



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Fatores que influenciam o risco de
desenvolvimento de Cancro do Pulmão**

Isa Sofia Sequeira Casaca

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Vera Ribeiro

Setembro de 2017



UAlg

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Fatores que influenciam o risco de
desenvolvimento de Cancro do Pulmão**

Isa Sofia Sequeira Casaca

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Vera Ribeiro

Setembro de 2017

Fatores que influenciam o risco de desenvolvimento de Cancro do Pulmão

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright© Isa Sofia Sequeira Casaca

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à minha família, especialmente aos meus pais, não só pelo apoio e suporte dados ao longo de todo o meu percurso académico, como em toda a minha vida, e por sempre terem tornado possível a realização dos meus sonhos.

À Cristiana, por ter sido a minha *casa* durante os últimos 5 anos e a todos os amigos que fiz durante esta etapa da minha vida, agradeço pelas boas memórias que vou levar para sempre.

À Professora Vera, por ter aceitado tão prontamente o meu pedido, pela orientação e compreensão, pelo exemplo que me deu enquanto professora e, acima de tudo, pela pessoa que sempre demonstrou ser para com todos os alunos.

A toda a equipa dos Serviços Farmacêuticos do Hospital Distrital de Santarém e da Farmácia Barreto do Carmo, principalmente ao Dr. Ricardo, pelo orientador e amigo que foi durante o estágio e por me ter inspirado como Farmacêutica, através do seu enorme profissionalismo.

RESUMO

O cancro do pulmão é atualmente a principal causa de morte por cancro nos homens e a segunda principal causa de morte por cancro nas mulheres, depois do cancro da mama. Em Portugal, a doença também se mantém como a principal causa de morte por cancro, acompanhando assim a tendência mundial.

De facto, a incidência deste carcinoma varia substancialmente entre países e regiões refletindo amplamente as diferenças históricas nos hábitos tabágicos das populações, o que faz do tabaco o maior e mais bem estabelecido fator de risco para o desenvolvimento deste cancro. Contudo, vários outros fatores de risco não relacionados com o tabagismo têm sido descritos, e, dada a etiologia multifatorial desta neoplasia, as possíveis interações sinérgicas entre os vários fatores de risco podem ter consequências substanciais para o aumento desse risco.

Este é, portanto, um dos poucos cancros em que se verifica uma forte relação entre a exposição ambiental e o risco, sendo que cerca de noventa por cento de todos os cancros do pulmão são atribuíveis ao tabagismo e poderiam ser evitados. Nesse sentido, programas extensivos e bem-sucedidos de prevenção e cessação tabágica têm sido implementados, especialmente nos países desenvolvidos, no entanto existe ainda uma minoria de doentes sem historial de tabagismo, cujos fatores de risco associados a esta população não estão tão bem definidos.

Uma compreensão da etiologia da neoplasia do pulmão é imperativa não só para a sua prevenção como para direcionar e otimizar a terapêutica. Como tal, no presente trabalho irá ser feita uma revisão, depois de uma abordagem introdutória ao tema, sobre os fatores que influenciam significativamente o risco de desenvolvimento de cancro do pulmão, tal como o tabaco, mas também outros que muitas vezes são ignorados devido à força da associação do cancro do pulmão com o tabagismo, nomeadamente a poluição exterior e interior, a radiação ionizante, os fatores hormonais, as infeções e a dieta, que são foco da investigação atual.

Palavras-chave: Cancro do pulmão, risco, tabagismo, poluição, radiação.

ABSTRACT

Lung cancer is currently the leading cause of death from cancer in men and the second leading cause in women, after breast cancer. In Portugal, the disease also remains the leading cause of death from cancer, following the world trend.

In fact, the incidence of this carcinoma varies substantially between countries and regions, largely reflecting the historical differences in the smoking habits of populations, which makes smoking the major and most well-established risk factor for human lung cancer. However, several other risk factors, unrelated to smoking, have been described, and given the multifactorial etiology of this neoplasm, possible synergistic interactions among the various risk factors may have substantial consequences for the overall increased risk.

This is, therefore, one of the few types of cancer with a strong relationship between environmental exposure and risk, and about ninety percent of all lung cancers are attributable to smoking and could be avoided. In that sense, extensive and successful smoking prevention and cessation programs were implemented, especially in developed countries, however there is still a minority of patients with no history of smoking, whose risk factors associated with this population are not so well defined.

An understanding of the etiology of lung neoplasms is imperative not only for its prevention but also for targeting and optimizing the therapy. Consequently, in the present work, after an introductory approach to the subject, a review will be presented about the factors that significantly influence the risk of lung cancer development, such as cigarette smoking, but also others that are often ignored due to the strength of the association between lung cancer and smoking, in particular, indoor and outdoor pollution, ionizing radiation, hormonal factors, infections and diet, which are the focus of current research.

Keywords: Lung cancer, risk, smoking, pollution, radiation.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE QUADROS	vii
1 CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA	1
1.1 Descoberta do cancro do pulmão	1
1.2 Descoberta da ligação entre o tabaco e o cancro do pulmão	1
2 EPIDEMIOLOGIA DO CANCRO DO PULMÃO	3
2.1 Dados epidemiológicos em Portugal	5
3 PATOLOGIA DO CANCRO DO PULMÃO	7
3.1 Adenocarcinomas.....	9
3.1.1 Carcinomas de células broncoalveolares	10
3.2 Carcinomas de células escamosas.....	11
3.3 Carcinomas de células grandes	12
3.4 Carcinoma pulmonar de pequenas células.....	13
4 FATORES QUE INFLUENCIAM O RISCO DE DESENVOLVIMENTO DO CANCRO DO PULMÃO	14
4.1 Tabaco.....	15
4.1.1 Tabagismo activo.....	15
4.1.1.1 BaP como indutor de cancro do pulmão	18
4.1.1.2 Impacto do BaP na fase de iniciação tumoral	19
4.1.1.3 Impacto do BaP na promoção e progressão tumoral.....	20
4.1.1.4 Destoxificação de PAHs.....	21
4.1.2 Cessaçãõ Tabágica.....	21
4.1.3. Tabagismo Passivo	22
4.2 Exposições ambientais	25
4.2.1 Poluição do ar	25

4.2.2	Asbestos.....	27
4.2.3	Diesel.....	29
4.2.4	Poluição interior	30
4.3	Radiação ionizante	31
4.3.1	Radão.....	32
4.4	Hormonas.....	36
4.5	Agentes infecciosos	41
4.5.1	Tuberculose pulmonar	42
4.5.2	Infeção pelo vírus do papiloma humano.....	44
4.5.3	Infeção pelo vírus da imunodeficiência humana	46
4.6	Dieta.....	47
5	CONCLUSÃO	53
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Taxas de incidência e mortalidade (por 100000) por cancro do pulmão, por sexo e região mundial, 2012.	5
Figura 2 - Taxa de mortalidade padronizada para os Estados-membros da União Europeia, para ambos os sexos, 2013	6
Figura 3 - Adenocarcinoma pulmonar.....	10
Figura 4 - Carcinoma de células escamosas do pulmão	12
Figura 5 - Carcinoma indiferenciado de células grandes do pulmão.	12
Figura 6 - Carcinoma pulmonar de pequenas células.....	13
Figura 7 - Estrutura molecular do benzo[a]pireno	17
Figura 8 - Principais vias de ativação metabólica do BaP.....	19
Figura 9 - Representação mecanística da biotransformação do composto NNK presente no fumo do tabaco	24

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Principais tipos histológicos e respetivas prevalências estimadas e exemplos de subtipos mais frequentes	8
--	---

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AhR - *Aryl Hydrocarbon Receptor*

AKR - *Aldo-keto reductase*

ARNT - Translocador nuclear do AhR

BaP - Benzo[a]pireno

BPDE - BP-7,8-diol-9,10-epóxido

CEA – *Carcinoembryonic Antigen*

CPNPC - Carcinoma pulmonar de não pequenas células

CPPC - Carcinoma pulmonar de pequenas células

CK7 – *Cytokeratin 7*

CK20 – *Cytokeratin 20*

CYP – *Cytochrome P450*

DRE – *Dioxin-responsive Element*

EGFR – *Epidermal Growth Factor Receptor*

EH - Epóxido hidrolase

ER – *Estrogen Receptor*

GSTM1 - Glutathiona S-transferase M1

GSTT1 - Glutathiona S-transferase teta 1

HPV - *Human Papiloma Virus*

IARC – *International Agency for Research on Cancer*

IL-3 - Interleucina 3

IL-4 - Interleucina 4

IL-6 - Interleucina 6

KRAS - *Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog*

NNAL - 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol

NNK - 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona

OMS - Organização Mundial de Saúde

PAH – Polycyclic Aromatic Hydrocarbon

PM – *Particulate Matter*

PR – *Progesterone Receptor*

Rn - Radão

ROS – *Reactive Oxygen Species*

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

TAC - Tomografia Axial Computorizada

TNF - *Tumor Necrosis Factor*

TRH - Terapia de Reposição Hormonal

TTF- 1 – *Thyroid Transcription Factor 1*

UGT - UDP-Glucuronosiltransferase

VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana

1 CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA

1.1 Descoberta do cancro do pulmão

O cancro do pulmão foi descrito pela primeira vez no século XVIII por Giovanni Battista Morgagni. É muito provável que a doença tenha sido ocasionalmente diagnosticada erroneamente como tuberculose, pneumonia ou outra patologia associada ao pulmão. Ainda assim, sabe-se através de registos detalhados de autópsias realizadas na Alemanha que a doença era extremamente rara antes do século XX ^{1,2}.

A invenção da fotografia raio-X em 1895 foi, por isso, uma importante ferramenta na medida em que permitiu fazer a distinção entre neoplasias pulmonares e tuberculose ou gripe. Contudo, a revolução bacteriológica e a descoberta de que muitas doenças eram causadas por micróbios patogénicos também desviou a atenção do que se tornaria a sua causa primária fomentando a ideia de que o cancro também poderia ser causado exclusivamente por um agente infeccioso ¹.

Apenas 140 casos tinham sido relatados na literatura médica mundial em 1898 e apenas 374 eram conhecidos quando Adler redigiu a primeira monografia de que há registo sobre cancro do pulmão, em 1912. Na sua revisão Isaac Adler afirma que, embora as neoplasias malignas dos pulmões estivessem entre as formas mais raras de cancro, a incidência da doença parecia mostrar um aumento significativo na segunda metade do século XIX e ainda mais dramaticamente na primeira década do século XX, baseando-se no número de tumores pulmonares primários encontrados nos corpos autopsiados de clínicas de pesquisa alemãs ³. Tal foi confirmado em 1923, na reunião anual da Associação de Patologia da Alemanha, conhecida pelo seu rigor científico ².

1.2 Descoberta da ligação entre o tabaco e o cancro do pulmão

Aparentemente, até à última década do século XIX, não havia suspeitas de que o tabaco pudesse ser a causa de tumores pulmonares ². A descoberta dessa ligação foi dificultada pelo facto de o cancro do pulmão ter um intervalo de tempo entre a exposição

e o início dos sintomas de mais de 20 anos, o que até então, não era um fenómeno comum na medicina ⁴.

Em 1898, um estudante de medicina alemão, Hermann Rottmann, já tinha proposto que a exposição, não ao fumo, mas ao pó do tabaco, poderia estar a causar elevada incidência de tumores pulmonares entre os trabalhadores de fábricas de tabaco na Alemanha, mas foi Adler o primeiro a sugerir, na sua monografia, que o tabagismo poderia ser a causa da crescente incidência deste tumor, corrigindo assim Rottmann ^{2,3}.

Na década de 1930, os cirurgiões assistiam a um aumento repentino desta doença que até então era incomum: em 1878, o número tumores pulmonares encontrados representava apenas 1% de todos os cancros vistos em autópsia no Instituto de Patologia da Universidade de Dresden, na Alemanha. Em 1918, a percentagem subia para quase 10% e em 1927 para mais de 14% e cada vez mais se questionava qual a razão para a elevada incidência ⁵.

Apesar de não haver ainda um consenso, o fumo do tabaco, assim como o alcatroamento das estradas, a poluição do ar e a poluição proveniente do tráfego foram responsabilizados, mas também os efeitos latentes dos gases tóxicos utilizados na Primeira Guerra Mundial, a pandemia do vírus influenza de 1918-1919, e outras teorias foram apresentadas como possíveis explicações ². No entanto, o cancro do pulmão aumentava na mesma proporção em países com menos automóveis, menos indústria, menos estradas pavimentadas e não aumentou no século XIX após pandemias de gripe anteriores ⁵.

Em resumo, havia alguma suspeita, mas não a certeza da ligação entre o cancro do pulmão e o fumo do tabaco, sendo que não era dada especial importância ao tabagismo, até evidências de várias fontes de investigação deixarem claro que o tabaco era, de longe, a principal causa ².

A primeira análise quantitativa que apoiou esta ligação foi da autoria de Fritz Lickint, um médico alemão e forte opositor ao tabaco que, em 1929, publicou uma série de revisões detalhadas das tendências do tabagismo e do cancro do pulmão, associações ecológicas, relatórios de autópsias, estudos experimentais em animais e relatórios clínicos, demonstrando que seriam os indivíduos fumadores que estariam em maior risco de desenvolver a doença ⁶.

Em 1940, Franz Muller, um cientista alemão, publicou pela primeira vez um estudo epidemiológico, mais concretamente um caso-controlo, que comparava os hábitos tabágicos de 86 homens com cancro do pulmão com os hábitos de 86 homens saudáveis da mesma idade, e verificou que uma proporção marcadamente maior do primeiro grupo eram fumadores pesados (isto é, que fumam 20 ou mais cigarros por dia) ⁶. Como conclusão, o autor afirmou que o extraordinário aumento do consumo de tabaco foi a causa mais importante da crescente incidência do cancro do pulmão numa altura em que este se tornava a segunda causa mais frequente de morte por cancro, depois do cancro do estômago ⁵.

A mesma conclusão foi suportada por vários estudos que surgiam cada vez mais sofisticados e financiados por um regime nazi muito favorável às iniciativas anti-tabagismo. Na edição de 1969 do emblemático “*Springer Handbook of Special Pathology*“, o papel do fumo do tabaco foi descrito detalhadamente em cerca de 25 páginas, a poluição atmosférica também foi mencionada como fator etiológico, e foi ainda reconhecido que certas substâncias químicas associadas à exposição ocupacional tais como arsénico, asbesto, níquel e crómio, poderiam estar na origem do cancro do pulmão ^{5,6}.

Ao percorrer a história do cancro do pulmão é interessante notar que não foi a toxicologia experimental que mais contribuiu para a sua compreensão, mas sim o facto de esta doença, anteriormente muito rara, ter aumentado em paralelo com o aumento do consumo de um agente que se revelou o principal responsável para a maior causa de morte por cancro no mundo ^{5,7}.

2 EPIDEMIOLOGIA DO CANCRO DO PULMÃO

A neoplasia do pulmão constitui a principal causa de morte por cancro nos homens e a segunda principal causa de morte por cancro em mulheres (depois do cancro da mama), com cerca de 1,8 milhões de novos casos diagnosticados em 2012 e 1,6 milhões de mortes por ano ⁷.

Devido à sua elevada letalidade e à relativa falta de variabilidade na taxa de sobrevivência em diferentes regiões do mundo, os padrões geográficos de mortalidade seguem de perto os da incidência ⁷, conforme elucidada a **Figura 1**. A significativa variação mundial nas taxas reflete em grande parte as diferenças na fase e no grau da epidemia tabágica nas diferentes regiões, embora as diferenças na poluição do ar e na exposição ocupacional também sejam fatores importantes ⁸.

Assim, as taxas de incidência da doença são mais altas nas regiões mais desenvolvidas, como a Europa Central e Oriental e a Ásia Oriental, onde a adoção do hábito de fumar ocorreu mais cedo, embora estes valores estejam a diminuir em muitos desses países. Notavelmente, baixas taxas de incidência são observadas na África Central e Ocidental ^{7,8}. Ao contrário do que acontece nas regiões mais desenvolvidas, nestes países onde a epidemia tabágica teve o seu início mais recentemente, as taxas de mortalidade por cancro do pulmão continuam a subir ⁸.

Por sua vez, nas mulheres, as taxas de incidência são geralmente mais baixas e o padrão geográfico é um pouco diferente, refletindo principalmente a diferente exposição histórica ao tabagismo. Assim, as taxas mais elevadas são as da América do Norte e do Norte da Europa, e as taxas mais baixas são, mais uma vez, na África Ocidental e Central ⁷. Na Ásia Oriental, em particular, onde o tabagismo entre as mulheres permanece incomum, fatores ambientais, nomeadamente, a poluição em ambientes fechados, desempenha um papel significativo, dando origem à alta taxa de mortalidade ^{8,9}.

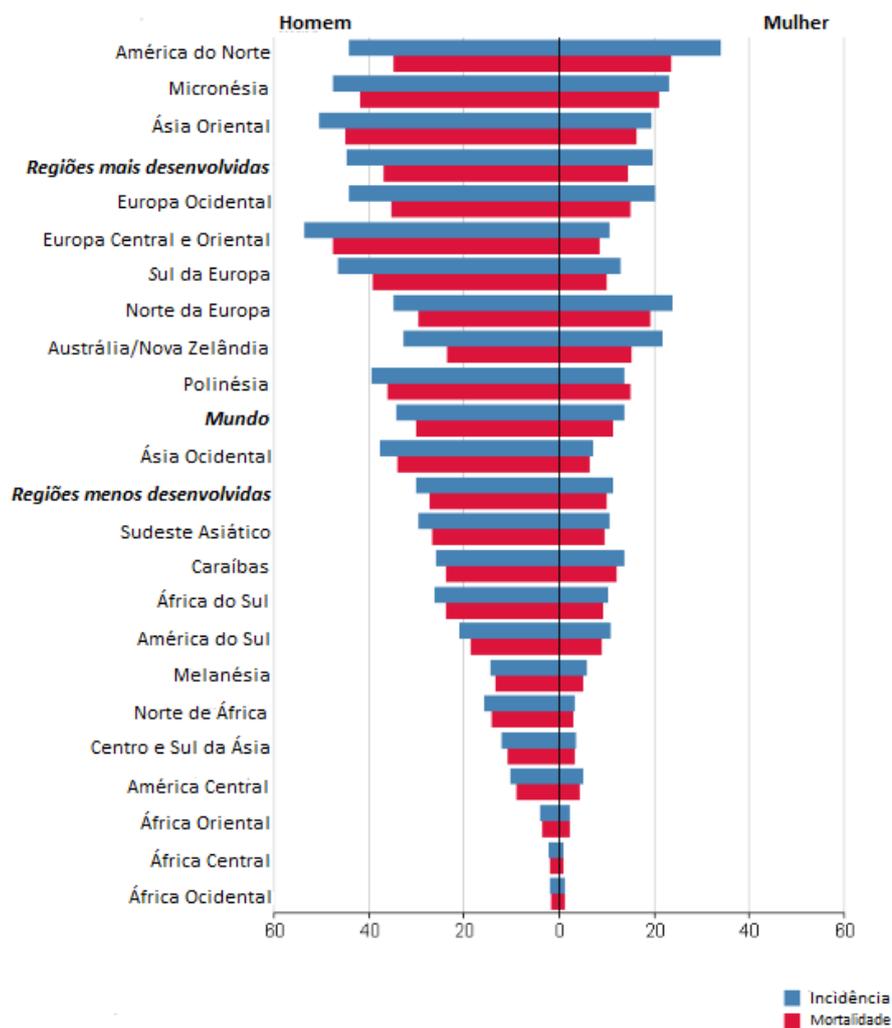


Figura 1 - Taxas de incidência e mortalidade (por 100000) por cancro do pulmão, por sexo e região mundial, 2012 (adaptado de ⁷).

2.1 Dados epidemiológicos em Portugal

No caso concreto de Portugal, a epidemia do cancro do pulmão continua a aumentar em ambos os sexos. Este ocupa o quarto lugar de incidência, apresentando as neoplasias da próstata, mama e cólon as maiores taxas de incidência neste país. Contudo, devido à alta letalidade deste tumor, é ainda o que mais mortes causa, sendo esta uma das áreas de intervenção prioritária, pelo impacto relativo na mortalidade precoce ¹⁰.

Na avaliação do cancro do pulmão, há que salientar a maior incidência, e correspondente mortalidade, na Região dos Açores. Nesta Região observa-se o dobro da mortalidade do observado no resto do país, dados que correlacionam com a menor carga fiscal sobre o tabaco ¹⁰.

Segundo os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) referentes à mortalidade por cancro do pulmão, Portugal tem o valor mais baixo da Europa, beneficiando de um histórico de menor consumo de tabaco a que corresponde uma menor taxa de cancro do pulmão e de mortalidade associada ¹⁰, como é possível constatar na **Figura 2**.

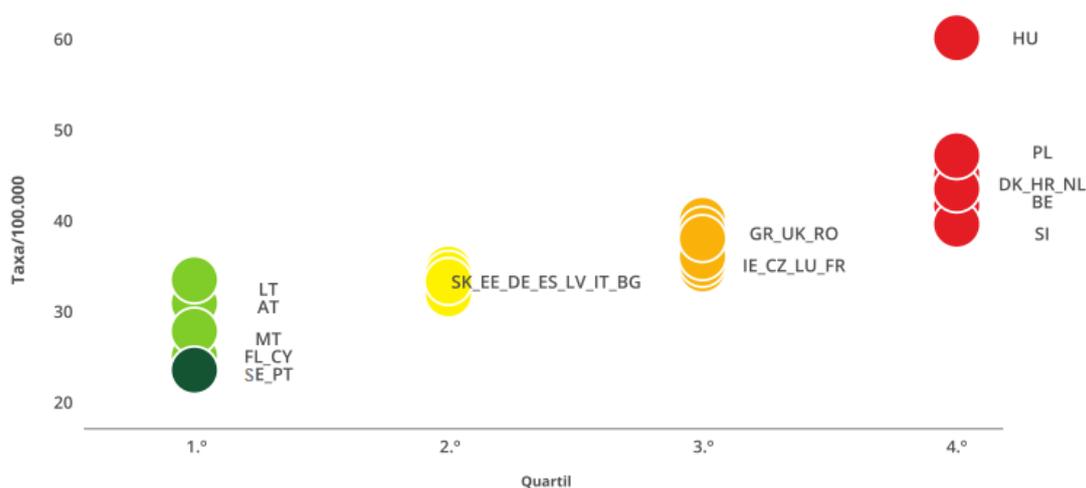


Figura 2 - Taxa de mortalidade padronizada para os Estados-membros da União Europeia, para ambos os sexos, 2013. “Chipre”, “CY”; Finlândia”, “FI”, “Suécia”, “SE”, “Malta”, “MT”, “Espanha”, “ES”, “Grécia”, “GR”, “Luxemburgo”, “LU”, “Áustria”, “AT”, “Bulgária”, “BG”, “Itália”, “IT”, “Alemanha”, “DE”, “França”, “FR”, “Bélgica”, “BE”, “Reino Unido”, “UK”, “Irlanda”, “IE”, “Holanda”, “NL”, “República Checa”, “CZ”, “Lituânia”, “LT”, “Roménia”, “RO”, “Dinamarca”, “DK”, “Estónia”, “EE”, “Polónia”, “PL”, “Letónia”, “LV”, “Eslovénia”, “SI”, “Eslováquia”, “SK”, “Croácia”, “HR”, “Hungria”, “HU”, “Portugal”, “PT” (adaptado de ¹⁰).

3 PATOLOGIA DO CANCRO DO PULMÃO

Classicamente, e de acordo com a sua histologia, os tumores que têm o seu início no pulmão dividem-se comumente em dois principais subtipos: Carcinoma Pulmonar de Pequenas Células (CPPC) e Carcinoma Pulmonar de Não Pequenas Células (CPNPC)¹¹, sendo a histologia um dos principais determinantes da abordagem ao diagnóstico e ao tratamento ¹².

O CPNPC apresenta-se como o tipo histológico mais frequente, representando cerca de 85% de todos os casos de cancro do pulmão. Deste fazem ainda parte três subtipos principais: adenocarcinoma (incluindo broncoalveolar), carcinoma de células escamosas (epidermóides), e carcinoma de células grandes (indiferenciadas), por ordem decrescente de prevalência. Estes são ainda subclassificados e a sua denominação varia consoante o tipo de células em que o cancro se desenvolve ¹³.

As prevalências estimadas para cada tipo encontram-se resumidas no quadro que a seguir se apresenta:

Tipo histológico		Prevalência estimada (%)	Principais Subtipos
Carcinoma Pulmonar de Não Pequenas Células	Adenocarcinoma	40	Lepídico, Acinar, Papilar, Micropapilar, Fetal, Coloide, Mucinoso, Não-mucinoso
	Carcinoma de Células Escamosas	25	Carcinoma de células escamosas queratinizado, Carcinoma de células escamosas não queratinizadas, Carcinoma de células escamosas basaloide
	Carcinoma de Células Grandes	10	Carcinoma neuroendócrino de células grandes
Carcinoma Pulmonar de Pequenas Células		20	Carcinoma Puro de Pequenas Células, Carcinoma de Pequenas Células Misto
Outros tipos incomuns		5	Carcinoide

Quadro 1 - Principais tipos histológicos e respectivas prevalências estimadas e exemplos de subtipos mais frequentes (adaptado de ^{13,14}).

Tipicamente, carcinomas de pequenas células são amplamente disseminados enquanto que CPNPCs podem ser localizados. Além disso, geralmente carcinomas de pequenas células e de células epidermoides apresentam-se como massas centrais, enquanto que adenocarcinomas e carcinomas de células grandes geralmente apresentam-se como nódulos ou massas periféricas ¹².

Assim, embora para alguns casos seja possível diagnosticar cada um destes tipos com base na apresentação clínica e na aparência radiográfica, uma amostra de tecido adequada é imperativa para otimizar o diagnóstico e direcionar a terapêutica. Muitas vezes este tipo de cancro é pouco diferenciado e apenas distinguível por técnicas imunohistoquímicas e testes moleculares capazes de uma caracterização fenotípica e genotípica completa, o que se revela problemático se apenas estiver disponível como amostra uma pequena quantidade de tecido, como é o caso de cancros pulmonares pequenos ou periféricos ¹³.

3.1 Adenocarcinomas

Para além de ser o subtipo mais frequentemente diagnosticado de cancro do pulmão, este é também o subtipo histológico mais comumente diagnosticado em não-fumadores. Geralmente, os adenocarcinomas primários do pulmão são encontrados na periferia do pulmão (cerca de 75%), em contraste com os carcinomas de células escamosas. Estes têm normalmente uma resposta insatisfatória à terapêutica, implicando assim um mau prognóstico ¹¹.

Estes apresentam-se histologicamente como uma massa periférica e heterogénea (**Figura 3**), com metastização precoce, e ocorrem mais frequentemente em indivíduos com doença pulmonar não maligna subjacente. Patologicamente, os adenocarcinomas formam geralmente estruturas glandulares e produzem muco ^{11,15}.

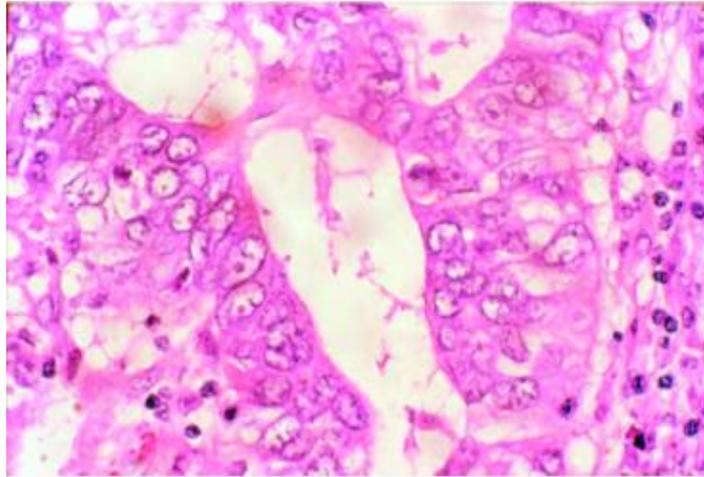


Figura 3 - Adenocarcinoma pulmonar (adaptado de ¹¹)

As mutações no gene do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR – do inglês *Epidermal Growth Factor Receptor*) são mais associadas ao adenocarcinoma pulmonar não-mucinoso, enquanto que o subtipo mucinoso está relacionado com mutações no proto-oncogene KRAS (do inglês *Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog*). Tipicamente, estas células tumorais apresentam expressão para a citoqueratina 7 (CK7 – do inglês *Cytokeratin 7*), o fator de transcrição da tiroide 1 (TTF- 1 – do inglês *Thyroid Transcription Factor 1*), o antígeno carcinoembrionário (CEA – do inglês *Carcinoembryonic Antigen*), para a mucina e para a apoproteína surfactante; por sua vez, estas células revelam-se negativas para a citoqueratina 20 (CK20 – do inglês *Cytokeratin 20*) ¹¹.

3.1.1 Carcinomas de células broncoalveolares

Os carcinomas de células broncoalveolares representam um importante subconjunto de adenocarcinomas já que são a forma mais comum de cancro do pulmão encontrado em não fumadores e doentes jovens. Estes manifestam-se como infiltrações pulmonares ou como um nódulo isolado e cujo quadro de apresentação apresenta muitas vezes broncorreia. As células destes carcinomas podem desenvolver-se num padrão lepidico (escamoso) e distribuir-se ao longo das paredes alveolares ¹¹.

3.2 Carcinomas de células escamosas

Este tipo de carcinoma apresenta-se frequentemente como uma massa endobrônquica de localização central, sendo o seu quadro de apresentação caracterizado por hemoptises, pneumonia pós-obstrutiva ou colapso lobar. Ao contrário dos adenocarcinomas, o carcinoma de células escamosas metastiza geralmente num estado mais avançado da doença ¹⁵.

Os carcinomas de células escamosas surgem da camada epitelial da parede brônquica; as células epiteliais colunares normais sofrem metaplasia seguida de displasia, formando-se assim um carcinoma localizado (carcinoma *in situ*). Caso este se estenda, pode atingir áreas para além da mucosa brônquica, adquirindo um fenótipo invasivo maligno completo (carcinoma) ¹¹.

Como a maioria dos carcinomas de células escamosas surge nas vias aéreas centrais, o lúmen destas vias pode ficar obstruído, levando assim ao colapso do pulmão (atelectasias) ou a pneumonia pós-obstrutiva como referido anteriormente ¹¹.

Embora a necrose e a formação de cavidades possam ocorrer em qualquer tumor pulmonar, esta característica é mais comum nos carcinomas de células escamosas. Devido à sua taxa de crescimento lenta, estes tumores têm menor propensão para formar metástases comparativamente aos outros tipos de cancro do pulmão. Patologicamente, os carcinomas de células escamosas podem ser distinguidos de outros CPNPCs pela presença de queratinização, formação de grânulos e pontes intercelulares ¹¹.

Na figura abaixo encontra-se uma representação histológica do tipo de tumor descrito:

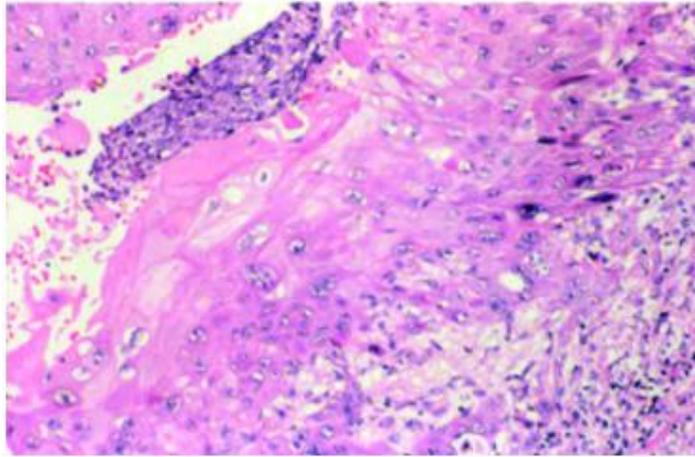


Figura 4 - Carcinoma de células escamosas do pulmão (adaptado de ¹¹).

3.3 Carcinomas de células grandes

O carcinoma de grandes células é fracamente diferenciado (**Figura 5**) e não carece de características glandulares e escamosas típicas de outros CPNPCs nem de características citológicas típicas dos CPPCs, sendo por isso considerado um diagnóstico de exclusão. Este tipo histológico apresenta-se como uma massa periférica de dimensões consideráveis, associada a metastização precoce ^{11,15}.

Os carcinomas de células grandes apresentam-se frequentemente como uma lesão periférica e podem estar associados a pneumonite e adenopatia hilar ¹¹.

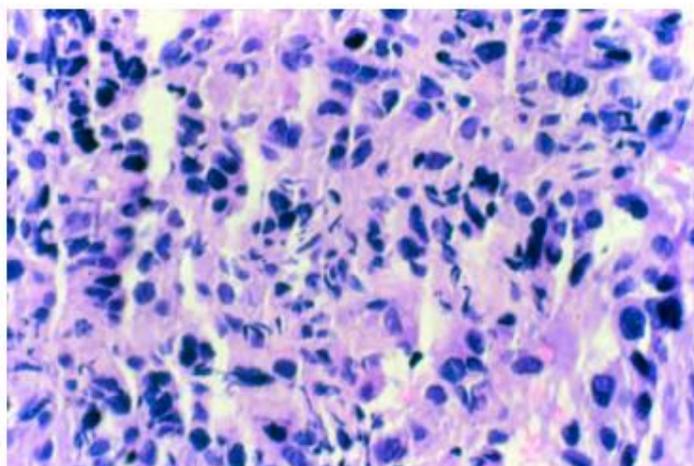


Figura 5 - Carcinoma indiferenciado de células grandes do pulmão (adaptado de ¹¹).

3.4 Carcinoma pulmonar de pequenas células

O carcinoma de pequenas células está fortemente associado ao tabagismo ¹¹. As células tumorais deste tipo são de origem neuroendócrina pulmonar e o CPPC apresenta-se geralmente como uma lesão central com invasão hilar e mediastínica e raramente têm origem nos brônquios principais. A este está normalmente associada adenopatia maligna, síndromes paraneoplásicas e metastização extratorácica precoce, principalmente para os linfonodos torácicos, ossos, fígado, glândulas supra-renais e cérebro. A maioria dos doentes já está afetada com doença metastática no momento do diagnóstico ^{11,15}.

Deste modo, apesar da resposta satisfatória à quimioterapia, o CPPC é na maioria das vezes diagnosticado numa fase avançada da doença, implicando um pior prognóstico, e é por isso considerado clinicamente mais agressivo que o CPNPC ¹⁵. Sem tratamento, o tempo médio de sobrevivência dos doentes é inferior a cinco meses. A sobrevivência global aos cinco anos é de 5% e não melhorou nas últimas décadas ¹¹.

Na figura abaixo encontra-se uma representação histológica do tipo de tumor descrito:

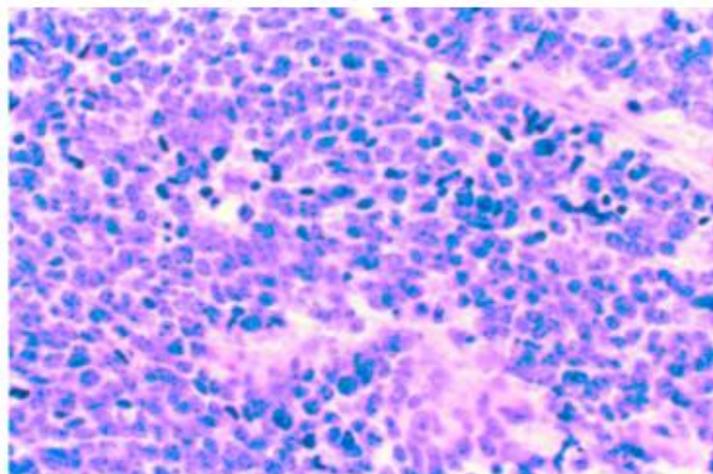


Figura 6 - Carcinoma pulmonar de pequenas células (adaptado de ¹¹).

4 FATORES QUE INFLUENCIAM O RISCO DE DESENVOLVIMENTO DO CANCRO DO PULMÃO

Embora o fator de risco mais bem estabelecido para o cancro do pulmão seja o tabaco, vários outros fatores de risco não relacionados com o tabagismo têm sido descritos, e, dada a etiologia multifatorial desta neoplasia, as possíveis interações sinérgicas entre os vários fatores de risco podem ter consequências substanciais para o aumento desse risco. Exemplos bem conhecidos incluem o efeito sinérgico do tabagismo sobre o risco de cancro do pulmão associado à exposição a asbestos e ao Radão (Rn) ^{16,17}.

Apesar das causas do cancro do pulmão terem uma forte componente ambiental, há um crescente banco de dados que supõe que fatores genéticos podem desempenhar um papel na suscetibilidade individual aos carcinogénios respiratórios e no desenvolvimento de cancro do pulmão. Apenas 15% dos fumadores desenvolvem cancro do pulmão o que reforça a hipótese que a variação nos perfis genéticos contribui para essa suscetibilidade diferencial ^{8,16}.

A presença de história familiar positiva de neoplasia pulmonar demonstrou estar relacionada com um risco aumentado de cancro do pulmão, tendo em conta a suscetibilidade genética. Esta observação foi confirmada por vários estudos epidemiológicos que demonstraram consistentemente um risco aproximadamente 2,5 vezes maior de cancro do pulmão atribuível a história familiar de cancro do pulmão ¹⁶.

Assim, o risco desta neoplasia pode ser conceptualizado como o reflexo das consequências conjuntas e da inter-relação entre a exposição aos agentes etiológicos ou protetores e a suscetibilidade genética individual a esses agentes, elucidados no presente capítulo ¹⁷.

4.1 Tabaco

4.1.1 Tabagismo activo

Aproximadamente 90% dos casos de cancro do pulmão estão relacionados com o tabagismo, embora menos de 20% dos fumadores desenvolvam cancro do pulmão ^{18,19}. Esta variabilidade na suscetibilidade ao cancro é provavelmente afetada por outros fatores ambientais ou pela predisposição genética ²⁰.

Sendo este considerado o principal e mais bem estabelecido fator de risco para o desenvolvimento deste cancro, existe um grande banco de dados resultantes de pesquisa epidemiológica que apoiam esta associação. Contudo, estima-se, que o risco relativo de desenvolvimento de cancro do pulmão para um fumador de longa data seja entre 10 a 30 vezes superior quando comparado a um não-fumador cujo risco é de 1% ou menos ^{16,21}. Este risco é, então, proporcional à quantidade de cigarros consumidos por dia, sendo que fatores, como a idade de início do tabagismo, o grau de inalação, o teor de alcatrão e nicotina dos cigarros e o uso de filtros nos cigarros, são igualmente importantes para a determinação do risco ²⁰.

O fumo do tabaco contém mais de 60 agentes carcinogénicos estabelecidos e, entre os seus constituintes, estão os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs – do inglês *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*), e as N-nitrosaminas, sendo que ambos requerem ativação metabólica para se tornarem cancerígenos ^{19,20}.

Foram descritos oito N-nitrosaminas específicas do tabaco, resultantes da nitroação de nicotina que ocorre durante o ato de fumar, incluindo 4- (metilnitrosamino)-1(3-piridil)-1-butanona (NNK), que, de todos, parece ser o principal agente indutor de adenocarcinomas em estudos experimentais em animais ²⁰.

A NNK, tal como outros carcinogénicos do tabaco pode ligar-se covalentemente ao ácido desoxirribonucleico (ADN) formando adutos, ou mediar uma série de ativação da via de sinalização que inclui a modulação de oncogenes críticos, nomeadamente a ativação do oncogene KRAS, que foi detetado em 24% dos adenocarcinomas pulmonares humanos, ou de genes supressores de tumores que, em última instância, podem resultar em proliferação celular não controlada e tumorigénese. Estes modos de atuação ocorrem

por processos idênticos ao que acontece com os PAHs, que serão elucidados mais adiante²⁰.

Apesar de haver mecanismos normais de reparação do ADN, que permitem restaurar o ADN normal, através da remoção desses adutos, ou até mesmo da apoptose das células danificadas, falhas nesses mecanismos podem levar a mutações permanentes²⁰.

Por sua vez, no caso dos PAHs que, segundo a Agência Americana para Substâncias Tóxicas e Registo de Doenças, são definidos como um grupo de produtos químicos que contêm dois ou mais anéis de benzeno condensados, a sua carcinogenicidade encontra-se associada à complexidade da molécula.^{19,22}

A carcinogenicidade de misturas que contêm PAHs é conhecida desde 1775, ano em que o cirurgião britânico Sir Percival Pott estabeleceu uma relação entre a incidência de cancro do testículo em trabalhadores expostos à fuligem de chaminés. Na década de 1920, Kennaway revelou que um hidrocarboneto presente no carvão seria o responsável pela atividade cancerígena observada. Era Cook, que finalmente identificaria o benzo[a]pireno (BaP), como o principal carcinogénico químico no alcatrão, em 1930²³.

Os PAHs são, de facto, um dos contaminantes ambientais predominantes e formam-se principalmente durante a combustão incompleta de material orgânico. A contribuição das fontes naturais na emissão destes compostos é, geralmente, limitada, restringindo-se praticamente a incêndios florestais com origem em causas naturais e emissões vulcânicas, sendo a atividade humana a principal responsável pela emissão destes compostos, devido aos processos industriais, aquecimento doméstico, emissões automóveis, refinarias, incineração e, mais importante ainda, os PAHs são encontrados em quantidades substanciais no fumo do tabaco²⁴.

Como poluentes, os PAHs são compostos de grande preocupação pois, de acordo com a mesma agência americana referida, pelo menos onze deles foram reconhecidos como mutagénicos, carcinogénicos e teratogénicos para os seres humanos²⁴.

Os PAHs são classificados pela Agência Internacional para a Investigação do Cancro (IARC – do inglês *International Agency for Research on Cancer*) e divididos entre diferentes grupos com base no seu potencial carcinogénico. Deste modo, um dos PAHs mais estudados é o BaP, que está inserido no Grupo 1 da classificação da IARC,

como carcinogénico para os seres humanos ¹⁹. Este foi o primeiro agente carcinogénico a ser detetado no fumo do tabaco, cuja estrutura molecular se encontra representada na **Figura 7** ^{19,24}.

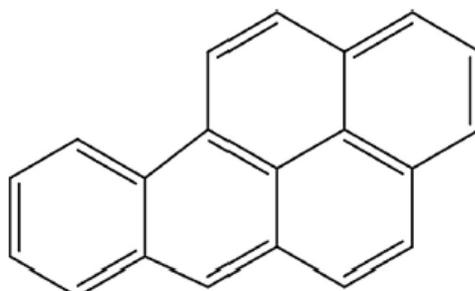


Figura 7 - Estrutura molecular do benzo[a]pireno (adaptado de ²⁴).

Este é, de facto, de todos os agentes cancerígenos presentes no fumo do tabaco, um dos mais bem estudados, mais potentes e notavelmente específico do cancro pulmonar, nomeadamente carcinomas pulmonares de células escamosas, estando essa especificidade bem documentada em modelos animais, incluindo o rato, o ratinho e o hamster ^{22,24}.

Foram, principalmente, desenvolvidos modelos que mimetizassem uma situação de exposição humana em que houvesse uma exposição contínua ao BaP. Ao ser administrado de uma forma crónica durante várias semanas pôde ser observado o desenvolvimento de adenocarcinomas 18 semanas após a administração de BaP ²⁴.

Um dos aspetos mais interessantes que estes estudos revelaram, foi o facto de esses tumores possuírem características morfológicas e moleculares semelhantes àquelas observadas em seres humanos quando a dose de BaP administrada é comparável àquela encontrada num fumador exposto a este composto durante a sua vida ²⁴.

Além disso, os tumores pulmonares estudados nestes modelos animais, principalmente em ratinhos, partilhavam muitas características genéticas, bioquímicas e histopatológicas semelhantes ao cancro pulmonar humano, nomeadamente, as alterações genéticas nos genes supressores de tumores p53 e p16 e oncogene KRAS que são frequentemente observados em ambos ²⁴.

Assim, o BaP serviu frequentemente como referência para a carcinogenicidade de outros PAHs e a maioria dos estudos tem sido conduzida utilizando-o, devido aos seus efeitos cancerígenos já conhecidos ¹⁹.

4.1.1.1 BaP como indutor de cancro do pulmão

A indução da carcinogénese é um processo complexo que inclui múltiplas etapas moleculares e celulares que no final resultam na transformação de uma célula normal numa célula neoplásica maligna. No entanto, três etapas gerais podem ser identificadas neste processo: a iniciação, promoção e progressão, sendo que agentes carcinogénicos químicos, como o BaP, têm impacto nos três estágios, tal como as extensas investigações *in vitro* e *in vivo* demonstram ^{19,24}.

Este pode exercer o seu efeito atuando como um carcinogénico genotóxico, formando adutos de ADN, ou seja, é capaz, principalmente após a ativação metabólica, de alterar diretamente o material genético das células-alvo; como também tem comportamentos não genotóxicos, ativando o recetor de hidrocarbonetos aromáticos AhR (do inglês - *Aryl Hydrocarbon Receptor*), ou seja, consegue induzir o cancro sem alterar o ADN, mas sim alterando mecanismos envolvidos na expressão genética e na comunicação celular ²⁴.

Estes resultados documentados fornecem uma ligação etiológica direta entre um carcinógeno químico definido e o desenvolvimento de carcinomas humanos, o que deixa o controlo do tabagismo como a principal intervenção comprovada para a prevenção do cancro do pulmão primário ^{18,19}.

4.1.1.2 Impacto do BaP na fase de iniciação tumoral

Os PAHs, como compostos altamente lipofílicos com baixa reatividade química, necessitam de ativação metabólica, sendo os seus metabolitos os que contribuem para a etiologia do cancro. A biotransformação destes compostos envolve três vias metabólicas principais: a via CYP1A1/1B1 e epóxido hidrolase (via CYP / EH); a via CYP peroxidase; e a via das aldo-ceto redutases (via AKR – do inglês *Aldo-keto reductase*)^{19,24}.

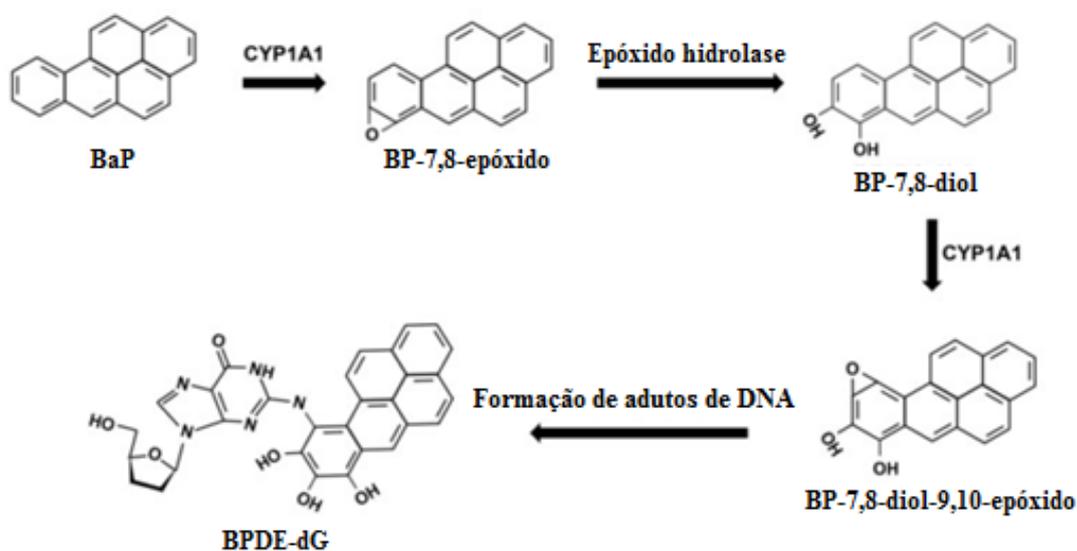


Figura 8 - Principais vias de ativação metabólica do BaP (adaptado de¹⁹).

In vivo, o BaP, é principalmente transformado em BP-7,8-epóxido pelo CYP1A1 através da via CYP/EH. O epóxido de BP-7,8 é ainda oxidado pela epóxido hidrolase (EH) formando o composto BP-7,8-diol, seguido pelo passo final de hidroxilação catalisada pelo CYP1A1 para formar BP-7,8-diol-9,10-epóxido (BPDE), o carcinógeno final (**Figura 8**). O BPDE reage com o ADN formando adutos que foram identificados em tecidos pulmonares de fumadores e podem causar mutações, através de transversões G→T, que são observadas no gene supressor tumoral p53 e proto-oncogene KRAS^{19,24}.

Os citocromos P450 (CYPs – do inglês *Cytochromes P450*) também apresentam propriedades semelhantes às peroxidases, catalisando a oxidação de um eletrão do BaP

na posição C6 e a produção de radicais livres derivados de PAHs que, embora de curta duração, podem reagir com o ADN e causando mutações ^{19,25}.

Além das vias acima mencionadas, o BaP pode também ser metabolizado em o-quinonas por dihidrodiol desidrogenases ou aldo-ceto redutases, via AKR, sofrendo de seguida ciclos redox que resultam na formação de uma quantidade substancial de espécies reativas de oxigénio (ROS – do inglês *Reactive Oxygen Species*), levando à carcinogénese através de dano oxidativo do ADN ^{19,24}.

Em 2004, Lan et al. relataram que o genótipo AKR1C3-Gln/Gln estava associado a um risco aumentado de cancro pulmonar de 1,84 vezes numa população chinesa com alta exposição ao fumo proveniente da combustão de carvão, indicando um papel significativo da via AKR na ativação de PAHs na carcinogénese pulmonar ²⁶.

4.1.1.3 Impacto do BaP na promoção e progressão tumoral

Os agentes cancerígenos potentes, incluindo o BaP, são capazes de promover o crescimento das células tumorais, contribuindo assim para a progressão e promoção do processo de carcinogénese através da sua ligação ao AhR ²⁴.

O AhR, também conhecido por recetor de dioxina, é expresso em quase todos os tecidos, principalmente no tecido hepático, adiposo e nas células epiteliais brônquicas ²⁷. Devido ao seu elevado nível de expressão nas células epiteliais brônquicas humanas, o AhR tem muitas consequências fisiológicas no pulmão, incluindo efeitos sobre a proliferação e diferenciação celular, a interação célula-célula, a expressão de citoquinas, a produção de mucina e o metabolismo de xenobióticos ²⁸.

Após a ligação do BaP ao AhR, enquanto este ainda se encontra no citoplasma, este transloca-se do citosol para o núcleo e heterodimeriza com o translocador nuclear do AhR (ARNT). O complexo AhR/ARNT vai-se, então, ligando especificamente aos Elementos de Reposta à Dioxina (DRE – do inglês *Dioxin-responsive Element*), na região promotora de vários genes, como CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, aumentando a transcrição destes genes-alvo. Contribuem assim para um aumento significativo da

expressão de enzimas que medeiam a ativação metabólica de pré-carcinogénios em carcinogénios finais ^{28,29}.

4.1.1.4 Destoxificação de PAHs

Os dados da literatura revelaram que menos de 20% dos fumadores são suscetíveis ao desenvolvimento de cancro do pulmão e isso depende, em parte, do equilíbrio entre a ativação metabólica e a desintoxicação de agentes carcinogénicos ²⁴.

Estudos recentes sugerem um papel importante para os CYPs, no metabolismo do BaP, tendo um impacto não só na sua ativação, como também na destoxificação de PAHs ¹⁹. Os resultados mostram que o CYP1A1 e o 1B1 também geram produtos de desintoxicação, tais como o 3-hidroxi-BaP ²⁹.

Também as enzimas de fase II podem ser responsáveis por este processo de eliminação, nomeadamente a UDP-Glucuronosiltransferase (UGT), e a glutathione S-transferase M1 (GSTM1), sendo a importância desta enzima para a destoxificação salientada num estudo em que mulheres com prevalência do genótipo nulo da enzima GSTM1 apresentaram um risco significativamente maior de desenvolvimento de cancro do pulmão ^{19,30}.

4.1.2 Cessação Tabágica

Como já foi referido, o risco de desenvolvimento de cancro pulmonar aumenta com o número de cigarros fumados diariamente e com o número total de anos de tabagismo, sendo que, enquanto esse risco em não-fumadores é de 1% ou menos, nos fumadores, o risco acumulado pode chegar a 30% para fumadores compulsivos ²¹.

Estes níveis perturbantes de risco devem ser enfatizados no aconselhamento dos doentes quanto às consequências do tabagismo, assim como devem ser fornecidas informações sobre a extensão da redução do risco com a abstinência, já que inevitavelmente, os fumadores perguntarão sobre o grau de benefício antecipado, muitas vezes em relação ao risco de não fumadores ²¹.

A diminuição desse risco após a cessação do tabagismo está bem documentada, sendo que as pessoas que param de fumar antes da meia-idade, ou seja entre os 45 e 65, evitam mais de 90% do risco atribuível ao tabaco, e mesmo quando já estão nesta idade ainda evitam a maior parte do seu risco de virem a desenvolver carcinoma pulmonar.^{21,31}

Como foi referido anteriormente, os agentes cancerígenos presentes no fumo do tabaco demonstram ter atividade nos vários estádios da carcinogénese e, de facto, a observação do declínio do risco deste carcinoma após a cessação tabágica é consistente com este modelo de carcinogénese proposto, composto por três fases, observando-se que a cessação não só reduz a sua incidência como também limita a progressão das células para estados mais avançados do processo²¹.

Contudo, certas mutações de ADN que resultam, por exemplo, na ativação do oncogene KRAS estão ainda presente no adenocarcinoma do pulmão de ex-fumadores, sugerindo que tais mutações não serão necessariamente revertidas com a cessação do tabágica, o que vai de encontro aos resultados dos estudos que indicam que não é garantido que o risco de desenvolvimento de carcinoma pulmonar seja tão baixo para ex-fumadores como para pessoas que nunca tenham fumado^{20,21}.

4.1.3. Tabagismo Passivo

Dada a forte associação entre o tabagismo e o cancro pulmonar, a questão da exposição involuntária ao fumo do tabaco tem sido amplamente estudada¹⁶.

Não-fumadores que inalam fumo de tabaco de outras pessoas ficam expostos aos mesmos agentes carcinogénicos que fumadores ativos, embora em doses muito mais baixas. Portanto, uma vez que o tabagismo é uma causa estabelecida de cancro pulmonar, é deduzido que também haja algum risco de desenvolvimento deste tipo de cancro para não-fumadores que ao longo da sua vida sejam expostos ao tabagismo involuntário. É também provável que haja algum risco adicional decorrente do tabagismo involuntário para indivíduos ex-fumadores, em comparação com ex-fumadores não expostos a este tipo de tabagismo³².

A maioria dos estudos que avaliam o tabagismo involuntário e o risco de cancro pulmonar em não-fumadores compararam o risco para cônjuges de fumadores com o risco para cônjuges de não-fumadores. Para avaliar a informação coletivamente, em particular dos estudos com um número limitado de casos, a IARC realizou uma meta-análise atualizada em que as estimativas de risco relativo de 19 estudos individuais foram agrupadas, demonstrando um risco aumentado de aproximadamente 20% em mulheres cujos cônjuges eram fumadores comparativamente a mulheres não expostas a tabagismo involuntário ^{32,33}. A partir da mesma meta-análise, conclui-se, com base em dados de 46 estudos, que o mesmo risco é aproximadamente 25% maior do que o esperado para as mulheres não expostas e 35% maiores do que o esperado para homens não expostos ^{16,32}.

Dos 20 estudos analisados que incluíram nos seus resultados informações sobre o número de cigarros fumados pelo cônjuge, nenhum deles apresentou risco relativo inferior a 1,0; e sete desses estudos relataram riscos relativos superiores a 2,0 ^{32,33}.

Um padrão semelhante de riscos relativos foi observado quando o número de anos de casamento foi utilizado como variável de exposição. De facto, dos 18 estudos que analisaram o número de anos de casamento com um fumador, 15 mostraram um risco aumentado no grupo de exposição mais elevada, ou seja com um maior número de anos de casamento e seis desses estudos relataram um risco relativo de pelo menos 2,0 ^{32,33}.

Em resumo, há evidências de uma relação dose-resposta, proporcionando assim suporte adicional para uma relação causal entre o desenvolvimento do cancro do pulmão e a exposição ao fumo ³³.

De acordo com uma análise retrospectiva de dados de 192 países, aproximadamente 21000 mortes de cancro do pulmão podem ser atribuídas a esta exposição involuntária ³⁴. Da mesma forma, um grande estudo prospetivo europeu, que contou com a participação de dez países, estimou que a proporção de cancro pulmonar, atribuíveis ao fumo ambiental do tabaco variava entre 16 e 24%, e que era no local de trabalho que mais se contribuía para essa exposição ³⁵.

A plausibilidade biológica da associação entre o risco de desenvolvimento do cancro pulmonar e o tabagismo involuntário é apoiada pela presença de compostos N-nitrosados cancerígenos, específicos dos produtos do tabaco, na urina de não-fumadores expostos ao tabagismo involuntário, em concentrações que variam entre 1 a 5% das

concentrações encontradas na urina de fumadores ativos, que são aproximadamente proporcionais ao aumento do risco encontrado em estudos epidemiológicos de tabagismo involuntário ³².

As evidências atuais que apoiam que a exposição involuntária ao fumo do tabaco confere um risco estatisticamente significativo no desenvolvimento de cancro do pulmão é apoiada por um estudo recente que revela que os metabolitos do tabaco podem ser encontrados em amostras de urina de crianças cujos pais são fumadores ¹⁶.

Como foi referido anteriormente, as pessoas expostas ao fumo de tabaco inalam o potente agente carcinogénico pulmonar NNK cujos produtos de metabolização são o composto 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol (NNAL) e os seus glucurónidos ³⁶.

Os compostos referidos estão representados no esquema abaixo:

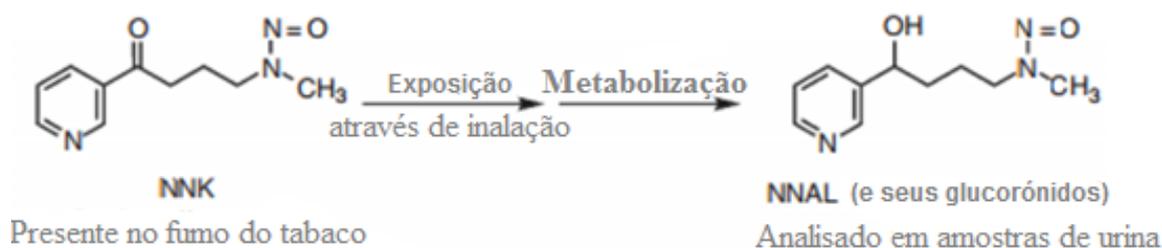


Figura 9 - Representação mecanística da biotransformação do composto NNK presente no fumo do tabaco (adaptado de ³⁶)

Este estudo foi o primeiro a examinar os níveis de NNAL total, ou seja, NNAL e os seus glucurónidos, na urina de crianças expostas ao fumo do tabaco e demonstrou que 90% das crianças expostas apresentavam NNAL total detetável na sua urina, havendo também uma correlação entre os cigarros fumados por dia pelos pais e os níveis totais de NNAL na urina. Resultados semelhantes foram observados para a nicotina total urinária e cotinina total, o principal produto resultante da biotransformação da nicotina ³⁶.

Estes resultados mostram claramente a exposição substancial e generalizada à nicotina, um composto aditivo, bem como ao NNK, através da medição de NNAL e NNAL-Gluc, que por serem derivados de uma nitrosamina específica para os produtos do

tabaco, constituem um excelente biomarcador para medir o risco dos fumadores passivos desenvolverem cancro ³⁶.

4.2 Exposições ambientais

Em comparação com o tabagismo, a proporção de cancro do pulmão associada a exposições ambientais ou ocupacionais é relativamente baixa. Contudo, para além de ser uma preocupação significativa para os não-fumadores que desenvolvem neoplasia pulmonar, as exposições ambientais podem atuar sinergicamente com o tabagismo ⁸.

Apesar de muitos agentes serem estudados como potenciais fatores de risco associados a este carcinoma, geralmente são difíceis de quantificar e, portanto, a evidência da associação não é clara. Devido à sua natureza ubíqua, a exposição à radiação ionizante, proveniente principalmente do Rn, cujo potencial é clarificado no **Capítulo 4.3.**, à poluição do ar, aos asbestos, e à combustão de diesel, têm particular interesse ⁸.

4.2.1 Poluição do ar

A associação entre a exposição à poluição ambiental e o risco de cancro do pulmão foi avaliada em vários estudos prospetivos, geralmente de coorte, que se relacionam com redes de monitorização de ar. O ar exterior pode conter uma série de agentes perigosos, muitos dos quais são gerados pela combustão de combustíveis fósseis ^{17,37,38}.

A matéria particulada (PM – do inglês *Particulate Matter*), no ar urbano, tem múltiplas fontes e foi estudada como um potencial fator de risco de cancro do pulmão. A evidência que liga a exposição a poluentes atmosféricos urbanos, nomeadamente PM_{2.5} PM₁₀, ou seja, partículas de diâmetro menor que 2.5 µm e partículas de diâmetro menor que 10 µm, respetivamente, ao cancro do pulmão geralmente é consistente, embora o significado estatístico formal nem sempre seja alcançado ^{17,37,38}.

Também têm sido analisados estudos epidemiológicos humanos sobre exposição crónica a estas partículas e cancro do pulmão, estudos ecológicos descritivos, como observações do binómio meio urbano/meio rural, estudos de migrantes e estudos de

correlação relacionados com cancro do pulmão e tendências de poluição do ar. Estes geralmente mostram uma associação entre cancro do pulmão e poluição atmosférica, porém muitos são limitados pela falta de dados de exposição humana e pelos fatores de confusão, como o fumo do tabaco ³⁹.

De facto, os estudos de casos-controlo também demonstraram, de forma consistente, um maior risco relativo de cancro do pulmão associado a habitantes de áreas com maiores exposições à poluição do ar. Estes estudos incluíam várias medidas de poluição do ar, como exposição a PM, a PAHs, nomeadamente o BaP e a áreas com altas concentrações de fuligem; contudo o valor quantitativo dos estudos foi limitado pela falta de estimativas quantitativas confiáveis das exposições à poluição do ar dos casos e dos controlos ³⁹.

Assim, são os estudos de coorte prospetivos de exposições crónicas a PM que proporcionam um maior poder na avaliação da associação entre exposição prolongada à poluição do ar e risco de cancro do pulmão. De facto, estudos de coorte realizados nos Estados Unidos da América e na Europa demonstraram riscos acrescidos de cancro do pulmão com maior exposição às PM e outras substâncias presentes no ar poluído, com índices de risco estatisticamente significativos, com o risco relativo variando de 1.08 a 5.2. A avaliação dos estudos recentes indicou, portanto, que uma parcela substancial da mortalidade total reflete os impactos cumulativos do PM acima e para além daqueles causados por exposição aguda ^{38,39}.

Nos estudos prospetivos, o cancro do pulmão para homens e mulheres foi significativamente associado à exposição elevada, principalmente, a PM₁₀. A estimativa do efeito de risco foi maior nos homens, que passaram mais tempo ao ar livre aumentando as suas exposições à poluição do ar em comparação com as mulheres. O ozono também mostrou uma associação mais forte com a mortalidade por cancro do pulmão para homens e o dióxido de enxofre foi fortemente associado à mortalidade por cancro do pulmão para ambos os sexos. Estudos de coorte mais recentes com dados adicionais de monitorização de PM_{2.5} demonstraram um aumento do risco relativo de mortalidade por cancro pulmonar de 13% associado a um aumento de 10 µg/m³ na média anual de PM_{2.5} ^{37,39}.

As PM compreendem um grupo diversificado de poluentes atmosféricos que podem ser depositados e retidos nos ramos profundos do sistema respiratório, cuja

composição química varia amplamente e pode incluir uma variedade de compostos orgânicos, como os PAHs, metais de transição, iões e minerais capazes de induzir efeitos biológicos tóxicos. São as emissões de combustão que representam mais de metade da poluição do ar provenientes destas partículas e a exposição prolongada à sua poluição atmosférica pode levar ao aumento do risco de cancro do pulmão através da produção direta de ROS ou por meio de reações enzimáticas em células alvo ou inflamatórias e de danos oxidativos ao ADN. Também o ozono e os óxidos de azoto, presentes na atmosfera como poluentes, podem eles próprios gerar espécies reativas³⁷⁻³⁹.

Os efeitos genotóxicos e mutagénicos da poluição do ar foram demonstrados em estudos de laboratório a partir da medição de marcadores biológicos de dose e efeito. De facto, numa revisão sistemática concluiu-se que a evidência cumulativa indica que a poluição do ar afeta alguns dos marcadores biológicos relacionados com a carcinogénese³⁷⁻³⁹.

4.2.2 Asbestos

O amianto ou asbestos é a designação comercial utilizada para a variedade fibrosa de seis minerais de silicato de ocorrência natural. Devido às suas propriedades de elasticidade, resistência mecânica, incombustibilidade, resistência a altas temperaturas, entre outras, os asbestos têm sido amplamente utilizados na indústria da construção. Contudo, é um carcinógeno humano bem estabelecido para a neoplasia pulmonar e a exposição ocupacional a asbestos está relacionada tanto ao mesotelioma como ao cancro do pulmão e, por isso, tem sido sujeita a restrições ou proibições sobre o uso de certas fibras de asbestos, nos Estados Unidos e na Europa a partir da década de 1980^{8,40}.

Os riscos associados à exposição a este carcinógeno decorre sobretudo da inalação das fibras libertadas para o ar e os efeitos induzidos por asbestos nos pulmões parecem ser dependentes da dose e relacionados ao tamanho e composição da fibra inalada, bem como do tempo de exposição e, como tal, os riscos relativos não são conhecidos precisamente^{8,40}.

Também parece haver uma relação sinérgica entre o tabagismo e a exposição a asbestos, destacando a necessidade de prevenção e cessação do tabagismo para os

trabalhadores nesta indústria. A quantificação da magnitude desses riscos é problemática, pois são claramente dependentes da dose e do tempo, mas em estudos epidemiológicos de trabalhadores com exposição significativa tanto a asbestos como ao fumo do tabaco, a exposição a asbestos isoladamente está associada a um aumento quase quintuplicado do risco de neoplasia pulmonar, em comparação com trabalhadores não expostos; o facto de ser fumador, como um fator isolado, está associado a um risco de cerca de 10 vezes superior; e, em trabalhadores sujeitos a ambas as exposições, foi estimado um risco de cerca de 50 vezes acima do risco para os não expostos ^{8,41}.

Neste âmbito, foi realizado um estudo que investigou a cessação do tabagismo entre os trabalhadores expostos a asbestos. Este concluiu que os trabalhadores que deixaram de fumar permaneceram com um risco aumentado de mortalidade por cancro do pulmão até 40 anos, mesmo após a cessação do tabagismo em comparação com os trabalhadores expostos que nunca haviam fumado. Houve também evidência de uma interação entre a exposição a asbestos e ao tabagismo. Para trabalhadores fumadores estima-se que 2% das mortes por neoplasia pulmonar são atribuíveis apenas a asbestos, 68% apenas ao tabagismo e 26% à interação entre a exposição e o tabagismo. Estes resultados enfatizam a importância da prevenção e cessação do tabagismo entre este grupo de alto risco ⁴².

Apesar destas evidências, os mecanismos precisos responsáveis pela ação de asbestos como cancerígeno pulmonar, isoladamente ou em combinação com o fumo do tabaco, continuam a ser objeto de pesquisa. Os estudos moleculares sugerem que esta exposição combinada entre os dois fatores de risco resulta num maior número de mutações específicas de agentes cancerígenos do tabaco do que as que ocorrem na ausência de exposição a asbestos. Contudo, é necessário melhorar a compreensão desta interação, visto que será mais difícil estudar as alterações à exposição a asbestos como fator isolado, já que o cancro do pulmão em indivíduos não fumadores expostos torna-se cada vez mais raro, devido às restrições a essas exposições em locais de trabalho e essa investigação exigiria um grande número de indivíduos ⁴².

4.2.3 Diesel

O escape de motores diesel consiste numa mistura complexa de componentes em forma de gás ou partículas e os níveis mais elevados de exposição ocupacional a este agente foram relatados entre os trabalhadores envolvidos em minas subterrâneas e construções de túneis, já que estes motores são utilizados, não só para transportes, como para equipamentos em vários setores industriais como a mineração e a construção ^{43,44}.

As partículas são principalmente constituídas por núcleos de carbono elementar; vestígios de compostos metálicos; e materiais orgânicos, incluindo hidrocarbonetos aromáticos, PAHs, aldeídos e óxidos de azoto. Contudo, esta composição alterou-se ao longo do tempo como resultado das melhorias na tecnologia dos motores e no tipo de combustíveis e os regulamentos para emissões de motores a diesel foram estabelecidos nos Estados Unidos na década de 1960, e posteriormente foram sendo introduzidos na Europa e por todo o mundo ⁴³.

As partículas do escape de diesel são, devido ao seu pequeno tamanho, facilmente inaladas, e podem penetrar profundamente nos pulmões, causando sintomas temporários relacionados à exposição, efeitos respiratórios crónicos e provavelmente cancro do pulmão, já que um grande número de estudos de coorte e de casos-controlo sugeriram uma associação entre esta exposição e o aumento do risco de desenvolvimento de cancro pulmonar ⁴³.

Mesmo assim, a evidência que apoia o aumento desse risco encontra-se menos estabelecida. Uma revisão recente de vários estudos e métodos de avaliação de exposições argumenta que a evidência ainda é insuficiente para fazer essa afirmação, embora as partículas encontradas em gases de escape de motores diesel contenham carcinógenos conhecidos. Além disso, milhões de pessoas que vivem em áreas urbanas estão expostas a vários níveis de diesel durante toda a sua vida, e pouco se sabe sobre o risco de cancro do pulmão associado a uma baixa exposição crónica ^{8,45}.

Contudo, a IARC atualizou recentemente a classificação deste agente, inserindo-o no Grupo 1 (cancerígeno para humanos) principalmente devido a novas evidências epidemiológicas. Os estudos epidemiológicos mais influentes que avaliam os riscos de cancro associados aos gases de escape de motores a diesel investigaram a exposição

ocupacional entre mineiros não metálicos, trabalhadores ferroviários e trabalhadores da indústria de camiões ⁴⁶. Uma análise conjunta a estudos de casos-controlo sugeriu um aumento de risco de 30% entre os expostos e uma tendência dose-resposta significativa. Ao distinguir-se trabalhadores com exposição de baixa intensidade daqueles com um maior nível de exposição, o último apresentou um excesso de risco logo após 10 anos de exposição, enquanto que aqueles com exposição de baixa intensidade apresentaram riscos elevados somente após 30 anos ou mais de exposição ^{8,43}.

4.2.4 Poluição interior

A poluição do ar interior tem implicações principalmente para a saúde das pessoas que passam quantidades substanciais de tempo em ambientes fechados. Esta pode ser proveniente do exterior ou originar-se diretamente no espaço interior, por exemplo devido ao fumo do tabaco, aos gases do solo e produtos de combustão de aquecimento e cozimento. Nos países desenvolvidos, o Rn é considerado um dos mais importantes poluentes do ar interior, tal como o fumo do tabaco, contudo, a principal preocupação nas nações em desenvolvimento é a contaminação do ar interno resultante do uso de combustíveis sólidos não processados, principalmente carvão betuminoso (um combustível fóssil) e biocombustíveis, para cozinhar e aquecer os espaços ^{8,17}.

De facto, cerca de metade da população mundial, principalmente em países de recursos médios e baixos, utiliza estes combustíveis em espaços mal ventilados. A exposição ocupacional aos produtos de combustão do carvão por inalação é conhecida por aumentar o risco de desenvolvimento de neoplasia pulmonar, já que contêm partículas inaláveis e muitos compostos orgânicos, incluindo carcinógenos, como o BaP, cujo mecanismo de indução do cancro do pulmão foi explicado anteriormente. Muitos estudos, principalmente na China, que mostram efeitos semelhantes do uso doméstico do carvão serviram como base para que a IARC concluísse que existem evidências suficientes em humanos quanto à carcinogenicidade das emissões internas da combustão doméstica de carvão. Esta avaliação é apoiada pelos resultados de estudos em animais experimentais e por evidências mecanísticas em humanos e animais ⁴⁷.

Na Ásia Oriental, em particular, onde o tabagismo entre as mulheres continua a ser incomum, a poluição do ar interior da cozinha e do aquecimento desempenha um papel significativo ⁸. Vários estudos relatam que o uso de carvão para cozinhar, ao longo da vida, em comparação com o uso de combustíveis, como o gás e a eletricidade, aumentou o risco de desenvolvimento de cancro do pulmão tanto em homens como em mulheres não fumadores na Índia e um estudo retrospectivo de coorte observou uma correlação bastante significativa entre uma ventilação melhorada e a diminuição das taxas de cancro do pulmão na mesma população ^{48,49}.

Por último, também são alvo de estudos, o uso doméstico de biocombustíveis e o aquecimento de óleo a altas temperaturas, na cozinha, contudo a associação ao aumento do risco de desenvolvimento de cancro do pulmão para estes fatores é mais fraca, em comparação com os combustíveis fósseis. Estes, apesar de sugerirem uma associação positiva, apresentam muitas limitações relacionadas com a duração e a intensidade das exposições que tornam os resultados difíceis de interpretar ^{8,47}.

Assim, a evidência epidemiológica de um risco aumentado de neoplasia pulmonar para exposição a emissões de combustão de biocombustíveis, principalmente madeira, e exposições a aquecimento de óleo a alta temperatura foi classificada pela IARC como limitada ^{17,47}.

4.3 Radiação ionizante

Como tem sido referido ao longo da dissertação, embora o fator de risco mais bem estabelecido para o cancro do pulmão seja o tabagismo, o aumento da incidência de cancro do pulmão em não fumadores tem vindo a aumentar e, como tal, cada vez mais revisões se concentram noutros fatores de risco. Entre eles, o Rn, um gás nobre natural, foi recentemente reconhecido como a segunda causa mais comum de cancro do pulmão, sendo a fonte natural mais importante de exposição humana à radiação ionizante ⁵⁰.

Outros estudos sobre a radiação ionizante, nomeadamente sobre os sobreviventes da bomba atómica de Hiroshima e Nagasaki, sugerem um aumento da incidência de cancro do pulmão entre os expostos, sendo o segundo cancro mais comum na coorte, responsável por 10% de todos os casos de cancros sólidos (que também aumentaram a

sua incidência) e quase 90% dos casos de cancro respiratório, revelando um padrão linear de resposta à dose estatisticamente significativo ⁵¹.

Este foi um caso único de exposição a uma dose elevada de radiação ionizante, que difere das doses mais pequenas que a população em geral pode receber durante exames de raios-X ou Tomografias Axiais Computorizadas (TACs). Estes procedimentos de imagiologia são uma importante fonte de exposição a radiações ionizantes e podem resultar em altas doses efetivas cumulativas de radiação. Dado o alto índice de mortalidade desta neoplasia, os riscos associados a exames repetidos, apesar de serem relativamente baixos, devem ter tidos em conta, de modo a que o aumento do risco com o rastreio não supere os benefícios ^{52,53}.

4.3.1 Radão

As primeiras pesquisas que se referem à carcinogenicidade do Rn e dos seus produtos de decomposição, foram realizadas entre os mineiros de urânio. Ao realizar as primeiras autópsias em mineiros da Europa Central, a profissão mais antiga associada ao cancro do pulmão, documentou-se que a doença descrita como uma doença pulmonar associada à mortalidade precoce nestes trabalhadores era, de facto, neoplásica. Embora se tenha especulado inicialmente que os fatores etiológicos que causam o aumento do risco de cancro fossem pneumoconioses relacionadas com o pó, arsénio ou cobalto, os carcinógenos reais foram identificados como materiais radioativos, principalmente o Rn e os seus produtos de decaimento ⁸.

O Rn ocorre naturalmente como um gás radioativo, produto de decaimento do rádio, encontrado nas rochas e no solo, que por sua vez é um produto de decaimento do urânio. Decai com uma meia-vida de 3,82 dias para uma série de radioisótopos, com meias-vidas medidas em segundos ou minutos, incluindo o polónio-218 e 214, que emitem partículas alfa, uma radiação altamente prejudicial aos tecidos, incluindo o epitélio respiratório. A inalação destes produtos de decaimento e a subsequente emissão de partículas alfa no pulmão podem causar danos às células e ao material genético ^{20,54}.

Nos últimos anos, o possível risco de cancro do pulmão na população em geral associada à exposição ao Rn tem sido uma preocupação. O Conselho Nacional de

Proteção e Medição de Radiação identificou-o e aos seus produtos de decaimento como o maior componente de radiação ambiental para os habitantes dos Estados Unidos. Esses achados em conjunto com a extrapolação de dados coletados em grupos com alta exposição ocupacional ao Rn aumentaram a preocupação com os riscos de cancro do pulmão relacionados com Rn doméstico ²⁰.

Este é formado principalmente no solo, já que o seu precursor mais importante, o urânio-238, é ubíquo, e se encontra na maioria dos solos e rochas em várias concentrações. Por sua vez, o Rn também pode ser encontrado em águas superficiais, minas de metais, como o urânio, fósforo, prata, ouro, resíduos de combustão de carvão e gás natural, contudo, os seus níveis ao ar livre geralmente são muito inferiores aos níveis internos, já que o Rn é um gás que se dissipa muito rapidamente. Portanto, são os locais mal ventilados, os mais propensos a ter uma alta concentração de Rn. O Rn interno provém, geralmente, do solo sob as casas ou edifícios, mas também pode ser originário da combustão de carvão, ou aparelhos de gás e água ^{20,54}.

As partículas alfa, emitidas pelo Rn-222 e os seus produtos de decaimento polónio-218 e polónio-214, são altamente prejudiciais para os tecidos, incluindo o epitélio respiratório. Estas partículas constituídas por dois prótons e dois neutrões, embora não se movam muito rápido, nem para muito longe, são pesadas e, portanto, podem causar danos consideráveis a curto alcance quando inaladas ou ingeridas. As emissões de radiação danificam assim o material genético das células das vias aéreas, o que pode levar ao processo de carcinogénese se o processo de reparo das células for deficiente ²⁰.

A principal via de exposição ao Rn e dos seus produtos é por inalação, seja como partículas livres ou ligadas a partículas do ar, tais como poeiras, que tendem a atrair. Outras vias de exposição incluem a ingestão através, por exemplo, da ingestão de água potável, ou a exposição dérmica, que não é considerada tão significativa, uma vez que em circunstâncias normais, a pele protege o organismo da radiação alfa ²⁰.

Os possíveis mecanismos biológicos pelos quais a exposição ao Rn pode aumentar o risco de cancro incluem mutações genéticas, geração de ROS, regulação de citocinas e produção de proteínas associadas à regulação do ciclo celular, que provocam, por exemplo, atraso mitótico e inibição da apoptose. Esses efeitos podem variar dependendo de vários fatores, incluindo, entre outros, o nível de radiação à qual a célula é exposta, a

frequência da exposição, o tipo de célula, as condições celulares (como o estágio do ciclo celular durante a exposição) e a sinalização intracelular e intercelular entre células vizinhas⁵⁵.

Posto isto, o Rn é um carcinógeno bem estabelecido com dados extensos disponíveis tanto para riscos ocupacionais como em exposições experimentadas pela população em geral contudo, não está associado a um subtipo histológico específico. Especulou-se que a incidência do CPPC poderia ser ligeiramente aumentada porque o Rn tende a depositar-se na carina brônquica mais central, no entanto, todos os subtipos foram descritos em associação com o Rn, sendo o mais comum o adenocarcinoma e carcinoma de células escamosas, possivelmente por serem os subtipos mais frequentes^{20,54}.

A evidência de estudos epidemiológicos de mineiros subterrâneos mostra uma relação linear entre a exposição ao Rn e o risco de cancro do pulmão. Verificou-se que os mineiros de urânio na Alemanha expostos ao Rn e aos seus produtos de decaimento apresentam maior risco de cancro do pulmão, especialmente 15 a 24 anos após a exposição e em mineiros com menos de 55 anos. Os dados originais combinados de 11 estudos de coorte de mineiros subterrâneos expostos ao Rn mostraram que quase 40% de todas as mortes por cancro do pulmão podem ser devidas a esta exposição, sendo então responsável por 70% das mortes em não-fumadores e 39% em fumadores²⁰.

A magnitude do risco nos mineiros levou à preocupação com a exposição ao Rn como causa do cancro do pulmão na população em geral, tendo sido gerados modelos estatísticos que sugeriram uma ligação causal os dois. Embora a extrapolação dos resultados dos mineiros tenha causado controvérsia, a estimativa do risco reportado pelo *Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiation*, que publica relatórios sobre os efeitos das radiações ionizantes, foi validada por estudos na população em geral. A concentração de Rn no ar é medida em becquerel (símbolo Bq), sendo que um becquerel corresponde a uma desintegração nuclear por segundo. A concentração de Rn no ar é assim, normalmente expressa pelo número de desintegrações nucleares por m³ (Bq/ m³)^{54,56}.

Desde a década de 1980, vários pequenos estudos de casos-controlo com poder limitado examinaram a relação entre Rn, como um poluente interior, e o cancro de pulmão na população em geral realizando uma análise separada dos principais estudos na Europa,

América do Norte e China. A concentração média de Rn a que cada indivíduo tinha sido exposto ao longo das décadas anteriores foi estimado pela medição da concentração de Rn nas suas casas atuais e anteriores. Com base em informações dos mineiros de urânio, esses estudos assumiram que o período de exposição foi de 30 anos, terminados 5 anos antes do diagnóstico ou da morte por cancro do pulmão ⁵⁴.

Quando os dados de todos os estudos norte-americanos foram combinados, o risco de cancro do pulmão aumentou 11% por 100 Bq/m³ de concentração medida de Rn e este risco aumentado foi independente da idade, do sexo ou do histórico tabágico. Os dados chineses demonstraram um risco aumentado de 13% por 100 Bq/m³ e no estudo europeu, o risco aumentou 8% por 100 Bq/m³. Contudo, os investigadores europeus repetiram a análise, levando em consideração a variação aleatória do ano para ano na concentração de Rn, encontrando o risco final estimado foi um aumento de 16% por 100 Bq/m³ usando a média da concentração a longo prazo. A estimativa combinada dos três estudos de agrupamento com base na concentração medida de Rn é um risco aumentado de cancro do pulmão de 10% por 100 Bq/m³ ^{54,57}.

Os resultados forneceram provas convincentes de que a exposição ao Rn é uma causa de cancro do pulmão na população em geral e fundamentou a extrapolação dos estudos de mineiros. Além disso, os resultados de todas as três análises agrupadas foram consistentes com uma relação dose-resposta linear sem limiar, sugerindo um risco aumentado de cancro do pulmão, mesmo com um nível de Rn abaixo de 200 Bq/m³, a concentração que ações de sensibilização recomendam em muitos países. Contudo, o nível de ação da Agência de Proteção Ambiental é de 148 Bq/m³ e recentemente, a OMS reduziu a exposição recomendada ao Rn a níveis abaixo de 100 Bq/m³ ^{50,54}.

Um estudo identificou como potencial grupo de alto risco aqueles apresentavam a deleção de genes GSTM1 e de glutathione S-transferase teta 1 (GSTT1), enzimas responsáveis por neutralizar ROS e que podem regular a via carcinogénica por exposição a radiação, nomeadamente proveniente do Rn. Assim, um outro estudo demonstrou uma frequência elevada de danos citogenéticos em pessoas com polimorfismos de genes de reparo de ADN devido à exposição crónica ao Rn e, como tal, os genes como XpG, ADPRT e NBS1 podem ser usados como marcadores genéticos moleculares de radiosensibilidade individual aumentada em residentes de longa duração em áreas elevadas de Rn e do seu decaimento ^{50,58}.

Contudo, embora vários estudos tenham sido demonstrados o papel de genes candidatos para o desenvolvimento de cancro do pulmão em não fumadores, os determinantes genéticos para a suscetibilidade aumentada em indivíduos com exposição residencial ao Rn ainda são incertos e estudos adicionais precisarão analisar melhor esta associação ⁵⁰.

4.3.1.1 Relação sinérgica entre Rn e o tabagismo

A exposição ao Rn foi associada de forma independente ao cancro do pulmão, e a relação com o tabagismo é considerada sinérgica. Os seus produtos de decaimento, tal como se ligam a partículas do ar, podem fixar-se nas partículas constituintes do fumo do tabaco, sendo então depositadas no epitélio brônquico ⁵⁴.

Existe um risco aumentado de cancro do pulmão em mineiros fumadores em comparação com os mineiros não fumadores, com os dois fatores de risco atuando de forma potencialmente sinérgica e multiplicativa, o que faz com que a combinação da exposição aos dois agentes cancerígenos seja mais nefasta do que a exposição a qualquer um ²⁰.

No grupo de estudos de casos-controlo europeus, o risco de cancro para fumadores atuais de 15 a 24 cigarros por dia em relação a não fumadores era de 25,8%. Supondo que, na mesma análise, o risco de cancro de pulmão aumentou 16% por 100 Bq/m³ de Rn independentemente do estado de tabagismo, o risco absoluto acumulado até à idade de 75 anos seria de 0,67% para não fumadores e 16% em fumadores expostos aos níveis habituais de Rn de 400 Bq/m³ ⁵⁴.

4.4 Hormonas

O cancro do pulmão desenvolvido em indivíduos que nunca fumaram é mais comum nas mulheres, o que se confirma em numerosos estudos. No entanto, não está claro se esta maior incidência nas mulheres é devido a uma suscetibilidade inerente, a uma maior contribuição de fatores de risco diferentes do tabagismo, ou se isso

simplesmente representa o facto de que há duas vezes mais mulheres que homens que nunca fumaram ao longo da sua vida ¹⁶.

Um estudo sobre a apresentação do cancro do pulmão em mulheres pré-menopausa versus pós-menopausa mostrou tumores mal diferenciados e com histologias menos favoráveis em mulheres pré-menopausa. Apesar disso, não se observou diferenças significativas de sobrevivência entre mulheres pré-menopausa e pós-menopausa. Num estudo mais recente, as mulheres com mais de 60 anos tinham uma vantagem de sobrevivência significativa em relação aos homens e às mulheres mais jovens, uma diferença potencialmente atribuível ao estado hormonal, uma vez que os homens não apresentavam diferenças de sobrevivência por idade ⁵⁹.

Esta variação significativa de género observada nestes doentes sugere, portanto, uma contribuição das hormonas não só para o risco, como para a sobrevivência. Assim, a possibilidade de uma relação entre o cancro do pulmão em mulheres e os estrogénios foi debatida e, mais especificamente, foi proposto que a contraceção oral e a terapia de reposição hormonal (TRH) podem ter um papel importante em mecanismos de carcinogénese ^{16,60}.

Têm sido acumuladas evidências desde meados da década de 1990 de que o pulmão contém recetores de estrogénio e progesterona e que estas hormonas têm algum papel no desenvolvimento pulmonar, inflamação pulmonar e cancro do pulmão ⁵⁹.

Vários estudos encontraram pouca ou nenhuma expressão de recetores de progesterona (PRs – do inglês *Progesterone Receptors*) em CPNPC, sendo a sua expressão diminuída em tumores pulmonares em comparação com o tecido pulmonar normal correspondente, contrariamente ao que tem sido observado no caso da expressão dos recetores de estrogénio (ERs – do inglês *Estrogen Receptors*) ⁶¹.

Dois genes diferentes codificam proteínas ER α e ER β , que são expressas em vários tecidos, sendo este último o ER mais expresso em tecidos pulmonares. Ambos os subtipos se ligam, com alta afinidade, ao β -estradiol, a forma mais ativa de estrogénio. Existem várias isoformas de ER α e ER β que incluem pelo menos três isoformas de ER α e cinco isoformas de ER β . No entanto, a expressão e a função das diferentes isoformas de ER β no cancro pulmonar não são bem compreendidas porque a maioria dos estudos

não realizou uma comparação entre estas cinco isoformas conhecidas que são o resultado de um splicing alternativo do último exão codificante ⁵⁹.

O facto de estarem agora disponíveis e bem caracterizados anticorpos que distinguem as proteínas ER α e ER β permitiu caracterizar a expressão destas duas proteínas, sendo evidente que a proteína ER β é expressa na maioria das linhas celulares de CPNPC, embora a proteína ER α também possa ser encontrada em alguns tumores pulmonares, como aqueles que têm ativa a mutação EGFR ⁵⁹.

O efeito negativo da isoforma ER β -1 na sobrevivência foi observado em doentes do sexo masculino e feminino não mostrou interação com o sexo. A especificidade desta isoforma também foi relatada num estudo que demonstrou que ER β -1, mas não ER β -2, estava relacionado com um pior prognóstico nos doentes com cancro do pulmão do estágio I do sexo feminino. O ER β -1 nuclear também se correlacionou com a fraca sobrevivência no cancro do pulmão metastático, mas não em doentes com cancro em estágio inicial. Em contraste, as isoformas ER β -2 e ER β -5 foram associadas a melhores resultados na sobrevivência ao cancro do pulmão ⁵⁹.

Em relação ao ER α , ainda não há um consenso sobre o efeito sobre a sobrevivência ao cancro do pulmão ⁵⁹.

O facto de, tanto a transcrição de RNA regulada por estrogénios, como a sinalização não genómica que ativa tirosina quinases, como a proliferação das linhas celulares do tumor pulmonar, poderem ser bloqueadas pelo fármaco fulvestrant (que atua pela degradação do ER), fornece evidências de que os ERs encontrados presentes no núcleo e citoplasma destas células são funcionais ⁵⁹. A ativação de ERs resulta assim numa maior expressão de genes envolvidos na proliferação celular e no crescimento tumoral ¹⁶.

A expressão de ER β é induzida por stress oxidativo e pela inflamação tanto de células endoteliais, como de macrófagos, sendo excessivamente expresso nos tumores pulmonares em comparação com os tecidos pulmonares normais correspondentes, o que pode levar a respostas anormais ao estrogénio em células malignas, que promovem o cancro do pulmão, ou em áreas do pulmão que estão em risco de desenvolvimento de cancro. No entanto, o sistema imunológico também é regulado por estrogénio e, por isso, a capacidade do sistema imunológico rejeitar os tecidos pulmonares malignos no início

do processo de carcinogénese, tal como a diminuição da libertação de fatores de crescimento que contribuem para este processo, podem ser reforçadas pelo uso hormonal ⁶¹.

Contudo, como os tumores pulmonares são conhecidos por produzirem aromatase, é possível que o uso de hormonas exógenas reduzam a produção de estrogénio nas vias aéreas, inibindo a expressão da aromatase pulmonar ⁶¹.

O inibidor de aromatase, anastrozol, causou uma inibição significativa no crescimento de enxertos tumorais de CPNPC positivos para aromatases e foi também demonstrado que previne a carcinogénese do pulmão em modelos animais expostos a um agente carcinogénico do tabaco, sendo este efeito aumentado ainda mais pela administração do fulvestrant ⁶¹.

Assim, dependendo do contexto, os estrogénios podem suprimir ou aumentar a inflamação e o equilíbrio desses processos pode contribuir para saber se o uso da TRH resulta em proteção ou promoção da carcinogénese pulmonar mas para já, é recomendado que o seu uso seja de duração limitada em mulheres pós-menopausa, devido a riscos gerais para a saúde da sua utilização a longo prazo ⁶¹.

Num estudo randomizado em que mais de 16000 mulheres pós-menopausa receberam placebo ou TRH (composta por estrogénio e progesterona) diariamente durante 5 anos, foi relatado um forte efeito negativo da terapia sobre a sobrevivência das doentes diagnosticadas com cancro do pulmão, pelo que o grupo que foi sujeito à TRH teve uma probabilidade significativamente maior de morrer da doença em comparação com o grupo que recebeu o placebo ⁶². Um aumento na incidência de cancro do pulmão também foi observado neste estudo para este mesmo grupo comparativamente ao placebo, contudo, este não foi estatisticamente significativo ⁶¹.

Mais recentemente, dois outros grandes estudos de coorte com dados de exposição à TRH também foram examinados quanto ao risco de desenvolvimento de cancro do pulmão. Um deles acompanhou 36000 mulheres pós-menopausa que preencheram questionários basais sobre o uso de hormonas, e identificou os casos de cancro do pulmão diagnosticados durante seis anos de seguimento. Em contraste com o anterior, observou-se um aumento significativo da incidência de cancro do pulmão associada à TRH, tendo

sido este efeito dependente da duração, com um risco aumentado de aproximadamente 50% para o uso de 10 anos ou mais de terapia ⁶³.

Por outro lado, o outro estudo que interpretou os dados basais sobre o uso de hormonas de mais de 60000 mulheres pós-menopausa e identificou os casos de cancro pulmonar diagnosticados até 11 anos de seguimento, concluiu que não havia qualquer associação ⁶⁴.

Já numa outra análise que combinou seis estudos caso-controlo encontrou-se um risco de cancro do pulmão fortemente reduzido associado ao uso de contraceptivos orais e de TRH, independentemente do estado de tabagismo ou índice de massa corporal, onde o grau de proteção não dependia de fatores como a duração do uso e a dose de hormonas, sugerindo que as exposições curtas eram igualmente protetoras; enquanto que em estudos de coorte, uma maior duração foi mais prejudicial para a incidência ou sobrevivência ao cancro pulmonar ⁶¹.

Uma meta-análise adaptativa de estudos de coorte reuniram uma série de revisões sistemáticas publicadas até setembro de 2015 com o objetivo de investigar a associação entre a TRH e o risco de desenvolvimento de cancro do pulmão em mulheres. Em conclusão, esta meta-análise não mostrou uma associação estatisticamente significativa entre a TRH e tal risco. Contudo, quando realizada uma análise conjunta de dados brutos de uma série de estudos caso-controlo, estes relataram consistentemente um efeito protetor significativo entre a TRH e o cancro pulmonar em mulheres ⁶⁰.

Como já foi referido anteriormente, o papel potencial dos estrogénios no cancro do pulmão é apoiado por vários estudos que demonstram que o uso de anti-estrogénios melhora a sobrevivência dos doentes. Um estudo observacional, que incluiu mais de 6500 mulheres que sobreviveram ao cancro pulmonar, descobriu que as mulheres que receberam algum tipo de tratamento anti-estrogénio apresentaram um índice de mortalidade significativamente menor. Um outro estudo, ao avaliar 2320 mulheres com e sem exposição a anti-estrogénios concluiu que o seu uso, antes e depois do diagnóstico, conferia uma diminuição significativa da mortalidade por cancro do pulmão ⁶¹.

Assim, embora muitos estudos sugiram que a exposição a hormonas exógenas seja prejudicial para a sobrevivência de doentes com cancro do pulmão, principalmente casos

de CPNPCs, dizer que o seu uso antes do diagnóstico afeta o risco de desenvolvimento de carcinoma pulmonar é controverso ^{61,62}.

De facto, existe ainda alguma discrepância na medida em que estudos de casos-controlo mostram efeitos protetores do uso de hormonas exógenas, enquanto que estudos de coorte não apresentam efeitos nocivos ou apresentam efeitos prejudiciais, o que pode ser explicado pela diferença do tempo de utilização de TRH nos estudos caso-controlo e estudos de coorte. Assim, é necessária uma análise epidemiológica adicional que incorpore a duração da TRH em vez de apenas uma classificação binária da história de TRH de cada indivíduo ⁶⁰.

Devido à discrepância observada, os dados atuais não suportam uma associação entre TRH e o risco aumentado de desenvolvimento do pulmão, embora seja de notar que os dados disponíveis são limitados, uma vez que os ERs nucleares e citoplasmáticos podem ter funções distintas, e cada componente deve ser avaliado separadamente e em conjunto, em diferentes tipos de tecido de cancro pulmonar. Assim, a análise das diferentes isoformas ER β , bem como a sua localização celular será necessária para entender completamente o papel da ER β no cancro do pulmão ^{16,59}.

Se as abordagens padronizadas forem desenvolvidas, estes recetores hormonais podem tornar-se biomarcadores úteis, potencialmente capazes de prever a agressividade dos cancros pulmonares e identificar doentes que possam responder à terapia hormonal ^{16,59}.

4.5 Agentes infecciosos

O potencial papel contributivo das infeções para a etiologia do cancro do pulmão tem sido uma preocupação de longa data, particularmente no que diz respeito à tuberculose. Perguntas mais recentes centraram-se em infeções pelo vírus do papiloma humano (HPV - do inglês *Human Papiloma Virus*) e infeções pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) ¹⁷.

O papel dos agentes infecciosos no risco de cancro do pulmão teve um foco variado ao longo do tempo devido às mudanças nas exposições predominantes. Embora haja a

possibilidade de que exista confusão residual devido ao tabagismo ativo e passivo, os mecanismos biológicos que levam o processo inflamatório a facilitar o desenvolvimento de cancro devem ser tidos em consideração ^{8,65}.

A partir de extensas pesquisas laboratoriais, uma das hipóteses colocada deve-se ao facto de, aquando do processo inflamatório, os neutrófilos, uma vez ativos, produzirem espécies reativas de oxigénio ou azoto, que por sua vez podem ligar-se ao ADN, levando a alterações genómicas no epitélio pulmonar, atuando na iniciação e promoção da carcinogénese ⁶⁵.

Além disso, o processo de reparação tecidual está associado à proliferação celular, durante o qual os erros na replicação cromossómica podem levar a novas mutações no ADN. Algumas citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral TNF (do inglês - *Tumor Necrosis Factor*) e a interleucina (IL-6), também podem atuar diretamente nas células epiteliais aumentando a expressão de genes anti-apoptóticos. Finalmente, a angiogénese, o processo de formação de novos vasos sanguíneos, é uma característica comum da reparação do tecido e também é crucial para o crescimento tumoral. Ao criar um ambiente propício a mutações de ADN, à proliferação celular e à angiogénese, a inflamação pode assim iniciar ou promover o desenvolvimento do cancro ⁶⁵.

4.5.1 Tuberculose pulmonar

Uma associação entre a tuberculose, uma infeção bacteriana, e o cancro do pulmão tem sido relatada ao longo de várias décadas, sendo esta a mais estudada entre todas as associações com infeções. A nível mundial, cerca de um terço das pessoas estão infetadas com *Mycobacterium tuberculosis*, o microorganismo responsável pela doença e, com o envelhecimento ou o enfraquecimento do sistema imunológico, esta doença pode vir a ser reativada. Uma vez no pulmão, os bacilos são rapidamente detetados, induzindo uma resposta inflamatória local e tal, como referido anteriormente foi bem documentado que inflamação pulmonar e fibrose pulmonar, muitas vezes presente nesta infeção podem induzir danos genéticos, o que pode aumentar o risco de cancro do pulmão ^{8,65}.

A duração dos sintomas respiratórios que ocorrem em doentes com tuberculose pode durar meses ou mesmo anos e durante o longo período de tempo, a infeção

persistente por *Mycobacterium tuberculosis* induz a produção de TNF e leva a inflamação pulmonar com sintomas típicos como a febre prolongada ⁶⁵.

Finalmente, o processo de reparação tecidual caracterizado por um alto nível de atividade dos fibroblastos, que sintetizam proteínas da matriz extra-celular e, eventualmente produzem uma cicatriz fibrosa, também pode estar envolvido no desenvolvimento de cancro do pulmão, já que a interleucina 3 (IL-3) juntamente com a interleucina 4 (IL-4) e TNF, que estão envolvidos nos mecanismos biológicos que levam o processo inflamatório a facilitar o desenvolvimento de cancro, desempenham um papel fundamental na formação dessa extensa fibrose pulmonar ⁶⁵.

Numa meta-análise de 37 estudos casos-controlo e 4 estudos de coorte, Liang et al. relatam associações significativas entre tuberculose e subsequentes diagnósticos de cancro do pulmão, observando um aumento de 1.78 vezes no risco de cancro do pulmão em doentes com tuberculose, limitando a análise a não fumadores. O maior aumento do risco de cancro do pulmão foi observado nos primeiros 5 anos após o diagnóstico de tuberculose. Além disso, também foi encontrada uma associação significativa ao agrupar as estimativas relacionadas aos adenocarcinomas. Contudo, não foi apresentada nenhuma associação entre história de tuberculose e outros subtipos histológicos ^{8,65}.

No entanto, apesar da existência de uma associação positiva entre a tuberculose pulmonar e o cancro do pulmão subsequente, os estudos citados eram principalmente estudo de casos-controlo. Devido a esta limitação, foi realizado um estudo de coorte mais recente com base na população de Taiwan ⁶⁶.

Neste estudo observaram-se taxas elevadas de cancro do pulmão em casos diagnosticados previamente com tuberculose pulmonar em comparação com aqueles sem história de tuberculose, o que foi consistente com muitos estudos anteriores, que relataram associação positiva entre a tuberculose pulmonar e cancro do pulmão subsequente. Para além disso, esse risco foi significativamente maior tanto para doentes com menos de 60 anos quanto para pessoas com mais de 60 anos, mas com uma maior taxa de incidência para os primeiros, o que sugere que a tuberculose pulmonar desempenha um papel importante na formação de cancro do pulmão em todas as faixas etárias, especialmente nos doentes mais jovens ⁶⁶.

Contudo, apesar da associação entre a tuberculose pulmonar e o cancro do pulmão ter plausibilidade biológica, os resultados positivos podem ser influenciados caso os primeiros sintomas de cancro sejam incorretamente diagnosticados como tuberculose antes do diagnóstico de carcinoma do pulmão. Assim, a definição de caso de tuberculose utilizada nos estudos epidemiológicos publicados pode incluir indivíduos que sofrem outras doenças pulmonares, especialmente bronquite crónica e enfisema, que estão positivamente relacionados com o tabagismo. Como tal, os resultados descritos acima, dizem respeito apenas a doentes não fumadores ^{65,66}.

4.5.2 Infecção pelo vírus do papiloma humano

As infeções pelo HPV também foram estudadas em relação ao risco de cancro do pulmão ⁸. Os HPVs, pertencentes à família *Papillomaviridae*, são vírus de ADN com preferência para infetar superfícies mucosas cutâneas ou internas. Foram identificados quase 200 subtipos de HPV que são categorizados como sendo de alto risco e baixo risco com base no seu potencial oncogénico ⁶⁷.

O processo de transformação de células induzidas pelo HPV é uma manifestação combinada de várias e discretas alterações celulares, genéticas e moleculares do tecido mucoso, que mais tarde progride para o cancro invasivo. As proteínas virais E6 e E7 contribuem predominantemente para o processo de carcinogénese e progressão tumoral adicional. Essas oncoproteínas interagem com os reguladores críticos do ciclo celular, comprometendo a sua atividade após a desregulação do ciclo celular e levando à proliferação celular descontrolada ⁶⁷.

É já conhecido que certos tipos de HPV causam essencialmente todos os tipos de cancro do colo do útero e ao longo das duas últimas décadas, vários estudos examinaram o possível envolvimento do HPV em cancros não genitais, inclusive o cancro do pulmão. Uma vez que o vírus pode infetar a mucosa oral e subsequentemente laringe e tecido brônquico, esta pode ser a principal fonte de HPV detetada no pulmão ⁶⁸.

A expressão de E6 e E7 foi confirmada em casos de cancro do pulmão positivo para HPV e tem sido relacionada à inativação do gene supressor tumoral p53 e à ativação transcricional de vários genes que facilitam a proliferação celular. Para além disso, uma

das mudanças moleculares mais importantes documentadas na progressão do cancro do pulmão é a ativação de oncogenes dominantes, como os genes da família RAS. Dos vários dessa família, o gene KRAS apresenta mutações pontuais no codão 12, na maioria dos carcinomas pulmonares e, em 50% dos tumores pulmonares positivos para HPV, a mutação KRAS foi coexistente ^{67,69}.

De facto, as taxas de deteção de HPV foram consideravelmente maiores em amostras de cancro do pulmão em comparação com os tecidos com lesões benignas ou com histologia pulmonar normal, sendo que o ADN do HPV foi mais frequentemente detetado no carcinoma de células escamosas do que em adenocarcinomas e o risco de carcinomas de células escamosas pulmonares foi 3,5 vezes maior para HPV-positivo em comparação com doentes HPV-negativos ⁶⁹.

Diferentes tipos deste vírus considerados de alto risco, como HPV 16, 18, 31 e 33, bem como os tipos considerados de baixo risco HPV 6 e 11 foram encontrados, sendo este último grupo principalmente encontrado associado com carcinomas de células escamosas. Entre os carcinomas de células escamosas e adenocarcinomas, os HPV de alto risco 16 e 18 foram detetados com mais frequência em comparação com outros HPVs de alto risco e o HPV de baixo risco 6 e 11 ⁶⁹.

A prevalência de HPV em carcinomas de células escamosas do pulmão e amostras de adenocarcinomas tem sido relatada por todo o mundo. No entanto, esta apresenta uma heterogeneidade considerável entre regiões geográficas, no tipo histológico de carcinoma pulmonar, sexo e tipo de HPV, podendo mesmo esta prevalência variar de 0% a 100%. A média de frequências relatadas nos países dos Estados Unidos da América e da Europa Ocidental tem sido menor em comparação com as taxas relatadas em amostras do Leste Asiático e, mesmo dentro do mesmo país, estas são diferentes de acordo com a região e a etnia. Apesar de esta associação entre a infeção por HPV e cancro do pulmão ter sido sugerida como estando dependente da região geográfica e da raça, esta é uma área que exigirá estudos adicionais em populações de alto risco ^{8,69}.

4.5.3 Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana

Outro foco de pesquisa atual sobre o risco de cancro do pulmão centra-se em indivíduos infetados pelo VIH ⁸. Desde o primeiro caso relatado de cancro do pulmão num doente diagnosticado com esta infeção, em 1984, inúmeros casos, séries de doentes e estudos de casos-controlo têm confirmado um aumento no risco de carcinoma pulmonar entre os doentes infetados pelo VIH em comparação com a população em geral ^{67, 17}.

A introdução da terapia anti-retroviral altamente ativa em 1996 levou a uma sobrevivência significativamente prolongada de doentes infetados pelo VIH, com diminuição da mortalidade pelo Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), e aumento da mortalidade por doenças malignas, sendo o cancro do pulmão uma das mais comuns entre este grupo, representando cerca de 16% das mortes em doentes com infeção pelo VIH ^{17,67}.

A SIDA é uma condição em que a falha progressiva do sistema imunológico, consequência da infeção pelo VIH-1, permite que infeções e cancros oportunistas prosperem. As patologias pulmonares associadas ao VIH incluem o aumento da suscetibilidade a infeções pulmonares, enfisema e cancro pulmonar e acredita-se que o seu desenvolvimento seja promovido pelo stress oxidativo induzido pelo vírus, bem como por perturbações celulares que podem desencadear uma resposta inflamatória, resultando em danos nos tecidos, além de causar a instabilidade genómica ⁷⁰.

Os estudos que comparam a incidência de cancro do pulmão em indivíduos infetados pelo VIH com a população em geral mostraram um risco aumentado de 1,5 a 5 vezes em indivíduos infetados. Na revisão de Hou et al., foram analisados duzentos e vinte e quatro estudos desenvolvidos em diferentes regiões geográficas, incluindo Europa, América, Austrália, Ásia e África, concluindo que quase todos os estudos demonstram que o risco de cancro do pulmão é maior entre os doentes infetados pelo VIH em comparação com a população em geral. Contudo, é difícil comparar esta associação entre a infeção e o cancro em diferentes países ou continentes com os estudos acima mencionados devido a diferentes durações de seguimento, critérios de inscrição e metodologias de investigação ^{8,71}.

Para além disso houve uma grande heterogeneidade no efeito da terapia anti-retroviral altamente ativa sobre o risco ou incidência de cancro do pulmão na população diagnosticada com a infeção, sendo que a maioria dos estudos mostrou pouca diferença entre os doentes infetados que receberam a terapia e aqueles que não foram sujeitos à mesma, o que foi de encontro à conclusão de um outro estudo que revelou que o tratamento com esta terapia não prevenia o excesso de risco de cancro do pulmão ^{8,70,71}.

4.6 Dieta

Devido à baixa taxa de sobrevivência global, com uma das principais causas de mortalidade por cancro por todo o mundo, a prevenção primária do cancro do pulmão é uma questão importante na sociedade atual. Muitos estudos demonstraram que o cancro do pulmão está associado a fatores genéticos e fatores ambientais, mas, sem uma identificação completa dos fatores de risco correspondentes, essa prevenção primária pode ser difícil de implementar. Além disso, a eliminação de alguns fatores de risco pode envolver grandes mudanças de estilo de vida, que não fáceis de implementar ^{24,72,73}.

Desta forma, não fumar deve ser a primeira estratégia para a sua prevenção, contudo, também há evidências de que fatores nutricionais podem desempenhar um papel no desenvolvimento do cancro do pulmão. Esta é uma estratégia com implicações clínicas promissoras que inclui o desenvolvimento de agentes preventivos mais eficazes e menos tóxicos, recorrendo a fitoquímicos alimentares: uma abordagem plausível e económica para a diminuição da morbilidade e mortalidade por cancro, antes do aparecimento de manifestações clínicas ^{24,74}.

A quimioprevenção tem sido explorada levando à descoberta e desenvolvimento de agentes fitoquímicos quimiopreventivos efetivos contra substâncias cancerígenas presentes no fumo do tabaco, que podem interferir com a iniciação, promoção e progressão do cancro do pulmão, havendo já extensos estudos que identificam numerosos componentes de alimentos com potencial anticancerígeno contra o carcinoma pulmonar induzido pelo BaP. Quando usado pela primeira vez, este termo fez referência ao potencial papel da vitamina A e dos seus análogos sintéticos na prevenção de certas formas de cancro, sendo os retinoides os agentes fitoquímicos mais investigados ²⁴.

Assim, estes podem exercer os seus efeitos quimiopreventivos em vários mecanismos do cancro do pulmão induzido por BaP, através da inibição da formação do carcinógeno final BPDE, através da redução da atividade das enzimas metabólicas da fase I, que provoca a diminuição da bioativação, e da indução de enzimas metabólicas da fase II, que provoca o aumento da desintoxicação, através da inibição da formação de adutos de ADN e contribuindo para a sua reparação. Além disso, estes compostos podem participar na eliminação de radicais de oxigénio, na inibição do metabolismo das glicoproteínas e das poliaminas ou pela regulação das vias de transdução de sinal, tal como a restauração de respostas imunes e a indução de genes apoptóticos são outros mecanismos através dos quais os agentes quimiopreventivos podem atuar para retardar o crescimento das células ²⁴.

Além de fitoquímicos como o ácido retinóico, presente na cenoura, milho e laranja, o resveratrol presente nas uvas ou o sulfurano presente nos bróculos, entre outros, que estão atualmente sob investigação para atividade quimiopreventiva devido aos seus resultados promissores em estudos *in vitro* ou em animais, vários estudos demonstraram a utilidade de extratos de plantas, também devido aos seus efeitos fitoquímicos, na prevenção de carcinoma pulmonar induzido pelo BaP em animais ²⁴.

Por exemplo, os extratos derivados de *Mentha piperita*, *Smilax zeylanica*, *Solanum trilobatum*, *Panax ginseng*, *Prunella vulgaris* e *Withania somnifera* demonstraram reduzir a multiplicação de células tumorais pulmonares e a incidência deste tumor em animais por vários mecanismos, incluindo a modulação das enzimas de fase I e fase II, a prevenção de danos do ADN e a melhoria do estado antioxidante e dos biomarcadores tumorais. Além de serem eficazes como agente único, estes extratos, também potenciaram os efeitos quimiopreventivos de fármacos sintéticos, como a cisplatina e o paclitaxel ²⁴.

Em ensaios clínicos randomizados, houve um risco aumentado de cancro pulmonar em fumadores que receberam doses elevadas de suplementos de β -caroteno, um precursor da vitamina A ⁷⁵. Por outro lado, várias frutas e vegetais que contêm carotenoides e outros fitoquímicos têm hipótese de diminuir esse risco devido à sua atividade antioxidante, havendo resultados que mostram um risco significativamente diminuído de cancro do pulmão com uma maior ingestão de frutas e vegetais, para fumadores, sugerindo-se que o efeito protetor de frutas e vegetais pode ser devido a

compostos biologicamente ativos, como flavonoides que possuem antioxidantes e outros efeitos protetores ⁷⁴.

Contudo, como poucos estudos têm informações detalhadas sobre o tabagismo, não é possível excluir a confusão residual devido a hábitos tabágicos não medidos, como a duração e a intensidade dos mesmos. Assim, é necessário que estudos adicionais associem o consumo de diferentes tipos de frutas e vegetais e o risco de cancro do pulmão e realizem análises estratificadas pelo estado de tabagismo, intensidade do tabagismo e subtipos de cancro do pulmão, a fim de investigar se o efeito da ingestão de frutas e vegetais é mais significativo no CPPC (fortemente associado ao uso de tabaco) ou em CPNPCs ⁷⁴.

Gradualmente, tem sido, então, reconhecido que a dieta e os nutrientes desempenham um papel importante no desenvolvimento e no progresso do cancro, e muitos componentes dietéticos estão associados ao seu risco, sendo que no que diz respeito ao cancro do pulmão, é sugerido que a ingestão de elevadas quantidades de vegetais, frutas, peixe e soja possa contribuir para a sua redução, enquanto a carne vermelha e a carne processada possa aumentar o seu risco ⁷⁶.

Tem sido demonstrado em vários estudos de laboratório que os antioxidantes presentes na dieta, no geral, protegem as células do dano oxidativo do ADN, bloqueando assim a carcinogénese, e vários estudos epidemiológicos foram publicados explorando a relação entre a ingestão de antioxidantes e o risco de cancro do pulmão ⁷³. Neste âmbito, duas meta-análises foram realizadas recentemente para avaliar a relação entre a vitamina C e a vitamina E, dois antioxidantes comuns em frutas e vegetais, e o risco de desenvolvimento de cancro do pulmão ⁷².

Os resultados destas meta-análises indicaram uma relação linear entre a ingestão de vitamina C e o risco de desenvolvimento deste cancro, com uma diminuição no risco de 7% a cada aumento de 100 mg por dia na ingestão de vitamina C, tal como um risco significativamente menor associado ao maior nível de ingestão de vitamina E versus o menor nível. Observa-se assim uma associação significativa entre a ingestão de vitaminas C e E e o cancro do pulmão nos Estados Unidos, de onde são a maioria dos estudos incluídos e, portanto, a maioria dos indivíduos, sugerindo então que a presença destas vitaminas na dieta pode ter um efeito protetor contra o cancro do pulmão ^{73,77}.

Já na Europa e na Ásia não foi encontrada nenhuma associação estatisticamente significativa, provavelmente devido ao pequeno número de casos incluídos. Devido a essa limitação, os resultados são aplicáveis aos Estados Unidos, mas não podem ser para já estendidos a outras populações ^{73,77}.

Também a vitamina A e o β -caroteno podem ter um papel na prevenção do cancro do pulmão, na medida em que estão envolvidos na atividade antioxidante, indução de enzimas detoxificantes e inibição da proliferação celular, tendo-se realizado uma meta-análise de atualização para avaliar ainda mais as evidências de estudos observacionais que exploram esta relação. Os resultados indicaram que um maior nível de ingestão de vitamina A e de β -caroteno versus o menor nível de ingestão conferia um risco significativamente inferior de desenvolvimento de cancro do pulmão, especialmente em estudos prospetivos em populações asiáticas e americanas, o que foi consistente com os resultados das meta-análises anteriores sobre vitamina C e vitamina E ⁷².

No entanto, tem sido também relatado que os suplementos de β -caroteno poderiam aumentar este risco, indicando que a ingestão de β -caroteno através dos alimentos ou da suplementação tem um efeito diferente sobre o risco de desenvolvimento deste carcinoma, possivelmente devido à alta dose de suplemento de β -caroteno utilizado nos estudos de intervenção que o leva a atuar como um pró-oxidante em vez de um antioxidante, apesar de os mecanismos precisos responsáveis por esta modificação de risco não terem sido elucidados ⁷².

Apesar de esta meta-análise ter incluído um grande número de casos e participantes o que deveria refletir um resultado preciso entre a ingestão de β -caroteno e vitamina A e o risco de cancro do pulmão, foram encontradas heterogeneidades significativas entre os vários estudos, possíveis interações entre as variáveis genéticas e ambientais, ou mesmo outros fatores desconhecidos, já que esta é uma doença complexa, do ponto de vista etiológico e fisiopatológico. Assim, é importante a realização de mais estudos que permitam a análise dose-resposta entre a ingestão de β -caroteno e vitamina A e o risco, principalmente em populações europeias onde não há ainda resultados suficientes que apoiem uma associação significativa ⁷².

Alguma heterogeneidade entre os ensaios de intervenção clínica com nutrientes isolados pode também existir uma vez que diferentes alimentos são consumidos em

diferentes combinações e interagem uns com os outros de forma complexa. Como tal, uma análise abrangente do padrão de dieta pode refletir melhor os hábitos alimentares e fornece um instrumento construtivo para avaliar os efeitos globais da dieta total na saúde humana ⁷⁶.

Um padrão alimentar saudável que é caracterizado por uma alta ingestão de legumes, frutas, carne branca, peixe e cereais integrais e uma baixa ingestão de carne vermelha, gordura saturada e cereais refinados, tem sido associado a um menor risco de vários tipos de cancro ⁷⁶. Por outro lado, foi encontrada uma associação convincente entre uma maior ingestão de carne vermelha e o desenvolvimento de cancro, especialmente neoplasias malignas colorretais, pulmonares, esofágicas e gástricas, assim como o aumento do consumo de carne processada também foi associado com cancro colo-rectal, esofágico, gástrico e da bexiga ⁷⁸.

Com base em pelo menos seis estudos de coorte, Wolk descobriu que o consumo de 100g por dia de carne vermelha não processada de aumentou significativamente 17% e 19% o risco de desenvolvimento de cancro colo-rectal e cancro de próstata avançado, respetivamente. ^{78,79}.

Assim, com base em estudos e análises epidemiológicas centradas principalmente no cancro colo-rectal, o consumo de carne vermelha foi recentemente classificado pela IARC como "provavelmente cancerígeno para o ser humano" (Grupo 2A), enquanto a carne processada foi classificada como "cancerígena para humanos" (Grupo 1) ⁷⁸.

Neste sentido, foi realizada uma meta-análise de estudos observacionais relevantes e realizada uma revisão sistemática para investigar esta hipótese de que um padrão alimentar saudável poderia diminuir o risco de cancro do pulmão e os resultados obtidos foram bem estabelecidos e sugerem que um padrão alimentar saudável pode reduzir o risco de cancro do pulmão, mesmo em análises estratificadas por subgrupos ⁷⁶.

Partindo do princípio que a análise a um padrão alimentar pode revelar melhor os hábitos e a interações alimentares, esta conclusão foi mais convincente do que os resultados relativos aos nutrientes isolados, proporcionando assim mais evidências sobre os benefícios de um padrão de alimentação saudável na prevenção do cancro do pulmão, já que esta meta-análise revelou pouca heterogeneidade entre todos os estudos ⁷⁶.

Desta forma, concluiu-se que a combinação de alimentos como os vegetais, frutas, peixe e carnes brancas, por exemplo, podem ser mais eficientes nesta prevenção do que qualquer um destes isolado pois apesar do seu mecanismo estar indubitavelmente relacionado com os componentes individuais de uma dieta saudável, incluindo antioxidantes, polifenóis, fibras e minerais; as suas interações podem aumentar sinergicamente o seu efeito protetor individual ⁷⁶.

Em contraste com o padrão saudável, também se combinaram todos os resultados dos estudos que associaram o padrão da dieta ocidental com o risco de cancro pulmão e, como era esperado, a combinação dos cinco estudos indicaram que maus hábitos alimentares podem aumentar significativamente o risco de cancro do pulmão ⁷⁶.

Assim, embora a cessação tabágica seja, ainda, a abordagem mais eficaz para reduzir a incidência deste cancro, a alimentação saudável e o estilo de vida também são considerados uma arma importante para a prevenção do cancro, especialmente em fumadores e ex-fumadores, sendo este os principais grupos de estudo. Contudo, a associação explorada também é significativa para os não-fumadores, tal como demonstrou o primeiro estudo a avaliar o padrão alimentar em não fumadores, em 2011. Neste estudo, ao serem seleccionados, apenas indivíduos que reportaram nunca ter fumado, superou-se uma limitação muito grande presente em estudos anteriores, pois, sendo o tabagismo o principal fator de risco, minimizou-se a possibilidade de confusão residual e de este se sobrepor ao efeito da dieta ^{76,80}.

No contexto dos estudos acima mencionados, é evidente que, em geral, os fitoquímicos alimentares protegem o cancro do pulmão induzido pelo BaP, induzindo a apoptose, inibindo a inflamação e reduzindo a capacidade de proliferação das células tumorais. Ainda assim, alguns problemas permanecem inerentes a esses agentes pois é importante lembrar que estes também são xenobióticos e, como tal, podem causar efeitos adversos ao interagir com as enzimas metabolizadoras. Portanto, a sua administração a longo prazo deve ser cuidadosamente monitorizada e o risco-benefício da sua utilização deve ser investigado, tendo em consideração o seu regime de dosagem, toxicidade e todas as suas possíveis interações ²⁴.

5 CONCLUSÃO

O cancro do pulmão já esteve entre as formas mais raras de cancro, contudo a sua incidência aumentou drasticamente, em paralelo com o aumento de um agente que se revelou o principal responsável pela maior causa de morte por cancro no mundo.

Com a elaboração desta monografia, concluiu-se que, sendo o tabaco o maior fator de risco para o desenvolvimento deste cancro, existe um grande banco de dados resultantes de pesquisa epidemiológica que apoiam esta associação, e uma plausibilidade biológica bem estabelecida, suportada pelos mecanismos de ação conhecidos e indução desta neoplasia.

Os PAHs são, de facto, um dos contaminantes ambientais predominantes e de maior preocupação, sendo a atividade humana a principal responsável pela emissão destes compostos. Para além de serem encontrados em quantidades substanciais no fumo do tabaco, estes são emitidos devido aos processos industriais, aquecimento doméstico, emissões automóveis, refinarias, incineração e, mais importante ainda, os PAHs são encontradas em quantidades substanciais no fumo do tabaco.

Em comparação com o tabagismo, a proporção de cancro do pulmão associada a outros fatores de risco é relativamente baixa. Contudo, para além de serem uma preocupação significativa para os não fumadores que desenvolvem neoplasia pulmonar, as possíveis interações sinérgicas entre os vários fatores de risco podem ter consequências substanciais para o aumento desse risco, como por exemplo o efeito sinérgico e multiplicativo entre o tabagismo e a exposição a asbestos ou ao Rn. Assim, conclui-se que o risco desta neoplasia pode ser conceptualizado como o reflexo das consequências conjuntas e da inter-relação entre a exposição aos agentes etiológicos ou protetores e a suscetibilidade individual a esses agentes.

Dado o impacto desta doença, do seu índice de mortalidade a nível mundial e das implicações para a saúde aquando da associação entre vários fatores de risco, há surpreendentemente pouca informação disponível sobre os mecanismos exatos pelos quais os fatores de risco induzem e promovem o cancro do pulmão, principalmente em não fumadores.

De resto, a investigação constante numa área de intervenção tão importante como o cancro do pulmão é, inquestionavelmente, necessária já que uma compreensão da sua etiologia é imperativa não só para a sua prevenção como para direccionar e otimizar a terapêutica.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Proctor, R. N. Tobacco and the global epidemic of lung cancer. *Nat. Rev. Cancer* **1**, 82–86 (2001).
2. Proctor, R. N. The history of the discovery of the cigarette-lung cancer link: evidentiary traditions, corporate denial, global toll. *Tob. Control* **21**, 87–91 (2012).
3. Adler, I. Primary malignant growths of the lungs and bronchi. *Am. J. Med. Sci.* **144**, 893 (1912).
4. Ochsner, A. My first recognition of the relationship of smoking and lung cancer. *Prev. Med. (Baltim)*. **2**, 611–614 (1973).
5. Witschi, H. A Short History of Lung Cancer. *Toxicol. Sci.* **64**, 4–6 (2001).
6. Smith, G. D., Strobele, S. A. & Egger, M. Smoking and health promotion in Nazi Germany. *J. Epidemiol. Community Health* **48**, 220–223 (1994).
7. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on C, acedido a 23/03/2017. .
8. Mittal, V. Epithelial Mesenchymal Transition in Aggressive Lung Cancers. in *Lung Cancer and Personalized Medicine: Novel Therapies and Clinical Management* 37–56 (2016). doi:10.1007/978-3-319-24932-2_3
9. Ezzati, M., Henley, S. J., Lopez, A. D. & Thun, M. J. Role of smoking in global and regional cancer epidemiology: Current patterns and data needs. *Int. J. Cancer* **116**, 963–971 (2005).
10. Miranda, N. *et al.* Doenças Oncológicas em Números – 2015. *Direção-Geral da Saúde* 1–66 (2016).
11. Benjamin, I., Griggs, R. C., Wing, E. J. & Fitz, J. G. *General features of uremic syndrome. Andreoli and Carpenter's Cecil Essentials of Medicine, 9th Edition, Elsevier Saunders.* (2015).

12. Dennis L. Kasper, Anthony S. Fauci, Stephen Hauser , Dan Longo, J. Larry Jameson, J. L. *Harrisons Manual of Medicine, 19th Edition, McGraw-Hill Education.* (2016).
13. Latimer, K. M. & Mott, T. F. Lung Cancer: Diagnosis, Treatment Principles, and Screening. *Am. Fam. Physician* **91**, 250–256 (2015).
14. Travis, W. D. *et al.* The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *J. Thorac. Oncol.* **10**, 1243–1260 (2015).
15. Collins, L. G., Haines, C., Perkel, R. & Enck, R. E. Lung cancer: Diagnosis and management. *Am. Fam. Physician* **75**, 56–63 (2007).
16. Pallis, A. G. & Syrigos, K. N. Lung cancer in never smokers : Disease characteristics and risk factors. *Crit. Rev. Oncol. / Hematol.* **88**, 494–503 (2013).
17. Alberg, A. J., Brock, M. V., Ford, J. G., Samet, J. M. & Spivack, S. D. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* **143**, e1S–e29S (2013).
18. Dunn, B. K., Ghosh, S. & Kramer, B. S. JNCI and Cancer Prevention. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **107**, 1–7 (2015).
19. Moorthy, B., Chu, C. & Carlin, D. J. Polycyclic aromatic hydrocarbons: From metabolism to lung cancer. *Toxicol. Sci.* **145**, 5–15 (2015).
20. Dela Cruz, C. S., Tanoue, L. T. & Matthay, R. A. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clin. Chest Med.* **32**, 605–44 (2011).
21. Samet, J. M. The health benefits of smoking cessation. *Med. Clin. North Am.* **76**, 399–414 (1992).
22. Hoffmann, D., Hoffmann, I. & El-Bayoumy, K. The Less Harmful Cigarette: A Controversial Issue. A Tribute to Ernst L. Wynder. *Chem. Res. Toxicol.* **14**, 767–790 (2001).
23. Miller, E. C. Some Current Perspectives on Chemical Carcinogenesis in Humans and Experimental Animals: Presidential Address¹. *CANCER Res.* **38**, 1479–1496 (1978).

24. Kasala, E. R., Bodduluru, L. N., Barua, C. C., Sriram, C. S. & Gogoi, R. Benzo(a)pyrene induced lung cancer: Role of dietary phytochemicals in chemoprevention. *Pharmacol. Reports* **67**, 996–1009 (2015).
25. Hrycak, E. G. & Bandiera, S. M. The monooxygenase, peroxidase, and peroxygenase properties of cytochrome P450. *Arch. Biochem. Biophys.* **522**, 71–89 (2012).
26. Lan, Q. *et al.* Oxidative damage-related genes AKR1C3 and OGG1 modulate risks for lung cancer due to exposure to PAH-rich coal combustion emissions. *Carcinogenesis* **25**, 2177–2181 (2004).
27. Tsay, J. J., Tchou-Wong, K.-M., Greenberg, A. K., Pass, H. & Rom, W. N. Aryl hydrocarbon receptor and lung cancer. *Anticancer Res.* **33**, 1247–56 (2013).
28. Chiba, T. *et al.* Arylhydrocarbon receptor (AhR) activation in airway epithelial cells induces MUC5AC via reactive oxygen species (ROS) production. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **24**, 133–140 (2011).
29. Shiizaki, K., Kawanishi, M. & Yagi, T. Modulation of benzo[a]pyrene–DNA adduct formation by CYP1 inducer and inhibitor. *Genes Environ.* **39**, 14 (2017).
30. Bennett, W. P. *et al.* Environmental tobacco smoke, genetic susceptibility, and risk of lung cancer in never-smoking women. *J. Natl Cancer Inst* **91**, 2009–2014 (2009).
31. Vainio, H., Weiderpass, E. & Kleihues, P. Smoking cessation in cancer prevention. *Toxicology* **166**, 47–52 (2001).
32. Vineis, P. *et al.* Tobacco and Cancer: Recent Epidemiological Evidence. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **96**, 99–106 (2004).
33. Alavanja, M. *et al.* Tobacco smoke and involuntary smoking. in *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* **83**, 1–1413 (2004).
34. Öberg, M., Jaakkola, M. S., Woodward, A., Peruga, A. & Prüss-Ustün, A. Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries. *Lancet* **377**, 139–146 (2011).
35. Vineis, P. *et al.* Lung cancers attributable to environmental tobacco smoke and air

- pollution in non-smokers in different European countries: a prospective study. *Environ. Heal.* **6**, 7 (2007).
36. Thomas, J. L. *et al.* Metabolites of a Tobacco-Specific Lung Carcinogen in Children Exposed to Secondhand or Thirdhand Tobacco Smoke in Their Homes. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **20**, 1213–1221 (2011).
 37. Turner, M. C. *et al.* Long-term Ambient Fine Particulate Matter Air Pollution and Lung Cancer in a Large Cohort of Never-Smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **184**, 1374–1381 (2011).
 38. Demetriou, C. A. *et al.* Biomarkers of ambient air pollution and lung cancer: a systematic review. *Occup. Environ. Med.* **69**, 619–627 (2012).
 39. Lewtas, J. Air pollution combustion emissions: Characterization of causative agents and mechanisms associated with cancer, reproductive, and cardiovascular effects. *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.* **636**, 95–133 (2007).
 40. McCormack, V., Peto, J., Byrnes, G., Straif, K. & Boffetta, P. Estimating the asbestos-related lung cancer burden from mesothelioma mortality. *Br. J. Cancer* **106**, 575–584 (2012).
 41. Nelson, H. H. & Kelsey, K. T. The molecular epidemiology of asbestos and tobacco in lung cancer. *Oncogene* **21**, 7284–7288 (2002).
 42. Frost, G., Darnton, A. & Harding, A.-H. The Effect of Smoking on the Risk of Lung Cancer Mortality for Asbestos Workers in Great Britain (1971–2005). *Ann. Occup. Hyg.* **55**, 239–247 (2011).
 43. Olsson, A. C. *et al.* Exposure to diesel motor exhaust and lung cancer risk in a pooled analysis from case-control studies in Europe and Canada. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **183**, 941–948 (2011).
 44. Benbrahim-Tallaa, L. *et al.* Carcinogenicity of diesel-engine and gasoline-engine exhausts and some Nitroarènes. *Pollut. Atmos.* **13**, 43–44 (2012).
 45. Gamble, J. F., Nicolich, M. J. & Boffetta, P. Lung cancer and diesel exhaust: an updated critical review of the occupational epidemiology literature. *Crit. Rev. Toxicol.* **42**, 549–598 (2012).

46. Scheepers, P. T. J. & Vermeulen, R. C. H. Diesel engine exhaust classified as a human lung carcinogen. How will this affect occupational exposures? *Occup. Environ. Med.* **69**, 691–693 (2012).
47. Samet, J. M. *et al.* Lung Cancer in Never Smokers: Clinical Epidemiology and Environmental Risk Factors. *Clin. Cancer Res.* **15**, 5626–5645 (2009).
48. Lan, Q., Chapman, R. S., Schreinemachers, D. M., Tian, L. W. & He, X. Z. Household stove improvement and risk of lung cancer in Xuanwei, China. *J. Natl. Cancer Inst.* **94**, 826–835 (2002).
49. Sapkota, A. *et al.* Indoor air pollution from solid fuels and risk of hypopharyngeal/laryngeal and lung cancers: a multicentric case-control study from India. *Int. J. Epidemiol.* **37**, 321–328 (2008).
50. Choi, J. R., Park, S. Y., Noh, O. K., Koh, Y. W. & Kang, D. R. Gene mutation discovery research of non-smoking lung cancer patients due to indoor radon exposure. *Ann. Occup. Environ. Med.* **28**, 13 (2016).
51. Preston, D. L. *et al.* Solid Cancer Incidence in Atomic Bomb Survivors: 1958–1998. *Radiat. Res.* **168**, 1–64 (2007).
52. Moneta, G. L. Exposure to Low-Dose Ionizing Radiation from Medical Imaging Procedures. *Yearb. Vasc. Surg.* **2010**, 63–65 (2010).
53. Brenner, D. J. Radiation Risks Potentially Associated with Low-Dose CT Screening of Adult Smokers for Lung Cancer. *Radiology* **231**, 440–445 (2004).
54. Choi, H. & Mazzone, P. Radon and lung cancer: Assessing and mitigating the risk. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* **81**, 567–575 (2014).
55. Robertson, A., Allen, J., Laney, R. & Curnow, A. The Cellular and Molecular Carcinogenic Effects of Radon Exposure: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **14**, 14024–14063 (2013).
56. Committee on Health Risks of Exposure to Radon (BEIR VI). *Health Effects of Exposure to Radon. Risks of exposure to radon, Board on radiation effects* (National Academies Press, 1999). doi:10.17226/5499
57. Darby, S. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of

- individual data from 13 European case-control studies. *BMJ* **330**, 223–0 (2005).
58. Sinitsky, M. Y., Larionov, A. V., Asanov, M. A. & Druzhinin, V. G. Associations of DNA-repair gene polymorphisms with a genetic susceptibility to ionizing radiation in residents of areas with high radon (^{222}Rn) concentration. *Int. J. Radiat. Biol.* **91**, 486–494 (2015).
 59. Sigfried, J. M., Stabile, L. P., Siegfried, J. M. & Stabile, L. P. Estrogenic steroid hormones in lung cancer. *Semin Oncol* **41**, 5–16 (2014).
 60. Bae, J. & Kim, E. H. Hormonal Replacement Therapy and the Risk of Lung Cancer in Women: An Adaptive Meta-analysis of Cohort Studies. *J. Prev. Med. Public Heal. Prev Med Public Heal.* **48**, 280–286 (2015).
 61. Siegfried, J. M. Smoking Out Reproductive Hormone Actions in Lung Cancer. *Mol Cancer Res* **12**, 24–31 (2014).
 62. Chlebowski, R. T. *et al.* Oestrogen plus progestin and lung cancer in postmenopausal women (Women’s Health Initiative trial): a post-hoc analysis of a randomised controlled trial. *Lancet* **374**, 1243–1251 (2009).
 63. Slatore, C. G., Chien, J. W., Au, D. H., Satia, J. A. & White, E. Lung Cancer and Hormone Replacement Therapy: Association in the Vitamins and Lifestyle Study. *J. Clin. Oncol.* **28**, 1540–1546 (2010).
 64. Clague, J. *et al.* Menopausal Hormone Therapy Does Not Influence Lung Cancer Risk: Results from the California Teachers Study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **20**, 560–564 (2011).
 65. Liang, H.-Y. *et al.* Facts and fiction of the relationship between preexisting tuberculosis and lung cancer risk: A systematic review. *Int. J. Cancer* **125**, 2936–2944 (2009).
 66. Wu, C.-Y. *et al.* Pulmonary tuberculosis increases the risk of lung cancer. *Cancer* **117**, 618–624 (2011).
 67. Prabhu, P. R., Jayalekshmi, D. & Pillai, M. R. Lung cancer and human papilloma viruses (HPVs): Examining the molecular evidence. *Journal of Oncology* **2012**, 1–10 (2012).

68. Hasegawa, Y. *et al.* Human papilloma virus in non-small cell lung cancer in never smokers: a systematic review of the literature. *Lung Cancer* **83**, 8–13 (2014).
69. Mammas, I. N., Sourvinos, G., Zaravinos, A. & Spandidos, D. A. Vaccination against Human Papilloma Virus (HPV): Epidemiological Evidence of HPV in Non-genital Cancers. *Pathol. Oncol. Res.* **17**, 103–119 (2011).
70. Clifford, G. M. *et al.* Cancer Risk in the Swiss HIV Cohort Study: Associations With Immunodeficiency, Smoking, and Highly Active Antiretroviral Therapy. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **97**, 425–432 (2005).
71. Hou, W., Fu, J., Ge, Y., Du, J. & Hua, S. Incidence and risk of lung cancer in HIV-infected patients. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **139**, 1781–1794 (2013).
72. Yu, N., Su, X., Wang, Z., Dai, B. & Kang, J. Association of Dietary Vitamin A and β -Carotene Intake with the Risk of Lung Cancer: A Meta-Analysis of 19 Publications. *Nutrients* **7**, 9309–9324 (2015).
73. Chen, G., Wang, J., Hong, X., Chai, Z. & Li, Q. Dietary vitamin E intake could reduce the risk of lung cancer: evidence from a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* **8**, 6631–6637 (2015).
74. Vieira, A. R. *et al.* Fruits, vegetables, and bladder cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Med.* **4**, 136–146 (2015).
75. Druesne-Pecollo, N. *et al.* Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Int. J. Cancer* **127**, 172–184 (2010).
76. Sun, Y., Li, Z., Li, J., Li, Z. & Han, J. A healthy dietary pattern reduces lung cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients* **8**, 1–10 (2016).
77. Luo, J., Shen, L. & Zheng, D. Association between vitamin C intake and lung cancer: a dose-response meta-analysis. *Sci. Rep.* **4**, 1–7 (2015).
78. Domingo, J. L. & Nadal, M. Carcinogenicity of consumption of red meat and processed meat: A review of scientific news since the IARC decision. *Food Chem. Toxicol.* **105**, 256–261 (2017).
79. Wolk, A. Potential health hazards of eating red meat. *J. Intern. Med.* **281**, 106–122

(2017).

80. Gorlova, O. Y., Weng, S.-F., Hernandez, L., Spitz, M. R. & Forman, M. R. Dietary Patterns Affect Lung Cancer Risk in Never Smokers. *Nutr. Cancer* **63**, 842–849 (2011).