

## O POTENCIAL DA LACTOFERRINA NA PREVENÇÃO DO CANCRO DE MAMA

LÍGIA RODRIGUES, JOSÉ ANTÓNIO TEIXEIRA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA E BIOENGENHARIA, CENTRO DE ENGENHARIA BIOLÓGICA, UNIVERSIDADE DO MINHO

*lrmr@deb.uminho.pt, jateixeira@deb.uminho.pt*

Nas últimas décadas, estudos clínicos e mecanísticos revelaram a existência de inúmeras relações entre saúde e nutrição. Como tal, a evidência de que a dieta é um factor ambiental chave que afecta a incidência de uma série de doenças crónicas é consensual. Claramente, existe um enorme potencial de benefícios sócio-económicos que poderá resultar de uma caracterização bem sucedida de quais os constituintes dos alimentos que promovem a saúde, bem como da sua exploração [1-2, 3].

Os alimentos contêm milhares de substâncias biologicamente activas, muitas das quais com um elevado potencial no que respeita aos seus benefícios para a saúde e possibilidade de utilização para fins quimioterapêuticos [3]. A quimioterapia consiste no uso de químicos para a prevenção, interrupção ou regressão de um cancro. Uma vez que o cancro é um processo que ocorre em multi-etapas e que geralmente demora vários anos a manifestar-se e/ou desenvolver-se em humanos, existe uma janela de oportunidade para intervir ou prevenir o seu desenvolvimento. Os agentes quimioterapêuticos terão que reunir algumas características importantes, nomeadamente espera-se que possam ser utilizados pela generalidade da população.

Portanto, não poderão ser tóxicos, dispendiosos e deverão estar disponíveis para aplicação por via oral. Actualmente existe um grande número de compostos naturais e sintéticos que possuem propriedades anti-cancerígenas comprovadas em estudos usando culturas celulares e/ou modelos animais. Contudo, a viabilidade de utilização de agentes quimioterapêuticos em humanos foi apenas consolidada com a demonstração da capacidade do Tamoxifen prevenir o cancro da mama em humanos [4].

Uma área de investigação promissora consiste nos estudos clínicos com proteínas do leite reportadas como preventivas de cancro. Algumas proteínas do leite e/ou soro possuem efeitos anti-proliferativos, anti-inflamatórios e antioxidantes [5,6].

A lactoferrina conhecida pela sua acção inibitória na proliferação celular, bem como pelas suas actividades anti-inflamatórias e antioxidantes, tem sido também reportada como um agente anti-cancerígeno [7-10]. Trata-se de uma glicoproteína de 80 kDa constituída por 703 aminoácidos originalmente isolada do leite. Esta proteína tem como característica o facto de se ligar ao ferro e como tal, pode encontrar-se nos fluidos corporais em várias formas, tais como sem ferro, ligada a uma molécula de ferro, e ligada a duas moléculas de ferro. Os seus receptores podem ser encontrados no tecido intestinal, nos monócitos e macrófagos, nos neutrófilos, linfócitos, plaquetas e em algumas bactérias.

A lactoferrina encontra-se predominantemente nos produtos de excreção das glândulas exócrinas dos aparelhos digestivo, respiratório e reprodutivo. Assim, é possível encontrar esta proteína no leite, nas lágrimas, na saliva e no sêmen. Adicionalmente, a lactoferrina pode ser encontrada no sangue, sendo que a lactoferrina do plasma deriva dos neutrófilos que a sintetizam durante os processos inflamatórios.

A lactoferrina produzida por diferentes espécies apresenta uma homologia na sequência de aminoácidos de cerca de 70 por cento. Por exemplo, comparando a lactoferrina de origem bovina com a lactoferrina de origem humana verificou-se uma homologia de 69 por cento da sequência.

Neste sentido, uma interessante fonte de lactoferrina consiste no soro de queijo bovino, onde esta se encontra com uma concentração de cerca de 0.1 g/l. Actualmente, existe um interesse comercial considerável na preparação das proteínas individuais, a partir de soro de queijo, para alimentação e aplicações nutricionais e terapêuticas.

A existência de soro é fortemente condicionada pela produção de queijo, uma vez que o soro é um subproduto incontornável na produção de qualquer tipo de queijo. Apesar de cerca de metade do soro produzido no mundo ser eliminado como efluente, deitado nas terras ou em sistemas hídricos, resultando numa perda importante de energia alimentar, bem como criando uma grande perda económica, a outra metade é processada em vários produtos alimentares ou rações.

Portugal não é excepção à regra e, a maioria das indústrias de laticínios não contemplam ainda uma fase de valorização de resíduos, especificamente das proteínas isoladas. Contudo, e tal como referido anteriormente, algumas proteínas do soro, como por exemplo a lactoferrina, possuem um potencial de aplicação que deverá merecer uma especial atenção por parte do tecido empresarial português.

Estudos efectuados com roedores (*in vivo*) têm demonstrado que a administração oral de lactoferrina reduz significativamente cancro quimicamente induzido e inibe a angiogénese [9,11-12]. Adicionalmente, demonstrou-se que a administração subcutânea de LF inibe o crescimento de tumores sólidos implantados em ratinhos e previne o aparecimento de metástases [13]. Estes efeitos da LF têm sido atribuídos ao seu potencial imunomodulatório e à sua capacidade de activar células T e NK [13-15].

A lactoferrina possui também a capacidade de limitar o crescimento de células tumorais e foi demonstrado que a adição de lactoferrina exógena ao meio de cultura das linhas celulares tumorais induz a fase G1/S do ciclo de vida da célula [14]. No entanto, ainda não está totalmente elucidado se a lactoferrina ingerida oralmente

**Quadro 1 – Efeito da administração oral de lactoferrina ou produtos relacionados.**

Modelo de Cancro	Eficácia	Modelo Animal	Agente administrado e dose	Referências
Cancro do cólon, pulmão, esófago, bexiga, fígado e língua induzido por agentes químicos cancerígenos	Inibição do desenvolvimento do tumor	Rato	LF de origem bovina 0.2 e 2% na dieta	[15]
Desenvolvimento espontâneo de polipos intestinais	Inibição do desenvolvimento de polipos	Apc <sup>Min</sup> Ratinho	LF de origem bovina 2% na dieta	[12]
Injecção de células tumorais	Inibição do desenvolvimento de tumores	Ratinho	LF de origem bovina 0.3 g/kg LF recombinante de origem humana 1 g/kg na dieta	[13-15]

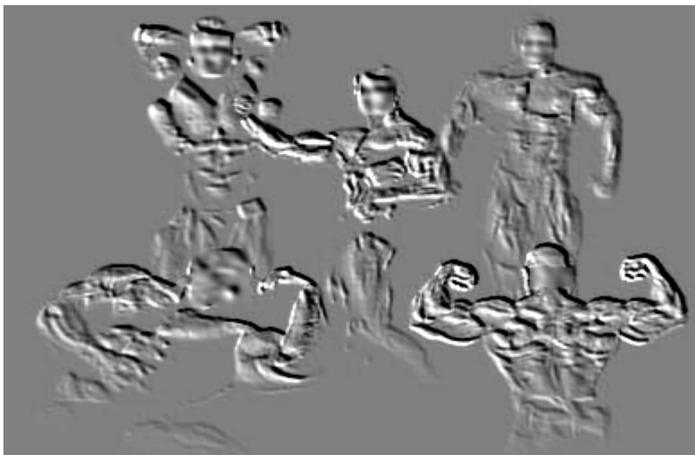
é absorvida no intestino, e se exerce os seus efeitos de protecção no local onde a sua acção é expectável, especialmente no caso de doenças que ocorrem em locais distantes do canal digestivo.

Muitos componentes provenientes de alimentos na forma de proteínas biologicamente activas, péptidos, lípidos e outras substâncias sobrevivem ao processo digestivo no tracto gastrointestinal e podem entrar na circulação. Por exemplo, uma grande variedade de péptidos pode ser gerada durante a digestão de proteínas ingeridas no seu percurso no tracto gastrointestinal.

As proteínas ingeridas são na sua maioria absorvidas na forma de pequenos péptidos, no entanto, pequenas quantidades de péptidos maiores ou pequenas proteínas podem também ser absorvidos. Neste sentido, é possível que péptidos intactos sejam absorvidos e exerçam a sua actividade biológica em condições de saúde ou doença.

A lactoferrina é um péptido resultante da hidrólise ácida da lactoferrina com pepsina, cuja actividade antimicrobiana está bem estabelecida [16]. Evidências recentes de estudos *in vivo* indicam que a administração oral ou subcutânea da lactoferrina previne a ocorrência de metástases, angiogénese e crescimento dos tumores [17-18]. Contudo, os mecanismos pelos quais a lactoferrina exerce a sua acção são ainda desconhecidos.

Muito poucos estudos têm reflectido uma abordagem integrada e sistematizada dos efeitos da lactoferrina como um agente anticancerígeno em cancro de mama, e apesar de já existirem alguns resultados de estudos realizados com recurso a técnicas altamente sofisticadas de genómica e proteómica [19-21], falta uma aplicação consistente de ferramentas de bioinformática para a interpretação dos dados gerados.



Adicionalmente, apesar dos inúmeros estudos demonstrando os efeitos fisiológicos benéficos das proteínas e péptidos do soro de leite, particularmente, em experiências com animais, o conhecimento ainda é muito limitado sobre esses efeitos no organismo humano. Muito há que se investigar sobre os verdadeiros mecanismos de acção dessas proteínas e péptidos e das quantidades que devem participar da dieta para produzir seus efeitos benéficos.

Neste sentido, está a ser desenvolvido no Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, em colaboração com o Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto e a Univerdade de Lund (Suécia), um projecto que pretende estudar os efeitos da lactoferrina como agente anti-cancerígeno em cancro de mama e elucidar os mecanismos pelos quais a sua ingestão poderá estar relacionada com diferentes estados de saúde. Vários tecidos de cancro de mama e linhas celulares estão a ser estudados de forma a avaliar os seus perfis de expressão de lactoferrina e lactoferricina. Adicionalmente, o efeito da administração oral e subcutânea de lactoferrina e lactoferricina será também estudado recorrendo a experiências com ratos (*in vivo*).



#### Referências bibliográficas:

- [1] Elliot, R., Ong, T (2002) British Medical Journal. 324:1438-1442.
- [2] German, J (2005) Journal of the American Dietetic Association. 105: 530-531.
- [3] Petricoin, E., Liotta, L (2003) Journal of Nutrition. 133:2476-2484.
- [4] Jordan, V.C., Morrow, M (1999) Endocrine Reviews 20:253-278.
- [5] Hakkak, R., Korourian, S., Shelnut, S.R., Lensing, S., Ronis, M. J., Badger, T.M (2000) Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 9:113-7.
- [6] Tsuda, H., Sekine, K., Ushida, Y., Kuhara, T., Takasuka, N., Iigo, M., Han, B.S., Moore, M.A (2000) Mutation Research 462:227-33.
- [7] Baveye, S., Ellass, E., Mazurier, J., Spik, G., Legrand, D (1999) Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 37:281-6.
- [8] Brock, J.H (2002) Biochemistry and Cell Biology 80:1-6.
- [9] Tsuda, H., Sekine, K., Fujita, K-i, Iigo, M (2002) Biochemical Cell Biology. 80: 131-136.
- [10] Ward, P.P., Uribe-Luna, S., Conneely, O (2002) Biochem Cell Biol 80:95-102.
- [11] Tsuda, H., Sekine, K., Ushida, Y., Kuhara, T., Takasuka, N., Iigo, M., Han, B.S., Moore, M.A (2000) Mutation Research. 462: 227-233.
- [12] Ushida, Y., Sekine, K., Kuhara, T., Takasuka, N., Iigo, M., Maeda, M., Tsuda, H (1999) Japanese Journal of Cancer Research. 90: 262-267.
- [13] Bezault, J., Bhimani, R., Wiprovnick, J., Furmanski, P (1994) Cancer Research 54:2310-2.
- [14] Damiens, E., El Yazidi, I., Mazurier, J., Duthille, I., Spik, G., Boilly-Marer, Y (1999) Journal of Cell Biochemistry 47:486-98.
- [15] Sekine, K., Ushida, Y., Kuhara, T., Iigo, M., Baba-Toriyama, H., Moore, M.A., Murakoshi, M., Satomi, Y., Nishino, H., Kakizoe, T., Tsuda, H (1997) Cancer Letters 121:211-6.
- [16] Yamauchi, K., Tomita, M., Giehl, T.J., Ellison, R.T (1993) Infection and Immunity 61:719-28.
- [17] Cho E, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Beeson, W.L., van den Brandt, P.A., Colditz, G.A., Folsom, A.R., Fraser, G.E., Freudenheim, J.L., Giovannucci, E., Goldbohm, R.A., Graham, S., Miller, A. B., Pietinen, P., Potter, J.D., Rohan, T.E., Terry, P., Toniolo, P., Virtanen, M.J., Willett, W.C., Wolk, A., Wu, K., Yaun, S-S., Zeleniuch-Jacquotte, A., Hunter, D.J (2004) Journal of National Cancer Institute 96:1015-22.
- [18] Yoo, Y-C., Watanabe, S., Watanabe, R., Hata, K., Shimazaki, K., Azuma, I (1997) Japanese Journal of Cancer Research 88:184-90
- [19] Forozan, F., Mahlamaki, E. H., Monni, O., Chen, Y., Veldman, R., Jiang, Y., Gooden, G.C., Ethier, S.P., Kallioniemi, A., Kallioniemi, O.- (2000) Cancer Research. 60: 4519-4525.
- [20] Perou, C.M., Jeffrey, S.S., van de Rijn, M., Rees, C.A., Eisen, M. B., Ross, D.T., Pergamenschikov, A., Williams, C.F., Zhu, S.X., Lee, J. C., Lashkari, D., Shalon, D., Brown, P.O., Botstein, D (1999) PNAS USA. 96:9212-9217.
- [21] Shan, L., He, M., Yu, M., Qiu, C (2002) Carcinogenesis. 23:1561-1568