

# 35 BIODISPONIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALIMENTOS

*Maria Aderuza Horst*

*Franco Maria Lajolo*

## 1 INTRODUÇÃO

A dieta habitual fornece, além dos macro e micronutrientes essenciais, alguns compostos químicos, presentes, em sua maioria, em frutas e hortaliças, que exercem uma potente atividade biológica, já comprovada por vários pesquisadores. Esses compostos são chamados de compostos bioativos ou, algumas vezes, de fitoquímicos e podem desempenhar diversos papéis em benefício da saúde humana<sup>4</sup>.

O estudo desses compostos bioativos de alimentos inspirou o conceito de alimentos funcionais. O termo alimento funcional originou-se no Japão em 1980, quando foi utilizado pela indústria para descrever alimentos fortificados com ingredientes específicos, inferindo-lhes certos benefícios à saúde. Compostos bioativos são constituintes extranutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos. O interesse neles cresce a cada ano. Estudos epidemiológicos, que abordam principalmente uma dieta rica em alimentos de origem vegetal, apresentam resultados interessantes, sugerindo que esses alimentos são capazes de exercer influência na redução do risco do desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis, como cardiovasculares, cânceres, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e enfermidades inflamatórias<sup>4</sup>.

Uma ampla gama de compostos bioativos é evidenciada e estudada co-mo sendo a responsável pelos efeitos benéficos de uma dieta rica em frutas e hortaliças. Esses compostos variam extensamente em estrutura química e, conseqüentemente, na função biológica. Entretanto eles apresentam algumas características em comum: pertencem a alimentos do reino vegetal, são substâncias orgânicas e geralmente de baixo peso molecular, não são indispensáveis nem sintetizados pelo organismo humano e apresentam ação pro-tetora na saúde humana quando presentes na dieta em quantidades significativas.

Essas substâncias exercem várias ações do ponto de vista biológico, como atividade antioxidante, modulação de enzimas de detoxificação, estimulação do sistema imune, redução da agregação plaquetária, modulação do metabolismo hormonal, redução da pressão sangüínea, e atividade antibacteriana e antiviral<sup>4</sup>.

Os compostos bioativos são, em sua maioria, metabólitos secundários. Geralmente, estão relacionados com os sistemas de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta ou as agressões de insetos ou patógenos<sup>22</sup>. Como existem em grande número, eles podem ser subdivididos em grupos com milhares de compostos distintos. Algumas substâncias são próprias de alguma espécie ou gênero de plantas, outras são unidas por um complicado critério de classificação. A Figura 35.1 mostra um diagrama extraído da literatura recente sobre esse assunto<sup>4</sup>.

Um bioativo pode apresentar certa atividade biológica *in vitro* e, *in vivo*, esse composto pode não ser biodisponível, ou ser rapidamente metabolizado e excretado, tornando-se ineficaz. Uma abordagem completa sobre a atividade biológica dessas substâncias deve envolver o estudo da sua biodisponibilidade, englobando a absorção, distribuição, o metabolismo, tempo de meia vida efetiva, os mecanismos de ativação e inativação e a excreção do composto em questão. Certamente, somente uma pequena parte dos compostos bioativos foi adequadamente estudada desse ponto de vista.

## 2 MÉTODOS PARA O ESTUDO DA BIODISPONIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A quantidade de compostos bioativos presente nos alimentos não reflete necessariamente a quantidade absorvida e metabolizada pelo organismo. Assim, são necessárias a identificação e utilização de biomarcadores de exposição apropriados para o melhor entendimento dos principais processos individuais de biodisponibilidade desses compostos e de seus metabólitos.

O entendimento dos fatores que levam à liberação dos compostos da matriz do alimento, a extensão da absorção e o seu papel real no organismo são cruciais para determinação dos seus mecanismos de ação e da sua influência na promoção e manutenção da saúde humana.

Para a avaliação da biodisponibilidade dos compostos bioativos, alguns processos fisiológicos normais devem ser avaliados: a liberação, que torna um composto disponível para absorção, por liberá-lo da matriz do alimento (bioacessibilidade); a absorção, que compreende o movimento do composto do lúmen digestivo para a circulação sanguínea; a distribuição, processo no qual os compostos são difundidos ou transferidos do espaço intravascular para o extra vascular; o metabolismo, que é a conversão ou transformação química de um composto às suas respectivas formas mais eletrofílicas e, portanto, mais suscetíveis à última etapa, que é a excreção dos compostos não modificados ou de seus metabólitos conjugados, pelas vias renal, biliar ou pulmonar. O conjunto desses processos é designado por suas iniciais: LADME<sup>17</sup>.

Para o melhor entendimento desses processos e, conseqüentemente, da biodisponibilidade dos compostos bioativos, aqui eles serão apresentados em classes.

## 3 POLIFENÓIS

O termo polifenóis ou compostos fenólicos refere-se a um amplo e numeroso grupo de moléculas encontradas em hortaliças, frutas, cereais, chás, café, cacau, vinho, suco de frutas e soja. Nas plantas, eles exercem função de fotoproteção, defesa contra microorganismos e insetos, além de serem responsáveis pela pigmentação e por algumas características organolépticas dos alimentos. Os polifenóis apresentam uma estrutura química comum, derivada do benzeno, ligada a um grupo hidrofílico.

Com base em sua estrutura e na maneira pela qual os anéis poli-fenólicos ligam-se uns aos outros, eles são classificados em quatro famílias: flavonóides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos. Os polifenóis têm recebido muita atenção da comunidade científica por seus numerosos efeitos biológicos, como seqüestro de espécies radiculares de oxigênio, modulação da atividade de algumas enzimas específicas, inibição da proliferação celular, bem como seu potencial como agente antibiótico, antialergênico e antiinflamatório<sup>22</sup>.

### 3.1 Biodisponibilidade de polifenóis

As propriedades biológicas dos polifenóis dependem da sua biodisponibilidade. Uma evidência indireta de sua absorção pelo intestino é o aumento da capacidade antioxidante do plasma após o consumo de alimentos que contêm esses compostos. Porém a absorção é variável, pois os polifenóis apresentam uma considerável diversidade estrutural, que influencia em sua biodisponibilidade. Ácidos fenólicos são facilmente absorvidos pelo intestino. Entretanto alguns flavonóides que apresentam alto peso molecular, como as proantocianidinas, são pouco absorvidos. Estimativas mais precisas sobre a biodisponibilidade de alguns compostos polifenólicos podem ser obtidas pela concentração plasmática e urinária de metabólitos após a ingestão de compostos puros ou de gêneros alimentícios, sabidamente fontes do composto de interesse<sup>34</sup>.

É importante enfatizar que os polifenóis mais comuns na dieta humana não são os mais ativos biologicamente. Isso ocorre por razões como baixa atividade intrínseca, absorção intestinal reduzida ou rápida metabolização e excreção. Em adição, os metabólitos que são encontrados no sangue, em órgãos alvo ou como resultado da atividade digestiva e hepática, podem diferir das formas nativas das substâncias com relação à atividade biológica<sup>22</sup>.

A estrutura química dos polifenóis determina a extensão da sua absorção intestinal e a natureza dos metabólitos circulantes no plasma. As formas agliconas (livres de açúcar) podem ser diretamente absorvidas pelo intestino delgado. Entretanto muitos polifenóis estão presentes em alimentos na forma de ésteres e glicosídeos ou, ainda, polímeros que não podem ser absorvidos em sua forma nativa. Essas substâncias podem ser hidro-lisadas por enzimas intestinais ou pela microflora colônica antes de serem absorvidas<sup>33</sup>.

Durante o curso de absorção, os polifenóis podem ser conjugados no enterócito ou, mais tarde, no fígado. Esses processos de conjugação incluem metilação, sulfatação e glucoronidação (conjugação com o ácido glucurônico). Essas vias de conjugação são processos de detoxificação metabólica comuns a muitos xenobióticos, pois tornam os compostos mais hidro-fílicos, facilitando a sua excreção via bile ou urina<sup>36</sup>.

Os mecanismos de conjugação são altamente eficientes e, por essa razão, as formas agliconas livres estão geralmente ausentes ou em baixas concentrações no sangue após o consumo de polifenóis em doses nutricionais. As formas circulantes são derivados conjugados e apresentam-se extensivamente ligados à albumina<sup>22</sup>.

Após a absorção, os polifenóis conjugados podem ser secretados pela rota biliar no duodeno e seguir até o cólon, em que são submetidos à ação de enzimas bacterianas, especialmente a  $\beta$ -glucuronidase. Depois desse processo, eles podem ser reabsorvidos. Essa recuperação enterohepática pode levar a uma longa permanência de polifenóis no corpo<sup>22</sup>.

Os efeitos da matriz do alimento, na biodisponibilidade dos polifenóis, ainda não foram examinados em muitos detalhes. Interações diretas entre polifenóis e alguns componentes de alimentos, como ligações com proteínas e polissacarídeos, podem ocorrer e, conseqüentemente, interferir na absorção. Efeitos indiretos da dieta na fisiologia intestinal (pH, fermentação intestinal, excreção biliar, tempo de trânsito intestinal, entre outros) tam-bém são fatores relevantes na absorção dos polifenóis.

Uma metodologia eficiente para avaliação da absorção e metabolismo intestinal de polifenóis consiste em uma perfusão intestinal *in situ* no intestino delgado de ratos. A utilização dessa técnica permite a manipulação de parâmetros intestinais e biliares, que também podem ser utilizados na avaliação da biodisponibilidade de outros compostos bioativos<sup>36</sup>.

### 3.1.1 Ingestão dietética de polifenóis

Somente informações parciais são disponíveis sobre as quantidades de polifenóis consumidas diariamente no mundo. Estes dados podem ser obtidos por análise de várias agliconas presentes nos alimentos mais consumidos por humanos. Contudo, pesquisadores sugerem que a ingestão mínima total em um dia seja de 1g<sup>36</sup>. Os polifenóis mais comuns na dieta são os flavonóides, que correspondem a aproximadamente 1/3 da ingestão<sup>22</sup>.

Um estudo estimou que a ingestão dietética de flavonóides pela população brasileira é de 60 a 106 mg/dia<sup>1</sup>.

### 3.1.2 Absorção intestinal e metabolismo

O comportamento fisiológico dos polifenóis dietéticos depende de sua absorção intestinal e suas subseqüentes interações com tecidos alvo.

Não se sabe muito sobre os mecanismos de absorção gastrointestinal de polifenóis. Contudo, sabe-se que a maior parte dos polifenóis é hidrofílica o suficiente para ser absorvida por difusão passiva. Entretanto alguns outros mecanismos de permeação podem estar envolvidos, como os transportadores de membrana<sup>9</sup>. Esses mecanismos ainda não foram totalmente elucidados.

Dentre os poucos dados de mecanismo de transporte ativo, um dos mais estudados é o transportador de glicose sódio-dependente SGLT-1<sup>22</sup>. O composto mais estudado nesse tipo de transporte é a quercetina glicosilada (ligada à glicose). Observa-se que a sua absorção ocorre no intestino delgado e a eficiência desta é elevada, quando comparada com a administração da sua forma aglicona. O entendimento do mecanismo pelo qual a ligação com a glicose facilita a absorção foi parcialmente elucidado e atribui-se ao fato da afinidade do açúcar, presente na molécula do polifenol, pelo transportador SGLT-1<sup>22</sup>.

A alimentação pode fornecer ao organismo, simultaneamente, diversos polifenóis e cada um em concentrações diferentes. Essa interação entre os compostos no intestino poderia influenciar na sua biodisponibilidade final. Contudo, não foi encontrada qualquer evidência de que a presença simultânea de ácido ferúlico, hesperitina e genisteína possa interferir na transferência de qualquer um desses polifenóis para os enterócitos quando estes foram administrados em doses fisiológicas. Esses dados sugerem que o mecanismo de transporte de polifenóis do lúmen para os enterócitos não seja saturável e que não haja interações competitivas entre os compostos estudados, em doses normalmente encontradas no intestino, após uma refeição completa<sup>36</sup>.

O peso molecular do composto também pode afetar a absorção intestinal. Por isso, moléculas grandes como as proantocianidinas não são facilmente absorvidas no intestino delgado. Alguns estudos reforçam essa hipótese e sugerem que a absorção de proantocianidinas pela membrana do intestino seja baixa<sup>33</sup>.

Enzimas e transportadores envolvidos na absorção e no metabolismo dos polifenóis também podem ser inibidos ou induzidos na presença de alguns micronutrientes ou xenobióticos. Interações com proteínas do leite foram observadas em um estudo no qual os pesquisadores adicionaram leite ao chá preto, o que aboliu o aumento do potencial antioxidante do plasma observado quando o chá foi consumido sem o leite. No entanto, estudos subsequentes mostraram que a adição do leite tanto ao chá preto quanto ao verde não alterou a biodisponibilidade de catequinas, quercetina ou kampferol em humanos<sup>22</sup>.

Alguns pesquisadores especulam que o álcool presente no vinho tinto pode melhorar a absorção de polifenóis por aumentar a sua solubilidade. Em um estudo em ratos, o etanol aumentou a absorção de quercetina, porém as doses alcoólicas foram altas (>30% do volume), impossíveis de serem consumidas em uma dieta normal. Já em humanos, a concentração plasmática de metabólitos de catequinas foi similar após o consumo de vinho tinto normal e de vinho tinto sem álcool. Vinte por cento a mais de metabólitos foram excretados na urina após a ingestão de vinho tinto normal. Isso pode indicar um possível papel do etanol na excreção de polifenóis, provavelmente associado ao seu efeito diurético<sup>22</sup>.

Outros dados sugerem que não há interferências relevantes dos vários componentes da dieta na biodisponibilidade de polifenóis. Estudos mostram que nenhum dos produtos de soja altera significativamente a absorção aparente de isoflavonas. Contudo, mais estudos são necessários para afirmações conclusivas, especialmente com relação à fibra alimentar, que geralmente está associada aos polifenóis na matriz do alimento.

A administração de polifenóis isolados de sua matriz alimentar de origem pode afetar intensamente a sua biodisponibilidade. Concentrações plasmáticas de quercetina glicosilada foram elevadas, quando a administração foi feita a voluntários sadios e em jejum, quando comparada a uma quantidade equivalente administrada em alimentos fonte, como cebola e maçãs, junto com uma alimentação completa. Essa informação sugere que o consumo de qualquer alimento possa limitar a absorção de polifenóis e, também, que altas concentrações plasmáticas desses compostos só podem ser atingidas pelo consumo de suplementos isolados das refeições<sup>22</sup>.

### 3.1.2.1 Influência da glicosilação

Certas classes de polifenóis, como os flavonóis, as isoflavonas, flavonas e antocianinas, encontram-se, na maioria das vezes, na forma glicosilada. O açúcar ligado é geralmente a glicose ou a ramnose, mas também pode ser galactose, arabinose, xilose ou outros açúcares. Comumente, a conjugação acontece apenas com um açúcar, mas pode haver dois ou três açúcares ligados à mesma molécula. Essa glicosilação pode influenciar nas propriedades químicas, físicas e biológicas dos polifenóis.

Para que ocorra a difusão passiva pela membrana da borda em escova do intestino delgado, pode ser necessária a remoção do açúcar. Por essa razão, especula-se que o primeiro passo do metabolismo possa ser a desglicosilação por enzimas (glicosidases). Glicosidases ativas podem estar presentes em alimentos ou, algumas vezes, em células da mucosa gastrintestinal, ou podem ainda ser secretadas pela microflora colônica<sup>34</sup>.

Experimentos com ratos tratados cirurgicamente, em que a absorção foi restrita ao estômago, mostraram que, em nível gástrico, é possível ocorrer a absorção de alguns flavonóides livres, como a quercetina e a daidzeína, mas não de seus glicosídeos. A explicação para tal fato é que formas glicosiladas provavelmente resistem à hidrólise ácida do estômago e por isso chegam intactas ao duodeno<sup>9, 31</sup>. Somente as agliconas e alguns polifenóis ligados especificamente à glicose podem ser absorvidos no intestino delgado. Contudo a absorção dos glicosídeos presentes no estômago ainda não está clara.

Polifenóis ligados a ramnoses, quando chegam intactos ao cólon, podem ser hidrolisados por ramnosidases oriundas da microflora, o que possibilita a sua absorção. A mesma probabilidade é aplicada a polifenóis ligados à arabinose ou à xilose, mas esta questão ainda não foi estudada em detalhes<sup>15</sup>.

A absorção no cólon ocorre mais lentamente e com menor intensidade se comparada ao intestino delgado. As razões, para tanto, podem ser sua pequena área de exposição e a baixa atividade dos transportadores de membrana. Condizente com a informação anterior, os glicosídeos ligados a ramnoses são absorvidos mais lentamente e com menor eficácia do que as formas aglicona ou ligadas à glicose. Isso foi demonstrado claramente em humanos, em que os resultados mostraram que a absorção máxima de quercetina 4'-glicosídeo ocorreu entre 30 e 42 min, enquanto a absorção máxima da mesma quantidade de rutina (quercetina-3- $\beta$ -rutinosídeo) ocorreu entre 6 e 9 horas após a ingestão. A biodisponibilidade da rutina é em torno de 15-20% da quercetina 4'-glicosídeo<sup>16</sup>.

Com resultado semelhante ao do experimento citado acima, a quercetina presente na cebola, que geralmente está presente ligada à glicose, foi absorvida com rapidez e eficácia elevadas, quando comparada com a quercetina presente na maçã, que contém, além de glicose, vários outros açúcares ligados. O mecanismo pelo qual a glicosilação facilita a absorção da quercetina foi apenas parcialmente elucidado, mas parece estar relacionado com transportadores de hexoses, especialmente com o SGLT-1. Esse transportador encarrega-se de levar a forma glicosilada da quercetina para o interior do enterócito, no qual esta sofreria a ação de  $\beta$ -glicosidases citosólicas<sup>12</sup>.

Há estudos que relatam que as isoflavonas podem ser desglicosiladas por  $\beta$ -glicosidases no intestino humano, entretanto o efeito da ligação com a glicose é mais claro para a quercetina do que para as isoflavonas.

Um outro caminho de absorção de polifenóis foi sugerido. Este envolve duas enzimas presentes na membrana da borda em escova do intestino delgado, a floridizina hidrolase e a lactase, que são glicosidases encarregadas de catalisar a hidrólise extracelular de alguns glicosídeos. Após a hidrólise, ocorre a difusão passiva da forma aglicona pela membrana da borda em escova<sup>9</sup>. Essas duas enzimas só foram estudadas para a quercetina e sua contribuição para a absorção das outras formas de polifenóis glicosilados ainda não está clara.

Polifenóis na forma aglicona, presentes em produtos fermentados de soja, podem ser absorvidos com maior eficiência que as suas respectivas formas ligadas à glicose, presentes em grãos de soja. Porém os

resultados en-contrados nesse estudo podem estar relacionados com as doses fornecidas e o efeito da matriz. A absorção intestinal de isoflavonas requer a hidrólise das formas glicosiladas, o que pode ocorrer por ação da microflora colônica. Entretanto, após a ingestão, as formas ligadas à glicose são hidrolisadas por glicosidases no intestino delgado e apresentam pico de concentração plasmática em curto período, entre 30min e 2h<sup>18</sup>.

Outros fatores que podem influenciar a absorção incluem hábitos alimentares, a natureza da matriz do alimento, a extensão da fermentação da microflora colônica, o tempo de trânsito intestinal e a idade. Sabe-se que todos esses fatores influenciam no metabolismo e na biodisponibilidade de isoflavonas em humanos<sup>45</sup>.

Com relação às isoflavonas, os pesquisadores ainda não entraram em consenso. Stechell e colaboradores (2001), em um estudo sobre a biodisponibilidade de isoflavonas puras em humanos saudáveis, observaram que a daidzeína e a genisteína, fornecidas por via oral, apresentaram menor biodisponibilidade quando comparadas às suas respectivas formas glicosiladas<sup>35</sup>. Entretanto, em outro estudo com humanos, a observação foi contrária, sendo que a forma aglicona apresentou um maior pico de concentração plasmática, tanto em baixas quanto em altas doses e durante longos períodos após a ingestão<sup>18</sup>. E, para completar, o fornecimento de leite de soja com isoflavonas glicosiladas ou agliconas não apresentou alterações na biodisponibilidade desse polifenol em mulheres na pós-menopausa<sup>29</sup>. A partir desses resultados, pode-se dizer que há necessidade de mais estudos para que se possa afirmar, com certeza, o efeito da glicosilação na absorção de isoflavonas e outros polifenóis em humanos.

Apesar de as evidências indicarem que a glicosilação pode influenciar a absorção e a biodisponibilidade de alguns polifenóis, ela não afeta a natureza dos metabólitos circulantes. Glicosídeos intactos de quercetina, daidzeína e genisteína não foram recuperados no plasma ou na urina, após a ingestão de compostos puros, ou complexados na matriz de alimentos fonte. Com relação às flavanonas, somente traços de glicosídeos foram detectados na urina humana, correspondentes a 0,02% da dose administrada. Deve-se levar em conta que esse estudo administrou uma dose elevada (500 mg), o que pode ter acarretado a saturação de alguns mecanismos de transporte.

As antocianinas constituem uma exceção, pois glicosídeos intactos são as maiores formas circulantes. A explicação para isso pode ser a sua instabilidade na forma aglicona ou a possibilidade de um mecanismo específico para absorção e metabolismo de antocianinas. Passamonti (2002) propôs que antocianinas na forma glicosilada podem ser transportadas por bile-translocases em nível gástrico, pois elas apresentam certa afinidade por esses transportadores, o que pode caracterizar um transporte específico<sup>26</sup>.

### 3.1.3 O papel da microflora colônica

Polifenóis que não são absorvidos no intestino delgado alcançam o cólon. A microflora colônica encarrega-se de hidrolisar as formas glicosiladas e agliconas que, por sua vez, são extensivamente metabolizadas, podendo originar vários ácidos aromáticos. Os metabólitos da microflora são absorvidos e conjugados com glicina, ácido glucurônico ou sulfato.

A clivagem e os caminhos metabólicos são bem estabelecidos em animais, nos casos em que já se sabe a importância da estrutura química do composto. Por exemplo, a presença de uma hidroxila na posição 7, 5 ou 4' protege o composto da clivagem. Em humanos, os dados são escassos e os estudos limitados, o que significa que pode haver outros metabólitos formados ainda não descobertos e estudados<sup>22</sup>.

Variações interindividuais e a influência da composição da microflora e da dieta usual na produção de metabólitos têm sido analisadas. Estudos recentes mostram que as concentrações plasmática e urinária dos metabólitos produzidos pela microflora podem ser tão elevadas quanto os metabólitos teciduais, especialmente para os polifenóis do vinho que não são facilmente absorvidos. Portanto, a identificação e quantificação de metabólitos da microflora constituem um importante campo de pesquisa. Há sugestões de que

alguns desses metabólitos podem desempenhar efeitos fisiológicos, por exemplo, o ácido hidroxifenilacético parece apresentar uma sugestiva inibição da agregação plaquetária. Por outro lado, dentre uma grande quantidade formada de ácidos aromáticos com baixo peso molecular, alguns podem ser usados como biomarcadores para a ingestão de polifenóis<sup>23</sup>.

### 3.1.4 Transporte plasmático e distribuição nas estruturas lipídicas

Os metabólitos de polifenóis não estão livres no sangue. A incubação *in vitro* da quercetina no plasma de humanos saudáveis mostrou que ela está extensamente ligada às proteínas do plasma. Metabólitos de quercetina também apresentaram-se ligados a proteínas do plasma em ratos que consumiram dieta enriquecida com esse polifenol. A albumina é a primeira proteína responsável pela ligação. A afinidade de polifenóis pela albumina varia de acordo com a sua estrutura química<sup>34</sup>.

Os efeitos da sulfatação e conjugação com o ácido glucurônico não são claros, mas provavelmente dependem da posição em que a conjugação ocorre. Ácidos hidroxicinâmicos, especialmente os ácidos ferúlico e cumárico, apresentam uma afinidade baixa pela albumina bovina, e alta pela albumina humana. O grau de união com a albumina pode afetar a rota de excreção de metabólitos e sua distribuição para as células e os tecidos<sup>22</sup>.

A compreensão convencional é de que a concentração celular seja proporcional à de metabólitos não ligados. Contudo, variações no pH local em sítios específicos podem induzir mudanças conformacionais na albumina, o que leva à dissociação do complexo. Essas mudanças na albumina parecem ser induzidas por interações não-específicas com várias membranas. Ainda não está claro se essas mudanças podem aumentar a concentração celular de ligantes da albumina, como os metabólitos de polifenóis<sup>34</sup>.

O efeito da ligação com a albumina na atividade biológica dos polifenóis também não é claro. Uma revisão cita que a metade da quercetina ligada à albumina torna-se acessível a agentes oxidantes. Se a quercetina é também acessível a radicais livres, isso sugere que ela pode exercer atividade antioxidante mesmo quando ligada à albumina. Entretanto as propriedades biológicas dos polifenóis não são limitadas à sua capacidade antioxidante e sua ligação com a albumina pode ter outros efeitos ainda não elucidados<sup>34</sup>.

Quando os polifenóis e seus metabólitos estão presentes em fases aquosas, por sua hidrofiliabilidade, a ligação com a albumina é favorecida. Porém, em alguns modelos de membranas lipofílicas, certos polifenóis podem penetrar na membrana em várias concentrações. A quercetina mostra uma profunda interação com a albumina, provavelmente por sua habilidade em assumir uma conformação planar. Em pH fisiológico, muitos polifenóis interagem com a cabeça polar de fosfolípidios na superfície da membrana, via formação de pontes de hidrogênio. Um grande número de grupos hi-droxil na estrutura dos polifenóis, bem como um aumento no pH, podem levar à desprotonação de grupos hidroxil, aumentando as interações entre os polifenóis e as superfícies da membrana. Essa adsorção de polifenóis provavelmente limita o acesso de oxidantes aquosos à superfície da membrana e o seu ataque inicial a essa superfície<sup>34</sup>.

A LDL colesterol é uma estrutura lipofílica que, uma vez oxidada, participa do desenvolvimento da aterosclerose. Muitos estudos mostram que os polifenóis possuem a capacidade de proteger a LDL da oxidação. Entretanto, após o consumo de doses nutricionais, apenas uma pequena porção de polifenóis plasmáticos encontra-se ligada a frações de LDL<sup>14</sup>.

### 3.1.5 Concentrações plasmáticas

As concentrações de polifenóis no plasma variam muito após o seu consumo, especialmente de acordo com a natureza dos polifenóis e alimentos que os contêm. Eles estão presentes em concentrações que

variam de 0,3 a 0,75  $\mu\text{mol/L}$ , após o consumo de 80 a 100 mg do equivalente de querce-tina, administrada na forma de maçã, cebola ou outros alimentos fonte<sup>23</sup>.

Com relação a outros alimentos, os dados encontrados na literatura mostram que, quando a ingestão ocorreu na forma de chá verde (90-150 mg), a concentração plasmática foi de 0,1 a 0,7  $\mu\text{mol/L}$ ; na forma de chocolate (70-165 mg), de 0,25 a 0,7  $\mu\text{mol/L}$ ; ou na forma de vinho tinto (35 mg), de 0,09  $\mu\text{mol/L}$ . Todos os experimentos utilizaram equivalentes de quercetina como parâmetro de conteúdo de polifenóis<sup>40</sup>.

As antocianinas são os polifenóis que apresentam as menores concentrações plasmáticas e o pico de absorção máxima ocorre entre 30min e 2 horas após o consumo e é da ordem de poucos nmols/L para uma ingestão de 110 a 200 mg de antocianinas. Hassimoto (2005) observou que a administração de cianidina, por meio de extratos de amora silvestre, a ratos, por via oral, apresentou pico de concentração plasmática 15 min após a administração. A absorção da cianidina total correspondeu a 0,11% da dose administrada<sup>13</sup>.

As isoflavonas certamente representam os flavonóides mais bem absorvidos. Concentrações plasmáticas de 1,4 a 4  $\mu\text{mol/L}$  são obtidas entre 6 e 8 horas após a ingestão em adultos que consomem uma quantidade relativamente baixa de soja e produtos derivados (aproximadamente 50 mg de isoflavonas)<sup>23</sup>.

A questão a ser esclarecida é se o plasma é um bom biomarcador de exposição a polifenóis.

### 3.1.6 Concentração nos tecidos

A biodisponibilidade de polifenóis e seus metabólitos em tecidos pode ser mais importante do que as suas concentrações plasmáticas. Porém dados concisos sobre esse assunto são escassos.

Quando doses de polifenóis marcados radioativamente foram fornecidas a ratos ou camundongos sacrificados 1 a 6 horas após o consumo, encontraram-se mais marcadores radioativos no sangue do que nos tecidos de órgãos do sistema digestório, como estômago, intestinos e fígado. Entretanto muitos polifenóis foram detectados por HPLC em tecidos de cérebro, células endoteliais, coração, rins, baço, pâncreas, próstata, útero, ovários, glândulas mamárias, testículos, bexiga, osso e pele desses animais<sup>22</sup>.

É difícil afirmar se alguns polifenóis têm a capacidade de depositarem-se em órgãos específicos. Poucos estudos sobre o assunto mostram que al-gu-mas células incorporam os polifenóis por mecanismos especiais. O endo---télió é um dos primeiros tecidos onde os flavonóides são depositados. Porém ratos foram ali-mentados com isoflavonas na forma aglicona e, nove semanas depois, ob-ser-vou-se um acúmulo desse composto na região dorso-lateral da próstata.

Somente dois estudos apresentam dados sobre concentração de polifenóis em tecidos humanos. O primeiro dosou fitoestrógenos em tecido de próstata. Surpreendentemente, no estudo, foram encontradas concentrações significativamente baixas de genisteína e daidzeína em homens com hiperplasia prostática benigna, enquanto as concentrações de enterodiol e enterolactona foram altas no tecido prostático e no plasma. No segundo estudo, as concentrações em mulheres que consumiram isofla-vonas, foram elevadas tanto em tecido glandular mamário quanto no soro<sup>45</sup>.

### 3.1.7 Excreção

Os metabólitos de polifenóis podem seguir dois caminhos para excreção: a via biliar e a rota urinária. Em sua maioria, os metabólitos conjugados são mais facilmente eliminados pela bile, entretanto conjugados pequenos, como os monossulfatos, são preferencialmente excretados pela urina. Em animais de laboratório, a magnitude relativa das excreções urinária e biliar varia de um polifenol a outro<sup>22</sup>.



A excreção biliar dos polifenóis em humanos pode diferir daquela dos ratos, pois estes não possuem vesícula biliar. As bactérias intestinais possuem  $\alpha$ -glicosidases, que podem hidrolisar os metabólitos conjugados excretados na bile a agliconas livres, passíveis de reabsorção via circulação enterohepática<sup>34</sup>.

O total de metabólitos excretados na urina de humanos é grosseiramente correlacionado com as concentrações máximas no plasma. Baixos valores de excreção urinária podem ser um indicativo de excreção pronunciada pela bile ou de metabolismo intenso<sup>22</sup>.

O tempo exato da meia vida dos polifenóis no plasma raramente pode ser calculado com grande precisão, mas é de, aproximadamente, 2 horas para antocianinas e 2 a 3 horas para flavanols. Uma exceção é a epicatequina galato, que tem eliminação mais lenta. Isso ocorre provavelmente devido à sua alta excreção biliar ou grande complexidade com as proteínas do plasma<sup>22</sup>. A meia vida das isoflavonas e da quercetina é da ordem de 4-8 horas e 11-28 horas, respectivamente. Esses dados sugerem que a manutenção de altas concentrações plasmáticas de metabólitos de flavonóides pode ser obtida com consumo regular e freqüente de alimentos vegetais. Por exemplo, o consumo de cebola três vezes ao dia favorece o acúmulo de quercetina no plasma. Para compostos como as catequinas, presentes nos chás, que apresentam uma alta absorção e meia vida curta, a ingestão regular de pequenas quantidades pode ser mais eficiente que o consumo de uma grande quantidade<sup>34</sup>.

## 4 GLICOSINOLATOS

Glicosinolatos constituem um grupo de compostos biologicamente inativos que deve ser hidrolisado para exercer atividade biológica tanto nas plantas quanto nos seres humanos. A sua estrutura é formada de ésteres de (Z)-N-hidroxiaminosulfato ligado a uma  $\alpha$ -D-glicopirranose seguida de um grupo sulfato e uma cadeia lateral variável (Figura 35.2). Esse grupo de compostos bioativos é encontrado principalmente em hortaliças *Brassicas*, como a couve, o repolho, o brócolo, a couve-flor e a couve de Bruxelas.

Os glicosinolatos são compostos hidrofílicos, química e termicamente estáveis e a sua hidrólise ocorre por uma reação enzimática mediada por uma enzima chamada mirosinase ( $\alpha$ -tioglicosidase). Essa enzima ocorre nas plantas que contêm glicosinolatos, porém em compartimentos separados. Essa enzima entra em contato com os glicosinolatos apenas quando a planta sofre alguma injúria. Portanto, os glicosinolatos, a exemplo dos polifenóis, estão relacionados com o sistema de defesa das plantas. Os produtos que, em geral, resultam da hidrólise de glicosinolatos são os isotio-cianatos (ITC), as nitrilas e os tiocianatos (Figura 35.2)<sup>17</sup>.

### 4.1 Biodisponibilidade

O entendimento dos fatores de conteúdo e liberação dos fitoquímicos da matriz alimentar e do grau de absorção é crucial para determinar os seus mecanismos de ação e o seu papel na manutenção da saúde. Poucos dados são disponíveis sobre a liberação, absorção, o metabolismo e a excreção de glicosinolatos e seus produtos de hidrólise em humanos. Entretanto, muitos estudos realizados *in vitro* e em animais ajudam na compreensão parcial desses mecanismos.

#### 4.1.1 Estimativas de ingestão

O conteúdo de glicosinolatos em plantas é crucial para a avaliação de seus efeitos biológicos, porém é difícil ter uma estimativa desse valor. As concentrações variam nas plantas, qualitativa e quantitativamente, devido à intervenção de vários fatores, tais como a espécie e o cultivar da planta em questão, o tipo de tecido,

a idade fisiológica e a saúde da planta, os fatores ambientais (como as práticas agrônômicas, os defensivos agrícolas, as condições climáticas) e o ataque de insetos e de microorganismos<sup>6</sup>.

Além das variações citadas acima, o conteúdo de glicosinatos pode ser afetado também por condições de estocagem e processamento dos alimentos. Mesmo diante de todas essas variáveis, alguns autores assumem que o consumo de hortaliças brássicas reflete o de glicosinatos e seus produtos de hidrólise. Host e Williamson (2004) estimam que o consumo de hortaliças brássicas na Alemanha é de aproximadamente 54 g/dia *per capita*, e que 54% desse valor se referem ao consumo de repolho branco, couve-flor e repolho roxo<sup>17</sup>.

#### 4.1.2 Digestão

A mastigação tem um importante papel na quebra da parede celular, especialmente de plantas não processadas. Em alimentos crus ou processados, ela é o primeiro passo para a formação de produtos de hidrólise de glicosinatos no organismo humano. A exceção são os alimentos cozidos, nos quais a atividade da mirosinase é totalmente abolida, impedindo, assim, a formação desses produtos durante a mastigação<sup>17</sup>.

Estudos em suínos sugerem que aproximadamente 60% dos glicosinatos consumidos intactos chegam dessa forma ao cólon, ocorrendo poucas alterações durante as digestões gástrica e intestinal. Contudo sabe-se que, no cólon, ocorre hidrólise de glicosinatos por fermentação colônica, porém a contribuição exata dessa hidrólise, quando comparada com a hidrólise da mirosinase da planta, ainda não está clara<sup>6</sup>.

Testes de estabilidade sob condições ácidas mostram que os glicosinatos são relativamente estáveis em pH2. Ocorre uma redução de aproximadamente 15%, no caso de simulação de digestão gástrica, e de 25 a 37%, em simulação de digestão intestinal durante 4h. Dependendo do radical presente em sua estrutura, os glicosinatos são diferentemente afetados por incubações gástricas ou intestinais<sup>17</sup>.

A digestão da matriz alimentar, por meio ácido no estômago, e a atividade de enzimas digestivas causam a lise celular. O resultado disso é a liberação da mirosinase e dos glicosinatos e sua subsequente hidrólise. A incubação experimental, com o conteúdo cecal de uma refeição contendo mirosinase, levou a 66% de hidrólise de glicosinatos intactos. Entretanto, quando esse mesmo teste foi realizado em temperatura alta, a hidrólise foi de apenas 20%, provavelmente pela inativação da mirosinase<sup>17</sup>.

Uma porção substancial de glicosinatos intactos pode chegar ao cólon. A incubação de sucos de hortaliças cozidas com fezes humanas por 2h, resultou na formação de 18% de isotiocianatos. Isso mostra que há atividade da  $\beta$ -tioglicosidase na microflora intestinal<sup>6</sup>.

#### 4.1.3 Absorção

A absorção eficiente só ocorre depois que o composto está na superfície da mucosa intestinal, na forma apropriada para entrar no enterócito ou atravessar a camada do epitélio por meio das "tight junctions"<sup>17</sup>.

Fatores fisiológicos, como expressão de transportadores, esvaziamento gástrico, motilidade gastrointestinal, pH intestinal, fluidez do sangue e da linfa, estado de doenças, podem afetar a absorção de alguns compostos, porém esses parâmetros não são considerados em estudos prévios da absorção de glicosinatos e seus produtos de hidrólise.

A baixa recuperação de glicosinatos intactos e/ou seus produtos de hidrólise nas fezes indicam que há absorção substancial e provavelmente distribuição e metabolismo desses compostos. Estudos com animais indicam que a absorção de glicosinatos intactos não é necessariamente dependente de degradação pela microflora do cólon, e os autores ainda sugerem que glicosinatos intactos podem ser parcialmente absorvidos sem hidrólise prévia, entretanto o transporte depende da estrutura e cadeia lateral que o glicosinato apresenta<sup>32</sup>. A possibilidade de transporte ativo de glicosinatos intactos foi excluída e,

ao que parece, não ocorre em nenhuma parte do trato gastrointestinal. A absorção observada ocorre por transporte passivo ou facilitado<sup>6</sup>.

Quando ocorre a hidrólise, os produtos de degradação dos glicosinolatos podem ser absorvidos também por transporte ativo. A presença de glicose na molécula pode indicar que o transporte ativo ocorre via transportadores de glicose<sup>17</sup>.

Testes com dois isotiocianatos, marcados como <sup>14</sup>C em ratos, mostram um pico de absorção sangüínea de 2h e 10min após a administração oral<sup>6</sup>. A baixa lipofili-cidade dos glicosinolatos, junto com o seu baixo peso molecular e pequeno tamanho, implica alto potencial de difusão passiva pelas membranas.

Mais trabalhos, especialmente em humanos, são necessários para que se possa chegar a uma definição conclusiva a respeito da absorção de glico-sinolatos intactos e dos possíveis mecanismos envolvidos.

#### 4.1.4 Metabolismo

Os isotiocianatos são compostos altamente eletrofilicos, o que facilita reações com o nitrogênio, oxigênio ou enxofre nucleofílicos. Eles reagem espontaneamente com grupos sulfidril presentes na molécula de glutationa (GSH). Uma dose inicial elevada de isotiocianatos resulta em uma super expressão da enzima glutationa-S-transferase (GST), responsável pela conjugação dos isotiocianatos com a GSH, provavelmente porque essa enzima é promotora da adição do grupo tiol da GSH com o carbono central eletro-fílico do isotiocianato (Figura 35.3). O produto correspondente a essa reação de adição é o ditiocarbamato (GSH-ITC). A rápida conjugação com a GSH, no interior do enterócito, ajuda a manter o gradiente e um rápido acúmulo intracelular de ditiocarbamatos<sup>17</sup>.

O isotiocinato mais estudado é o sulforafano, que é um potente indutor de enzimas de fase II, encontrado principalmente nos brócolos. Alguns autores acreditam que uma porção substancial do sulforafano administrado e absorvido tenha efluxo para o lúmen intestinal, após a sua conjugação com a GSH no enterócito<sup>44</sup>. A corrente sangüínea, as barreiras de membrana, a afinidade dos tecidos e a ligação com proteínas plasmáticas são os parâmetros que exercem maior influência na distribuição de um compos--to no corpo, inclusive dos glicosinolatos e seus produtos de hidrólise. Os produtos de de-gradação dos glicosinolatos são distribuídos pelo corpo e acumulados em diferentes tecidos. A falta de métodos apropriados para determinar baixas concentrações de isotiocianatos, no sangue e em tecidos, limita o entendimento sobre a sua distribuição corporal e biodisponibilida-de sistêmica. Os efeitos dos isotiocianatos em órgãos específicos *in vivo* são re-lacionados com as diferenças na concentração da GSH nos órgãos, pois a ligação com a GSH facilita a passagem pela membrana celular<sup>17</sup>.

Muitas questões sobre os mecanismos de transporte e conjugação dos produtos de hidrólise de glicosinolatos ainda estão sob investigação. A Figura 35.4 esquematiza alguns mecanismos propostos.

#### 4.1.5 Excreção

Ao que parece, os níveis máximos de isotiocianatos e sua eliminação da célula são dependentes da estrutura molecular individual, mas aparentemente não da sua lipofilicidade. A entrada do isotiocianato na célula e a formação do ditiocarbamato são uma forma de excreção dos isotiocianatos, que serve como biomarcador para avaliação de exposição do indivíduo a glicosinolatos<sup>17</sup>.

Para muitos compostos a absorção pode ser alta, e, no entanto, a biodisponibilidade pode ser limitada por um rápido e extensivo metabolismo. A excreção fecal de glicosinolatos intactos, administrados oralmente, é mui-to baixa, porém os seus metabólitos, como os isotiocianatos, as nitrilas e os tiocianatos orgânicos, estão presentes nas fezes. Alguns estudos sugerem que a conversão de glicosinolatos a seus produtos de hidrólise é um passo essencial para o seu metabolismo. Prova disso foi um estudo que mostrou diferenças

significativas na excreção de ditiocarbamatos quando amostras de brócolos fresco ou cozido no vapor foram comparadas. Uma excreção aumentada de metabólitos foi encontrada nas fezes de animais que receberam brócolos fresco, em que a mirosinase permanecia ativa<sup>7</sup>.

A absorção intestinal para o enterócito é a primeira etapa do metabolismo dos glicosinolatos e seus produtos de degradação. A segunda barreira metabólica para xenobióticos, em geral, é o fígado. Esse órgão contém não só alta concentração de GSH como também a mais alta atividade de GST do organismo. Ocorre então uma extensiva conjugação da GSH com os iso-tiocianatos, tanto no fígado quanto no intestino, órgãos em que esses metabólitos se acumulam<sup>6</sup>.

Zhang e Callaway (2002) sugeriram que o sulforafano é eliminado da célula pelo transportador de "multidrogas" associado à proteína-1 (MRP-1) e pela glicoproteína P-1 (Pgp-1) (Figura 35.4). Os pesquisadores chegaram a essa hipótese porque o aumento da expressão do MRP-1 implicou baixos níveis intracelulares de ITC<sup>44</sup>.

Muitos autores propuseram a medida de ditiocarbamatos na urina como um biomarcador da exposição aos isotiocianatos. Entretanto sabe-se que boa parte dos ITC's é excretada na forma de ácido mercaptúrico. Os caminhos metabólicos são muitos e ainda apenas parcialmente entendidos, portanto são necessários mais estudos para avaliar a biodisponibilidade tecidual dos ditiocarbamatos para utilizá-los como biomarcadores confiáveis<sup>40</sup>.

## 5 CAROTENÓIDES

Há alguns anos, o interesse em carotenóides era resumido àqueles que possuem atividade pró e pré vitamínica A. Atualmente, o enfoque também é direcionado para as outras atividades biológicas que os carotenóides podem exercer. Existem aproximadamente 600 carotenóides na natureza, entretanto apenas de 30 a 40 estão presentes na dieta, e 13 compostos e 8 metabólitos são encontrados em tecido humano, variando de acordo com as dietas individuais. Destes, o  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, a luteína, zeaxantina e o licopeno são responsáveis por aproximadamente 90% das concentrações plasmáticas dos carotenóides. Contudo, o plasma apresenta apenas 1% dos carotenóides do corpo. Em sua maioria, eles encontram-se armazenados em outros órgãos e tecidos.

As maiores concentrações são encontradas no fígado, mas os carotenóides também podem ser depositados no tecido adiposo, colón, pâncreas, na próstata, mácula lútea e pele<sup>28</sup>.

### 5.1 Biodisponibilidade

Os carotenóides, em grande parte, são moléculas hidrofóbicas e, por isso, interagem com a parte lipofílica da célula. O cozimento pode causar algumas perdas nos teores de carotenóides, porém aumenta a sua biodisponibilidade<sup>31</sup>.

Alguns fatores que podem afetar a biodisponibilidade de carotenóides são a presença de fibras na dieta, particularmente as pectinas, falta de lipídios e inadequada produção de bile<sup>11</sup>.

#### 5.1.1 Digestão e absorção

Os carotenóides não estão livres nos alimentos, mas associados a proteínas e a uma variedade de estruturas celulares da planta, como fibras e polissacarídeos; e, para que ocorra a absorção, é necessário o seu desprendimento do alimento de origem<sup>19</sup>.

O processo de liberação dos carotenóides é realizado durante a cocção, mastigação, deglutição e também no estômago, durante a hidrólise gástri-ca dos lipídios e proteínas da dieta. Porém ainda não se sabe a extensão desse desprendimento e o estado físico-químico dos carotenóides no estômago. Como a matriz não é completamente hidrolisada, a biodisponibilidade dos carotenóides pode variar de 10 a 50%. No entanto, quando se desprendem, os carotenóides lipofílicos vão se dissolvendo em fases oleosas de gotículas lipídicas. A digestão e absorção eficiente dos lipídios da dieta e a presença de sais biliares são pré-requisitos para absorção eficaz dos carotenóides dietéticos<sup>11</sup>.

Os carotenóides parecem ser absorvidos pelas células da mucosa duodenal por um mecanismo que envolve difusão passiva, similar ao do colesterol e dos triacilgliceróis. Ao que parece, o processo de absorção não envolve transportador epitelial específico<sup>10</sup>.

A solubilidade e a localização dos carotenóides na emulsão variam de acordo com a sua polaridade. Xantofilas (grupo a que pertencem a luteína e zeaxantina) são polares, enquanto os carotenos (como o  $\beta$ -caroteno e li-copeno) são apolares. Por este motivo, os carotenos encontram-se exclusivamente no núcleo do triacilglicerol da emulsão (região hidrofóbica), e as xantofilas distribuem-se preferencialmente na superfície da emulsão. Essa localização dos carotenos na emulsão é importante porque os componentes da superfície desprendem-se espontaneamente das gotículas de gordura e vão para a mistura de micelas de sais biliares no duodeno, enquanto os componentes associados ao núcleo da emulsão necessitam da digestão do triacilglicerol antes da transferência<sup>2</sup>.

Para a digestão do triacilglicerol, é necessária a presença da enzima lipase pancreática. Por isso, pacientes com insuficiência pancreática apresentam baixos níveis de carotenóides no plasma<sup>20</sup>.

A solubilidade de carotenóides, em mistura de micelas, é limitada e varia com a concentração intraluminal dessa substância. A eficiência da absorção intestinal diminui rapidamente frente ao excesso de pigmentos. O excedente é eliminado nas fezes ou depositado na pele. Canfield et al. (1990) estudaram a incorporação de  $\beta$ -carotenos na mistura de micelas no lúmen do intestino delgado. A incorporação variou entre 4 e 13%, decrescendo com o aumento da concentração de carotenóides<sup>3</sup>.

Secreções gástricas no duodeno podem modificar o pH e alterar a absorção dos carotenóides. Em pH menor que 4,5, a solubilização dos carotenóides sofre uma marcante queda, o que conseqüentemente reduz sua absorção<sup>11</sup>.

Uma vez solubilizados nas micelas, os carotenóides ultrapassam a membrana plasmática e, no interior das células da mucosa intestinal, podem sofrer clivagem oxidativa até retinóides (vitamina A), porém esse processo não ocorre com todos os carotenóides, apenas com os precursores da vitamina A. No caso dos carotenóides não precursores da vitamina A, a absorção ocorre no intestino delgado e, logo após, as substâncias ligadas a quilomícrons são absorvidas pela linfa e transportadas pelo sangue, principalmente até os tecidos ocular e adiposo, o fígado, os rins, o pâncreas e as mamas<sup>42</sup>.

Após a absorção, os carotenóides são transportados via linfa para a circulação portal até o fígado, onde os hepatócitos incorporam a maioria dos carotenóides em lipoproteínas. Os carotenos predominam nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL). No entanto, os carotenóides mais polares, como as xantofilas, são distribuídos em partes iguais entre as lipoproteínas de alta densidade (HDL) e as LDL e, em menor proporção, aproximadamente 20%, em VLDL. A distribuição dos carotenóides entre as classes de lipoproteínas parece ser determinada por características físicas individuais dos carotenóides e pela composição lipídica das lipoproteínas<sup>25</sup>.

### *5.1.2 Concentração plasmática*

Pelo fato de os carotenóides terem ligações covalentes com as lipoproteínas e aparentemente não possuírem um controle homeostático, suas concentrações no plasma dependem da ingestão. Em um contexto

fisiológico, a manutenção dos níveis plasmáticos depende não só da ingestão, mas também da eficiência da absorção intestinal, de sua concentração e conseqüente liberação dos tecidos para o plasma e de sua taxa catabólica<sup>11</sup>.

Alguns achados mostram que os homens apresentam concentrações mais elevadas de licopeno do que as mulheres, enquanto estas apresentam concentrações mais elevadas de  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno, e que fumantes apresentam concentrações de carotenóides reduzidas em aproximadamente 30% quando comparados a não fumantes. A concentração média dos carotenóides também varia com a idade, mas não na mesma proporção entre todos os carotenóides. Geralmente, o licopeno é o carotenóide mais abundante no plasma, seguido pela luteína/zeaxantina, pelo  $\alpha$ -caroteno, pela  $\beta$ -cripto-xantina e pelo  $\beta$ -caroteno, nesta ordem<sup>25, 27</sup>.

Para mais detalhes sobre carotenóides e vitamina A, recomenda-se a leitura do Capítulo 8 deste livro.

## 6 PRINCIPAIS MECANISMOS DE AÇÃO E EFEITOS BIOLÓGICOS DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Mecanismos de ação são definidos como as vias bioquímicas e fisiológicas pelas quais determinados compostos interagem com os componentes celulares e teciduais para realizar um efeito biológico.

Compostos bioativos estão presentes na dieta habitual do ser humano. Há evidências de que eles apresentam papéis na redução do risco de doenças crônicas não-transmissíveis, como o câncer e as doenças cardiovasculares. Entretanto os efeitos dos compostos bioativos na saúde dependem das quantidades consumidas e da biodisponibilidade desses compostos.

O organismo humano é dotado de um complexo sistema de defesa, e os xenobióticos, que entram no corpo, sofrem uma série de transformações mediadas por enzimas. Existem basicamente dois tipos de enzimas de bio-transformação de xenobióticos. As enzimas de fase I, que incluem as enzimas da família do citocromo P-450 dependentes de monoxigenases, geralmente são responsáveis pela ativação dos compostos e, por esse motivo, são chamadas de ativadoras. E as enzimas de fase II, como as glutionas, quinona redutase, UDP-glucuronosil transferase, dentre outras, que possuem como principal característica o poder de adição ou conjugação de cofatores endógenos, como glutationa, ácido glucurônico, formando produtos não tóxicos e, por essa razão, também são chamadas de destoxificadoras<sup>5</sup>.

Compostos bioativos podem alterar o metabolismo de carcinogênicos químicos por modificar o sistema endógeno de enzimas descrito acima. Muitos estudos demonstram que compostos bioativos atuam como quimio-protetores, agindo na indução de enzimas que metabolizam os carcinógenos, transformando-os em suas formas menos reativas.

Com relação a estudos de quimioprevenção, são encontrados muitos compostos com essa atividade, e estes são separados em duas classes funcionais. A primeira inclui indutores monofuncionais, que induzem a atividade de enzimas de fase II. A segunda é composta de indutores bifuncionais, com capacidade de induzir a atividade de ambas as enzimas de fase I e II<sup>38</sup>.

Evidências sugerem que a regulação da atividade de enzimas ocorre em níveis transcricionais. A indução da transcrição é mediada pelo receptor *Ah*, o qual é uma proteína celular que liga hidrocarbonetos aril, formando um complexo que age no núcleo da célula, controlando uma série de processos de biotransformação. Esse sistema é ativado por ambos os indutores, mono e bifuncionais. A ativação transcricional pode ser iniciada por um promotor, chamado elemento de resposta antioxidante (ERA), ou alternativamente pelo elemento de resposta a xenobióticos (ERX). Os ERAs são encontrados na região promotora de vários genes que expressam enzimas de fase II<sup>21</sup>. A identificação do ERA foi um passo inicial para a elucidação dos mecanismos moleculares de resposta quimioprotetiva. Hoje, já existem trabalhos que explicam detalhadamente os caminhos de sinalização e expressão gênica que definem cada ação

quimiopreventiva dos compostos bioativos<sup>5</sup>.

Os produtos de hidrólise dos glicosinolatos podem atuar como agentes quimiopreventivos em várias etapas do processo carcinogênico. Eles podem impedir que ocorra o dano no DNA por inibir a ativação do carci-nógeno bloqueando a atividade de enzimas de fase I ou, ainda, eliminar carcinogênicos reativos por indução da atividade das enzimas de fase II. Também podem atuar inibindo a proliferação por interromper o ciclo celular ou, ainda, ativar mecanismos apoptóticos e, assim, eliminar células malignas e pré malignas<sup>43</sup>.

Estudos experimentais recentes em animais e humanos demonstraram que o aumento na ingestão de polifenóis pode prevenir a formação do LDL colesterol oxidado, reduzir a tendência do sangue a formar coágulos, manter os níveis de pressão sangüínea e elevar a capacidade antioxidante total do sangue<sup>22</sup>.

Em geral, postula-se que os polifenóis ajam diretamente como seqüestradores de radicais livres, enquanto asseguram a proteção e regeneração de outros antioxidantes dietéticos. As atividades biológicas dos polifenóis foram avaliadas *in vitro* em enzimas purificadas, em cultura de células e em tecidos isolados, utilizando polifenóis na forma aglicona, ou algumas vezes, glicosilados, presentes em alimentos. O reflexo da atividade antioxidante dos polifenóis sugere que o metabolismo destes apresente um efeito considerável. Por exemplo, a hidrofobicidade dos polifenóis é intermediária entre a vitamina C, altamente hidrofílica, e a E, altamente hidrofóbica. Os polifenóis agem nas interfases hidro-lipídicas e podem estar envolvidos nas vias de regeneração das vitaminas C e E<sup>23</sup>.

As atividades antioxidantes e de proteção de órgãos vitais (fígado, cérebro, rins, sistema cardiovascular) são dois dos mecanismos de atuação de vários compostos bioativos, como flavonóides (isoflavonas da soja, cate-quinas dos chás orientais verde e preto), antocianinas (feijão, morango, amora, cereja, casca de uvas e vinho tinto), carotenóides, como o licopeno (tomate, melancia e goiaba), dentre outros.

Os carotenóides são tidos como potentes agentes na redução do risco de câncer, e a luteína e zeaxantina reduzem o risco do desenvolvimento de dege-neração macular relacionada à idade<sup>24</sup>.

Compostos bioativos atuam na redução da agregação plaquetária e do risco de trombose e aterosclerose, bem como nas alterações no metabolismo do colesterol. Compostos sulfurados do alho e polifenólicos de uvas e vi-nhos tintos (procianidinas), do cacau, do chocolate e dos chás orientais, den---tre outros, são importantes compostos relacionados a esses efeitos<sup>22</sup>. Atuam também no controle das concentrações de hormônios esteróides e do metabolismo endócrino. As isoflavonas presentes na soja são uma alternativa para a terapia de reposição hormonal, tendo como efeitos benéficos a diminuição do risco de câncer, de doenças cardiovasculares e da osteoporose (inibem a atividade dos osteoclastos, células ósseas responsáveis pela reabsorção óssea)<sup>37</sup>.

Em estudos recentes, os polifenóis apresentaram atividades antiin-flamatórias. Dentre os potenciais mecanismos moleculares para essas ati-vidades, pode-se incluir a inibição de enzimas relacionadas à resposta inflamatória, como as cicloxigenases e as lipoxigenases. Entretanto os mecanismos ainda não estão totalmente elucidados, podendo os polifenóis exercer influência de várias formas<sup>41</sup>.

Existem evidências convincentes de que certos isotiocianato naturais, bem como alguns análogos sintéticos, são inibidores efetivos de tumores quimicamente induzidos em um ou mais órgãos de roedores, como bexiga, cólon, esôfago, mama, pâncreas e estômago. Estudos de biologia molecular mostram que a atividade quimiopreventiva dos isotiocianato não somente inibe o desenvolvimento, como também eliminam a estabilidade de células cancerosas<sup>44</sup>.

## 7 CONCLUSÃO

A atividade biológica dos compostos bioativos está intimamente relacionada com a sua biodisponibilidade. Contudo ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas a respeito desse assunto. E esse pode constituir um campo promissor para novas pesquisas.

É importante também ressaltar que a dieta perfaz um papel fundamental no estilo de vida saudável, mas não é o único fator. Exercícios regulares, redução do consumo de álcool e abolição do tabagismo são atitudes fundamentais para a obtenção de uma vida saudável.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. ARABBI, P.R. et al. "Flavonoids in vegetables foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population". *J. Agric. Food Chem.*, 52 (5), p.1124-31, 2004.
- 2. BOREU, P. et al. "Carotenoids in biological emulsions: solubility, surface-to-core distribution, and release from lipid droplets". *J. Lipid. Res.*, 37, p.250-61, 1996.
- 3. CANFIELD, L. M. et al. "Incorporation of beta-carotene into mixed micelles". *Meth. Enzymol.*, 189, p.418-22, 1990.
- 4. CARRATU, E. & SANZINI, E. "Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale". *Ann. Ist. Super Sanità*, 41 (1), p.7-16, 2005.
- 5. CHEN, S. & ANDREASSON, E. "Update on glucosinolate metabolism and transport". *Plant Physiol. Biochem.*, 39, p.743-58, 2001.
- 6. CHEN, C. & KONG, A.N.T. "Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects". *TRENDS Pharmacol. Sci.*, 26 (6), p.319-26.
- 7. CONAWAY, C.C. et al. "Disposition of glucosinolates and sulphoraphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli". *Nutr. Cancer*, 38 (2), p.168-78, 2000.
- 8. CRESPI et al. "Quercetin, but not its glycosides is absorbed from the rat stomach". *J. Agric. Food Chem.*, 50, p.618-21, 2002.
- 9. DAY, A.J. et al. "Absorption of quercitina-3-glucoside and quercitina-4-glucoside in the rat small intestine: role of lactase phlorizin hydrolase and sodium-dependent glucose transporter". *Biochem. Pharmacol.*, 65, p.1199-206, 2003.
10. ERDMAN, J. W., et al. "Absorption and transport of carotenoids". *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, p.76-85, 1993.
11. FURR H.C. & CLARK, R.M. "Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids". *J. Nutr. Biochem.*, 8, p.364-77, 1997.
12. GRAEFE, E.U. et al. "Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycoside in humans". *J.Clin. Pharmacol.*, 41, p.492-9, 2001.
13. HASSIMOTTO, N.M.A. "Atividade antioxidante de alimentos vegetais. Estrutura e estudo da biodisponibilidade de antocianinas de amora silvestre (*morus sp*)". São Paulo. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo, 159p. 2005.
14. HOF, V.H.K.H. et al. "Plasma and lipoprotein levels of tea catechins following repeated tea consumption". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 2220, p.203-9, 1999.
15. HOLLMAN, P.C. et al. "The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man". *Free Radic. Res.*, 31, p.569-73, 1999.
16. HOLLMAN, P.C. & KATAN, M.B. "Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man". *Biomed. Pharmacother.* 51, p.305-10, 1997.
17. HOST, B. & WILLIAMSON, G. "A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds". *Nat. Prod. Rep.*, 21, p.425-47, 2004.
18. IZUMI, T. et al. "Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans". *J. Nutr.*, 130, p.1695-9, 2000.
19. KHACHIK, F. et al. "Isolation, structural elucidation, and partial synthesis of lutein dehydration products in extracts from human plasma". *Journal of chromatography B*, 670, p.219-33, 1995.
20. LEO, M. A. et al. "Carotenoids and tocopherols in various hepatobiliary conditions". *J. Hepatol.*, 23, p.550-6, 1995.
21. LHOSTE, E.F. et al. "The activities of several detoxification enzymes are differentially induced by juices of garden cress, water cress and mustard in human HepG2 cell". *Chem. Biol. Interac.*, 150, p.211-19, 2004.
22. MANACH, C. et al. "Polyphenols: food sources and bioavailability". *Am. J. Clin. Nutr.*, 79, p.727-47, 2004.



23. \_\_\_\_\_. "Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I Review of 97 intervention studies". *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, p.230S-42S, 2005.
24. MARES-PERLMAN, J. A. et al. "The body of evidence to support a protective role for lutein and zeaxanthin in delaying chronic disease". Symposium: Can lutein protect against chronic disease? 132, p.517S-24S, 2002.
25. PARKER, R.S. "Absorption, Metabolism and transport of carotenoids". *FASEB J.*, 10 (5), p.542-51, 1996.
26. PASSAMONTI, S. et al. "The interaction of anthocyanins with bilitranslocases". *Bioch. Biophys. Res. Comm.*, 296, p.631-6, 2002.
27. PENG, Y.-M. et al. "Concentrations and plasma-tissue-diet relationships of carotenoids, retinoids, and tocopherols in humans". *Nutr. Cancer*, 23, p.233-46, 1995.
28. PEREZ-GALVEZ, A. & MINGUEZ-MOSQUERA, M.I. "Esterification of xanthophylls and its effect on chemical behavior and bioavailability of carotenoids in the human". *Nutr. Res.*, 25, p.631-40, 2005.
29. PISKULA, M.K. et al. "Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach". *FEBS Lett.*, 447, p.287-91, 1999.
30. RICHELLI, M. et al. "Hydrolysis of isoflavone glycosides to aglycones by beta-glycosidase does not alter plasma and urine isoflavone pharmacokinetics in post-menopausal women". *J. Nutr.*, 132, p.2587-92, 2002.
31. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. "Carotenoides y preparación de alimentos: la retención de los carotenoides provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados". Campinas: USAID, 1999.
32. ROUZAND, G. et al. "Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolate in gnotobiotic rats". *Bri. J. Nutr.*, 90, p.395-404, 2003.
33. SANTOS-BUELGA, C. & SCALBERT, A. "Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health". *J. Sci. Food Agric.*, 80, p.1094-117, 2000.
34. SCALBERT, A & WILLIAMSON, G. "Dietary intake and bioavailability of polyphenols". *J. Nutr.*, 130, p.2073S-85S, 2000.
35. SETECHELL, K.D. et al. "Bioavailability of pure isoflavones in health humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements". *J. Nutr.*, 131, p.1362S-75S, 2001.
36. SILBERBERG, M. et al. "The bioavailability of polyphenols is highly governed by capacity of the intestine and of the liver to secrete conjugated metabolites". *Eur. J. Nutr.*, 45, p.88-96, 2006.
37. SOMEKAWA, Y. et al. "Soy intake related to menopausal symptoms, serum lipids, and bone mineral density in postmenopausal Japanese women". *Obstet. Gynecol.*, 97 (1), p.109-15, 2001.
38. WASSERMAN, W.W. & FAHL, W.E. "Functional antioxidant responsive elements". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, p.5361-66, 1997.
39. WILLIAMSON, G. & MANACH, C. "Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II Review of 93 intervention studies". *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, p.243S-55S, 2005.
40. YE, L. & ZHANG, Y. "Total intracellular accumulation levels of dietary iso-thiocyanates determine their activity in elevation of cellular glutathione and induction of phase 2 detoxification enzymes". *Carcinogenesis*, 22 (12), p.1987-92, 2001.
41. YOON, J.H. & BAEK, S.J. "Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties". *Yosei Med. J.*, 46 (5), p.585-96, 2005.
42. YOUNG, A. & BRITTON, G. *Carotenoids in photosynthesis*. New York: Chapman & Hall, p. 206, 1993.
43. ZHANG, Y. "Molecular mechanism of rapid cellular accumulation of anti-carcinogenic isothiocyanates". *Carcinogenesis*, 22 (3), p.425-31, 2001.
44. ZHANG, Y. & CALLAWAY, E.C. "High cellular accumulation of sulphoraphane, a dietary anticarcinogen, is followed by rapid transporter-mediated export as a glutathione conjugate". *Biochem. J.*, 364, p.301-7, 2002.
45. ZUBIK, L. & MEYDANI, M. "Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 77, p.1459-65, 2003.

Figura 35.1. Subdivisão de compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal

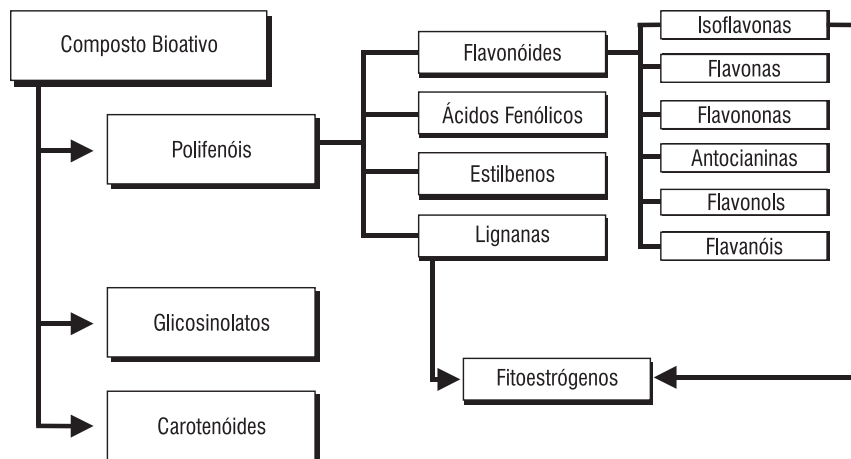


Figura 35.2. Estrutura dos glicosinolatos e seus produtos de hidrólise formados após a ação da mirosinase

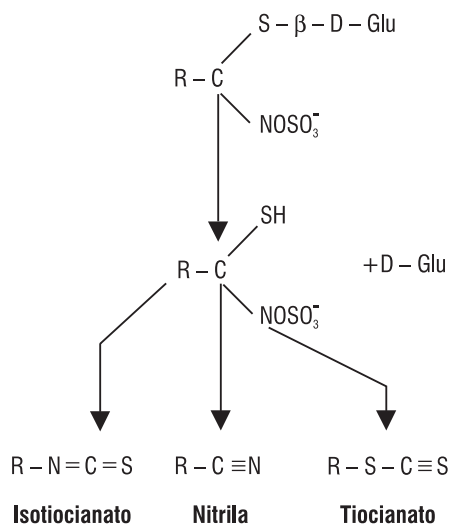


Figura 35.3. Metabolismo de ITC *in vivo*: conjugação com a GSH celular

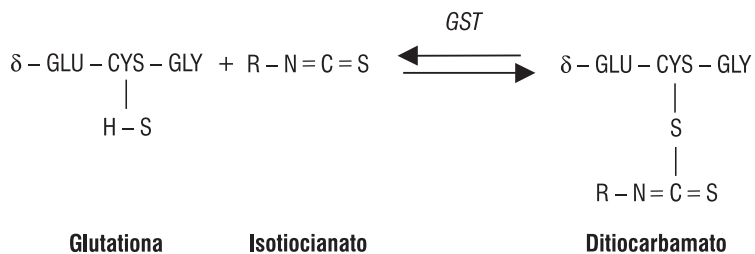


Figura 35.4. Caminho sugerido para a absorção de produtos de hidrólise de glicosinolatos no intestino delgado e primeiro passo do metabolismo da glicorafanina, sulforafano e sulforafano nitrila. GSH: Glutaciona; GST: Glutaciona-S-transferase; SGLT1: Transportador de glicose sódio-dependente; PgP1: Glicoproteína P-1; MRP1: Transportador de multidrogas associado à proteína 1; MRP2: Transportador de multidrogas associado à proteína 2<sup>17</sup>.

