

Estudo das alterações morfológicas causadas pela uretana em modelo de carcinogênese bucal DMBA-induzida*

The study of morphologic changes induced by urethane in an oral chemical carcinogenesis DMBA-induced model

Ana Terezinha Marques Mesquita*
 Nádia Lages Lima**
 Mireile S. G. dos Santos Souza***
 Flaviana Dornela Verli****

RESUMO

A proposta deste trabalho resultou da necessidade de se avaliar o potencial carcinogênico da uretana, em concentrações mais baixas, a partir do modelo experimental de carcinogênese bucal DMBA-induzida. Cem hamsters sírios dourados foram separados em cinco grupos experimentais. O grupo 1 recebeu aplicações tópicas de uretana 0.5% na borda lateral da língua; grupo 2, uretana 6%; grupo 3 uretana 0.5% + DMBA; grupo 4, uretana 6% + DMBA, e o grupo 5 – DMBA (controle positivo). Os dados obtidos mostraram que a uretana a 0.5% e 6% não induziu alterações histológicas nos grupos 1 e 2. A formação de carcinomas nos animais tratados com uretana e DMBA ocorreu em proporções menores quando comparada com o grupo controle positivo (DMBA). A uretana a 0.5% e 6% reduziu a carcinogenicidade do DMBA, e não apresentou potencial carcinogênico de iniciação, promoção e/ou progressão.

Palavras-chave:

Uretana, câncer bucal; Carcinogênese química

INTRODUÇÃO

Diversas substâncias químicas têm o potencial de iniciar e/ou promover o desenvolvimento de carcinomas. Este fato é preocupante, uma vez que o ser humano está constantemente exposto a essas substâncias através da poluição e hábitos dietéticos.

A característica primordial da carcinogênese é o somatório de efeitos nas células (HOMBURGER, 1969). Na etiopatogenia dos carcinomas bucais, os fatores locais mais envolvidos são o fumo, o álcool e as radiações solares (PINDBORG, 1981). Para KNUDSEN et al. (1990), a dieta é a maior determinante da saúde e doença do homem, quando considerada tanto do ponto de vista nutricional quanto toxicológico.

Quimicamente a uretana é definida como qualquer éster do ácido carbâmico (FERREIRA, 1986) e apresenta fórmula química NH COOC H (MERCK, 1976). Desde 1943, quando NETTLESHIP, HENSHAW, MEYER demonstraram o potencial carcinogênico da uretana, experimentos em animais e trabalhos de revisão têm sido publicados (MIRVISH, 1961; FIELD, LANG, 1988). Nota-se uma preocupação dos pesquisadores, uma vez que a uretana ocor-

re naturalmente em alimentos fermentados, tais como pães, iogurtes, molhos de soja e em bebidas alcoólicas como vinhos, licores, uísque e cachaça (LÖFROTH, GEJVALL, 1971; OUGH, 1976; BATTAGLIA, CONACHER, 1990; NAGATO, 1995).

Devido ao efeito somatório sobre as células, todo e qualquer agente potencialmente carcinogênico deve ser avaliado quanto à sua ação sobre a mucosa bucal, pois somar-se-á aos efeitos dos demais. A boca, neste aspecto, constitui-se no local mais submetido à ação carcinogênica do organismo humano, juntamente com a pele (HARNDEN, 1992). A uretana apresentou potencial carcinogênico, após administração de altas doses (NETTLESHIP, HENSHAW, MEYER, 1943). A necessidade de obter dados científicos sobre os riscos causados pelos baixos níveis de uretana, aos quais o homem está exposto através dos alimentos fermentados e bebidas alcoólicas, nos conduziu à realização deste trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem consistiu de 100 hamsters sírios dourados, com peso corporal médio de 192g e idade média de cem dias, sem

diferenças de distribuição quanto ao sexo. Os animais foram separados em cinco grupos, com 20 espécimes cada. Estes grupos foram divididos em subgrupos de 13 e 20 semanas, com 10 espécimes cada. Em todos os animais, a aplicação tópica das soluções foi realizada na borda lateral direita do terço médio da língua. Os hamsters do grupo 1 receberam aplicações tópicas semanais de uretana a 0.5%, em dias alternados. No grupo 2, realizaram-se aplicações tópicas semanais de uretana a 6%, em dias alternados. O grupo 3 recebeu aplicações tópicas semanais de uretana a 0.5% e de DMBA a 0.5%, em dias alternados. O grupo 4 foi submetido ao mesmo tratamento do grupo 3, porém com a uretana a 6%. O grupo 5, "controle/positivo", recebeu aplicações tópicas do carcinógeno 9,10-dimetil 1,2-benzantraceno, DMBA a 0.5%, em dias alternados.

A superfície da borda lateral do terço médio da língua era pincelada três vezes por semana, por quatro vezes consecutivas. Ao evitar o excesso das soluções no pincel, impediu-se ao máximo a deglutição das mesmas pelos animais.

No final de cada período, realizou-se o

*Dissertação defendida pela primeira autora para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração: Estomatologia.

**Prof.^a Dr.^a de Patologia Bucal da FAFEOD, Orientadora.

***Prof.^a Dr.^a de Patologia Bucal da FAFEOD.

****Mestre em Estomatologia pela FAFEOD.

sacrifício dos animais por inalação excessiva de éter sulfúrico. Procedeu-se à necropsia da língua, linfonodos regionais, pulmões, fígado, estômago, intestino, rins e outros órgãos. Os espécimes foram fixados em formalina a 10%, contida em frascos devidamente etiquetados e identificados, onde permaneceram por 24 a 48h. Com os tecidos incluídos em blocos de parafina, obtiveram-se cortes de 3mm de espessura. Os cortes foram corados pela técnica da hematoxilina e eosina (H.E.). Alguns cortes histológicos dos grupos de associação (uretana + DMBA) e controle positivo (DMBA) foram preparados para imunohistoquímica, para a proteína p53 com o anticorpo monoclonal, PAb 240 (DAKO).

A positividade para a proteína p53 foi indicada pela presença de núcleos corados em castanho. Conforme parâmetros de REGEZI et al. (1995), estabeleceu-se os seguintes escores: marcação negativa (-); marcação leve (+ = 3 a 9% das células marcadas); moderada (++ = 10 a 50%) e intensa (+++ = mais de 50%).

RESULTADOS

As alterações macroscópicas, principalmente manchas brancas, predominaram no grupo 5 (DMBA), após 13 semanas. Os animais dos grupos 1 e 2 (uretana 0.5% e 6%), não apresentaram alterações nos dois períodos experimentais. As manchas brancas foram mais freqüentes nos grupos 3 e 4 (uretana + DMBA), e as formações exofíticas predominaram no grupo 5 (DMBA), após 20 semanas (Tabelas 1 e 2; Figura 2).

Nos grupos 3, 4 e 5, as alterações epiteliais observadas no período de 13 semanas foram predominantemente displásicas. Após 20 semanas, os carcinomas de células escamosas papiliforme pequeno predominaram no grupo 5 (DMBA), contrastando com a normalidade tecidual demonstrada nos grupos 1 e 2 (uretana), em períodos de 13 e 20 semanas (Tabelas 3 e 4; Figura 3). A expressão da proteína p53 foi mais freqüente no grupo 5 (DMBA), conforme Tabela 5 e Figura 4.

Tabela 1: Alterações macroscópicas observadas nos dois períodos experimentais, ao final de 13 semanas.

Grupos	Alterações macroscópicas (13 semanas)					
	Sem alterações		Mancha branca		Formação exofítica	
Grupo 1	20	100%	-	-	-	-
Grupo 2	20	100%	-	-	-	-
Grupo 3	18	90%	2	10%	-	-
Grupo 4	16	80%	4	20%	-	-
Grupo 5	3	15%	16	80%	1	5%
Total	77	77%	22	22%	1	1%

Tabela 2: Alterações macroscópicas observadas ao final de 20 semanas

Grupos	Alterações macroscópicas (13 semanas)					
	Sem alterações		Mancha branca		Formação exofítica	
Grupo 1	10	100%	-	-	-	-
Grupo 2	10	100%	-	-	-	-
Grupo 3	3	90%	5	55.6%	1	11.1%
Grupo 4	-	-	6	60%	4	40%
Grupo 5	-	-	2	20%	8	80%
Total	23	47.9%	13	26.5%	13	26.5%

Tabela 3: Alterações microscópicas evidenciadas nos grupos experimentais de 13 semanas.

Grupos	Alterações macroscópicas (13 semanas)									
	Mucosa normal		Hiperplasias e hiperkeratose		Displasia		Carcinoma microinvasivo		Carcinoma células escamosas papiliforme pequeno	
	n*/n**	%	n*/a	%	n*/a	%	n*/a	%	n*/a	%
Grupo 1	10/10	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Grupo 2	10/10	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Grupo 3	-	-	103	30	107	70	-	-	-	-
Grupo 4	-	-	104	40	106	60	-	-	-	-
Grupo 5	-	-	102	20	108	80	-	-	-	-
Total	50/20	40%	509	18%	502/1	42%	00	0%	00	0%

n* = número de estruturas anatômicas linguais; n** = número de estruturas com mucosa normal; a = número de alterações histopatológicas correspondentes à coluna em questão.

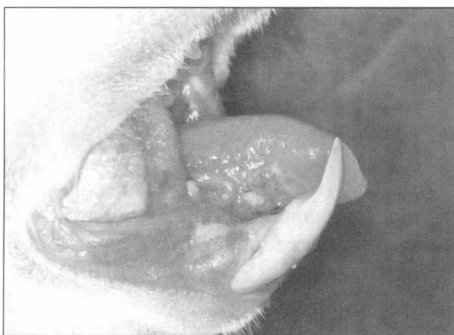
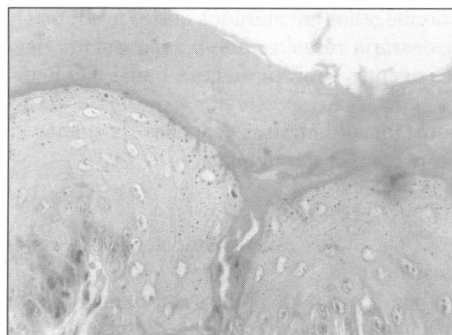
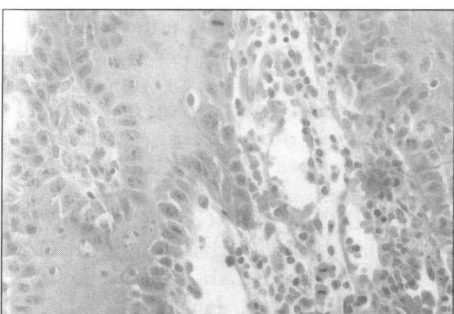
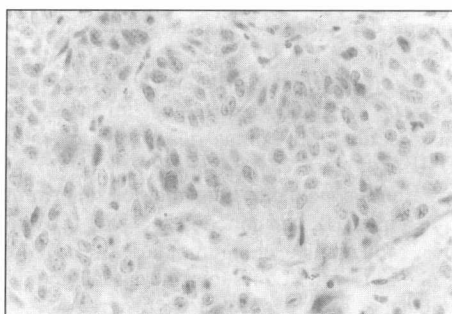
Tabela 4: Alterações microscópicas evidenciadas nos grupos experimentais de 20 semanas.

Grupos	Alterações macroscópicas (20 semanas)									
	Mucosa normal		Hiperplasias e hiperqueratose		Displasia		Carcinoma microinvasivo		Carcinoma células escamosas papiliforme pequeno	
	n*/n**	%	n*/a	%	n*/a	%	n*/a	%	n*/a	%
Grupo 1	10/10	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Grupo 2	109	100	-	-	101	10	-	-	-	-
Grupo 3	-	-	-	-	92	22,2	94	44,5	93	33,3
Grupo 4	-	-	101	10	103	30	102	20	104	40
Grupo 5	-	-	-	-	103	30	102	20	105	50
Total	49/19	38,8%	49/1	2%	499	18,4%	498	16,3%	49/12	24,5%

n* = número de estruturas anatômicas linguais; n** = número de estruturas com mucosa normal; a = número de alterações histopatológicas correspondentes à coluna em questão.

Tabela 5: Resultados da marcação imunohistoquímica nos grupos de associação (uretana + DMBA) e controle positivo (DMBA), em 20 semanas.

Grupos (20 semanas)	Anticorpo p53 - clone PAb 240				Lâminas perdidas			
	n*/p53(-)	%	n*/p53(+)	%	n*/p53(++)	%	n*/perdidas	%
Grupo 3	107	70	101	10	101	10	101	10
Grupo 4	107	70	102	20	-	-	101	10
Grupo 5	-	-	108	80	101	10	101	10
Total	30/14	46,7%	30/11	36,7%	30/2	6,6%	30/3	10

**FIG. 1:** Aspecto clínico do carcinoma de células escamosas papiliforme pequeno, no grupo 4.**FIG. 2:** Displasia epitelial do tipo Darier, com cristas epiteliais em forma de gota (80X - H.E.).**FIG. 3:** Carcinoma de células escamosas papiliforme pequeno, com pleomorfismo celular e mitoses atípicas (160X - H.E.).**FIG. 4:** Carcinoma de células escamosas papiliforme pequeno, com marcação leve para p53 (160X - imunohistoquímica).

DISCUSSÃO

A grande prevalência de câncer bucal se relaciona com a ação de agentes e de fatores físicos e químicos. No mundo moderno, com a industrialização, as substâncias químicas possuem grande importância na indução de carcinomas em humanos. As substâncias químicas, potencialmente carcinogênicas parecem ser a causa mais importante e conhecida de carcinomas, pois, as freqüentes exposições a elas, em consequência dos hábitos alimentares e sociais (bebidas alcoólicas e cigarro) e poluentes ambientais, passaram a exercer influência sobre o desenvolvimento de carcinomas (DAHL, MILLER, MILLER, 1980).

As substâncias testadas neste trabalho foram utilizadas em associação e isoladamente, para averiguar se a uretana seria capaz de iniciar e/ou promover carcinomas, nas concentrações de 0.5% e 6%. Pesquisadores consideraram que a uretana tem ação iniciadora (NETTLESHIP, HENSHAW, MEYER, 1943; SALAMAN, ROE, 1953) ou promotora (SALAMAN, ROE, 1953). A exata concentração mínima de uretana, necessária para produzir carcinomas, não foi determinada. Segundo YAMAMOTO et al. (1990), a uretana é um carcinógeno animal fraco, pois necessita de altas doses para produzir carcinomas em animais. Esta evidência de carcinogenicidade em animais, representa um risco para humanos (IARC, 1986).

O 9,10-dimetil-1,2-benzantraceno (DMBA), hidrocarboneto aromático policíclico, age como iniciador e promotor de carcinomas (MORRIS, 1961; ODUKOYA, SHKLAR, 1984). Por esta razão foi utilizado neste experimento, como controle positivo, na concentração de 0.5%. Neste grupo, 70% dos animais desenvolveram carcinoma após 20 semanas. O mesmo foi observado por LIMA (1999). Em 13 semanas não ocorreu formação de carcinomas, mas as alterações displásicas foram predominantes. Macroscopicamente, as lesões eram visíveis a partir de 13 semanas e aumentavam de tamanho de forma gradativa, conforme observado por FUJITA et al., 1973; FASSONI, 1992.

Em relação à uretana, existem estimativas de que doses diárias de 10mg/kg, produziram tumores em 50% dos animais ao longo da vida (HARNDEN, 1992). Acreditamos na possibilidade da exposição humana a estes níveis, pelos hábitos dietéticos. DOLL, PETO (1981), atribuíram uma média de 35% dos cânceres humanos aos fatores dietéticos, os quais somos capazes de controlar. Dentre estes fatores, além do álcool e alguns ácidos graxos, GREENWALD, CLIFFORD, MILNER, em 2001, acrescentaram os métodos de preparação dos alimen-

tos.

Neste experimento, utilizamos a uretana diluída em água com a finalidade de testarmos seu potencial carcinogênico, sem a interferência do solvente. Os níveis de uretana mais comuns à exposição humana variam de 0.5% a 6%, o que justifica a escolha destas concentrações.

A uretana pode ser considerada um carcinógeno dietético humano. Seu conteúdo em bebidas alcoólicas e alimentos fermentados, deve ser tão baixo quanto possível (SCHLATTER, LUTZ, 1990). Como doses mínimas de agentes carcinogênicos podem produzir mudanças celulares na iniciação (ODUKOYA, SHKLAR, 1984) e, considerando a exposição humana a outros fatores de risco e, sobretudo, a prevenção da carcinogênese, sugerimos que os níveis de uretana nos produtos alimentícios devem ser monitorados.

Os grupos 1 e 2, tratados somente com uretana, não apresentaram lesões visíveis macroscópica e microscopicamente nos dois períodos experimentais. Em contraste, ocorreram alterações macroscópicas nos grupos 3 (DMBA + uretana 0.5%), 4 (DMBA + uretana 6%) e, com maior frequência, no grupo 5 (DMBA). O mesmo não foi observado por SALAMAN e ROE (1953), quando aplicações de uretana a 20% e óleo de cróton na pele de camundongos provocaram papilomas cutâneos.

As alterações displásicas foram predominantes nos grupos 3, 4 e 5 no período de 13 semanas, com maior índice no grupo 5. Em 20 semanas, os carcinomas microinvasivos manifestaram-se no grupo 3 com quatro lesões, grupos 4 e 5 com duas lesões em cada grupo. Quanto aos carcinomas de células escamosas papiliforme pequeno, os grupos 3, 4 e 5 apresentaram três, quatro e cinco lesões respectivamente. Observou-se uma diminuição das alterações macroscópicas e microscópicas nos grupos tratados com uretana e DMBA, quando comparados com o grupo controle positivo (grupo 5). Estes resultados confirmaram que a uretana, nas concentrações de 0.5% e 6%, não teve potencial de iniciação, promoção e/ou de progressão de carcinomas.

Os estudos sobre os efeitos carcinogênicos da uretana comprovaram seu potencial iniciador e promotor (NETTLESHIP, HENSHAW, MEYER, 1943; SALAMAN, ROE, 1953; SCHMÄHL, PORT, WARRENDORF, 1977), porém as doses transcenderam os níveis comuns de exposição humana.

A análise dos órgãos à distância mostrou, nesta metodologia, que não houve alterações significantes macroscópica e microscopicamente. Estes resultados não são confirmados pelos estudos da carcinogenicidade da

uretana, que mostraram desenvolvimento de tumores no pulmão (NETTLESHIP, HENSHAW, MEYER, 1943), fígado (MIRVISH, 1968) e glândulas mamárias (SCHMÄHL, PORT, WARRENDORF, 1977). Esta discrepância pode ser justificada pelas diferenças na metodologia, com doses sistêmicas elevadas de uretana.

A expressão positiva da proteína p53 foi predominante no grupo 5, com maior prevalência de carcinomas microinvasivo e de células escamosas papiliforme pequeno. Este resultado confirma os achados sobre a expressão da proteína p53 em carcinomas humanos, com algum grau de diferenciação (REGEZI et al., 1995; HÖGMO et al., 1998).

Nossos resultados sugeriram que a uretana aplicada topicamente em concentrações de 0.5% e 6%, não foi capaz de atuar como agente iniciador, promotor e/ou de progressão de carcinomas. Isto significa que os baixos níveis de uretana presentes nos alimentos fermentados, por si só, não apresentaram potencial carcinogênico para humanos. Os estudos que comprovaram o potencial carcinogênico da uretana, utilizaram-na em altas doses administradas sistemicamente, o que explica a controvérsia destes resultados. Nas bebidas alcoólicas os níveis de uretana são variáveis e representam mais um dos fatores que podem potencializar a ação de carcinógenos encontrados nestes produtos. É necessário ressaltar que a ação isolada destes agentes sobre a mucosa bucal não ocorre, uma vez que estamos expostos a várias substâncias químicas, capazes de iniciar e/ou promover carcinomas.

CONCLUSÕES

Pela análise dos resultados pode-se constatar que:

- A uretana diluída em água 0,5% e 6% não induziu alterações teciduais, na borda lateral da língua e em outros órgãos de hamsters;
- Quando associada ao DMBA, a uretana a 0.5% e 6% demonstrou diminuição da capacidade de formação de carcinomas;
- A positividade da marcação para p53, apesar de pouco expressiva, foi mais frequente nos carcinomas desenvolvidos pelo DMBA.

Como conclusão, os resultados sugeriram que a uretana, nas concentrações de 0.5% e 6%, reduziu a carcinogenicidade do DMBA, e não apresentou potencial carcinogênico de iniciação, promoção e/ou de progressão.

ABSTRACT

The study examined the carcinogenic potential of urethane in lower concentration forms according to the experimental oral

carcinogenesis DMBA-induced model. One hundred Syrian golden hamsters were separated in five experimental groups. Group 1 received 0.5% urethane topical applications along in the lateral border of the tongue; group 2, 6% urethane; group 3, 0.5% urethane + 9,10 dimethyl 1,2-benzanthracene (DMBA); group 4, 6% urethane + DMBA; and group 5, assigned positive control, DMBA. The results indicated no histological alterations in groups 1 and 2 induced by 0.5% and 6% urethane. The formation of carcinomas in animals treated with urethane and DMBA was visible in lesser proportions when compared with the positive control group (DMBA). The 0.5% and 6% urethane decreased carcinogenicity of DMBA and did not present carcinogenic potential for initiation, promotion and/or its progression.

Keywords

Urethane, oral cancer, chemical carcinogenesis

REFERÊNCIAS

BATTAGLIA, R.; CONACHER, H.B.S.; PAGE, B.D. Ethyl carbamate (urethane) in alcoholic beverages and foods: a review. **Food Addit. and Contam.**, Basingstoke, v.7, n.4, p.477-496, 1990.

DAHL, G.A.; MILLER, E.C.; MILLER, J.A. Comparative carcinogenicities and mutagenicities of vinyl carbamate, ethyl N-hydroxycarbamate. **Cancer Res.**, Baltimore, v.40, p.1194-1203, Apr.1980.

DOLL, R.; PETO, R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. **JNCI**, 66, p.1192-1308, 1981.

FASSONI, A.A. **Carcinogênese bucal química DMBA-induzida**: estudo metodológico em hamsters sírios dourados. Bauru, 1992. 98F. Dissertação (Mestrado em Patologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru.

FERREIRA, A.B.H. **Novo dicionário da língua portuguesa**. 2.ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1986, p.1741.

FIELD, K. J.; LANG, C.M. Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature. **Lab. Anim.**, London, v.22, p.255-262, Jan.1988.

FUJITA, K. et al. Experimental production of lingual carcinoma in hamsters: tumor characteristics and site of formation. **J. Dent. Res.**, Alexandria,

v.52, n.º6, p.1176-1185, Nov./Dec. 1973.

GREENWALD, P.; CLIFFORD, C.K.; MILNER, J.A. Diet and cancer prevention. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v.37, n.º8, p.948-965, May 2001.

HARNDEN, D.G. Neoplasia: carcinogenesis. In: MCGEE, J.O.D.; ISAACSON, P.; WRIGHT, N.A. **Oxford textbook of pathology**. New York: Oxford University Press, 1992. Cap.9, p.633-678.

HÖGMO, A. et al. Nuclear DNA content and p53 overexpression in stage I squamous cell carcinoma of the tongue compared with advanced tongue carcinomas. **J. Clin. Pathol.**, v.51, p.268-272, 1998.

HOMBURGER, F. Chemical carcinogenesis in the Syrian golden hamster: a review. **Cancer**, Philadelphia, v.23, n.º2, p.313-338, Feb.1969.

IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. **IARC**, Lyon, v.39, p.13-32, 1986.

KNUDSEN, I. et al. Carcinogenesis of foods. **Prog. Clin. Biol. Res.**, Soborg, 340E:179-187, 1990.

LIMA, N.L. **Estudo das alterações morfológicas causadas pela indução concomitante de DMBA e bebidas alcoólicas de alto teor na carcinogênese química bucal**. Bauru, 1999. 104f. Tese (Doutorado em Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru.

LÖFROTH, G.; GEJVALL, T. Diethyl pyrocarbonate: formation of urethan in treated beverages. **Science**, Washington, v.174, n.º15, p.1248-1250, 1971.

MERCK index. 8. Rahway, p.1267, 1976.

MIRVISH, S.S. The carcinogenic action and metabolism of urethan and N-hidroxurethan. **Adv. Cancer Res.**, New York, p.1-42, 1968.

MORRIS, A.L. Factors influencing experimental carcinogenesis in the hamster cheek pouch. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v.40, n.º1, p.3-15, Jan./Feb.1961.

NAGATO, L.A.F. **Análise de uretana em bebidas alcoólicas fermento-des-**

tiladas. São Paulo, 1995. 84f. Dissertação (Mestrado em Bromatologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

NETTLESHIP, A.; HENSHAW, P.S.; MEYER, H.C. Induction of pulmonary tumors in mice with ethyl carbamate (urethane). **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda, v.4, p.309-319, 1943.

ODUKOYA, O.; SHKLAR, G. Initiation and promotion in experimental oral carcinogenesis. **Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol.**, St. Louis, v.58, n.º3, p.315-320, Sept. 1984.

OUGH, C.S. Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. II. Possible formation of ethylcarbamate from diethyl dicarbonate addition to wine. **J. Agric. Food Chem.**, California, v.24, n.º2, p.328-331, 1976.

PINDBORG, J.J. **Câncer e pré-câncer bucal**. São Paulo: Panamericana, 1981.

REGEZI, J.A. et al. P53 protein expression in sequential biopsies of oral dysplasias and *in situ* carcinomas. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.24, n.º1, p.18-22, Jan.1995.

SALAMAN, M.H.; ROE, F.J. Incomplete carcinogens: ethyl carbamate (urethane) as an initiator of skin tumour formation in the mouse. **Br. J. Cancer**, Basingstoke, v.7, p.472-481, 1953.

SCHLATTER, J.; LUTZ, W.K. The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. **Food Chem. Toxicol.**, Exeter, v.28, n.º3, p.205-211, 1990.

SCHMÄHL, D.; PORT, R.; WARRENDORF, J. A dose-response study on urethane carcinogenesis in rats and mice. **Int. J. Cancer**, New York, v.19, n.º1, p.77-80, 1977.

YAMAMOTO, T. et al. Ethyl carbamate metabolism: *in vivo* inhibitors and *in vitro* enzymatic systems. **Drug Metab. Dispos.**, v.18, n.º3, p.276-280, 1990.

Endereço para correspondência:

Ana Terezinha Marques Mesquita
Rua do Tijuco, 360A
CEP 39100-000 - Diamantina/MG
e-mail: anammesquita@bol.com.br