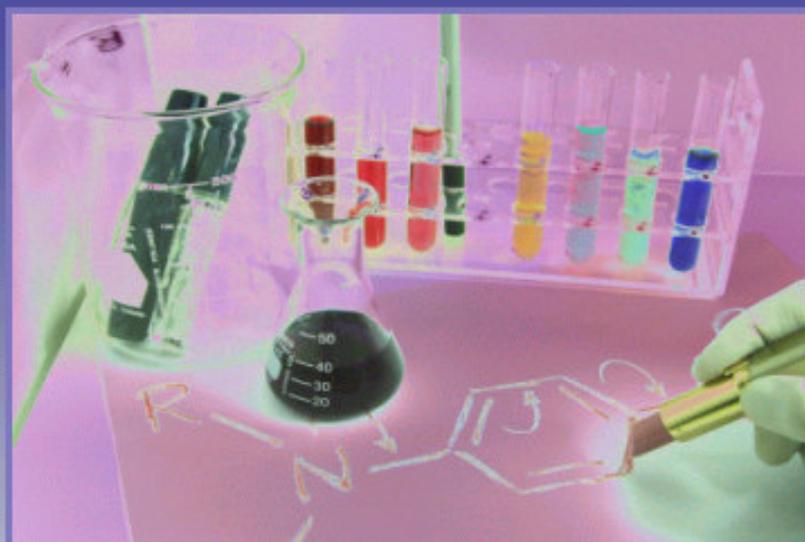


Bioquímica



da Beleza

Curso de verão 2005

Departamento de Bioquímica
Instituto de Química
Universidade de São Paulo

*versão revisada
abril de 2005*

Índice

APRESENTAÇÃO	5
CRONOGRAMA DO CURSO	6
1. XENICAL® (ORLISTAT)	7
MECANISMO DE AÇÃO	7
Estudo dirigido 1.1 – Estudo estrutural do orlistat e dos triacilgliceróis	8
Atividade em software 1 – Xenical	8
QUESTÕES 1.1	9
REFERÊNCIAS	10
2. LIPOSTABIL®	11
Estudo dirigido 2.1 – Fosfatidilcolina	12
QUESTÕES 2.1	13
REFERÊNCIAS	16
3. ESTRUTURA DA PELE I – CABELO	17
APÊNDICES EPIDÉRMICOS	17
A ESTRUTURA DO CABELO	18
<i>As raízes</i>	18
A papila dérmica	18
A glândula sebácea	18
Os queratinócitos	19
Os melanócitos	19
Atividade em software 2 – Detalhando a estrutura do cabelo	19
Estudo dirigido 3.1 – Atividade em software 2	19
Estudo dirigido 3.2 - Cabelo	20
<i>Coloração natural do cabelo</i>	20
<i>Cabelo grisalho</i>	20
<i>A fibra de cabelo</i>	21
A cutícula	22
O córtex	22
A medula	23
<i>Estrutura microscópica e molecular</i>	24
Estudo dirigido 3.3 – Estrutura molecular do cabelo	25
<i>Estrutura molecular – o filamento de queratina</i>	26
<i>Proteínas Associadas à Queratina</i>	27
Estudo dirigido 3.4 – Queratina e filamentos intermediários	27
QUESTÕES 3.1	27
<i>Diferenças étnicas</i>	28
Forma do cabelo	28
Atividade em software 3 - Cabelo crespo	29
QUESTÕES 3.2	29
REFERÊNCIAS	32
4. LAVAGEM DE CABELO E CONDICIONADORES	33
XAMPUS	33
<i>Composição e características dos constituintes:</i>	33
Agentes de lavagem	33
Estrutura de um tensoativo	33
Classificação	34
Tensoativos aniônicos	34
Tensoativos catiônicos	35
Tensoativos anfóteros	35
Tensoativos não-iônicos	36
Como funcionam	36
Espuma	37
Estabilizadores de espuma	37

Espessantes	38
Agentes engordurantes	38
Agentes perolantes	38
Conservantes	38
Essências e Corantes	38
Diluyente	39
<i>Como formular um xampu</i>	39
CONDICIONADORES	40
<i>Como formular um condicionador</i>	40
Estudo dirigido 4.1 – Detergentes e condicionadores	41
REFERÊNCIAS	43
5. ESTRUTURA DA PELE II - HISTOLOGIA	44
EPIDERME	44
DERME	45
HIPODERME	45
RENOVAÇÃO DA PELE	45
Estudo dirigido 5.1 – Estrutura da pele II	46
REFERÊNCIAS	47
6. RADIAÇÃO SOLAR - ULTRAVIOLETA	48
Estudo dirigido 6.1 – Radiação UV	50
EFEITOS BENÉFICOS DA RADIAÇÃO SOLAR	51
<i>Vitamina D</i>	51
EFEITOS NOCIVOS DA RADIAÇÃO SOLAR	51
<i>Efeitos da radiação UV no DNA</i>	54
Estudo dirigido 6.2 - Efeitos biológicos do UV	54
RADIAÇÃO SOLAR E PELE	54
Estudo dirigido 6.3 - UV e pele	56
<i>Bronzeamento, filtros solares e fator de proteção solar</i>	57
Bronzeamento	57
Atividade em software 4 - Bronzeamento	57
Estudo dirigido 6.4	58
Filtros solares	58
Filtros de efeito físico	59
Filtros de efeito químico	59
Mecanismo de ação dos filtros químicos	60
Efeito sobre o coeficiente de extinção molar (ϵ)	60
Bloqueador, protetor e bronzeador	61
Fator de proteção solar (FPS)	62
Estudo dirigido 6.5 - Protetores, bloqueadores e bronzeadores	64
MECANISMOS DE REPARO DO DNA	65
QUESTÕES 6.1	68
TEXTO COMPLEMENTAR	73
CÂMARAS DE BRONZEAMENTO ARTIFICIAL	73
AUTOBRONZEADORES	73
DIIDROXIACETONA (DHA)	74
ERITRULOSE	75
REFERÊNCIAS	76
7. RADICAIS E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	78
INTRODUÇÃO	78
Atividade em software 5 – Radicais	78
ESPÉCIES REATIVAS DO OXIGÊNIO (EROS) E RADICAL LIVRE	78
<i>Entendendo a terminologia</i>	78
<i>Formação</i>	79
<i>Reatividade</i>	80
<i>Fontes de ERO: endógenas e exógenas</i>	80
<i>Toxicidade das ERO: danos em biomoléculas</i>	81
Oxidação de lipídios: lipoperoxidação	82
Oxidação de proteínas	82
Oxidação de ácidos nucleicos	83

Estudo dirigido 7.1– Espécies Reativas de Oxigênio	85
SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE	85
<i>Sistema antioxidante enzimático</i>	86
Superóxido Dismutase (SOD)	86
Catalase (CAT)	86
Glutaciona peroxidase (GPx), glutaciona redutase (GRH) e glutaciona reduzida (GSH)	87
<i>Sistema de defesa antioxidante não enzimático</i>	88
Lipossolúveis	90
α -Tocoferol (vitamina E)	90
Carotenóides	91
Estudo dirigido 7.2 – Sistema oxidante	92
REFERÊNCIAS	92
8. ESTRUTURA DA PELE III – A MATRIZ EXTRACELULAR	94
INTEGRAÇÃO DAS CÉLULAS EM TECIDOS	94
<i>Adesão celular</i>	94
<i>Matriz Extracelular</i>	94
<i>Adesão célula-matriz</i>	95
Colágeno	95
Elastina	99
Outros componentes da matriz extracelular	99
Atividade em software 6 – Colágeno	100
Estudo dirigido 8.1 - Atividade em software 5	100
Estudo dirigido 8.2 – Colágeno	100
QUESTÕES 8.1	100
REFERÊNCIAS	102
9. ENVELHECIMENTO MOLECULAR DA PELE	103
<i>TEXTO 1 - Envelhecimento intrínseco e extrínseco</i>	103
<i>TEXTO 2 - Descrição dos efeitos moleculares do envelhecimento da pele (I)</i>	103
Envelhecimento extrínseco	103
Mudanças do tecido conectivo	103
Estudo dirigido 9.1 – Textos 1 e 2	104
<i>TEXTO 3 - Descrição dos efeitos moleculares do envelhecimento da pele (II)</i>	105
Estudo dirigido 9.2 – Texto 3	107
<i>TEXTO 4 - Efeitos macroscópicos do envelhecimento da pele</i>	107
Estudo dirigido 9.3 – Texto 4	110
<i>TEXTO 5 - O modelo micro-inflamatório de envelhecimento da pele</i>	110
Atividade em software 7 – Diapedese	111
Estudo dirigido 9.4 – Texto 5	112
Estudo dirigido 9.5 – Discussão	113
<i>TEXTO 6 - Telômeros e envelhecimento</i>	113
Atividade em software 8 – Telômeros e telomerase	113
Estudo dirigido 9.6 – Texto 6	114
Estudo dirigido 9.7 – Texto 6 (cont.)	115
QUESTÕES 9.1	116
<i>TEXTO 7 - Panorama de alterações moleculares ocorridas em células envelhecidas</i>	116
Estudo dirigido 9.8 – Texto 7	117
QUESTÕES 9.2	117
10. BOTOX®	118
TOXINA BOTULÍNICA - BOTOX®	118
Atividade em software 9 – Ação da toxina botulínica	119
<i>Estrutura da toxina</i>	119
<i>Mecanismo de Ação</i>	119
1. Bloqueio da transmissão neuromuscular	120
2. Sítio de ação	121
<i>Restabelecimento da transmissão neuromuscular</i>	123
1. Aparecimento de novas terminações nervosas	123
BOTOX® E ESTÉTICA	123
QUESTÕES 10.1	124
REFERÊNCIAS	124

11. DIMETILAMINOETANOL OU DEANOL (DMAE)	125
HISTÓRICO DO DMAE	125
NEUROTRANSMISSORES	125
Atividade em software 10 - Segundos mensageiros	125
Estudo dirigido 11.1 – Atividade em software 7	126
Atividade em software 11 - Proteína G	126
Estudo dirigido 11.2 – Animação 8	126
<i>Acetilcolina (ACh)</i>	126
<i>DMAE</i>	128
Efeito "Cinderela" de DMAE	128
Estudo dirigido 11.3 – DMAE	129
QUESTÕES 11.1	129
REFERÊNCIAS	129
12. APÊNDICES	131
APÊNDICE I - CHEMISTRY OF THE MAILLARD REACTION	131
APÊNDICE II - EFEITOS DO SOLVENTE E pH NAS PROPRIEDADES DOS FILTROS QUÍMICOS	133
APÊNDICE III - MEDICAMENTOS PARA EMAGRECER	134
<i>Fármacos para tratamento da obesidade</i>	137
Derivados β -fenetilamínicos e fenilpropanolamínicos	140
Inibidores seletivos da recaptção da serotonina	141
Estudos em humanos avaliando o efeito termogênico	142
REFERÊNCIAS (APÊNDICES)	145
13. FIGURAS COLORIDAS	147

Apresentação

O curso “Bioquímica da Beleza” foi preparado e será ministrado por oito alunos de pós-graduação do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da USP, sob supervisão do Prof. Dr. Bayardo Baptista Torres.

O tema do curso foi escolhido pelos próprios professores com o intuito de abranger tópicos de Bioquímica que não são contemplados no curso regular da graduação ou que possam ser aprofundados e estudados de maneira interdisciplinar.

Evidentemente, o tema é muito amplo e seria impossível montar um curso que abordasse todos ou mesmo a maioria dos tópicos acerca de “Bioquímica da Beleza”, a ser ministrado em uma semana. Diversos tópicos sobre o assunto foram excluídos e não serão portanto mencionados no curso. Os tópicos a serem abordados foram escolhidos por apresentarem alguma abrangência do tema, mas principalmente por permitirem explorar a Bioquímica subjacente, ou seja, os mecanismos moleculares de funcionamento de produtos de beleza.

Assim, o objetivo deste curso é utilizar alguns tópicos da “Bioquímica da Beleza” para abordar Bioquímica.

O curso foi preparado para maximizar a interação do aluno com o assunto em estudo. Preferimos substituir a maior parte das aulas expositivas por exercícios participativos, permitindo ao aluno adquirir o conhecimento ativamente, através de um estudo orientado, da resolução de pequenos problemas propostos e da discussão com seu grupo e com os professores.

Adriana Carvalho
Camila Moura Egídio
Helder Nakaya
Jacqueline Salotti
Juliana Cristina Fontanari
Karina Helena Morais Cardozo
Noboru Jo Sakabe
Paula Fontes Asprino

Bayardo B. Torres

fevereiro de 2005

Cronograma do curso

	<i>Segunda (14)</i>	<i>Terça (15)</i>	<i>Quarta (16)</i>	<i>Quinta (17)</i>	<i>Sexta (18)</i>
9-12 h	(9-9:30 h) Recepção dos alunos e entrega de material	3. Cabelo	5. Pele 6. Radiação UV	8. Matriz extracelular	10. Botox 11. DMAE
	(9:30-10 h) Abertura do curso				
	(10-12 h) 1. Xenical 4. Xampu				
12-14 h	Almoço	Almoço	Almoço	Almoço	Almoço
14-17 h	2. Lipostabil	3. Cabelo	7. Radicais e ERO	9. Envelhecimento da pele	Correção de exercícios
16-17 h	Correção de exercícios	Correção de exercícios	Correção de exercícios	Correção de exercícios	Avaliação do curso Encerramento

1. Xenical® (orlistat)

Xenical® é um inibidor específico das lipases de triacilglicerol (pancreática e gástrica), utilizado em tratamento de emagrecimento. O princípio ativo de Xenical® é a molécula (S)-2-formilamino-4-metil-ácido pentanóico (S)-1-[[[(2S, 3S)-3-hexil-4-oxo-2-oxetanil] metil]-dodecil ester, também conhecida por orlistat (nome genérico). Sua fórmula estrutural pode ser visualizada na Figura 1.1.

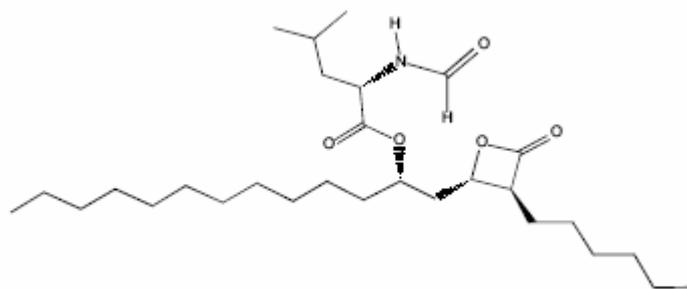


Figura 1.1 - Estrutura do orlistat (C₂₉H₅₃NO₅).

Mecanismo de ação

As lipases são enzimas que catalisam a reação de hidrólise de triacilgliceróis, resultando em glicerol e ácidos graxos livres, possibilitando que estes sejam absorvidos. Os produtos da digestão lipídica que ocorrem no estômago são emulsificados pelos sais biliares, facilitando sua digestão duodenal e, portanto, sua absorção.

Orlistat é um inibidor irreversível de lipases. Ele exerce sua atividade terapêutica no lúmen do estômago e intestino delgado (Figura 1.2) ao ligar-se covalentemente aos resíduos de serina do sítio ativo das lipases gástricas e pancreáticas. Com o sítio ativo ocupado, as enzimas não são mais capazes de hidrolisar a gordura alimentar.

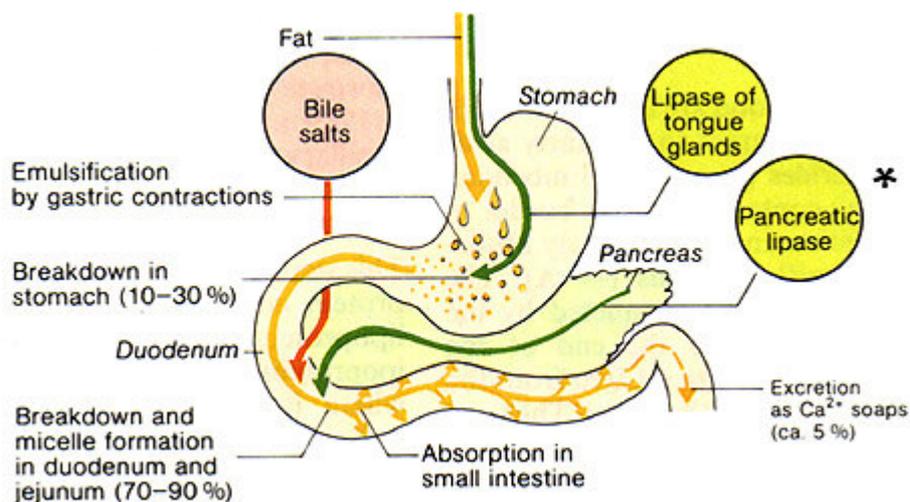


Figura 1.2 - O Xenical® age inibindo as lipases, principalmente a pancreática*.

Estudo dirigido 1.1 – Estudo estrutural do orlistat e dos triacilgliceróis

Para responder as questões abaixo leia a parte de xampu da Seção 4 e consulte algum livro texto de bioquímica.

1. Baseado na estrutura molecular do orlistat, espera-se que esta molécula seja mais solúvel em água ou em clorofórmio?
2. Esquematize uma molécula de triacilglicerol. Esquematize os produtos da hidrólise do triacilglicerol. Que características triacilgliceróis têm em comum com detergentes?
3. Obtenha estruturas de sais biliares e faça uma análise das moléculas quanto aos grupos polares e apolares, tendo em mente sua função biológica. Por que sais biliares são importantes para a absorção de lipídios?
4. Por que você acha que o orlistat é capaz de ligar-se covalentemente à enzima? (Não é preciso detalhar o mecanismo de reação ou mesmo apontar a ligação na molécula)

Continuação

Como na presença de orlistat as moléculas de triacilglicerol não são absorvidas pelo organismo, o déficit calórico resultante pode ter um efeito positivo no controle de peso. A absorção sistêmica da droga não é necessária para sua atividade pois o Xenical® não é absorvido (97% é eliminado nas fezes) e, deste modo, efeitos sistêmicos, com exceção de problemas gastrointestinais, não são esperados. Estudos em pacientes com a terapia de Xenical® com mais de dois anos de acompanhamento mostram uma perda média de peso de 10%.

O uso de Xenical® faz com que parte da gordura alimentar não seja digerida ou absorvida, sendo seu destino final, a excreção. Se um paciente recebe uma dieta muito gordurosa, o uso deste medicamento resultará numa diarreia. Esse efeito colateral indesejado, muitas vezes fará com que o paciente diminua a ingestão de gordura. Uma educação alimentar e, claro, a ausência de problemas clínicos causados pela droga são necessários para o tratamento.

Atividade em software 1 – Xenical

Veja como funciona o Xenical [programa instalado].

Questões 1.1

1. Estudo realizado com pacientes em tratamento com Xenical® mostrou uma pequena redução de certas vitaminas (Tabela 1).

Tabela 1 - Percentual de redução de vitaminas.

	Placebo	Xenical®
VITAMINA A	1,0%	2,2%
Vitamina D	6,6%	12,0%
Vitamina E	1,0%	5,8%
Beta-caroteno	1,7%	6,1%

De acordo com estes dados e com o modo de ação do Xenical®, responda:

- Por que houve a redução destas vitaminas especificamente?
- Seria esperado que os níveis de vitamina C ou do complexo B também fossem alterados?
- Quais dados devem ser adicionados à tabela para que os resultados sejam cientificamente confiáveis?
- Qual conselho os médicos deveriam dar aos pacientes em tratamento para evitar este quadro?

2. Dois pacientes, A e B, obesos e em tratamento com Xenical®, apresentam os seguintes hábitos alimentares:

	A	B
Café da manhã	Ovos, bacon, lingüiça e leite.	Pães com geléia e goiabada e sucos
Almoço	Hambúrguer, batata-frita e sorvete.	Arroz, feijão e bife com cerveja.
Jantar	Pastel e churros	Macarrão, frango e bolos

- Qual dos dois pacientes obterá o melhor resultado com o medicamento?
 - Em qual dos dois pacientes o efeito colateral será mais intenso, ou seja, quem passará mais tempo no banheiro? Justifique.
3. Quando o Xenical® foi lançado no mercado foi considerado um remédio revolucionário. Comparando com outros medicamentos para emagrecer, como derivados anfetamínicos, efedrinas, diuréticos e hormônios da tireóide, qual seria o grande mérito do Xenical (veja Apêndice III: Medicamentos para emagrecer)? Quais seriam suas vantagens e desvantagens? Compare com outras drogas de emagrecimento existentes .
4. Baseado no texto e com o auxílio dos livros didáticos responda as questões abaixo.
- Xenical® é um inibidor competitivo, não-competitivo ou nenhum dos dois? Justifique.
 - Se o orlistat for um inibidor competitivo, como deve ser um gráfico representando velocidade de hidrólise (ordenadas) x concentração de gorduras (abscissas) para a ação da lipase na presença e ausência do inibidor?

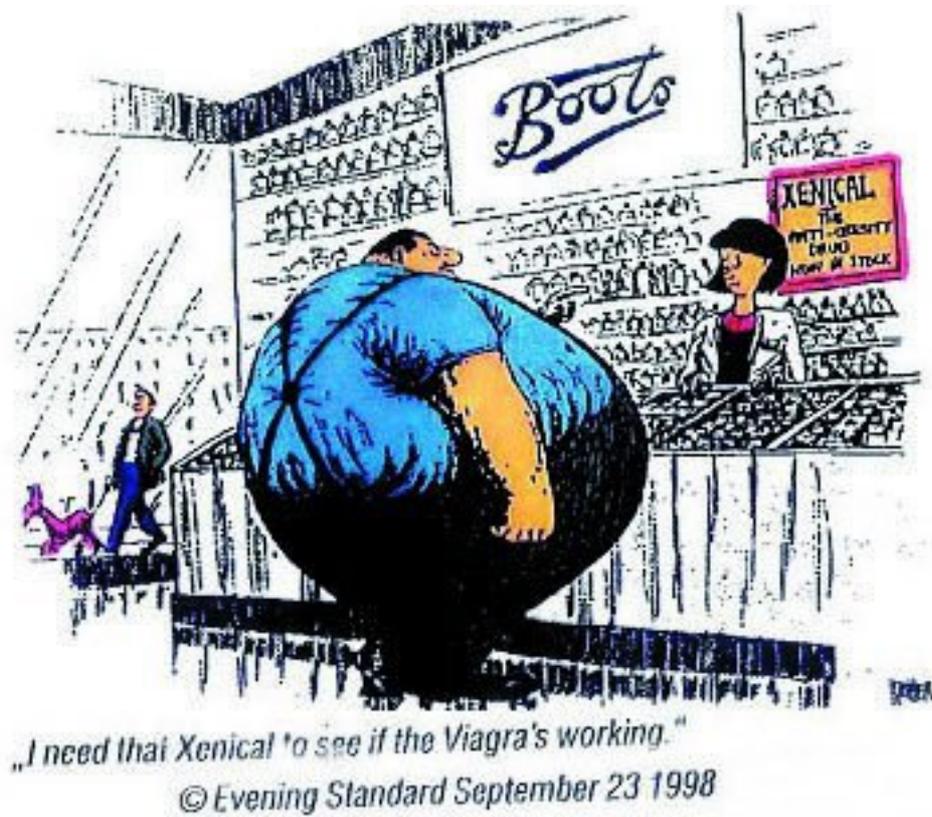
- c) Baseado nas respostas dos itens anteriores, como seria a ação da lipase, se a dose do medicamento for mantida e a quantidade de gordura na alimentação for aumentada?
5. O que se espera da absorção e dos níveis de colesterol de pacientes em tratamento com Xenical®?

Referências

Canaan S, Roussel A, Verger R, Cambillau C. Gastric lipase: crystal structure and activity. 1999 *Biochim Biophys Acta.* 23;1441(2-3):197-204. 1999.

<http://www.1stxenicalprescription.co.uk/dieting.html>

<http://www.xenical.com/>



“Preciso de Xenical para ver se o Viagra está funcionando”.

2. Lipostabil[®]

Fosfatidilcolina (PC) é um glicerofosfolípido sintetizado a partir de glicerol (Figura 2.1). Os C1 e C2 são ocupados por diferentes ácidos graxos, enquanto a posição 3 é ocupada por uma fosfocolina. O nome químico usual de PC é lecitina, no entanto, comercialmente este nome é usado para denominar uma mistura de lipídios que pode conter concentrações variadas de PC. Na indústria, lecitinas são usadas na preparação de chocolates, cremes hidratantes, suplementos nutricionais, sorvetes, queijos, etc.

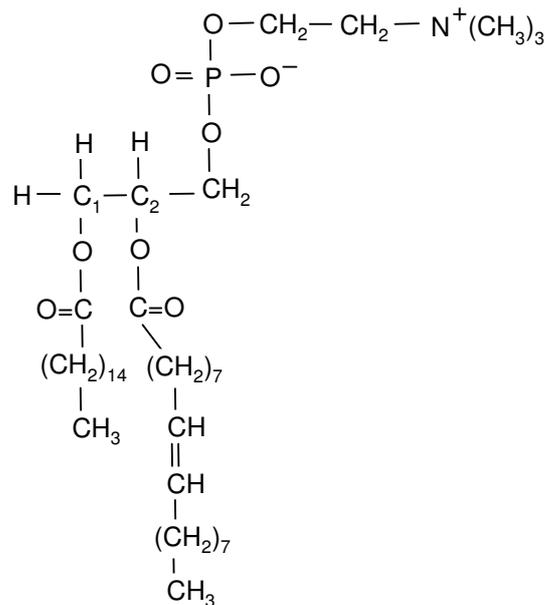


Figura 2.1 - Estrutura de uma fosfatidilcolina (1-palmitoil-2-oleil fosfatidilcolina).

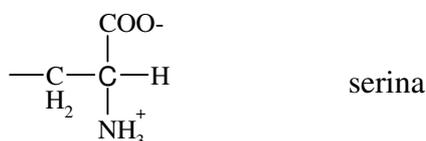
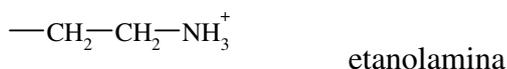
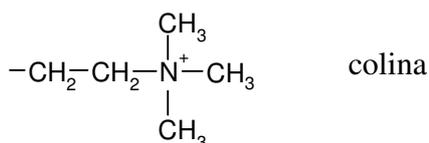
PC é um dos principais fosfolípídios que compõem a membrana plasmática da célula. É também um dos principais componentes dos tensoativos naturais e uma das formas de reservar colina, um nutriente essencial, entre outras coisas, para síntese do neurotransmissor acetilcolina. PC é secretado na bile, facilitando a emulsificação, transporte e absorção de gorduras, uma vez que esta é uma molécula anfipática.

Em mamíferos, PC pode ser sintetizada por duas vias distintas: a partir de colina, proveniente da dieta, ou a partir de etanolamina, no fígado. Esta é uma forma de garantir o suprimento do fosfolípido mais abundante nos mamíferos. Grãos, legumes, carnes e ovos são algumas das fontes alimentares das quais é possível obter lecitina.

Estudo dirigido 2.1 – Fosfatidilcolina

Utilize algum livro de bioquímica para responder as questões abaixo.

1. O que é fosfatidilcolina? O que ela tem em comum com um detergente?
2. Entendendo a molécula
Na Figura 2.1:
 - a) Identifique a molécula de glicerol, a ligação éster, os ácidos graxos e o grupamento da fosfocolina.
 - b) Esquematize separadamente a molécula de glicerol, os ácidos graxos e a fosfocolina. Identifique a porção polar e apolar.
 - c) Qual região da molécula da fosfatidilcolina será encontrada no interior da bicamada lipídica?
3. Em que as moléculas de fosfatidilcolina podem diferir estruturalmente? Quais propriedades são variáveis entre estas moléculas?
4. Compare o ponto de fusão de:
 - a) um ácido graxo de cadeia longa com o de um ácido graxo de cadeia curta.
 - b) de diferentes ácidos graxos com número crescente de insaturações.
5. Esquematize as moléculas abaixo, a partir dos radicais apresentados.
 - a) fosfatidilglicerol
 - b) fosfatidilcolina
 - c) fosfatidiletanolamina
 - d) fosfatidilserina



6. Em que estrutura celular é encontrada a fosfatidilcolina?

Continuação

Lipostabil® e Essentiale® (Aventis Pharma) são nomes comerciais de fármacos a base de fosfatidilcolina utilizados em princípio para tratamento de alterações hepáticas e cardiovasculares. No Brasil, este medicamento não é registrado na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e, portanto, a fabricação, importação, distribuição, venda e uso são proibidos.

O primeiro relato de uso cosmético de fosfatidilcolina foi feito pelo médico italiano Sergio Maggiori em um encontro internacional de mesoterapia em 1988. No Brasil, no final dos anos 90 algumas clínicas passaram a usar injeções subcutâneas de Lipostabil® no tratamento de gordura localizada.

Embora a redução de gordura localizada pareça ser real, o mecanismo pelo qual o medicamento age e a segurança do procedimento permanecem incertos. Enquanto alguns autores (Rittes 2003, Hexsel 2003) defendem a segurança do método em artigos por vezes controversos, outros argumentam que deve haver mais estudos antes do reconhecimento e da autorização da técnica (Rotunda *et al* 2004). Questões que ainda não foram esclarecidas dizem respeito à especificidade tissular do medicamento, concentração que deve ser administrada, toxicidade, contra-indicações e efeitos maléficos a longo prazo.

Questões 2.1

1. Alguns dos mecanismos propostos para a ação da fosfatidilcolina nos adipócitos incluem

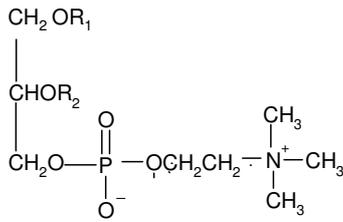
- i) emulsificação e transporte de triacilgliceróis das células de gordura;
- ii) ação como detergente.

Justifique de que forma cada uma destas ações poderia ocorrer. Leia a Seção 4 sobre detergentes.

2. A figura abaixo foi extraída do artigo de Rotunda *et al*, 2004. A Tabela 1 mostra quais são os constituintes da fórmula injetável de fosfatidilcolina. Desoxicolato de sódio é um sal biliar.

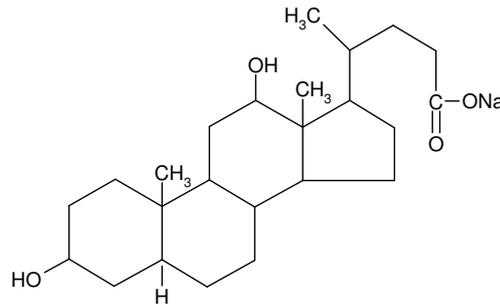
Tabela 1 - Fórmula da fosfatidilcolina injetável

	Concentração (massa/volume)
Fosfatidilcolina	5 %
Desoxicolato de sódio	4,75 %
Álcool benzílico	0,9 %
Água	100 ml

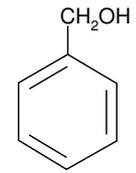


Fosfatidilcolina

R₁ e R₂ = Resíduos de ácidos graxos



Desoxicolato de sódio



Álcool benzílico

- a) Observe a estrutura de desoxicolato e destaque os grupamentos polares e apolares. Você acha que a molécula é predominantemente polar ou apolar? Que propriedades o desoxicolato de sódio e a fosfatidilcolina têm em comum? Veja sua resposta à questão 3 do Estudo dirigido 1.1 de Xenical®.
- b) Por que se usa desoxicolato de sódio na formulação de Lipostabil®?

3. A Figura 2 abaixo, extraída do mesmo artigo de Rotunda *et al*, 2004, mostra um experimento no qual é estimada a lise celular analisando a liberação de lactato desidrogenase no meio de cultura. Em A, um ensaio metabólico mostra a viabilidade celular. Neste ensaio, células metabolicamente ativas alteram a cor de um marcador, o qual é detectado fazendo uso de um espectrofotômetro. Desta forma, a medida de absorbância é diretamente proporcional ao número de células vivas. Em B, a medida de lactato desidrogenase no meio de cultura, quantificada por espectrofotômetro, indica o rompimento da membrana plasmática.

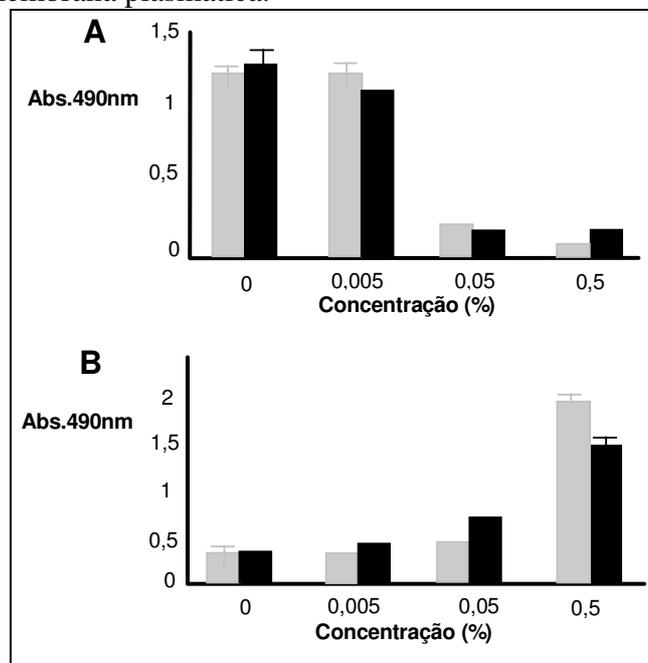


Figura 2 - (A) Ensaio metabólico da viabilidade de queratinócitos expostos ao Lipostabil® (■) e desoxicolato de sódio (■). A absorbância é relacionada diretamente com a viabilidade celular. (B) Ensaio de lactato desidrogenase liberado por células expostas ao Lipostabil® (■) e desoxicolato de sódio (■). As barras representam um desvio padrão.

- a) Descreva o que acontece quando são ministradas diferentes concentrações de solução de fosfatidilcolina (Lipostabil[®]) e de desoxicolato de sódio.
b) O que pode ser concluído a partir desta figura?

4. A Figura 3 abaixo mostra a ação da solução fosfatidilcolina + desoxicolato de sódio (DOC) ou apenas DOC em gordura e músculo suínos, bem como a administração do detergente Empigen.

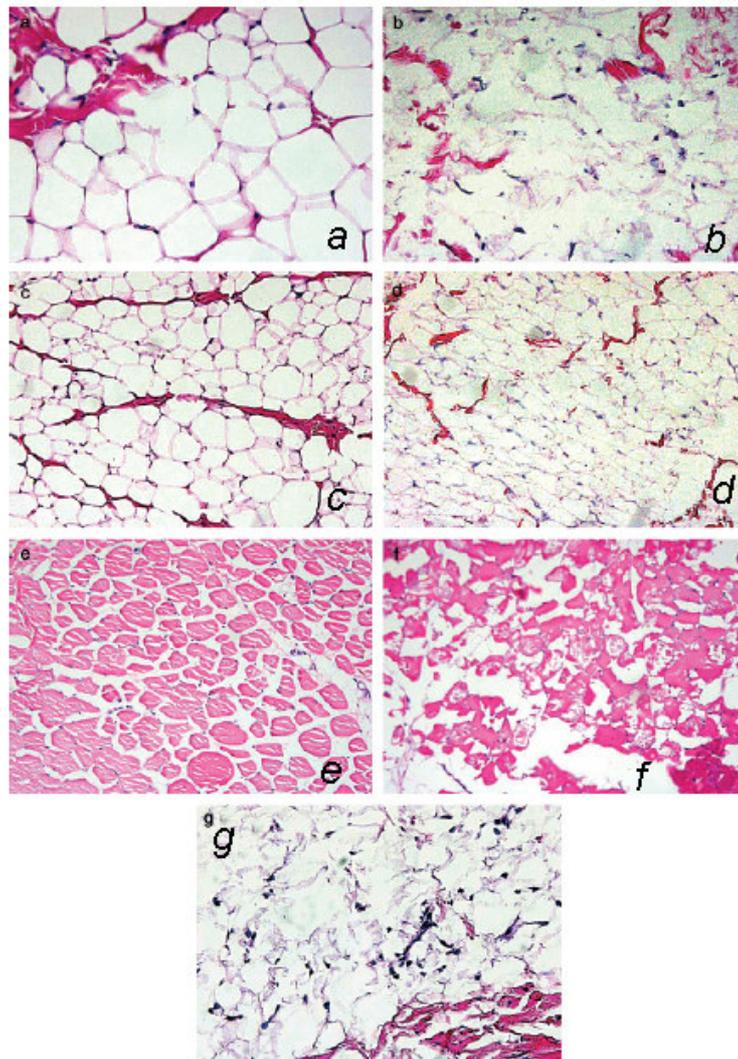


Figura 3 - Extraída de Rotunda *et al*, 2004: microscopia de biópsias de pele de porco. (a) Adipócitos controle e (b) adipócitos depois de injeção da fórmula de fosfatidilcolina. (c) Adipócitos controle e (d) adipócitos depois de injeção desoxicolato. (e) Músculos controle e (f) músculos depois de injeção da fórmula de fosfatidilcolina. (g) Tecido adiposo depois de injeção do detergente Empigen.

- a) Por que a lâmina (g) foi tratada com Empigen?

- b) Após analisar estes experimentos, qual mecanismo de ação do Lipostabil® se torna evidente?
- c) Que risco imediato você percebe neste tratamento?
- d) Na sua opinião, os resultados são conclusivos quanto ao modo de ação do Lipostabil®? Que outro experimento você proporia?

Referências

Ablon G, Rotunda AM. 2004. Treatment of lower eyelid fat pads using phosphatidylcholine: clinical trial and review. *Dermatol Surg.* 30(3):422-7.

Berg, Jeremy M.; Tymoczko, John L.; and Stryer, Lubert. 2002. *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman and Co.

Cooper, Geoffrey M. Sunderland MA. 2000. *The Cell - A Molecular Approach*. 2nd ed. Sinauer Associates Inc.

Hexsel D, Serra M, Mazzuco R, Dal'Forno T, Zechmeister D. 2003 Phosphatidylcholine in the treatment of localized fat. *J Drugs Dermatol.* 2(5):511-8

Rittes PG. 2003. The use of phosphatidylcholine for correction of localized fat deposits. *Aesthetic Plast Surg.* (4):315-8

Rittes PG. 2001. The use of phosphatidylcholine for correction of lower lid bulging due to prominent fat pads. *Dermatol Surg.* 27(4):391-2.

Rotunda AM, Suzuki H, Moy RL, Kolodney MS. 2004. Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution. *Dermatol Surg.* 30(7):1001-8.

Voet , D and Voet, J.G. 1995. *Biochemistry* 2nd ed.. John Wiley & Sons, Inc, New York Páginas: 281; 286; 299; 320; 664; 714; 763

<http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2002/301202.htm> → carta da ANVISA

<http://www.heilpflanzen-welt.de/homoeopathie/apotheker-lexikon>

<http://www.woodmed.com/Phos%20Choline.htm>

http://www.dermatologia.net/noticias/lipostabil_alerta.htm

<http://www.dermatologia.net/estetica/fosfatidilcolina.htm>

<http://surgery.org/press/news-release.php?iid=208§ion=news-lipoplasty>

<http://www.americanlecithin.com/lecithin.pdf>

3. Estrutura da pele I – cabelo

A pele forma a superfície externa contínua ou tegumento do corpo, sendo o maior órgão, constituindo quase um sexto do seu peso total. Possui quatro funções principais:

- **Proteção:** a pele fornece proteção contra a luz ultravioleta e agressões mecânicas, químicas e térmicas; sua superfície relativamente impermeável impede a desidratação e atua como uma barreira física à invasão por microrganismos.
- **Sensibilidade:** a pele é o maior órgão sensitivo do corpo e contém vários receptores para o tato, pressão, dor e temperatura.
- **Termorregulação:** em humanos, a pele é um importante órgão de termorregulação. O corpo é isolado contra a perda de calor pela presença de pêlos e tecido adiposo subcutâneo (insulação). A perda de calor é facilitada pela evaporação do suor na superfície cutânea e aumento do fluxo sanguíneo através da rica rede vascular da derme.
- **Funções metabólicas:** o tecido adiposo subcutâneo constitui um importante reservatório de energia, principalmente na forma de triacilgliceróis. Por exemplo, a vitamina D é sintetizada na epiderme.

Em diferentes regiões do corpo a pele varia em espessura, cor, presença de pêlos, glândulas e unhas. Apesar dessas variações que refletem diferentes demandas funcionais, todos os tipos de pele possuem a mesma estrutura básica. A pele espessa cobre a palma da mão e a sola dos pés, possui glândulas sudoríparas, mas não possui folículos pilosos, músculos eretores do pêlo e glândulas sebáceas. A pele delgada cobre a maior parte do resto do corpo, contém folículos pilosos, músculos eretores do pêlo, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas.

A superfície externa da pele consiste de um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado denominado epiderme; sua espessura varia de acordo com as forças funcionais e as influências de desidratação às quais é submetida.

A epiderme é sustentada e nutrida por uma camada espessa de tecido fibroelástico denso denominado derme, que é altamente vascularizada e contém muitos receptores sensitivos. A derme é fixada aos tecidos subjacentes por uma lâmina de tecido frouxo denominada hipoderme ou camada subcutânea, que contém quantidade variável de tecido adiposo (Figura 3.1).

Figura 3.1 - Ver na Seção 13 "Figuras coloridas".

Apêndices epidérmicos

- O cabelo ou pêlo é composto por células epidérmicas mortas que passaram por um processo de queratinização incluindo a expressão diferencial de queratinas específicas. É derivado dos folículos capilares ou pilosos, que são invaginações que se projetam da derme ou hipoderme. Os músculos eretores do pêlo tornam os pêlos arrepiados para uma melhor insulação.

- As glândulas sebáceas são anexos dos folículos capilares e estão inseridas na derme e hipoderme. São predominantes no rosto, pescoço e parte superior do corpo. Elas secretam por secreção holócrina, na qual a célula secretora morre e torna-se o próprio produto de secreção da glândula. As células mortas são repostas por mitose na periferia da glândula. A secreção é o sebo, uma mistura de triglicérides e colesterol tipo cera. Funciona como um agente protetor e mantém a textura da pele e a flexibilidade do cabelo.
- As glândulas sudoríparas écrinas são glândulas tubulares em espiral, estão na camada profunda da derme ou sobre a hipoderme e estão presentes em todo o corpo. A sua função primária é o resfriamento por evaporação (transpiração).
- As glândulas sudoríparas apócrinas são glândulas tubulares que desembocam nos folículos pilosos nas axilas e regiões urogenitais. A secreção é uma mistura de proteínas, carboidratos e íons férricos que não possui odor, porém torna-se fétida após ação de bactérias comensais da pele.

A estrutura do cabelo

As raízes

Estão protegidas na derme, dentro do folículo piloso, onde o cabelo é gerado e colorido (Figura 3.2).

Figura 3.2 - Ver na Seção 13 "Figuras coloridas".

A papila dérmica

O folículo piloso é o resultado de uma associação e interação dos componentes dermal e epidermal. Localizada a 4 mm abaixo da pele (Figura 3.2), a papila dérmica é formada por tecido conectivo que secreta grandes quantidades de matriz extracelular (ver Seção 8). Altamente vascularizada, a papila é a força real que dirige o folículo, provendo toda informação necessária para a multiplicação e diferenciação das células da matriz e, deste modo, regulando o ciclo de vida do cabelo.

A glândula sebácea

O folículo tem uma ou mais glândulas sebáceas que, por sua vez, contêm uma grande quantidade de células, os sebócitos, que são preenchidos por lipídios (Figura 3.2). A glândula libera seus lipídios na forma de uma substância gordurosa, o sebo. Em quantidades normais, o sebo é essencial para a lubrificação e proteção da fibra capilar mantendo sua flexibilidade e brilho. Controlado por hormônios, o correto funcionamento da glândula sebácea pode se tornar irregular, produzindo muito ou pouco sebo, o que acaba prejudicando o cabelo. Se produzido em excesso, pode tornar o cabelo oleoso e pesado. Por outro lado, a falta de sebo pode tornar o cabelo danificado, seco ou opaco.

Os queratinócitos

Os queratinócitos do folículo piloso são células que se multiplicam numa taxa muito maior do que os queratinócitos da pele (Figura 3.2). Além disso, eles se diferenciam para formar as diferentes estruturas do cabelo. A produção e armazenamento de queratina, um processo denominado queratinização, causa um endurecimento destas células, levando à desintegração de seus núcleos e conseqüente morte.

Os melanócitos

Os melanócitos são células grandes presas no topo da papila dérmica (Figura 3.2), que produzem o pigmento melanina e o transferem aos queratinócitos, que formam o córtex da fibra capilar (ver abaixo). Os melanócitos usam seus dendritos para injetar os pequenos grânulos de pigmento. Deste modo, o cabelo é incolor no início. Diferentemente da pele, os melanócitos do folículo piloso não precisam da luz do sol para produzir melanina.

Os melanócitos produzem a melanina em organelas especializadas chamadas de melanossomos. A transferência dos melanossomos dos melanócitos para os queratinócitos ocorre por um processo ainda não totalmente esclarecido. As hipóteses são de que o melanossoma é injetado diretamente no queratinócito ou ainda que ocorre fagocitose da organela na extremidade dendrítica do melanócito.

É interessante notar que a melanina produzida por uma célula da pele consegue suprir até 40 queratinócitos, enquanto que uma do cabelo, apenas 4 ou 5.

As diferenças de coloração são devidas às diferenças no número, tamanho e arranjo dos melanossomos.

Atividade em software 2 – Detalhando a estrutura do cabelo

Veja um modelo virtual de cabelo em:

http://www.hair-science.com/_int/_en/R3D/US/droit_index.htm

Estudo dirigido 3.1 – Atividade em software 2

1. Localize a papila dérmica no modelo.
2. Localize a matriz do cabelo.
3. Localize a zona queratinógena.
4. Localize a glândula sebácea.

Estudo dirigido 3.2 - Cabelo

1. Você acha que a penúltima frase do trecho sobre melanina na pele e no cabelo faz sentido? Discuta.
“É interessante notar que a melanina produzida por uma célula da pele consegue suprir até 40 queratinócitos, enquanto que uma do cabelo, apenas 4 ou 5.”
2. Faça um esboço de um fio de cabelo, com as principais estruturas e suas funções principais, mostrando o processo de coloração de um fio de cabelo. Use o texto e a animação.

Coloração natural do cabelo

A melanina existe na forma de dois pigmentos: eumelanina e feomelanina. Eumelanina é na verdade um polímero que ocorre em grânulos dentro dos melanossomos em forma semelhante a um grão de arroz e sua coloração varia de vermelho escuro a preto. Ela é gerada a partir da tirosina, por ação da tirosinase. Feomelanina ocorre em melanossomos com uma forma menos precisa e pode ser vista na forma de pontos difusos. Sua coloração varia de amarelo para vermelho. Difere da eumelanina, porque, além da tirosina, outro aminoácido, a cisteína, está envolvido em sua produção.

A proporção destas duas melaninas determina a coloração do cabelo. Porém, é fácil entender que o cabelo negro dos japoneses contém virtualmente somente eumelanina e que o cabelo ruivo dos irlandeses seja rico em feomelanina. É mais surpreendente descobrir que o cabelo loiro dos escandinavos é formado por eumelanina e não feomelanina. Isto está ligado à imensa quantidade de misturas possíveis destes dois pigmentos. Por isso, a distribuição de melanina, determinada pela herança genética, oferece uma paleta infinita de cores, do loiro mais claro ao negro mais escuro.

Outros aspectos e biossíntese da melanina serão abordados mais adiante (Seção 6).

Cabelo grisalho

Quando o cabelo cresce, ele é pigmentado ou branco. A aparência grisalha do cabelo é somente um produto de uma ilusão de óptica, produzido pela mistura de um cabelo colorido e cabelo branco.

O “embranquecimento” do cabelo pode ser explicado por uma incapacidade de alguns melanócitos em produzir pigmentos e de outros em transferir o pigmento aos queratinócitos.

No entanto, dado que após receberem a melanina para sua coloração ocorre morte celular dos queratinócitos, para que o cabelo continue com sua cor natural é preciso que haja uma constante renovação dos mesmos. Isso é feito por meio das chamadas células-tronco, capazes de se diferenciar em várias outras, inclusive em melanócitos. Desse modo, cientistas da Universidade de Harvard e do Hospital Infantil de Boston descobriram recentemente que a perda gradual dessas células não diferenciadas está, literalmente, na raiz do cabelo grisalho. Mais especificamente, no folículo capilar, estrutura que “ancora” o cabelo na pele.

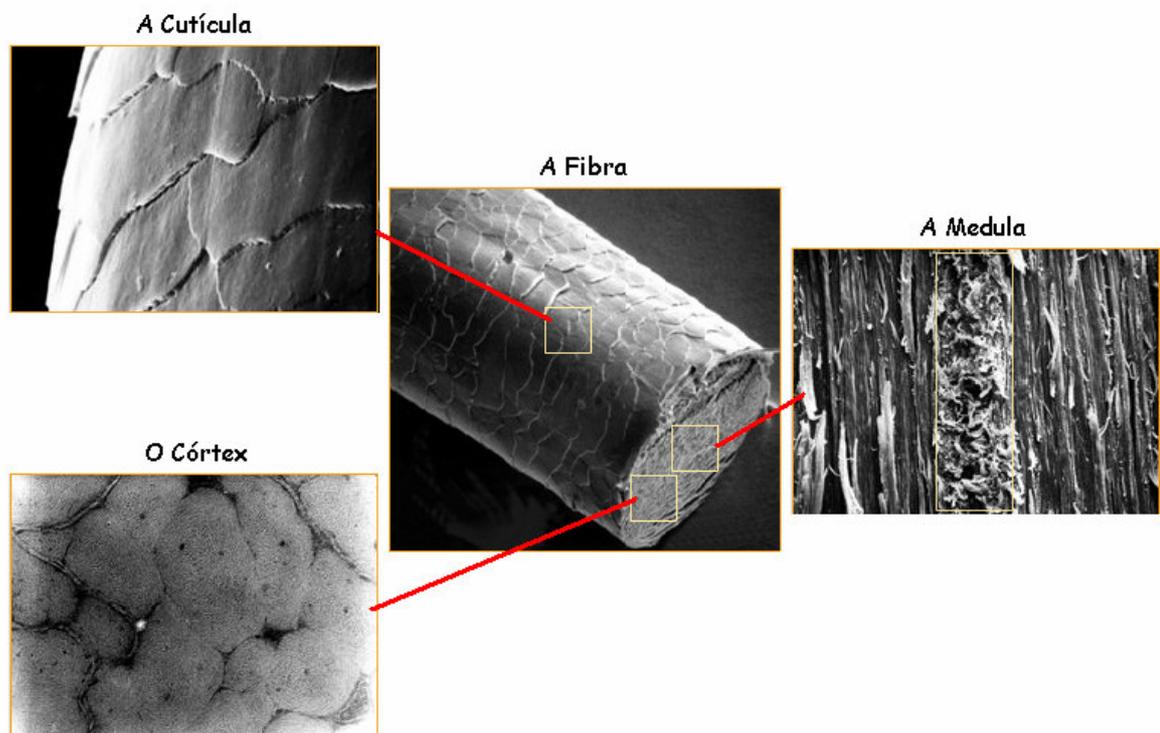
Experimentos em camundongos comprovaram a descoberta de que existe um gene, o Bcl2, que é fundamental para proteger as células-tronco no momento em que o folículo capilar está em estado de dormência, sem crescimento de cabelo (algo que ocorre em cerca de 10% a 15% dos fios em qualquer momento). A equipe estudou camundongos que não tinham o gene protetor Bcl2. O efeito foi dramático: os camundongos mal nasceram, logo ficaram grisalhos, por terem perdido as células-tronco que dariam origem aos melanócitos. Portanto, problemas com esse gene podem estar associados ao caso de pessoas que ficam com os cabelos brancos prematuramente. Os estudos com camundongos também revelaram uma relação clara entre a idade do animal, o número de células-tronco e a quantidade de pêlo grisalho. Os testes foram reproduzidos em amostras do couro cabeludo de seres humanos e o resultado foi o mesmo. Os pesquisadores imaginam que exista algum mecanismo no folículo que deixe de funcionar com o envelhecimento, causando a morte das células-tronco e tornando o cabelo grisalho.

O mesmo mecanismo celular que fez os camundongos ficarem grisalhos antes da hora poderia ser útil para atacar o melanoma, pois esse tipo de câncer de pele se caracteriza pela proliferação acelerada de melanócitos. Esse mecanismo poderia ser imitado por uma droga capaz de “envelhecer” as células do melanoma.

A fibra de cabelo

A Figura 3.3 mostra diferentes estruturas que compõem um fio de cabelo.

(a)



(b)

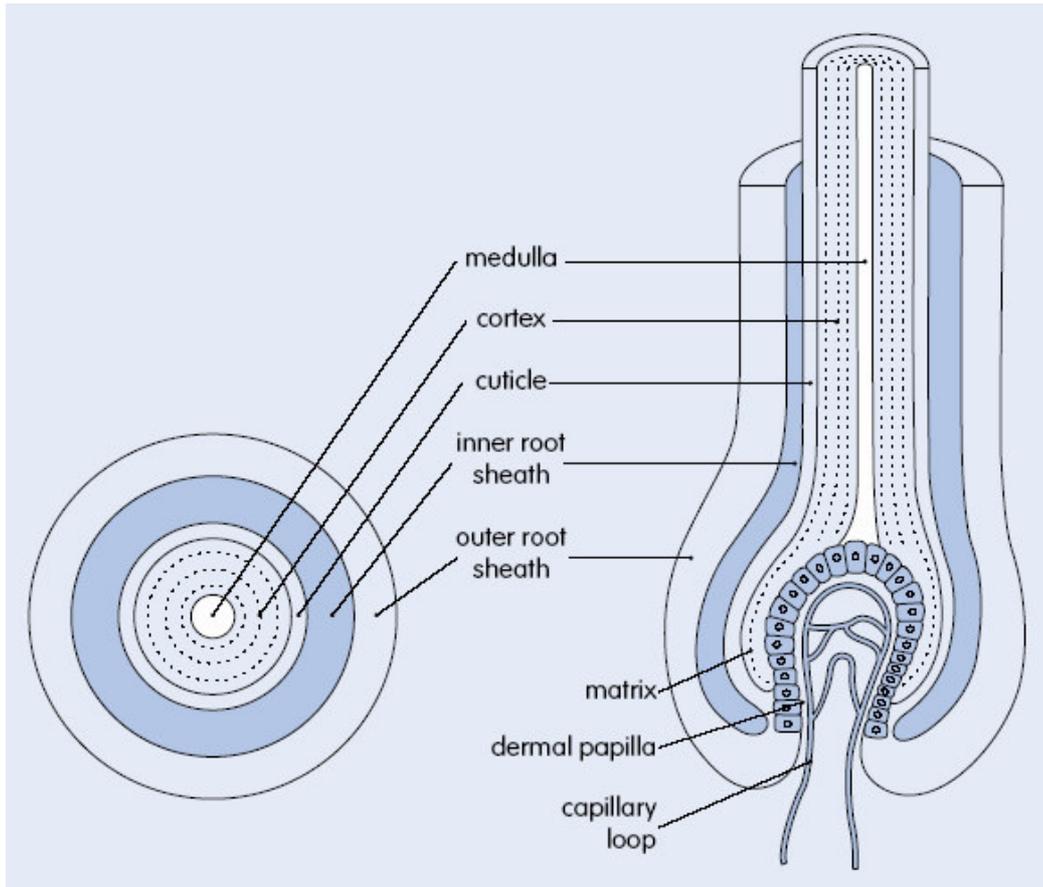


Figura 3.3 - (a) Imagens de microscopia eletrônica de varredura de um fio de cabelo e (b) esquema de um fio de cabelo.

A cutícula

A cutícula é o envelope externo da fibra do cabelo (Figura 3.3). As células que a formam se chamam “escamas” e são extremamente pequenas e incolores. Elas são unidas por um cimento intercelular rico em lipídios, sobrepondo-se umas às outras como telhas, formando camadas de 3 a 10 células. Como as extremidades livres das células estão orientadas para a ponta do cabelo, elas podem exercer seu papel principal que é proteger o córtex. A cutícula é a parte do cabelo sujeita aos ataques diários e as propriedades cosméticas dos produtos para cabelo dependem de seu estado.

O córtex

O córtex é o corpo real da fibra (Figura 3.3). Representando 90% de seu peso total, ele é formado por células preenchidas por queratina e é esta organização que dá à fibra suas propriedades marcantes. Ao longo da maturação do cabelo, estas células corticais se tornam alongadas e chegam a atingir cerca de 100 micrômetros. Arranjadas ao longo do cabelo, elas são mantidas por uma substância intercelular composta por queratina flexível, rica em lipídios. E é também no córtex que os grãos de melanina que dão cor ao cabelo são encontrados. A sua única forma de proteção é uma fina camada de sebo e a cutícula.

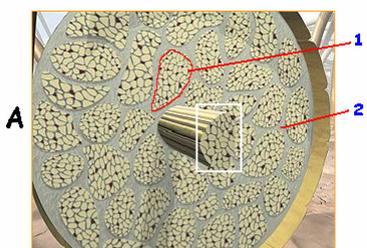
A medula

A medula, ou canal medular, está situada no centro da fibra e sua presença ao longo do cabelo, geralmente, é descontínua ou até ausente (Figura 3.3). Parece que as células que a compõem rapidamente degeneram, deixando espaço para bolhas de ar. Em humanos, o seu papel ainda é desconhecido, porém, em alguns animais, esta estrutura alveolar parece possuir um papel essencial na termorregulação.

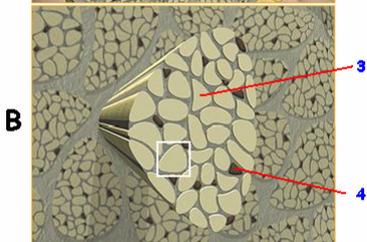
Estrutura microscópica e molecular

O componente primário da fibra do cabelo é a queratina, uma proteína mecanicamente dura. Está presente em todos os vertebrados superiores, em unhas, pêlos, chifres e penas. Existem mais de 50 genes para queratina que são expressos de modo tecido-específico.

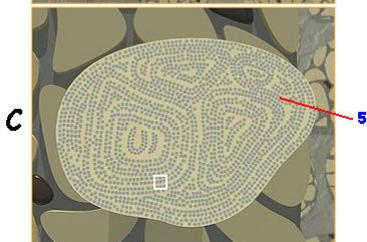
(A) O cabelo típico possui ~20 μm de diâmetro e é constituído de células mortas.



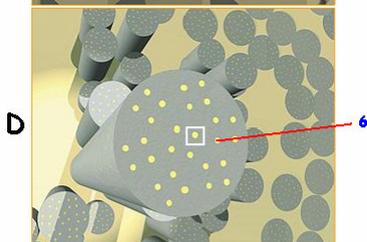
Cortando um fio de cabelo, podemos ver a disposição das longas células corticais (1) envolvidas por uma substância intercelular rica em lipídios e proteínas (2).



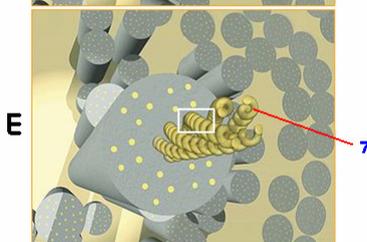
(B) Dentro de cada célula cortical, há uma série de macrofibrilas (~2000 Å de diâmetro) de queratina (3) dispostas na mesma direção da célula. Pequenos grânulos de melanina (4) também podem ser visualizados.



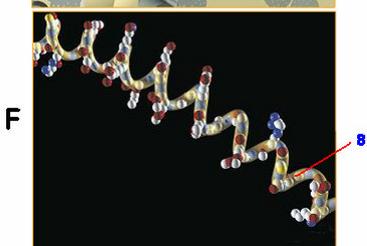
(C) Em aumento maior, podemos ver que cada macrofibrila é composta por inúmeros elementos menores, as microfibrilas (~80 Å de largura) (5).



(D) Cada microfibrila aparece como um arranjo de elementos menores denominados protofibrilas (6).



(E) Aumentando ainda mais, é possível visualizar as 4 cadeias de queratina formando uma alfa-hélice (7).



(F) E, por último, a estrutura molecular de uma das cadeias de queratina (8).

Dentro do córtex, a queratina é organizada em protofibrilas e composta por quatro cadeias polipeptídicas. Esta estrutura é mantida por ligações entre os átomos das diferentes cadeias. Estas ligações podem ter forças variáveis: fracas como as pontes de hidrogênio ou fortes como as ligações iônicas ou pontes dissulfeto.

Os lipídios representam 3% da composição do cabelo. Eles são produzidos no bulbo capilar e formados a partir de esteróides, ácidos graxos e ceramida. Estão presentes essencialmente no cimento intercelular do córtex e na cutícula e conferem ao cabelo uma certa impermeabilidade, garantindo a coesão da fibra capilar. A mistura de lipídios produzidos pela glândula sebácea forma um filme na superfície da pele e lubrifica o fio de cabelo, preservando assim sua flexibilidade e brilho.

A melanina, pigmento responsável pela cor natural do cabelo, representa apenas 1% da composição total do cabelo. A água constitui, em condições normais, 12 a 15% da composição do cabelo. Alguns dos outros elementos são provenientes do ambiente e estão presentes em pequenas quantidades. Outros elementos vêm diretamente do organismo. Como a raiz do cabelo possui uma boa irrigação sanguínea, substâncias trazidas pelo sangue podem ser incorporadas no cabelo durante sua formação.

Estudo dirigido 3.3 – Estrutura molecular do cabelo

Use algum livro de bioquímica para responder as questões abaixo. Referência Biochemistry (1995) Voet e Voet, Wiley and sons, NY, cap7.

1. Descreva a estrutura de um dímero de queratina. Inclua em sua descrição os seguintes itens:
 - a) Número médio de resíduos em cada segmento polipeptídico.
 - b) Características ácido/base de cada segmento (tipo I ou tipo II).
 - c) Estrutura primária e secundária.
 - d) Forças que estabilizam a estrutura.
 - e) Orientação das cadeias.
 - f) Nome dado ao tipo de estrutura de proteína formada.
2. Qual é a lógica da montagem de um fio de cabelo? Faça uma analogia com alguma coisa do mundo macroscópico (dica: você assistiu “O naufrago”, com Tom Hanks? Você se lembra como ele amarrou o barco?)
3. Por que a queratina forma uma alfa-hélice? Se ela é usada para formar um fio, porque não simplesmente “esticar” a molécula o máximo possível, ao invés de “gastar” aminoácidos a cada volta da hélice?
4. Por que existe uma organização periódica de aminoácidos hidrofóbicos em um dímero de queratina?
5. Esquematize uma ponte dissulfeto ligando duas cadeias polipeptídicas. Para que elas servem em um fio de cabelo?
6. Baseado em sua resposta anterior, você espera que diferentes disposições de pontes dissulfeto gerem filamentos diferentes de alguma forma? Isso se correlaciona com sua experiência diária?
7. Por que tratamentos de cabelo como permanentes, alisamentos, etc. empregam produtos com cheiro ruim? Qual a origem do cheiro ruim?
8. Você diria para sua amiga que não cursou Bioquímica da Beleza que alisamento e permanente são a mesma coisa, molecularmente falando? Esquematize as etapas do processo de alisamento ou permanente.
9. Estruturalmente, em que diferem as queratinas duras (cabelo, unhas e cornos) e as moles (pele, calos)?
10. Questões 5 e 6, pág. 189, Cap. 7, de Biochemistry - Voet e Voet, Wiley and Sons, NY, segunda edição (1995).

Estrutura molecular – o filamento de queratina

A queratina faz parte de um grupo de proteínas de fibras do citoesqueleto de eucariotos denominado “Intermediate Filament Proteins (IF)”. A principal função dessas proteínas é estrutural, dando suporte mecânico para a membrana plasmática quando esta entra em contato com outras células ou com a matriz extracelular. Dentro deste conjunto de proteínas filamentosas, a queratina corresponde aos tipo I – queratina ácida – e II – queratina básica. Elas são expressas apenas em células epiteliais, associando-se numa razão de 1:1, formando heterodímeros. Portanto, não existe nenhum filamento de queratina formado por homodímeros.

As queratinas compõem a classe de proteínas IF com maior diversidade, com um grande número de isoformas diferentes. Em tecidos epiteliais “duros” existem aproximadamente 10 tipos de queratinas diferentes (mais especificamente unhas, cabelo, lã) e mais 20 tipos denominados citoqueratinas, que são geralmente encontradas revestindo cavidades internas do corpo.

As proteínas filamentosas não apenas compartilham a característica de possuir filamentos de 10 nm de diâmetro, mas também possuem um domínio estrutural em comum: uma estrutura de α -hélice central. Este domínio, que é conservado em todas as proteínas IF, consiste de quatro longas α -hélices, separadas por três regiões não helicoidais, que possuem posição altamente conservada evolutivamente (Figura 3.4). Esta estrutura é flanqueada por domínios globulares das regiões N- e C- terminais, que variam muito em peso molecular e seqüência entre as diferentes proteínas IF.

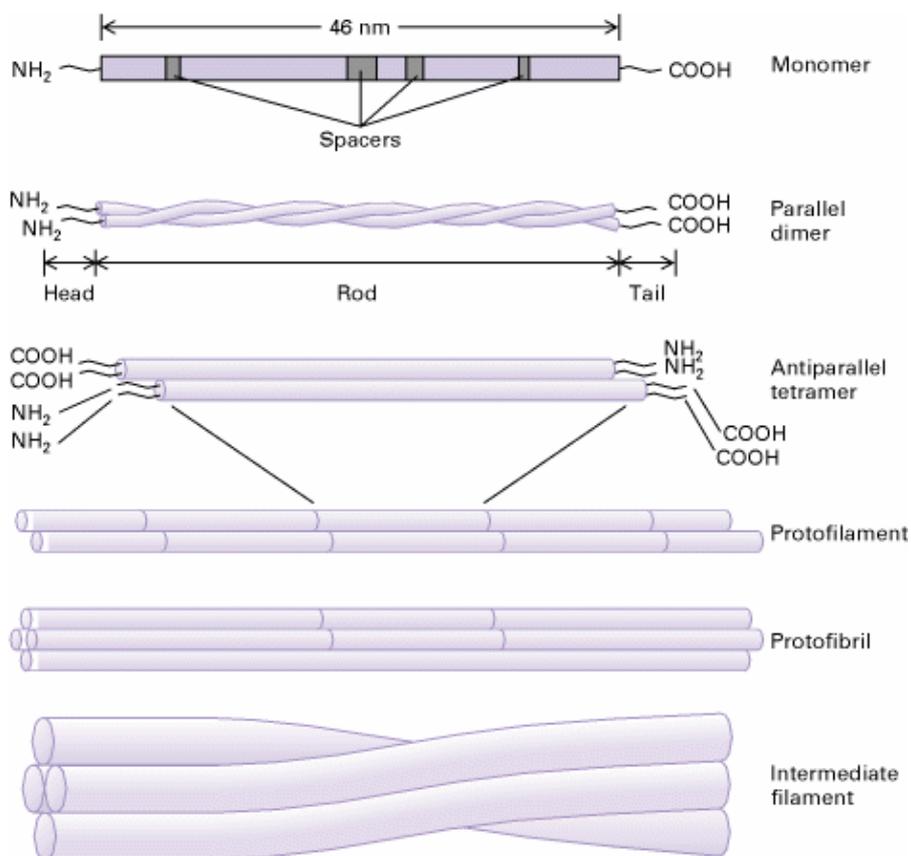


Figura 3.4 – O esquema mostra os níveis de organização e macroestrutura das proteínas IF. Elas formam hetero ou homodímeros com um domínio central de α -hélice altamente conservado flanqueado por estrutura não helicais, que variam em tamanho e seqüência. O domínio central contém quatro elementos espaçadores não helicais (“spacers”). A partir daí, há a formação de um tetrâmero por dímeros idênticos dispostos anti-paralelamente. Estes tetrâmeros ainda se agregam ponta-a-ponta, formando um protofilamento e pares destes se associam lateralmente, formando uma protofibrila. A associação lateral de quatro protofibrilas é que vai formar um filamento cilíndrico de 10 nm de diâmetro.

Proteínas Associadas à Queratina

As proteínas KAPs constituem uma matriz protéica, onde as proteínas IFs se encontram depositadas. Elas podem ser divididas em 3 grandes grupos, de acordo com sua composição protéica: (i) grupo das glicina-tirosina; (ii) grupo sulfúrico; (iii) grupo *ultra-high* sulfúrico. Esses grupos são codificados por seqüências gênicas diferentes.

Estudo dirigido 3.4 – Queratina e filamentos intermediários

1. Após ler atentamente o trecho sobre o filamento de queratina, você aprendeu que esta proteína faz parte de uma família (IF Proteins). A partir daí, responda às seguintes perguntas:
 - a) Que tipo de proteínas são essas e qual sua principal função?
 - b) Como você poderia correlacionar a função dessas proteínas com sua estrutura?
 - c) O que faz com que estas proteínas compartilhem um mesmo grupo? Esta característica pode ser correlacionada à sua função?
2. Experimentos com camundongos transgênicos expressando polipeptídeos da queratina K14 mutantes (formam os heterodímeros com a queratina K4 mas não conseguem formar os protofilamentos) resultaram em animais com anormalidades na pele, como bolhas, semelhante ao que ocorre em uma doença de pele humana: Epidermólise Bullosa Simplex (*epidermolysis bullosa simplex*). Análises histológicas das regiões mais afetadas mostraram alta incidência de células basais epidermais mortas. Considerando a função de estruturação celular das proteínas filamentosas, como você explica esta morte celular?
3. Qual seria uma razão provável para um dímero de queratina sempre ser constituído de tipo I e II, ácido e básico, respectivamente?

Questões 3.1

1. O que é um domínio proteico? Por que a montagem de um filamento intermediário envolve a formação de um tetrâmero antiparalelo? Isso se correlaciona à idéia de domínio proteico?

2. Vamos nos concentrar em uma função biológica bem importante: a respiração. Três ou quatro minutos sem oxigenação já pode ser fatal para o tecido nervoso. Portanto, esta função é extremamente importante para a manutenção da vida. Ela é mantida, dentre outras coisas, pela hemoglobina, que se liga ao oxigênio nos pulmões entregando-o aos tecidos. Agora pense em todo o processo evolutivo que ocorreu e continua ocorrendo até hoje e reflita sobre a seguinte pergunta: será que a molécula de hemoglobina é evolutivamente conservada ao longo da escala evolutiva?

Se a função de uma proteína pode estar (e está na maioria das vezes!) altamente relacionada à sua estrutura e, pelo que sabemos, a estrutura quaternária de uma proteína depende de sua estrutura primária (dada pela sua seqüência de DNA), o que você espera que ocorra ao provocarmos uma mutação na seqüência gênica nos domínios altamente conservados das α -hélices das proteínas IF? E se essa mutação ocorrer nos domínios altamente variáveis N- e C-? Como você faria para testar sua hipótese?

3. Após muitos experimentos, cientistas observaram que o encurtamento do N-terminal de monômeros de proteínas IF provocava o truncamento da organização proteica destas, com exceção da queratina. No entanto, o mesmo não ocorreu quando os experimentos foram repetidos na porção do C-terminal. O que se pode concluir a partir daí? Esse resultado foi surpreendente? Por quê?
4. Como a descoberta de que as mutações no N-terminal inviabilizam a organização dos protofilamentos, podem auxiliar nos estudos da função destas proteínas dentro de uma célula, através de técnicas como transformação ou microinjeção?

Diferenças étnicas

Forma do cabelo

Independente do fato de ser liso, ondulado, crespo ou encaracolado, um cabelo é sempre um cabelo. Sua composição básica de queratina é sempre a mesma.

Por outro lado, a forma do cabelo varia enormemente. As diferenças dependem em grande parte da secção transversal do cabelo e de como ele cresce. Estudos indicam que estes dois elementos estão intimamente relacionados à forma do folículo piloso e sua posição no couro cabeludo.

A secção transversal de um cabelo é uma elipse que pode tender mais ou menos para um círculo (Figura 3.5). Uma analogia com outros materiais mostra como a secção transversal pode influenciar na aparência do cabelo no espaço: nas mesmas condições de tamanho, uma faixa fina se enrola muito mais facilmente do que uma corda cilíndrica. Por isso, os asiáticos possuem cabelo com uma secção transversal mais grossa e cilíndrica, enquanto que os africanos possuem uma secção transversal achatada e fina, formando o cabelo crespo e encaracolado com anéis de até poucos milímetros de diâmetro. Caucasianos possuem uma secção transversal muito mais variada, porém sendo mais ou menos elíptica. O cabelo dos caucasianos vai desde ondulado até bastante cacheado (Tabela 3.1).

Atividade em software 3 - Cabelo crespo

Veja um modelo virtual de cabelo crespo em:
http://www.hair-science.com/_int/_en/R3D/US/frise_index.htm



Figura 3.5 – Estrutura do cabelo em diferentes etnias.

Tabela 3.1 – Diferenças de cabelos entre raças.

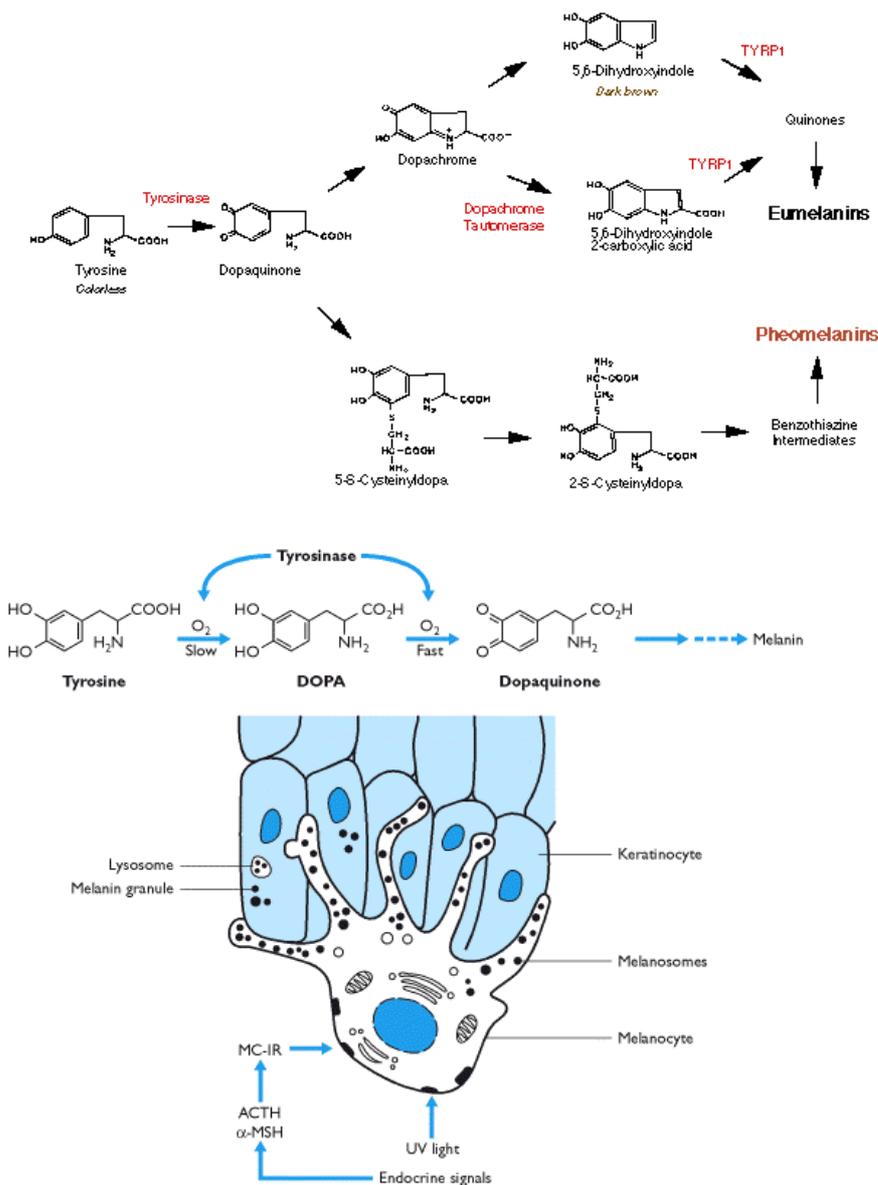
Raça\Cabelo	Crescimento	Densidade	Característica
Asiáticos	1,3 cm / mês	+	O modo como o folículo está implantado faz com que o cabelo cresça reto, perpendicular ao coro cabeludo.
Africanos	0,9 cm / mês	++	Como o cabelo cresce quase paralelo ao coro cabeludo, ele cresce enrolado nele mesmo.
Caucasianos	1,2 cm / mês	+++	Cresce num ângulo oblíquo ao coro cabeludo e é levemente curvado.

Questões 3.2

1. Embora a cor do cabelo seja determinada geneticamente estabelecendo concentração e proporção de melaninas, alguns fatores ambientais, bem como doenças, podem

influenciar na aparência final. Relacione abaixo a aparência do cabelo e o possível fator de causa.

- () Fatores nutricionais podem causar alterações apenas em casos extremos, sendo um exemplo o Kwashiorkor, causado pela deficiência prolongada de proteína na dieta. As alterações se restringem aos momentos de deficiência nutricional.
 - () Problema relacionado às altas concentrações de cobre na água, capazes de se associar ao cloro, resultando em um composto que é capaz de ligar-se à cutícula do cabelo (Goldschmidt 1979, Goette 1978). Esta aparência pode ocorrer com água de piscina, água da torneira rica em cobre ou mesmo após o uso de cosméticos contendo extratos de plantas.
 - () Albinismo tipo 1 (deficiência na enzima tirosinase).
 - () Fumantes crônicos - substâncias proveniente do tabaco bloqueiam a produção de pigmentos por melanócitos. O alcatrão é capaz de reagir quimicamente, aderir e tingir os fios brancos.
 - () Fenilcetonúria - deficiência na fenilalanina hidroxilase do fígado, incapacitando o organismo de converter fenilalanina a tirosina.
 - () O cabelo torna-se mais escuro.
 - () Síndrome de Menkes - doença recessiva ligada ao cromossomo X. Os indivíduos portadores não são capazes de absorver cobre, necessário, entre outras funções, para o funcionamento da tirosinase.
-
- (A) Redução da produção e incorporação de pigmentos no fio de cabelo. Cabelos castanho-escuros adquirem um tom vermelho-ferrugem, cabelos claros tornam-se loiros. Algumas vezes há alternância entre porções claras e escuras ao longo do fio de cabelo.
 - (B) Perda de cor no cabelo, pele e olhos. Estes são apenas alguns sintomas leves desta doença que pode incorrer em retardo mental grave.
 - (C) Cabelo torna-se curto, quebradiço e retorcido (“pixaim”) com o passar da idade. Há perda de cor no cabelo, além destas alterações na estrutura do cabelo. Há sintomas relacionados com a pele e com sistema nervoso central. Administração subcutânea de cobre-histidinato é capaz de reverter os sintomas.
 - (D) O indivíduo afetado apresenta ausência total ou muito acentuada de pigmentação.
 - (E) Cabelo loiro torna-se esverdeado.
 - (F) Cabelo grisalho prematuro. O cabelo branco pode adquirir coloração amarelada.
 - (G) Tratamentos com drogas relacionadas à dopamina (Parkinson, por exemplo).



Esquema 1 – Biossíntese de melanina.

3. Algumas crianças loiras quando atingem a idade adulta apresentam cabelos escuros e, posteriormente, os cabelos tornam-se grisalhos. Se desconsiderarmos fatores ambientais, o que poderia contribuir para este fenômeno? Veja o Esquema 1 acima.
4. Para que seja alterada a cor do cabelo artificialmente, é necessário descolorir os fios. O primeiro passo é usar uma solução alcalina, amônia, por exemplo, para abrir as cutículas do cabelo. O próximo passo é usar uma solução de peróxido de hidrogênio, capaz de reagir de forma irreversível com a melanina presente no cabelo.
 - a) Que reação química deve estar ocorrendo? Que modificações moleculares podem ocorrer nesse tipo de reação? Isso ocorreria em qualquer proteína?
 - b) Por que a água em que é lavado o cabelo após o processo de descoloração não apresenta cor?
 - c) De que cor fica o cabelo após este processo? Por quê?

5. Em processos de alisamento permanente, o cabelo não altera a conformação final mesmo após as lavagens. No entanto, em alisamentos temporários, como escova ou chapinha, sem uso de agentes químicos, o cabelo volta à conformação original após contato com água ou mesmo alta umidade. Qual a diferença entre estes dois processos? Descreva tipos de reação e ligações químicas rompidas e formadas e os tipos de reagentes necessários.
6. Existem diversos mitos e crenças populares sobre questões que envolvem o cabelo. Todas elas estão relacionadas, principalmente, ao crescimento/perda, tratamentos, cortes ou doenças do cabelo. Tendo em mente o avanço da pesquisa e cosmetologia atual, discuta a veracidade das crenças abaixo usando possíveis explicações bioquímicas ou biológicas.
 - A – Cortar o cabelo faz com que o mesmo se torne mais forte ou cresça mais rápido.
 - B – As chamadas “pontas duplas” podem ser reparadas por tratamentos químicos ou físicos.
 - C – A ponta dupla pode “subir” para a raiz do cabelo.
 - D – Cada fio branco de cabelo retirado dará lugar a dois em seu lugar.
 - E – Cortar o cabelo de acordo com a fase da lua faz com que ele cresça mais rápido, mais saudável, mais volumoso ou mais longo.
 - F – Colorir o cabelo durante a gravidez é perigoso.
 - G – Dormir com o cabelo molhado provoca seu apodrecimento.
 - H – O cabelo se “acostuma” com um mesmo xampu.
 - I – A “química” da piscina pode tornar o cabelo verde.
 - J – Escovar o cabelo regularmente faz com que ele caia mais rápido.
 - K – Unhas e cabelo continuam a crescer mesmo após a morte do indivíduo.
 - L – O cabelo não pára de crescer se não for cortado.
 - M – Estresse causa o aparecimento de cabelos brancos.
 - N – Água quente estraga o cabelo.

Evolução

1. Atualmente os cabelos têm papel principalmente estético para os seres humanos, mas esta não é sua função inicial. Que papéis você atribuiria ao cabelo na evolução do homem?
2. Além do cabelo, sabe-se que existe uma grande concentração de glândulas sudoríparas na região peri-anal e nas áreas dos genitais. Discuta os possíveis aspectos evolutivos e biológicos deste fato.
3. Por que motivo elefantes e rinocerontes quase não apresentam pêlos? Quais seriam as vantagens evolutivas de animais sem pêlos?

Referências

Purvis IW, Franklin IR. Major genes and QTL influencing wool production and quality: a review. *Genet Sel Evol.* 2005;37 Suppl 1:S97-107.

4. Lavagem de cabelo e condicionadores

Xampus

Os xampus têm por objetivo a limpeza dos cabelos e do couro cabeludo e, para tal, eles devem ser capazes de:

- deixar os cabelos soltos, leves, brilhantes e fáceis de pentear;
- lhes conferir ordem, sem eletricidade estática;
- não modificar o pH do couro cabeludo.

Composição e características dos constituintes:

Agentes de lavagem

O elemento essencial da composição dos xampus é a presença de um ou mais tensoativos, agentes de lavagem cuja concentração deve ser suficientemente capaz de limpar os cabelos em toda sua extensão (cuja superfície pode atingir de 4-8 m²!). Estes detergentes constituem a base de todos os xampus.

Estrutura de um tensoativo

Os tensoativos apresentam a propriedade de reduzir a tensão superficial da água e de outros líquidos (daí a origem de seu nome, vide Box 4.1). Apesar de possuírem uma composição química muito variável, apresentam uma característica comum: sua molécula apresenta um componente hidrófilo e outro hidrófobo (Figura 4.1).

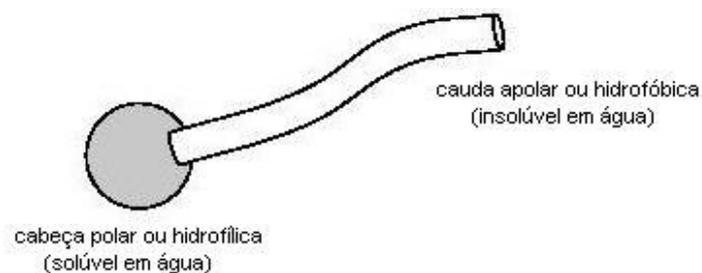


Figura 4.1 – O esquema representa uma molécula anfipática, isto é, uma molécula que possui uma porção apolar que interage com lipídios e uma porção polar que interage com a água.

Box 4.1. Tensão superficial

Tensão superficial é definida como a força necessária para romper uma superfície. Ela é determinada pelo grau de coesividade entre as moléculas que formam esta superfície. A água líquida forma uma extensa rede de pontes de hidrogênio que lhe confere uma grande tensão superficial. Quando um tensoativo é adicionado à água, as extremidades hidrofílicas que se espalham na superfície competem pelas pontes de hidrogênio que contribuem para a coesividade da superfície. Como resultado, a tensão superficial é diminuída.

Podemos distinguir os tensoativos quanto à localização dos grupos hidrófilos:

- na posição terminal - apresentam ótimo poder detergente;
- na posição central - fraco poder detergente, pouco solúvel na água, porém bom poder dispersante;
- vários grupos - fraco poder detergente, boa solubilidade em água, apresentando bom poder dispersante.

Classificação

Tensoativos aniônicos

Os tensoativos aniônicos são os normalmente empregados nos xampus. Sua família é grande, mas os que se acham mais frequentemente na base de lavagem dos xampus são os sulfatos ou éter sulfato de álcool graxo. São limpadores excelentes e ensaboam bem. Mas sua ação deslipidante não deve ser levada ao extremo porque, se a queratina do cabelo suporta bem esta deslipidação, o mesmo não ocorre com o couro cabeludo. Sua ação, portanto, é na maioria das vezes equilibrada pela associação com outros aniônicos mais leves ou com outros tensoativos tais como os anfóteros ou os não iônicos.

Os sabonetes entram nesta categoria, mas não representam um bom método de limpeza dos cabelos, danificando-os, pois são extremamente alcalinos em solução. Além disso, eles formam com o calcário da água, sais de cálcio insolúveis que se depositam nos cabelos, tornando-os sem brilho, ásperos e difíceis de desembaraçar.

São exemplos de tensoativos aniônicos: lauril sulfato de sódio (Figura 4.2), lauril éter sulfato de sódio, lauril éter sulfato de trietanolamina (Figura 4.3).

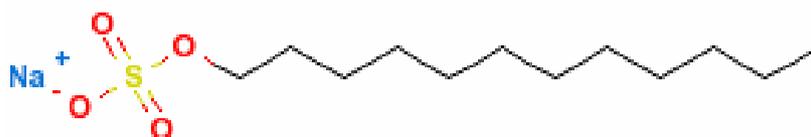


Figura 4.2 – Exemplo de tensoativo aniônico, utilizado em xampus: lauril sulfato de sódio.

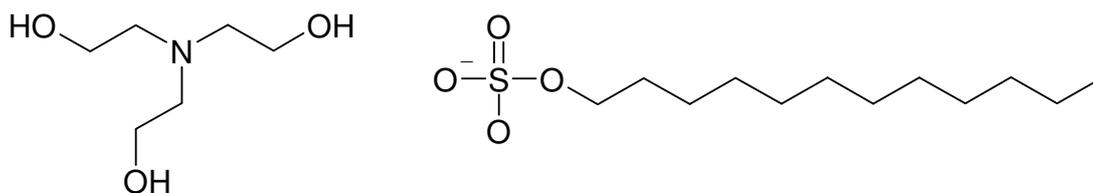


Figura 4.3 – Outro tensoativo aniônico: o lauril sulfato de trietanolamina.

Tensoativos catiônicos

Esses tensoativos têm uma grande afinidade com a queratina, à qual conferem maciez e brilho. Eles facilitam o desembaraçar dos cabelos e diminuem a eletricidade estática. Mas esta afinidade os torna difíceis de separar do cabelo no enxágüe, deixando-os mais pesados. Eles não são muito utilizados e são incompatíveis com os aniônicos. Na prática, os tensoativos catiônicos são formulados com não-iônicos.

Podemos citar como exemplos de tensoativos catiônicos as seguintes moléculas: cloreto de olealcônio, cloreto de distearildimônio (Figura 4.4), etersulfato de isostearyl etildimônio.

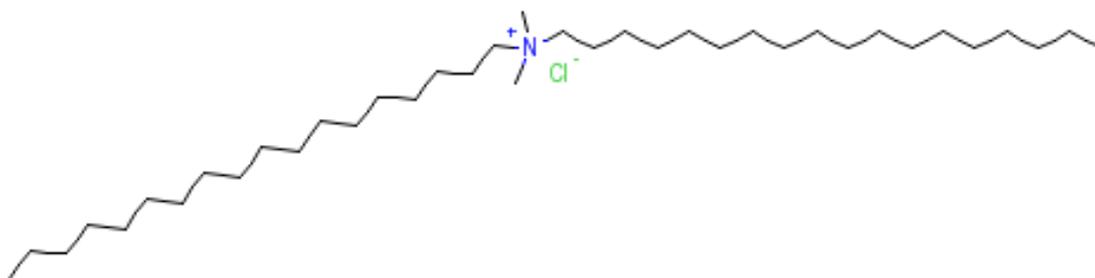


Figura 4.4 – Estrutura esquemática da molécula de cloreto de distearildimônio.

Tensoativos anfóteros

Estes tensoativos apresentam um poder detergente e espumante menor que os aniônicos, mas em geral, são muito bem tolerados. Devem ser associados a outros tensoativos para modular as propriedades de lavagem e espuma. Eles entram de preferência na composição dos xampus para uso freqüente e xampus para bebês.

A betaína (ácidos graxos clorados e trimetilamina), a cocoamidopropil betaína (Figura 4.5) e a cocoamidopropil hidroxisultaína são exemplos de tensoativos anfóteros.

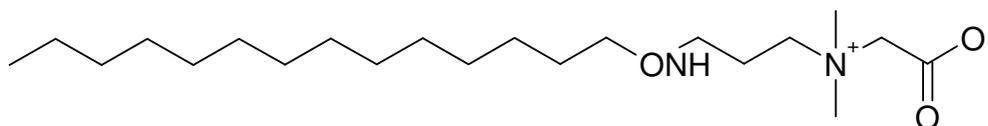


Figura 4.5 – Estrutura esquemática da cocoamidopropil betaína, um tensoativo anfótero.

Tensoativos não-iônicos

São considerados bons emulsionantes, umectantes ou solubilizantes. Muitas vezes estão associados aos tensoativos anfóteros ou aniônicos pouco agressivos, para fazer deles xampus leves. Eles são considerados como os mais leves dos tensoativos tendo, no entanto, um bom poder detergente, mas um fraco poder de espuma. De fato, o poder de espuma, que não é correlato ao poder detergente, o é no espírito do público: um xampu que não espume muito tem poucas chances de sucesso. Por outro lado, é preciso reconhecer que a quantidade de espuma gerada por um xampu permite dosar a quantidade necessária.

Tensoativos não-iônicos utilizados na indústria cosmética: alcanolamidas de ácidos graxos (MEA, DEA – Figura 4.6, TEA), polietilenoglicol e derivados.

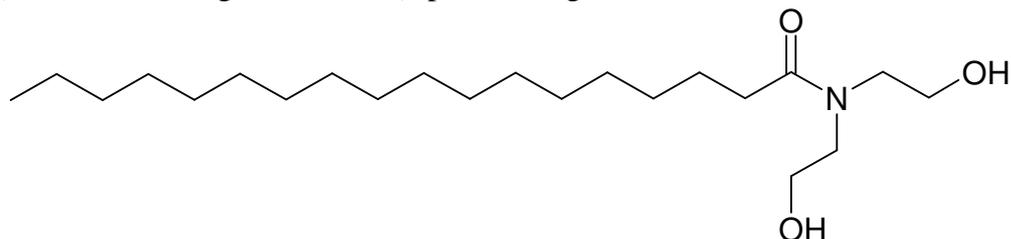


Figura 4.6 – Estrutura esquemática do tensoativo não-iônico cocoamida DEA (dietanolamida de ácido graxo de coco).

Como funcionam

Lavar o cabelo ou o prato consiste em remover a sujeira com água. Como a sujeira do cabelo, ou em um prato de comida, é tipicamente formada por substâncias hidrofóbicas como gorduras, a interação água/sujeira não é muito grande. A propriedade tensoativa dos detergentes possibilita um aumento de contato da água com a sujeira a ser removida. Além disso, para minimizar o contato das caudas hidrofóbicas com a água, o detergente orienta-se inserindo na sujeira, que é hidrofóbica, deixando sua cabeça polar em contato com a água. A água então pode interagir melhor com a sujeira, carregando-a da superfície em que está adsorvida (Figura 4.7).

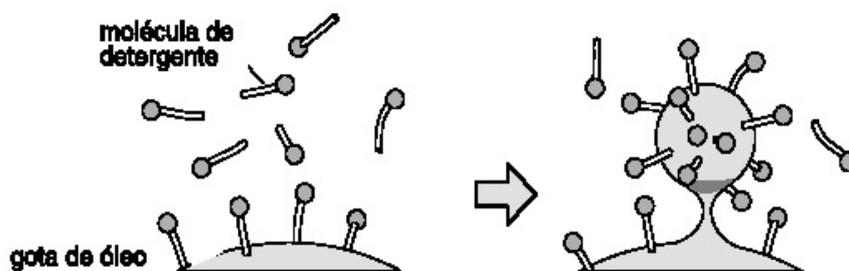


Figura 4.7 – Esquema representando a interação da gordura (gota de óleo) com as moléculas de detergente, possibilitando sua remoção pela água.

Espuma

Quando um tensoativo é dissolvido em água, as suas moléculas orientam-se de tal maneira que as extremidades hidrofílicas se dirigem para água e as hidrofóbicas para as interfaces água/recipiente ou água/ar (Figura 4.8-A). Havendo outro corpo presente, por exemplo, sujeira, este também será envolto por uma película de tensoativo, orientada da mesma forma. Em função deste fenômeno de orientação dos produtos tensoativos quando em solução, temos a formação de espuma e o poder detergente (Figura 4.8-B).

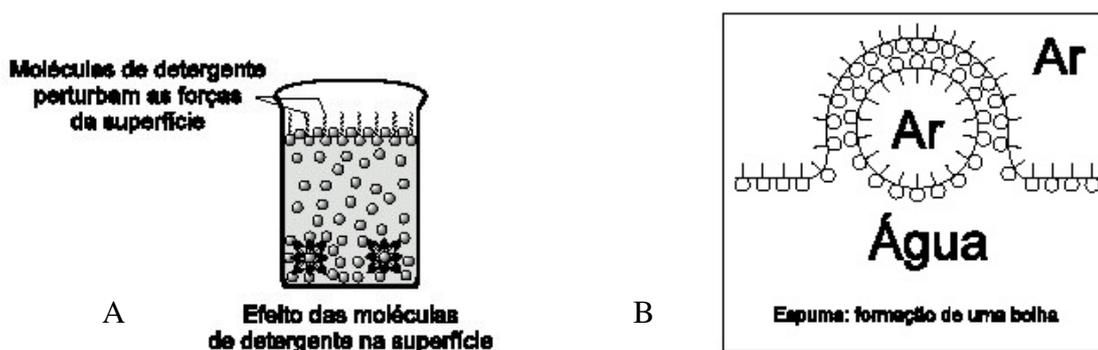


Figura 4.8 – (A) A figura mostra a dispersão de um tensoativo (detergente) em água. As moléculas do detergente tendem primeiramente à superfície da solução, tornando as interações porção hidrofóbica/ar e porção hidrofílica/água possíveis. Com o aumento da concentração do detergente em água, suas moléculas irão para o interior da solução, formando micelas, numa tentativa de aumentar a interação entre suas próprias caudas hidrofóbicas para excluir as moléculas de água desta porção. (B) A figura mostra a formação de uma bolha, que ocorre quando a quantidade de detergente em solução é ainda maior e ele passa a interagir com o ar. Quando em solução está presente a gordura (sujeira), é com ela que sua porção hidrofóbica irá interagir, permitindo sua solubilização e remoção pela água.

Quando uma bolha de ar penetra na solução, forma-se na interface ar/água ou impureza/água um filme de tensoativo, que pode no primeiro caso, sair do meio, envolvendo uma fina película de água, e no segundo caso, a partícula de impureza tende a manter-se suspensa no meio.

Assim, no caso específico da limpeza dos cabelos contaminados por impurezas de característica graxa, ocorre o mesmo fenômeno de orientação, havendo com isto a formação de uma micela, a qual se solta do fio de cabelo.

Estabilizadores de espuma

Popularmente é aceito um xampu que apresente bom poder espumante, pois se acredita que o efeito de limpeza encontra-se ligado ao poder espumante, o que na realidade não ocorre. Por exemplo, os não iônicos com alto grau de etoxilação apresentam bom poder de limpeza, porém fraco poder espumante. A formação de espuma depende do pH da solução, do conteúdo em eletrólitos e da dureza da água. Pode-se melhorar ou estabilizar o poder espumante de um xampu pela adição de vários componentes, tais como carboximetilcelulose (CMC) (Figura 4.9), fosfatos, alcanolamidas etc. Normalmente estas últimas favorecem a formação de uma espuma de pequenas bolhas as quais apresentam melhor estabilidade.

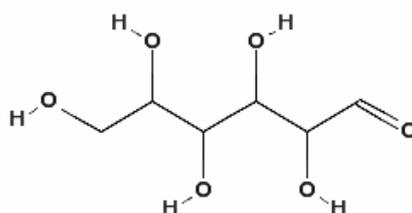


Figura 4.9 – Estrutura esquemática do espessante carboximetilcelulose (CMC).

Espessantes

Os espessantes são substâncias que permitem aumentar a viscosidade, dando ao usuário a impressão de ter um produto mais concentrado. Uma série de produtos pode ser utilizada como espessantes. Entre estes podemos citar sais, alginatos, carboximetilcelulose (CMC) (Figura 4.9), metilcelulose (MC). As principais são as alcanolamidas de ácidos graxos, pois apresentam uma série de vantagens sobre os anteriores, tais como poder engordurante e estabilizador de espuma. Os primeiros apresentam inconvenientes como turvação, influenciam na transparência e na estabilidade do produto. As alcanolamidas que apresentam ótimo poder espessante são: dietanolamida do ácido graxo de coco, do ácido mirístico, láurico e oléico.

Agentes engordurantes

Para evitar a retirada excessiva de gordura pelo tensoativo, utiliza-se agentes engordurantes. Os mais usados são alcanolamidas, lanolina e derivados hidrossolúveis, derivados de lecitina etc.

Agentes perolantes

Em casos especiais, pode-se desejar que o xampu apresente aspecto sedoso ou perolado e para tanto se utilizam certos aditivos que sob certas condições apresentam esta característica. Tais aditivos são ésteres de ácidos graxos, sabões metálicos e certas alcanolamidas de ácidos graxos.

Conservantes

Devido à presença de água e diversos componentes orgânicos, os xampus apresentam susceptibilidade à contaminação microbiana, tornando-os inadequados ao consumo. Por isso, faz-se necessário o uso de alguns conservantes tais como metilparabeno e propilparabenos (Nipagin[®] e Nipazol[®]).

Essências e Corantes

São destinados a dar ao xampu sua característica olfativa e visual. Estas características devem satisfazer as expectativas do consumidor.

Diluyente

O diluyente mais utilizado é a água. Utiliza-se água tratada, destilada ou ionizada.

Como formular um xampu

Fórmula geral de um xampu líquido:

- Tensoativos (agentes de lavagem): 15-25%
- Estabilizador de espuma: 1-4%
- Espessante: 0-5%
- Aditivos cosméticos ou de tratamentos: q.s.
- Agente quelante (EDTA Na): 0-0,2%
- Conservante: 0,1-0,3%
- Água purificada: q.s.

Condicionadores

O condicionador de cabelo é uma associação de diversos produtos que apresentam características que complementam o tratamento do cabelo. O condicionador deverá possuir caráter catiônico, pois isto permite a sua fixação com a queratina. Dependendo do tipo de cabelo e do tipo de xampu utilizado previamente, a composição de um condicionador pode variar, mas, em linhas gerais, ele deve apresentar as seguintes características:

- poder anti-estático - na redução da eletricidade estática, facilita-se o pentear, ficando o cabelo solto e relativamente macio;
- poder engordurante, pois em alguns casos o xampu desengordura em excesso e é necessária a reposição desta gordura sobre o cabelo e couro cabeludo;
- pH ácido, pois normalmente o detergente aniônico aumenta o pH do couro cabeludo e, com a utilização de um produto ácido, o pH da epiderme volta ao normal (ideal entre 4 e 5).

Como formular um condicionador

Fórmula geral de um condicionador:

- Álcool ceto estearílico: 4%
- Amônio quaternário: 2,5-3,5%
- Ácido cítrico: 0,5%
- Essência: 0,4-0,6%
- Água: q.s.100ml
- Aditivos: 2-6%
- Conservantes: q.s.

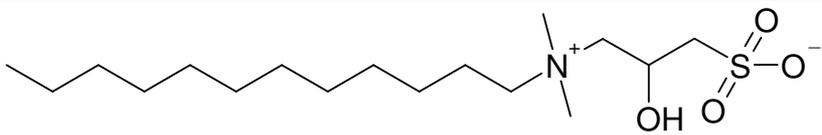
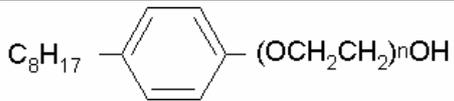
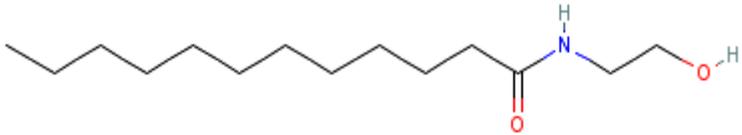
Estudo dirigido 4.1 – Detergentes e condicionadores

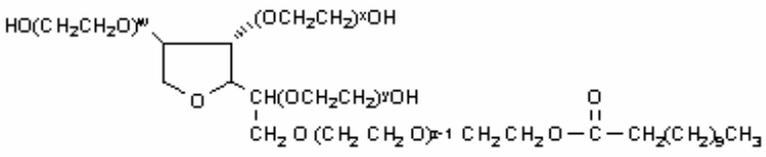
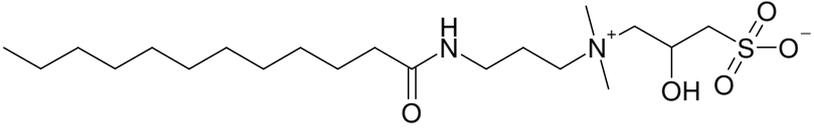
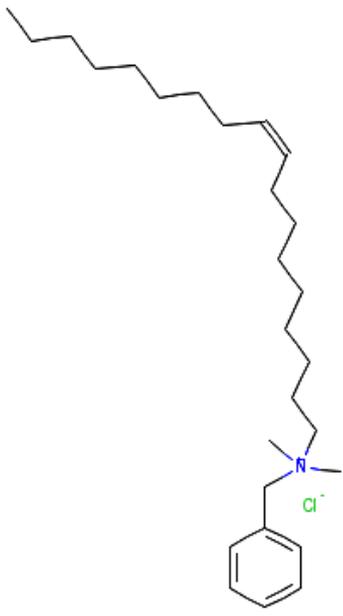
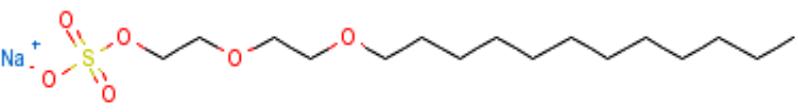
1. Indique quais composições (A, B ou C) são as mais adequadas para os cabelos oleosos, normais e secos.

Composição	A	B	C
Lauril éter sulfato de sódio	25-30%	25%	30-40%
Lauril sulfato trietanolamina	5-8%	8-10%	-
Dietanolamina de ácidos graxos	2-3%	3-3,5%	1,5-2,5%
Anfótero betaínico	3-4%	4-4,5%	2-3%
Conservantes	q.s.	q.s.	q.s.
Agente perolante	1,5-3%	2,5-3%	1-1,5%
Essência	0,3-0,6%	0,3-0,6%	0,3-0,6%
Aditivos	1-6%	1-6%	1-6%
Água	q.s.p. 100%	q.s.p. 100%	q.s.p. 100%
Ácido cítrico	0,05-0,5%	0,05-0,5%	0,05-0,5%
NaCl	0,5-2%	0,5-2%	0,5-2%
Corante	q.s.	q.s.	q.s.

q.s.: quantidade suficiente.

2. Classifique os seguintes tensoativos como aniônicos, catiônicos, não iônicos e anfóteros.

<i>Estrutura do tensoativo</i>	<i>Classificação</i>
 <p>cocoamidopropil hidroxisulfato</p>	
 <p>C_8H_{17} — (OCH₂CH₂)_nOH</p> <p>$n \sim 5$</p> <p>Triton X45[®] polietilenoglicol 4-terc-octilfenil éter</p>	
 <p>monoetanolamida de ácido graxo de coco</p>	

 <p>Sum of $w + x + y + z = 20$ Tween 20[®] polioxietilenosorbitan monolaurato</p>	
 <p>N-(3-laurilamidopropil)N,N-dimetil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil) amônio</p>	
 <p>cloreto de olealcônio</p>	
 <p>lauril éter sulfato de sódio</p>	

3. Um xampu que faz muita espuma limpa melhor? Explique.
4. O que você acha dos xampus 2 em 1?
5. Se óleos são compostos de moléculas com uma cabeça polar e uma cauda hidrofóbica, por que não lavamos o cabelo, as mãos e os pratos com óleo de soja?
6. a) Qual sua opinião a respeito de xampus contendo DNA vegetal em sua formulação?
 b) Como o DNA poderia agir?

c) Qual a vantagem/desvantagem da origem vegetal deste ácido nucleico?

7. Condicionadores de proteínas têm se tornado bastante populares, pois dão volume, brilho e tornam o cabelo mais fácil de ser penteado. O xampu mais caro que existe é feito a partir de caviar, mas o mesmo resultado pode ser obtido usando ovos comuns ou cerveja (escura) no cabelo. Propagandas deste tipo de condicionador prometem reparar o cabelo, principalmente os condicionadores que usam soluções de queratina, alegando que a queratina em solução irá ligar-se à queratina do cabelo, reparando o cabelo danificado. Quais são os erros destas propagandas?

8. Relacione o poder detergente com a posição do grupo hidrófilo.

Referências

Peyrefitte G, Martini MC, Chivot M. Cosmetologia, biologia geral, biologia da pele. 1ª ed. Paris: Simep/Masson; 1998.

Tele Curso 2000. Aula 43 – Como detergente tira gordura?

<http://www.farmaciamagistral.com.br/formcabelo.html>

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://sis.nlm.nih.gov/Chem/ChemMain.html>

<http://hpd.nlm.nih.gov/products.htm>

5. Estrutura da pele II - histologia

Epiderme

A epiderme é a camada mais externa do corpo e está em contato direto com o meio externo. É um epitélio queratinizado estratificado composto principalmente de queratinócitos, as células epiteliais especializadas responsáveis pela renovação, coesão e barreira da epiderme. A Figura 5.1 mostra que esta camada externa da pele é subdividida em cinco camadas (de dentro para fora): *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum* e *stratum corneum*. Estas camadas são formadas pela diferenciação seqüencial de células migrando da camada basal para a superfície. A epiderme se renova a cada 14-30 dias dependendo da região da pele.

- A camada basal (*stratum basale*) é a camada mais profunda e fica logo acima da derme. É a camada com a maior atividade mitótica. As camadas de células basais se ligam à lâmina basal (*basement membrane*).
- A camada espinosa (*stratum spinosum*) é a camada mais grossa da epiderme. As células nesta camada chegam por migração da camada basal, perdendo sua adesão à lâmina basal e se aderindo a outros queratinócitos.
- A camada granular (*stratum granulosum*) é caracterizada pela presença de grânulos de queratohialina entre os filamentos de queratina; consiste em 3-5 camadas de queratinócitos achatados. Esta é a camada mais superficial em que as células ainda possuem núcleo.
- A camada córnea (*stratum corneum*) é a camada mais superficial e é composta de células mortas. O alto conteúdo lipídico forma uma barreira para retenção de água e resistência. Esta camada fornece 98% de habilidade de retenção de água da epiderme. A membrana plasmática se torna grossa devido à deposição e ligação cruzada de proteínas, como a involucrina, ao longo da superfície interna para formar o envelope córneo. Estas células não possuem núcleo e outras organelas mas possuem inúmeros filamentos de queratina. O *stratum lucidum* é parte desta camada.

Figura 5.1 - Ver na Seção 13 "Figuras coloridas"

Outros integrantes da epiderme são as células de *Langerhans* apresentadoras de antígeno, os linfócitos T epidérmicos, ambos derivados da medula óssea, os melanócitos formadores de pigmentos e as células de *Merkel* neuroepiteliais, queratinócitos modificados que possuem queratinas e formam ligações desmossomais de queratinócitos.

Os melanócitos possuem melanina, um pigmento que confere cor à pele. Eles residem na camada basal da epiderme e entram em contato com muitos queratinócitos

(normalmente ~30) da camada basal e imediatamente acima dela. Não formam conexões desmossomais.

Derme

A derme é um tecido conectivo, irregular e denso, composto de colágeno, elastina e glicosaminoglicanos. É mais grossa que a epiderme, contém extensiva vascularização, neurônios, músculo liso e fibroblastos (Figura 5.2). É a principal barreira mecânica da pele. Sua rede de fibras elásticas funciona para suportar a epiderme e ligar à hipoderme. A derme contém duas camadas, a camada papilar e a camada reticular.

A derme possui elementos neuronais para percepção de toque, dor, coceira e temperatura. Os corpúsculos de *Meissner* residem na camada papilar e funcionam como mecanorreceptores na percepção do toque. Os corpúsculos de *Pacini* são encontrados na porção profunda da derme (e na hipoderme) e são responsáveis pela sensação de pressão.

Hipoderme

A hipoderme é composta de tecido conectivo frouxo com um grande número de células adiposas (Figura 5.2). A hipoderme confere insulação, absorção de impacto, estoque de energia e flexibilidade. Também contém o maior número de vasos sanguíneos da pele. Muitos dos anexos epidérmicos se estendem até a hipoderme. Eles são uma fonte de queratinócitos quando a epiderme é destruída por abrasão ou queimadura.

Figura 5.2 – Ver na Seção 13 “Figuras coloridas”.

Renovação da pele

A epiderme é um tecido auto-renovador: uma única célula-tronco adulta tem capacidade proliferativa para produzir epiderme nova suficiente para cobrir a superfície corpórea. Na pele de mamíferos, células-tronco epiteliais de ciclo lento residem em uma porção saliente do folículo piloso (*bulge*) (Figura 5.3).

Estas células-tronco são multipotentes (células-tronco que têm o potencial de dar origem a múltiplas linhagens) e podem dar origem não só a células da epiderme como também a folículos pilosos e glândulas sebáceas. Estas células-tronco presentes na saliência do folículo piloso e que migram para a epiderme vivem na camada (basal) mais interna. A taxa de proliferação e migração é muito acelerada quando a pele foi danificada e a ferida está sendo cicatrizada.

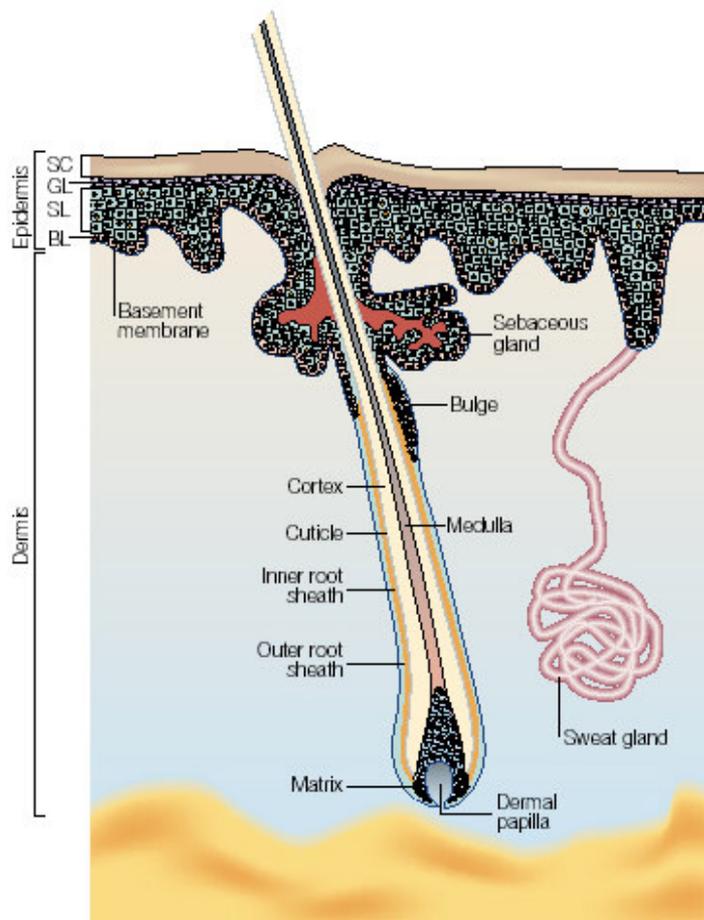


Figura 5.3 - Folículo piloso de mamíferos. Observe a posição da saliência (*bulge*), onde as células tronco estão localizadas.

Estudo dirigido 5.1 – Estrutura da pele II

1. Quais as camadas da pele?

	epiderme	derme	hipoderme
Localização			
Tipo de tecido			
Células presentes			
Vascularização			

2. Onde residem os melanócitos? Qual o papel destas células?

3. Em qual porção da pele se encontra a maior parte do colágeno?

4. Qual o segredo da alta taxa de renovação da pele?

5. Suponha como age um creme hidratante para a pele.

Referências

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. New York: Garland Publishing; 2002.

Burkitt HG, Young B, Heath JW. Wheater's Functional Histology. 3rd ed. London: Longman Group UK Limited, 1994.

Fuchs E, Raghavan S. Getting under the skin of the epidermal morphogenesis. Nature Reviews Genetics 2002, Mar (3):199-209.

Gambardella L, Barrandon Y. The multifaceted adult epidermal stem cell. Current Opinion in Cell Biology 2003, 15:771-7.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira PB, David D, James E. Molecular Cell Biology. 4th ed. New York: W. H. Freeman & Co.; 2000.

Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. Physiol Rev. 2004 Oct; 84(4):1155-228.

<http://sprojects.mmi.mcgill.ca/dermatology/basics.htm>

http://www.med-ed.virginia.edu/public/CourseSitesDocs/CellandTissueStructure/handouts/unrestricted/original/MMHndt_skin.html

<http://www.tarleton.edu/~anatomy/integpix1.html>

6. Radiação solar - ultravioleta

A luz solar consiste de radiações de diferentes comprimentos de onda compreendendo os raios gama, os raios X, o ultravioleta (UV), o infra-vermelho (IV), as microondas e as ondas de rádio (Figura 6.1), sendo que a luz visível corresponde a uma ínfima parte deste espectro.

Figura 6.1 - Ver na Seção 13 "Figuras coloridas".

Infra-vermelho (IV, 700-2000 nm): Tem pouco poder de provocar reações químicas, sendo essencialmente térmica (forma de perda de energia de certos ativos de protetores solares de ação química). Os comprimentos de onda de 700 a 1500 nm podem atravessar completamente a pele, dependendo da espessura e cor.

Visível (VIS, 400-700 nm): Apresenta diferentes graus de energia térmica e luminosa e capacidade de provocar reações químicas.

Ultravioleta (UV, 100-400 nm, Figura 6.2): É a radiação mais energética emitida pelo sol capaz de atingir a superfície terrestre. A radiação UV é dividida em UVA (320-400 nm); UVB (280-320 nm) e UVC (100-280 nm). A radiação UVC, a mais energética das três, é bloqueada eficientemente na estratosfera pela camada de ozônio. UVA é o componente principal da radiação solar ao qual estamos expostos e é responsável por danos mais leves e crônicos. Embora seja fracamente carcinogênico, é capaz de induzir o envelhecimento precoce da pele. UVB é responsável por danos agudos como queimaduras e por ser mais energético é mais ativo na formação de tumores de pele.

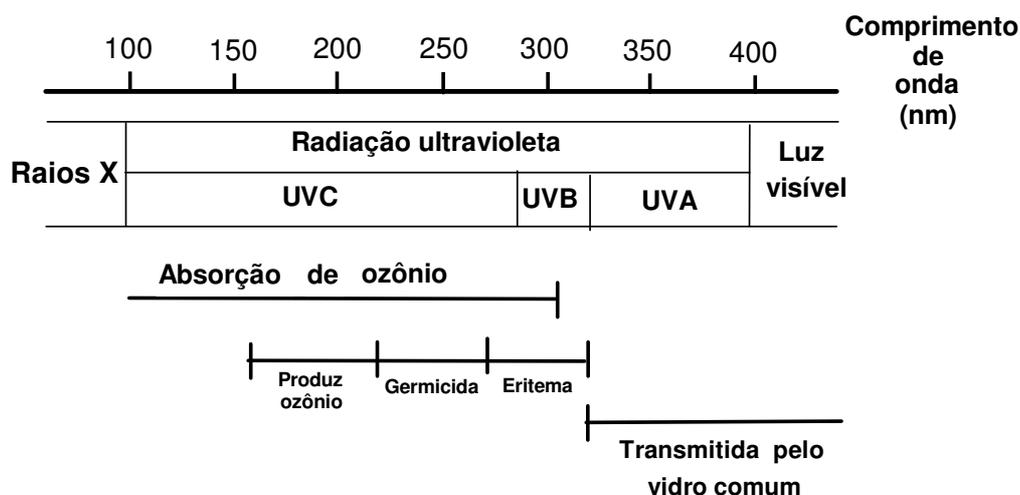


Figura 6.2- Espectro de radiação UV.

Apenas 7% da totalidade da energia emitida pelo sol atingem a superfície da Terra (o que chamamos de espectro solar terrestre) uma vez que 93% aproximadamente são retidos pela atmosfera (Figura 6.3). Apesar da disparidade na literatura, o espectro solar terrestre em um dia de verão, sem nuvens às 12hs é composto por aproximadamente 50% de IV, 5% de UV e cerca de 45% de VIS.

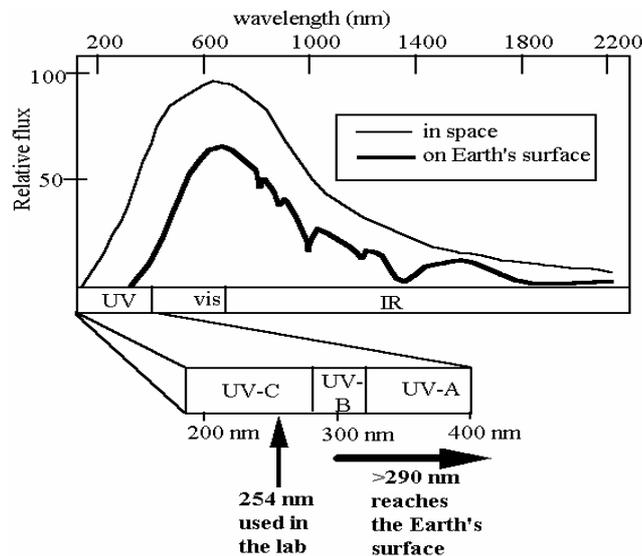


Figura 6.3- Radiação solar na superfície da terra versus na atmosfera.

A intensidade da radiação UV depende de fatores como estação do ano, latitude, altitude, poluição, condições atmosféricas e o horário do dia.

UVA (3,9%): Ocorre o dia todo e caracteriza-se por ser um fraco indutor de eritema*, por apresentar fraca ação bactericida, ser pigmentógena e por ser responsável tanto pelo bronzeado imediato quanto pelo tardio. Embora seja menos perigoso se comparado a UVB e UVC, é a faixa predominante a atingir a Terra. Devido ao comprimento de onda, é a faixa de UV capaz de penetrar até camadas mais profundas da pele.

*Eritema: A exposição ao sol causa vaso-dilatação, e este aumento do volume sanguíneo na derme é percebido como um avermelhamento da pele. Esta alteração fisiológica é conhecida por eritema e é o resultado de uma inflamação da pele que pode ser facilmente induzida por radiação UVB.

UVB (0,4%): É predominante entre 10 e 14 horas e caracteriza-se por provocar eritema (cerca de 800-1000 vezes mais que UVA), além de ser um dos responsáveis pelo bronzeamento tardio e de longa duração. Seu poder bactericida aumenta com a diminuição do comprimento de onda. Além disso, suspeita-se que a radiação UVB atue sinergicamente com a UVA, na formação do câncer de pele. O espectro de absorção para a carcinogênese parece coincidir com o do eritema (290-320 nm), salientando-se que a carcinogênese induzida pela radiação solar é resultado de fenômeno cumulativo, ou seja, a pele armazena os eventos bioquímicos ativados pela radiação. O UVB é responsável pela

transformação do ergosterol em vitamina D. Também está relacionado à supressão do sistema imune e a induzir tolerância a antígenos.

UVC (é barrado pela camada de ozônio estratosférica): Ação bactericida, pouco eritematógena, pouco pigmentógena. Em contato com a pele produz telangectasias (vasinhos), ressecamento e epitelioma.

A penetração da radiação depende do tipo de interação que ocorre do meio com o fóton de luz. No caso da pele, quanto maior o comprimento de onda, maior o grau de penetração (Figura 6.4). Portanto, mesmo sendo menos energético que o UVB, o UVA é capaz de penetrar até a derme enquanto que o UVB afeta apenas a epiderme. É bom lembrar que por mais que o UVB não penetre na pele tanto quanto o UVA os seus efeitos deletérios são mais prejudiciais que o UVA.

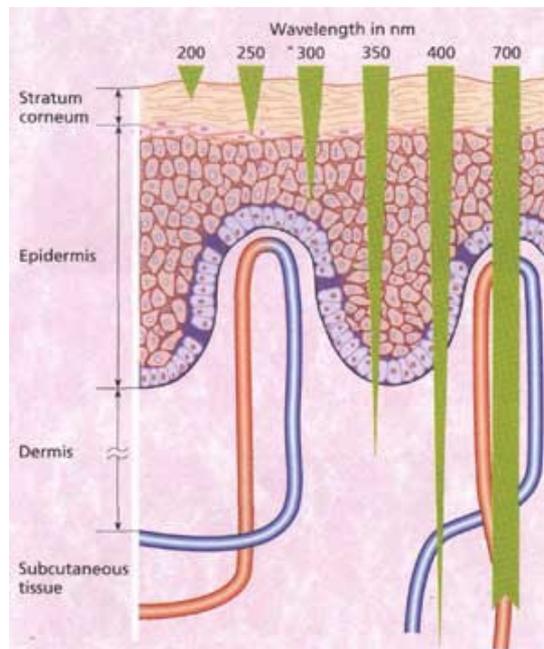


Figura 6.4 - Penetração da radiação UV e visível na pele.

Estudo dirigido 6.1 – Radiação UV

1. a) Sabendo que a radiação UV varia em relação a diversos fatores tais como altitude, latitude, estação do ano, porcentagem de nuvens, hora etc, esboce um gráfico de como a radiação deve variar de acordo com:
 - i- hora do dia;
 - ii- estação do ano.
- b) Com base na resposta do item a anterior explique por que é recomendado que seja evitado o sol próximo ao meio-dia?
2. Qual seria uma consequência imediata da destruição da camada de ozônio?
3. Por que a radiação UVB, mesmo sendo mais energética que a UVA, penetra menos na pele?

Efeitos benéficos da radiação solar

Vitamina D

A exposição à radiação UVB é essencial para a transformação do ergosterol em vitamina D₃ em nosso organismo (Figura 6.5).

A deficiência de vitamina D aumenta o risco de doenças nos ossos, fraqueza muscular e de certos tipos de câncer. Há casos na literatura que relacionam a deficiência desta vitamina à *diabete mellitus* e hipertensão.

A suplementação com vitamina D não é apenas segura, mas em muitos casos recomendada por médicos, havendo diferentes dosagens recomendadas de acordo com a idade sendo que para idosos esta dosagem deve ser maior. Importante ressaltar que o uso de filtro solar não causa deficiência de vitamina D, pois a quantidade de sol que tomamos diariamente já é suficiente para esta transformação.

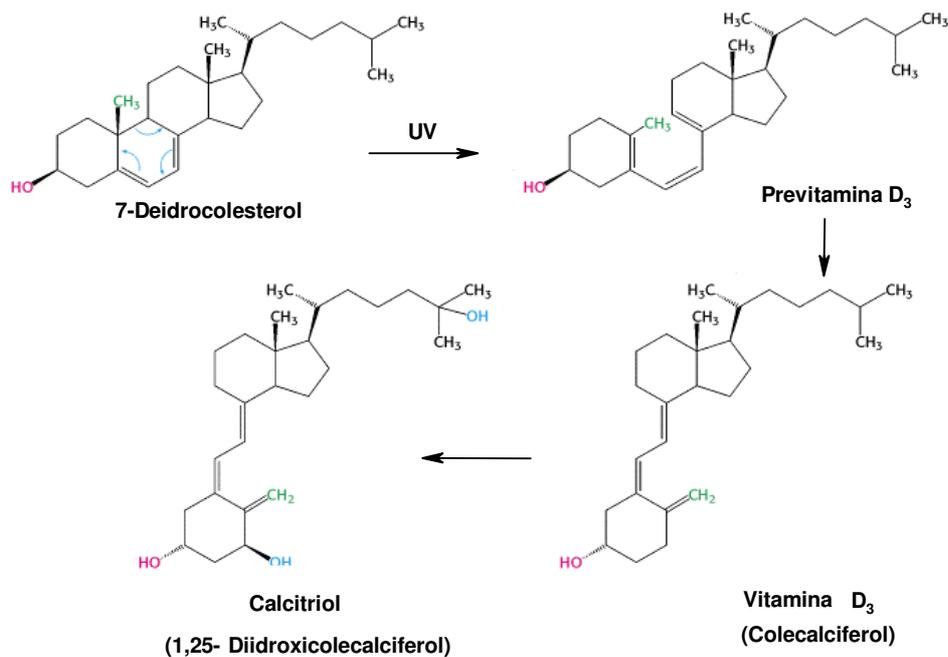


Figura 6.5- Via de conversão de 7-deidrocolesterol em vitamina D₃ e então em calcitriol, o hormônio ativo.

Efeitos nocivos da radiação solar

Os danos causados pela radiação UV podem ser divididos em agudos e crônicos (Figura 6.6). Os agudos incluem o eritema calórico, a queimadura solar, a fotossensibilidade induzida por drogas e o agravamento de doenças, enquanto que os crônicos são o envelhecimento precoce e o câncer de pele (Box 6.1).

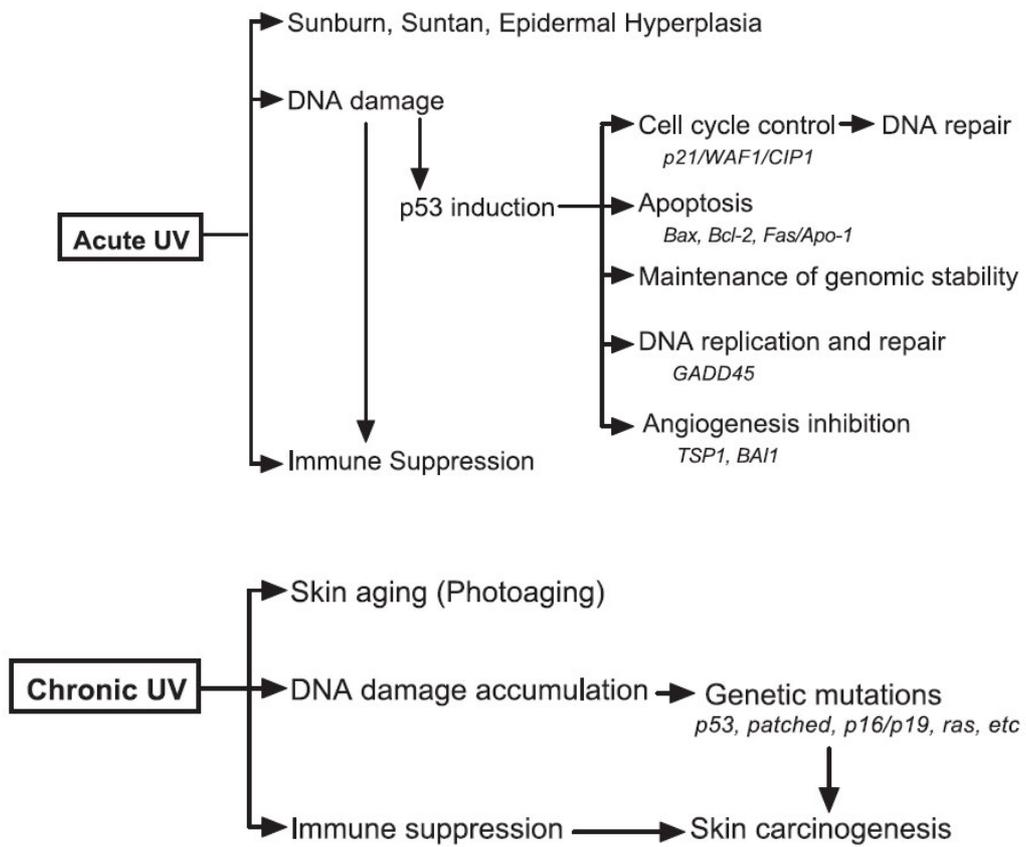


Figura 6.6 - Danos agudos e crônicos causados por radiação UV na pele.

Box 6.1- Câncer de pele.

Embora o câncer de pele seja o tipo de câncer mais freqüente, correspondendo a cerca de 25% de todos os tumores malignos registrados no Brasil, este tipo de câncer apresenta alto percentual de cura quando detectado precocemente.

As neoplasias cutâneas estão relacionadas a alguns fatores de risco, como o químico, a radiação ionizante, genodermatoses (*xeroderma pigmentosum* etc), e principalmente a exposição aos raios UV do sol. Pessoas que vivem em países tropicais como o Brasil e a Austrália, ou seja, que estão mais suscetíveis à exposição solar, possuem o maior registro de câncer de pele no mundo.

Câncer de pele é mais comum em indivíduos com mais de 40 anos sendo relativamente raro em crianças e negros, com exceção daqueles que apresentam doenças cutâneas prévias. Indivíduos de pele clara, sensível à ação dos raios solares, ou com doenças cutâneas prévias são as principais vítimas do câncer de pele. Os negros normalmente têm câncer de pele nas regiões palmares e plantares.

Como a pele é um órgão heterogêneo, esse tipo de câncer pode apresentar neoplasias de diferentes linhagens. Os mais freqüentes são: carcinoma basocelular, responsável por 70% dos diagnósticos de câncer de pele, o carcinoma epidermóide com 25% dos casos e o melanoma, detectado em 4% dos pacientes. Felizmente o carcinoma basocelular, mais freqüente, é também o menos agressivo. Este tipo e o carcinoma epidermóide são também chamados de câncer de pele não melanoma, enquanto o melanoma e outros tipos, com origem nos melanócitos, são denominados de câncer de pele melanoma.

Os carcinomas basocelular são originários da epiderme e dos apêndices cutâneos acima da camada basal, como os pêlos, por exemplo. Já os carcinomas epidermóides têm origem no queratinócito da epiderme, podendo também surgir no epitélio escamoso das mucosas.

O melanoma cutâneo é um tipo de câncer que tem origem nos melanócitos e tem predominância em adultos brancos. Embora só represente 4% dos tipos de câncer de pele, o melanoma é o mais grave devido à sua alta possibilidade de metástase (capacidade de espalhar para outras regiões do corpo). Quando os melanomas são detectados em estágios iniciais os mesmos são curáveis, sendo que nos últimos anos houve uma grande melhora na sobrevida dos pacientes com este tipo de câncer. Nos países desenvolvidos a sobrevida média estimada em cinco anos é de 73%, enquanto que, para os países em desenvolvimento a sobrevida média é de 56%.

O número de casos novos de câncer de pele não melanoma estimados para o Brasil em 2005 é de 56.420 casos em homens e de 56.600 em mulheres. Estes valores correspondem a um risco estimado de 62 casos novos a cada 100 mil homens e 60 para cada 100 mil mulheres. Quanto ao câncer de pele melanoma, estão previstos 2.755 casos novos em homens e 3.065 casos novos em mulheres.

Fonte: INCA (Instituto Nacional do Câncer)

Efeitos da radiação UV no DNA

Tanto a radiação UVA quanto UVB são capazes de produzir danos ao DNA, seja de forma direta (através da absorção direta da radiação nesta região do espectro pelo DNA) ou indireta (através da formação das espécies reativas de oxigênio, ERO). As ERO são capazes de influenciar a divisão celular ou apoptose. A faixa mais citotóxica corresponde à radiação UVB, que induz a formação de dímeros entre bases de pirimidinas adjacentes na mesma fita (Figura 6.7). Os dímeros causam alterações na estrutura da dupla hélice, prejudicando a replicação e expressão gênica.

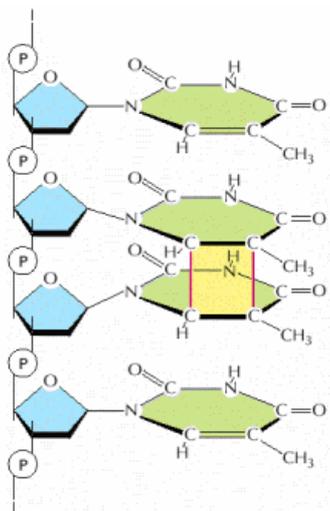


Figura 6.7 - Dímeros de timina: este tipo de dano ocorre no DNA de células expostas a radiação UV. Dímeros similares podem ser formados entre quaisquer bases de pirimidina (C e T) vizinhas.

Estudo dirigido 6.2 - Efeitos biológicos do UV

1. Cite alguns efeitos benéficos da radiação UV.
2. Cite alguns dos efeitos agudos e crônicos induzidos por radiação UV. Tente relacionar efeitos agudos e crônicos.

Radiação solar e pele

Quando a radiação solar atinge a pele, provoca alterações perceptíveis como espessamento da camada córnea, indução de sudorese e produção de melanina. Esta resposta é parte do sistema de proteção natural do nosso organismo contra a radiação solar. Cerca de 24-36 horas após a irradiação uma hiperpigmentação com conseqüente espessamento da epiderme é observada, que tem como função a absorção da radiação incidente. A indução de sudorese promove a distribuição do ácido urocânico, cuja

produção é estimulada por UVB e possui alta capacidade de absorção de energia nesta mesma faixa de UV. Porém esta produção não é duradoura uma vez que há evaporação do suor e perda do ácido urocânico devido a sua solubilização na água.

A melanina constitui o principal mecanismo de defesa contra radiação solar. As melaninas (eumelanina, pigmento escuro; feomelanina, pigmento vermelho; Figura 6.8) são polímeros orgânicos que por possuírem várias duplas conjugadas absorvem nas faixas do UV, visível e infravermelho.

O esquema da biossíntese da melanina é mostrado na Figura 6.8. A primeira etapa da biossíntese é catalisada pela enzima tirosinase. Após a formação de dopaquinona, a biossíntese pode seguir por dois caminhos: na formação do pigmento escuro (eumelanina) através da combinação com o oxigênio e na formação do pigmento vermelho (feomelanina) na reação com o enxofre. O composto com enxofre de maior interesse é o aminoácido cistéina e o tripeptídeo glutatona (GSH). A radiação UV tem capacidade de inibir a enzima glutatona redutase, diminuindo a síntese de feomelanina e aumentando a de eumelanina.

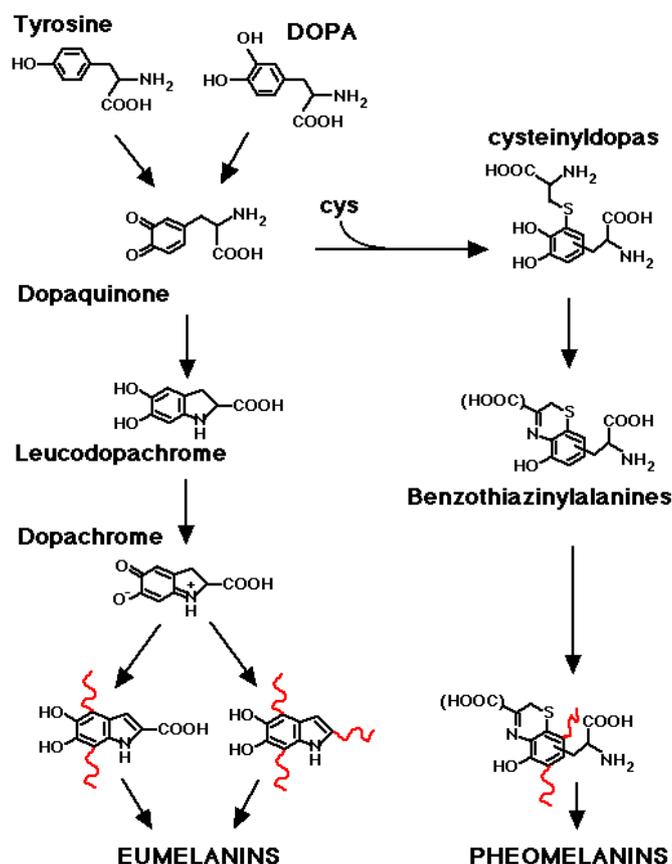


Figura 6.8 - Síntese de melaninas a partir de tirosina.

As melaninas (Figura 6.8) são produzidas a partir da tirosina nos melanócitos, células encontradas junto aos queratinócitos na camada basal da epiderme. A transferência do melanossoma (organela responsável pela produção de melanina) dos melanócitos para os queratinócitos ainda não é um processo totalmente esclarecido: o melanossoma é

injetado diretamente no queratinócito ou ocorre fagocitose pelo queratinócito da extremidade dendrítica do melanócito. Em seguida, nos queratinócitos, há degradação progressiva dos melanosomas por ação de enzimas lisossomais (fosfatases ácidas). Desta forma a melanina é eliminada na superfície cutânea através dos queratinócitos descamantes, e também pela excreção na derme pela via linfática.

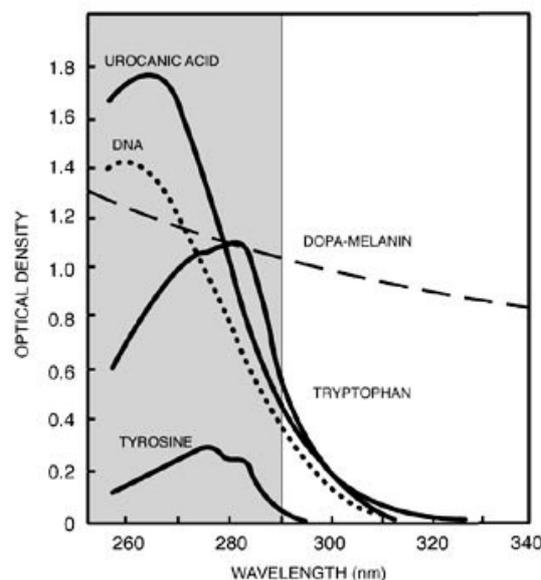
O número de melanócitos varia ao longo do corpo resultando numa pigmentação mais clara ou mais escura. Todos os humanos possuem aproximadamente o mesmo número de melanócitos. As diferenças de coloração são devidas às diferenças no número, tamanho e arranjo dos melanosomas.

Importante ressaltar que estes mecanismos de proteção natural da pele não são totalmente efetivos e, portanto, algumas manifestações, tais como rubor, edema, formação de bolhas e desprendimento da pele podem ocorrer em função do período do dia em que o indivíduo se expõe ao sol sem o uso de protetores. A agressão do sol é cumulativa e irreversível, capaz de produzir alterações normalmente imperceptíveis aos nossos olhos, porém muito graves, como alterações bioquímicas inclusive nas fibras colágenas e elásticas, perda de tecido adiposo subcutâneo e fotocarcinogênese.

Estudo dirigido 6.3 - UV e pele

1. Analisando o espectro abaixo responda:

- Qual seria a vantagem da radiação UVB estimular a produção de ácido urocânico na pele?
- Qual a similaridade quanto à função entre a melanina e o ácido urocânico?
- O que pode acontecer com a estrutura de proteínas que possuam grandes quantidades dos aminoácidos triptofano e tirosina? Por quê?



- Qual a vantagem (se existir) para a pele da radiação UV inibir a síntese de glutathione redutase? Veja a função desta enzima na Seção 7 (Espécies reativas de oxigênio).
- Quais são os 3 componentes principais de proteção da pele contra UV?

Bronzeamento, filtros solares e fator de proteção solar

Bronzeamento

Bronzeamento é uma resposta à exposição à luz UV, espalhando grânulos de melanina pela derme.

Atividade em software 4 - Bronzeamento

Veja animações

<http://www.bbc.co.uk/science/hottopics/sunshine/suntans.shtml#anim>

http://coolshade.tamu.edu/tan_1.html

Queimadura é o resultado de uma reação inflamatória envolvendo muitos mediadores, incluindo histamina, enzimas lisossomais e pelo menos um tipo de prostaglandina. Estes mediadores produzem vasodilatação periférica quando a radiação UV penetra na epiderme; a reação inflamatória envolvendo sistema linfático é desenvolvida. A intensidade do eritema induzido por UVB é máxima após 12-24 horas após exposição. A queimadura por sol é mesmo uma queimadura, geralmente de primeiro grau (superficial). Reações severas ao excesso de exposição UV podem produzir queimaduras de segundo grau, com o aparecimento de bolhas, bem como sintomas de febre, fraqueza ou prostração.

O grau de queimadura ou bronzeamento depende de vários fatores tais como (1) tipo e quantidade de radiação recebida; (2) espessura da epiderme e do estrato córneo; (3) pigmentação da pele; (4) hidratação da pele; (5) distribuição e concentração das veias sanguíneas periféricas.

O bronzeamento ocorre em duas fases. A primeira fase, pigmentação imediata (*immediate pigment darkening, IPD*) é máxima após apenas alguns segundos de exposição à radiação, principalmente UVA, sendo resultante da redistribuição da melanina já presente na pele. Esta é uma forma de proteger o núcleo das células basais da epiderme. O bronzeamento tardio (*delayed tanning, DT*) deve-se tanto à radiação UVA quanto UVB. A radiação UVB está relacionada ao aumento em número e em atividade dos melanócitos, sendo necessárias várias exposições para que ocorra divisão deste tipo celular. O bronzeamento UVA, dependendo do comprimento de onda, apresenta efeitos distintos: Irradiação entre 340 e 400 nm aumenta a densidade de melanina localizada na camada celular basal; irradiação na faixa de 320 a 340 nm eleva a síntese e transferência de melanossomos carregados para a epiderme.

Estudo dirigido 6.4

1. a) Por que as pessoas claras são mais susceptíveis aos danos causados pelo sol?
b) Por que ao tomar sol com a camiseta, a área coberta se bronzeia menos?
2. a) Qual a diferença entre bronzear-se e queimar-se?
b) Bronzeado é sinônimo de saúde?
3. Por que as pessoas com pele mais escura bronzeiam-se rapidamente após alguns minutos de exposição ao sol enquanto as pessoas mais claras, não?

Filtros solares

Para um composto ser um eficiente filtro solar são necessárias duas características principais além de absorver na região do UV: (I) ter um alto coeficiente molar (ϵ) na faixa de absorção do UV e (II) dissipar a energia absorvida com o mínimo impacto para os tecidos da epiderme e derme, impedindo, portanto, a formação de espécies reativas. Além disso, fatores econômicos (baixo custo), estéticos (inodoro, incolor) e antialérgico são levados em conta para a aceitação pelo consumidor. Os filtros solares exercem efeitos de proteção sobre a pele através de ação física ou química.

Box 6.2- Por que uma molécula absorve UV?

A absorção de luz por uma molécula depende da capacidade da molécula dos seus elétrons absorverem a energia sem romper as ligações covalentes (saindo do estado fundamental S_0) e se excitarem, mudando de orbital (S_n , $n \geq 1$, veja figura abaixo). Assim, a absorção de luz UV ou visível dependem da estrutura eletrônica da molécula.

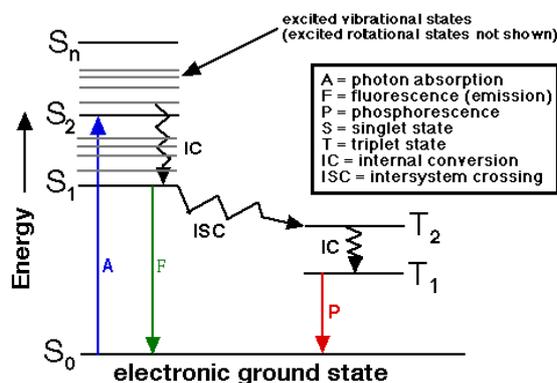


Figura Box 6.2- Diagrama de Jablonski mostrando as possíveis transições de estados de energia que um elétron pode realizar quando excitado.

A absorção por uma ligação C=C excita o elétron de um orbital molecular ocupado π ligante a um orbital antiligante π^* (um estado de maior energia), sendo que esta transição $\pi^* \leftarrow \pi$ requer aproximadamente 7 eV, que é justamente a energia correspondente a 180 nm (UV distante).

Moléculas que possuem um sistema de duplas ligações alternadas com ligações simples (C=C-C=C) são chamadas conjugadas. Essa disposição eletrônica permite que energias menores excitem os elétrons, de forma que a transição $\pi^* \leftarrow \pi$ mova-se para comprimentos de onda maiores (UV próximo), podendo chegar à luz visível (quanto maior a conjugação).

Filtros de efeito físico

Protegem devido à deposição sobre a pele, refletindo e/ou dispersando a radiação incidente. O problema destes filtros é o inconveniente antiestético, pois como depositam sobre a pele e refletem toda luz visível, o efeito final é um visual branco difícil de mascarar. Com a redução do tamanho das partículas destes compostos, estes produtos passaram a ter uma maior aceitação. Principais filtros físicos: dióxido de titânio e óxido de zinco microparticulados (materiais seguros quanto a aspectos toxicológicos e com reduzido efeito visual).

Filtros de efeito químico

Os filtros químicos são compostos aromáticos conjugados com um grupo carboxílico (Figura 6.9). Em muitos casos, um grupo doador de elétrons (amina ou metoxil) é substituído na posição *orto* ou *para* do anel aromático.

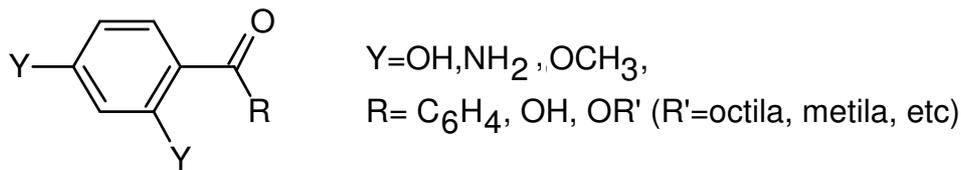


Figura 6.9- Estrutura geral dos filtros solares.

Mecanismo de ação dos filtros químicos

Esta configuração química permite à molécula absorver comprimentos de ondas curtos (mais energéticos) correspondentes ao UV (250-340 nm), convertendo a energia resultante em radiações de baixa energia (geralmente superiores a 380 nm). Portanto, quando a molécula do filtro é atingida por um fóton de luz com determinado nível de energia ela vai para um estado eletrônico excitado e como a molécula entra em ressonância ela dissipa esta energia, retornando ao seu estado fundamental, emitindo outro fóton com menor energia do que aquele que foi absorvido para promover a excitação (Figura 6.10).

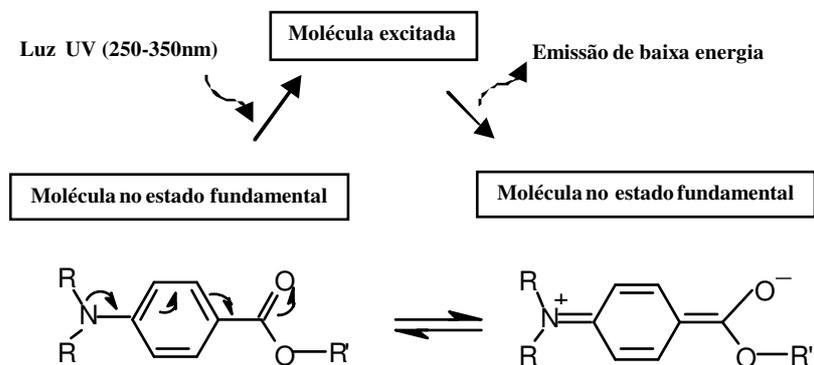


Figura 6.10- Mecanismo de ação geral de filtros químicos.

A energia emitida pelo filtro solar pode ser na região do infravermelho (na forma de calor) ou ainda na região do visível (fluorescência ou fosforescência) (vide Box 6.2). Este efeito é comum aos filtros imidazolínicos.

Efeito sobre o coeficiente de extinção molar (ϵ)

A absorção (A) de energia por uma molécula é dada pela lei de Lambert-Beer:

$$A = c.l.\epsilon$$

onde, c : concentração da molécula (em mols. L^{-1}), l : caminho ótico (em cm), ϵ : coeficiente de extinção molar, é uma constante de proporcionalidade da absorção que está relacionada à natureza da molécula (em $cm^{-1}M^{-1}$).

O valor do coeficiente de extinção molar é a base sobre a qual a efetividade do filtro solar é avaliada. Filtros que possuam altos ϵ soam mais eficientes em absorver a luz dos que possuem baixo ϵ .

A transição eletrônica para um composto qualquer está ligada à facilidade que esta estrutura tem para produzir uma estrutura ressonante. Desta forma, existem moléculas que apresentam simetria que permite ou facilita o deslocamento eletrônico e outras cuja simetria dificulta ou impede o deslocamento eletrônico. Comparando, por exemplo, as moléculas do octildimetil PABA e o salicilato de octila, no primeiro, os dois substituintes do anel benzênico estão em posição *para* enquanto que no salicilato de octila estão em posição *orto*, produzindo assim um impedimento estérico em posição *orto*. Portanto no derivado do PABA o ϵ é maior do que no composto dissubstituído em *orto*. Um aumento em duplas conjugadas também facilita a ressonância e conseqüentemente aumenta o ϵ .

Bloqueador, protetor e bronzeador

De acordo com nossa legislação, os protetores solares disponíveis comercialmente são divididos em quatro categorias: i) baixa proteção no qual o FPS varia de 2 a 6; ii) moderada proteção (FPS 6 a 12); iii) alta proteção (FPS 12 a 20) e iv) muito alta, no qual o FPS é igual ou superior a 20. As preparações de baixa proteção são chamadas também de bronzeadores. Os bronzeadores não apresentam em sua composição filtros de raios UVA, apenas UVB e, portanto, o FPS obtido é muito baixo. Já os protetores solares de alta proteção são associações de filtros UVB com filtros UVA e/ou filtros físicos cujo índice de proteção fica na faixa de 12-30.

O termo bloqueador solar foi proibido pela legislação americana, já que não é possível um bloqueio de 100% da radiação solar.

Na Tabela 6.1 abaixo, alguns exemplos de filtros químicos e físicos mais comumente usados em formulações cosméticas são apresentados.

Tabela 6.1 - Filtros físicos e químicos utilizados em formulações e suas faixas de proteção contra radiação UV.

Table Commonly Used Sunscreen Ingredients			
Ingredient	Protection Range (nm)	UVA Protection*	UVB Protection†
Avobenzene (Parsol 1789)	400 – 320	✓	—
Benzoate 4 methylbenzylidene	300 – 290	—	✓
Dioxybenzone	390 – 250	✓	—
Homosalate	330 – 294	✓	—
Lisadimate (glyceryl p-aminobenzoic acid)	315 – 264	—	✓
Menthyl anthranilate	380 – 260	✓	—
Mexoryl SX‡	400 – 290	✓	✓
Octocrylene	360 – 350	—	✓
Octyl methoxycinnamate	320 – 290	—	✓
Octyl salicylate	320 – 289	—	✓
Padimate O	315 – 290	—	✓
p-Aminobenzoic acid (PABA)	313 – 260	—	✓
Phenylbenzimidazole	340 – 290	—	✓
Roxadimate	330 – 289	—	✓
Sulisobenzene (Eusolex 4360)	375 – 260	✓	—
Titanium dioxide‡	700 – 290	✓	✓
Trolamine salicylate	320 – 260	✓	—
Zinc oxide‡	700 – 200	✓	✓

* UVA indicates long-wavelength levels of radiation, 400 nm – 320 nm.
† UVB indicates short-wavelength levels of radiation, 320 nm – 290 nm.
‡ This ingredient provides total, "broad spectrum" UVA and UVB protection.

Fator de proteção solar (FPS)

O fator de proteção solar (FPS) foi instituído com o objetivo de ter um índice para o grau de proteção de uma determinada preparação com filtros. É calculado segundo a FDA (*Food and Drugs Administration* dos Estados Unidos) ou COLIPA (*The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association*) como sendo a energia ultravioleta necessária para produzir uma dose mínima de eritema (DME) sobre uma pele protegida, dividida pela energia UV necessária para produzir uma DME em uma pele não protegida:

$$\text{FPS} = \text{UV}_{\text{DME_protegida}} / \text{UV}_{\text{DME_desprotegida}}$$

Os testes utilizam dez a vinte voluntários (dependendo da metodologia, vinte para a FDA e dez para a COLIPA) e normalmente utilizam as costas dos indivíduos selecionados que devem apresentar o mesmo tipo de pele (geralmente indivíduos fototipo I, II e III - Tabela 6.2). As costas são quadriculadas e cada quadrante recebe uma determinada quantidade de produto a ser testado (2 mg/cm² de área). A DME é determinada de cada voluntário através de uma sequência de progressão geométrica de

exposição à luz ultravioleta (lâmpadas de xenônio). O tempo pode ser, por exemplo, de 2 minutos (FDA). Vinte e quatro horas após a irradiação, o eritema dos locais são avaliados por técnicos treinados e define-se qual a DME em cada área de teste.

Tabela 6.2 - Fototipos de pele

Tipo de pele	reação à exposição solar	Cor da pele
I	queima facilmente, nunca bronzeia	Branca
II	queima facilmente, bronzeia levemente	Branca
III	queima moderadamente, bronzeado gradual e uniforme	Branca
IV	queimadura mínima, bronzeado moderado	Morena clara
V	raramente queima, bronzeamento abundante e escuro	Morena
VI	nunca queima, pigmentação profunda	Escura

O FPS está relacionado à formação do eritema, que é provocado por UVB. Sendo assim, o método para o cálculo do FPS é válido somente para UVB. Entretanto existem outros métodos que avaliam o poder de proteção para os filtros que absorvem UVA, embora ainda não exista uma padronização. Dentre os modos de calcular o fator de proteção de filtros UVA podemos citar o PPD (*persistent pigment darkening*) e o IPD (*immediate pigment darkening*). Ou seja, enquanto os filtros UVB usam o eritema cutâneo para calcular o grau de proteção, os filtros UVA usam a pigmentação imediata ou tardia como índice. Outros métodos indicam a porcentagem de UVA retida, outros são feitos por quimioluminescência e por espectroscopia de ressonância eletrônica (ESR).

Estudo dirigido 6.5 - Protetores, bloqueadores e bronzeadores

1. a) Qual a diferença entre protetor, bloqueador e bronzeador?
 - b) Qual a diferença entre filtros físicos e químicos?
 - c) Qual o método mais eficiente de se proteger do sol?
2. Para a última fase dos testes *in vivo* de fator de proteção solar, certos parâmetros como tempo de exposição, tipo de pele e quantidade de produto/área a ser testada são fixados.

- a) Os resultados obtidos para um determinado ensaio estão descritos abaixo, calcule: FPS dos protetores I, II e III. O que significa FPS 15 em termos de tempo de exposição ao sol?

Formação eritema: 0:ausência-1:eritema (medido após 24h) tipo de pele III, tempo exposição: 2min

Intensidade radiação UV (ua)	1	2	4	16	30	40	FPS
I protegido	0	0	0	1	1		
I desprotegido	0	1	1				
II protegido	0	0	0	0	1	1	
II desprotegido	0	1	1				
III protegido	0	0	0	0	0	1	
III desprotegido	0	1	1				

- b) Na tabela abaixo estão descritos a porcentagem de absorção da radiação solar para cada FPS de formulações de protetores solares. O que você conclui ao comparar os diferentes FPS? Você acha que um filtro 40 protege o dobro do filtro 20?

FPS (<i>in vitro</i>)	Absorção da radiação (<i>in vivo</i>)
8	87,5%
20	95,0%
30	96,7%
40	97,5%
70	98,6%
100	99,0%

- c) Para estes testes são utilizados 2 mg de produto/cm². Que quantidade de protetor solar uma família de 4 pessoas utilizaria para passar duas horas exposta ao sol?
Dado: área (m²) = (massa (kg) x altura (cm)/3600)^{1/2} (Mosteller, 1987)

	Altura (cm)	Massa (kg)	Área (m ²)	Produto (g)
Pai	190	92	2,2	
Mãe	165	61	1,7	
Filho 1	145	40	1,3	
Filho 2	170	63	1,7	
Total:			6,9	

d) Se cada frasco de protetor solar apresenta, em geral, 120 mL de produto e cada frasco custa em torno de R\$ 20, quanto essa família gastaria para apenas uma manhã de sol na praia (cerca de 4 horas)? O que você conclui com esses dados? O valor de FPS dos produtos é superestimado, apropriado ou subestimado?
Dado: densidade protetor solar = 1,02 g/mL

Mecanismos de reparo do DNA

A idéia de que o reparo do DNA é essencial na fotocarcinogênese veio da descoberta de que pacientes que sofrem de *xeroderma pigmentosum* (XP) têm o sistema de reparo de DNA deficiente.

Na Tabela 6.3 estão indicadas algumas proteínas relacionadas ao sistema de reparo, sua função e fenótipo em camundongos que carregam a versão mutada da proteína.

O reparo por excisão de nucleotídeo (*nucleotide excision repair*, NER) é o processo de reparo mais importante relacionado ao dano por UV. Este processo é bastante complexo, envolvendo mais de 30 genes. Os passos são: 1) reconhecimento da lesão; 2) incisão de fita simples nos dois lados da lesão; 3) excisão da fita comprometida (24-32 bases); 4) reparo do DNA com síntese de uma nova fita; 5) ligação da fita recém sintetizada. O reparo por excisão de base (*base excision repair*, BER) é responsável principalmente por reparar os danos endógenos do DNA, produzidos por espécies reativas de oxigênio (ERO), hidrólise e agentes de metilação. A Figura 6.11 mostra estes dois mecanismos de reparo do DNA.

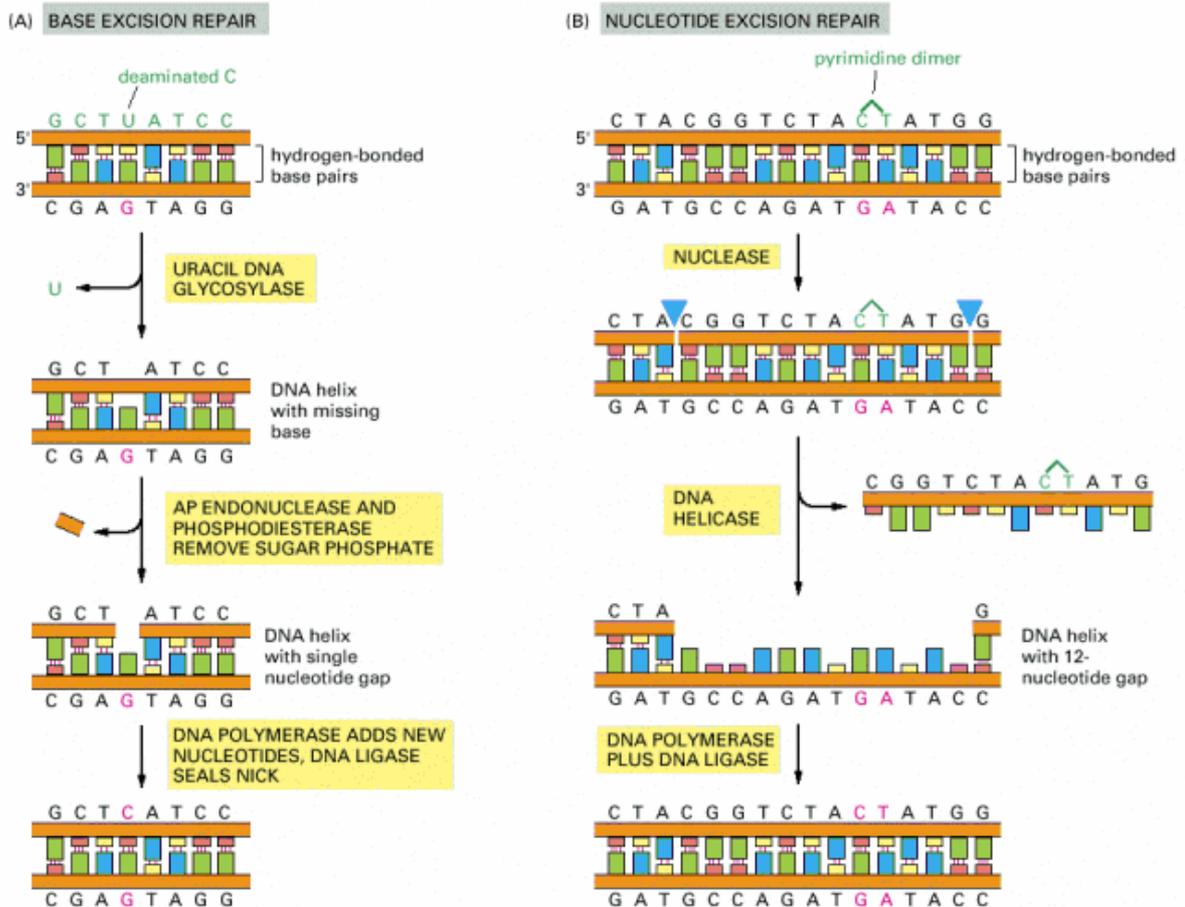


Figura 6.11- Passos do mecanismo de reparo do DNA: (A) por excisão de base (BER); (B) por excisão de nucleotídeo (NER).

São conhecidas duas vias principais de NER: reparo acoplado à transcrição (TCR) e reparo genômico global (GGR). Estas vias removem dímeros de pirimidina e grandes adutos químicos no DNA, trocando o DNA danificado por uma nova fita recém sintetizada. TCR é capaz de remover danos com maior velocidade de fitas transcritas, em genes transcricionalmente ativos, enquanto GGR age de forma mais lenta, em regiões não transcritas. Visto que os danos ao DNA bloqueiam a transcrição, TCR é uma forma vantajosa de reparo uma vez que a célula dá preferência a genes ativos.

Tabela 6.3 - Proteínas relacionadas ao sistema de reparo, sua função e fenótipo em camundongos que carregam a versão mutada da proteína.

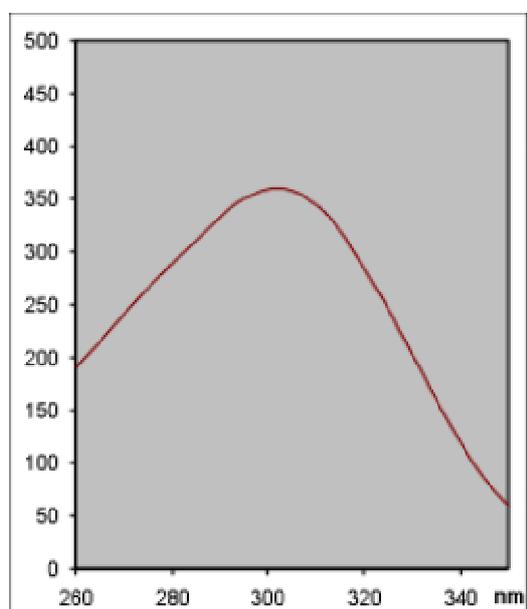
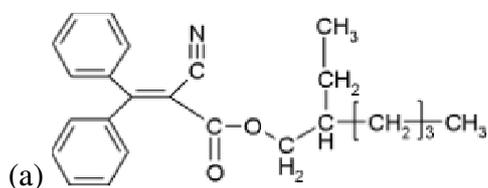
Mammalian genes involved in NER			
Human gene/protein	Function in NER	Mouse gene	Mouse mutant phenotype
XPC/XPC	Involved in damage recognition. Not required for TCNER. Represented in human XP	Xpc	Defective in NER of the non-transcribed strand of transcriptionally active genes after UV radiation. Skin cancer after UV irradiation. Heterozygous mutants also prone to skin cancer. Liver and lung tumours after exposure to chemicals (AAF)
RAD23B(HHR23B)/HRAD23B	Binds to XPC. Involved in damage recognition. No human mutants known	Rad23B	No NER-defective phenotype observed. Mice viable but small
XPA/XPA	Involved in damage recognition. Represented in human XP	Xpa	NER defective. Skin cancer after UV radiation or exposure to chemicals (benz[a]pyrene and DMBA)
RPA1/RFA1	Subunit of trimeric RFA complex. Involved in damage recognition. No human mutants known	Rfal	Not available
XPB/XPB	Subunit of core TFIIH complex. 3' → 5' DNA helicase. Promotes bubble formation. Represented in human XP/CS syndrome	Xpb	Embryonic lethality
XPD/XPD	Subunit of core TFIIH. 5' → 3' DNA helicase. Promotes bubble formation. Represented in human XP, XP/CS syndrome and TTD.	Xpd	Embryonic lethality. An allele that mimics a mutation in human TTD is viable. These mice are NER defective and have TTD. They also manifest skin cancer after UV irradiation
XPG/XPG	3' DNA-structure-specific endonuclease. Required for bimodal incision. Represented in human XP and XP/CS syndrome.	Xpg	NER defective. Mice viable but runted, indicating a vital function
ERCC1/ERCC1	5' DNA-structure-specific endonuclease with XPF. Required for bimodal incision. No human mutants known	Erc1	NER defective. Mice runted or nonviable, indicating a vital function
XPF/XPF	5' DNA-structure-specific endonuclease with ERCC1. Required for bimodal incision. Represented in human XP	Xpf	Not available
DDB1/DDB1	Forms a complex with DDB2. Complex defective in individuals with XP-E	Ddb1	Not available
DDB2/DDB2	Forms a complex with DDB1. Complex defective in individuals with XP-E	Ddb2	Not available
CSA/CSA	Required for TCNER. Represented in human CS	Csa	TCNER defective. No obvious CS phenotype. Skin cancer after UV irradiation
CSB/CSB	Required for TCNER. Represented in human CS	Csb	TCNER defective. No obvious CS phenotype. Skin cancer after UV irradiation

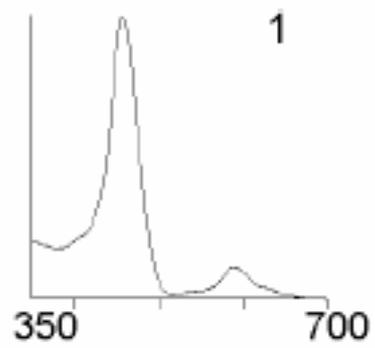
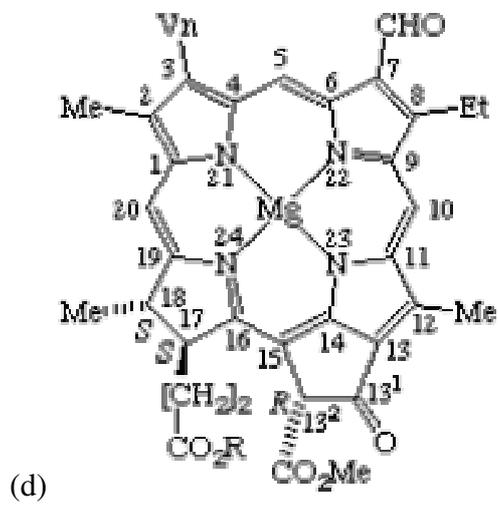
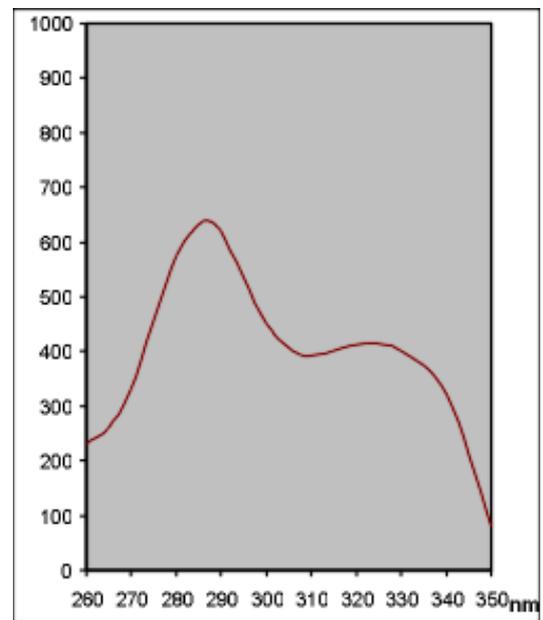
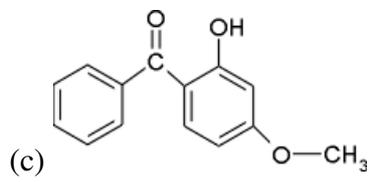
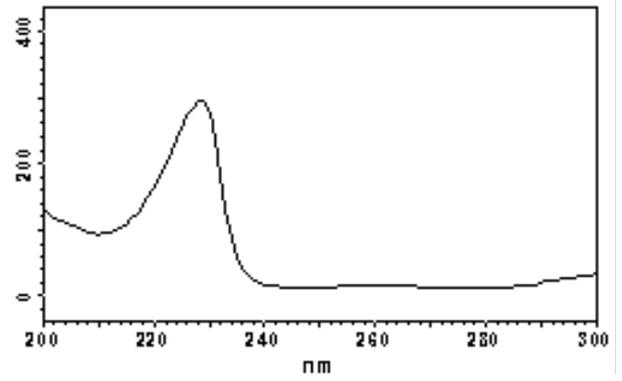
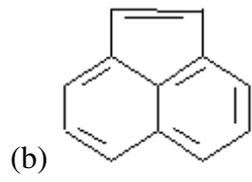
Questões 6.1

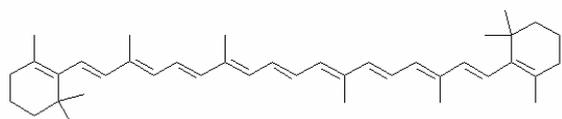
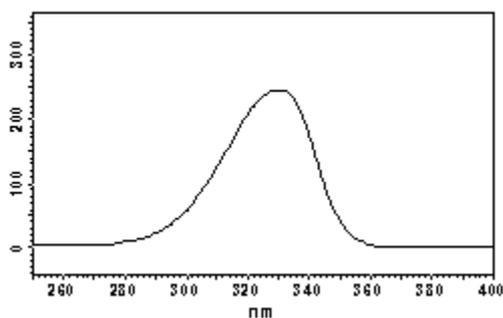
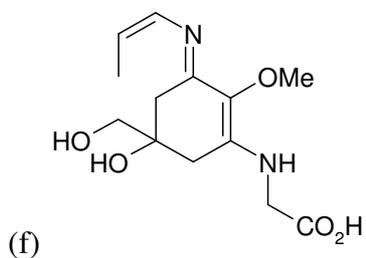
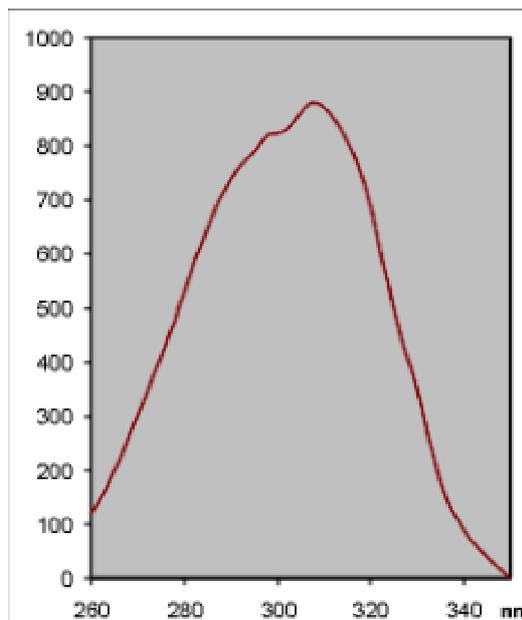
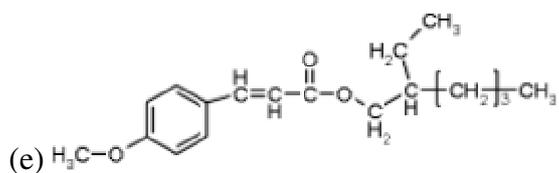
1. Complete a tabela abaixo:

	UVA (longas)	UVB (medianas)	UVC (curtas)
Comprimento de onda (nm)			
Capacidade bactericida			
Capacidade de formar eritema			
Indução de tumor			
Incidência na Terra			
Indução de bronzeamento			
Indução de fotoenvelhecimento			
Nível de penetração na pele			

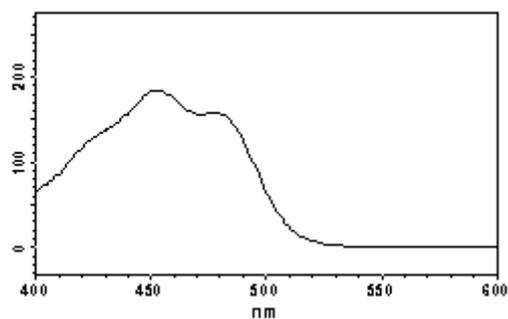
2. Dada as estruturas e espectros de absorção identifique as moléculas que podem ser usadas como filtro solar.





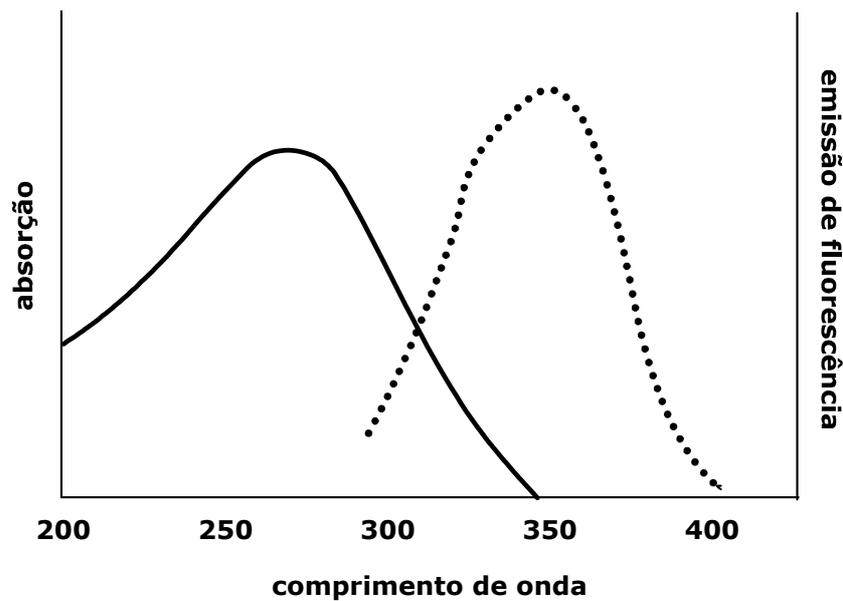


β - carotene
(g)



3. Utilizando os espectros de absorção e emissão abaixo e a equação de Planck ($E=h.c/\lambda$, onde E = energia; c = velocidade da luz, h = constante de Planck; λ =comprimento de onda) explique em uma frase o conceito do funcionamento de filtros químicos.

Linha contínua: espectro de absorção
Linha pontilhada: espectro de emissão



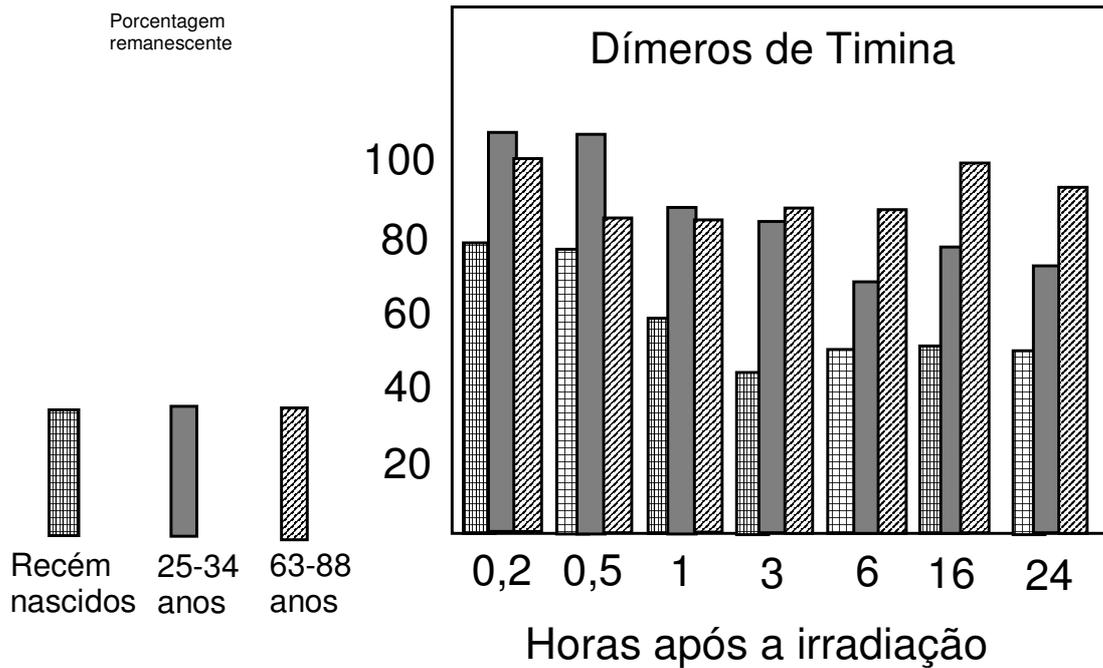
4. Dadas as formulações de protetores solares com diferentes FPS, interprete a tabela abaixo discutindo as possíveis razões das diferenças. Consulte a Tabela 6.1.

% no filtro solar	Proteção UV/ε	FPS 4	FPS 6	FPS 8	FPS 15	FPS 20	FPS 30	FPS 60
Octilmetoxicinamato	UVB / 24200	4,0	4,5	5,5	6,5	7,0	7,5	
Metil-benzilidenocânfora	UVB / 42000							5,0
Salicilato de octila	UVB / 4900	0,5		1,5	2,5	3,5	4,0	
Benzofenona 3	UVA / 9300	0,5		1,0	1,0	1,0	2,0	
Butilmetoxi-dibenzoilmetano	UVA / 31000		0,3					3,5
Dióxido de titânio	UVA e UVB				1,0	2,0	4,0	5,0

5. Você trabalha numa indústria farmacêutica e está testando um novo produto que poderá ser lançado como “protetor solar”. Quais características você acha que deveria ter esse produto? Quais testes você realizaria para testar sua eficiência?

6. O DNA é susceptível à formação de dímeros de pirimidina. Este tipo de mutação embora em princípio não altere a seqüência genotípica é capaz de causar problemas ao indivíduo. Quais problemas podem acontecer? Por que isso ocorre?

7. O experimento abaixo mostra a porcentagem de dímeros de timina encontrada após a incidência de radiação UV em fibroblastos humanos originados da derme de três grupos distintos de doadores: recém-nascidos; pessoas de 25-34 anos e pessoas de 63 a 88 anos.



Goukassian, D. et ali (2000) – The FASEB Journal 14:1325

- Descreva o gráfico em termos das variáveis biológicas que você considerar importantes.
 - Formule explicações de porquê ocorrem as diferenças observadas. Considere que os indivíduos dos três grupos têm a mesma carga genética.
9. *Xeroderma pigmentosum* (XP) é uma doença autossômica recessiva que geralmente leva cerca de 6 meses para ser diagnosticada. Um dos sintomas mais evidentes é a alta sensibilidade à luz solar. Crianças com esta doença apresentam muitas sardas, e exposições muito leves ao sol podem causar eritema e bolhas. A incidência de câncer de pele é 1000 vezes maior que na população em geral e a idade média de ocorrência de câncer de pele passa de 60 anos (população geral) para 8 anos de idade. Os olhos são afetados apenas na parte anterior, exposta à luz UV. Pode haver perda auditiva progressiva e, em 30% dos casos, há algum tipo de deficiência neurológica. Pacientes com XP fumantes podem apresentar câncer de pulmão muito cedo,
- Com base nestas informações, qual a causa desta doença?
 - Cite algumas proteínas que podem estar envolvidas nesta doença e suas respectivas funções (veja texto mecanismos de reparo do DNA).
 - Sabe-se que esta doença ocorre com sintomas em diferentes graus, variando de leves a severos. Por qual motivo isso deve ocorrer?
 - Que recomendações você daria a um paciente com XP?

Texto complementar

Câmaras de bronzeamento artificial

As lâmpadas usadas nas câmaras de bronzeamento emitem, em média, 95% de UVA e 5% de UVB. Como as lâmpadas podem variar de acordo com o equipamento ou devido à falta de fiscalização, já foram reportados casos de lâmpadas que emitiam quantidades de radiação UVB equivalentes à luz solar em um dia de verão de Nova York ao meio-dia.

Embora a radiação UVB seja mais energética, capaz de causar eritema e relacionada ao surgimento de câncer, UVA também pode causar queimaduras solares, fotoenvelhecimento e câncer de pele (tipo não-melanoma). Exposições curtas a câmaras de bronzeamento artificial podem causar danos a longo prazo para a pele e aumentar as chances de desenvolvimento de câncer de pele.

Alguns médicos recomendam o uso de câmaras de bronzeamento em casos específicos, como tratamento de doenças de pele e de distúrbios de comportamento sazonais.

Autobronzeadores

A maioria dos autobronzeadores contém a dihidroxiacetona (DHA), substância atóxica que confere cor à pele. Sem a necessidade de exposição ao sol, os autobronzeadores representam uma forma segura e eficaz de bronzeamento. Através de seu uso, pode-se obter o bronzeado desejado o ano todo, sem danos à pele, evitando-se os riscos da exposição solar e o uso de câmaras de bronzeamento. Atualmente, há vários trabalhos científicos publicados, os quais alertam quanto aos riscos envolvidos no bronzeamento artificial. Tal forma de bronzeamento tem contribuído para o aumento da incidência de câncer de pele e fotoenvelhecimento, pois os equipamentos usados no bronzeamento artificial emitem, principalmente, a radiação UVA que, também, é responsável pelo câncer de pele e fotoenvelhecimento. Nos EUA, o FDA recomenda a inclusão de uma advertência nos equipamentos de bronzeamento artificial quanto aos riscos envolvidos na exposição à radiação UVA. Segundo dados da Academia Americana de Dermatologia, 15-30 minutos de bronzeamento artificial correspondem a um dia inteiro de exposição solar na praia. No Brasil, a ANVISA proibiu o uso de câmaras de bronzeamento para menores de 16 anos e por jovens com idade entre 16-18 anos que não apresentarem autorização do responsável legal. As clínicas de estética que usam as câmaras devem apresentar à ANVISA o Termo de Ciência e Avaliação Médica do Cliente, o cadastro de clientes atendidos com datas de cada um, a duração e os intervalos das sessões e o registro de reações adversas.

Texto extraído de <http://www.apele.com.br/beleza/read.asp?95>

Diidroxiacetona (DHA)

A diidroxiacetona é um açúcar simples de três carbonos, que não apresenta toxicidade. Especificamente, esse açúcar é um intermediário da glicólise. A diidroxiacetona usada em autobronzeadores é preparada, principalmente, pela fermentação do glicerol, utilizando-se *Gluconobacter oxydans*.

O sítio de ação da diidroxiacetona na pele é o estrato córneo. O processo de autobronzeamento ocorre nas camadas mais externas da epiderme, através da reação de Maillard (Figura 6.12), responsável pelo bronzeamento que ocorre entre o grupo amino da queratina da pele e o grupamento hidroxila da DHA, formando um produto de cor marrom, conhecido como melanoidina.

O pH exerce uma importante função no bronzeamento. O pH ótimo para a reação de Maillard está entre 5 e 6, que é o pH normal da pele saudável. Quanto à estabilidade das formulações à base de diidroxiacetona, o pH ideal para as mesmas encontra-se entre 3 e 4, porém, considerando a tendência ao decaimento de pH, algumas formulações apresentam pH inicial de 5,0.

A diidroxiacetona, quando aplicada à pele, é absorvida pelo estrato córneo, a camada córnea mais externa da epiderme. A absorção sistêmica da DHA, após aplicação tópica, é considerada insignificante.

Atualmente, a coloração obtida com a utilização de produtos à base de diidroxiacetona é mais próxima do bronzeado natural, quando comparada àquela obtida com produtos mais antigos. As tonalidades obtidas podem ser mais aceitáveis para as pessoas com tom de pele de coloração intermediário, em relação às de pele muito clara ou muito escura. Por fim, fatores como a utilização de DHA com maior grau de pureza e o aprimoramento das formulações, com valores de pH adequados, permitem um bronzeamento mais rápido, empregando-se menores concentrações de DHA.

A vantagem da pigmentação cutânea induzida pela diidroxiacetona é que ela não pode ser removida por transpiração, mergulhos ou banho. O “bronzeamento” proporcionado pela DHA somente sofre remoção através da descamação da pele

Com relação ao efeito protetor, este é bastante limitado. Evidências clínicas e experimentais mostraram que a solução tópica à base de diidroxiacetona a 3% apresentou FPS correspondente a 3, enquanto que uma solução contendo DHA a 15% demonstrou proteção UVA equivalente a 10.

A diidroxiacetona não aumenta a resistência da pele ao sol. Os usuários de produtos contendo DHA devem manter os cuidados normais em relação à exposição solar, através do uso regular e correto de protetores solares com FPS adequadamente definido, segundo o tipo de pele, óculos de sol, chapéus e roupas protetoras.

Após a aplicação das preparações de diidroxiacetona, pode-se observar uma alteração da coloração cutânea dentro de uma hora, e sob a luz de Wood, dentro de 20 minutos.

A maioria das pessoas pode alcançar a aparência desejada de pele bronzeada com duas a quatro aplicações sucessivas, sendo que a aparência desejada pode ser mantida através de aplicações contínuas a cada dois a quatro dias.

Em virtude do mecanismo de ação, que se caracteriza pela reação da diidroxiacetona com as proteínas do estrato córneo, a pigmentação cutânea correlaciona-se

diretamente com a espessura e compactação do estrato córneo. Assim, áreas mais queratinizadas, como joelhos, cotovelos, região palmoplantar, pigmentam-se mais intensamente do que outras áreas cutâneas em que o estrato córneo é menos espesso. Contudo, muito embora, em comparação com as extremidades, a face requiera menores quantidades de produto para que se alcance a aparência desejada, as reaplicações devem ser mais frequentes. Também, pelos motivos acima descritos, deve-se lavar bem as mãos após a aplicação de produtos à base de DHA.

Os pêlos, incluindo supercílios e cabelos, e as unhas também são pigmentados pela diidroxiacetona, enquanto que membranas mucosas não. As pessoas que têm cabelos claros devem evitar o contato de autobronzeadores com os fios e a raiz. As preparações de DHA podem manchar tecidos.

Eritrulose

A eritrulose é um cetona-açúcar natural que também reage com grupamentos amino primários e secundários, pela reação de Maillard (Figura 6.12, ver Apêndice I). A eritrulose foi desenvolvida para reduzir ou eliminar as desvantagens dos autobronzeadores atualmente disponíveis no mercado, como bronzeamento “manchado” e irregular e ressecamento cutâneo intenso. As propriedades da eritrulose foram documentadas em complexos estudos, realizados *in vivo*. Uma importante aplicação do conceito de “novo produto autobronzeador” consiste em se fazer uso das vantagens complementares da combinação eritrulose e diidroxiacetona. Em comparação com a formulação contendo apenas DHA, a combinação produz um bronzeamento mais homogêneo e duradouro e isento de manchas. Adicionalmente, as áreas tratadas com a combinação apresentam menor ressecamento do que aquelas tratadas com DHA isoladamente. A eritrulose reage mais lentamente com os aminoácidos livres da camada córnea do que a diidroxiacetona. E somando este fato à distribuição mais uniforme da eritrulose no estrato córneo, acredita-se que a combinação eritrulose/ DHA seja responsável pelo bronzeamento mais uniforme e duradouro. Resumindo, em comparação com o uso de diidroxiacetona isoladamente, a eritrulose, em combinação com DHA, produz um bronzeamento intenso, uniforme, de aspecto natural e sem manchas. Testes padronizados e bem definidos realizados com a eritrulose demonstraram que esta substância é segura para o uso em produtos cosméticos.

A reação de Maillard (Figura 6.12) é uma reação não enzimática que depende de açúcares simples (grupos carbonil) e aminoácidos (grupos amino livres).

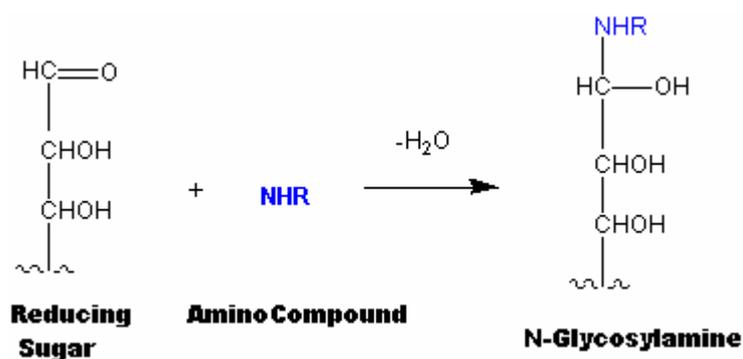


Figura 6.12 - Reação de Maillard.

Referências

- Biochemistry. Berg, Jeremy M.; Tymoczko, John L.; and Stryer, Lubert. New York: W. H. Freeman and Co.; 2002.
- Cancer Medicine. 6th ed. Kufe, Donald W.; Pollock, Raphael E.; Weichselbaum, Ralph R.; Bast, Robert C., Jr.; Gansler, Ted S.; Holland, James F.; Frei III, Emil, editors. Hamilton (Canada).
- DeSimone II, E.M., 1993, Handbook of nonprescription drugs, ed10, Washington, American Pharmaceutical Association - Chapter34: Sunscreen and Suntan products.
- Draeos ZD. 2002. Self-tanning lotions: are they a healthy way to achieve a tan? . Am J Clin Dermatol.;3(5):317-8.
- Dunlap, WC., Yamamoto, Y., Inoue, M., Kashiba-Iwatsuki, M., Yamaguchi, M., Tomita, K. Uric acid photo-oxidation assay: in vitro comparison of sunscreens agents. International Journal of Cosmetic Science 20: 1-18, 1998.
- Ichihashi, M. 2003. UV-induced skin damage. Toxicology.189. 21-39.
- Jenkins, G. 2002 Mechanisms of skin ageing. Mechanisms of ageing and development 123, 801-810.
- Mackay B. CMAJ. 2003 Sep 2; 169(5): 462-462. PMID Public health officials see red over tanning salons.
- Matheus, LGM., Kurebayashi, AK. Fotoproteção: a radiação ultravioleta e sua influência na pele e cabelos. ABC-Associação Brasileira de Cosmetologia, São Paulo, 2002.
- Matsumura Y. & Ananthaswamy, H.N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. Toxicology and Applied Pharmacology 195 (2004) 298– 308.
- Molecular Biology of the Cell. 4th ed. Alberts, Bruce; Johnson, Alexander; Lewis, Julian; Raff, Martin; Roberts, Keith; Walter, Peter. New York: Garland Publishing; 2002.
- Rangel, VLB., Corrêa MA. Fotoproteção. Cosmetics & Toiletries, 14: 88-95, 2002.
- Scarlett, WL. Ultraviolet radiation: sun exposure, tanning beds, and vitamin D levels. What you need to know and how to decrease the risk of skin cancer. J Am Osteopath Assoc. 2003 Aug;103(8):371-5.
- Tzaphlidou, M. 2004. The role of collagen and elastin in aged skin: an image processing approach. Micron 35 173-177.
- Vanicek, K., Frei, T., Litynska Z., Schmalwieser, A. Um guia para a interpretação das previsões do Índice UV com base no trabalho preparado pelo Grupo de Trabalho nº4 da Acção COST-713 "Previsão do UV-B". Lisboa, 2000.

<http://www.pg.com/science/skincare>

<http://coolshade.tamu.edu/>

<http://www.cnn.com/2000/fyi/news/06/14/skin.cancer/index.html>

<http://www.apele.com.br/beleza/read.asp?95> (autobronzeadores)

http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/colour/3_82.htm (reação de Maillard)

<http://www.xps.org/>

7. Radicais e espécies reativas de oxigênio

*“Love is like oxygen: you get too much, you get too high,
not enough and you're gonna die”*

Atualmente, muitos cosméticos que prometem retardar o envelhecimento e até rejuvenescer contêm em sua formulação compostos (vitamina C, carotenos etc) que combatem radicais livres. Mas afinal, o que são radicais livres, por que são tão maléficos e como estão associados a envelhecimento?

Introdução

O aparecimento do oxigênio liberado pelas cianobactérias entre 3,5 - 4 bilhões de anos atrás alterou a composição da atmosfera terrestre drasticamente. Muitos organismos não estavam adaptados a sobreviver a este gás tóxico, pois seus metabolismos não tinham ainda os meios adequados para processar as reações aeróbicas (dependentes de oxigênio). Sendo assim, foi necessário um longo processo de adaptação evolutiva até que fosse possível o aparecimento de organismos capazes de tirar proveito desta situação. Então o surgimento do oxigênio, um gás a princípio muito tóxico, possibilitou posteriormente a solução de dois enormes entraves à expansão da vida na Terra, que eram: (i) o rendimento energético, tornado muito mais eficiente pelo processo respiratório dependente do oxigênio, e (ii) a proteção da atmosfera, contra as radiações letais, raios ultravioleta etc. pela camada de ozônio (forma triatômica do oxigênio) e assim foi possível que se instalasse e evoluísse a fantástica diversidade da biosfera de nosso planeta, como a conhecemos hoje em dia.

Atividade em software 5 – Radicais

Software "Bioquímica - softwares educacionais" (Eduardo Galembeck e Bayardo Torres)

Espécies Reativas do Oxigênio (EROs) e Radical Livre

Entendendo a terminologia

O que é um radical livre? A resposta mais simples é a de um átomo ou grupo de átomos que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados. Um elétron desemparelhado é aquele que ocupa um orbital atômico ou molecular mais externo. Na Tabela 7.1 abaixo podemos verificar alguns exemplos.

Tabela 7.1 – Exemplos de radicais.

Espécies	Nomes químicos
CH ₃ •	Radical metila
C ₆ H ₆ •	Radical fenil
RS•	Radical Thiyl
•OH	Radical hidroxila

Há ainda uma outra definição dada por Linus Pauling: “Um átomo ou grupo de átomos com um ou mais elétrons desemparelhados, os quais podem entrar na formação de uma ligação química”.

Historicamente, todos os substituintes presentes em uma molécula são denominados de “radical”, como por exemplo, o radical metil no cianeto de metila (Figura 7.1) ou outras moléculas.

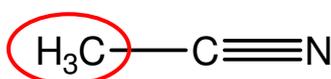


Figura 7.1 - Estrutura química do cianeto de metila. Em destaque, o radical metil.

O trifenilmetil foi o primeiro radical descoberto pelo russo Moses Gomberg, que o denominou “livre” uma vez que este radical não estava anexado a nenhum outro átomo ou molécula. Entretanto, o termo “livre”, após a palavra “radical” é considerado, atualmente, desnecessário. Por fim, geralmente usa-se um ponto sobrescrito à direita, antes da carga, para se descrever um radical. Alguns exemplos de “radicais” reativos de oxigênio e seus respectivos nomes químicos estão citados na Tabela 7.2 a seguir.

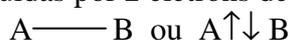
Tabela 7.2 - Exemplos de notações comuns e abreviações.

Espécies	Nomes químicos
O ₂ • ⁻	Superóxido
HO•	hidroxil ou hidroxila
RO•	alcoxil ou alcoxila
ROO•	alquildioxil ou alquilperoxila
NO•	monóxido de nitrogênio ou óxido nítrico

As EROs (Espécies Reativas de Oxigênio) são, como o próprio nome diz, derivadas do O₂ e não precisam necessariamente ser radicalares. As mais comuns são: ânion superóxido, radical hidroxil, peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e oxigênio singlete (¹O₂).

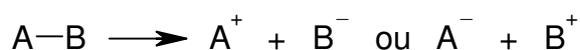
Formação

As ligações simples são constituídas por 2 elétrons de spins opostos:



Essas ligações podem ser rompidas de duas maneiras diferentes:

a) *Cisão heterolítica*: dois elétrons da ligação ficam presos a um dos fragmentos, que por sua vez denominam-se íons:



Usualmente, as espécies com carga indicada na reação acima não são íons livres, mas apenas carregam a carga parcial e estão apenas presentes no estado de transição.

b) *Cisão homolítica*: dois elétrons da ligação dividem-se simetricamente, e os fragmentos são denominados radicais:



Este tipo de clivagem produz radicais, os quais, com algumas exceções, são espécies eletricamente neutras. Além disso, a cisão homolítica requer o consumo de energia seja essa energia térmica, fotoquímica, radiação ionizante e reações de transferência de elétrons.

Reatividade

O oxigênio molecular (O_2) em seu estado fundamental é um bi-radical, contendo dois elétrons desemparelhados em seu orbital mais externo (estado este também conhecido como tripleto). Entretanto, estes dois elétrons desemparelhados apresentam spins de mesma orientação, tornando o O_2 uma molécula pouco reativa, podendo reagir com apenas um elétron por vez. Por outro lado, se um dos dois elétrons desemparelhados for excitado e mudar sua orientação de spin, o resultado será espécie altamente oxidante conhecida como oxigênio singleto, capaz de reagir com outros pares de elétrons, especialmente duplas ligações.

Os radicais estão sempre procurando por um outro elétron com o qual eles possam formar pares. Alguns radicais, como o radical hidroxila, reagem com a maioria das moléculas próximas ao seu sítio de formação, reagindo quase que a cada colisão ($10^{10} M^{-1} s^{-1}$). Entretanto, outras espécies são menos reativas ou ainda, muito pouco capazes de reagir devido a sua alta estabilidade, como o radical trifenilmetila, capaz até de se manter num tubo de ensaio.

Fontes de ERO: endógenas e exógenas

Em organismos aeróbios, o oxigênio molecular (O_2) é utilizado comoceptor final de elétrons, durante a fosforilação oxidativa, onde é reduzido a água (H_2O). Esta via metabólica é responsável pela manutenção do equilíbrio energético nesses seres.

A redução incompleta do oxigênio pela mitocôndria durante a cadeia de transporte de elétrons pode gerar espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como: ($O_2^{\bullet-}$), H_2O_2 e radical hidroxila (OH^{\bullet}) (Figura 7.2). Estas espécies também podem ser geradas por hipóxia, isquemia-reperfusão ou ainda no processo de ciclo redox, por exemplo, durante a

oxidação de quinonas. Vale lembrar que as ERO representam um papel importante em alguns processos fisiológicos como, por exemplo, na proteção contra infecções microbianas por células fagocíticas (polimorfonucleares de macrófagos) e como sinalizadoras em diferentes processos celulares. É sabido ainda que a exposição de um organismo à radiação ionizante, cigarro, poluentes, pesticidas e ainda, durante a biotransformação de xenobióticos pode ocasionar produção de intermediários reativos de oxigênio. Algumas fontes endógenas e exógenas de ERO estão sumarizadas na Figura 7.3.

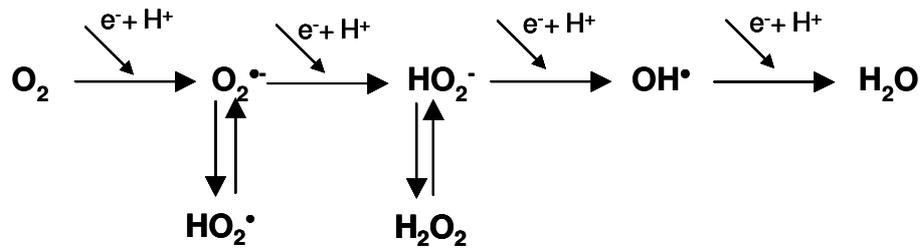


Figura 7.2 - Redução univalente do oxigênio e formação de intermediários reativos.

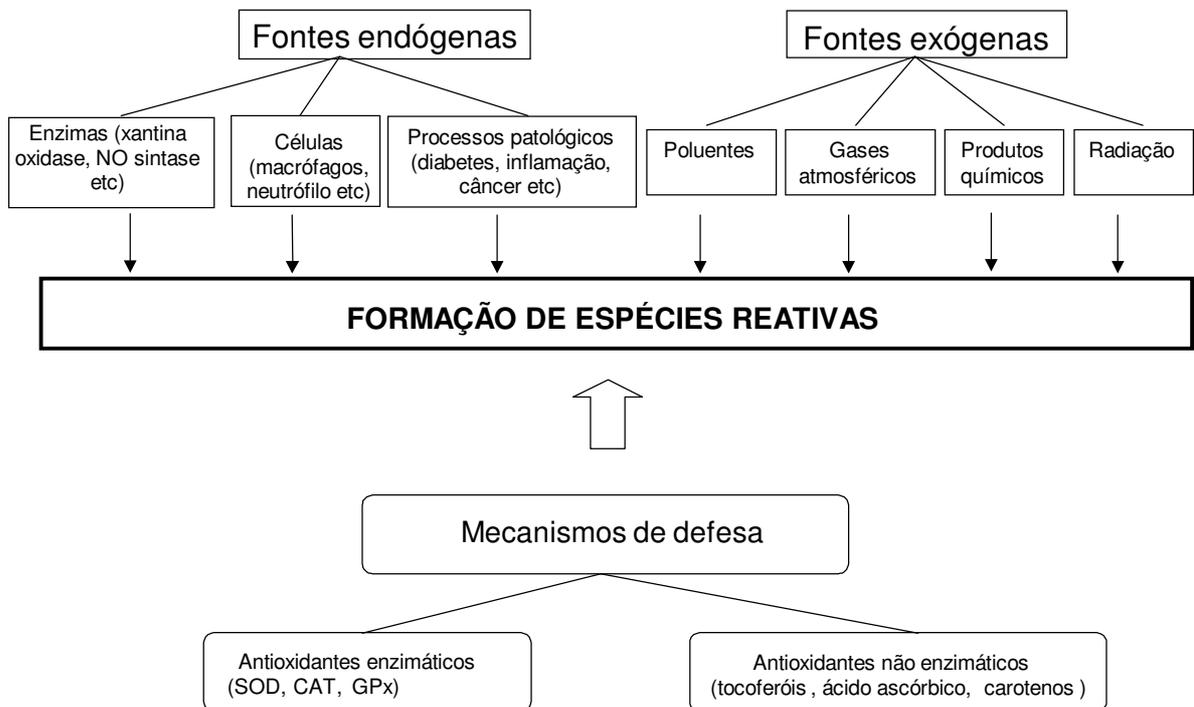


Figura 7.3 - Algumas fontes de espécies reativas de oxigênio e mecanismo de defesa.

Toxicidade das ERO: danos em biomoléculas

É conhecida a habilidade das ERO em reagir e oxidar componentes celulares tais como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Elas podem agir próximo ou distante do local

onde foram produzidas uma vez que a meia-vida dessas espécies pode variar de nanossegundos a dias.

Oxidação de lipídios: lipoperoxidação

Sabemos que as membranas celulares são constituídas por lipídios polares que perfazem de 20% a 80% de sua massa, sendo o restante, em sua maior parte, proteínas. A oxidação dos lipídios, conhecida como lipoperoxidação, pode diminuir a fluidez da membrana e alterar sua função como barreira semipermeável. A lipoperoxidação não-enzimática é estimulada por metais de transição tais como sais de ferro e de cobre, que causam a decomposição de lipoperóxidos pré-formados. A lipoperoxidação enzimática é catalisada pela ciclooxygenase e lipooxygenase, enzimas que catalisam a peroxidação controlada de substratos graxos, produzindo hidroperóxidos e endoperóxidos (Figura 7.4), que têm importantes funções biológicas. Entretanto, os hidroperóxidos podem interagir com substratos oxidáveis, como os compostos tiólicos, carotenóides e metais de transição levando à formação de espécies radicalares que podem causar danos e/ou reiniciar o processo de lipoperoxidação.

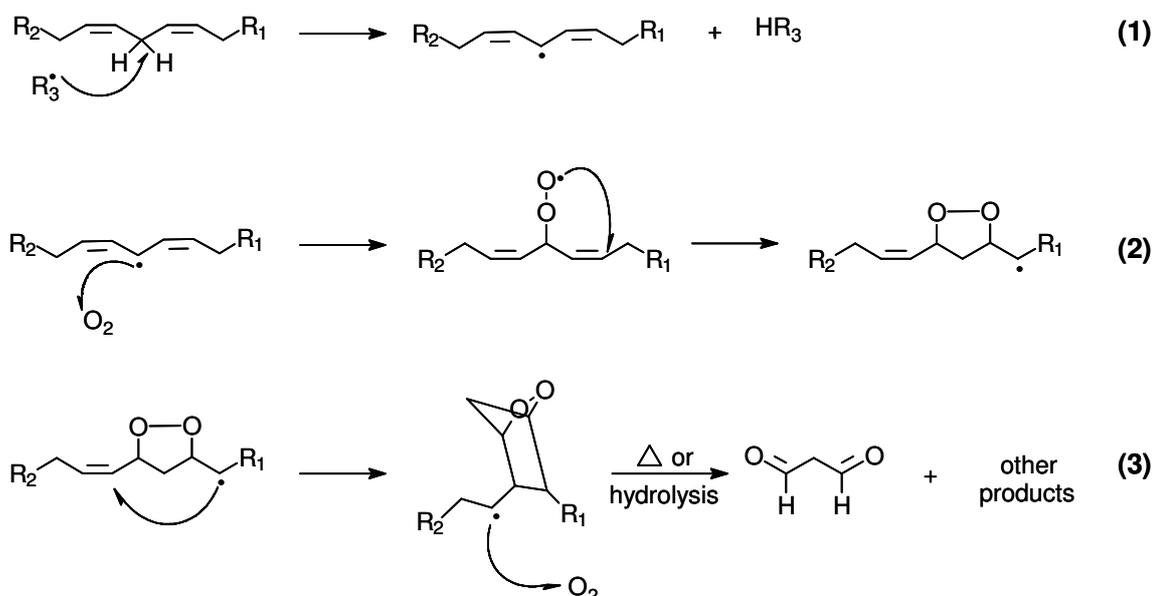


Figura 7.4 - Mecanismo proposto para a formação de malonaldeído (MDA) a partir de um ácido graxo poliinsaturado (PUFA) (R_1 e R_2 podem ser qualquer cadeia alifática para formar um PUFA) via peróxido cíclico. (1) Abstração inicial de um hidrogênio alílico (R_3^\bullet). (2) Reação radicalar com O_2 formando um peróxido cíclico. (3) Ataque radicalar intramolecular sendo seguido pela formação de um endoperóxido cíclico. O endoperóxido pode ser hidrolisado ou decompor-se termicamente, dando MDA e outros produtos.

Oxidação de proteínas

Muitas proteínas são constituintes de membranas e organelas celulares podendo, portanto, ser danificadas pelas ERO, resultando em perda da estrutura da membrana. A perda da especificidade de enzimas lesadas por ERO também pode resultar em graves consequências, uma vez que a totalidade das reações que ocorrem nas células são catalisadas por enzimas.

Em proteínas, as ERO podem causar: (i) alteração nos resíduos de aminoácidos específicos, levando a alterações conformacionais, bem como fragmentação ou polimerização; (ii) desnaturação e aumento da susceptibilidade à hidrólise. Proteínas com altos índices de grupos sulfidrilas são mais susceptíveis ao ataque de ERO.

Oxidação de ácidos nucleicos

Em DNA, as ERO também podem causar quebra de uma ou duas fitas, modificação das bases nitrogenadas ou ainda modificações de proteínas ligadas ao DNA (Figura 7.5). Várias ERO podem estar envolvidas no dano ao DNA, entre elas, radicais OH^\bullet , ferrila ($\text{Fe}=\text{O}^{2+}$) ou perferrila ($\text{Fe}=\text{O}^{3+}$), radicais estes que podem ser formados pela reação do $\text{O}_2^{\bullet-}$ com Fe^{3+} (reação de Fenton). Além dessas espécies, $^1\text{O}_2$, ozônio e H_2O_2 reagem de forma mais específica com o DNA. Essas alterações podem ser demonstradas pela formação de adutos de DNA, relacionadas à presença de alguns hidrocarbonetos e, ainda, pelas quebras de cromossomos, ocasionadas por oxi-radicais. A consequência destas perturbações estruturais pode ser inócua, devido ao reparo do dano, ou resultar em morte da célula danificada. Os reparos consistem em excisão e inserção de bases, ressíntese e ligação. Entretanto, as lesões não reparadas podem resultar em alterações permanentes que, eventualmente, poderão ser transmitidas para as células filhas.

As modificações causadas pelas ERO no DNA incluem a produção de bases hidroxiladas resultantes do ataque do radical OH^\bullet a vários sítios do DNA. Exemplos destas bases modificadas são a 8-hidroxidesoxiguanosina (8-OHdG) e a timina-glicol, entre outras. A 8-OHdG, aparentemente, é derivada do ataque do radical OH^\bullet na posição C-8 da guanina.

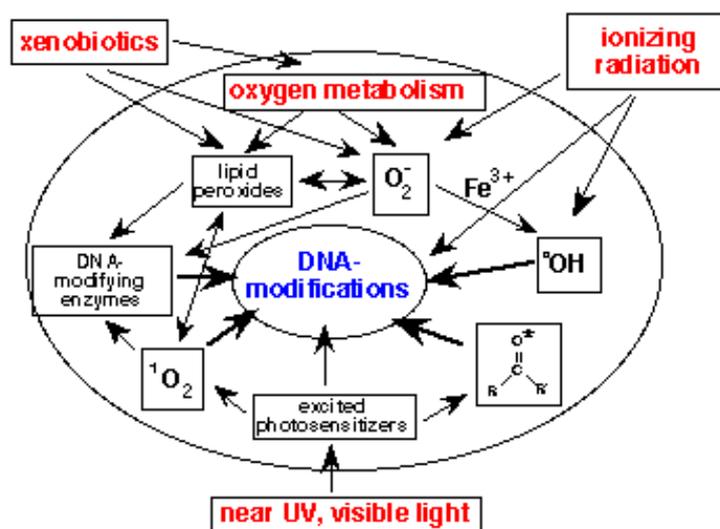


Figura 7.5 - Fontes de ERO e seu potencial oxidativo em DNA.

O aumento na produção de ERO e a sua interação com macromoléculas podem também alterar o estado redox nas células e/ou tecidos. Células saudáveis regulam a manutenção de equivalentes redutores, como NADH e NADPH, responsáveis pela energia requerida em processos metabólicos. A glutatona reduzida (GSH), fonte de poder redutor, também é importante por ser um cofator em reações de detoxificação. Contudo, EROs

podem causar uma queda na concentração intracelular destes equivalentes redutores, interrompendo assim diversos processos metabólicos.

Estudo dirigido 7.1– Espécies Reativas de Oxigênio

1. O que são Espécies Reativas de Oxigênio? Cite pelo menos quatro fontes de ERO. Toda ERO é um radical? Justifique.

2. O aumento de ERO é capaz de causar a oxidação de importantes componentes celulares.

a) Cite dois desses componentes.

b) Explique porque reações das EROs com estas biomoléculas podem ser capazes de provocar, em último ponto, a morte celular.

c) De que maneira estas reações podem provocar alterações que serão posteriormente passadas para células filhas?

3. Você estudou que as EROs são capazes de reagir com biomoléculas importantes, podendo alterar desde a fluidez da membrana plasmática como provocar a inativação de certas enzimas. Entretanto, sabemos que estas espécies, em baixas concentrações, apresentam funções extremamente importantes para as células. Quais são elas?

4. A figura abaixo foi obtida através de um experimento que consistia em submeter moscas domésticas (*Musca domestica*) a cinco condições diferentes e verificar seus tempos de vida.

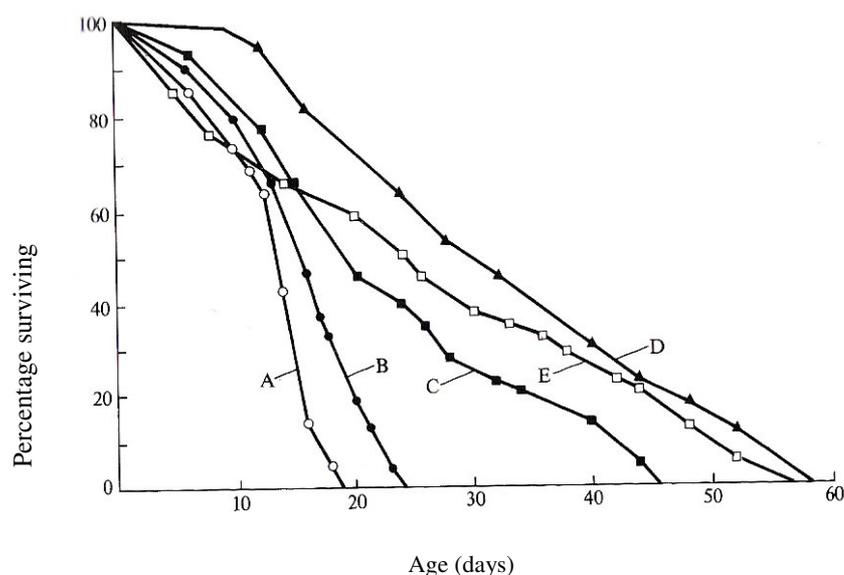


Figura extraída de Halliwell B. & Gutteridge, 1999 - 50 moscas normais (A) ou moscas que tiveram suas asas retiradas (B) foram colocadas em um grande aquário. No grupo C, cada mosca foi colocada sozinha em um grande aquário. Nos outros grupos, moscas normais (D) ou que tiveram suas asas retiradas (E) foram colocadas em garrafas pequenas, uma por garrafa, para prevenir que voassem.

a) O que você acha que estes cientistas pretendiam verificar com este experimento?

b) De acordo com o que você aprendeu sobre ERO x metabolismo (A-D), justifique os resultados encontrados.

Sistema de defesa antioxidante

“If life gives you lemons, make lemonade”

As células são capazes de se defender contra os efeitos deletérios das ERO por mecanismos de defesa antioxidante. Em organismos aeróbios saudáveis, os níveis de ERO estão em equilíbrio com o sistema de defesa antioxidante. Entretanto, o desbalanço metabólico entre a produção de ERO e o sistema de defesa antioxidante caracteriza o **estresse oxidativo** celular. Esse desequilíbrio pode ser causado pelos seguintes fatores: (i) diminuição da defesa antioxidante causada por mutações nas enzimas de defesa; (ii) diminuição da ingestão de vitaminas e outros constituintes na dieta; (iii) aumento da produção de ERO causada por fatores ambientais como, por exemplo, fumo, radiação (ultravioleta, raios X etc.); (iv) excesso de atividade física; (v) ingestão de gorduras; (vi) consumo de álcool; (vii) estresse físico e mental; (viii) inflamações e infecções, entre outros.

O sistema antioxidante de um organismo pode ser didaticamente dividido em *enzimático* e *não enzimático*.

Dentre as substâncias químicas antioxidantes naturais encontram-se o ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), carotenóides, flavonóides, bilirrubina, ácido úrico e tióis, como por exemplo, o tripeptídeo glutathiona reduzida (GSH).

Como parte do sistema de defesa antioxidante enzimático, pode-se citar a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx).

Sistema antioxidante enzimático

Superóxido Dismutase (SOD)

Em eucariotos, a SOD está presente sob duas formas: a isoforma CuZn-SOD, localizada no citoplasma celular, que apresenta cobre e zinco em seu sítio catalítico, e a outra isoforma, Mn-SOD, que é mitocondrial e apresenta um átomo de manganês em seu sítio ativo. De forma geral, a SOD está presente quase que exclusivamente no meio intracelular, apresentando pequenas concentrações no plasma, fluido espinhal e linfa; esta forma é designada ECSOD (“extra celular SOD”). Sua função é dismutar o $O_2^{\bullet-}$ ($K_v = 2 \times 10^9$ M/s), como mostra a seguinte reação:



Catalase (CAT)

A CAT é uma hemoproteína, presente na maior parte dos tecidos e age removendo tanto o H_2O_2 gerado pela redução de 2 elétrons do O_2 , quanto indiretamente pela dismutação do $O_2^{\bullet-}$ (via SOD). Essa enzima apresenta-se ligada em organelas denominadas peroxissomos e é específica para H_2O_2 , não apresentando atividade para hidroperóxidos orgânicos, como descrito na reação a seguir:



Glutationa peroxidase (GPx), glutationa redutase (GRH) e glutationa reduzida (GSH)

Embora a glutationa em sua forma reduzida (GSH) faça parte do sistema antioxidante não enzimático, é conveniente que seu papel seja abordado juntamente com a GPx e GRH. Vamos entender porquê:

Estas duas enzimas pertencem ao sistema enzimático que auxilia o restabelecimento dos níveis intracelulares de GSH. A GSH (L-glutamil-L-cisteinil-glicina) é um dos tripeptídeos mais abundantes (de 1 a 10 mM), presente tanto em células animais, quanto em plantas e bactérias, sintetizado intracelularmente a partir do ácido glutâmico, cisteína e glicina. Desempenha um papel importante em muitos processos biológicos, entre eles, a síntese de proteínas e de DNA, como cofator de várias enzimas, na proteção celular contra agentes ionizantes e compostos exógenos e, principalmente, contra as ERO.

A glutationa tem dois aspectos estruturais interessantes: a ligação peptídica γ -glutamil, entre glutamato e cisteína e o grupo tiol (SH) da cisteína, que é a chave para as propriedades antioxidantes da GSH. Em solução, quando o pH é alcalino ou neutro, o tiol é facilmente oxidável, especialmente na presença de algum íon metálico, como o ferro e o cobre. A glutationa celular está normalmente presente na forma reduzida, estando a forma oxidada GSSG, presente em menos de 5% (Figura 7.6). Esta razão confere sua importância em diversas funções biológicas que dependem do grupo tiol, de seu resíduo cisteinil.

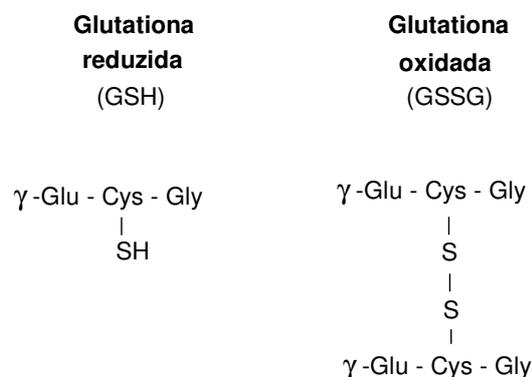
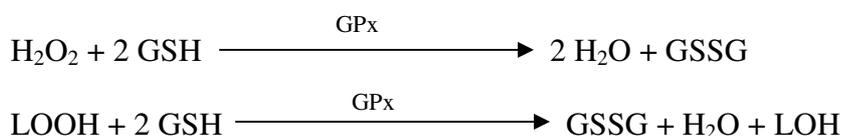


Figura 7.6 – Estrutura química da forma reduzida e oxidada da glutaciona. Normalmente, a forma intracelular predominante é a reduzida, estando a oxidada presente em menos de 5%.

Dessa forma, a glutaciona pode ser considerada fundamental no metabolismo do peróxido de hidrogênio, peróxidos orgânicos, bem como ERO, pois age como doadora de elétrons nas reações catalisadas pela GPx de acordo com as reações:



Dessa forma, ela protege as células dos danos causados pelas Espécies Reativas de Oxigênio.

A glutathiona oxidada (GSSG) pode ser convertida a sua forma reduzida pela enzima glutathiona redutase (GR), utilizando NAD(P)H como coenzima, restabelecendo assim, os níveis intracelulares de GSH:



A glicose 6-fosfato desidrogenase (G-6PDH), enzima da via das pentoses-monofosfato, fornece o equivalente redutor NADPH, indispensável para manutenção da atividade da GRH. A GRH utiliza os elétrons do NADPH para redução da ponte dissulfeto da GSSG, restabelecendo os níveis intracelulares de GSH.

A relação de concentração entre GSH/GSSG é mantida alta nas células normais, pelas enzimas auxiliares, GRH e G-6PDH, que regeneram GSH. Esta relação deve ser mantida alta, devido ao fato da GSSG poder reagir com várias enzimas, inativando-as pela adição de pontes disulfetos.

Sistema de defesa antioxidante não enzimático

Existem várias moléculas que podem agir como antioxidantes celulares através de diferentes mecanismos. Algumas destas moléculas, como o β -caroteno e o licopeno podem atuar como supressores de oxigênio singlete e de OH^\bullet . O ubiquinol-10 e o urato apresentam uma alta eficiência, como supressores de radicais OH^\bullet , impedindo a fase de propagação no processo de lipoperoxidação. Por sua vez, o α -tocoferol (vitamina E) interrompe a abstração de hidrogênio neste processo, agindo assim como supressor de radicais peroxila e alcoxila. O ascorbato (vitamina C) e a GSH apresentam poder redutor, restabelecendo a concentração de tocoferol, a partir do radical tocoferoxila, formado no processo acima citado. Existem também as moléculas responsáveis por quelar metais, que são a ceruloplasmina, a metalotioneína, a ferritina e a transferrina e antioxidantes plasmáticos, como a bilirrubina, urato e albumina.

Quanto à solubilidade, estas moléculas podem ser divididas em dois grupos: lipossolúveis e hidrossolúveis, o que assegura à célula, defesas antioxidantes tanto no citossol quanto nas membranas celulares.

Dentre as vitaminas hidrossolúveis que compõem o sistema antioxidante não enzimático, a vitamina C, é sem dúvida, uma das mais conhecidas por sua frequente utilização em cosméticos (vide Box 7.1).

Box 7.1. Vitamina C (Ácido ascórbico ou L-ascórbico) - Histórico

O primeiro isolamento da vitamina C foi obtido pelo cientista húngaro Albert Szent-Györgyi em 1928, que trabalhava com a natureza das oxidações dos nutrientes e sua relação com a produção de energia. Ele isolou um fator redutor de glândulas supra-renais em forma cristalina, que batizou de "ácido hexurônico", um derivado da -D-glicose. Na mesma época, em 1932, King e Waugh encontraram um composto idêntico no suco de limão. Pouco depois, em 1933, Hirst e Haworth anunciaram a estrutura da vitamina C e sugeriram, em conjunto com Szent-Györgyi, a mudança do nome para ácido L-ascórbico, por inferência às suas propriedades antiescorbúlicas. Em 1933, T. Reichstein e colaboradores publicaram as sínteses do ácido D-ascórbico e do ácido L-ascórbico, que ainda hoje formam a base da produção industrial de vitamina C. Ficou provado que o ácido L-ascórbico sintetizado possui a mesma atividade biológica da substância isolada de tecidos naturais. Em 1937 Haworth (Química) e Szent-Györgyi (Medicina) foram agraciados com o prêmio Nobel por seus trabalhos com a vitamina C.

O ácido ascórbico participa de várias reações enzimáticas, como cofator de muitas enzimas. Contudo, sua atuação como antioxidante é devida à habilidade de atuar como um agente redutor (AH₂), destacando desta forma uma de suas mais importantes propriedades que são a de ser oxidado a ácido dehidroascórbico (A) (Figura 7.7).

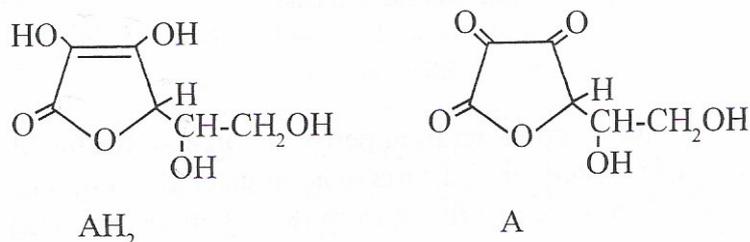


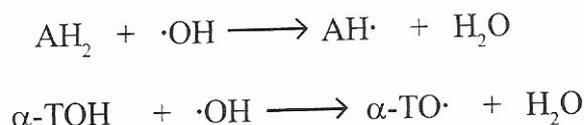
Figura 7.7 – Estrutura química das formas do ácido ascórbico: à esquerda atua como agente redutor e à direita, já oxidado.

O ascorbato pode reagir rapidamente com O₂^{•-} e com o radical OH[•] e ainda, poder agir como supressor de oxigênio singlete.

O ácido ascórbico quando administrado isoladamente também atua contra os danos induzidos pela radiação UV, capturando as espécies reativas geradas.

Em pH fisiológico, a vitamina C está presente na forma de ânion ascorbato, sendo que esta forma apresenta menor penetração em comparação à sua forma esterificada (palmitato de ascorbilo), que é mais lipossolúvel. É interessante o fato de os estudos mostrarem que a aplicação de uma formulação contendo ascorbato pode aumentar em até 25 vezes a sua concentração na pele animal; contudo a suplementação oral não parece contribuir significativamente na pele.

Por outro lado, a vitamina C, assim como o α -tocoferol, pode atuar como pró-oxidante, pois, por ser um forte agente redutor, além de capturar espécies reativas, pode também reduzir metais de transição, facilitando a formação dessas espécies, como mostrado nas reações abaixo:



Lipossolúveis

α -Tocoferol (vitamina E)

É um antioxidante lipossolúvel que, devido às suas características hidrofóbicas, tende a se concentrar nas membranas. Possui importante atuação na primeira linha de defesa antioxidante, contra danos às membranas celulares. Esta proteção se deve à ação do α -tocoferol que reage com oxigênio singlete e com $\text{OH}\cdot$. Entretanto, sua maior ação antioxidante reside na sua eficiente propriedade de suprimir radicais peroxila ($\text{ROO}\cdot$) das porções lipídicas de membranas biológicas, interrompendo assim, a reação em cadeia da lipoperoxidação.

Inúmeros são os trabalhos relatando que o α -tocoferol pode atenuar o estresse oxidativo, principalmente por proteger membranas contra a lipoperoxidação. Por este fato, é uma vitamina amplamente utilizada tanto como suplemento oral, como em produtos de uso tópico, para a prevenção de doenças. Além da biotransformação que pode ocorrer durante a digestão, outros fatores como a composição da dieta, podem interferir na biodisponibilidade dos suplementos administrados por via oral. A vitamina E, por ser uma molécula lipossolúvel, necessita de ingestão concomitante de gordura para que seja absorvida, e assim possa atuar na pele. Vários produtos fotoprotetores ou para aplicação após exposição ao sol contêm o α -tocoferol, ou seu éster, como princípio ativo coadjuvante, por inibir não somente a lipoperoxidação como também a formação de dímeros de timina e a imunossupressão.

A administração de antioxidantes em combinação parece ser uma estratégia de tratamento mais efetivo. Este sinergismo pode ser muito bem exemplificado pelo uso concomitante das vitaminas E e C. Em estudos com voluntários foi verificado que o uso da vitamina E apresenta maiores efeitos benéficos quando administrada em conjunto com a vitamina C, pelo fato de ambas atuarem sinergisticamente, sendo que a vitamina C pode reciclar o radical tocoferila e a combinação dessas vitaminas pode aumentar, em grande parte dos casos, a atividade antioxidante total (Figura 7.8).

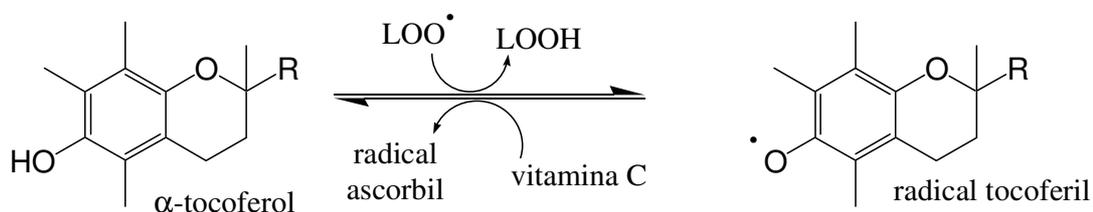


Figura 7.8 – Comportamento sinérgico das vitaminas C e E. A vitamina C recicla o radical tocoferila da vitamina E, responsável por sua atividade antioxidante.

Outros metabólitos da vitamina E, seja aplicada topicamente ou administrada via oral, como quinonas ou produtos da oxidação de sua cadeia, também vêm sendo identificados e estudados. Além de seus efeitos benéficos, o risco do uso desta substância por via oral ou tópica também deve ser considerado e a relação custo-benefício avaliada antes de seu uso indiscriminado.

Carotenóides

O β -Caroteno e o licopeno são carotenóides que exercem funções antioxidantes nas fases lipídicas, através da supressão de radicais livres, como ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroperoxila (HO_2^{\cdot}) e o radical hidroxila.

Normalmente, os carotenóides são conhecidos por esta função antioxidante, contudo, podem também diminuir a formação de oxigênio singlete reagindo diretamente com ele e liberando energia na forma de calor.

O β -caroteno é um precursor da vitamina A e sua taxa de conversão é baixa. Ela depende da atividade de fatores condicionantes, da caroteno desidrogenase, da saturação do organismo em vitamina A, da quantidade unitária ingerida e do aporte proteico. O consumo de β -caroteno deve ser em média 1,5mg/dia e todo o excesso ingerido pode ser encontrado na pele, conferindo um tom alaranjado.

Os carotenóides possuem a habilidade de interagir com espécies reativas, formando adutos ou carotenóides radicalares, inibindo processos oxidativos, além de atuarem sinergisticamente com outros antioxidantes. Por isso, fazem parte de outra classe de compostos amplamente utilizados como suplementos para o restabelecimento do equilíbrio redox. Sua atividade antioxidante é dependente da tensão parcial de O_2 presente no meio. Em baixas pressões de O_2 , como a encontrada na maioria dos tecidos, inibe a oxidação, porém, pode ser pró-oxidante em maiores concentrações deste gás, podendo reagir com cisteína ou tirosina.

Ao lado do uso oral, a aplicação tópica de carotenóides também é uma maneira eficaz de restabelecer o balanço redox cutâneo. Alguns trabalhos mostram sua atividade frente ao estresse oxidativo causado pela radiação UV, sendo que sua habilidade protetora aumenta quando aplicado na pele juntamente com vitaminas. Por serem moléculas pouco estáveis, a veiculação dos carotenóides requer um desenvolvimento farmacotécnico elaborado, para a manutenção de sua integridade na formulação.

Também para o restabelecimento do equilíbrio redox cutâneo, bem como para prevenção ou tratamento de patologias causadas por estresse oxidativo, são utilizadas muitas classes de substâncias antioxidantes provenientes de produtos naturais. Muitos extratos são veiculados em formulações para uso tópico, tendo sua eficácia comprovada. Além disso, inúmeras são as formas orais de suplementação, como a ingestão de chás, cápsulas, decotos, entre outros. São vastos os estudos na literatura que abordam o uso de antioxidantes oriundos de produtos naturais e seus efeitos são verificados principalmente frente aos efeitos da radiação UV, sendo utilizados alguns extratos como o de *Calendula officinalis*, de *Polypodium leucotomos*, de *Pothomorphe umbellata*, dentre outros.

O chá verde, nome popular dado para a infusão obtida a partir da planta *Camellia sinensis*, é rico em catequinas, que são poderosos antioxidantes. Dentre os efeitos observados, pode-se citar a inibição da lipoperoxidação e dos danos causados ao DNA pelas espécies reativas, a inibição da imunossupressão e da inflamação cutânea induzida pela radiação UV, a indução de apoptose nas células tumorais e inibição do crescimento do tumor induzido pela radiação UV. Além de ser consumido por quase um terço da

população mundial, tem sido encontrado também em produtos para uso tópico, apresentando efeitos semelhantes.

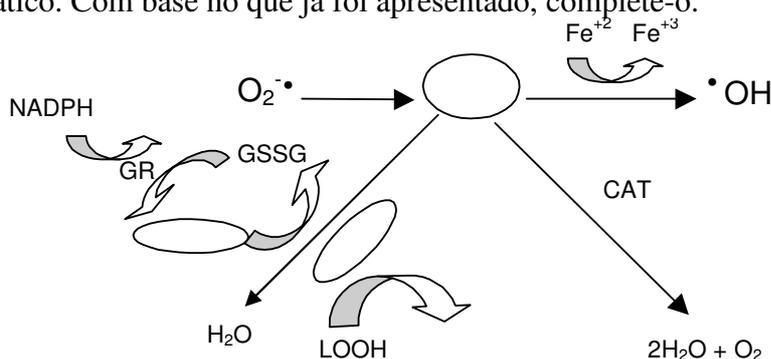
Outra planta muito utilizada é o *Ginkgo biloba*, que apresenta propriedades antiinflamatórias, imunomodulatórias e antioxidantes, e vem sendo clinicamente testada em distúrbios cutâneos. Recentemente foi demonstrada a sua eficácia também no tratamento de pacientes com vitiligo, sendo que a ingestão de 40mg de seu extrato mostrou-se eficaz em controlar a doença, além de repigmentar áreas afetadas.

Alguns autores defendem ainda que os antioxidantes naturais são promissores na prevenção do câncer de pele, pois muitos já mostraram seus efeitos anticarcinogênico e antimutagênico, além de baixa toxicidade.

Assim, o uso de substâncias antioxidantes, por via oral ou tópica, pode colaborar com os sistemas internos de proteção, além de contribuir para prevenção de problemas em longo prazo, como o câncer de pele.

Estudo dirigido 7.2 – Sistema oxidante

1. Caracterize estresse oxidativo. Cite algumas situações em que ele pode ocorrer.
2. A figura abaixo representa o esquema de cooperação do sistema antioxidante enzimático. Com base no que já foi apresentado, complete-o.



Onde: CAT-catalase GR-Glutationa redutase

3. As vitaminas C e E são conhecidas por sua ação antioxidante.
 - a) Discuta brevemente porque elas devem ser ingeridas concomitantemente.
 - b) É sabido que em altas concentrações, as vitaminas C e E podem agir, ao contrário do que se espera, como pró-oxidantes. Baseado nesta informação qual a sua opinião a respeito da suplementação vitamínica sem prescrição médica.

Referências

Balz, F. (1995) Lipids and LDL rancidity and you: targets of free radicals. Oxigen 95, Sunrise Free Radical Scholl, Congresso de Radical Livre, Pasadena.

Beckamn, J.S. & Koppenol, W.H. (1996) Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *The American Physiology Society*, C1424-1437.

Freeman, B.A. & Crapo, J.D. (1982) Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 47: 412-426.

Flaherty, J.T. and Weisfeldt, M.L. (1988). Reperfusion injury. *Free radicals in biology and Medicine.*; 5: 409-419.

Halliwell, B & Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed., Oxford University Press, NY.

Huggett, R.J., Kimerie, R.A., Mehrie, P.M.JR & Bergman, H.L. (1992) Biomarkers: biochemical, physiology and histological markers of anthropogenic stress. Society of environmental toxicology and chemistry SETAC, special publications series.

Hohmeier, H-E.; Thigpen, A.; Vien, V.; Davis, R. And Newgard, C.B. (1998). Stable expression of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in insulinoma cells prevents IL-1-induced cytotoxicity and reduces nitric oxide production. *Journal Clinical Investigation.*; 101(9):1811-1820.

Kekrer, J.P. (1993) Free radicals as mediators of tissue injury. *Crit. Rev. Toxicol.* 23: 21-48.

Lehninger, A.L., Nelson, D.L. & Core, M. M. (1993) *Principles of biochemistry* pp. 381, 390, 2nd ed. Worth Publishers, Inc., NY.

Manna, L., Valvo, L. & Betto, V. (1999) Determination of oxidized and reduced glutathione in pharmaceuticals by reversed-phase high performance liquid chromatography with dual electrochemical detection. *Journal of Chromatography A.* 846: 59-64.

Raggi, M.A.; Mandrioli, R.; Casamenti, G.; Musiani, D.; Marini, M. (1998). HPLC determination of glutathione and other thiols in human mononuclear blood cells. *Biomedical chromatography.*; 12: 262-266.

Rasillainen, S.; Nieminen, J.M.; Levonen, A. L.; Otonkoski, T. and Lapatto, R. (2002) Dose-dependent cysteine-mediated protection of insulin-producing cells from damage by hydrogen peroxide. *Biochem. Pharmacology.*; 63: 1297-1304.

Rice-Evans, C.A., Diplock, A.T. & Symons, M.C.R. (1991) Techniques in free radical research. *In: Burdon, R.H. & Van Knippenberg, P.H. [Eds.]. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Elsevier, Amsterdam.*

8. Estrutura da pele III – a matriz extracelular

Integração das células em tecidos

Para que as células se organizem em tecidos, é necessário que haja adesão entre elas, de forma a manterem-se juntas. Proteínas integrais de membrana, chamadas de moléculas de adesão celular – CAMs (de *cell-adhesion molecules*) -, permitem adesão forte e específica de muitas células animais com células do mesmo tipo ou similares. Outras proteínas formam junções celulares especializadas que estabilizam estas interações e promovem a comunicação local entre células adjacentes.

Adesão celular

As CAMs podem mediar a adesão homofílica (entre células do mesmo tipo) e heterofílica (entre células diferentes). A porção citossólica destas proteínas está normalmente conectada a elementos do citoesqueleto.

Há cinco classes principais de CAMs: as caderinas, a superfamília de imunoglobulinas (Ig), as selectinas, as mucinas e as integrinas.

Além das ligações estruturais, as células em tecidos estão em comunicação direta por *gap junctions*. As *gap junctions* estão distribuídas pela superfície lateral de células adjacentes e permitem a troca de pequenas moléculas.

Matriz Extracelular

As células animais organizadas em tecido também secretam uma ampla diversidade de proteínas e carboidratos, chamada de matriz extracelular – ECM (de *Extra Cellular Matrix*), criando um ambiente especial nos espaços entre as células. A matriz auxilia a ligação das células em tecidos e é um reservatório para muitos hormônios que controlam o crescimento e a diferenciação celular. A matriz também serve como um suporte através do qual as células podem se mover, especialmente durante os estágios primários de diferenciação. Problemas nestas conexões podem levar ao câncer e malformações durante o desenvolvimento.

A matriz extracelular possui três componentes proteicos majoritários:

- 1- **proteínas estruturais**: insolúveis, que proporcionam força e resistência (colágeno e elastina);
- 2- **proteínas especializadas (multiadesivas solúveis)**: ligação, sinalização (fibrilina, fibronectina e laminina);

3- **proteoglicanos:** altamente viscosas, compostas de um núcleo proteico ao qual se ligam longas cadeias de dissacarídeos repetidos (glicosaminoglicanos), formando componentes da ECM altamente complexos e de alto peso molecular.

Compostos específicos da matriz extracelular podem ativar diretamente vias de transdução de sinal citossólicas, ao ligar-se a receptores de proteínas de adesão celular na membrana plasmática. Alternativamente, pela ligação de fatores de crescimento e outros hormônios, a matriz extracelular pode tanto seqüestrar estes sinais das células ou contrariamente, apresentá-los às células, assim induzindo ou inibindo indiretamente as vias de sinalização intracelular.

Adesão célula-matriz

A matriz proporciona uma rota para migrações celulares, e moléculas na matriz ativam vias clássicas de transdução de sinal que induzem o crescimento, proliferação celular e expressão gênica.

A principal classe de CAMs que medeiam a adesão célula-matriz são as integrinas. As integrinas são heterodímeros de subunidades α e β . Em mamíferos, são conhecidos pelo menos 22 heterodímeros, formados de 17 tipos de subunidade α e 8 tipos de subunidade β .

As células se ligam à matriz extracelular através de dois tipos de junções dependentes de integrinas:

- adesões focais, que ligam o citoesqueleto de actina às fibras de fibronectina e
- hemidesmossomos, que conectam filamentos intermediários à lâmina basal.

Junções célula-matriz contendo integrinas são encontrados em células altamente móveis como os queratinócitos da pele, que são pouco aderentes; e também em células “imóveis” altamente aderentes como as do epitélio.

Fibras do tecido conjuntivo de sustentação

Os compostos fibrosos do tecido de sustentação são de dois tipos principais: colágeno e elastina.

Colágeno

O colágeno é a principal proteína fibrosa encontrada na matriz extracelular. Em vertebrados, há pelo menos 27 tipos de colágenos com 42 cadeias polipeptídicas distintas. Todas as moléculas de colágeno consistem em três cadeias polipeptídicas, chamadas de cadeias α , contendo pelo menos um domínio com a seqüência Gly-X-Y, formando uma estrutura de tripla hélice característica, semelhante a uma trança Figura 8.1-A. Os diferentes colágenos se distinguem pela habilidade das suas regiões helicoidais e não helicoidais de se associarem em fibrilas, formando folhas, ou de se ligarem com diferentes tipos de colágeno.

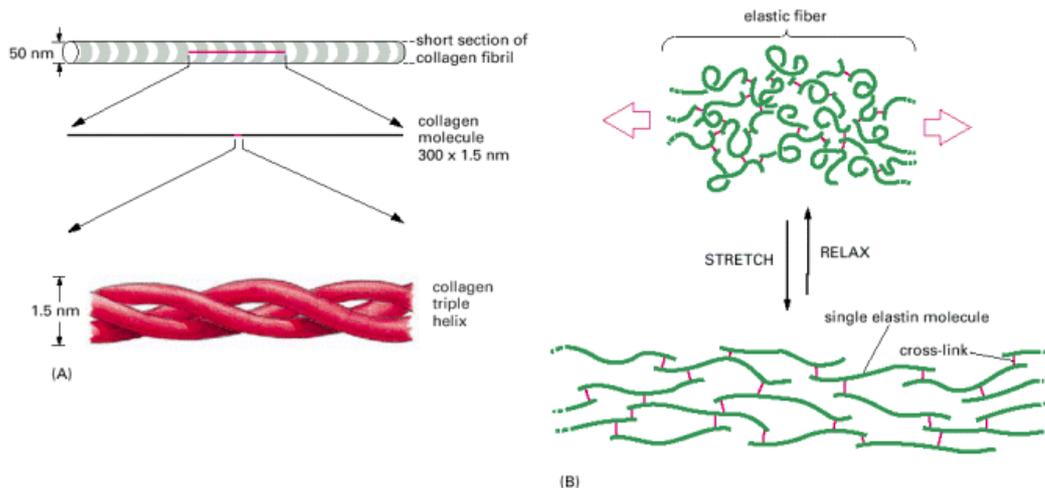


Figura 8.1 - Colágeno e elastina: a) Colágeno é uma tripla hélice formada por três cadeias proteicas estendidas que se entrelaçam. Muitas moléculas de colágeno em forma de haste sofrem “cross-link” no espaço extracelular, formando fibrilas de colágeno que apresentam a força tensora do aço. As listas na fibrila de colágeno são devidas à repetição regular do arranjo das moléculas de colágeno na fibrila. b) Cadeias polipeptídicas de elastina sofrem “cross-link”, formando fibras elásticas. Quando a fibra é estendida, cada molécula de elastina se desenrola em uma conformação mais estendida, retomando espontaneamente a conformação original quando a força tensora é relaxada.

Moléculas de colágeno fibroso (tipos I, II e III) se associam em fibrilas. Na Tabela 8.1 estão descritos alguns tipos de colágeno e algumas de suas propriedades.

Tabela 8.1 - Alguns tipos de colágenos e suas propriedades.

	tipo	fórmula molecular	forma polimerizada	distribuição nos tecidos
Formação de fibrila (fibrilar)	I	$[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$	fibrila	ossos, pele, tendões, ligamentos, córnea, órgãos internos (90% do colágeno corpóreo)
	II	$[\alpha 1(II)]_3$	fibrila	cartilagem, disco intervertebral, notocorda, humor vítreo dos olhos
	III	$[\alpha 1(III)]_3$	fibrila	pele, vasos sanguíneos, órgãos internos
	V	$[\alpha 1(V)]_2\alpha 2(V)$ $\alpha 1(V)\alpha 2(V)\alpha 3(V)$	e fibrila (com tipo I)	como tipo I
	XI	$\alpha 1(XI)\alpha 2(IX)\alpha 3(XI)$	fibrila (com tipo II)	como tipo II
Associada à fibrila	VI	$[a 1(VI)][a 2(VI)]$	associação lateral com tipo I	tecidos intersticiais
	IX	$\alpha 1(IX)\alpha 2(IX)\alpha 3(IX)$	associação lateral com algumas fibrilas tipo II	cartilagem
	XII	$[\alpha 1(XII)]_3$	associação lateral com algumas fibrilas tipo I	tendões, ligamentos
Formação de rede	IV	$[\alpha 1(IV)]_2\alpha 2(IV)$	rede tipo folhas	lâmina basal
	VII	$[\alpha 1(VII)]_3$	fibrilas de ancoramento	epitélio escamoso estratificado
Transmembrana	XVII	$[\alpha 1(XVII)]_3$	não conhecida	hemidesmossomos
Outros	XVIII	$[\alpha 1(XVIII)]_3$	não conhecida	lâmina basal nos vasos sanguíneos

Note que os tipos I, IV, V, IX e XI são compostos de dois ou três tipos de cadeias α , enquanto que os tipos II, III, VII, XII, XVII e XVIII são compostos de uma única cadeia α .

A maioria dos colágenos é fibrilar e composto de moléculas do tipo I. Uma rede bidimensional de colágeno tipo IV é característico da lâmina basal (Figura 8.2).

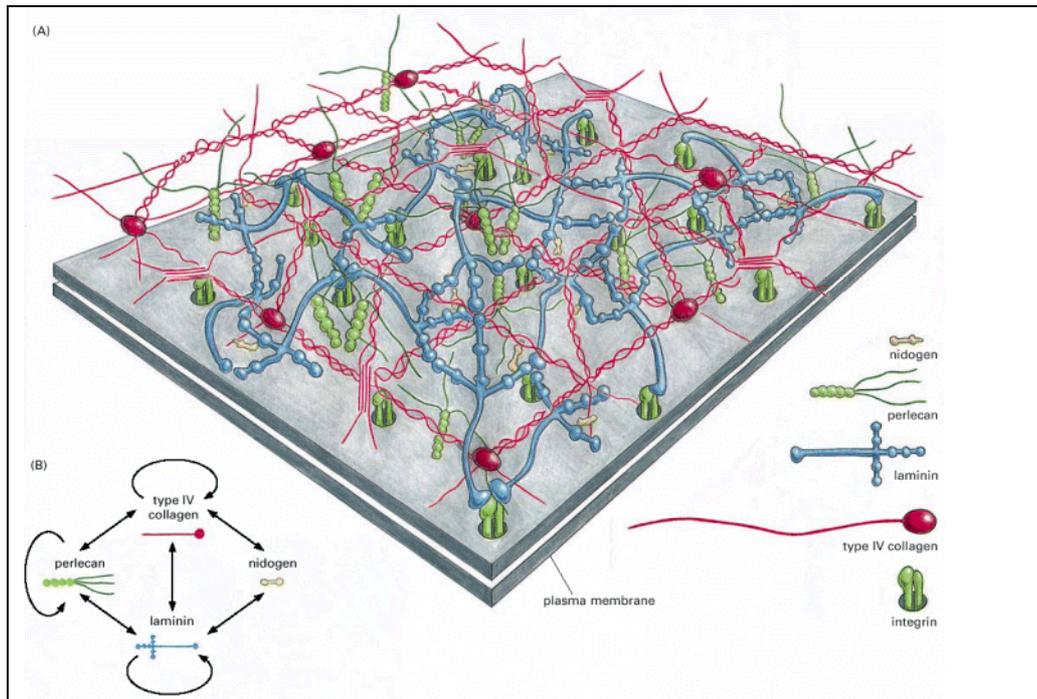


Figura 8.2 - Modelo da estrutura molecular da lâmina basal. (A) A lâmina basal é formada por interações específicas (B) entre as proteínas de colágeno tipo IV, laminina e nidogeno, e a proteoglicano perlecan. As setas em (B) conectam moléculas que podem se ligar diretamente umas às outras. Há várias isoformas do colágeno tipo IV e laminina, cada uma com uma distribuição específica nos diferentes tecidos. Acredita-se que os receptores de laminina transmembranares (integrinas e distroglicanas) na membrana plasmática organizam o arranjo da lâmina basal. Somente as integrinas estão mostradas.

O colágeno é secretado para a matriz extracelular na forma de procolágeno, que consiste em três cadeias polipeptídicas (cadeias α) unidas para formar uma estrutura helicoidal. Na matriz extracelular, as moléculas de procolágeno polimerizam-se para formar o colágeno (Figura 8.3).

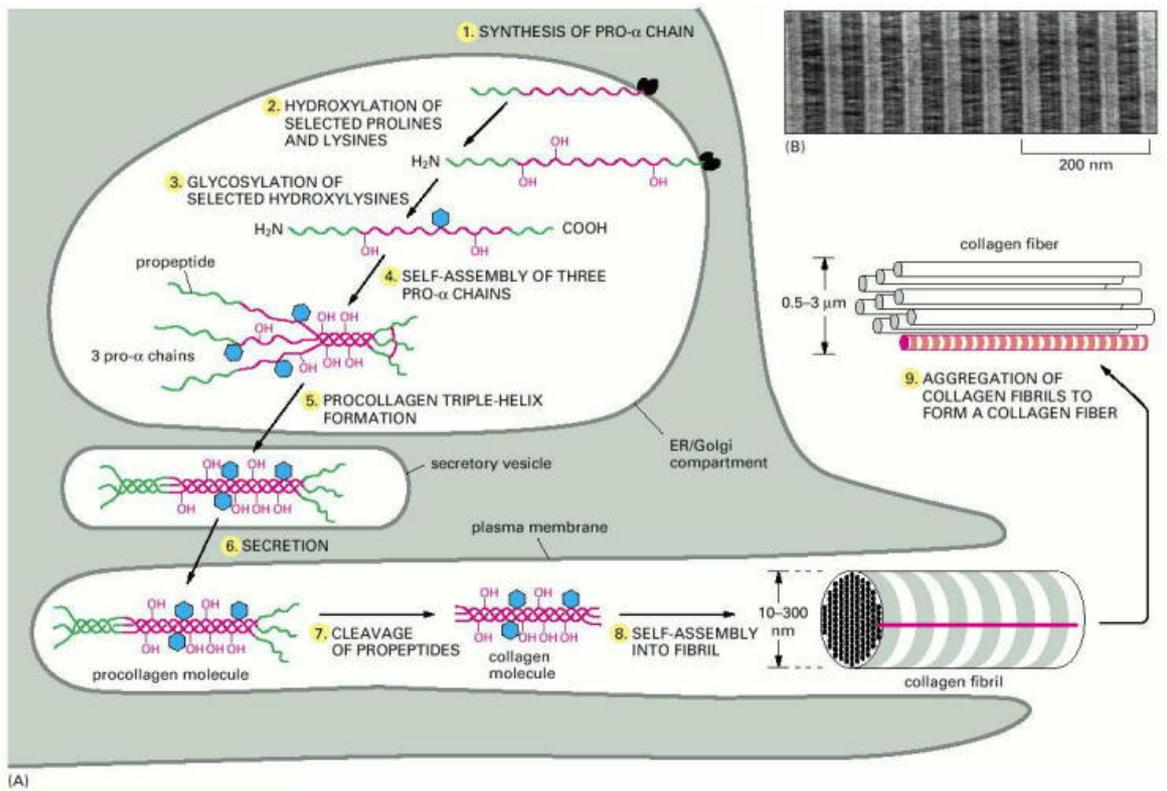


Figura 8.3 - (A) Eventos intra e extracelulares da formação de uma fibrila de colágeno. (B) Micrografia eletrônica de uma fibrila de colágeno.

As fibrilas de colágeno, compostas de diversas triplas hélices de colágeno, mantêm sua estrutura através da formação de ligações covalentes (entre as triplas hélices). Dois aminoácidos estão envolvidos na formação destas ligações cruzadas, Lys e His (Figura 8.4). As cadeias laterais destes dois aminoácidos são ligadas covalentemente por uma enzima chamada Lisil oxidase.

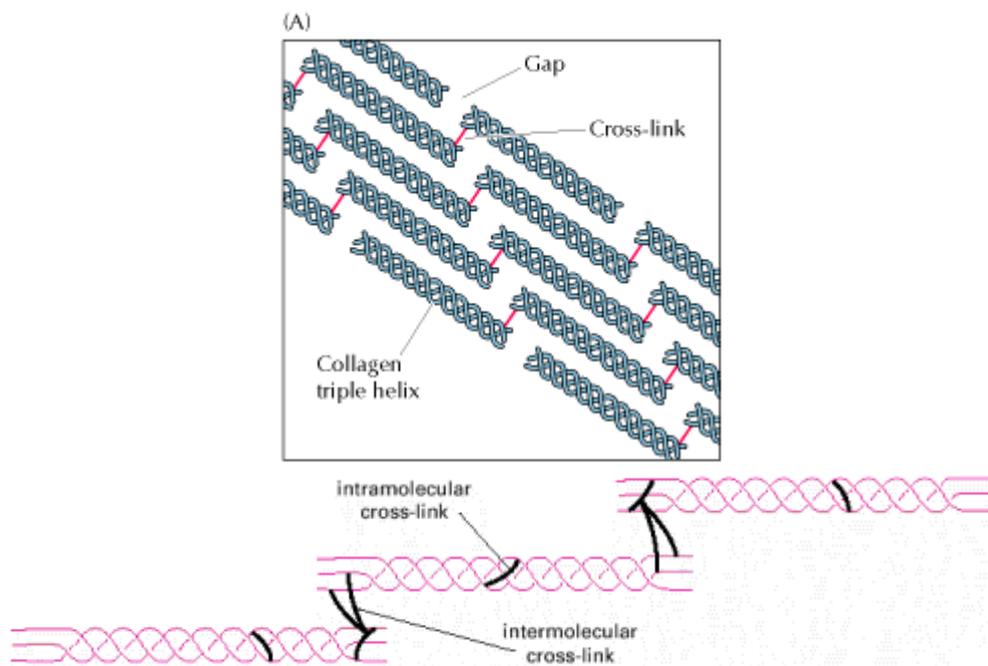


Figura 8.4 - Moléculas de colágeno formam fibrilas. As moléculas sobrepõem cerca de 1/4 de seu comprimento e há um pequeno espaço entre o N terminal de uma molécula e o C terminal da outra. A fibrila é mantida por ligações cruzadas covalentes entre as cadeias laterais de Lys, His ou hidroxil-Lys, principalmente nos terminos das moléculas de colágeno.

O colágeno fibroso possui exigências estruturais específicas e é muito susceptível à mutação, especialmente nos resíduos de glicina. Como as cadeias de colágeno mutante podem afetar a função das cadeias selvagens, estas mutações têm um fenótipo dominante.

Elastina

Moléculas de elastina formam uma rede interligada de fibras e folhas na matriz extracelular, particularmente na pele, pulmão e vasos sanguíneos, onde conferem as propriedades de estiramento e retração elástica. A elastina é sintetizada por fibroblastos em uma forma precursora conhecida como tropoelastina, que sofre polimerização no ambiente extracelular. A deposição de elastina na forma de fibras requer a presença de microfibrilas da glicoproteína estrutural fibrilina, que são incorporadas à estrutura. A Figura 8.1-B mostra detalhes da elastina.

Outros componentes da matriz extracelular

- A laminina é uma proteína multiadesiva na lâmina basal que se liga ao heparan sulfato, colágeno tipo IV e a receptores específicos na membrana plasmática.
- As fibronectinas são proteínas multiadesivas que ligam os colágenos e outras proteínas da matriz a integrinas na membrana plasmática, assim anexando as células à matriz.
- Os glicosaminoglicanos são cadeias lineares de 20-100 dissacarídeos sulfatados. Os dissacarídeos mais comuns são sulfato de condroitina, heparina e heparan sulfato, e dermatan sulfato.
- Os proteoglicanos consistem em múltiplas cadeias de glicosaminoglicanos que se ramificam a partir de uma cadeia proteica linear. Proteoglicanos extracelulares são moléculas grandes, altamente hidratadas que auxiliam na proteção das células. Pequenos proteoglicanos se ligam à superfície celular, onde facilitam as interações célula-matriz e auxiliam na apresentação de alguns hormônios aos seus receptores na superfície celular.
- O ácido hialurônico é um polissacarídeo extremamente longo e carregado negativamente. Ele forma géis viscosos e hidratados que resistem a forças de compressão. Quando ligado a receptores específicos em certas células, o ácido hialurônico inibe a adesão célula-célula e facilita a migração celular.

Os componentes da matriz são degradados por enzimas proteolíticas extracelulares. A maioria delas são metaloproteases, que dependem de ligação de Ca^{2+} ou Zn^{2+} para a atividade, enquanto que outras são serina proteases, que têm uma serina reativa no seu centro ativo. Vários mecanismos operam para assegurar que a degradação dos

componentes da matriz seja estritamente regulada. As células podem, por exemplo, causar a degradação localizada de componentes da matriz extracelular para abrir um “caminho” pela matriz (veja mais detalhes na Seção 9).

Atividade em software 6 – Colágeno

Demonstração de modelo de molécula de colágeno com Rasmol

Estudo dirigido 8.1 - Atividade em software 5

1. Poliprolina pode formar uma tripla hélice de colágeno?

Estudo dirigido 8.2 – Colágeno

1. Complete a tabela abaixo, descrevendo os componentes envolvidos.

	tripla hélice de colágeno	fibrila de colágeno
ponte de hidrogênio		
ligação covalente		
interação hidrofóbica		

2. Por que o colágeno é insolúvel em solventes que rompem pontes de hidrogênio e interações iônicas?

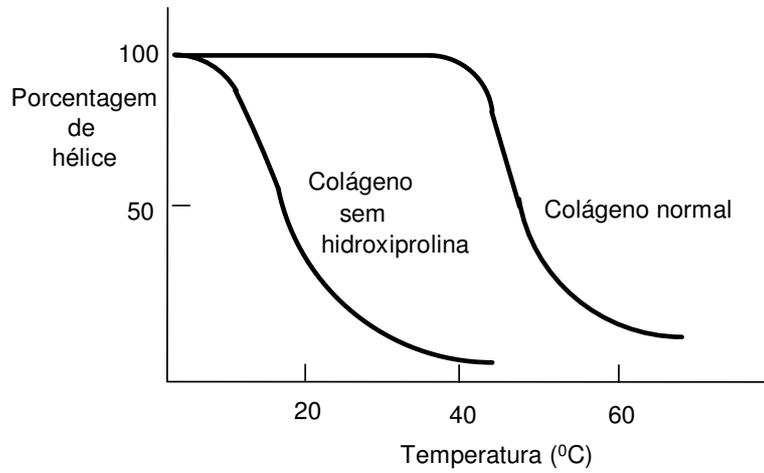
Questões 8.1

1. Primatas são incapazes de sintetizar ácido ascórbico e, portanto devem obter este elemento a partir da dieta. A necessidade do ascorbato é evidente na doença conhecida como escorbuto, um mal clássico dos marinheiros de longo curso que hoje em dia é praticamente desconhecido. Uma manifestação observada nos cabelos que pode sugerir a carência de vitamina C é os pêlos tornarem-se crespos nos locais onde antes eram lisos. O excesso de vitamina C pode causar formação de cálculos de oxalato nos rins.

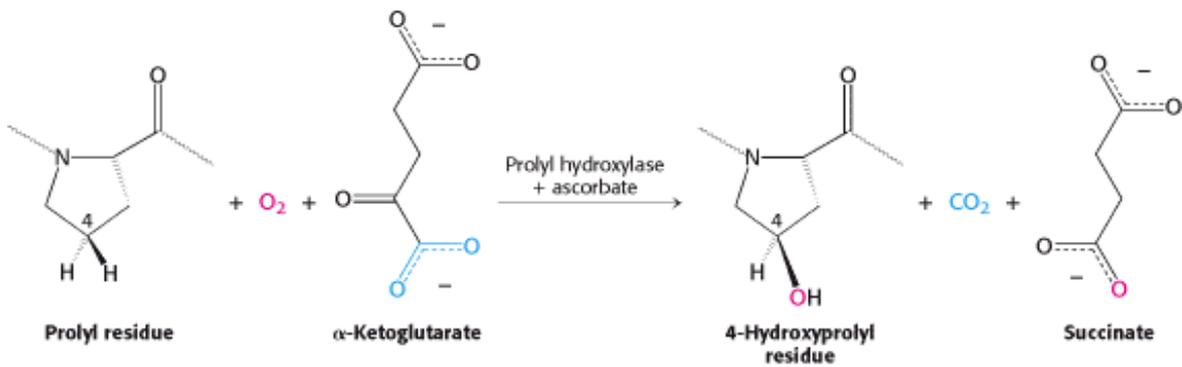
Em 1536 Jacques Cartier escreveu a respeito do mal causado pela deficiência de vitamina C que acometia os homens que exploravam o Rio Saint Lawrence.

“...Some did lose all their strength, and could not stand on their feet.(...) Others also had all their skins spotted with spots of blood of a purple colour: then did it ascend up to their ankles, knees, thighs, shoulders, arms, and necks. Their mouths became stinking, their gums so rotten, that all the flesh did fall off, even to the roots of the teeth, which did also almost all fall out...”

Abaixo está um gráfico relacionando a estabilidade da proteína de colágeno com a temperatura.



Com base nestas informações e na reação de formação de 4-hidroxiprolina, como poderia ser explicada a grande instabilidade da proteína na ausência de vitamina C?



Formação de 4-Hidroxiprolina: Prolina é hidroxilada em C4 pela ação da prolil hidroxilase.

2. Complete a tabela:

	Colágeno	Elastina	Queratina
Tipo de proteína (globular/fibrosa)			
Solubilidade em água			
Localização celular			
Estruturas moleculares formadas			
Estruturas formadas em mamíferos			
Número de cadeias polipeptídicas que formam a unidade			
Forças que estabilizam a estrutura			
Aminoácido que ocupa o centro da estrutura principal			

3. O principal tipo de interação que mantém a estrutura de colágeno é a mesma responsável pela manutenção da estrutura de queratina? Justifique.

4. Por que a carne de animais mais velhos costuma ser mais dura?

Referências

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. New York: Garland Publishing; 2002.

Burkitt HG, Young B, Heath JW. Wheater's Functional Histology. 3rd ed. London: Longman Group UK Limited, 1994.

Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens - structure, function, and biosynthesis. Advanced Drug Delivery Reviews 2003, 55:1531-46.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira PB, David D, James E. Molecular Cell Biology. 4th ed. New York: W. H. Freeman & Co.; 2000.

Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. TRENDS in Genetics 2004, Jan 20(1):33-43.

Tzaphlidou M. The role of collagen and elastin in aged skin: an image processing approach. Micron 2004, 35:173-177.

Voet D, Voet J. Biochemistry. 2nd ed. USA: John Wiley & Sons, Inc.; 1995.

9. Envelhecimento molecular da pele

TEXTO 1 - Envelhecimento intrínseco e extrínseco

Mesmo em uma vida hipotética sem interação com o ambiente, com exceção da alimentação e de oxigênio, ERO são geradas durante o processo de fosforilação oxidativa, podendo estar relacionadas a danos aos constituintes celulares como, por exemplo, DNA mitocondrial. O acúmulo de danos assim gerados pode ser definido como “envelhecimento intrínseco”. Por outro lado, o acúmulo de danos provocados pela interação com outros fatores ambientais pode ser definido como envelhecimento “extrínseco”.

Foram identificados como fatores de envelhecimento em geral a radiação solar, infecções, forças gravitacionais, campos eletromagnéticos, estresse, fumaça de cigarro e outros poluentes, anoxia, ferimentos e traumas.

Trecho traduzido e modificado de Giacomoni PU, Rein G (2004) A mechanistic model for the aging of human skin. *Micron* 35:179-187

TEXTO 2 - Descrição dos efeitos moleculares do envelhecimento da pele (I)

Envelhecimento extrínseco

O envelhecimento extrínseco resulta primeiramente da exposição à radiação UV (fotoenvelhecimento) e é um processo biológico complexo que afeta várias camadas da pele, principalmente o tecido conectivo da derme. Os três principais componentes do tecido conectivo são fibras de colágeno, a rede de fibras elásticas e os glicosaminoglicanos que estão envolvidos tanto no envelhecimento intrínseco quanto no envelhecimento extrínseco. Glicosaminoglicanos e proteoglicanos têm um papel na hidratação da pele e na sinalização biológica. Mudanças em todos os três componentes foram descritas no envelhecimento extrínseco da pele. Clinicamente, o envelhecimento extrínseco é caracterizado pela perda de elasticidade, enrugamento profundo, uma aparência de couro e cicatrização dificultada da pele.

Mudanças do tecido conectivo

A pele fotoenvelhecida é caracterizada pela perda de colágeno dérmico, resultado de sua hipo-regulação. Esta redução da produção de colágeno é acompanhada pela degeneração da rede colagenosa. Schwartz *et al* (1993) reportaram que o conteúdo total de colágeno da pele danificada pelo sol era 20% menor que de pele não exposta ao sol. De acordo com estes autores, a exposição ao sol desencadearia um mecanismo que aumenta a degradação de colágeno. Outro trabalho sugere que as mudanças na composição de

colágeno no fotoenvelhecimento são parcialmente explicadas por alterações no padrão de ligações cruzadas (*cross-link*) tanto quanto por uma regulação desbalanceada da produção e degradação de colágeno.

No estudo de Schwartz *et al* (1993) houve uma diminuição de 40% no conteúdo de procolágeno tipo III em pele danificada pelo sol, em comparação com pele protegida do sol. Outro estudo também sugere que em pele humana fotodanificada há redução de procolágenos tipo I e III. Esta redução poderia ser resultante do aumento da degradação destes por metaloproteinases e/ou da síntese de procolágeno reduzida.

Fisher *et al* (1996) e (1997) mostraram que radiação ultravioleta induz a síntese de metaloproteinases de matriz (MMP) na pele humana *in vivo*. Eles propuseram que a destruição de colágeno mediada por MMP é responsável, em grande parte, pelos danos no tecido conectivo que ocorre no fotoenvelhecimento. Para eles, a síntese de colágeno é mais reduzida na pele fotoenvelhecida do que na pele naturalmente envelhecida. Varani *et al* (2000) reportaram que com o aumento da idade, são observados *in vivo* níveis de MMP maiores em pele humana protegida do sol, bem como são observados menores níveis de síntese de colágeno.

Além dos colágenos mais freqüentes, tipos I e III, estarem reduzidos em pele fotoenvelhecida, o colágeno tipo VII, contendo fibrilas de ancoramento que contribuem para a estabilização da junção epiderme-derme, é severamente reduzido. Entretanto, o fotoenvelhecimento tem pouco ou nenhum efeito tanto na distribuição, abundância ou níveis de expressão de colágeno tipo VI na pele humana. Assim, colágeno tipo VI parece não ser afetado pelo processo de fotoenvelhecimento. A estabilidade deste tipo de colágeno em pele fotoenvelhecida dá suporte ao argumento que esta molécula é crítica à integridade geral da derme.

Trecho traduzido e modificado do artigo Tzaphlidou M (2004) The role of collagen and elastin in aged skin: an image processing approach. *Mícron* 35: 173-177

Estudo dirigido 9.1 – Textos 1 e 2

1. No esquema da estrutura da pele da Figura 5.1 da Seção 5, indique o local descrito no texto onde a maior parte dos danos que levam ao envelhecimento extrínseco ocorrem.
2. Qual(is) é(são) o(s) componente(s) moleculares mais afetados no envelhecimento da pele? Dado o papel do colágeno na pele, isto está de acordo com o senso comum? Com base nisso, qual seria o principal componente de um tratamento contra o envelhecimento da pele?
3. Por que a estabilidade de colágeno tipo VI é esperada em pele fotoenvelhecida? O que aconteceria na pele se este colágeno também fosse afetado?
4. Que razões moleculares poderiam existir para haver uma diminuição de colágeno na pele fotoenvelhecida? Você acha que essa diminuição é igual na pele que sofreu apenas envelhecimento intrínseco de uma que sofreu também envelhecimento extrínseco? Considere para a resposta a pele das nádegas e do braço da mesma pessoa.

TEXTO 3 - Descrição dos efeitos moleculares do envelhecimento da pele (II)

Derme

Fibras elásticas – fibroblastos - substância fundamental

A alteração microscópica mais proeminente na estrutura da derme fotodanificada é a substituição do padrão fibrilar normal por grandes quantidades de fibras elásticas espessadas, emaranhadas, degradadas e não funcionais que finalmente degeneram em uma massa não-fibrosa, homogênea e amorfa. Bioquimicamente, o material elástico mantém a aparência de elastina, embora seja desorganizado e anormal nas proporções de seus vários constituintes. Foi proposto que este material seria gerado tanto através da transformação de colágeno normal pré-existente e da fibra elástica como de atividades sintéticas anormais dos fibroblastos via liberação de citocinas de queratinócitos epidérmicos.

Concomitantemente, há uma diminuição histológica de fibras e feixes de colágenos, embora a perda quantitativa de colágeno seja discutida. A descoberta de fibras de colágeno deformadas de vários diâmetros na derme papilar sugere que a degradação e remodelação do colágeno ocorrem na pele fotodanificada. A Figura 9.1 mostra micrografias eletrônicas de mudanças na pele fotoenvelhecida.

A *substância fundamental* é constituída principalmente de proteoglicanos e glicosaminoglicanos (além de outras macromoléculas e grande quantidade de água). Estas moléculas hidrofílicas são acumuladas na pele fotodanificada e depositadas anormalmente no material elástico.

Outras mudanças que ocorrem na pele fotodanificada são o aumento do número e da atividade de fibroblastos, presença de infiltrados celulares inflamatórios e um número reduzido de vasos sanguíneos irregularmente dilatados.

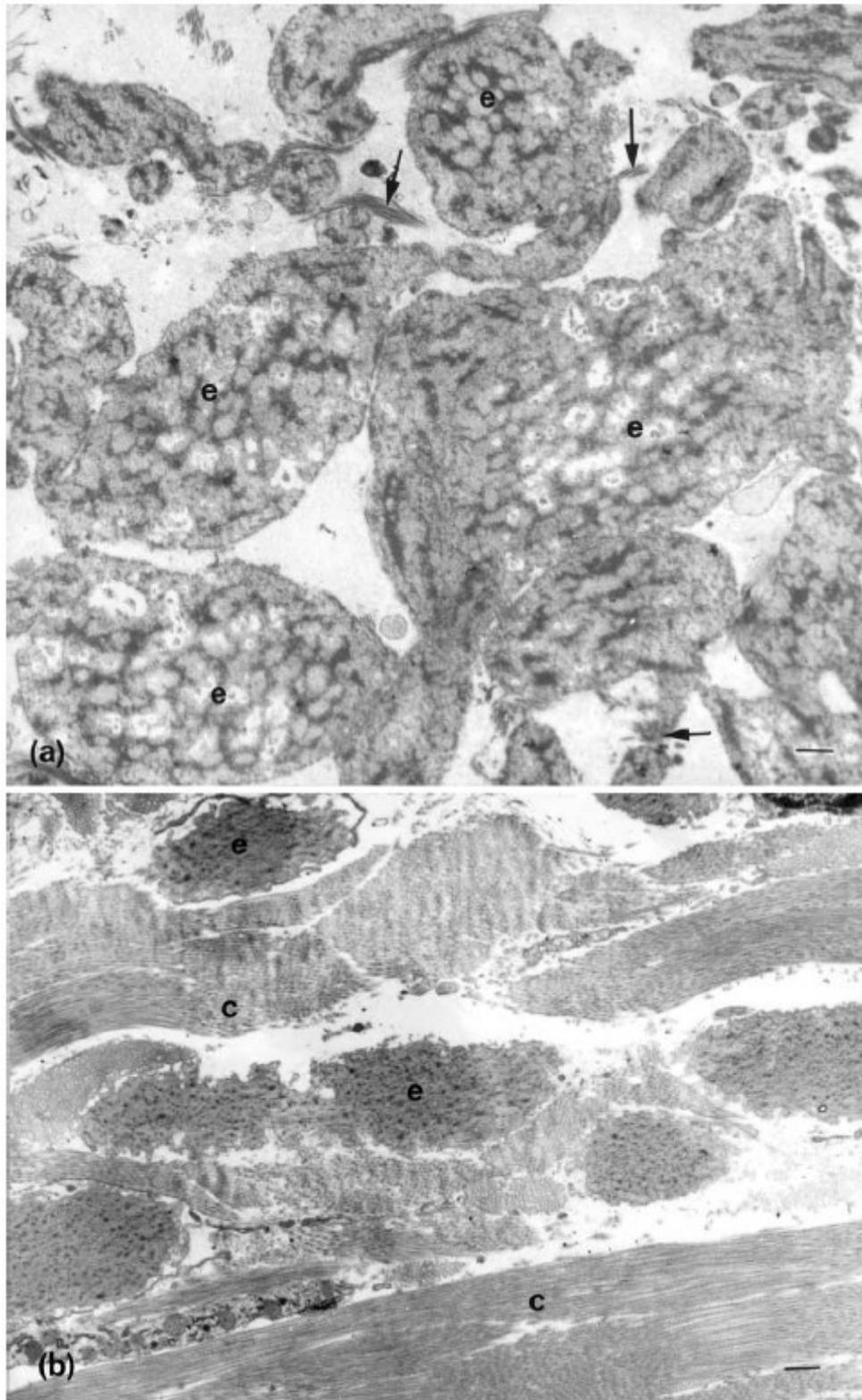


Figura 9.1 – (a) Derme de uma área do pescoço de um homem de 55 anos exposta ao sol. As fibras elásticas são espessas e apresentam muitos buracos e redes densas (e). Restam poucas fibrilas de colágeno entre as fibras elásticas (setas). (b) Derme de uma área relativamente coberta do cotovelo de um homem da mesma idade. As fibras elásticas se apresentam em pontos densos e em tiras, mas sem buracos. As fibrilas de colágeno formam feixes grossos (e). A escala é de 1 μm x 6000.

Fibras de colágeno

As mudanças relacionadas à exposição crônica a UV podem ser devidas à perda de colágeno, que é compensada pelo material elástico que é compacto e uniforme ou pela mistura de água e substância fundamental. Também pode haver um papel da mudança da composição de colágeno. Foi mostrado que a proporção de colágeno tipo III é aumentada em pele fotodanificada.

Processo de envelhecimento das fibras de colágeno

As fibras de colágeno podem ser consideradas o “arcabouço” natural da pele. Ligações cruzadas entre moléculas de colágeno são essenciais para fornecer estabilidade e força de tensionamento da pele. A ligação cruzada é influenciada por muitos fatores e o padrão desta pode, portanto, refletir o status estrutural das fibrilas de colágeno. Com a idade, observa-se o aumento da firmeza da pele, concomitantemente com o aumento das ligações cruzadas de colágeno. Dois mecanismos estão envolvidos: um é o processo de desenvolvimento e maturação precisos, controlados por enzimas, e outro é o processo de glicosilação não-enzimática.

No primeiro processo, enzimas convertem as ligações cruzadas divalentes (imaturas) e redutíveis em ligações cruzadas trivalentes maduras e estáveis de HistidinoHidroxiLisinaouLeucina (HHL), pirridinolina (Pyr) e deoxipirridinolina (DPyr). HHL corresponde à maior parte das ligações cruzadas naturais na pele. A glicosilação não-enzimática, também conhecida como reação de Maillard foi descrita em detalhe por Monnier (1990). Os produtos da reação de Maillard são chamados produtos finais avançados de glicosilação (*Advanced Glycosilation Endproducts*, AGE). Os AGEs induzem dano molecular por formar ligações cruzadas em proteínas como o colágeno. Até agora apenas um AGE em colágeno - pentsidina (Pen) - foi isolado e caracterizado; Pen é uma ligação cruzada formada entre arginina e lisina em colágeno e pode ser formada pela reação de Maillard com pentose.

Traduzido e modificado do artigo Wulf HC, Sandby-Moller J, Kobayasi T, Gniadeck R (2004) *Sking aging and natural photoprotection*. *Micron* 35: 185-191

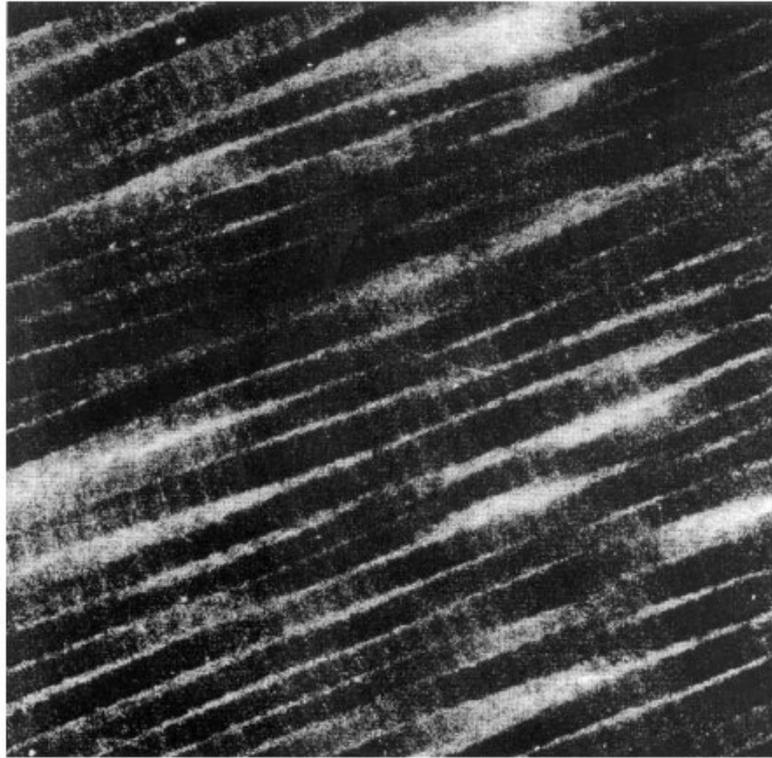
Estudo dirigido 9.2 – Texto 3

1. Com base nos TEXTOS 2 e 3, como você resumiria a principal característica molecular de uma pele envelhecida?
2. Como agentes extrínsecos poderiam levar a este quadro?
3. O TEXTO 2 também cita o papel das ligações cruzadas de colágeno no envelhecimento da pele. Para que servem essas ligações? Como uma mudança no padrão destas afetaria a estrutura da pele?

TEXTO 4 - Efeitos macroscópicos do envelhecimento da pele

Foi estudado, em detalhes ultra-estruturais, a modificação histológica e molecular da pele de porcos exposta à radiação ultravioleta artificial. A Figura 9.2 mostra que após

24 meses de exposição a UV artificial, as fibras de colágeno não são mais orientadas uniformemente, mas se encontram entrelaçadas disformemente. Isso poderia explicar a perda de elasticidade e de resiliência da pele fotoenvelhecida. Estas descobertas, junto com a observação que infiltrados de neutrófilos são encontrados na pele após exposição moderada a UVB, levaram à primeira idéia de que o reparo pós UV é análogo ao processo de cicatrização. De fato, este processo e o reparo pós UV compartilham como características comuns os mecanismos de modificação do tecido, que incluem migração celular maciça, proliferação, diferenciação fenotípica e atividades biossintéticas aumentadas. Macrófagos e fibroblastos expressam fibronectina embriônica durante a cicatrização cutânea, produzindo uma nova matriz extracelular que facilita o reparo da ferida. Eles são capazes de promover a migração celular de forma que sub-populações de fibroblastos, capazes de secretarem fatores estimuladores de migração, possam sofrer expansão transiente e local durante a cicatrização. Mastócitos residentes na derme então removem o tecido pós-inflamatório morto. O processo de desmontagem da ECM opera via colagenases, proteoglicanases e outras enzimas líticas de origem macrofágica. A última fase da cicatrização envolve a dissolução sistemática do tecido de granulação (tecido que surge após um dano), com perda gradual de células da vasculatura e também de reestruturação exaustiva da ECM. Moléculas da ECM recém sintetizadas não se encaixam sozinhas numa estrutura ordenada mas podem modular o arcabouço original, o qual é essencial para interação célula-matriz. De fato, a estrutura desordenada, que é observada após irradiação com UV, pode ser a consequência de uma disposição particular de moléculas recém sintetizadas. **Isso significa que para melhorar o reparo da pele e o combate ao envelhecimento, não é interessante que se acelere a síntese de colágeno, já que o turnover do colágeno na pele humana é da ordem de 15 anos ou mais. Ao invés disso, seria mais interessante empregar um tratamento para manter as macromoléculas recém sintetizadas em uma estrutura ordenada. Isto é possível, como já demonstrado com roedores de laboratório, inibindo especificamente a maturação de TGF-beta (Shah *et al*, 1992). É interessante notar que TGF-beta é um agente freqüentemente usado para estimular a síntese de colágeno. Os resultados de Shah *et al*. poderiam ser mais interessantes ainda se fosse demonstrado que, de fato, um aumento da ‘quantidade’ de colágeno está inversamente relacionado à ‘ordem’ da estrutura de fibras macromoleculares.**



(a)



(b)

Figura 9.2 – Análise de microscopia eletrônica de transmissão em derme de mini-porco. (a) controle.(b) após 24 meses de exposição à radiação UV artificial. Miniporcos albinos foram depilados e expostos a UV artificial três vezes por semana durante dois anos. Biópsias foram feitas em diferentes tempos. A figura mostra a estrutura de fibras de colágeno em biópsias de pele não exposta (a) e de pele exposta a UV (b).

Trecho e figura extraídos de Giacomoni PU, Rein G (2004) A mechanistic model for the aging of human skin. *Micron* 35:179-187.

Estudo dirigido 9.3 – Texto 4

1. Reveja sua resposta à pergunta 2 do Estudo Dirigido 9.1 considerando o que você leu nos textos 3 (em particular do item *Fibras de colágeno*, trecho “As mudanças relacionadas...”) e 4.

2. Explique com suas palavras ou faça um esquema da lógica do argumento de Giacomoni *et al* (TEXTO 4) no trecho em negrito em relação à cicatrização e envelhecimento. Use o Resumo do artigo citado (Shah *et al*).

Lancet (1992) 339(8787) 25:213-214

Control of scarring in adult wounds by neutralising antibody to transforming growth factor beta

M. Shah FRCS, D. M. Foreman PhD and M. W. J. Ferguson PhD, Prof

Abstract

Adult wounds heal with scar-tissue formation, whereas fetal wounds heal without scarring and with a lesser inflammatory and cytokine response. We injected the margins of healing dermal wounds in adult rats with neutralising antibody (NA) to transforming growth factor-beta (TGF-beta). All control wounds (irrelevant antibody, or TGF-beta, or no injection) healed with scarring, whereas the NA-treated wounds healed without scar-tissue formation; NA-treated wounds had fewer macrophages and blood vessels, lower collagen and fibronectin contents, but identical tensile strength and more normal dermal architecture than the other wounds. Early manipulation of the concentrations of selected cytokines may be a new approach to the control of scarring.

3. No parágrafo 4 do TEXTO 2 (“Fisher *et al* (1996) e (1997) mostraram que radiação ultravioleta...”), o autor comenta que a destruição da ECM por metaloproteinases de matriz seria um dos componentes do fotoenvelhecimento. Que vantagem biológica você imagina que haja para que as metaloproteinases destruam a ECM? Dica: procure o papel das MMPs em algum livro texto. Considerando o TEXTO 4, qual o sentido de UV induzir síntese de MMP, se esta enzima está associada à destruição do tecido?

TEXTO 5 - O modelo micro-inflamatório de envelhecimento da pele

(...) Foi notado que todos os fatores causadores de envelhecimento “aceitos” compartilhavam a característica comum de induzir a síntese de ICAM-1* no endotélio. Isso significava que todos os fatores reconhecidos como sendo responsáveis por acelerar o envelhecimento, tinham a capacidade de desencadear uma forma de resposta anti-inflamatória auto sustentada.

De fato, face à síntese de ICAM-1 no endotélio, monócitos circulantes e macrófagos rolam sobre as células da parede vascular e realizam diapedese** através desta. Uma vez na derme, as células imunes secretam enzimas líticas e espécies reativas de oxigênio (ERO), para abrir um caminho na derme. Elas podem seguir sinais quimiotáticos (e.g. para atingir e destruir agentes infecciosos, ou para remover células da pele danificadas) ou seguir um caminho aberto por outros macrófagos que liberaram colagenases e ERO (no caso de diapedese resultante de anoxia). Nestas condições, é altamente provável que células residentes próximas, tais como fibroblastos ou queratinócitos, sejam danificadas por radicais livres. Quando isto acontece, o dano pode desencadear a cascata do ácido araquidônico, levando à produção de prostaglandinas e leucotrienos (reação inflamatória), que difundem até os mastócitos residentes próximos. Após ligação destes mediadores a receptores específicos, os mastócitos residentes liberam histamina e TNF-alfa que, por sua vez, estimulam a liberação de selectinas-P (passo inicial na seqüência dos eventos que resultará na diapedese dos leucócitos nos sítios de injúria) e a síntese de ICAM-1 em células endoteliais. O ciclo é portanto fechado, e o status micro-inflamatório é mantido. A Figura 9.3 (Giacomoni *et al*, 2000), sumariza o modelo micro-inflamatório de envelhecimento da pele.

ICAM-1 (intracellular cell adhesion molecule 1, também chamada CD54) é uma molécula expressa tipicamente em células endoteliais e em células do sistema imune e portanto está associada à ativação da resposta imunológica. É uma proteína envolvida no processo de diapedese.*

***Diapedese: passagem de elementos corpusculares do sangue dos vasos sanguíneos para os tecidos, sem rompimento dos vasos.*

Atividade em software 7 – Diapedese

Veja animação sobre diapedese em
<http://www.pucrs.br/fabio/imunopage/Diapedesis.html>

Microinflammatory Model of Skin Aging

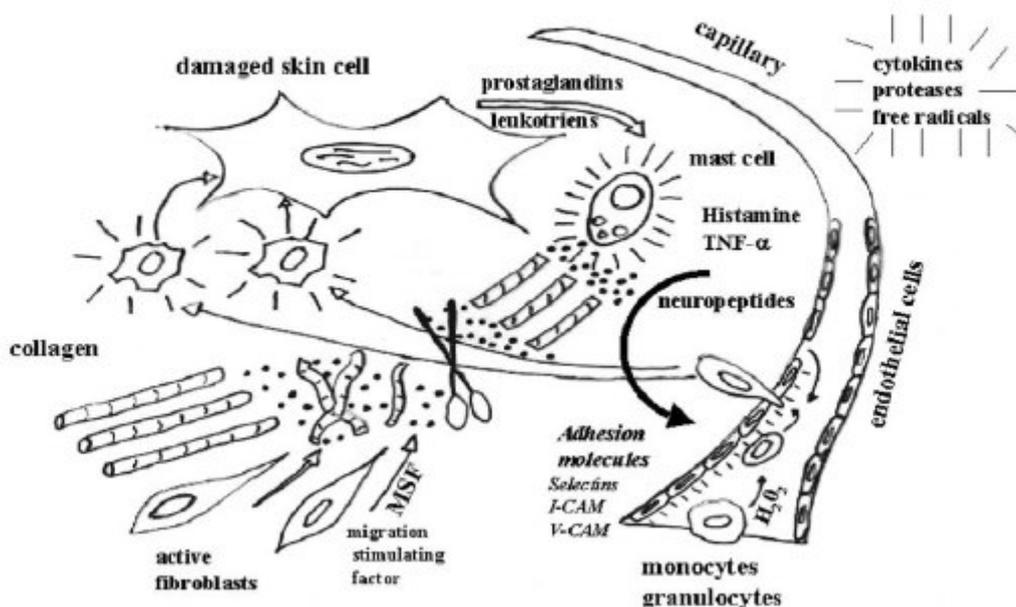


Figura 9.3 – O modelo micro-inflamatório do envelhecimento da pele. Todos os tratamentos conhecidos que aceleram a taxa de envelhecimento da pele compartilham como característica comum a capacidade de induzir síntese de ICAM-1 no endotélio. Tratamentos capazes de induzir a síntese de ICAM-1 no endotélio são considerados fatores de envelhecimento.

Estudo dirigido 9.4 – Texto 5

1. Por que o autor baseia seu argumento no fato que “fatores causadores de envelhecimento ‘aceitos’ compartilhavam a característica comum de induzir a síntese de ICAM-1* no endotélio”?
2. Utilizando a Figura 9.3, enumere a ordem dos eventos, como narrados no texto.

Discussão

(...) Quando um dano a um tecido é gerado (e.g. radiação UV, radicais livres, agentes infecciosos ou por feridas e traumas), milhares de danos são provocados à matriz extracelular (ECM), às células residentes e às paredes dos vasos através dos radicais livres e enzimas líticas que são liberados ao longo da resposta inflamatória, em consequência da difusão de citocinas produzidas via cascata do ácido araquidônico.

(...) Este modelo micro-inflamatório do envelhecimento da pele enfatiza o envelhecimento do tecido conectivo e da ECM. Conseqüências macroscópicas deste modelo são conhecidas pelo senso comum. A aceitação que o reparo pós UV e cicatrização compartilham o remodelamento da ECM, permitiu entender porque os vasos sanguíneos estão localizados mais profundamente na pele envelhecida do que na pele jovem. A perda de elasticidade da derme e enrugamento são conseqüências de uma ECM

modificada e são acompanhadas pelo aumento geral da superfície da pele que recobre o crânio. Como este é constante em volume, a pele aumentada gera a aparência de rugas, um sinal visível de envelhecimento. (...) Por outro lado, o modelo não fornece explicações detalhadas do surgimento de outros sinais visíveis de envelhecimento associados à superfície da pele, tal qual a descoloração e sequidão da pele.

Trechos e figuras extraídas de Giacomoni PU, Rein G (2004) A mechanistic model for the aging of human skin. *Micron* 35:179-187.

Estudo dirigido 9.5 – Discussão

1. Por que os vasos sanguíneos estão localizados mais profundamente na pele envelhecida?
2. Quais evidências moleculares suportariam o modelo micro-inflamatório? O modelo molecular proposto explica todos os sinais do envelhecimento?
3. Em poucas palavras, qual é a idéia do modelo micro-inflamatório no envelhecimento? Segundo o modelo, qual a relação de UV e envelhecimento?

TEXTO 6 - Telômeros e envelhecimento

Atividade em software 8 – Telômeros e telomerase

<http://bcs.whfreeman.com/lodish5e/>
(Cap.10 Gene and chromosome structure → Telomere replication)

Trecho 1

O DNA é o principal alvo de dano celular induzido por UV. A radiação ultravioleta afeta diretamente o DNA formando dímeros de pirimidina e, indiretamente, via geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). Como será discutido abaixo, pesquisas recentes têm elucidado os eventos moleculares iniciais da maioria das manifestações típicas do envelhecimento e do fotoenvelhecimento, fornecendo um arcabouço intelectual que liga os dois processos.

Trecho 2

Mudanças no padrão de expressão gênica e de capacidade de proliferação celular associadas à idade estão, em geral, sob controle de telômeros. Telômeros são os terminos de cromossomos lineares, com muitas bases de comprimento que consistem de sequências de DNA repetidas em *tandem*. A fita 3' em mamíferos tem a sequência (TTAGGG)_n e estende-se 75-300 bases além da fita 5' complementar, deixando uma simples fita livre em

cada ponta. A presença de repetições teloméricas protege o cromossomo de degradação ou fusão. Também foi determinado que o comprimento dos telômeros diminui em até 150 bases a cada divisão celular, como determinado em células humanas em cultura (Harley *et al*, 1990; Ningu *et al*, 2003); e o comprimento do telômero em células derivadas de adultos mais idosos e mais jovens é inversamente relacionado à idade fisiológica do indivíduo (Harley *et al*, 1990; Allsopp *et al*, 1992). Quando os telômeros se tornam “criticamente curtos”, as células entram em senescência proliferativa e assim os telômeros parecem servir como um relógio molecular, informando às células se elas são velhas ou jovens. Além do mais, o comprimento dos telômeros pode influenciar na expressão de genes próximos a eles. Essa modificação evidencia, assim, a influência da idade no padrão de expressão gênica.

(...) Estudos recentes sugerem que a função telomérica é determinada por mais do que somente seu comprimento. Especificamente, a simples fita 3' livre dobra-se sobre a dupla hélice criando um laço que protege o cromossomo de degradação. Esta estrutura de laço é estabilizada pelo fator de ligação a repetições teloméricas (proteína TRF2). Experimentos em que esta proteína é retirada causam a abertura do laço, resultando em digestão da sequência simples fita livre e em várias respostas a dano ao DNA, culminando na apoptose ou senescência, dependendo do tipo celular. Foi sugerido que o “desencapamento” do telômero é detectado pela célula como uma quebra no DNA, ativando respostas de dano ao DNA. Foi postulado que a abertura do laço telomérico pode ocorrer naturalmente após encurtamento crítico do telômero, após irradiação de UV ou outro dano ao DNA; assim como experimentalmente em células expressando TRF^{DN} (dominante negativo). De fato, senescência proliferativa, parada do ciclo celular, reparo de DNA e apoptose envolvem vias de sinalização intracelular idênticas, tendo como proteína central a proteína supressora de tumor e fator de transcrição p53 (também induzido após abertura experimental do laço telomérico).

Estudo dirigido 9.6 – Texto 6

Utilize um livro texto para responder às questões abaixo.

1. O que são telômeros e qual sua função?
2. Por que os telômeros diminuem a cada divisão celular? Você espera que isso ocorra em todas as células de mamíferos? Que vantagem existe em tal diminuição, se eles possuem uma função biológica tão importante?
3. Faça um esquema da localização dos telômeros, especificando onde está a simples fita 3' livre.
4. Modifique seu esquema para mostrar a simples fita 3' livre formando um laço sobre a dupla fita e a interação da proteína TRF2.

Continuação do TEXTO 6 (trecho 2)

Interessantemente, tratamento de células com oligonucleotídeos homólogos à sequência telomérica livre também ativa respostas a dano ao DNA na ausência de abertura

de telômeros, enquanto oligonucleotídeos complementares ou não relacionados à essa sequência são ineficazes para induzir estas respostas. (...) Em outros tipos celulares, oligos homólogos induzem uma parada no ciclo celular transiente ou apoptose, mimetizando os efeitos do dano ao DNA e abertura do laço telomérico, sugerindo que a exposição da simples fita 3' livre pode ser o sinal fisiológico que desencadeia as respostas a danos no DNA, incluindo a senescência replicativa.

Este modelo fornece uma importante conexão entre envelhecimento intrínseco e fotoenvelhecimento, propondo que ambos os processos levam à desestabilização do laço telomérico e à exposição da simples fita 3' livre: o primeiro estocasticamente por causa de um laço mais curto ou “mais apertado” e o segundo porque dímeros de timidina e a oxidação de resíduos de guanina mediada por ERO distorcem o laço ou sua ponta livre de ancoramento. Consistente com este modelo, em melanócitos humanos normais, oligos homólogos induzem melanogênese (bronzamento), replicando os eventos observados durante a passagem serial de células para senescência ou em consequência da exposição de melanócitos à radiação UV ou outros agentes que causam dano ao DNA.

O componente principal do envelhecimento intrínseco da pele é o encurtamento progressivo do telômero durante a divisão celular serial, enquanto fotoenvelhecimento inclui a exposição adicional da pele à radiação UV. Sabe-se que UV forma dímeros de pirimidina em DNA, mais comumente em sítios de ditimidina (TT). Danos oxidativos ao DNA, induzidos ou pelo metabolismo celular ou por UV, ocorrem mais frequentemente em resíduos de guanina e foi demonstrado que aceleram o encurtamento telomérico. Neste contexto, é interessante notar que 1/3 da sequência repetitiva da simples fita livre do telômero TTAGGG são ditimidinas (TT) e metade são guaninas (G). Portanto, seria esperado que exposição a UV e/ou o dano oxidativo introduzisse danos extensos aos telômeros, desestabilizando a estrutura do laço e expondo a ponta 3' livre, desencapando o telômero, e ativando uma via final comum (morte celular programada). Sabe-se que a sinalização através da via de p53 ocorre após exposição à UV, dano oxidativo ao DNA, ou rompimento experimental de telômeros, assim como durante a entrada em senescência ou na presença de oligos homólogos, mimetizando a exposição da simples fita 3' livre. Esta sobreposição mecânica postulada entre envelhecimento intrínseco e extrínseco explica suas similaridades clínicas substanciais. As características únicas da pele fotoenvelhecida, incluindo sua predisposição ao câncer, refletem mutações causadas por UV superpostas em genes regulatórios-chave que se acumulam durante o processo de envelhecimento dirigido por telômeros.

Trecho extraído do artigo Kosmadaki MG, Gilchrist BA (2004) The role of telomeres in skin aging/photoaging. *Micron* 35:155-159.

Estudo dirigido 9.7 – Texto 6 (cont.)

1. Faça um esquema de como radiação UV pode levar à exposição do telômero, ocasionando sua degradação e conseqüente morte celular.
2. Por que os tais oligos homólogos que mimetizam telômeros livres causariam a morte celular?

Questões 9.1

1. O trecho 2 sobre danos de UV em ditimidinas e de radicais em guaninas é muito pouco claro sobre como exatamente tais modificações químicas poderiam resultar na desestabilização do laço telomérico. Como você acha que a desestabilização do laço poderia estar associada a tais modificações? Lembre-se como é a estrutura do laço formado.
2. Se você tivesse criado toda a vida na Terra, você colocaria T e G nas sequências teloméricas? Justifique sua resposta.
3. Um dos mais importantes fatores que causam envelhecimento extrínseco é a radiação solar. No entanto, todos os modelos de envelhecimento envolvem, de alguma maneira, a formação de radicais. Que relações são conhecidas entre os dois fatores (diretas ou indiretas, mas com alguma correlação da participação de ambos os fatores no evento danoso)?

TEXTO 7 - Panorama de alterações moleculares ocorridas em células envelhecidas

A visão de que a pele envelhecida predispõe ao desenvolvimento de tumores cancerígenos parece um pouco paradoxal devido à diminuição generalizada da atividade dos queratinócitos.

Queratinócitos humanos atingem senescência replicativa após 50-100 duplicações da população em cultura e então ficam permanentemente na fase G₀ do ciclo celular. Três moléculas foram consideradas cruciais para a manutenção da senescência replicativa: (i) a proteína inibitória p16^{INK4a} que desativa o complexo Cdk4/ciclina D; (ii) a proteína pró-apoptótica p53 e (iii) a enzima telomerase que ativamente regenera os telômeros, que iriam encurtar irreversivelmente após cada ciclo de divisão celular. Entretanto, uma propriedade ainda mais interessante das células senescentes é o aumento da resistência a apoptose. Células normais danificadas (DNA ou proteína) podem facilmente ser eliminadas por apoptose. No entanto, células senescentes parecem sobreviver por períodos muito longos de tempo sem serem capazes de dividir ou morrer por apoptose dando uma janela de tempo para que danos em proteína e em DNA acumulem.

(...) Em células senescentes há um acúmulo progressivo de proteínas e lipídios danificados por estresse oxidativo e este processo é acelerado devido à diminuição da defesa antioxidante. Também, a eficiência dos mecanismos de reparo de DNA é diminuída em células velhas resultando em instabilidade genética.

Traduzido e modificado do artigo Wulf HC, Sandby-Moller J, Kobayasi T, Gniadeck R (2004) Sking aging and natural photoprotection. *Micron* 35: 185-191

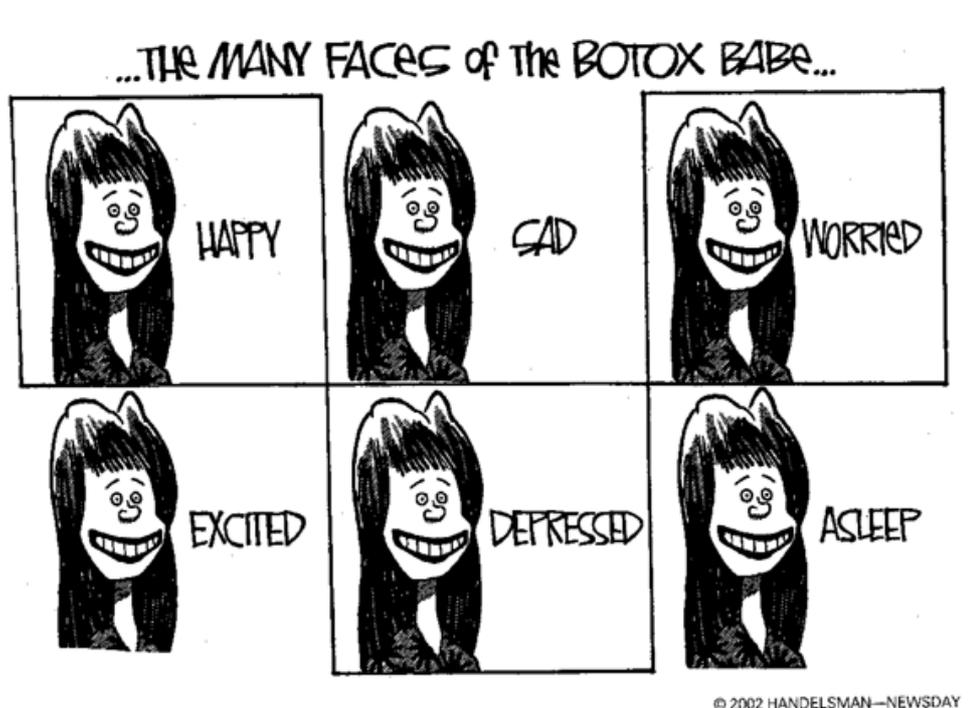
Estudo dirigido 9.8 – Texto 7

1. Qual a relação entre as três moléculas cruciais para a manutenção da senescência replicativa?
2. Liste os fenômenos biológicos citados, envolvidos em células envelhecidas. Monte um esquema com os fenômenos encontrados, estabelecendo ligações entre eles.
3. Qual seria a consequência de manter células danificadas?

Questões 9.2

1. Como você definiria envelhecimento?
2. Com base no que você aprendeu até agora, você acha que teria sentido propor um tratamento de câncer que fosse baseado na irradiação de luz UV? Em caso positivo, em poucas palavras, quais seriam os eventos moleculares envolvidos?
3. Faça um esquema ou mapa de conceitos relacionando todos os eventos, fenômenos, reações que você estudou sobre radiação UV, envelhecimento da pele, protetores solares e radicais. Não deixe de incluir os seguintes termos: elastina, colágeno, UVA/UVB, envelhecimento extrínseco/intrínseco, protetor solar químico e físico, comprimento de onda, radicais, melanina, anéis aromáticos, pigmento, DNA, telômeros, resposta inflamatória, absorção, dímeros de timidina, ICAM, diapedese.
4. Por que embora a pele tenha diversas defesas contra fatores que levam ao envelhecimento extrínseco, envelhece?

10. Botox®



Toxina Botulínica - Botox®

A toxina botulínica foi identificada pela primeira vez em 1897, como causadora de uma doença conhecida como botulismo, adquirida após a ingestão de alimentos contaminados com a bactéria anaeróbica *Clostridium botulinum*. Esta bactéria produz oito sorotipos distintos de toxinas já isoladas, sendo que sete delas são neurotoxinas (tipos A a G). Cada um dos sorotipos apresenta diferentes propriedades e ações, sendo que a do tipo A é a mais conhecida e estudada entre todas elas.

As pesquisas com a toxina botulínica do tipo A como um agente terapêutico no tratamento de doenças humanas começaram no final dos anos 60 com os pesquisadores Alan B. Scott (Fundação de Pesquisas dos Olhos Smith-Kettlewell) e Edward J. Schantz (diretor de microbiologia e toxicologia na Universidade de Wisconsin). Desde então a toxina botulínica do tipo A deixou de ser considerada apenas como um agente de doenças e males humanos, mas também passou a ser vista como um poderoso agente terapêutico no tratamento de sintomas de diversas doenças, principalmente, neurológicas e oftalmológicas.

Em 1989 a empresa Norte Americana Allergan adquiriu os direitos para comercializar a toxina botulínica do tipo A sob a marca Botox®, aprovada para uso em doenças como estrabismo e blefaroespasmos (movimentos repetitivos e involuntários da pálpebra).

A FDA (Food and Drug Administration) anunciou em abril de 2002 a aprovação do Botox® para fins estéticos, após a comprovação de que a toxina, usada para o tratamento de doenças oftalmológicas, era também capaz de reduzir as linhas de expressão

facial na região das sobrancelhas, após aproximadamente 120 dias de tratamento. A agência então concedeu o uso da droga para essa condição.

Atividade em software 9 – Ação da toxina botulínica

Veja uma animação da toxina botulínica em ação

<http://www.bbc.co.uk/science/hottopics/extremecosmetics/botox.shtml#animation>

Estrutura da toxina

O Botox® é um complexo de neurotoxina purificada, contendo neurotoxina tipo A e proteínas associadas. Existem semelhanças estruturais e funcionais entre todos os sete tipos de neurotoxina botulínica (de A até G). Estas moléculas de cadeia única são ativadas por enzimas proteolíticas em um processo conhecido como corte ou secção. Em alguns casos, as bactérias são eficientes na ativação da toxina (como a do tipo A). Em outros casos, a ativação requer um período mais longo de fermentação ou exposição às enzimas exógenas (como com os tipos B e E).

Uma vez clivada, a molécula de cadeia única de ~150 kD forma uma molécula de cadeia dupla consistindo de uma cadeia de ~100 kD (cadeia pesada), ligada por pontes dissulfeto a uma cadeia de ~50 kD (cadeia leve) (Figura 10.1). A cadeia pesada é responsável pela ligação de alta afinidade da neurotoxina ao receptor da terminação nervosa pré-sináptica, possibilitando a internalização celular da toxina. A cadeia leve é uma endopeptidase dependente de zinco que cliva as proteínas da membrana celular que ligam as vesículas de acetilcolina no lado interno da membrana da terminação nervosa, durante o processo de externalização da acetilcolina. Desta forma as vesículas não são capazes de se fundir à membrana celular e assim liberar a acetilcolina na fenda neuromuscular.

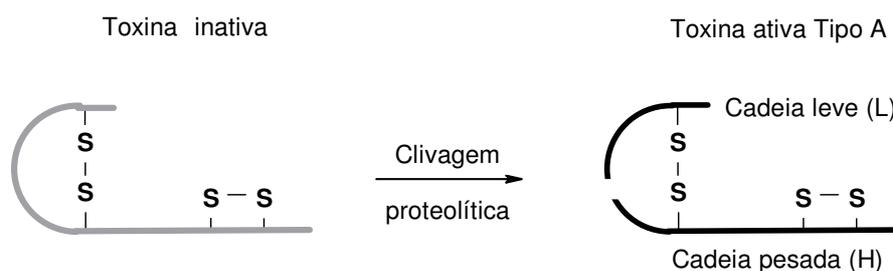


Figura 10.1 - Ativação da toxina botulínica por endopeptidases.

Mecanismo de Ação

O Botox® age bloqueando a transmissão neuromuscular. Acredita-se que após este bloqueio ocorra o reaparecimento de novas terminações axônicas, resultando no restabelecimento da transmissão neuromuscular.

1. Bloqueio da transmissão neuromuscular

Este processo ocorre em 3 etapas:

1.2 Ligação

A toxina botulínica tipo A liga-se à região externa da terminação neuromotora. Isto ocorre devido ao reconhecimento de um receptor específico da terminação neuromuscular pela cadeia pesada da toxina (Figura 10.2).

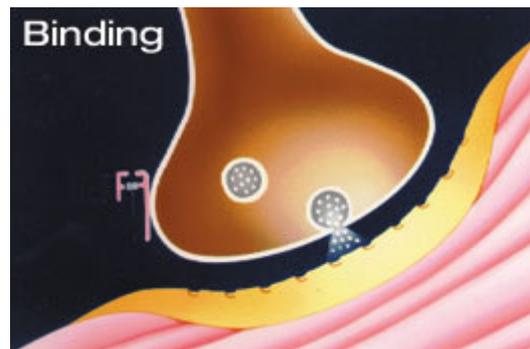


Figura 10.2 - A figura ilustra a interação da terminação neuromotora com a cadeia pesada da toxina botulínica.

1.2. Internalização

Após o reconhecimento e ligação, a toxina é internalizada via endocitose mediada por receptor. Neste processo a membrana plasmática da célula nervosa invagina-se ao redor do complexo receptor - toxina, formando uma vesícula dentro da terminação nervosa (Figura 10.3). Já internalizada, a cadeia leve da toxina é liberada no citoplasma da terminação nervosa (Figura 10.4).

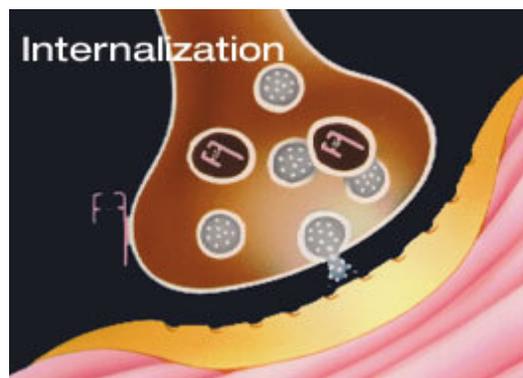


Figura 10.3 - Internalização da toxina botulínica via endocitose.

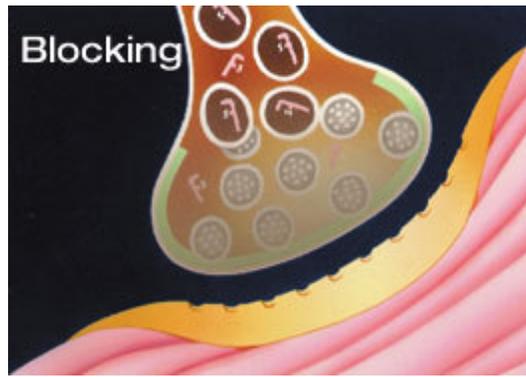


Figura 10.4 – Bloqueio da liberação de acetilcolina.

1.3. Bloqueio

A toxina botulínica tipo A bloqueia a liberação de acetilcolina através da clivagem da SNAP-25, uma proteína citoplasmática localizada na membrana celular e necessária para a liberação deste transmissor. As terminações afetadas são impossibilitadas de estimular a contração muscular. Vale lembrar que a toxina não afeta a síntese ou armazenamento de acetilcolina, nem mesmo a condução de sinais elétricos ao longo da fibra nervosa.

2. Sítio de ação

A Figura 10.5 mostra a seqüência de eventos que levam à liberação de acetilcolina na fenda neuromuscular e a ação intracelular da toxina botulínica sobre a proteína SNAP-25.

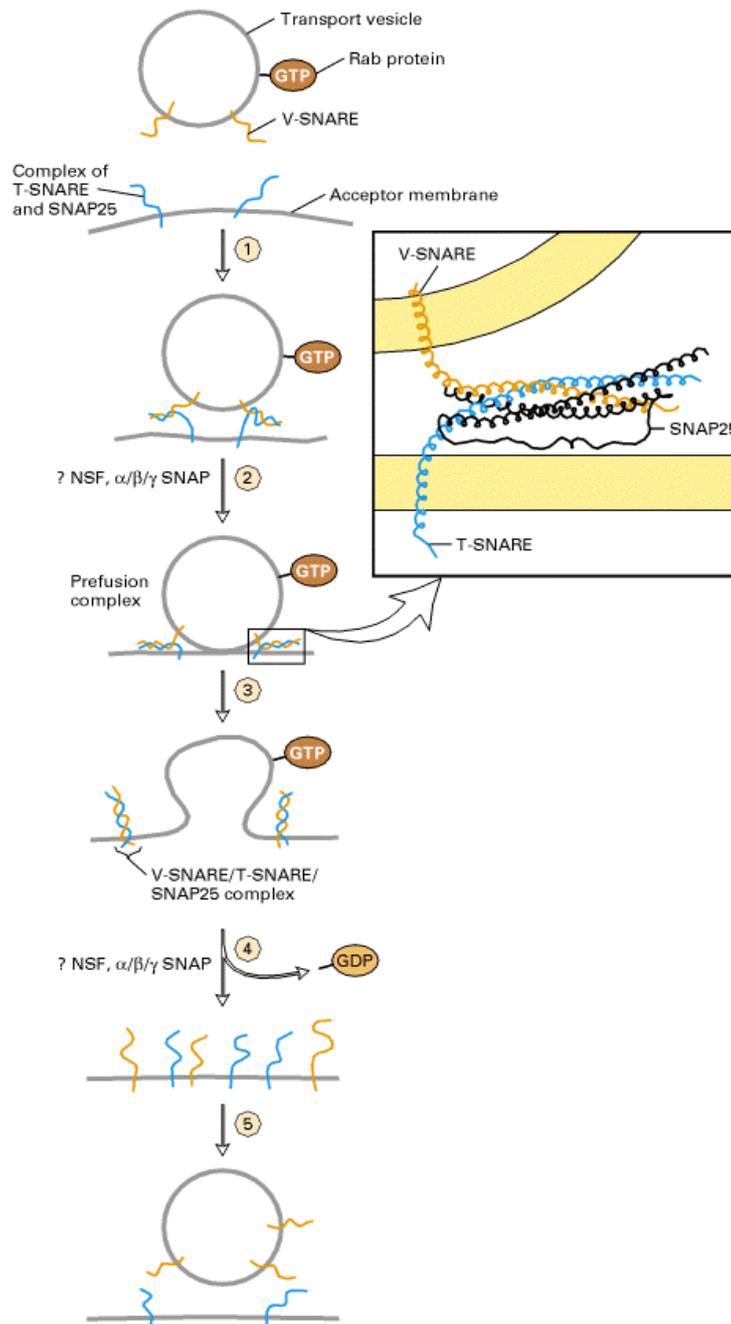


Figura 10.5 – Sequência de eventos que levam a liberação da vesícula contendo acetilcolina na fenda neuromuscular.

Acredita-se que a intensidade e duração da ação da toxina tipo A deriva, pelo menos em parte, de sua ação sobre a SNAP-25 (Figura 10.6). Outros subtipos como o B e o F, clivam a sinaptobrevina, que também está envolvida na liberação da vesícula.

Figura 10.6 – Ver na Seção 13 “Figuras coloridas: .

Restabelecimento da transmissão neuromuscular

1. Aparecimento de novas terminações nervosas

As evidências indicam que o bloqueio químico do entroncamento neuromuscular pela toxina botulínica tipo A resulta em uma expansão da região terminal do axônio, bem como na estimulação do aparecimento de novas terminações (Figura 10.7-A).

A formação de novas terminações nervosas acaba por estabelecer um novo entroncamento neuromuscular, e a atividade muscular volta gradualmente (Figura 10.7-B). Entretanto, pesquisas recentes sugerem que este novo entroncamento retrai e a terminação original volta a funcionar. De qualquer forma, para que o efeito estético permaneça é necessário repetir as injeções de Botox® para manter o efeito clínico desejado.

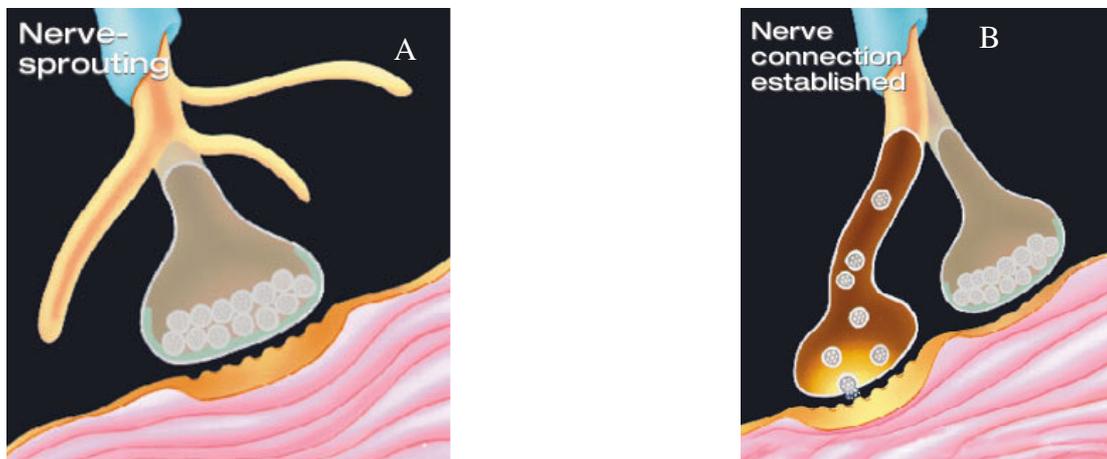


Figura 10.7 - (A) Esquema do aparecimento de novas terminações nervosas e (B) restabelecimento da conexão nervosa.

Botox® e estética

Em 2001 mais de 1,6 milhões de pessoas receberam injeções de Botox® como tratamento estético das rugas dinâmicas ou rugas de expressão, que são aquelas provocadas pela contração muscular da mímica facial, que leva, ao longo do tempo, à formação de vincos na pele. A toxina botulínica atua impedindo a contração dos músculos faciais que dão origem às rugas. Com o relaxamento da musculatura as rugas atenuam-se. Os principais locais da face onde pode ser utilizado são a região frontal (testa), a glabella (entre os supercílios) e região peri-orbitária ("pés de galinha"). A toxina é injetada diretamente no músculo responsável pela formação da ruga, com utilização de uma agulha bem fina. O efeito é observado nas primeiras 48 horas e aumenta gradativamente nos 10 a 15 dias subsequentes à aplicação, quando se estabiliza. O efeito do tratamento dura cerca de quatro meses, sendo então necessária uma nova aplicação para a manutenção dos resultados. Este tempo pode variar de acordo com cada pessoa. O procedimento pode ser

repetido diversas vezes e, com a continuidade do tratamento, a duração do efeito tende a aumentar.

Questões 10.1

1. O intervalo mínimo de aplicação de Botox® na pele é de 30 dias. Considerando que a substância botulínica é uma toxina, tente imaginar por que um tratamento com maior número de aplicações por mês simplesmente não resulta em nenhum efeito estético.
2. Para inibir a liberação de neurotransmissores do neurônio na célula muscular, a toxina botulínica precisa entrar no citossol, onde se encontra sua proteína alvo. Não existem estudos que expliquem perfeitamente como a cadeia leve da toxina botulínica consegue atravessar a barreira hidrofóbica da vesícula e não a membrana plasmática da célula nervosa, porém alguns modelos foram propostos. Uma das hipóteses explicaria tal passagem por mudanças conformacionais das cadeias leve e pesada da toxina. A vesícula contendo a toxina é exposta a um pH mais baixo devido à fusão com lisossomos da célula. Este pH ácido promove a mudança conformacional das cadeias expondo assim alguns fragmentos hidrofóbicos das proteínas. Isto permite que a cadeia pesada forme um túnel na membrana das vesículas. A diminuição do pH causa também o desdobramento da cadeia leve, permitindo que esta atravesse o poro formado pela cadeia pesada. Em contato com o pH neutro do citosol, a cadeia leve se dobra novamente em sua forma ativa e as pontes dissulfeto entre a cadeia leve e pesada são reduzidas, liberando a toxina no citosol.
 - a) A capacidade de se desdobrar e se dobrar novamente na correta conformação, faz com que a toxina botulínica consiga “sobreviver” à passagem pela acidez do estômago e cause o quadro de intoxicação alimentar. Explique como as interações químicas entre os aminoácidos de uma proteína são alterados pela mudança do pH.
 - b) Quais seriam os aminoácidos mais afetados pela mudança do pH? Explique.

Referências

Lewis, C. Botox Cosmetic: A Look at Looking Good. U.S. Food and Drug Administration. 2002.

Lowe, N.J. and Yamauchi, P. Cosmetic use of Botulinum Toxins for Lower aspects of the face and neck. Clinics in Dermatology . 2004, 22:18-22.

<http://www.wplastia.com.br>

<http://www.edae.gr>

<http://www.aad.org>

<http://www.dermatologia.net>

11. Dimetilaminoetanol ou deanol (DMAE)

Histórico do DMAE

Desde 1970, vários autores estudaram o efeito do DMAE na melhora da cognição e da memória em pacientes saudáveis e em pacientes com síndromes como o autismo e o mal de Alzheimer. Atualmente, a terapia oral com o DMAE está incluída em protocolos clínicos para pacientes pediátricos portadores de hiperatividade. É comprovado que a farmacodinâmica, que explica o efeito do uso interno do DMAE, o considera um estimulante diferente, por exemplo, das anfetaminas, não provocando síndrome de abstinência. Entre 1999 e 2002, houve uma divulgação intensa da experiência clínica com o DMAE aplicado topicamente em preparações cosméticas visando um efeito tensor com uma ação anti-envelhecimento.

Neurotransmissores

Os receptores de neurotransmissores localizados na membrana plasmática das células pós-sinápticas podem ser de dois tipos: ligados a canais iônicos ou acoplados à proteína G. As sinapses contendo ambos os tipos de receptores podem ser excitatórias ou inibitórias, sendo que a velocidade de resposta é principal característica diferencial na resposta mediada por cada uma destas classes (vide Apêndice III, Box 1).

A ligação do neurotransmissor em *receptores de canais* causa uma alteração conformacional imediata, abrindo os canais e permitindo a passagem de íons através da membrana, levando o potencial de membrana a mudar em 0,1 a 2 milissegundos.

Receptores de neurotransmissores *acoplados a proteína G* são mais lentos e duradouros. A proteína G é capaz de ligar-se a uma proteína de canal iônico, causando um aumento ou decréscimo de condutância. Em outros casos, a proteína G ativada induz mudanças conformacionais na adenilato ciclase, uma proteína integral de membrana. Esta por sua vez, gera a formação de AMP cíclico (cAMP) a partir de ATP. Outra forma de ação da proteína G é ativar a fosfolipase C (PLC), elevando os níveis celulares de Ca^{2+} . Tanto Ca^{2+} como cAMP são chamados de segundo mensageiros, capazes de desencadear cascatas de sinalização que levarão a alterações na condutância dos canais iônicos acoplados.

Atividade em software 10 - Segundos mensageiros

<http://bcs.whfreeman.com/lodish5e/>

(Cap.13 Signaling at the Cell Surface: Second Messengers in Signaling Pathways→
prot.G→PKC)

Estudo dirigido 11.1 – Atividade em software 7

1. Como o sinal é recebido apenas pelas células alvo?
2. Quais são os três “segundo-mensageiros” na via de sinalização celular descritos na animação?
3. Por que DAG permanece ancorado na membrana enquanto IP3 se desloca no citoplasma celular?

Atividade em software 11 - Proteína G

<http://bcs.whfreeman.com/lodish5e/>
(Cap.13- Animations: Extracellular Signaling → prot.G → PKA)

Estudo dirigido 11.2 – Animação 8

1. Qual é o segundo-mensageiro nesta animação?
2. Nas duas animações, o receptor está imerso na membrana celular; seria possível um receptor de sinal extracelular estar localizado em outra região da célula?
3. Por que células diferentes podem responder de forma distinta a um mesmo sinal extracelular?

Acetilcolina (ACh)

A firmeza da pele depende de efeitos variados e combinados, tanto de forças extrínsecas quanto intrínsecas. É sabido que o aumento da firmeza da pele poderia ser causado por uma modulação da contração do músculo liso da derme ou por um aumento da contratilidade e adesão de outras células dermais e epidermais. A acetilcolina, sua precursora colina (Figura 11.1) e um análogo sintético da colina, DMAE, poderiam ser bons candidatos para este efeito.

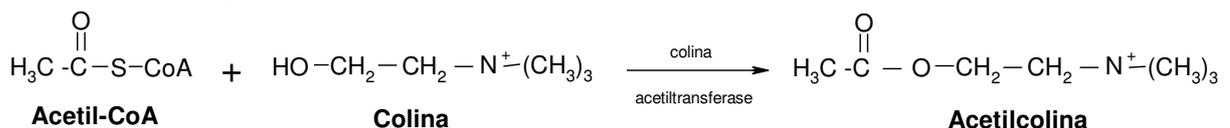


Figura 11.1 - Acetilcolina é sintetizada a partir de acetil coenzima A e colina em uma reação catalisada pela colina acil transferase.

A acetilcolina é um neurotransmissor clássico que age em sinapses denominadas colinérgicas. Os receptores de acetilcolina que causam resposta excitatória com duração

curta (milissegundos) são denominados “receptores nicotínicos de acetilcolina”. Estes receptores são acoplados a canais de Na^+ e K^+ . Existem ainda os “receptores muscarínicos de acetilcolina”. Estes se encontram acoplados a proteínas G, podendo induzir respostas diferentes, excitatórias ou inibitórias, dependendo do tipo celular. A resposta desencadeada por estes receptores é mais lenta e duradoura (Figura 11.2). A ACh é liberada por neurônios motores na sinapse com células musculares, a junção neuromuscular.

Após a liberação do neurotransmissor ou neuropeptídeo, este deve ser removido e destruído para evitar o estímulo se perpetue. Há três maneiras terminar a sinalização: difusão para fora da fenda sináptica; ser retirado pelo neurônio pré-sináptico ou ser degradado enzimaticamente. No caso de acetilcolina e neuropeptídeos, ocorre a degradação enzimática, diferindo da maioria dos outros neurotransmissores, que são reabsorvidos pelo neurônio pré-sináptico. A acetilcolina é degradada pela acetilcolinesterase (AChE), uma enzima com elevada capacidade catalítica, concentrada na fenda sináptica, capaz de degradar ACh em colina e acetato. O terminal nervoso colinérgico tipicamente apresenta alta afinidade por Na^+ -colina, garantindo a ressíntese do neurotransmissor.

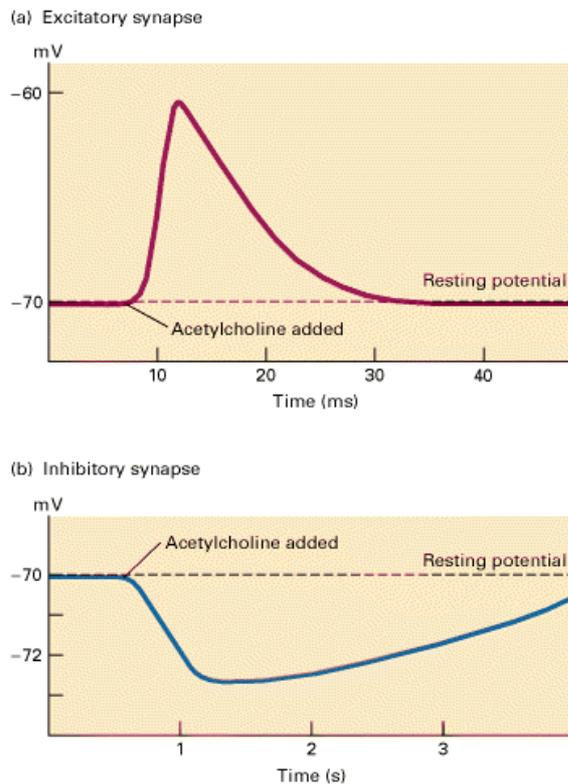


Figura 11.2 - Resposta excitatória de células pós-sinápticas estimuladas por acetilcolina. a) A aplicação de acetilcolina (ou nicotina) em músculo esquelético de sapo produz, na célula pós-sináptica, a despolarização rápida de 10mV por 20ms. Os receptores nicotínicos de acetilcolina nestas células são acoplados a canais catiônicos, que são abertos permitindo a passagem de Na^+ e K^+ . b) A aplicação de acetilcolina (ou muscarina) ao músculo cardíaco de sapo induz resposta após um período de cerca de 40ms (não visível no gráfico). A hiperpolarização de 2 a 3 mV dura vários segundos. Estas células contêm receptores muscarínicos de acetilcolina, que são acoplados via a proteína G a canais de K^+ . Repare que a escala é diferente entre os dois gráficos. [H. C. Hartzell, 1981, *Nature* 291:539.]

DMAE

DMAE é a sigla usada para o 2-dimetilaminoetanol ou deanol (Figura 11.3), uma molécula pequena capaz de penetrar com facilidade a pele. Apresenta-se na forma de líquido viscoso com um forte odor característico das aminas. Na natureza, é encontrada em grandes quantidades em peixes como anchovas e salmão e em pequenas quantidades no cérebro humano.

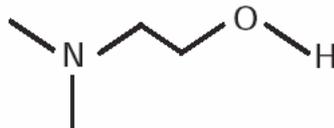


Figura 11.3 - Estrutura química do 2-dimetilaminoetanol

O DMAE, como a colina (precursor biológico da acetilcolina), pode aumentar os níveis de acetilcolina. Entretanto, nem todos os estudos confirmam que DMAE serve como um precursor da acetilcolina.

O mecanismo de ação de DMAE na pele ainda não está esclarecido. Já foram descritos receptores muscarínicos de acetilcolina em queratinócitos, melanócitos e fibroblastos da derme; os receptores nicotínicos já foram descritos em queratinócitos. O papel de acetilcolina, e DMAE, como modulador das funções de acetilcolina na pele ainda devem ser melhor estudados. Os benefícios de DMAE podem incluir o potencial anti-inflamatório, bem como aumento da firmeza da pele, possivelmente devido ao aumento do tônus muscular facial.

Acredita-se que o DMAE aplicado topicamente aumente a produção e liberação de acetilcolina na fenda neuromuscular e, desta forma, tenha uma amplificação efetiva no tônus muscular (efeito *lifting*). A ação de DMAE é rápida, iniciando-se alguns minutos após a aplicação. Um estudo duplo-cego realizado em 38 pacientes concluiu que DMAE pode aumentar a firmeza da pele, porém seu mecanismo de ação continua incerto.

Efeito "Cinderela" de DMAE

O chamado efeito "Cinderela" é um resultado que pode ser percebido em 30 a 60 minutos após a aplicação. Com o uso continuado os resultados tornam-se duradouros, dando firmeza à pele e melhorando aspectos do envelhecimento cutâneo.

Após 3 a 6 meses de uso, podem ser percebidas melhoras significativas na flacidez da região das sobrelhas, rugosidade da pele, flacidez da região dos olhos e das pálpebras. Há melhora na elasticidade e firmeza da pele do rosto e do pescoço que, entretanto, não são definitivos.

Estudo dirigido 11.3 – DMAE

1. Quais as diferenças entre os receptores muscarínicos e nicotínicos quanto à:
 - a) transmissão do sinal?
 - b) velocidade de resposta?
2. Qual a relação entre receptores de canais iônicos ou acoplados à proteína G e respostas inibitórias e excitatórias?

Questões 11.1

1. O DMAE é conhecido por muitos como “botox em creme”. Você concorda com esta afirmação?
2. Por que o DMAE exerce um efeito tão efêmero na pele, o conhecido “efeito Cinderela”?
3. Qual seria a vantagem de um mesmo ligante (acetilcolina) ligar-se a diferentes tipos de receptores, com respostas distintas em diversos tipos celulares?
4. O que você diria de um cosmético que, ao invés de usar um precursor de acetilcolina, faça uso de um inibidor da enzima responsável pela degradação da acetilcolina, a acetilcolinesterase?
5. Os organofosfatos são drogas que interagem com enzimas colinérgicas. Difetil tricloretano (DTT) foi inicialmente desenvolvido como inseticida. Outro representante do grupo é o gás “sarin”, usado alguns anos atrás por terroristas no metrô de Tóquio. Organofosfatos podem ser letais para insetos mas também para mamíferos, uma vez que inibem a acetilcolinesterase (AChE), levando ao acúmulo de acetilcolina (ACh) na região da sinapse. Qual deve ser a resposta fisiológica de pessoas submetidas a estes compostos?

Referências

Grossman R. 2005. The role of dimethylaminoethanol in cosmetic dermatology. *Am J Clin Dermatol.*;6 (1):39-47.

Haubrich DR, Gerber NH, Pflueger AB. 1981. Deanol affects choline metabolism in peripheral tissues of mice. *J. Neurochem.*, 37: 476-482.

Jope RS, Jenden DJ. 1979. Dimethylaminoethanol (deanol) metabolism in rat brain and its effect on acetylcholine synthesis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 211: 472-479.

Molecular Cell Biology. 4th ed. Lodish, Harvey; Berk, Arnold; Zipursky, S. Lawrence; Matsudaira, Paul; Baltimore, David; Darnell, James E. New York: W.H. Freeman & Co.: c11999

Uhoda I, Faska N, Robert C, Cauwenbergh G, Pierard GE.. 2002. Split face study on the cutaneous tensile effect of 2-dimethylaminoethanol (deanol) gel. *Skin Research and Technology*, 8:164-167.

Zahniser NR, Chou D, Hanin I. Is 2-dimethylaminoethanol (deanol) indeed a precursor of brain acetylcholine? A gas chromatographic evaluation. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 200:545-59.

12. Apêndices

Apêndice I - Chemistry of the Maillard reaction

An outline of the Maillard reaction is given in Figure 1. Maillard reactions have three basic phases. The initial reaction is the condensation of the carbonyl group of a reducing sugar (aldose) with a free amino group of a protein or an amino acid, which loses a molecule of water to form N-substituted glycosylamine (Step A). This is unstable and undergoes the "Amadori rearrangement" to form "1-amino-1-deoxy-2-ketoses" (known as "ketosamines") (step B). The ketosamine products of the Amadori rearrangement can then react three ways in the second phase. One is simply further dehydration (loss of two water molecules) into reductones & dehydro reductones (step C). These are essentially "caramel" products and in their reduced state are powerful antioxidants. A second is the production of short chain hydrolytic fission products such as diacetyl, acetol, pyruvaldehyde, etc (step D). These then undergo "Strecker degradation" with amino acids to aldehydes (step E) and by condensation to aldols, or they may react in the absence of amino compounds, to give aldols and high molecular weight, nitrogen-free polymers (step F). A third path is the Schiff's base/furfural path. This involves the loss of 3 water molecules (step C), then a reaction with amino acids and water. All these products react further with amino acids in the third phase to form the brown nitrogenous polymers and copolymers called **melanoidins** (step G). These can be off flavours (bitter), off aromas (burnt, onion, solvent, rancid, sweaty, cabbage) or positive aromas (malty, bread crust-like, caramel, coffee, roasted). Step H in Figure 1 illustrates a direct route to fission products from N-substituted glycosylamines, without the formation of an ARP (Amadori rearrangement product).

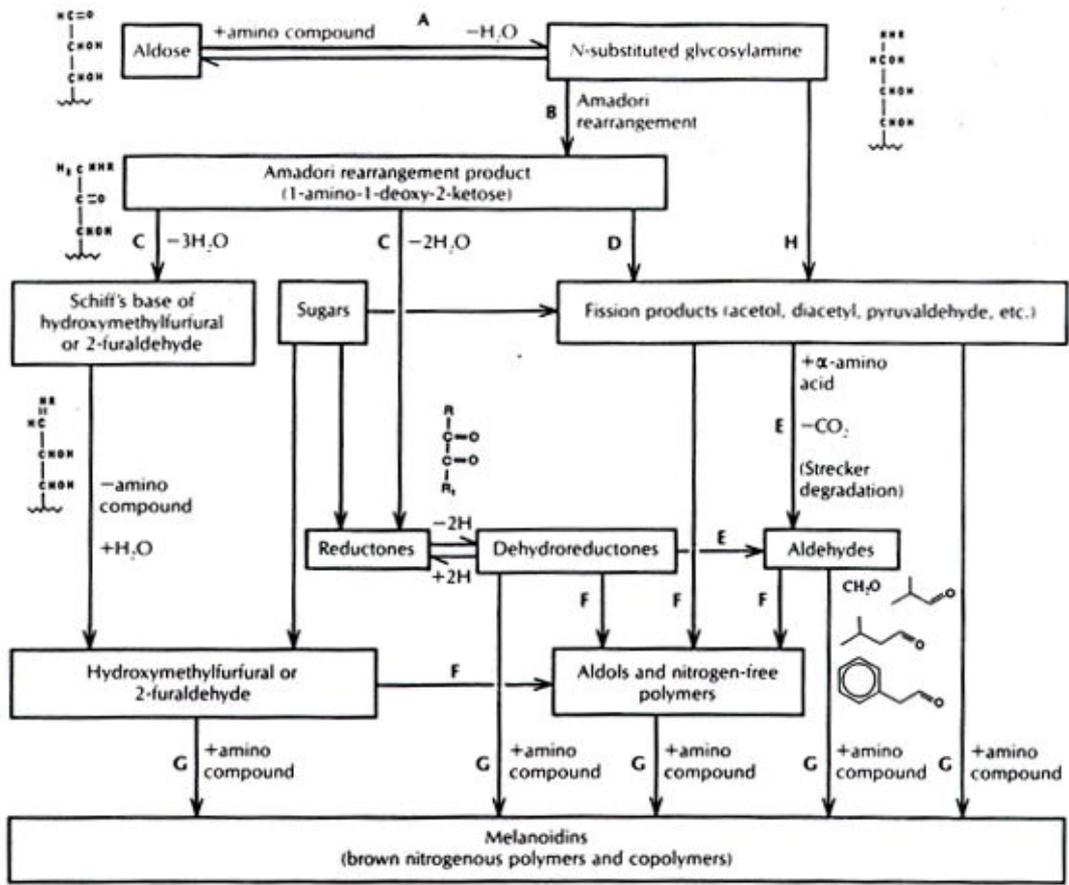


Figure 1: An outline of the Maillard reaction

Apêndice II - Efeitos do solvente e pH nas propriedades dos filtros químicos

O uso de diferentes solventes nas formulações cosméticas pode influenciar profundamente a efetividade dos filtros químicos. As mudanças no espectro de absorção no UV dependerão do grau de solvatação da molécula no seu estado fundamental ou excitado.

A solvatação de filtros polares como o PABA com solventes polares como a água ou etanol estabiliza o estado fundamental através da formação de pontes de hidrogênio e inibe, portanto, o deslocamento de elétrons para a formação do estado excitado. É necessária, portanto, uma quantidade de energia maior para excitar a molécula e o resultado disso é um deslocamento hipsocrômico (deslocamento para comprimentos de onda mais baixos). Para os filtros menos polares como o octil-dimetil PABA, a interação soluto-solvente é diferente, pois o estado excitado é mais polar que o estado fundamental. Há, portanto, uma estabilização do estado excitado, diminuindo a energia requerida para a transição eletrônica. Este deslocamento para comprimentos de onda mais altos é chamado de efeito batocrômico.

Quanto ao pH, mudanças no espectro de absorção no UV podem ser observados. No caso de compostos ácidos em meio alcalino ($\text{pH} > 9$) ocorrerá a formação de ânions que tendem a aumentar o deslocamento de elétrons e, portanto, um efeito batocrômico será observado (Figura II.1-A). Em condições ácidas, ocorrerá a formação de cátions com aminas aromáticas. Um efeito hipsocrômico será observado visto que a protonação do par de elétrons com ácido desfavorecerá qualquer deslocamento de elétrons (Figura II.1-B).

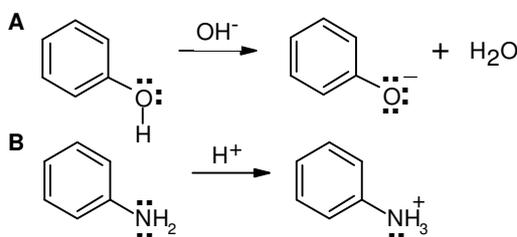


Figura II.1 – (A) Efeito batocrômico no fenol em meio básico; (B) Efeito hipsocrômico na anilina em meio ácido.

Apêndice III - Medicamentos para emagrecer

Muito se tem discutido a respeito das drogas utilizadas no tratamento da obesidade. Muitos especialistas são contra o uso de certas drogas, bem como alertam para o abuso que muitos indivíduos, ou mesmo profissionais, cometem na prescrição destes medicamentos.

Seguem abaixo algumas reportagens alertando sobre o uso de medicamentos para emagrecer.

Box 1

Especialista denuncia ação de médicos (por Adriana Gordon)

O especialista Elisaldo Carlini, professor-titular de psicofarmacologia da Universidade Federal de São Paulo e Diretor do Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (Cebrid), está denunciando os médicos brasileiros por receitar, cada vez mais e de forma indiscriminada, medicamentos com os princípios ativos dietilpropiona ou anfepromona, mazindol e femproporex, derivados das anfetaminas, para emagrecimento, com danos claros à saúde dos pacientes. Carlini denuncia ainda a existência de uma espécie de conluio entre farmácias de manipulação e alguns médicos, que indicariam aos seus pacientes o estabelecimento e receberiam uma comissão por receita preparada.

De acordo com Carlini, remédios como as anfetaminas podem causar alterações no sistema nervoso central, hipertensão, delírios e insônia, por isso devem ser utilizados com muita cautela e só depois de um exame mais preciso da situação física do paciente. Em casos como o de pacientes com obesidade mórbida, a utilização desse tipo de remédios pode se justificar, mas não a indicação indiscriminada para fins estéticos, afirma Carlini. Ele ainda lembra que os três princípios ativos mais utilizados na maioria desses medicamentos - anfepromona ou dietilpropiona, fenproporex e mazindol - acabam de ser proibidos na União Européia.

***Falta de ética** - O especialista da Universidade Federal de São Paulo afirma ainda que muitas receitas de medicamentos são preparadas em farmácias de manipulação, as chamadas farmácias magistrais, e acabam induzindo o usuário a acreditar que a fórmula é individualizada, personalizada. Para Carlini, trata-se de um procedimento enganoso.*

(...)

O especialista também denuncia a existência de uma espécie de conluio entre farmácias e alguns médicos, que indicariam aos seus pacientes o estabelecimento e receberiam uma comissão por receita preparada. Essa prática deve ser combatida, afirma o vice-presidente da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) Ricardo Meirelles. É considerada conduta anti-ética do médico prescrever remédio manipulado se ele já existe industrializado, que oferece maior segurança ao paciente, e o Código de Ética Médica condena o vínculo de um profissional a uma farmácia, completa Meirelles.

Segundo Carlini, para contrabalançar os efeitos como ansiedade nos medicamentos usados no emagrecimento, além de inibidor de apetite, são colocadas na fórmula drogas para relaxar, laxantes e diuréticos, o que deixa o paciente com a sensação de que está "murchando". Ou seja, para o paciente, o efeito desejado, de emagrecimento, parece ocorrer. Meirelles argumenta, entretanto, que a associação desses princípios ativos, classificados como anorexígenos, com outros na mesma formulação é proibida.

***Estética x saúde** - A endocrinologista Ana Maria Charf também critica o uso de medicamentos como anfetaminas para emagrecimento. "Esses remédios são indicados a pacientes com obesidade mórbida, uma doença crônica, e não para melhoria estética", afirma Ana. A primeira providência do médico deve ser a de orientar o paciente com problemas de peso a modificar seus hábitos de vida, adotando uma dieta saudável e fazendo exercícios físicos.*

"Há grande procura nos consultórios médicos para tratamentos estéticos e os pacientes sempre querem perder peso para ontem", pondera Ana. Segundo o vice-presidente da SBEM, quando o medicamento é indicado com critério, não há problema, mas é preciso não descuidar, pois essas drogas atuam no sistema nervoso central.

Para Meirelles, "toda medicina é uma relação risco/benefício, e se uma pessoa precisa perder 30 quilos e tolera bem, poderá ter o medicamento receitado".

(...)

Reportagem publicada em 10/04/2001:
http://diarionet.terra.com.br/resposta_pagina_area.asp?codigo_noticia=2082

Box 2

Emagrecedores: perigo à vista

Estudo realizado por pesquisadores da Universidade de Brasília revela que substância utilizada em vários remédios para emagrecer no Brasil representa grave risco à saúde.

O Brasil é um dos países campeões no consumo de medicamentos auxiliares em dietas. Os remédios são facilmente adquiridos em farmácias e, na maioria das vezes, sem receita médica. O que muitos consumidores não sabem é que quase todos esses remédios contêm uma substância proibida em vários países, que pode causar hipertensão e infarto. O fato foi constatado pelo professor Otávio Nóbrega e pela professora Margô Karnikowski, ambos do Núcleo de Estudos em Saúde Pública (Nesp) da UnB, em parceria com o Instituto Brasileiro de Defesa ao Consumidor (Idec).

Segundo os pesquisadores, o uso de um análogo sintético do hormônio da tireóide, o tiratricol, em medicamentos para emagrecer deve ser proibido pelos órgãos responsáveis o mais rápido possível. Dessa forma, o resultado da pesquisa foi encaminhado ao Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor (DPDC) do Ministério da Justiça e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

O professor Otávio Nóbrega explica que o tiratricol pode até ajudar a emagrecer por ter funções que aceleram o metabolismo semelhantes às funções do hormônio tiroideano. Mas alerta: "O organismo já produz hormônios da tireóide naturalmente e não necessita do tiratricol. Ingerir uma substância semelhante resulta numa taxa elevada e causa a hipertireoidismo, entre outros males". Além disso, o professor afirma que a desnecessária aceleração das funções metabólicas faz com que o consumidor do tiratricol elimine na urina micronutrientes importantes à saúde. Alguns dos outros problemas causados pelo uso do tiratricol são: taquicardia, febre, náusea, vômito, diarreia, fraqueza e ataque cardíaco. Além disso, a substância possui efeito cumulativo podendo permanecer no organismo por até sete dias após a ingestão.

Os pesquisadores alertam para o fato de que não é apenas quem sofre de obesidade que está sujeito aos males do tiratricol. Segundo eles, a substância é encontrada também em muitos suplementos alimentares consumidos por fisiculturistas. Outro alerta é de que esses produtos são vendidos livremente pela Internet. "Esse fato exige da Anvisa uma atitude de maior controle", alerta Nóbrega.

EXCEÇÃO - *Embora o uso do tiratricol deva ser proibido nos compostos emagrecedores, existem casos em que a substância pode ser usada em busca de benefícios. "No câncer da tireóide, por exemplo, o uso do tiratricol pode reduzir os danos provocados pela doença", explica o professor, reforçando que a substância deve estar presentes em medicamentos de uso essencialmente hospitalar.*

Nóbrega reforça que a venda de remédios com tiratricol no Brasil deve ser proibida não pelo fato desse tipo de medicamento também estar proibido em outros países e sim pelo perigo que a substância apresenta. "Os benefícios conseguidos com o uso desses medicamentos são muito pequenos frente ao imenso risco que ele oferece", esclarece.

Reportagem publicada em:
<http://www.unb.br/acs/bcopauta/medicamentos1.htm>

DUPLA PERIGOSA (por Ana Cristina Reis)

Consulta marcada com Florentino Sierra em dezembro passado. Cheguei às 6h55m. Meia hora depois, fui chamada por uma assistente, que verificou meus dados (estivera na clínica há três anos) e me perguntou sobre hábitos alimentares e histórico familiar de doenças. Em outra sala, uma enfermeira tirou minhas medidas de peso e altura, com fita métrica, balança e adipômetro. Fui para a sala do médico, que mediu pressão e auscultou coração. Perguntou se eu tinha feito exame de sangue recentemente. Respondi que sim. Ele me encomendou uma bateria de exames, incluindo um novo de sangue. Mas me passou a receita, na hora. O tratamento incluiria creme redutor de gordura e comprimidos com centella asiática. Perguntou se desejava um redutor de apetite. Disse-lhe que sim. Ele deu a receita, indicou uma farmácia e se despediu.

O que diz a receita:

Três medicamentos. A receita indica o consumo de uma cápsula de cada, simultaneamente, às 8h, 12h, 15h, 18h.

O que diz o laudo:

O primeiro comprimido tinha cloridrato de femproporex, que inibe o apetite (anorexígeno de tipo anfetamina). O segundo tinha clordiazepóxido, um calmante (ansiolítico de tipo benzodiazepínico). E o terceiro era um composto de ervas como centella asiática, aloína e alcachofra somadas à vitamina B, a um tônico cardíaco (coenzima Q10) e a enzimas digestivas, como alfa-milase e sais biliares. Resolução do Conselho Federal de Medicina proíbe a prescrição simultânea de drogas anfetamínicas com benzodiazepínicos no mesmo comprimido. Mas a lei é omissa se as duas drogas estiverem em comprimidos diferentes, mesmo se ingeridos simultaneamente.

O que diz o médico:

"No caso da Ana, teoricamente não havia risco, mas medicina não é matemática. A portaria proíbe a mistura das substâncias no mesmo comprimido. Em pílulas diferentes, não. Neste caso é possível controlar a quantidade. Dar à paciente café com leite parece o mesmo que dar café e depois leite separado, mas a diferença é que, no segundo caso, se pode graduar a quantidade de café e de leite. Eu tomo os dois comprimidos ao mesmo tempo quando quero emagrecer".

O que diz a farmácia:

Elisabeth Furtado Junger, responsável técnica da Skinbel, diz que não há problemas em manipular comprimidos diferentes de femproporex e clordiazepóxido: - Segui a prescrição médica, que é soberana. Se as duas substâncias estivessem misturadas, o que é proibido, não teria feito o remédio e entraria em contato com o médico.

Relato retirado de:
http://acd.ufrj.br/consumo/leituras/lm_og00abr_09.htm

Cada vez mais cedo

Dobra a dependência das drogas entre usuários com menos de 18 anos. As mulheres também disparam nesta estatística, principalmente por causa do uso de remédios contra depressão e medicamentos para emagrecer rápido. O levantamento é do Departamento de Narcóticos do Estado (Denarc).

(...)

A pesquisa faz ainda outra constatação preocupante: o crescimento no total de mulheres que se tornam dependentes de várias drogas ao mesmo tempo. "Entre as mulheres, esse uso é maior em função de alguns problemas da nossa cultura, que dá prioridade à estética e que acha que qualquer depressão tem que ser tratada com remédio", prossegue Luchiari.

Os dependentes químicos fizeram parte da pesquisa procuraram o Denarc por vontade própria ou por pressão dos parentes. Mas o que, ou quem os levou a pedir ajuda é o que menos importa. O que interessa é conseguir ajudar.

(...)

Reportagem publicada em 11/03/2004:

<http://redeglobo6.globo.com/Sptv/0,19125,VSE0-2900-20040311-45304,00.html>

É comum que uma pessoa que deseja emagrecer procure a farmácia em busca de uma solução rápida, como se tomar determinado "remédio" fosse o necessário para alcançar o seu peso ideal achando que, se deu certo com um "colega" dará também consigo. Porém, por trás dessa ilusória rápida perda de peso, escondem-se efeitos colaterais e insucesso.

É claro hoje entre os especialistas, e várias pesquisas já mostraram isso, que somente o uso de drogas para emagrecer não é suficiente para uma perda de peso permanente, saudável e eficiente. A obesidade é multifatorial e num plano para perda de peso devem estar envolvidas mudanças nos hábitos alimentares, atividades físicas e uma equipe de apoio (médicos e nutricionistas).

Por outro lado, já está bem estabelecido que em indivíduos muito obesos, com complicações de saúde, há uma forte indicação para o uso de drogas para a perda de peso. Somente os médicos podem prescrever alguma droga para um indivíduo obeso, fundamentando a sua escolha em rígidos critérios clínicos para a definição correta de qual medicamento usar, bem como qual paciente deve ou não se beneficiar desse tipo de tratamento, baseando sua decisão em evidências científicas comprovadamente seguras.

O tratamento farmacológico da obesidade está indicado quando o paciente tem um índice de massa corporal (IMC, calculado pela divisão do peso em kg, pelo produto da altura em m²) maior que 30 ou quando o indivíduo tem doenças associadas ao excesso de peso com IMC superior a 25 em situações nas quais o tratamento com dieta, exercício ou aumento de atividade física e modificações comportamentais provou ser infrutífero.

Fármacos para tratamento da obesidade

Um fármaco para tratamento da obesidade deve possuir as seguintes características:

- ter seu efeito final sobre os tecidos adiposos e não sobre a água do corpo e/ou sobre os músculos;
- não ter efeitos colaterais importantes e ser bem tolerados (a curto e longo prazos);
- ser comprovado por estudos clínicos confiáveis, e ser aprovado pelas organizações competentes de cada país.

Os fármacos mais comuns são aqueles que têm ação no sistema nervoso central. Modificações da estrutura química da anfetamina (α -metil- β -fenetilamina) levaram à síntese de uma gama de compostos com ações e respostas farmacológicas variadas. Num pólo situam-se derivados β -fenetilamínicos que influenciam a neurotransmissão noradrenérgica e dopaminérgica (podendo agir estimulando a liberação e/ou bloqueando a recaptação), como dietilpropiona e fentermina, que estimulam a liberação de noradrenalina da terminação nervosa aumentando a quantidade desta que interage com receptores pós-sinápticos. No pólo oposto encontram-se as substâncias que afetam a liberação e recaptação de serotonina, como a dexfenfluramina e seu isômero levógiro, a *l*-fenfluramina ou fenfluramina. No meio, situa-se a sibutramina, que bloqueia a recaptação de noradrenalina e serotonina. Na Tabela III.1 estão apresentadas as drogas mais comuns e seus respectivos nomes comerciais.

Tabela III.1 – Moderadores do apetite.

Substância	Nome comercial*
Fentermina	Ionamin [®] , Adipex [®] , Fastin [®] , Banobese [®] , Obenix [®] , Zantril [®]
Fenproporex	Desobesi-M [®] , Inobesin [®] , Lipomax AP [®]
Anfepramona (dietilpropiona)	Dualid S [®] , Hipofagin [®] , Inibex [®] , Moderine [®] , Obesil [®]
Mazindol	Dasten [®] , Fagolipo [®] , Mazanor [®] , Sanorex [®]
Fenilpropanolamina	Accutrim [®] , Dexatrim [®]
Fenfluramina	Minifage AP [®] e Lipese AP [®]
DexFenfluramina	Isomeride [®] , Delgar [®] , Fluril [®] , Fatinil [®]
Sibutramina	Meridia [®] , Reductil [®] , Plenty [®]
Fluoxetina	Prozac [®]
Sertralina	Zoloft [®]

* No Brasil ou EUA.

Outro fármaco amplamente utilizado nos últimos tempos é o orlistat (Xenical[®]). Esta droga atua no lúmen intestinal inibindo a lipase gástrica e pancreática que é uma enzima necessária para a absorção de gordura. Causa esteatorréia (diarréia gordurosa), incontinência fecal, interfere na absorção das vitaminas A, D, E e K, necessitando de

suplementação alimentar. Para maiores informações, vide seção Xenical[®] que se encontra nesta apostila.

A leptina, hormônio secretado pelos adipócitos, reflete o conteúdo lipídico corporal, e é objeto de amplos estudos para sua utilização no emagrecimento. Trata-se de um hormônio que regula o apetite através de atuação no sistema nervoso central, bloqueando o neuropeptídeo Y (potente orexígeno) e o receptor de melanocortina-4, que também tem função estimulatória do apetite. Até o momento seu uso só é factível em animais.

A colecistocinina é conhecida como hormônio da saciedade por estimular a liberação de calcitonina e oxitocina, também inibidores do apetite, e diminuir o esvaziamento gástrico. Porém ainda é necessária a comprovação da eficiência dessa substância para a sua utilização no emagrecimento.

Além disso, outras substâncias para o tratamento da obesidade são prescritas irracionalmente associadas a um anorexígeno, como os ansiolíticos, diuréticos, hormônio do crescimento e hormônios tiroideanos.

O uso de qualquer medicamento pode levar a simples efeitos colaterais, suportáveis, e que não agridam seriamente a saúde do indivíduo, mas também podem ocasionar sérios efeitos, com prejuízo a saúde. Daí a necessidade da realização de estudos clínicos bem controlados e bem desenhados para a real comprovação da eficácia e da isenção de efeitos colaterais mais sérios.

Derivados β -fenetilamínicos e fenilpropanolamínicos

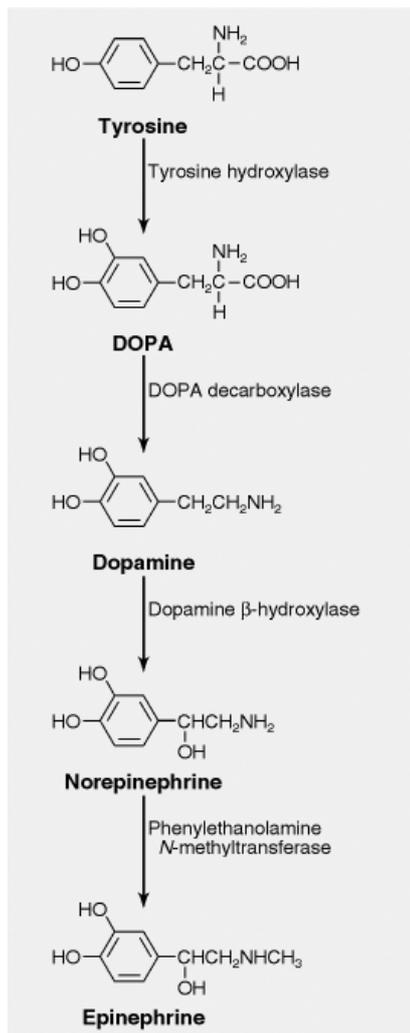


Figura III.1A - Biossíntese de catecolaminas

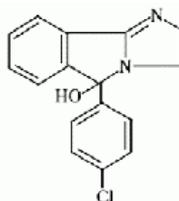


Figura III.1B - Estrutura molecular do mazindol

Como moderadores de apetite, para o tratamento da obesidade, os derivados da anfetamina não têm alcançado sucesso de modo geral, principalmente porque sua eficácia é muito curta e o risco de produzir dependência é muito grande. O efeito estimulante é seguido de depressão e ansiedade. Por isso, muitas vezes, estas drogas estão associadas irracionalmente a algum ansiolítico como os benzodiazepínicos (diazepam, bromazepam etc).

Todos os medicamentos anorexígenos de ação central, exceto o mazindol (Figura III.1B), são derivados da β -fenetilamina. O esqueleto β -fenetilamínico é também a estrutura dos neurotransmissores noradrenalina, adrenalina e dopamina (monoaminas). Estes compostos são formados a partir da fenilalanina e da tirosina. No fígado, a fenilalanina é convertida à tirosina numa reação catalisada pela fenilalanina hidroxilase. A tirosina é então transportada para os neurônios que secretam as catecolaminas. Esses neurotransmissores são então sintetizados a partir da tirosina em terminações nervosas, armazenado em grânulos e liberado na fenda sináptica para agir em receptores pós-gangliônicos. A via biossintética das catecolaminas está mostrada na Figura III.1A. Após agir nesses receptores, as monoaminas podem ser inativadas pela catecol-o-metiltransferase (CMT) ou monoamina oxidase (MAO) ou ser recaptadas pela terminação nervosa.

Os receptores adrenérgicos estão descritos no Box 2.

São observadas ações nos sistemas nervoso central e periférico e além do papel como neurotransmissores, a noradrenalina e a adrenalina exercem função importante no controle do metabolismo, aumentando a taxa de glicogenólise e de secreção de ácidos graxos.

Dados de farmacocinética, efeitos cardiovasculares, efeitos endócrinos e metabólicos, estudos clínicos e relatos de casos em humanos podem ser consultados na

Inibidores seletivos da recaptação da serotonina

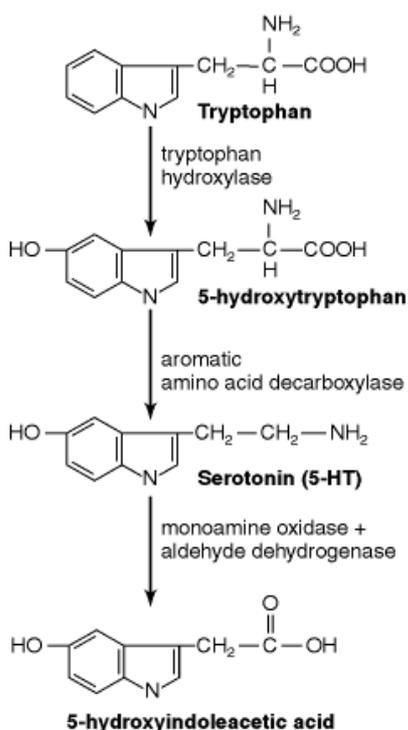


Figura III.2 - Biossíntese da serotonina.

A sibutramina inibe a recaptação da noradrenalina, da dopamina e da serotonina, central e periféricamente. Seus efeitos são semelhantes àqueles dos derivados anfetamínicos.

A fluoxetina e a sertralina são inibidores seletivos da recaptação de serotonina no terminal pré-sináptico, com indicação para tratamento de depressão e bulimia nervosa, mas sem indicação formal de uso no tratamento da obesidade. Tanto fluoxetina como sertralina reduzem a ingestão alimentar experimentalmente em animais.

O principal problema com a fluoxetina como agente anti-obesidade é a recuperação de peso observada em estudos a longo prazo. Em geral, após os primeiros seis meses de tratamento, o peso gradualmente se eleva, a despeito da continuação de uso da medicação. A utilização de fluoxetina no tratamento de obesidade esteve mais associada a sintomas gastrointestinais, distúrbios do sono, diminuição de libido, sudorese, tremor, amnésia e sede.

Inibidores seletivos da recaptação de serotonina não são, portanto, agentes anti-obesidade eficientes, embora seja indubitável o fato de que podem ser úteis em pacientes obesos depressivos ou com outras comorbidades onde esses anti-depressivos sejam tratamentos mais apropriados.

A 5-hidroxitriptamina (5-HT), também conhecida por serotonina, é formada pela hidroxilação e descarboxilação do triptofano (Figura III.2). As maiores concentrações de 5-HT no organismo estão na parede do intestino (cerca de 90%), no sangue e no sistema nervoso central.

No sistema nervoso central, os papéis já postulados da 5-HT incluem controle do apetite, do sono, do humor, alucinações, comportamento estereotipado, percepção da dor e vômitos.

A degradação da serotonina ocorre principalmente por meio de desaminação oxidativa catalisada pela monoamina oxidases (MAO), uma via idêntica ao catabolismo da noradrenalina (Figura III.2).

Os receptores serotoninérgicos estão descritos no Box 3.

Dados de farmacocinética, efeitos cardiovasculares, efeitos endócrinos e metabólicos, estudos clínicos e relatos de casos em humanos podem ser consultados na revisão Mancini MC, Halpern, A. Pharmacological Treatment of Obesity. Arq Bras Endocrinol Metab (2002), 46 (5):497-512.

Estudos em humanos avaliando o efeito termogênico

Geralmente, os medicamentos β -fenetilamínicos demonstram ação termogênica em estudos em animais. O mazindol (analisado neste texto junto com os medicamentos β -fenetilamínicos, embora não seja um derivado β -fenetilamínico) estimula o consumo de oxigênio (assim como a dietilpropiona) e aumenta a estimulação da noradrenalina na gordura marrom (assim como a anfetamina, a fenfluramina e a dexfenfluramina) em ratos. A sibutramina, que bloqueia a recaptação de noradrenalina e de serotonina, reduz a ingestão alimentar e também estimula a termogênese em tecido adiposo marrom em animais de experimentação.

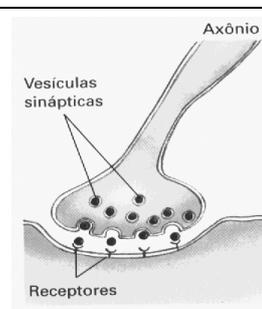
Vários estudos em animais demonstram uma ação termogênica de vários derivados β -fenetilamínicos e do mazindol. Os estudos em humanos já não são tão claros e as diferenças nos resultados obtidos costumam ser atribuídas à heterogeneidade dos pacientes obesos estudados.

A efedrina, que quimicamente pertence ao grupo das fenilpropanolaminas, estimula a liberação de noradrenalina. Algumas modificações em sua estrutura acarretam um aumento de sua ação periférica ao mesmo tempo em que reduzem a ação central sobre receptores adrenérgicos. Isso fez com que a efedrina demonstrasse potencial para tratamento da asma, e de fato, durante muitos anos, efedrina isoladamente ou a combinação de efedrina e teofilina foram tratamentos de primeira escolha para essa doença. A efedrina causa uma estimulação não seletiva do sistema nervoso simpático, atuando em receptores β -adrenérgicos (inclusive β_3), e gerando um aumento da termogênese.

A associação de efedrina com metilxantinas (como cafeína, teofilina e aminofilina) ou aspirina promove um aumento da duração da atividade da noradrenalina. A atividade da noradrenalina é diminuída pela adenosina e pelas prostaglandinas, que por sua vez sofrem inibição pela cafeína e pela aspirina. A inibição da fosfodiesterase pela cafeína parece ser o efeito mais importante, uma vez que essa enzima é responsável pela metabolização do AMP cíclico, e sua inibição aumenta ainda mais a atividade da noradrenalina.

Box 1 - O que são neurotransmissores?

Um neurotransmissor é definido como uma molécula sinalizadora extracelular que é liberada pelo neurônio pré-sináptico na sinapse química e que gera sinal no neurônio pós-sináptico. Um neurotransmissor pode gerar uma resposta excitatória ou inibitória. O tipo de resposta é determinado pelo receptor ao qual o neurotransmissor se liga. A acetilcolina, catecolaminas, serotonina, ácido γ -aminobutírico (GABA) são exemplos de neurotransmissores.



Box 2 - Receptores adrenérgicos

A principal classificação farmacológica subdivide os receptores nos subtipos α e β , baseados originalmente na ordem de potência dos agonistas e, posteriormente, em antagonistas seletivos. Pelo menos nove subtipos já foram descritos, porém existem dois subtipos principais de receptores α -adrenérgicos (α_1 e α_2) e três subtipos de receptores β -adrenérgicos (β_1 , β_2 e β_3). Foi demonstrado que todos têm uma estrutura semelhante e pertencem à superfamília dos receptores acoplados à proteína G com sete segmentos de α -hélice transmembranar (Figura III.3).

Receptores α_1 ativam a fosfolipase C e assim, produzem inositol-trifosfato (IP_3) e diacilglicerol (DAG) como segundos mensageiros; os receptores α_2 inibem a adenilato ciclase e, assim reduzem a formação de AMP cíclico (cAMP); todos os tipos de receptor β estimulam a adenilato ciclase e, assim aumentam a formação de cAMP (Figura III.3).

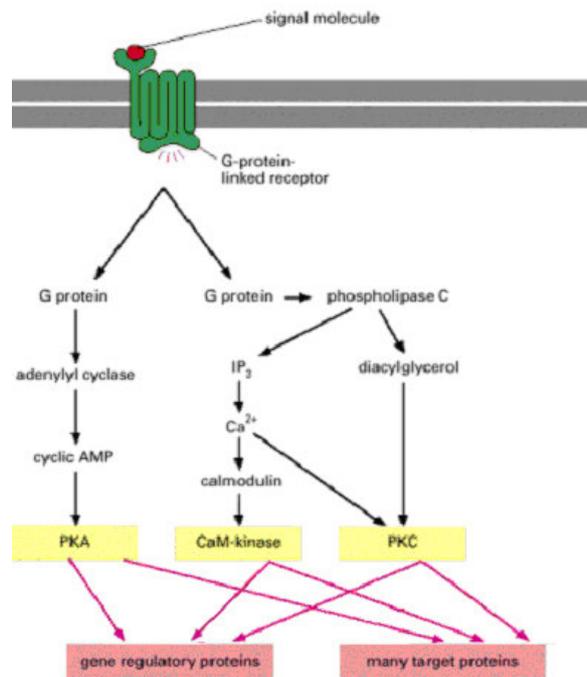


Figura III.3 - Vias de sinalização intracelular ativadas por receptores acoplados à proteína G (PKA, proteína quinase dependente de cAMP; PKC, proteína quinase dependente de Ca^{2+}).

A distinção entre os receptores β_1 e β_2 é importante, pois os receptores β_1 são encontrados principalmente no coração, onde são responsáveis pelos efeitos inotrópicos e cronotrópicos positivos das catecolaminas (aumento da força de contração e aumento da frequência cardíaca, respectivamente) e os receptores β_2 , por outro lado são responsáveis pela geração de relaxamento da musculatura lisa em muitos órgãos. Esforços consideráveis estão sendo empreendidos para identificar agonistas seletivos para os receptores β_2 , que relaxariam a musculatura lisa sem afetarem o coração e antagonistas seletivos para os receptores β_1 , que exerceriam um efeito bloqueador útil no coração sem, simultaneamente, bloquearem os receptores β_2 da musculatura lisa brônquica.

Os principais efeitos da ativação dos receptores são:

- Receptores α_1 : vasoconstrição, relaxamento da musculatura lisa gastrointestinal, secreção salivar e glicogenólise hepática.
- Receptores α_2 : inibição da liberação dos transmissores, agregação plaquetária, contração da musculatura lisa vascular.
- Receptores β_1 : aumento da frequência e da força cardíacas, relaxamento da musculatura lisa gastrointestinal.
- Receptores β_2 : broncodilatação, vasodilatação, relaxamento da musculatura lisa visceral, glicogenólise hepática, tremor muscular.
- Receptores β_3 : lipólise.

Box 3 - Receptores serotoninérgicos

Até hoje, já foram descritos 14 subtipos de receptores serotoninérgicos. As subfamílias 5-HT1, 5-HT2, 5-HT4, 5-HT5, 5-HT6 e 5-HT7 são acoplados à proteína G e o 5-HT3 é um canal catiônico (Tabela 2).

Tabela 2 - Mecanismo de ação da 5-HT.

Sub-família de receptores de 5-HT	Mecanismo efetor
5-HT1(A,D α , D β , E, F)	Inibição da adenilato ciclase
5-HT2 (A, B, C)	Ativação da fosfolipase C-fosfato de inositol
5-HT3	Canal catiônico (Na ⁺ /K ⁺)
5-HT4	Ativação da adenilato ciclase
5-HT5 (A, B)	Inibição da adenilato ciclase
5-HT6	Ativação da adenilato ciclase
5-HT7	Ativação da adenilato ciclase

O desenvolvimento de agonistas e antagonistas e os estudos envolvendo animais nocauteados para estes receptores auxiliam no entendimento do papel da serotonina na regulação do comportamento da alimentação e além disso, podem levar ao desenvolvimento de novos ligantes seguros para o tratamento da obesidade (Figura III.4).

Um exemplo de um efeito colateral sério após o uso de drogas para emagrecer, foi o que ocorreu com a combinação "fen-fen" (fentermina+fenfluramina, comercializados como Pondimin[®] e Redux[®]). Em 1997, um grupo de pesquisadores da Clínica Mayo, relatou 24 casos de mulheres que haviam desenvolvido uma doença nas válvulas cardíacas após a utilização dessa combinação. A partir de então, o FDA (*Food and Drug Administration*) recebeu várias notificações de novos casos, inclusive de pacientes que só usaram fenfluramina ou dexfenfluramina. Então, os laboratórios responsáveis retiraram o medicamento do mercado, e iniciaram uma extensa pesquisa sobre esse grave efeito colateral. Alguns estudos mostraram que não há evidência de efeitos colaterais do tipo infarto do miocárdio, miocardiopatia e alguns tipos de doenças valvulares, mas comprovaram que realmente há uma maior incidência de regurgitação aórtica devido ao

comprometimento da válvula cardíaca aórtica. Recentemente, os laboratórios envolvidos pagaram \$3,75 bilhões de dólares em indenizações aos milhares de consumidores que utilizaram essas medicações. É recomendado aos pacientes, que fizeram uso destas medicações, que procurem um médico para fazerem um "check-up" para excluir qualquer possibilidade de seqüelas, apesar de ser pequeno o número de pacientes afetados.

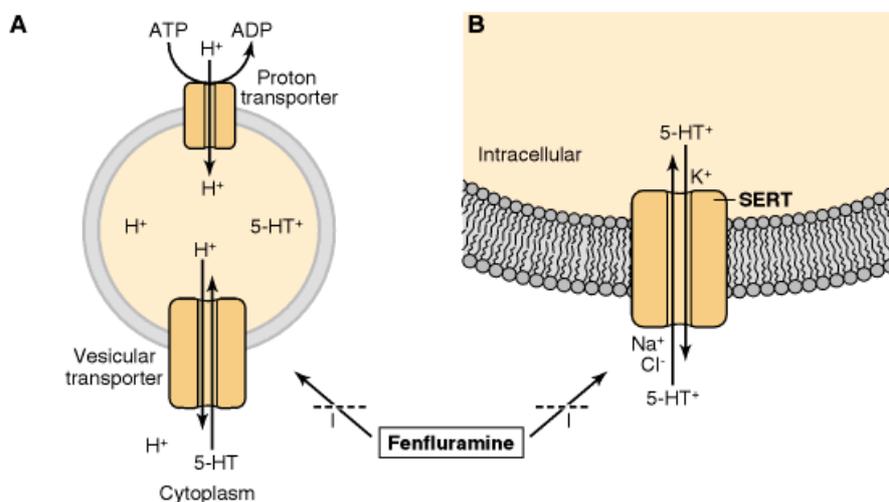


Figura III.4 - A fenfluramina inibe o transporte de 5-HT através do (A) transportador vesicular e do (B) transportador de serotonina. As anfetaminas substituídas como a fenfluramina e 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), estimulam a liberação de 5-HT dos terminais serotoninérgicos, aumentando assim o tempo de permanência e consequentemente seu efeito, como por exemplo, a inibição do apetite.

Referências (Apêndices)

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. New York: Garland Publishing; 2002.

Haddock CK, Poston WSC, Dill PL, Foreyt JP, Ericsson M. Pharmacotherapy for obesity: a quantitative analysis of four decades of published randomized clinical trials. International Journal of Obesity (2002), 26:262–73.

Linné Y, Rössner S. Phamacotherapy of obesity. Clinics in Dermatology (2004), 22:319–24

Mancini MC, Halpern, A. Pharmacological Treatment of Obesity. Arq Bras Endocrinol Metab (2002), 46 (5):497-512.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Farmacologia. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD. Basic Neurochemistry. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 1999.

Vickers SP, Dourish CT. Serotonin receptor ligands and the treatment of obesity. *Curr Opin Investig Drugs* (2004), 5(4):377-88

<http://www.sbem.org.br>

<http://www.cfm.org.br>

<http://www.pgr.mpf.gov.br/pgr/saude/nutricao/medicamentoriscos.htm>

<http://www.weight-loss-i.com/weight-loss-drugs.htm>

http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/colour/3_82.htm (reação de Maillard)

13. Figuras coloridas

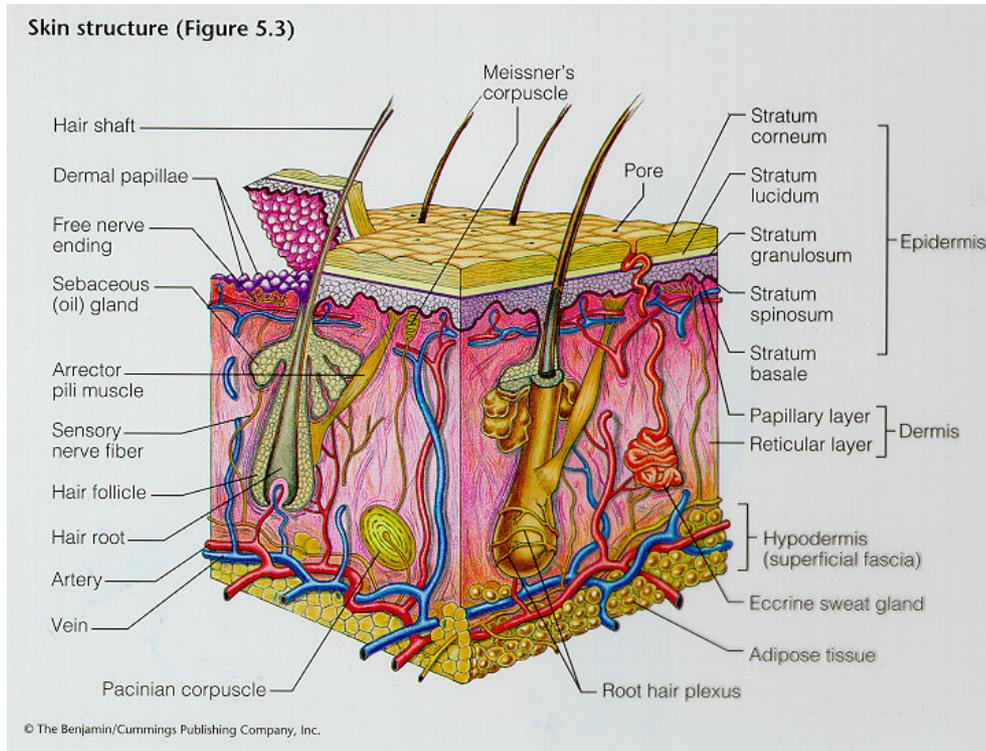


Figura 3.1 - Estrutura histológica da pele.

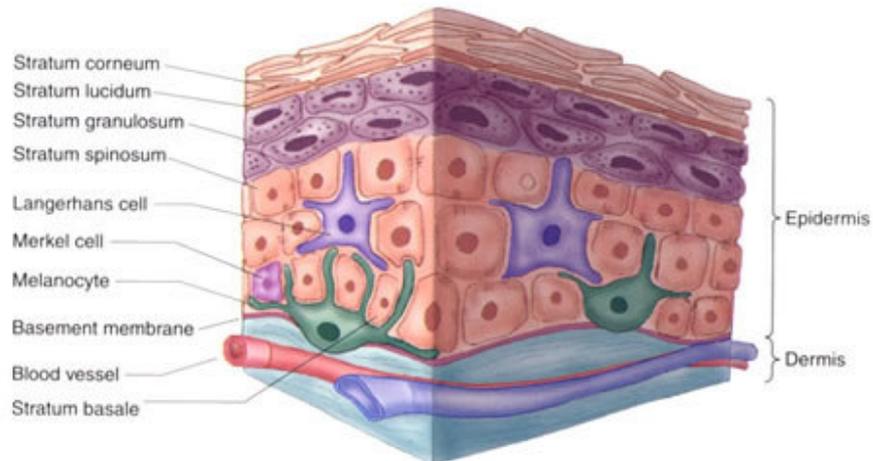


Figura 5.1 - Estrutura da pele mostrando as diversas camadas da derme e epiderme.

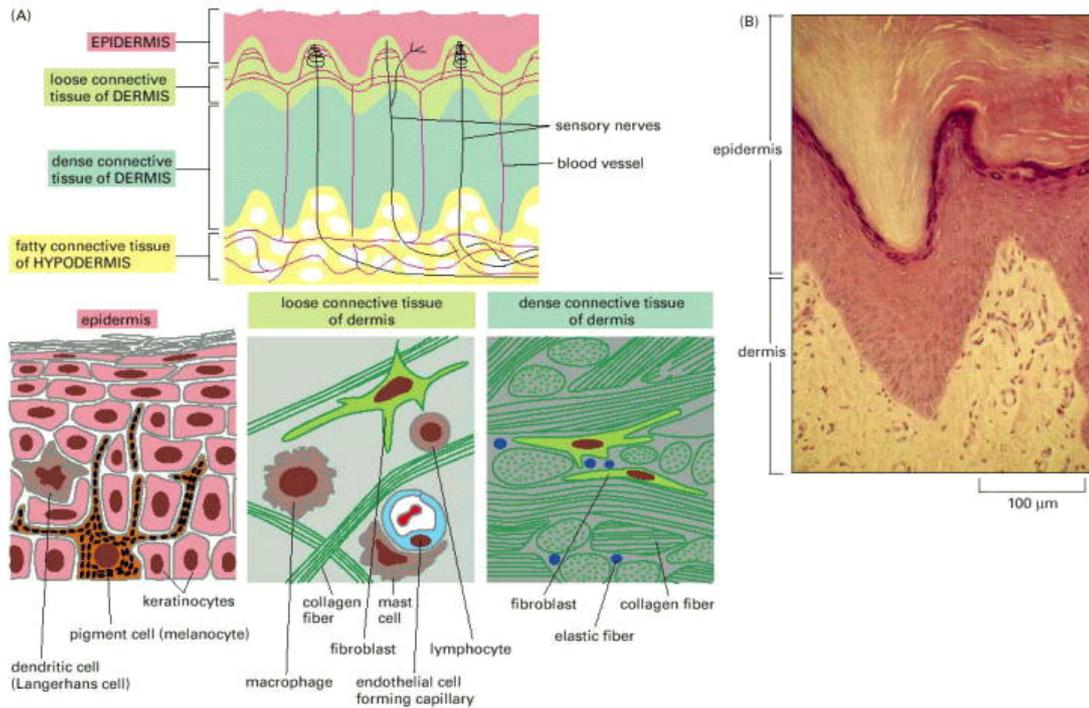


Figura 5.2 - Pele espessa de mamíferos. (A) Estes diagramas mostram a arquitetura da pele. (B) Micrografia de uma seção transversal da sola de um pé humano, corado com hematoxilina e eosina. A pele pode ser vista como um grande órgão composto de dois tecidos principais: a epiderme e o tecido conectivo que fica abaixo da epiderme, o qual consiste da derme e hipoderme. Cada tecido é composto de vários tipos celulares. A derme e a hipoderme são ricamente irrigadas com vasos sanguíneos e nervos. Algumas fibras nervosas se estendem até a epiderme.

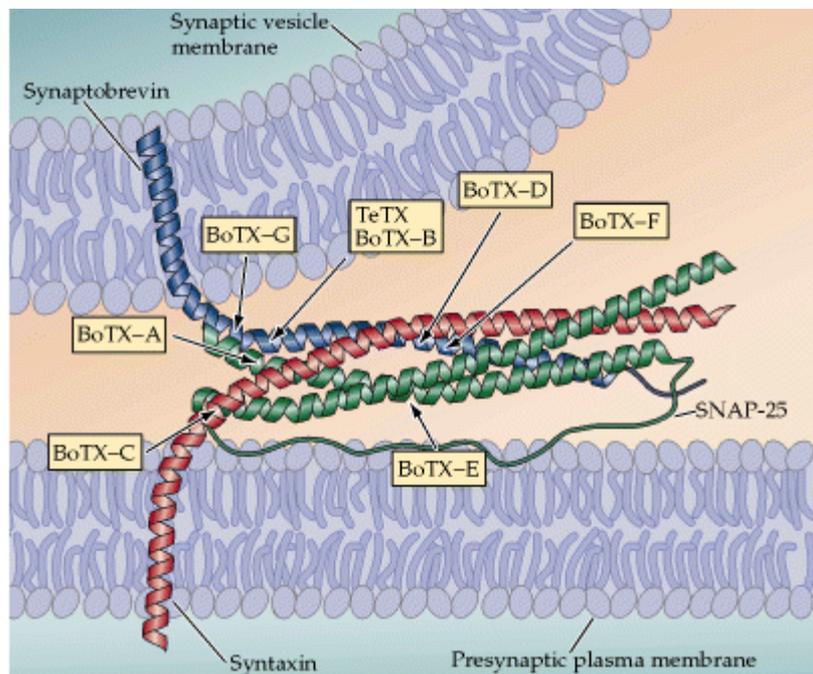


Figura 10.6 - Sítios de proteólise para cada um dos tipos de toxina botulínica.

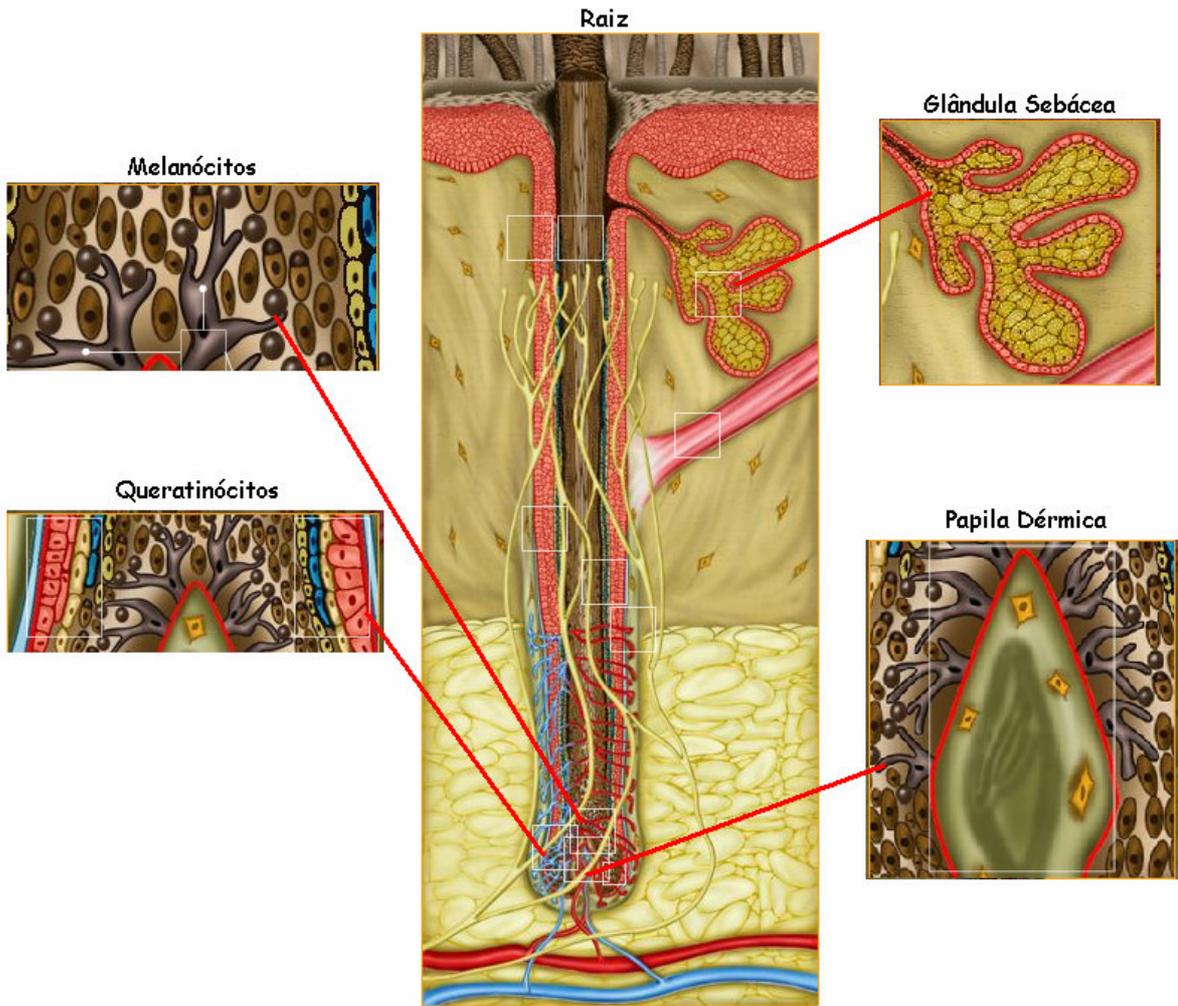


Figura 3.2 - Ilustração da raiz de um fio de cabelo. O esquema mostra em detalhes seus principais componentes.

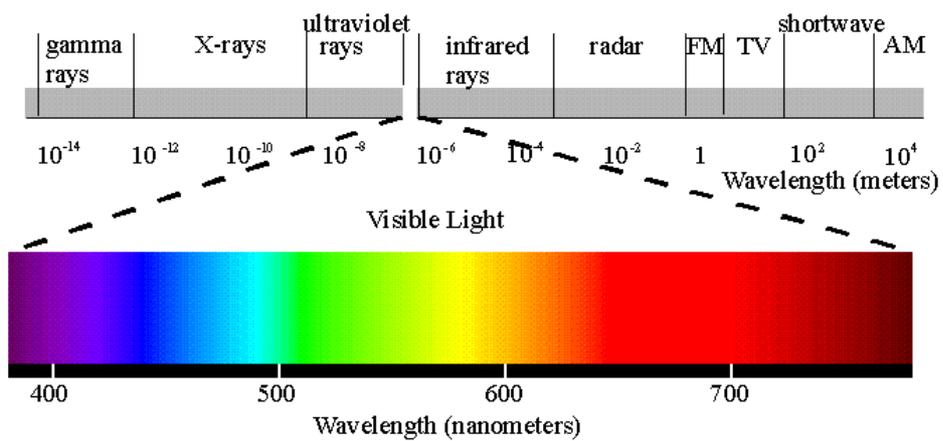


Figura 6.1 - Espectro da radiação eletromagnética.