



Ferro e Estabilidade Genômica: Uma Análise Nutrigenômica dos Efeitos da Deficiência e da Sobrecarga

Prá, Daniel; Henriques, João Antônio Pegas.

Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular - UFRGS

Introdução

A deficiência de ferro, quando severa denominada de anemia, é a deficiência nutricional mais comum globalmente, em especial nos países em desenvolvimento. A deficiência de ferro há muito tempo tem sido relacionada à diminuição da atividade do sistema imunológico e da capacidade de trabalho. Mais recentemente, o excesso de ferro tem sido associado ao aumento do risco de doenças crônico-degenerativas e de câncer. Existem evidências inconclusivas de que a carência de ferro poderia elevar o nível de danos no DNA. Mais ainda, com base nesse conceito pode-se pensar na hipótese de que a carência de ferro eleve a suscetibilidade ao câncer, especialmente nos tecidos que sofrem efeitos mais severos da carência de ferro. Portanto, os **primeiros objetivos** deste trabalho foram: (a) avaliar experimentalmente quais as repercussões da deficiência de ferro na estabilidade genômica em crianças e adolescentes; e (b) revisar a literatura acerca da associação entre a deficiência de ferro e o risco de câncer no trato gastrointestinal. Outro aspecto que não pode ser negligenciado é o fato de que o ferro é extremamente pró-oxidante nos sistemas biológicos, como no caso da anemia falciforme, e que a toxicidade de sua sobrecarga endógena precisa ser avaliada. Com efeito, o **segundo objetivo** deste trabalho foi avaliar tais efeitos em humanos com anemia falciforme (sobrecarga endógena) e em camundongos suplementados com ferro (sobrecarga exógena). A resposta ao problema global de carência de ferro está centrada no tratamento com doses profiláticas de ferro e a um incremento contínuo da oferta de ferro na dieta (p.ex. programas de suplementação nas farinhas e suplementos nutricionais), o que tem impacto ainda desconhecido sobre a estabilidade genômica. Daí emerge o **terceiro objetivo** desse estudo: avaliar se a vitamina C, o suco de laranja ou uma dieta rica em antioxidantes poderia diminuir a toxicidade ao DNA gerada pela suplementação com ferro. Soma-se a esse objetivo, avaliar se o composto quelante de ferro desferoxamida ou a vitamina C (vitamina chave na biodisponibilização do ferro não heme) administrados na fase adulta podem melhorar os efeitos de perda de memória e dano no DNA induzidos por um tratamento com ferro no período perinatal em ratos, uma vez que o mal de Parkinson e Alzheimer têm progressão lenta e emergência tardia e estão associados ao acúmulo de ferro no cérebro. O **quarto objetivo** do trabalho foi definir a concentração ideal de ferro para células em cultura, em paralelo a avaliação de marcadores nucleares e mitocondriais de estabilidade genômica e da análise da expressão de genes ferro-dependentes envolvidos no reparo de DNA.

Objetivo

Em resumo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito para a instabilidade genômica da deficiência e do excesso de ferro em modelos murinos e grupos populacionais humanos (crianças com alta vulnerabilidade: deficiência; pacientes de anemia falciforme: excesso), testar estratégias para reduzir a toxicidade do ferro para a memória e para o DNA (pela administração de alimentos, vitaminas e medicamentos), e, finalmente, determinar qual a dose ideal de ferro para manter a estabilidade genômica de células em cultura.

Metodologia

As metodologias principais empregadas foram: ensaios cometa neutro e alcalino, para avaliação de danos primários ao DNA; teste de micronúcleos em medula óssea de camundongos e em células em cultura citocinese-bloqueadas para determinação de clastogenênese/aneugênese; *Particle Induced X-ray Emission* (PIXE) para avaliação do nível de ferro nos tecidos; *polimerase chain-reaction* quantitativo em tempo real (QRT-PCR) para avaliação do comprimento de telômeros e do número de cópias do genoma mitocondrial e nível de expressão de genes de reparo de DNA. Adicionalmente, testes de memória foram utilizados em ratos e avaliações do consumo de nutrientes foram empregados nas crianças e adolescentes com carência de ferro.

Resultados



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

Os resultados da pesquisa apontam um aumento de danos no DNA, tanto em situações de excesso como de deficiência de ferro. Para o caso da deficiência de ferro, observou-se em crianças e adolescentes avaliados um padrão geral de má-alimentação, marcado pela carência de várias vitaminas, especialmente ácido fólico e niacina e incidência de verminoses. A revisão apontou evidências preliminares do aumento do risco de câncer no trato intestinal em função de baixa ingestão de ferro, e uma quantidade de ferro ideal para minimizar este risco (20 mg/dia Fe, valor maior do que as recomendações nutricionais atuais para humanos). Os mecanismos associados ao risco aumentado incluem desequilíbrio nas respostas imunes contra células malignas, no metabolismo de compostos tóxicos, bem como na regulação redox e na biossíntese e reparo do DNA. Quanto às estratégias para reduzir a toxicidade do ferro, os resultados indicam que a vitamina C, comumente associada à suplementação com ferro, pode aumentar a toxicidade de ferro e é inefetiva para reduzir o déficit de memória induzido desse metal. O suco de laranja, uma alternativa saudável à vitamina C no aumento da biodisponibilidade do ferro não heme, parece ser mais adequada para reduzir a toxicidade do composto, da mesma forma que a dieta rica em antioxidantes testada. O quelante de ferro mais empregado globalmente (desferoxamida) foi efetivo em reverter o déficit de memória e os danos induzidos pelo ferro. Quanto à definição da dose ótima de ferro para o cultivo celular, evidenciou-se que a suplementação com ferro a longo-prazo, tanto na forma de sulfato ou como ferro ligado à transferrina pode contribuir no aumento da estabilidade genômica. Esses dados provêm de por metodologias de vanguarda, como comprimento de telômeros e estabilidade mitocondrial acessados por QTRTPCR, e indicam que a concentração ideal de ferro se situa numa faixa bastante estreita (6-20 μM Fe no meio de cultura). A análise da expressão de genes de reparo, executada em paralelo aos experimentos de suplementação com ferro nas células, revelou um novo mecanismo de controle pós-transcricional de genes dos genes WRN e MUTYH, que codificam, respectivamente, para uma DNA helicase e uma DNA glicosilase, ambas contendo ferro.

Discussão

Os resultados ora apresentados visam fornecer subsídios para manter a estabilidade genômica, reduzir o risco de câncer e maximizar a saúde dos indivíduos estudados, sendo aplicáveis globalmente pela da universalidade do cenário de desequilíbrio nutricional de ferro. Os avanços da pesquisa contribuem à incorporação do conceito de estabilidade genômica às recomendações nutricionais, que tradicionalmente sugerem níveis mínimos de nutrientes para diminuir a incidência de doenças associadas à deficiência e não visam deficiências nutricionais sutis e crônicas. Os resultados também contribuem a nutrigenômica: área incipiente de interface entre a genética e a nutrição, que aborda a interação entre os genes e os alimentos e, de uma forma particular, em estudar como os nutrientes afetam o genoma humano. Considerando a possibilidade de efeitos adversos do tratamento de ferro em indivíduos debilitados do ponto de vista bioquímico (p.ex. falta de antioxidantes) e as sugestões de associação entre o aumento da ingestão de ferro e acréscimo na incidência de câncer nos países de primeiro mundo, faz-se necessária uma definição parcimoniosa da melhor estratégia de suplementação/tratamento com ferro, no intuito de evitar instabilidade genômica em indivíduos com alimentação depauperada em nutrientes fundamentais à estabilidade genômica. Os resultados dos estudos *in vitro* desenvolvidos neste trabalho auxiliam no desenvolvimento de meios de cultura fisiológicos, lançam luzes sobre o problema da definição dos níveis ótimos de ferro para maximização da estabilidade genômica (p.ex. para células-tronco e protocolos de transplante) e evidenciam um novo mecanismo de controle do ferro sobre a expressão de genes de reparo de DNA.