

Aspectos Químicos do Envelhecimento

João Manuel P. D. Baptista^a
Ana Maria F. Oliveira Campos^a

Introdução

O aparente incremento da longevidade ocorrido durante os últimos séculos nos países civilizados deve-se ao aumento da vida média (por diminuição da mortalidade infantil, melhor alimentação, etc.) e não à extensão do tempo máximo de vida.

Hayflick provou que o número de divisões celulares ocorrido numa dada estirpe é limitado, dependendo da espécie, do órgão e da idade do dador. Apenas as células anormais (por ex. cancerosas) aparentam dividir-se indefinidamente.

No início do estudo sistemático dos fenómenos associados ao envelhecimento surgiram teorias gerais que se queriam excluir mutuamente. Tornou-se depois evidente que múltiplos mecanismos de natureza química eram responsáveis pelas manifestações macroscópicas do envelhecimento. O palco habitual desses mecanismos é a célula. Um organismo idoso tem menos células e as que possui funcionam pior que as de um organismo jovem.

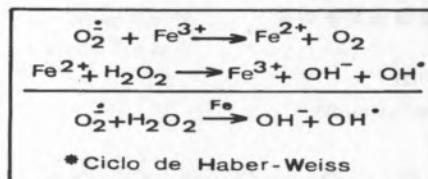
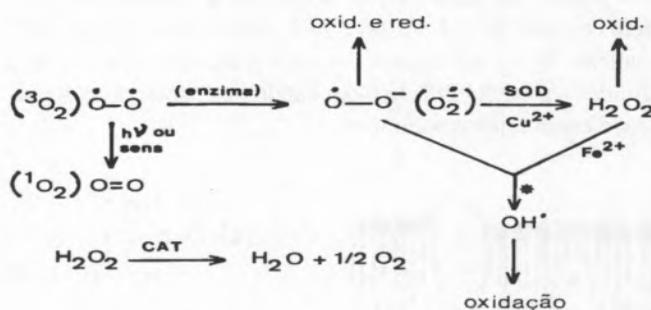
Radicais livres e o oxigénio

Sabe-se hoje que a química do envelhecimento é essencialmente uma química de radicais livres. Estes podem ter várias origens – radiação, poluentes, metabolismo natural – e tornam-se mais nocivos quando há deficiência de compostos protectores.

O oxigénio que, no seu estado fundamental, oxigénio tripleto, ($^3\text{O}_2$) é pouco reactivo, é uma fonte de várias formas «activas» radiculares ou não: oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$), ião superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$).

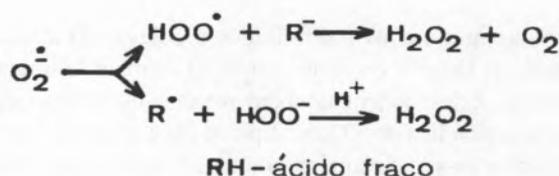
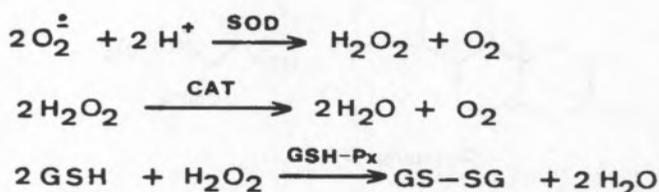
O oxigénio singlete pode formar-se a partir do oxigénio tripleto por acção da luz ou de sensibilizadores (esquema 1), sendo o efeito da luz particularmente importante no globo ocular.

Durante a redução, no organismo, do oxigénio molecular a água, formam-se espécies tóxicas como o ião superóxido e o peróxido de hidrogénio. Estes podem ainda gerar o radical hidroxilo (ciclo de Haber – Weiss) que é o oxidante mais forte da família do oxigénio (esquema 1). O ião superóxido pode actuar como base, nucleófilo, radical ou reagente de transferência electrónica.



esquema 1

Há, no entanto, sistemas enzimáticos preventivos que neutralizam as formas activas, por exemplo, a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutationa peroxidase (GSH-Px) (esquema 2). Há também outros compostos neutralizadores como por exemplo as vitaminas E e C, ácido úrico, medicamentos, quelantes do ferro e do cobre (ferritina, transferrina, ceruloplasmina).



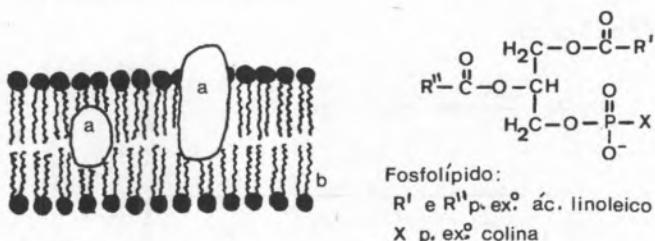
esquema 2

^a Centro de Química Pura e Aplicada da Universidade do Minho, Avenida João XXI, 4700 Braga

Peroxidação dos lípidos

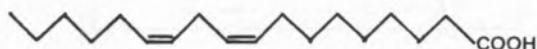
Em geral, os sinais de ressonância paramagnética electrónica (RPE) mais fortes são detectados em células com elevadas concentrações de mitocôndrias. Nas mitocôndrias há elevada concentração de lípidos e o DNA é mais acessível que o DNA nuclear (porque menos envolvido em proteínas). É também aí que se desenrola o processo respiratório pelo que se formam os radicais derivados do oxigénio $-O_2^{\cdot-}$ e $\cdot OH$. Assim o DNA e os lípidos das mitocôndrias são mais vulneráveis ao ataque desses radicais.

As membranas consistem de lípidos e proteínas (esquema 3) em proporções variáveis, por exemplo, na mitocôndria contém cerca de 27% de lípido e 73% de proteína. O ataque dos radicais livres aos lípidos das membranas vai alterar a sua fluidez e permeabilidade bloqueando extensamente a actividade enzimática nesse meio.

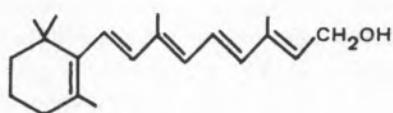


Membrana celular:

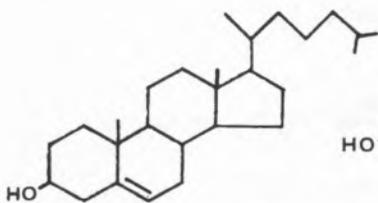
a) Proteína b) Fosfolípido



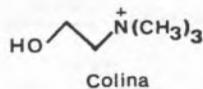
Ácido linoleico



Retinol (vit. A)



Colesterol



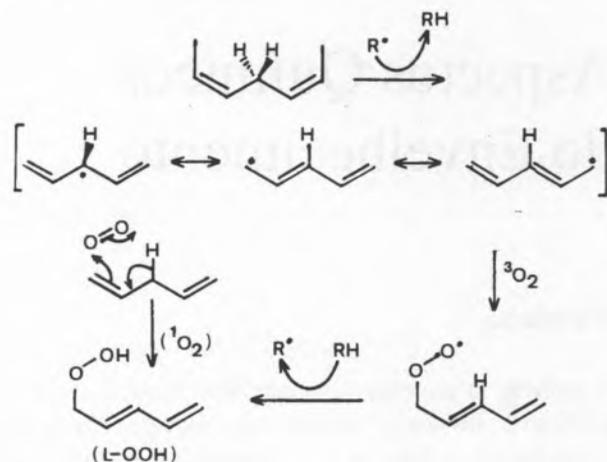
Colina

esquema 3

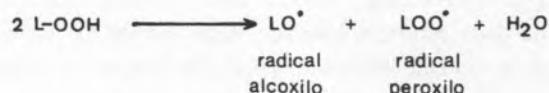
Os lípidos insaturados (fosfolípidos e colesterol) atacados por radicais livres e oxigénio (tripleto) formam hidrogenoperóxidos. Estes podem também resultar de uma reacção química pericíclica de 1O_2 com lípidos insaturados (esquema 4). Representa-se no esquema 4 uma parte da cadeia de um ácido gordo insaturado que sofre peroxidação, bem como a decomposição dos hidrogenoperóxidos formados.

A decomposição dos peróxidos, catalizada por metais de transição (p. ex. Cu) forma radicais que podem propagar a reacção em cadeia. Estes podem ainda decompor-se dando produtos reactivos que perturbam o metabolismo celular.

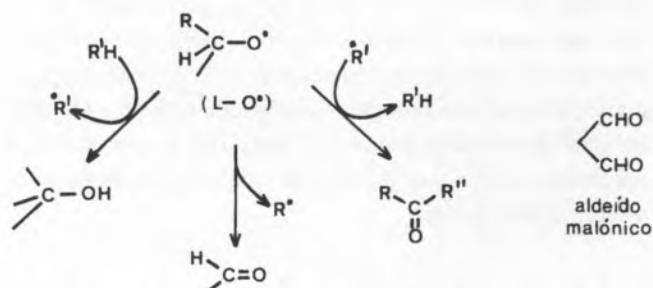
Um dos produtos finais da decomposição é o aldeído malónico. Podem formar-se ligações cruzadas entre lípidos ou entre lípidos (grupos aldeído) e proteínas (grupos amina).



Peroxidação de um ácido gordo insaturado



Decomposição dos hidrogenoperóxidos



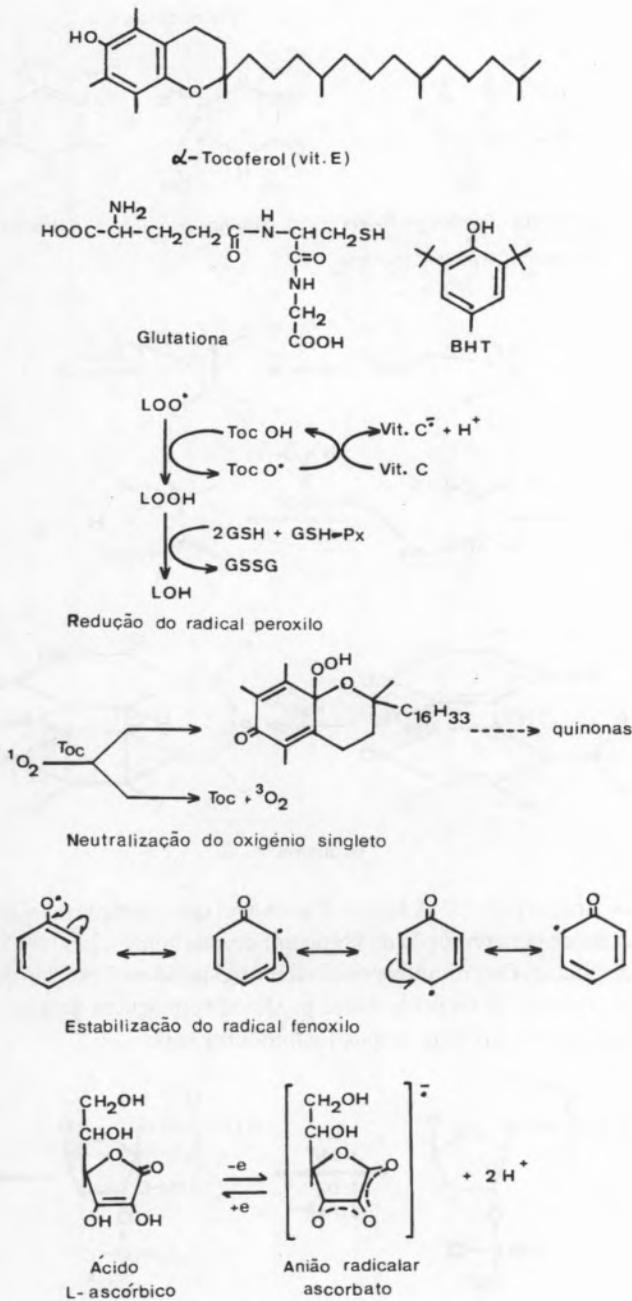
Produtos de decomposição dos lípidos

esquema 4

Sistemas de protecção

Já foram mencionados alguns enzimas que tinham a função de neutralizar formas activas de oxigénio como a superóxido dismutase, a catalase e a glutatona peroxidase (GSH-Px). A glutatona é o tripéptido γ -glutamilcisteilglicina (esquema 5).

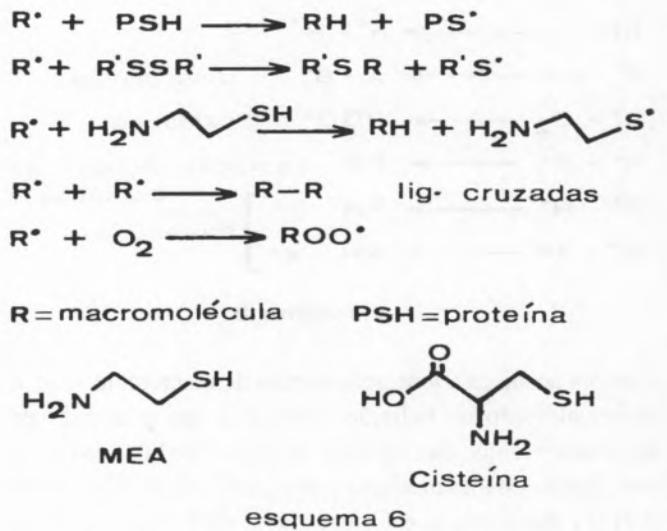
A glutatona peroxidase reduz o peróxido de hidrogénio a água e outros peróxidos a alcoóis (esquema 5) e o seu papel é fundamental no cristalino do olho. A deficiência neste enzima (ou no seu cofactor-selénio) implica uma deficiente decomposição dos peróxidos. Observou-se que, em regiões onde a ingestão de selénio é elevada, há menor incidência de certas formas de cancro e de doenças cardiovasculares. O α -tocoferol (vitamina E) e o ácido ascórbico (vitamina C) são captadores de radicais livres nas fases lipídica e aquosa, respectivamente. A acção antioxidante da vitamina E exerce-se de dois modos: bloqueia a propagação de radicais por terminação da cadeia (formando radicais mais estáveis) e neutraliza o oxigénio singleto (esquema 5).



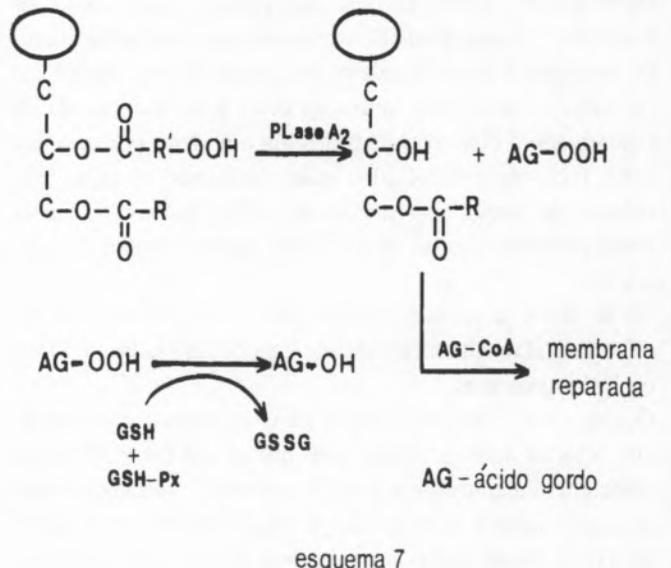
O Homem necessita de ingerir tocoferóis e na sua falta os lípidos mostram efeitos de auto-oxidação. Como se sabe, é obrigatório adicionar vitamina E a margarinas e óleos para retardar a auto-oxidação e portanto o aparecimento do cheiro a ranço. A 2-mercaptoetilamina (2-MEA) e o butilhidroxitolueno (BHT), por exemplo são aditivos alimentares também com acção antioxidante. Os antioxidantes são também muito importantes no tecido canceroso onde a concentração de tocoferol é muito mais alta que no tecido normal. O anião ascorbato (vit. C - H⁺) actua sinergisticamente com antioxidantes fenólicos como o α-tocoferol. Converte o radical fenoxilo no fenol regenerando assim o antioxidante (esquema 5). Sabe-se que o β-caroteno protege as plantas dos efeitos fotodinâmicos destruidores, durante a fotossíntese. Os peróxidos resultantes da oxidação dos lípidos, também destroem os

ésteres do retinol. Por isso é aconselhável a ingestão de carotenos, precursores da vitamina A. Esta é necessária à regeneração do pigmento visual dos bastonetes da retina mas também protege o revestimento dos tecidos. Em excesso, porém, a vitamina A é tóxica.

Os compostos de enxofre protegem os componentes celulares dos radicais porque formando radicais (RS•) mais estáveis permitem uma reparação ou impedem a formação de ligações cruzadas (esquema 6). Os tióis e dissulfuretos celulares reparam a maioria dos danos anóxicos, mas, em presença de oxigénio a reacção deste com o radical é mais rápida e para evitar lesões devem adicionar-se compostos com enxofre como a mercaptoetilamina (MEA) e a cisteína, entre outros (esquema 6).



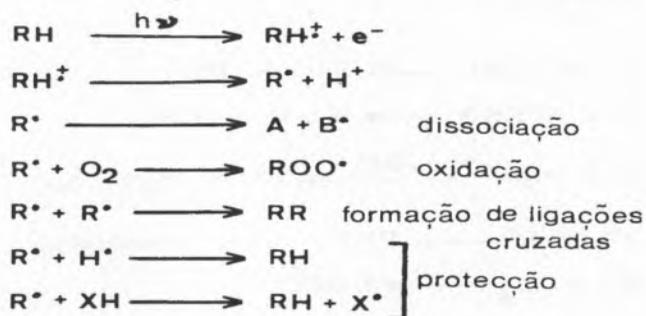
Há ainda a referir a existência de enzimas reparadores da membrana. Um deles é a fosfolipase A₂ que remove ácidos gordos (AG) oxidados dos fosfolípidos da membrana (esquema 7). A perturbação da membrana celular leva à entrada de Cálcio (Ca²⁺) na célula e activa a fosfolipase A₂.



Efeitos da radiação no DNA

Os efeitos produzidos por radiações nas células assemelham-se aos que resultam do ataque de radicais livres.

Quando radiação ionizante incide numa célula, pode provocar a ionização directa de macromoléculas (RH). Finalmente os radicais macromoleculares reagem com outras moléculas ou entre si. Apresentam-se algumas reacções típicas (esquema 8). Os três primeiros tipos de reacção implicam muitas vezes a perda (ou distorção) da função biológica. Podem formar-se ligações cruzadas no DNA, nas proteínas, ou DNA-proteína. Não são necessárias muitas colisões com radicais para que um enzima perca a sua actividade biológica.



esquema 8

Embora aconteça a ionização directa de macromoléculas, o principal efeito da radiação verifica-se nas moléculas de água uma vez que esta constitui cerca de 70 a 80% da massa das células. Os iões produzidos por irradiação da água (H_2O^+ e H_2O^\cdot) dissociam-se e formam H^\cdot e $\cdot\text{OH}$, espécies muito reactivas e responsáveis por ataques com graves consequências, às macromoléculas. O radical hidroxilo é o principal «assassino».

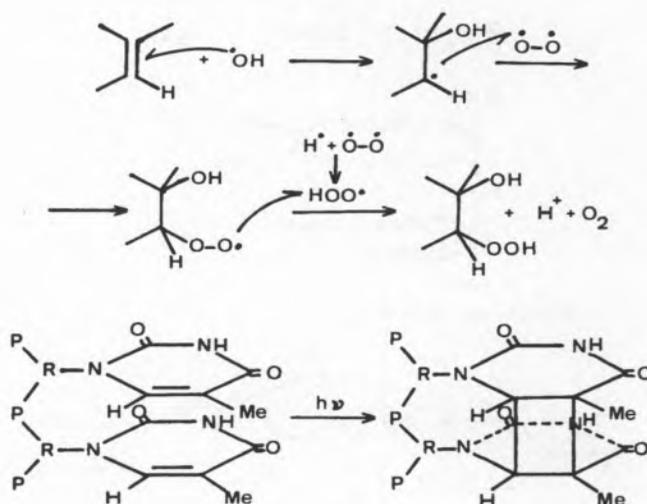
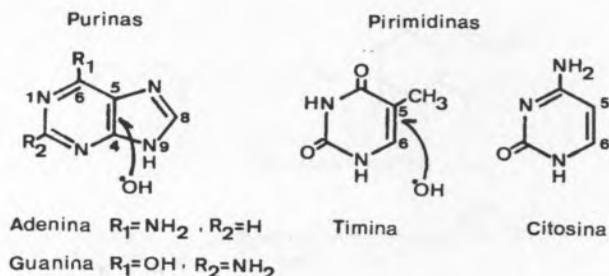
De um modo geral, a radiação não produz ligações cruzadas no colagénico mas, antes estimula a sua síntese.

Os principais efeitos letais da radiação ionizante sobre o DNA parecem dever-se também ao radical hidroxilo.

O ataque ao DNA pode fazer-se às bases ou ao esqueleto. As bases podem sofrer reacções nos grupos exocíclicos, por exemplo, a formação da 8-hidroxiadenina a partir da adenina, resultando daí danos que podem passar despercebidos. As reacções no anel com saturação deste provocam perda de planaridade e distorção da molécula e podem, por isso, ser mais facilmente detectados pelos sistemas de reparação celular. As principais reacções do radical hidroxilo com as bases parecem resultar de adição às ligações duplas (esquema 9).

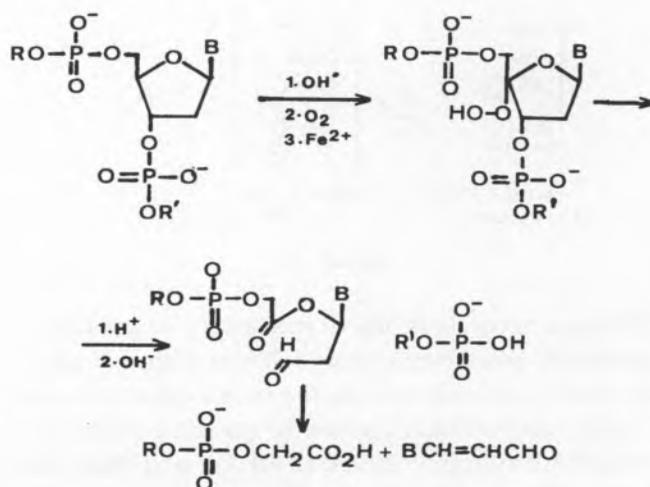
Na ausência de oxigénio predomina a reacção dos radicais entre si. Daí resultam certamente ligações cruzadas no DNA ou DNA-proteínas.

Quando um desoxinucleósido (desoxicitidina) é irradiado em solução aquosa, observa-se que o radical $\cdot\text{OH}$ reage preferencialmente com a base. No entanto as reacções com o açúcar são importantes porque provocam cortes no esqueleto do DNA. Estas lesões no esqueleto do DNA poderão ser



esquema 9

reparadas pela DNA ligase. É provável que o ataque do $\cdot\text{OH}$ comece pela remoção de H^\cdot de um dos carbonos (2,3,4 ou 5) do açúcar. Os produtos principais correspondem à excisão do açúcar mas já foram isolados produtos com açúcar danificado ligado a um dos grupos fosfato terminais.



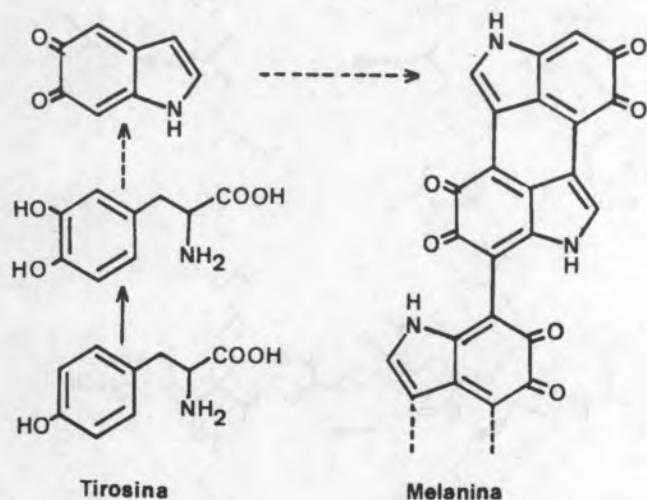
esquema 10

O principal efeito da radiação ultravioleta sobre o DNA consiste na formação de dímeros de pirimidinas, sendo o da timina o que se forma mais facilmente (esquema 9). O sol do meio dia é responsável pela formação destes dímeros nas células da pele expostas à radiação. A existência destes dímeros bloqueia a acção da DNA polimerase e impede a replicação. Há mecanismos de reparação para este tipo de lesão, mas se forem deficientes desenvolve-se cancro da pele.

Pigmentos da idade

Uma ligação entre a peroxidação dos lípidos e o envelhecimento encontra-se na química dos pigmentos da idade. Estes materiais, uma espécie de lixo da célula, são compostos castanhos fluorescentes que se acumulam lentamente nas células que não são regularmente substituídas tais como as células não divisíveis do coração, sistema nervoso e pulmões.

Os pigmentos da idade consistem aproximadamente de 60% de proteína, 25% lípido e 15% hidrato de carbono e as reacções radiculares parecem ser importantes na sua produção. Os fragmentos lipídicos apresentam-se peroxidados e as proteínas com ligações cruzadas. Os componentes corados destes pigmentos pertencem em vários casos, aos compostos do tipo da melanina. As melaninas (esquema 11) são redes poliméricas e dão sinal em RPE.



esquema 11

Teoria do deutério

Foi sugerido que o enriquecimento gradual em deutério (por troca com ^2H existente na água) das moléculas biológicas vai tornar as reacções bioquímicas cada vez mais lentas.

O equilíbrio ceto-enólico, seguido da redução do grupo carbonilo seria um dos processos de incorporação de deutério em posições em que se tornaria difícil trocá-lo de novo.

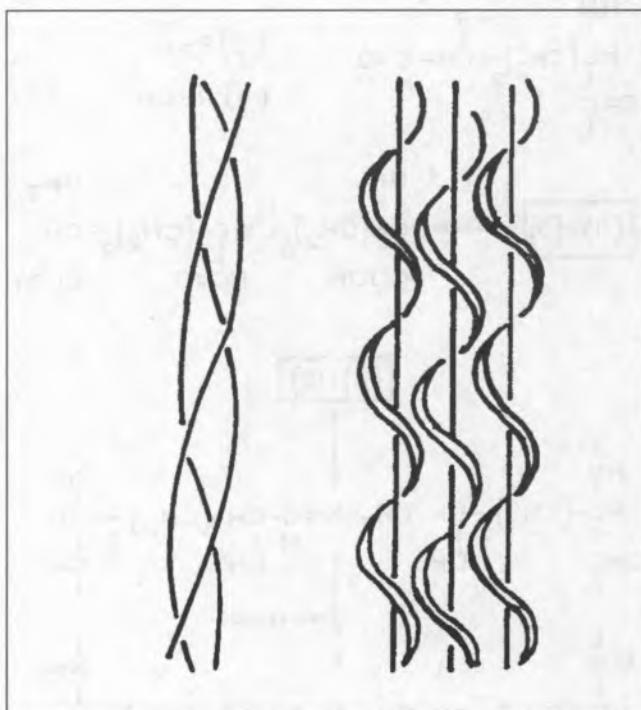
Esta teoria poderia explicar a acumulação de pequenos erros, a produção de proteínas imperfeitas e o funcionamento gradualmente mais lento das células.

Colagéneo. Ligações cruzadas no colagéneo

O colagéneo é a proteína mais vulgar nos animais superiores aparecendo em quase todos os tecidos: pele, tendões, ossos e dentes, vasos sanguíneos, pulmões, cartilagens, válvulas cardíacas, córnea, etc.

A renovação do colagéneo é muito lenta na maior parte dos tecidos adultos, por isso, alterações progressivas da estrutura do colagéneo (por exemplo, aumento das ligações cruzadas) vão reflectir-se no modo como esses tecidos vão actuar.

Como foi referido já, as moléculas de colagéneo apresentam funções diversas e por isso têm de diferir na constituição química. De facto, o colagéneo descreve uma «família» de moléculas (pelo menos cinco tipos geneticamente distintos) que têm em comum uma tripla hélice direita de 3 subunidades polipeptídicas que são hélices esquerdas (figura).

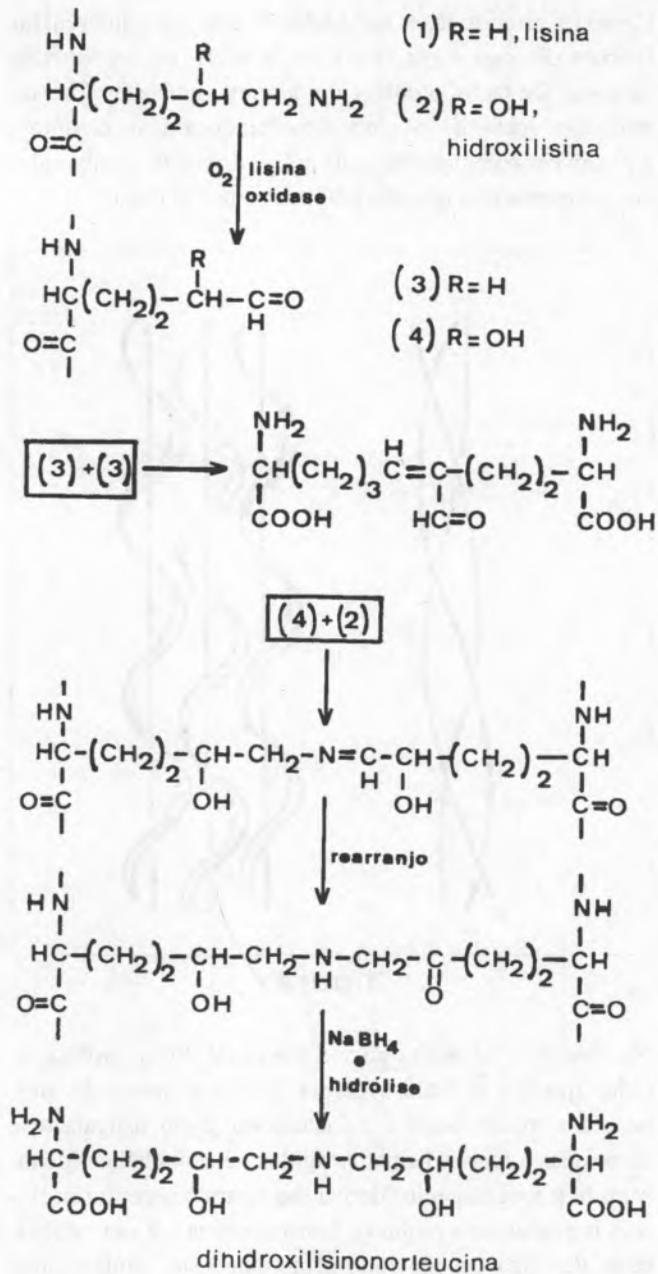


figura

No colagéneo há muita glicina (cerca de 20%), prolina, 4-hidroxiprolina e 5-hidroxilisina, outros resíduos de aminoácidos modificados e galactose ou β -glucosilgalactose associadas à hidroxilisina. A rigidez da tripla hélice (denominada tropocolagéneo) deriva das restrições conformacionais impostas pela prolina e hidroxiprolina e a sua estabilidade das ligações de hidrogénio que estes aminoácidos podem estabelecer.

Dentro de cada tipo genético de colagéneo continua a existir heterogeneidade química. Diferenças na composição em aminoácidos modificados, no grau de hidroxilação, no conteúdo de açúcar e de ligações cruzadas dependem da função do tecido, da idade e do estado hormonal do indivíduo.

Embora se disponha apenas de 20 aminoácidos para construir as proteínas, identificaram-se cerca de 140 aminoácidos e seus derivados como constituintes de proteínas diferentes, em vários organismos. Isso é devido a modificações que esses aminoácidos sofrem depois da fase de tradução. Algumas reacções de modificação têm lógica porque tornam possíveis determinados processos biológicos, outras continuam sem explicação. Exemplos dessas reacções são: a hidroxilação de resíduos de prolina e lisina, a reacção da hidroxilisina com açúcares e a conversão das cadeias laterais de lisina e hidroxilisina em aldeídos. Esta última conversão é uma desaminação oxidativa catalizada pela lisina oxidase (esquema 12).



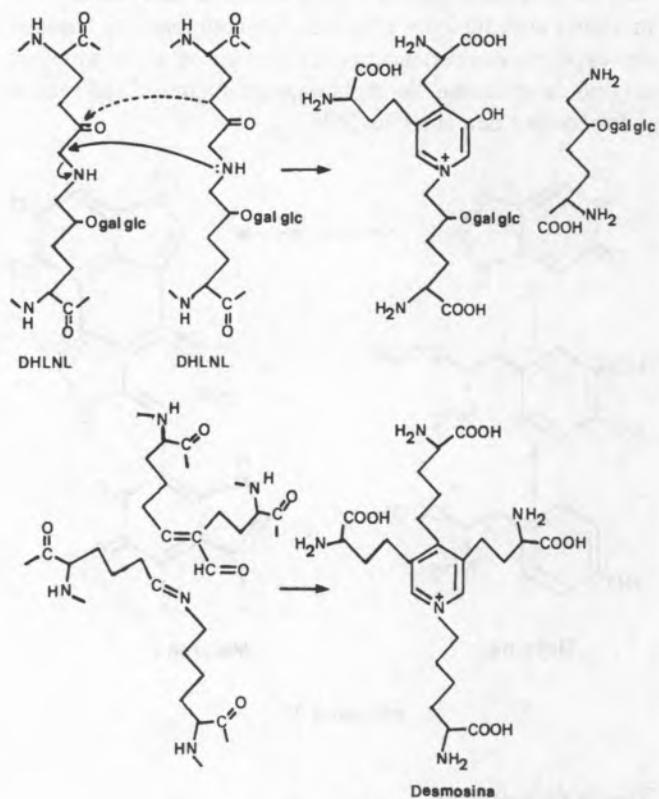
esquema 12

Podem surgir vários tipos de ligações cruzadas no colagénio, sendo os grupos amina e aldeído os principais responsáveis. Por isso as reacções mais frequentes são a condensação aldólica e a formação de bases de Schiff e também a adição de Michael.

A maior parte dos aminoácidos envolvidos nessas ligações cruzadas foram identificados por redução com Na B³H₄ seguida de hidrólise ácida e cromatografia de troca iónica. Dão-se alguns exemplos de ligações cruzadas. No esquema 12 apresenta-se uma ligação cruzada de tipo aldol que é abundante nos tendões e na pele.

A dihidroxilisisonorleucina (DHLNL) é o principal composto marcado com trítio quando se trata colagénio do osso ou cartilagem com Na B³H₄. Esta ligação cruzada deriva de dois resíduos de hidroxilisina e é bastante estável mesmo antes da redução porque a aldimina inicial rearranja a uma cetamina. A maior parte do composto surge glicosilado (como derivados galactosilo ou glucosilgalactosilo).

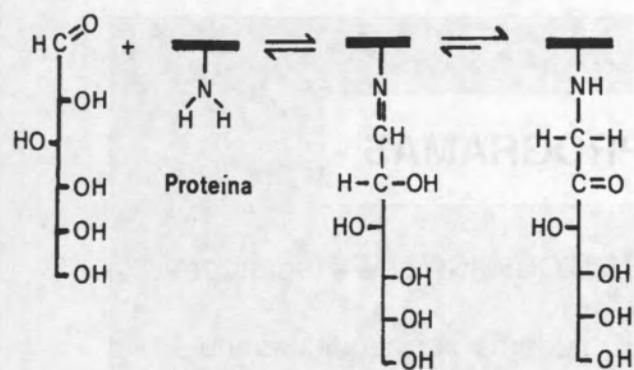
As ligações cruzadas redutíveis desaparecem gradualmente dos tecidos conjuntivos adultos, o que sugere que são intermediários com vida longa mas que podem ainda reagir. Surgem assim novas ligações cruzadas que podem isolar-se sem recorrer a redução prévia. Um exemplo disso é a ligação cruzada – desmosina – na elastina (esquema 13). Recentemente foi isolada do colagénio uma ligação cruzada fluorescente que é um composto de 3-hidroxipiridínio que se supõe derivar de 3 resíduos de hidroxilisina (esquema 13). Provou-se que este composto se torna mais abundante com a idade, enquanto a dihidroxilisisonorleucina (DHLNL) diminui, o que sugere que seja este o precursor.



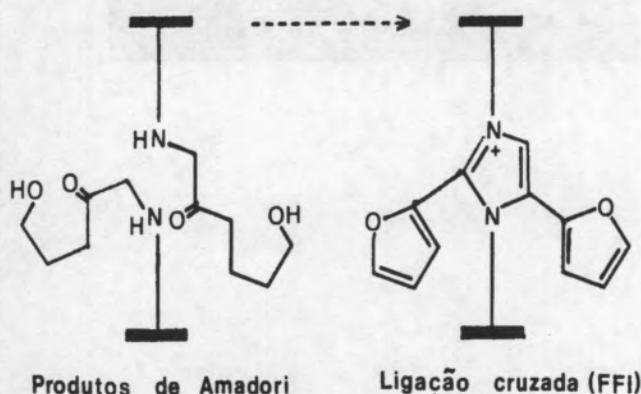
esquema 13

Mencionam-se em último lugar as ligações cruzadas envolvendo açúcares. Os açúcares podem formar bases de Schiff com os grupos NH₂ disponíveis nas proteínas (e. g. lisina) e foram isolados do colagénio vários desses produtos (na forma reduzida).

A base de Schiff inicialmente formada tautomeriza e converte-se no chamado produto de Amadori (esquema 14). Alguns destes produtos sofrem desidratação e rearranjos, lentamente, dando estruturas estáveis de cor castanha amarelada e fluorescentes. Às vezes dois produtos de Amadori podem reagir entre si formando ligações cruzadas. A ligação 2-furanil-4(5)-(2-furanil)-1H-imidazola (FFI) foi encontrada no corpo humano. Assim, a ligação química da glucose (ou outros açúcares) a proteínas pode provocar alterações permanentes nestas e contribuir para o envelhecimento. Encontra-se nos diabéticos uma maior quantidade de produtos de Amadori. O efeito da diabetes em muitos órgãos e tecidos é semelhante a um envelhecimento acelerado pois as complicações resultantes (catarratas, aterosclerose e rigidez das articulações) são idênticas às dos idosos.



Glucose



Produtos de Amadori

Ligação cruzada (FFI)

esquema 14

Supõe-se que o colagénio alterado pela glucose facilita ainda a formação de ligações dissulfureto e a retenção de lipoproteínas de baixa densidade que se vão acumulando nas placas ateroscleróticas.

Referências

Ligações cruzadas no colagénio

- D. R. Eyre, *Science*, 1980, **207**, 1315-1322.
- B. W. Bycroft and A. A. Highton in «The Chemistry of Natural Products», ed. R. H. Thomson, Blackie, Glasgow, 1985, 285-288.
- T. P. Coultate, «Food, the Chemistry of its components», R. S. C. Paperbacks, London, 1984, 93-95.
- M. L. Tanzer, *Science*, 1973, **180**, 561-566.

Ligações cruzadas/glucose

- A. Cerami, H. Vlassara and M. Brownlee, *Sci. Amer.*, 1987, May, 82-88.

Deutério

- T. R. Griffiths, *Mechanisms of Ageing and Development*, 1973, **2**, 295-307.

Radicais livres

- R. Nudd and D. Wilkie, *Chem. Brit.*, 1983, **19**, (11), 911-913.
- D. T. Sawyer, *Chem. Tech.*, 1988, 369-375.
- G. Scott, *Chem. Brit.*, 1985, 648-653.
- T. P. Coultate, «Food, the Chemistry of its components», Royal Society of Chemistry paperbacks, London, 1984, 93-94, 42-68.
- F. J. G. M. van Kuijk, A. Sevanian, G. J. Handelman and E. A. Dratz, *Trends in Biochem. Sciences*, 1987, **12**, 31-34.
- L. Paker and J. Walton, *Chem. Tech.*, 1977, 276-281.
- D. Harman in «Free radicals in Biology», W. A. Prior (ed.), vol 5, chap. 8, Academic Press, New York, 1982.
- J. F. Ward, *J. Chem. Educ.*, 1981, **58** (2), 135-9.
- R. L. Clough, B. G. Yee and C. S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101 (3), 683.
- C. W. Lawrence, «Cellular Radiobiology», Edward Arnold Publ. Ltd., London, 1971.
- M. B. Davies, I. J. S. Fiddes and D. A. Partridge, *Educ. Chem.*, 1986, March, 39-42.
- L. Giloni, M. Takeshita, F. Johnson, C. Iden and A. P. Grollman, *J. Biol. Chem.*, 1981, **256** (16), 8608-8615.

Bibliografia Geral

- J. J. R. Fraústo da Silva, «Introdução à Química da Vida», Universidade Nova de Lisboa, 1985.
- L. da Silva Campos, «Manual de Bioquímica», Publicações Europa-América.

**ELEVENTH
INTERNATIONAL CONFERENCE
ON CHEMICAL EDUCATION**

25-30 August 1991

University of York
York, U.K.



BRINGING CHEMISTRY TO LIFE

Organizado pelo Committee on Teaching of Chemistry da International Union of Pure and Applied Chemistry e a Royal Society of Chemistry em conjugação com a UNESCO e a ASE.

Para mais informações contactar: Dr. J.F. Gibson
The Royal Society of Chemistry
Burlington House, Piccadilly
London W1V 0BN
Grã-Bretanha

BIBLIOTECA DE PROGRAMAS

A secção temática **COMPUTADORES EM QUÍMICA** está a organizar uma **BIBLIOTECA DE PROGRAMAS**.

Os programas (em disquetes de 5.25") poderão ser adquiridos mediante o envio de um cheque de 500\$00 (para pagamento da disquete e portes de Correio) dirigido à Sociedade Portuguesa de Química.

PROGRAMAS DISPONÍVEIS:

- 1 – Simulação de uma Curva de Titulação
Ácido Fraco – Base Forte
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., 1985, **22**, 67)
- 2 – Determinação Computacional da Temperatura Crítica Superior de Solução
de uma Mistura Líquida Binária
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., 1988, **34**, 19)
- 3 – Determinação Computacional de Funções Termodinâmicas de Activação a
partir da Equação de Everett e Wynne-Jones
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., **34**, 19)
- 4 – Um Programa de Cálculo do Modelo de Hückel em Microcomputador
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., 1986; **33**, 26;
dispomos de versões para os micros Apple IIe e Apple IIc e encontra-se já em
preparação uma versão destinada a ser utilizada com MS-DOS)