifford T, Salter L, Campbell S, Gould D, Curnow A. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate and green tea can protect human cellular DNA from ultraviolet and visible radiation-induced damage. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2005;21(1):15-22.
 60. Stojanović S, Sprinz H, Brede O. Efficiency and mechanism of the antioxidant action of transresveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Arch Biochem Biophys*. 2001;391(1):79-89.
 61. Palombo P, Fabrizi G, Ruocco V, Ruocco E, Fluhr J, Roberts R, Morganti P. Beneficial long-term effects of combined oral/topical antioxidant treatment with the carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: a double-blind, placebo-controlled study. *Skin Pharmacol Physiol*. 2007;20(4):199-210.
 62. Heinrich U, Neukam K, Tronnier H, Sies H, Stahl W. Longterm ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV-induced erythema and improves skin condition in women. *J Nutr*. 2006;136(6):1565-9.
 63. Saliou C, Rimbach G, Moini H, McLaughlin L, Hosseini S, Lee J, Watson RR, Packer L. Solar ultraviolet-induced erythema in human skin and nuclear factor-kappa-B-dependent gene expression in keratinocytes are modulated by a French maritime pine bark extract. *Free Radic Biol Med*. 2001;30(2):154-60.
 64. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *ArchDermatol*. 1988;124:869-71.
-

-
65. Colipa, The European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association. Guideline for the Colorimetric Determination of Skin Colour Typing and Prediction of Skin Colour Typing and Prediction of the Minimal Erythema Dose (MED) Without UV Exposure, 2007.
 66. Meinke MC, Darvin ME, Vollert H, Lademann J. Bioavailability of natural carotenoids in human skin compared to blood. *Eur J Pharm Biopharm.* 2010;76(2):269-74.
 67. Peguet-Navarro J, Dezutter-Dambuyant C, Buetler TM, Leclaire J, Smola H, Blum S, et al. Supplementation with oral probiotic bacteria protects human cutaneous immune homeostasis after UV exposure-double blind, randomized, placebo controlled clinical Trial. *Eur J Dermatol.* 2008;18(5):1-8.
 68. Bouilly D, Jeannés C, Duteil L, Piccardi N, Manissier P, Ortonne JP. Probiotic and carotenoids: na innovative nutritional approach to help skin against Sun damages. Abstract IS Mondial. 2007.
 69. Grainger EM, Schwartz SJ, Wang S, et al. A combination of tomato and soy products for men with recurring prostate cancer and rising prostate specific antigen. *Nutrition and Cancer.* 2008;60(2):145-54.
 70. Swindells K, Rhodes LE. Influence of oral antioxidants on ultraviolet radiation-induced skin damage in humans. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2004;20:297-304.
 71. Stahl W, Sies H. Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. *Mol Biotechnol.* 2007;37:26-30.
 72. Garmyn M, Ribaya-Mercado JD, Russell RM, Bhawan J, Gilchrest BA. Effect of beta-carotene supplementation on the human sunburn reaction. *Exp. Dermatol.* 1995;4:104-11.
 73. McArdle F, Rhodes LE, Parslew RAG, Close GL, Jack CIA, Friedmann PS, Jackson MJ. Effects of oral vitamin E and *B*-carotene supplementation on ultraviolet radiation-induced oxidative stress in human skin. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1270-5.
 74. Heinrich U, Gärtner C, Wiebusch M, Eichler O, Sies H, Tronnier H, Stahl W. Supplementation with betacarotene or a similar amount of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema. *J Nutr.* 2003;133(1):98-101.
 75. 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.
-

Apêndice 1 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 13 de Maio de 2011.
CEP 0473/11

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) EDILEIA BAGATIN
Co-Investigadores: Lethicia Sokoloski, Edileia Bagatin (orientadora)
Disciplina/Departamento: Dermatologia Geral da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: FAPESP.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **“Comparação do efeito fotoprotetor sistêmico à radiação ultra-violeta B pelo consumo de licopeno sintético ou in natura”**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Intervenção terapêutica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Risco mínimo, envolvendo coleta de sangue.

OBJETIVOS: Verificar o efeito fotoprotetor sistêmico do carotenóide licopeno através da observação de redução do eritema provocado por radiação UVB ou aumento da dose eritematosa mínima. Comparar a eficácia fotoprotetora esperada entre as duas fontes de licopeno, ou seja, massa de tomate e cápsulas de licopeno sintético. Avaliar a segurança das duas fontes de licopeno para uso oral..

RESUMO: Estudo de intervenção terapêutica, randomizado e controlado, com 18 voluntários, homens e mulheres saudáveis, com idades entre 25 e 50 anos, dos fototipos II e III, com consumo moderado de álcool, que frequentam o Ambulatório do Departamento de Dermatologia da UNIFESP. Os voluntários selecionados receberão orientações para não alterar seus hábitos alimentares durante a pesquisa e para anotar diariamente os alimentos consumidos. A dose de licopeno será de 16mg diariamente por 10 semanas, considerada segura para o consumo, já que está abaixo das recomendações máximas descritas na literatura, e também para a melhor aceitação pelos voluntários devido a palatabilidade da fonte in natura. Serão constituídos 2 grupos: grupo 1 ou tomate- receberá como fonte de licopeno a opção in natura, ou seja, deverá consumir diariamente 40g de massa de tomate (tomate cozido) acrescido de 1 colher de chá de azeite de oliva por 10 semanas (16g de licopeno). Grupo 2 ou cápsulas - receberá cápsulas contendo 16 mg de licopeno, para serem ingeridas por dia durante 10 semanas. A adesão será verificada através de diário alimentar analisado quinzenalmente e por análises séricas de licopeno. Amostras de sangue serão coletadas para avaliar o nível de licopeno sérico nas semanas 0, 4, 8 e 10. As análises serão realizadas por HPLC. A dose eritematosa mínima individual será calculada na semana 0 e reavaliada nas semanas 4, 8 e 10. Para a determinação da dose eritematosa mínima (DEM) será utilizado simulador de radiação UV, como fonte emissora do SPF Ultraviolet Solar Simulator Model 16S - 150 watts. O eritema e possível pigmentação serão avaliados pelo equipamento Chromatometer Minolta CR400..

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudos indicam que o licopeno, principal antioxidante entre os carotenóides, apresenta um efeito fotoprotetor, pois reduz o aparecimento do eritema, se consumido diariamente e por período

Apêndice



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

igual ou maior que oito semanas. A biodisponibilidade do licopeno nos alimentos é variável, o que justifica a necessidade de avaliar o seu efeito fotoprotetor através de fonte in natura comparada ao consumo de licopeno sintético, em cápsula..

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos do estudo.

TCLE: Adequado, contemplando a resolução 196/96.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: FAPESP - R\$ 57998,72.

CRONOGRAMA: 3 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Mestrado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 5/7/2012 e 5/7/2013.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

0473/11

RECOMENDAÇÃO DO CEP: APRESENTAR CARTA DE APROVAÇÃO FAPESP ASSIM QUE FOR OBTIDA. COMUNICAR AO CEP O NOME DO ALUNO DE PÓS-GRADUAÇÃO QUE DESENVOLVERÁ O PROJETO ASSIM QUE FOR DECIDIDO

Apêndice 2 – Termo de consentimento Livre e Esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar do estudo: “Comparação do efeito fotoprotetor sistêmico à radiação ultra-violeta B pelo consumo de licopeno sintético ou *in natura*”.

O objetivo deste estudo é pesquisar se o licopeno presente no tomate ou em cápsulas e ingerido diariamente, durante 10 semanas (70 dias), pode ajudar a prevenir os efeitos nocivos do sol na pele. Para isso será observado se a cor rosada da pele (como se fosse uma queimadura bem leve) que aparece após exposição a uma luz que imita os raios ultra-violeta B do sol pode ser diminuída com a ingestão do licopeno. Para sua segurança, a aplicação será controlada e no máximo a região ficará rosada após 24 horas.

Caso você aceite participar da pesquisa, serão realizadas simulações de radiação solar em vários pontos da parte inferior das costas, com equipamento seguro. Será também coletado sangue para análise laboratorial (nível de licopeno no sangue). O único desconforto será a picada da agulha para a coleta do sangue numa veia do seu braço.

Para participar da pesquisa você terá que comparecer na Unidade de Cosmiatria (UNICCO) do Departamento de Dermatologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) quatro vezes e retornar no dia seguinte para leitura do teste, totalizando 8 visitas. As consultas serão pré-agendadas e terão duração máxima de 50 minutos. Será necessário que você faça um diário alimentar, anotando em uma ficha tudo o que comer durante o dia, durante todos os dias do estudo. O hábito de escrever o diário alimentar é muito interessante para todas as pessoas, pois se torna uma maneira fácil e prática de receber orientação pela nutricionista e cuidar da alimentação. Para realizar esta pesquisa, você deverá consumir todos os dias, durante 70 dias (2 meses e 10 dias), 16 mg de licopeno, que é uma substância carotenóide, não-tóxica, responsável pela cor avermelhada dos alimentos. Uma parte dos voluntários (as) que participarem farão o consumo do licopeno pelo uso de massa de tomate (40g ou 2 colheres de sopa) preparada com 1 colher de chá de azeite, que poderá ser usada em alimentos cozidos como massas, carnes, arroz, com sugestões oferecidas pela nutricionista Lethicia, responsável pelo estudo. Outra parte dos voluntários (as) usarão uma cápsula que contém 16 mg de licopeno. No caso da cápsula, você deverá ingerir uma por dia, por 70 dias. Tudo será fornecido gratuitamente, você não vai precisar comprar nenhum produto. Serão também fornecidos vale-transporte e filtro solar, em creme, para uso diário.

Os benefícios do licopeno para a saúde são bastante conhecidos e este estudo pretende verificar se o consumo regular desta substância possui um efeito protetor contra os raios UVB, que é um tipo de raio que o sol emite. Se esse efeito for confirmado, esse tipo de tratamento poderá ser indicado para auxiliar na diminuição dos riscos de queimadura, envelhecimento precoce e prevenção do câncer de pele causados pelo sol. Será calculada a quantidade de radiação necessária para iniciar o aparecimento da cor rosada na pele, antes e após o consumo do licopeno. O maior benefício é que essas avaliações contribuirão para o

DEP
UNIFESP/HSP

conhecimento científico e confirmarão ou não se esta substância, em cápsula ou usada na alimentação, apresenta esse suposto benefício para o organismo humano.

Durante qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, pode também entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@epm.br.

Lembramos que não haverá nenhum outro risco com este estudo, sendo que mesmo após ter assinado este termo, é possível desistir de participar a qualquer momento, sem nenhum prejuízo no seu atendimento no Hospital São Paulo. As informações obtidas na pesquisa serão analisadas em conjunto com outros participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhuma pessoa. Você será identificado com um número/código para absoluto sigilo de seus dados. Você será mantido (a) atualizado (a) sobre os resultados parciais e finais deste estudo ou de resultados de outros estudos que sejam do conhecimento dos pesquisadores. Assim, ficam garantidas as informações, antes durante e depois do estudo.

Como sua participação nesse estudo é voluntária, você não receberá nenhum valor em dinheiro. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos do estudo (nexo causal comprovado), você terá direito a tratamento médico na Instituição.

Eu, _____, li e ouvi o esclarecimento acima e compreendi o objetivo do estudo e os procedimentos a que serei submetido (a). A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão. Estou ciente de que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Concordo em participar, assino e declaro ter recebido uma cópia deste documento.

Data: / /

Nome completo do voluntário (a):

Assinatura do voluntário (a)

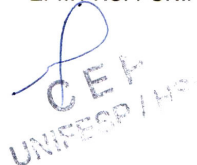
Documento de identidade:

Declaramos ter entregado uma cópia deste documento ao voluntário (a) da pesquisa

Data: / /

Lethicia Sokoloski - nutricionista
Pós-graduanda - Mestrado
Programa de Pós-Graduação
em Medicina Translacional

Ediléia Bagatin - orientadora
Profa. do Departamento de Dermatologia
EPM / HSP/ UNIFESP



CEP
UNIFESP/HSP

Apêndice



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 22 de maio de 2012

CEP Nº **0473/11**

CONEP Nº:

Ilmo(a) Sr(a)

Pesquisador(a): EDILEIA BAGATIN

Disciplina/Departamento: Dermatologia Geral

Título do estudo: Comparação do efeito fotoprotetor sistêmico à radiação ultra-violeta B pelo consumo de licopeno sintético ou in natura

Prezado(a) Pesquisador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU E APROVOU o(a) Emenda ao projeto (versão1 de 02/mai/2012), incorporando novo objetivo: tese de mestrado da pesquisadora associada LETHICIA SOKOLOSKI; inclusão da pesquisadora associada MIRELLA BORGES; nova metodologia; novos critérios de inclusão e exclusão; alteração no cronograma; nova versão do termo de consentimento livre e esclarecido do projeto de pesquisa acima referenciado.

Atenciosamente,


Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Anexo 1 – FICHA CLÍNICA

Comparação do efeito fotoprotetor sistêmico à radiação ultravioleta B pelo consumo de licopeno sintético ou *in natura*

Visita 1 – Semana 0

Data: ____/____/____

IDENTIFICAÇÃO:

- Investigador responsável pelo preenchimento: _____
- Iniciais: _____ N° _____
- Nome: _____
- Idade: _____
- Data de nascimento: ____/____/____
- Sexo: M [] F []
- Escolaridade: _____
- Profissão: _____
- Naturalidade: _____
- Procedência: _____
- Endereço: _____
- Telefones: _____
- E mail: _____

ANAMNESE NUTRICIONAL:

Café da manhã:

Lanche da manhã:

Almoço:

Lanche da tarde:

Jantar:

Ceia:

FOTOTIPO:

☐ II ☐ III

Verificação dos critérios de inclusão

- ☐ 1. Concordância com as condições do estudo e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- ☐ 2. Idade entre 20 e 40 anos;
- ☐ 3. Bom estado de saúde;
- ☐ 4. Fototipos II ou III conforme a classificação de Fitzpatrick;
- ☐ 5. Consumo moderado de álcool;
- ☐ 6. Pele da região dorsal sem manchas ou sardas.

Verificação dos critérios de exclusão

- ☐ 1. Doenças de má absorção;
- ☐ 2. Doenças hepáticas;
- ☐ 3. Distúrbio do metabolismo lipídico e/ou uso de estatinas;
- ☐ 4. Fotossensibilidade;
- ☐ 5. Câncer de pele;
- ☐ 6. Uso de vitaminas;
- ☐ 7. Uso de medicamentos com risco de hepatotoxicidade;
- ☐ 8. Gestante e/ou lactente;
- ☐ 9. Fumantes mais de 3 cigarros/dia;
- ☐ 10. Excesso de pêlos na região dorsal.

☐ Orientações: objetivos e duração do estudo, drogas e resultados esperados (checar)

☐ Assinatura e rubrica em todas as páginas do TCLE – pesquisador responsável e paciente (checar) – 2 vias (1 para o paciente, outra para o prontuário)

☐ Medicações concomitantes: SIM ☐ NÃO ☐

Se sim preencher ficha de medicações concomitantes

☐ Randomização: E ☐ C ☐

☐ Seguir padrão quadrante: 1º quadrante 

☐ Identificar os 5 pontos do 1º quadrante, através de instrumento/régua específica – Posicionar a régua conforme protocolo (vértebra)

☐ Medir coloração da pele L , a , b através de colorímetro dos 5 pontos e calcular média:

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____ 4 L = _____ 5 L = _____ Média L = _____

a = _____ a = _____ a = _____ a = _____ a = _____ a = _____

b = _____ b = _____ b = _____ b = _____ b = _____ b = _____

☐ Cálculo do ITA = _____

☐ Relação ITA x DEM

☐ Valor DEM = _____ (ponto 1)

☐ DEM – 25% = _____ (ponto 2) DEM – 50% = _____ (ponto 3)

☐ DEM + 25% = _____ (ponto 4) DEM + 50% = _____ (ponto 5)

☐ Tempo em minutos para DEM = _____ (ponto 1), considerando 3,4 DEM/min que a lâmpada emite

☐ Tempo DEM – 25% = _____ (ponto 2) Tempo DEM – 50% = _____ (ponto 3)

☐ Tempo DEM + 25% = _____ (ponto 4) Tempo DEM + 50% = _____ (ponto 5)

☐ Radiação nos 5 pontos selecionados conforme o tempo indicado para cada. Obs. A região a ser radiada encosta no equipamento

☐ Agendar Retorno para 24 hs

Responsável pelo atendimento: _____

Visita 2 – após 24 hs **Data:** ____/____/____ **Iniciais:** _____ **No.** _____ **Grupo** _____

☐ Medicamentos concomitantes Sim ☐ Não ☐

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

☐ Avaliação clínica de qual ponto teve eritema formado (bordas definidas)

☐ Ponto 1 ☐ Ponto 2 ☐ Ponto 3 ☐ Ponto 4 ☐ Ponto 5

☐ **DEM da pessoa:** _____ **Tempo para DEM da pessoa:** _____

☐ Medir coloração da pele *L*, *a*, *b* através de colorímetro dos 5 pontos:

Ponto 1: *L* = _____ Ponto 2: *L*: _____ Ponto 3 *L*: _____ Ponto 4: *L*: _____ Ponto 5: *L*: _____

a = _____ *a*: _____ *a*: _____ *a*: _____ *a*: _____

b = _____ *b*: _____ *b*: _____ *b*: _____ *b*: _____

☐ Fotografia: ☐ sim ☐ não

☐ Encaminhamento para coleta de sangue para dosagem do licopeno sérico (jejum 8 h)

☐ Dispensação do licopeno (1 frasco)

☐ Dispensação de filtro solar (2 frascos)

OBS: orientar para guardar as embalagens vazias que deverão ser retornadas na visita 4

☐ Orientação para preencher o diário alimentar (hábitos alimentares), diário do consumo de licopeno e orientação nutricional – entregar folhas

☐ Agendar Retorno para 4 semanas

Responsável pelo atendimento: _____

Contato via telefone e/ou e mail – 2ª Semana Data: ____/____/____ Iniciais: _____
Nº.____ Grupo ____

[] Adesão ao tratamento:

- excelente []
- boa []
- regular []
- ruim []

Se regular ou ruim, explicar a razão: _____

[] Que horas consome o licopeno : _____

[] Com o que: _____

[] Análise do diário alimentar e orientação nutricional

[] Medicamentos concomitantes: [] Sim [] Não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

Eventos adversos relacionados ao tratamento:

- ausente []
- presente []

Se presente preencher a ficha de eventos adversos

Modificações no tratamento: _____

Responsável pelo contato: _____

Visita 3 – 4ª. Semana Data: ___/___/___ Iniciais: _____ Nº. _____ Grupo _____

[] Adesão ao tratamento:

- excelente []
- boa []
- regular []
- ruim []

Se regular ou ruim, explicar a razão: _____

[] Análise do diário alimentar e orientação nutricional

[] Medicamentos concomitantes [] Sim [] Não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

[] Eventos adversos relacionados ao tratamento:

- ausente []
- presente []

Se presente preencher a ficha de eventos adversos

Modificações no tratamento: _____

[] Seguir padrão quadrante: 2º quadrante 

[] Identificar os 3 pontos do 2º quadrante, através de instrumento/régua específica – Posicionar a régua conforme protocolo (vértebra)

[] Medir coloração da pele L, a, b através de colorímetro dos 3 pontos:

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____

a = _____ a = _____ a = _____

b = _____ b = _____ b = _____

[] DEM da pessoa = _____ (ponto 1) **obs.: É o valor encontrado na visita 2**

[] DEM + 12% = _____ (ponto 2) DEM + 24% = _____ (ponto 3)

[] Tempo para DEM da pessoa = _____ (ponto 1), considerando 3,4 DEM/min que a lâmpada emite **obs.: É o valor encontrado na visita 2**

[] Tempo DEM + 12% = _____ (ponto 2) Tempo DEM + 24% = _____ (ponto 3)

[] Radiação nos 3 pontos selecionados conforme o tempo indicado para cada. Obs. A região a ser radiada encosta no equipamento

[] Agendar Retorno para 24 hs, lembrar de trazer embalagens

Responsável pelo atendimento: _____

Visita 4 – após 24 hs **Data:** ____/____/____ **Iniciais:** _____ **Nº.** _____ **Grupo** ____

☐ Medicamentos concomitantes ☐ Sim ☐ Não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

☐ Avaliação clínica de qual ponto teve eritema formado (bordas definidas)

☐ Ponto 1 ☐ Ponto 2 ☐ Ponto 3

☐ **Atual** MED da pessoa: _____ **Atual** Tempo para MED da pessoa: _____

☐ Medir coloração da pele *L*, *a*, *b* através de colorímetro dos 3 pontos:

Ponto 1: *L* = _____ Ponto 2: *L*: _____ Ponto 3 *L*: _____

a = _____ *a*: _____ *a*: _____

b = _____ *b*: _____ *b*: _____

☐ Fotografia: ☐ sim ☐ não

☐ Encaminhamento para coleta de sangue para dosagem do licopeno sérico

☐ Dispensação do licopeno (1 frasco)

☐ Dispensação de filtro solar (2 frascos)

OBS: orientar para guardar as embalagens vazias que deverão ser retornadas na visita 10

☐ Recolhimento das embalagens dispensadas na visita número 2

☐ Orientação para preencher o diário alimentar (hábitos alimentares), diário do consumo de licopeno e orientação nutricional – entregar folhas

☐ Agendar retorno para 4 semanas

Responsável pelo atendimento: _____

☐ **Hiperpigmentação 1º quadrante** ☐ **Sim** ☐ **Não**

☐ **1** ☐ **2** ☐ **3** ☐ **4** ☐ **5**

☐ **Foto**

☐ **Entrega de Creme Clareador**

☐ **Leitura com Colorímetro**

1 *L* = _____ 2 *L* = _____ 3 *L* = _____ 4 *L* = _____ 5 *L* = _____

a = _____ *a* = _____ *a* = _____ *a* = _____ *a* = _____

b = _____ *b* = _____ *b* = _____ *b* = _____ *b* = _____

Contato via telefone e/ou e mail – 6ª. Semana **Data:** ____/____/____ **Iniciais:** _____
Nº _____ **Grupo** _____

[] Adesão ao tratamento:

- excelente []
- boa []
- regular []
- ruim []

Se regular ou ruim, explicar a razão: _____

[] Análise do diário alimentar e orientação nutricional

[] Medicções concomitantes: [] Sim [] não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

[] Eventos adversos relacionados ao tratamento:

- ausente []
- presente []

Se presente preencher a ficha de eventos adversos

Modificações no tratamento: _____

Responsável pelo contato: _____

Visita 5 – 8ª semana Data: ____/____/____ Iniciais: _____ No. _____ Grupo ____

[] Adesão ao tratamento:

- excelente []
- boa []
- regular []
- ruim []

Se regular ou ruim, explicar a razão: _____

Análise do diário alimentar e orientação nutricional

[] Medicções concomitantes [] Sim [] Não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

[] Eventos adversos relacionados ao tratamento:

- ausente []
- presente []

Se presente preencher a ficha de eventos adversos

Modificações no tratamento: _____

[] Seguir padrão quadrante: 3º quadrante 

[] Identificar os 3 pontos do 3º quadrante, através de instrumento/régua específica – Posicionar a régua conforme protocolo (vértebra)

[] Medir coloração da pele L , a , b através de colorímetro dos 3 pontos:

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____

a = _____ a = _____ a = _____

b = _____ b = _____ b = _____

[] DEM da pessoa = _____ (ponto 1) **obs.: É o valor encontrado na visita 2**

[] DEM + 12% = _____ (ponto 2) DEM + 24% = _____ (ponto 3)

[] Tempo para DEM da pessoa = _____ (ponto 1), considerando 3,4 DEM/min que a lâmpada emite **obs.: É o valor encontrado na visita 2**

[] Tempo DEM + 12% = _____ (ponto 2) Tempo DEM + 24% = _____ (ponto 3)

[] Radiação nos 3 pontos seleccionados conforme o tempo indicado para cada. Obs. A região a ser radiada encosta no equipamento

[] Agendar retorno para 24 h.

Responsável pelo atendimento: _____

Visita 6 – após 24 hs **Data:** ____/____/____ **Iniciais:** _____ **No.** _____ **Grupo** _____

☐ Medicamentos concomitantes ☐ Sim ☐ Não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

☐ Avaliação clínica de qual ponto teve eritema formado (bordas definidas)

☐ Ponto 1 ☐ Ponto 2 ☐ Ponto 3

Atual MED da pessoa: _____ **Atual** Tempo para MED da pessoa: _____

☐ Medir coloração da pele L , a , b através de colorímetro dos 3 pontos:

Ponto 1: L = _____ Ponto 2: L : _____ Ponto 3 L : _____

a = _____ a : _____ a : _____

b = _____ b : _____ b : _____

Fotografia: ☐ sim ☐ não

☐ Encaminhamento para coleta de sangue para dosagem do licopeno sérico

☐ Orientação para preencher o diário alimentar (hábitos alimentares), diário do consumo de licopeno e orientação nutricional

☐ Agendar Retorno para 2 semanas

Responsável pelo atendimento: _____

☐ **Hiperpigmentação 1º quadrante** ☐ Sim ☐ Não

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5

☐ Foto

☐ Entrega de Creme Clareador

☐ Leitura com Colorímetro

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____ 4 L = _____ 5 L = _____

a = _____ a = _____ a = _____ a = _____ a = _____

b = _____ b = _____ b = _____ b = _____ b = _____

☐ **Hiperpigmentação 2º quadrante** ☐ Sim ☐ Não

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ Foto

☐ Entrega de Creme Clareador

☐ Leitura com Colorímetro

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____

a = _____ a = _____ a = _____

b = _____ b = _____ b = _____

Visita 7 – 10ª. semana **Data:** ____/____/____ **Iniciais:** _____ **No.** _____ **Grupo** _____

[] Adesão ao tratamento:

- excelente []
- boa []
- regular []
- ruim []

Se regular ou ruim, explicar a razão: _____

Análise do diário alimentar e orientação nutricional

[] Medicções concomitantes ☐ Sim ☐ não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

[] Eventos adversos relacionados ao tratamento:

- ausente []
- presente []

Se presente preencher a ficha de eventos adversos

Modificações no tratamento: _____

[] Seguir padrão quadrante: 4º quadrante 

[] Identificar os 3 pontos do 4º quadrante, através de instrumento/régua específica – Posicionar a régua conforme protocolo (vértebra)

[] Medir coloração da pele L , a , b através de colorímetro dos 3 pontos:

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____

a = _____ a = _____ a = _____

b = _____ b = _____ b = _____

[] DEM da pessoa = _____ (ponto 1) **obs.: É o valor encontrado na visita 2**

[] DEM + 12% = _____ (ponto 2) DEM + 24% = _____ (ponto 3)

[] Tempo para DEM da pessoa = _____ (ponto 1), considerando 3,4 DEM/min que a lâmpada emite **obs.: É o valor encontrado na visita 2**

[] Tempo DEM + 12% = _____ (ponto 2) Tempo DEM + 24% = _____ (ponto 3)

[] Radiação nos 3 pontos selecionados conforme o tempo indicado para cada. Obs. A região a ser radiada encosta no equipamento

[] Agendar Retorno para 24 hs

Responsável pelo atendimento: _____

Visita 8 – após 24 hs **Data:** ____/____/____ **Iniciais:** _____ **No.** _____ **Grupo** _____

☐ Medicamentos concomitantes ☐ Sim ☐ Não

Se sim, preencher a ficha de medicação concomitante

Avaliação clínica de qual ponto teve eritema formado (bordas definidas)

☐ Ponto 1 ☐ Ponto 2 ☐ Ponto 3

☐ **Atual** MED da pessoa: _____ **Atual** Tempo para MED da pessoa: _____

☐ Medir coloração da pele *L*, *a*, *b* através de colorímetro dos 3 pontos:

Ponto 1: *L* = _____ Ponto 2: *L*: _____ Ponto 3 *L*: _____

a = _____ *a*: _____ *a*: _____

b = _____ *b*: _____ *b*: _____

☐ Fotografia: ☐ sim ☐ não

☐ Encaminhamento para coleta de sangue para dosagem do licopeno sérico

☐ Recolher o diário alimentar (hábitos alimentares) e diário do consumo de licopeno

☐ Recolhimento das embalagens dispensadas na visita número 4

☐ Fim do estudo, explicando que haverá convocação para apresentação dos resultados após todas as análises

Responsável pelo atendimento: _____

☐ **Hiperpigmentação 1º quadrante** ☐ Sim ☐ Não

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5

☐ Foto

☐ Entrega de Creme Clareador

☐ Leitura com Colorímetro

1 *L* = _____ 2 *L* = _____ 3 *L* = _____ 4 *L* = _____ 5 *L* = _____

a = _____ *a* = _____ *a* = _____ *a* = _____ *a* = _____

b = _____ *b* = _____ *b* = _____ *b* = _____ *b* = _____

Hiperpigmentação 2º quadrante ☐ Sim ☐ Não

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ Foto

☐ Entrega de Creme Clareador

☐ Leitura com Colorímetro

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____

a = _____ a = _____ a = _____

b = _____ b = _____ b = _____

☐ **Hiperpigmentação 3º quadrante** ☐ Sim ☐ Não

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ Foto

☐ Entrega de Creme Clareador

☐ Leitura com Colorímetro

1 L = _____ 2 L = _____ 3 L = _____

a = _____ a = _____ a = _____

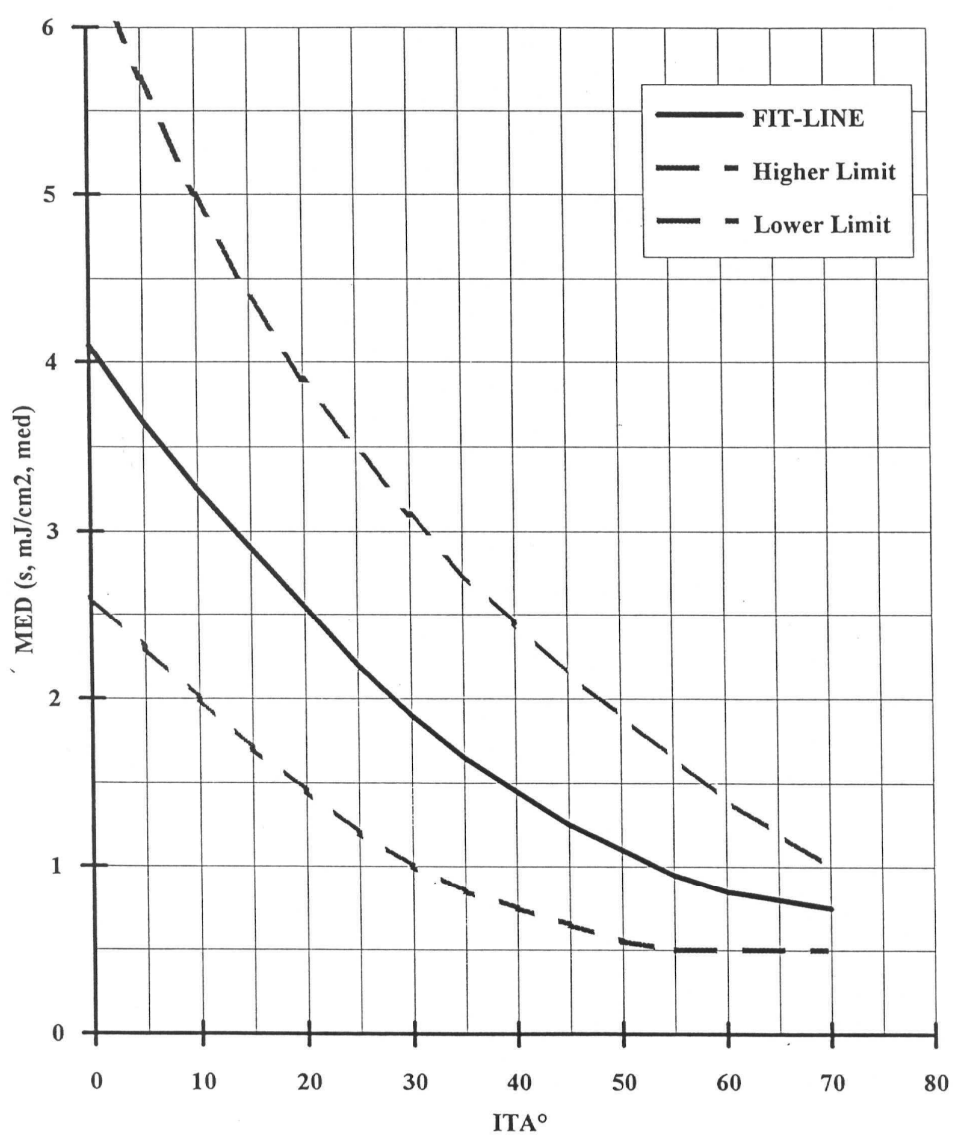
b = _____ b = _____ b = _____

Anexo 2. Classificação do fototipo (Fitzpatrick, 1988)

Classificação	Cor da Pele	Característica após exposição solar
I	Branca	Sempre queima, nunca bronzeia.
II	Branca	Bronzeia com dificuldade
III	Branca	Bronzeia moderadamente
IV	Castanho-clara	Bronzeia com facilidade
V	Castanho-escura	Bronzeia muito facilmente
VI	Negra	nunca queima, só bronzeia

Anexo 3. Gráfico DEM x ITA°

**GRAPH 3:
MED vs ITA° FIT-LINE Model**



Anexo 4. Artigo científico submetido à publicação ao *The American Journal of Clinical Nutrition* - Am J Clin Nutr.

Lycopene *in natura* or capsules for systemic photoprotection: a randomized and comparative study

Funding: The State of Sao Paulo Research Foundation (FAPESP)

No conflict of interest

Abstract

Background and objectives: carotenoids are endogenous antioxidant agents. Lycopene, the most powerful carotenoid, reduces the immediate erythema after exposure to ultraviolet B radiation. The objective was to evaluate and compare the photoprotective effect of lycopene in capsules and tomato paste. **Methods:** interventional, randomized, comparative 10-week study, including 21 subjects, divided in two groups: 11 for capsule, 10 for tomato paste intake. Blood samples were collected for serum lycopene dosage by high performance liquid chromatography. Chromatometer was used to measure the minimal erythematous dose 24 hours after ultraviolet B irradiation and the variation of color *a* (maximum erythema, 24 hours after skin irradiation compared to normal skin). Evaluations were made at baseline and after 4, 8, and 10 weeks. Data were analyzed by ANOVA with repeated measures. **Results:** three subjects dropped out after 4 weeks. Serum lycopene demonstrated great variability and it was not possible to perform statistical analysis. No visual change for minimal erythematous dose was observed in all evaluations, for both groups. Chromatometer measures showed no difference in the mean minimal erythematous dose at baseline between groups, but variation of color *a* from baseline to 10 weeks was observed [marginally significant ($p=0.054$)]. Therefore, reduction in Δa occurred, with a tendency to be greater for capsule use [marginally significant ($p=0.066$)]. **Conclusions:** Lycopene regular intake, in capsule or *in natura*, demonstrated some positive effect for systemic photoprotection against ultraviolet B, which indicates the advantage of promoting its regular intake.

Key words: carotenoids, lycopene, photoprotection

Introduction

The ultraviolet B radiation (UVB) is absorbed by epidermis and is the main cause of the inflammatory response and erythema. In general, the ultraviolet A radiation (UVA) does not cause erythema or it is minimum and dependent on individual phototype and radiation intensity. When compared to UVB radiation, its capacity of inducing erythema on human skin is approximately one thousand times lower; however, the UVA penetrates deeper, reaches the dermis, and activates nuclear pathways which lead to inflammation, degradation of collagen tissue and reduction of its synthesis^(1,2).

The carotenoids are lipophilic micronutrients with an antioxidant activity. There is a correlation between a carotenoid-rich diet and the lower occurrence of degenerative diseases. *In-vitro* studies indicate that lycopene is the agent with the highest antioxidant power among the carotenoids^(3,4,5).

The relation between oral intake of carotenoids and photoprotection against the UV radiation has been studied through the reduction in the emergence of erythema in human skin^(6,7). The erythema induced by UVB radiation can be measured, and it is possible to calculate the individual minimal erythematous dose (MED). The MED corresponds to the lowest amount of energy necessary to induce erythema in a given subject, being detectable 24 hours after the radiation⁽⁸⁾. The MED is defined as the time necessary for the development of discrete erythema, with well-defined borders and without blisters, after one single exposure to UVB radiation, being expressed as the energy per unit area (KJ/m²)⁽⁹⁾.

Studies indicate that the lycopene poses a photoprotective effect, hence it reduces the emergence of erythema when consumed on a daily basis, and over a period that is equivalent to or above eight weeks^(3,8). The bioavailability of lycopene in food is variable, justifying the investigation of its photoprotective effect through an *in-natura* source by comparison with synthetic lycopene provided in capsules, which is the aim of this study.

Methods

Randomized and comparative 10-week study of therapeutic intervention, including 20 female and one male healthy subjects, with ages between 20 and 40 years, phototype II or III from

Fitzpatrick classification⁽¹⁰⁾ and non smoking. The randomization list has been generated by computer software so as to form 2 groups comprised by 11 subjects to take the lycopene capsules (group C) and 10 the tomato paste (group T), evaluated in 8 visits. The exclusion criteria were: hypersensitivity or known intolerance to lycopene; history of malabsorption and/or hepatic disease; photosensitivity and/or history of skin cancer; use of vitamins or medicines with a risk of hepatotoxicity; pregnancy and/or breast feeding. The research protocol was approved by the Institutional Review Board from Paulista Medical School / Federal University of Sao Paulo / Sao Paulo Hospital (*EPM / UNIFESP / HSP*), Brazil, and the subjects have signed the Informed Consent Form, prior to study initiation.

In the first visit, they were submitted to the following sets of evaluation and intervention: measurement of skin color by colorimetry (*Minolta CR400 Chromatometer, Konica Minolta Sensing Inc., Japan*), exposure to UVB light radiation emitted by the UV Radiation Simulator (*SPF Ultraviolet Solar Simulator Model 16S – 300 watts, Solar Light Co., Inc., The United States*), and collection of blood samples for the serum lycopene level, by *high performance liquid chromatography* (HPLC), which is the standard method⁽¹¹⁾. The *chromatometer* or colorimeter is composed of a three-dimension (3D) color system, allowing the measurement of *L*, *a*, and *b* values. The *a* value corresponds to the peak of erythema which is measured 24 hours after the irradiation allowing the MED determination for each subject. The Δa value, i.e., the *a* value 24 hours after the irradiation minus the *a* value prior to the irradiation is also used to quantify the skin response to UVB radiation. Each subject was her own control by the MED and Δa value measurement carried out prior to the beginning of lycopene regular consumption. These measurements and the serum lycopene dosage were repeated after 4, 8, and 10 weeks.

The subjects were adequately oriented to initiate the regular intake of 16 mg of lycopene during 10 weeks, through the daily consumption of one capsule or a mixture of two soup spoons of tomato paste with one soup spoon of olive oil. They were also requested to fill a food diary to be discussed in all of the following visits.

The ANOVA with repeated measures test was used for statistical analysis.

Results

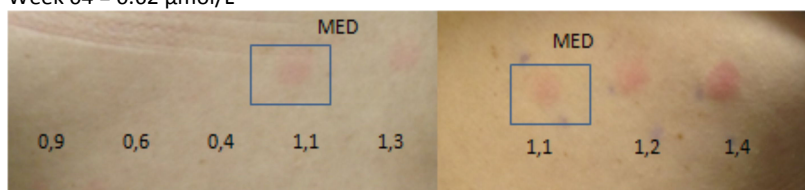
Three female subjects dropped out after four weeks, two for personal reasons (one from each group), and one due to adverse event, i.e., gastralgia related to tomato paste. Therefore, 10 subjects from group C and 7 female and the male from group T completed the study. The *per protocol (PP)* and not the *ITT (intention to treat)* population was used for analysis as the subjects who dropped out would refused to be submitted to the second assessment.

Concerning the dosage of serum lycopene, a great variability has occurred in the four evaluations and for all subjects. The results obtained at baseline and after the 10-week supplementation are described as minimum and maximum values for each group. For subjects from group C, the values ranged from 0.15 $\mu\text{mol/L}$ to 0.55 $\mu\text{mol/L}$ at baseline and 0.20 $\mu\text{mol/L}$ to 0.73 $\mu\text{mol/L}$ after 10 weeks. The same dosages for subjects from group T ranged from 0.2 $\mu\text{mol/L}$ to 0.5 $\mu\text{mol/L}$ at baseline and 0.25 $\mu\text{mol/L}$ to 0.42 $\mu\text{mol/L}$ at the end of the treatment. Therefore, a statistical analysis would be inconsistent - which, in turn, did not permit to establish a correlation between the alterations of lycopene serum levels and the UVB-induced skin erythema. For some subjects, it was verified that, in spite of a significant increase in the lycopene serum level, there was no reduction of the erythema or increase in the MED, as exemplified in Figure 1, for two subjects, four weeks after treatment. On the other hand, for other subjects there was no significant difference in serum levels even after 10 weeks of regular intake of lycopene.

C - CAPSULE - Serum lycopene

Week 0 = 0.19 $\mu\text{mol/L}$

Week 04 = 0.62 $\mu\text{mol/L}$



T - TOMATO PASTE- Serum lycopene

Week 0 = 0.37 $\mu\text{mol/L}$

Week 04 = 0.64 $\mu\text{mol/L}$

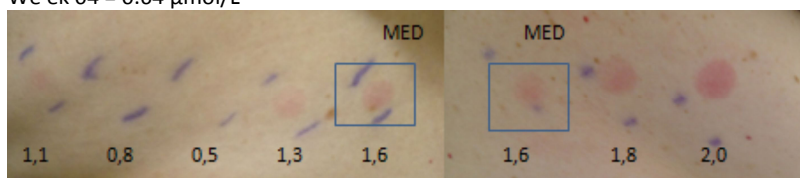


Figure 1. Discrepancy between significant increase in lycopene serum level with no reduction of the erythema and no increase in the MED at baseline and four weeks after regular intake of lycopene.

It was not possible to observe a change in the MED upon clinical visual assessment performed by the investigator, in both groups during the period of the study. To detect the reduction of the erythema and increase in the MED, the a value provided by the 3D color system Chromatometer was used, as it corresponds to the skin erythema level. It was observed a variation in color a , i.e., Δa reduction after 10 weeks as compared to baseline for both groups, with a marginally significant difference ($p = 0.054$), as presented in Figure 2.

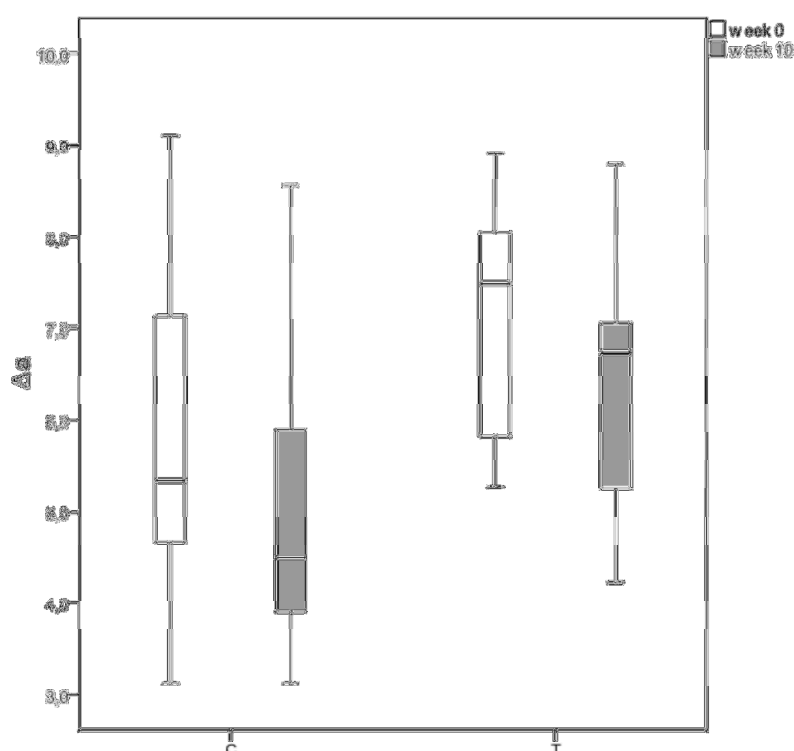


Figure 2. Comparison of the mean Δa from subjects who used capsule (C) and tomato paste (T), between baseline and week 10.

The comparison of the Δa reduction 10 weeks after intake of the capsule and the tomato paste revealed a tendency to be greater for the capsule, with a marginally significant difference ($p = 0.066$), as showed in Figure 3.

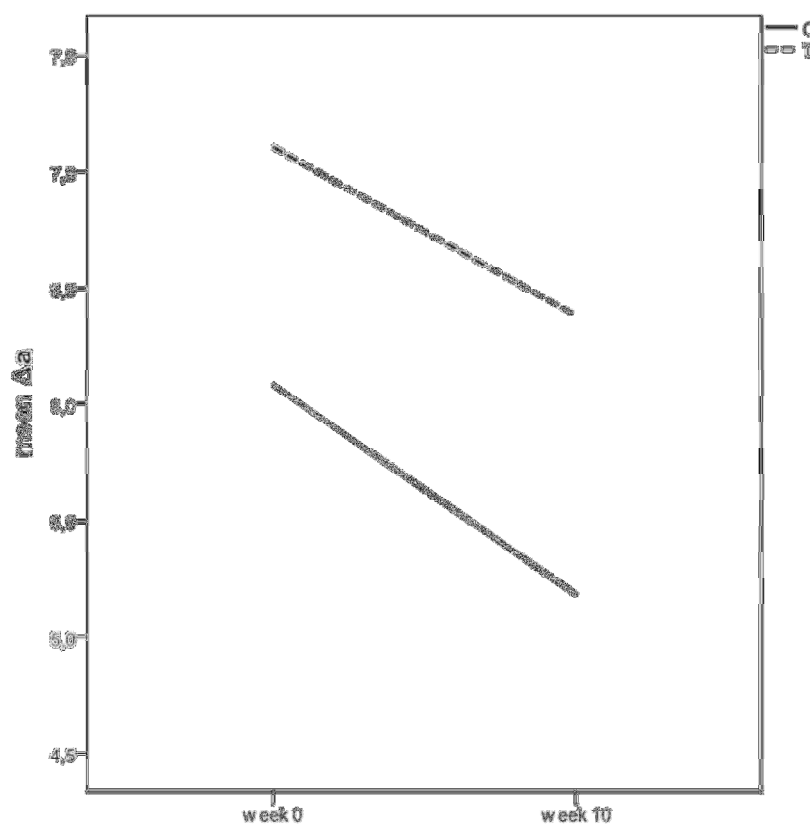


Figure 3. Comparison of the mean Δa for subjects from capsule group (C) and tomato paste group (T)

As adverse event, all subjects have presented post-erythema hyperpigmentation on the irradiated sites, with remission within 10 to 30 days after use of mild bleaching cream and sun avoidance.

Discussion

The carotenoids sequester free radicals, peroxides, and *singlet* oxygen, which damage lipoprotein membranes through lipid peroxidation. This is the basis of their antioxidant action demonstrated *in vitro* and *in vivo*^(12,13). Carotenoids, such as beta-carotene, lycopene, zeaxanthin, and lutein, do present that effect as long as in lipid phase. Studies suggest that those compounds may modulate carcinogenesis, inhibit cellular proliferation, stimulate the communication between cells, and ameliorate the immune response⁽¹⁴⁾.

Epidemiological studies show that the predominant exposure to UV radiation takes place under day-to-day circumstances and, in general, when the skin is not protected. Thus, the use of dietary components with protective properties could have a significant beneficial effect, composing the concept of basal endogenous protection⁽⁸⁾.

The lycopene poses a direct protective effect against free radicals^(4,5), being regarded as an important antioxidant which protects the cell membrane by reacting with the peroxide radicals and molecular oxygen⁽¹⁵⁾. Nevertheless, it is controversial and not well defined the specific dosage of lycopene, minimum or maximum, which is regarded to be effective and safe for ingestion⁽¹⁶⁾. In accordance with Rao and Shen⁽¹⁵⁾, the daily intake of 5-10 mg of lycopene is enough to have its benefits achieved. Other authors^(17,18) suggest the intake of 4 mg/day of carotenoids, not exceeding 10 mg/day. Rao and Agarwal⁽¹⁹⁾, suggest that the average intake of that antioxidant should be 35 mg/day for protection against skin cancer and heart disease. For prostate cancer, it was reported the use of lycopene in daily regimen of a mean dose of 43 ± 15 mg, for 8 weeks, with a significant increase of the serum level, i.e., from 0.72 ± 0.09 μ mol/l to 1.21 ± 0.10 μ mol/l ($p < 0.0001$)⁽²⁰⁾. As there is no consensus on the daily dosage, we have opted for 16 mg/day, hence that lies below the maximum, as recommended in the literature and, also, for better acceptance by the subjects, due to the palatability of the *in natura* source.

The protective effect observed of lycopene, *in natura* or synthetic, is in accordance with the data from other studies which address the systemic photoprotection against erythema caused by UVB radiation on human skin, after the supplementation with carotenoids⁽²¹⁻²³⁾.

As no protection has been achieved in studies in which the intake of carotenoids would take place over a period shorter than 8 weeks, we established a 10-week supplementation period^(24,25)

The factors which interfere with the bioavailability of the lycopene are: food matrix, absorption process, interaction between carotenoids, presence of dietary fiber, and digestion of the source food⁽⁵⁾. Its absorption is higher in meals with cooked tomatoes, and it is influenced by the amount of fat. Apart from that, some fibers, such as pectin, may reduce the absorption due to the increase in viscosity⁽²⁶⁾. Some carotenoids may also affect the absorption of lycopene, such as lutein and beta-carotene, as a competition takes place during the intestinal absorption^(4,27). Thus, it has been verified that the intake of tomato sauce increases the serum concentrations of lycopene at larger rates than raw tomatoes or fresh tomato juice. The intake of tomato sauce cooked in oil has resulted in a 2- to

3-fold increase in the serum concentration of lycopene one day after its being ingested, but no alteration has occurred when fresh tomato juice was administered⁽²⁸⁾. For those reasons, in this study, the oily capsules and the tomato paste mixed with olive oil have fostered its effect, hence its bioavailability is higher when processed and offered in lipid midst⁽¹⁴⁾. Nevertheless, the variations in absorption, bioavailability, and distribution may explain the discrepancies observed between the serum levels of lycopene and the protective action for the same ingested dosage. One study compared to placebo the serum level measured by HPLC as well as the presence on forehead and palm skin by Raman spectroscopy of *in natura* carotenoids extract used for four weeks by 22 volunteers. In contrast with our results, the authors observed a significant increase, being slower and site dependent for skin. The lycopene present in low amount in the extract showed the highest level on skin and blood⁽¹¹⁾.

Our results indicate a slightly superior photoprotection determined by the synthetic source, which could be related to the difficulty of adherence to the daily intake of the tomato paste, for the lack of practicality and for the reduction in the palatability over time.

It is important to point out that the analysis of the food diary filled out by the subjects has shown that all of them presented bad dietary habits, with meals at irregular schedules, low intake of fruit and greens, and use above recommendations of saturated fat and sodium, stemming from industrialized products.

To our knowledge, this is the first study which has demonstrated the benefit, although not significant, of *in natura* or synthetic lycopene intake for the protection against erythema induced by UVB radiation on human skin.

Conclusion

The bioavailability of the carotenoid lycopene depends on the food matrix and on the absorption process, which may compromise its role as a systemic photoprotector. The regular intake, in capsules or *in natura*, in the conditions of this study, has demonstrated a favorable tendency to systemic photoprotection. This indicates the utility of stimulating advising on its use through natural or synthetic sources in association with a balanced diet and the daily use of sunscreen. New studies will be able to demonstrate the interface between the dietary reality of the population and the antioxidant function of some nutrients.

Acknowledgements: We thank The State of Sao Paulo Research Foundation (FAPESP) for supporting all expenses of this study. We also thank Gianni M. S. dos Santos for statistical assistance.

References

1. Kullavanijaya P, Lim HW. Photoprotection. *J Am Acad Dermatol* 2005; 32(6):937-58.
 2. Antoniou C, Kosmadaki MG, Stratigos AJ, Katsambas AD. Sunscreens – what’s important to know. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008, 22:1110-9.
 3. Stahl W, Heinrich U, Wiseman S *et al.* Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans. *J Nutr* 2001; 20:1449-51.
 4. Bramley PM. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 2000; 54(3):233-6.
 5. Lugasi A, Hovarie J, Biro L *et al.* Factors influencing lycopene content of foods, and lycopene of Hungarian population. *Nutr Res* 2003; 23:1035-44.
 6. Stahl W, Sies H. Protection against solar radiation – protective properties of antioxidants. In Giacomoni PU: *Sun protection in man*, ed. Elsevier, Amsterdam, 2001, pp 561-72.
 7. Sies H, Stahl W. Nutritional protection against skin damage from sunlight, *Ann Rev Nutr*; 2004, 24:173-200.
 8. Sies H, Stahl W. Carotenoids and UV protection. *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3:749-752.
 9. Nasser N. UVB: Susceptibilidade no melanoma maligno. *An Bras Dermatol* 2010; 85(6):843-8.
 10. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988; 124:869-71.
 11. Meinke MC, Darvin ME, Vollert H, Lademann J. Bioavailability of natural carotenoids in human skin compared to blood. *Eur J Pharm Biopharm* 2010; 76(2):269-74.
 12. Erdman Jr JW. Variable bioavailability of carotenoids from vegetables. *Am J Clin Nutr* 1999; 70(2):179-80.
 13. Shami N, Moreira E. Licopeno como agente antioxidante. *Rev Nutr* 2004; 17(2): 227-236.
 14. Olson JA. Carotenoids and human health. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(3 Suppl 1):7-11
 15. Rao AV, Shen H. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. *Nutr Res* 2002; 22:1125-31.
-

16. Amaya-Farfan J, Domene SMA, Padovani RM. DRI: síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. *Rev Nutr* 2001; 14(2):71-8.
 17. Naves MMV. Betacaroteno e câncer. *Rev Nutr* 1998; 11(2):99-115.
 18. Ziegler RG, Colavito EA, Hartge P *et al.* Importance of alpha-carotene e betacarotene, and other phytochemicals in the etiology of lung cancer. *J Nat Cancer Inst* 1996; 88(9):612-5.
 19. Rao AV, Agarwal S. Role of oxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr* 2000; 19(5):563-9.
 20. Grainger EM, Schwartz SJ, Wang S *et al.* A combination of tomato and soy products for men with recurring prostate cancer and rising prostate specific antigen. *Nutrition and Cancer* 2008; 60(2):145-54.
 21. Swindells K, Rhodes LE. Influence of oral antioxidants on ultraviolet radiation-induced skin damage in humans. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2004; 20:297–304.
 22. Stahl W, Heinrich U, Wiseman S *et al.* Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans. *J Nutr* 2001; 131:1449–51.
 23. Stahl W, Sies H. Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. *Mol Biotechnol* 2007; 37:26–30.
 24. Garmyn, M., Ribaya-Mercado, J. D., Russell, R. M., Bhawan, J. & Gilchrest, B. A. (1995) Effect of beta-carotene supplementation on the human sunburn reaction. *Exp. Dermatol.* 4: 104–111.
 25. McArdle F, Rhodes LE, Parslew RAG, Close GL, Jack CIA, Friedmann PS, Jackson MJ. Effects of oral vitamin E and B-carotene supplementation on ultraviolet radiation–induced oxidative stress in human skin. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1270-5.
 26. Johnson-Down L. Food habits of Canadians: lutein and lycopene intake in the Canadian population. *JADA* 2002; 102(7):9988-91.
 27. Khachik F, Carvalho L, Bernstein PS *et al.* Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med* 2002; 227(10):845-51.
 28. 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.
-