

Efeito dos micronutrientes sobre o metabolismo celular

Parte I – Estudos animais

Effect of micronutrients in cellular metabolism - Part I – Animals studies

Orlando de Oliveira Borges*

RESUMO – Os radicais livres estão envolvidos em várias patologias como catarata, aterosclerose, câncer, infarto, derrame, doenças neurodegenerativas e inflamação entre outras. A principal fonte geradora de radicais livres no organismo é o estresse oxidativo. Os micronutrientes alimentares, como os carotenóides, despontam como candidatos a agentes quimioprotetores agindo como antioxidantes. Este estudo revê a bibliografia sobre os estudos animais que relacionam os micronutrientes e proteção contra os radicais livres.

PALAVRAS-CHAVES – Radicais livres, antioxidantes, estresse oxidativo, carotenóides, β -caroteno, vitamina A, câncer, estudos animais.

SUMMARY – The free radicals are involved in several pathologies such as cataracts, heart attacks, arteriosclerosis, cancer, stroke, neurodegenerative illnesses and inflammation among others. The principal source of free radicals in the organism is oxidative stress. The micronutrients found in foodstuffs, particularly β -carotene are candidates for the position of protecting agents due to their antioxidation action. This study reviews the studies done with animals over the last thirty years relating micronutrients and protection against free radicals.

KEYWORDS – Free radical, cancer, β -carotene, animals studies, oxidative stress, vitamine A.

INTRODUÇÃO

Muitos agentes causadores de malefícios ao corpo humano não são provenientes do meio externo, não são xenobióticos. Esses agentes causadores de danos ao organismo humano, podem ser gerados no próprio corpo, oriundos do metabolismo celular, chamado de estresse oxidativo. Estresse oxidativo reflete a inversão do balanço entre os agentes peroxidantes e agentes pró-oxidantes-antioxidantes, que caracteriza o estado aeróbico normal, levando a produtos mal formados²⁴.

Uma dessas substâncias é uma molécula ou um fragmento molecular que contém um ou mais elétrons desemparelhados no seu orbital mais externo, sendo por isso chamado de radical livre^{11,15}. Esses radicais livres são formados por ganho ou perda de um elétron por fissão homolítica de uma ligação covalente¹¹. Embora o conceito de radicais livre já seja um velho conhecido da química inorgânica, o estudo do seu envolvimento em patologias é relativamente novo. A principal fonte endógena de radicais livres é a peroxidação dos lipídios (auto-oxidação). A peroxidação lipídica *in vivo* fornece um forte suprimento de radicais livres, gerando entre outros, o ânion superóxido, H_2O_2 , O_2 , OH^- e etc. Estas espécies reativas são produzidas durante o próprio metabolismo aeróbico. Assim, todos os organismos são susceptíveis ao estresse oxidativo simplesmente porque todas as espécies de oxigênio semi-reduzido, superóxido e peróxido de hidrogênio são produzidas pelas mitocôndrias durante a respiração^{8,9}.

Este processo de geração de radicais livres é geralmente representado como:

Iniciação: produção de R^\cdot a partir de um precursor molecular:

Propagação: $R^\cdot + O_2 \rightarrow ROO^\cdot$

$ROO^\cdot + ROH \rightarrow ROOH + R^\cdot$

Término: $ROO^\cdot + ROO^\cdot \rightarrow$ produtos não radicais.

Vários estudos apontam na direção de que radicais livres estão envolvidos em várias patologias tais como, injúria do DNA celular, mutação, peroxidação dos lipídios da membrana, levando ao processo de carcinogênese e podendo também ocasionar morte celular²⁷, trombose, neoplasias, doenças neurodegenerativas, hipertensão arterial, aterosclerose¹⁵.

O principal determinante da toxicidade de um radical livre é sua reatividade, que depende ao mesmo tempo de dois fatores: termodinâmico (isto é, tendência espontânea de ocorrer a ligação) e fatores cinéticos (isto é, a velocidade com que reação ocorre)¹⁵.

Para controlar ou reduzir a peroxidação lipídica o organismo faz uso de compostos conhecidos como antioxidantes⁶. Antioxidantes são compostos que, quando presentes em baixas concentrações relativas a um substrato oxidável, retardam ou impedem de modo significativo a sua oxidação. Burton & Ingold⁶, dividem os antioxidantes em duas classes: antioxidante preventivo, que reduz a iniciação da quebra da cadeia. Como exemplo as enzimas catalase, glutatión peroxidase (GP) e antioxidantes quebradores de cadeias, que interferem com a propagação da quebra pela retirada dos radicais, radicais estes responsáveis pela quebra da cadeia, ROO^\cdot ou R^\cdot , neste grupo se encontrando superóxido desmutase (SOD) e vitamina E.

Este estudo tem por objetivo rever os estudos animais nos últimos 30 anos, onde a administração de carotenóides como o β -caroteno, um antioxidante, reduziu o aparecimento de câncer.

Recebido em 17/8/2003

*Professor de Farmacodinâmica e Farmacologia da Faculdade de Farmácia e de Medicina da Universidade Severino Sombra; Professor de Farmacologia e Psicofarmacologia das Faculdades de Odontologia e Psicologia da Universidade Veiga de Almeida.

Metodologia

Com o intuito de reunir os estudos animais nos últimos 30 anos, revisou-se a literatura especializada. Os dados obtidos foram agrupados em tabela sendo relacionado o tratamento com o micronutriente e o sítio do câncer.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Devido ao acúmulo de evidências dos estudos epidemiológicos, atribuindo ao β -caroteno a função de um agente quimioprotetor por inibir o aparecimento de certos tipos de tumores, estudos animais são realizados para melhor entendermos como o β -caroteno causa esses efeitos.

O β -caroteno tem sido considerado como um anticarcinogênico, com base em estudos epidemiológicos em humanos e nos estudos experimentais. Este efeito anticarcinogênico tem sido relacionado a sua capacidade antioxidante, que inibe ou impede a formação de radicais livres^{6,21}.

Segundo Krinsky¹³, os estudos animais podem ser divididos em dois grupos: estudos *in vitro*, que poderia ser através de estudos de cultura de órgãos e células, e estudos *in vivo* ou estudos em animais propriamente ditos, que poderiam ser a fotocarcinogênese e proteção contra a carcinogênese química, por exemplo.

A Tab. I sumariza alguns estudos animais nos últimos 30 anos, que mostram ou não o efeito protetor do β -caroteno sobre alguns danos induzidos por agentes químicos.

Os radicais livres, ao que tudo indica, são agentes que se enquadram como indutores de carcinogênese. Ao serem gerados eles podem causar injúria no DNA, mutação, dando início ao processo da carcinogenicidade. Os leucócitos, em especial os neutrófilos, e outras células fagocitárias do sistema

imune, combatem bactérias, parasitas e células infectadas por vírus, destruindo essas células às custas destes oxidantes, que por sua vez destruirão os próprios leucócitos, e a conseqüente inflamação, é a principal origem de NOx (uma mistura de óxido de nitrogênio reativo) que acredita-se contribuir para a formação do câncer e de doenças cardíacas e também do envelhecimento^{1,5}.

As mutações podem ter origem em erros no sistema de reparo dos danos causados ao DNA, que são transmitidos às células filhas através do processo mitótico do ciclo celular. As mutações ditas importantes para a iniciação da carcinogênese são aquelas que não matam a célula e que ativam ou expressam os produtos oncogênicos e inativam o processo de reparo celular¹⁰.

Vários são os mecanismos de defesa do organismo, como as enzimas, SOD, catalase e o GP, bem como os antioxidantes provenientes da ingestão diária, β -caroteno, α -tocoferóis e vitamina C².

Antioxidantes são compostos que retardam ou impedem a oxidação no caso dos carotenóides, sua ação antioxidante se deve ao fato do grande número de ligações duplas conjugadas presentes na sua molécula. Aos carotenóides são atribuídas várias atividades biológicas, tanto em animais como também em humanos. Dentre essas atividades, estão a capacidade de exercer um papel contra o câncer, efeito quimioprotetor^{18,20}, imunomodulação e supressão da aterosclerose e prevenção de cataratas³⁰. Alguns outros autores atribuem ao β -caroteno o papel de "lixeiro fisiológico". Schmitz *et al.*²², apontam o α e β -carotenos, a criptoxantina, luteína e licopeno como os 5 principais carotenóides que apresentam atividade pró-vitamina A, sendo este um termo geral referindo-se a compostos que apresentam atividade biológica como o retinol¹². Os dados agrupados na tabela relacionando micronutrientes e

TABELA I
Sumário dos estudos animais

Achados	Sítio do câncer	Referências (mostrando associação)	Referências (não mostrando associação)
β -caroteno aumentou o "gap junction"	células incubadas	31	
β -caroteno inibiu a liberação de fibronectina	células de embriofibroblastos de camundongo (C3h/10T $\frac{1}{2}$)	23	
Carotenóides preveniram o desenvolvimento de proteinúria e linfo adenopatia	camundongos MRL/l	29	
Deficiência e suplementação de vitamina A	tumores de células escamosas do trato respiratório		7
β -caroteno inibiu carcinogênese hepática espontânea	camundongos	19*	
β -caroteno inibiu carcinogênese mamária	ratos	3	
Retinóides inibiram carcinogênese mamária	ratos	17 18 28	
Retinóides inibiram a carcinogênese epitelial	camundongos	30	
Vitamina A inibiu o desenvolvimento de carcinoma hepático	ratos	20	
Retinóides inibiram carcinogenes na bexiga urinária	ratos hamster	26 4	
Vitamina A inibiu carcinogenes na cavidade oral	hamster	14	
Vitamina A inibiu carcinogenes no esôfago e estômago	hamster	25	

(*) houve uma redução da carcinogenicidade mas de modo não significativo.

sítio do câncer, indicam que os micronutrientes exercem uma ação protetora sobre o câncer.

Murakoshi e colaboradores¹⁹, observaram no seu estudo que o α -caroteno apresentou um efeito protetor muito maior do que o β -caroteno, e que quando os animais receberam caroteno de óleo de palma, que consiste de 30% de α -caroteno, 60% de β -caroteno e 10% de outros carotenóides (γ -caroteno, licopeno etc.) a supressão da carcinogênese hepática foi muito maior do que a do α e do β -carotenos quando empregados isoladamente. Este resultado mostrou que a combinação de micronutrientes pode ser a responsável por este efeito fortemente inibitório ou protetor da carcinogênese e que o β -caroteno pode servir como um marcador biológico para estes micronutrientes.

Estudos em humanos apontam também a ação protetora desses micronutrientes, em estudos de suplementação alimentar, relacionando também micronutrientes e sítio do câncer.

Os estudos sobre os micronutrientes alimentares, tanto em animais quanto em humanos, apontam na direção em que a farmacologia e a nutrição juntamente estão convergindo para a produção de um novo campo em que as vitaminas serão usadas para ajudar a prevenir doenças, melhorando saúde e o bem estar.

REFERÊNCIAS

- Ames, B.N.; Micronutrients prevent cancer and delay aging. *Toxicology Letters* 102-103:5-18, 1998.
- Ames, B.N. & Gold, L.S. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutation Research* 250:3-16, 1991.
- Anzano, M.A.; Byers, S.W.; Smith, J.M.; Peer, C.W., Mullen, T.L., Brown, C.C.; Roberts A.B.; & Sporn, M.B. Prevention of breast cancer in the rat with 9-cis-retinoic acid as a single agent and in combination with Tamoxifen. *Cancer Research*, 54:4614-4617, 1994.
- Becci, P.J., Thompson, J.H., Grubbs, C.J., Squire, R.A. Brown, C.C., Sporn, M.B. & Moon, R.C. Inhibitory effect of 13-cis-retinoic acid on urinary bladder carcinogenesis induced in C57BL/6 mice by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine. *Cancer Research*, 38:4463-4466, 1978.
- Bendich, A. Carotenoids and the Immune Response. *Journal of Nutrition*, 119: 112-115, 1989.
- Burton, G.W. & Ingold, K.U. β -caroten: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*, 224: 569-573, 1984.
- Cohen, S.M.; Wittrenberg, J.F. & Bryan, G.T. Effects of avitaminosis A and hypervitaminosis A on urinary bladder carcinogenicity of N-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide. *Cancer Research*, 36:2334-2339, 1976.
- Floyd, R.A. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 222:236-245, 1999.
- Fu, Y; Cheng, W.; Ross, D.A. & Lei, X.G. Cellular glutathione peroxidase protects mice against lethal oxidative stress induced by various doses of diquat. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 222:164-169, 1999.
- Gomes-Carneiro, M.R., Ribeiro-Pinto, L.F.; Paumgarten, F.J.R. Fatores de risco ambientais para o câncer gástrico: a visão do toxicologista. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 13 (supl. 1) 27-38, 1997.
- Gregus Z. & Klaassen, C.D. Mechanisms of Toxicity In: Casarett & Doull's *Toxicology The Basic Science of Poison*. Curtis D. Klaassen (Eds) Fifth Edition, McGraw-Hill, 1996.
- Hinds, T.S. West, W.L., Knight, E.M. Carotenoids and Retinoids: A review of research, clinical and public health applications. *J.Clin. Pharmacol.* 37: 551-558, 1997.
- Krinsky, N.I. Carotenoids and cancer in animal models. *Journal of Nutrition* 119:123-126, 1989.
- Levij, I.S. & Polliack, A. Potentiating effect of vitamin A on 9-10 dimethyl 1-2 benzantracene-carcinogenesis in the hamster cheek pouch. *Cancer* 22(2):300-306, 1968.
- Luz, P.L. & Laurindo, F.R. Radicais livres e antioxidantes em doenças cardiovasculares. In: *Farmacologia e terapêutica cardiovascular*. Michel Batlouni e José A. F. Ramires (Eds) 1a Edição. Editora Atheneu, 1999.
- Mayne, S.T., Janerich, D.T., Greenwald, P., Chorosz, S., Tucci, C., Zaman, M.B., Melamed, M.R., Kiely, M. & McKneally, M.F. Dietary beta carotene and lung cancer risk in U.S. Nonsmokers, *Journal of the National Cancer Institute*. 86(1): 687-692, 1994.
- Moon, R.C.; Grubbs, C.J. & Sporn M.B. Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis by retinyl acetate. *Cancer Research* 36:2626-2630, 1976.
- Moon, R.C.; Thompson, H.J.; Becci, P.J.; Grubbs, C.J.; Gander, R.J.; Newton, D.L.; Smith, J.M.; Phillips, S.L.; Henderson, W.R.; Mullen, L.T., Brown, C.C. & Sporn, M.B. N-(4-hydroxyphenyl)retinamide, a new retinoid for prevention of breast cancer in the rat. *Cancer Research* 39:1339-1346, 1979.
- Murakoshi, M., Nishino, H., Satomi, Y., Takayasu, J., Hasegawa, T., Tokuda, H., Iwashima, A., Okusumi, J., Okabe, H., Kitano, H., Iwasaki, R. Potent preventive action of α -carotene against carcinogenesis: spontaneous liver carcinogenesis and promoting stage of lung and skin carcinogenesis in mice are suppressed more effectively by α -carotene than β -carotene. *Cancer Research*, 52: 6583-6587, 1992.
- Newberne P.M. & Rogers, A.E. Rat colon carcinomas associated with aflatoxin and marginal vitamin A. *Journal National of Cancer Institute* 50:439-448, 1973.
- Robbers, J.E.; Speedie, M.K.; Tyler, V.E. Terpenóides In: *Farmacognosia e Farmacobiocologia*, Editorial Premier, pp: 91-121, 1997.
- Schmitz, H.H.; Poor, C.L.; Wellman, R.B. & Erdman, J.W.Jr. Concentrations of selected carotenoids and vitamin A in human liver, kidney and lung tissue. *Journal of Nutrition*, 121:16313-1621, 1991.
- Scita, G. & Wolf, G. Retinoic acid and beta-carotene inhibit fibronectin synthesis and release by fibroblasts; antagonism to phorbol ester. *Carcinogenesis* 15(5): 1043-1048, 1994.
- Sies, H.; Stahl, W. & Sundquist, A.R. Antioxidant functions of vitamins: vitamin E and C, and other carotenoids. *Annals New York Academy of Sciences*. 7-20, 1993.
- Smith, D.M.; Rogers, E.A.; Herndon, B.J. & Newberne, P.M. Vitamin A (retinyl acetate) and benzo(a)pyrene-induced respiratory tract carcinogenesis in hamsters fed a commercial diet. *Cancer Research*, 35:11-16, 1975.
- Sporn, M.B.; Squire R.A.; Brown, C.C. & Smith, J.M. 13-cis-retinoic acid: inhibition of bladder carcinogenesis in the rat. *Science*, 195: 487-489, 1977.
- Standaert, D.G. & Young, A.B. Treatment of Central Nervous System degenerative disorders. In: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Joel G. Hardman, Alfred Goodman Gilman and Lee E. Limbird (Eds) Ninth Edition. McGraw-Hill, 1996.
- Thompson, H.J.; Becci P.J.; Brown, C.C. & Moon, R.C. Effect of the duration of retinyl acetate feeding on inhibition of 1-methyl-1-nitro-urea-induced mammary carcinogenesis in the rat. *Cancer Research*, 39: 3977-3980, 1979.
- Tomita, Y.; Jyonouchi, H.; Engelman, R.W.; Day, N.K. & Good, R.A. Preventive action of carotenoids on the development of lymphadenopathy and proteinuria in MRL-lpr/lpr mice. *Autoimmunity*, 16: 95-102, 1993.
- Verma, K.; Shapas, B.G.; Rice, H.M. & Boutwell, R.K. Correlation of the by retinoids of tumour promoter-induced mouse epidermal ornithine decarboxylase activity and of skin tumour promotion. *Cancer Research*, 39: 419-425, 1979.
- Zhang, L., Cooney, R.V., Bertram, J.S. Carotenoids up-regulation connexin43 gene expression independent their provitamin A ou antioxidant Properties. *Cancer Research*, 52: 5707-5712, 1992.

Endereço para correspondência

Orlando de Oliveira Borges

E-mail: borgesorlando@uol.com.br