

3

Ligantes

3.1.

Penicilamina

A Penicilamina, mostrada na figura 5, também conhecida por dimetilcisteína ou ácido 2-amino-3-mercaptopropiónico, é um aminoácido sulfurado pertencente à família dos aminotióis, que tem um grupo tiol em sua cadeia lateral.^{6,16,17} A mesma tem três grupos funcionais: uma alfa-amina, uma carboxila e uma sulfidril, que determinam seus efeitos farmacológicos.¹⁶ Ela é o principal produto da decomposição do antibiótico penicilina, como é sugerido pelo seu nome.^{16,17}

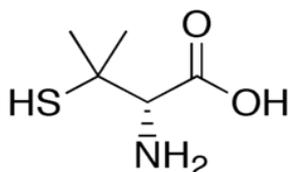


Figura 5: Estrutura da penicilamina.

A mesma pode ser preparada pela degradação hidrolítica da penicilina ou ser sintetizada quimicamente, existindo duas formas enantioméricas: D e L.^{6,16} No entanto, somente a forma do tipo D tem finalidade clínica, já que a outra apresenta uma excessiva toxicidade. A forma L é uma antagonista piridoxina, que a partir da reação com piridoxal forma um anel tiazolidina que causa deficiência na vitamina B 6.^{16,18}

Após a administração, cerca de dois terços dela são absorvidos, o que indica uma biodisponibilidade que fica entre 40-70%.^{16,18} Apesar disso, a disponibilidade é significativamente afetada se a penicilamina for ingerida com preparações de ferro, antiácidos ou alimentos.⁶

No organismo, a penicilamina é rapidamente oxidada para formar vários dissulfetos.⁶ Com cerca de menos de uma hora, que é o tempo de meia-vida da penicilamina, ocorre a formação de certas espécies com a albumina do plasma ou com tióis de baixa massa molecular,¹⁶ tais como cisteína, homocisteína,

glutathione e a própria penicilamina. Os primeiros dissulfetos têm um tempo de meia vida maior, fato que implica pequena acumulação; já os últimos constituem os maiores metabólitos urinários.¹⁶

3.1.1. Aplicações

A D-penicilamina é principalmente usada no tratamento de artrite reumatóide, doença de Wilson e cisteinúria.^{6,16}

No que se refere ao tratamento da artrite reumatóide, ela tem sido usada por mais de 30 anos, tendo se mostrado um efetivo agente modificador da doença, melhorando muito índices clínicos e laboratoriais da mesma.⁶ Apesar desse tempo de uso, seu mecanismo de ação permanece desconhecido.¹⁸

Estudos *in vitro* mostram um potencial efeito imunomodulador, bem como uma ação direta nos sítios de inflamação,⁶ fato relacionado a seu efeito positivo no combate à artrite reumatóide. Ela pode também atuar nos sítios de inflamação enfraquecendo a proliferação de fibroblastos e a formação do pannus⁶, que é um tecido inflamatório que forma uma faixa sobre a cartilagem articular e que é observado em certas artrites crônicas. Outros estudos apontam que a mesma tem ação protetora no que se refere à formação de radicais livres liberados pelos neutrófilos ativados e que inibe a enzima granular mieloperoxidase, reduzindo o dano no tecido.^{6,18}

Ela é um forte agente quelante, que reage com a maioria dos metais pesados, em especial com aqueles que têm afinidade pelo enxofre, fato que reflete a sua importância farmacêutica.¹⁹ Seu efeito de quelação tem sido usado, por longo tempo, no tratamento da doença de Wilson e envenenamento por metais pesados.

A habilidade de se ligar a metais é sugerida ser fundamental para sua melhor eficácia no tratamento da doença de Wilson, que é uma desordem autossômica de caráter recessivo associada ao acúmulo de cobre nas proteínas presentes nos tecidos cerebrais e hepáticos.⁷ A D-penicilamina atua por quelação redutiva. Isso quer dizer que ela reduz o cobre ligado às proteínas, que vai de Cu(II) para Cu(I). A redução, por sua vez, é acompanhada por uma mudança na preferência geométrica, que antes era quadrático-plana, para uma

tetraédrica, além de uma mudança na carga global. Essas mudanças são menos favoráveis para a ligação à proteína, o que causa a diminuição da afinidade da proteína pelo cobre, permitindo a ligação da D-penicilamina ao íon metálico.^{7,18}

O imediato e mais marcante efeito da administração da D-penicilamina na terapia para a doença de Wilson é o aumento da excreção imediata de cobre. Em pacientes no começo do tratamento, a excreção é maior que 1000 µg/dia e, após isso, atinge valores de 4000-5000 µg/dia. Continuando o tratamento, a excreção se reduz gradualmente de modo que, 3 a 4 meses depois, a taxa é de 1000 µg/dia. A partir desse ponto, o paciente alcança a fase de manutenção da terapia.¹⁸

3.1.2. Toxicidade

A toxicidade é a causa mais comum para a descontinuidade da terapia com penicilamina, com um aumento de 45% de eventuais interrupções, podendo aparecer em qualquer momento durante o tratamento e, apesar de existir uma relação entre dose e frequência de efeitos colaterais, mesmo pequenas doses podem levar a potenciais reações adversas fatais.⁶

Entre os principais efeitos colaterais ocasionados pelo seu uso destacam-se: alterações mucocutâneas, como úlceras bucais, urticária e pênfigo, que é o aparecimento de bolhas na pele e membrana mucosa; gastrointestinais, como náuseas e disgeusia, que é a perda ou diminuição do paladar; renais, como proteinúria e glomerulonefrite; hematológica, como a trombocitopenia, leucopenia e anemia aplástica e autoimune, como miastenia gravis, poliosite e pênfigo.^{6,21}

Dentre essas, a toxicidade hematológica é a responsável pelas principais mortes associadas à penicilamina, sendo de grande importância um monitoramento hematológico constante. Apesar disso, a fatalidade é rara, sendo geralmente atribuída a quadros de neutropenia. A trombocitopenia é o tipo mais comum de toxicidade hematológica; no entanto, ela tem efeitos menos sérios.⁶

3.2. Glutathiona

A glutathiona, mostrada na figura 6, é o tripeptídeo L- γ -glutamil-L-cisteinil-glicina ou GSH, e é considerada o mais predominante e importante composto sulfidril/tiol não proteico presente nas células de mamíferos, com uma concentração que varia de 1 a 5 mM.^{21,22} Ela é sintetizada em duas etapas consecutivas, catalisadas pelas enzimas γ -glutamil-cisteína sintetase e glutathiona sintetase, a partir do L-glutamato, L-cisteína e glicina. Nesse processo sintético, uma molécula de ATP é quebrada para fornecer ADP e fosfato para cada ligação peptídica gerada,²² conforme se verifica na figura 7.

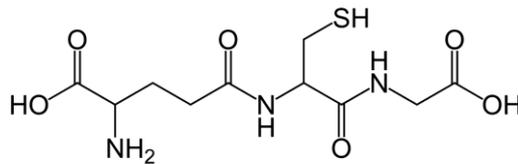


Figura 6: Estrutura da glutathiona.

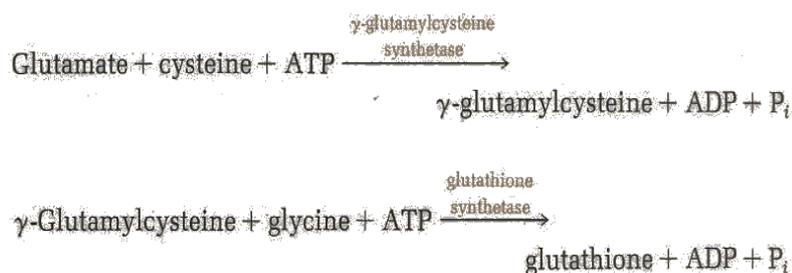


Figura 7: Esquema da síntese biológica da glutathiona.²²

O peptídeo se apresenta na forma reduzida (GSH) ou como um dímero oxidado denominado dissulfeto de glutathiona (GSSG), mostrado na figura 8, sendo a fração de predominância da GSH em relação a GSSG igual a 98:2, aproximadamente. A primeira forma está relacionada a uma forte modulação do

estado redox celular, fato indispensável à vida da célula, enquanto que a segunda é formada em reações antioxidantes que envolvem GSH, podendo se acumular com o aumento do processo oxidativo na mesma.²¹

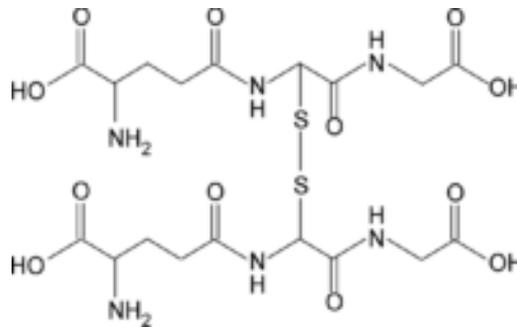


Figura 8: Glutathiona oxidada (GSSG).

A interconversão entre as espécies GSH e GSSG é propiciada pela ação de duas enzimas: glutathiona peroxidase (GSH-Px) e glutathiona redutase (GSH-R), conforme mostrado na figura 9. O potencial de oxidação relacionado ao processo, em pH 7, é -0,25 V.²²

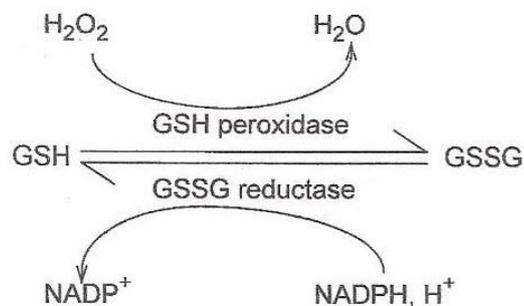


Figura 9: Interconversão entre GSH e GSSG.²²

3.2.1. Aplicações

Nos tecidos animais, a glutathiona serve como componente no sistema de transporte de aminoácidos, como ativador de certas enzimas, além de sua proteção contra a auto-oxidação de lipídeos.²² Além disso, ela se encontra

associada a quatro importantes funções, que são: antitóxica, antioxidante, moduladora e pró-oxidante.²³

No que se refere a primeira, pode ser destacado o fato de a mesma ser uma das mais eficientes ferramentas exploradas pelas células a fim de ocasionar desintoxicação de drogas e xenobióticos, que são compostos químicos estranhos a um organismo ou sistema biológico. Essa característica está relacionada ao fato da GSH poder atuar seja como um nucleófilo ou como um redutor, o que possibilita sua reação com espécies eletrofílicas ou oxidantes antes que as mesmas causem danos às macromoléculas celulares.²⁴

A ação oxidante está fortemente atrelada à capacidade da GSH reagir com radicais livres. Esses podem ser gerados a partir de uma variedade de processos, que podem incluir a fosforilação oxidativa, produção de β -amiloide e mesmo no processo de desintoxicação celular, tendo em vista que muitas das drogas e xenobióticos combatidos através da glutathione são, naturalmente, oxidantes, capazes, portanto, de gerar danos celulares.^{21,23} Um efeito de destaque para o GSH é sua ação contra o radical hidroxila, que apesar de não ter agentes enzimáticos capazes de combatê-los, são atacados pela glutathione.²¹

Nas células, existe um grande número de proteínas que possuem resíduos de cisteína acessíveis, os quais são propensos a reações redox, dependendo das condições intra e extracelulares. Devido à ação antioxidante de GSH, é possível haver a proteção desses tióis quanto a processos redox que poderiam ser danosos à célula, o que torna a glutathione um agente modulador importante para um vasto tipo de proteínas, como as fosfatases, quinases, bem como aquelas receptoras, transportadoras e dos canais da membrana celular. De fato, algumas pesquisas apontam evidências de que a interação de GSH com proteínas, processo denominado S-glutathionação de proteína, ocorra em várias situações fisiológicas relevantes, fazendo com que ela tenha implicações sobre a função proteica.²³ (Falar das metalotioneínas)

A ação pró-oxidante está relacionada ao fato da GSH ser capaz de se ligar a cátions metálicos, fato muito usado pelas células no processo de transporte e liberação de metais. Compostos com tióis, especialmente quando estão dissociados na forma de tiolato ($R-S^-$), podem efetuar a redução de metais, como ferro e cobre. Neste processo, elétrons podem ser transferidos do íon metálico para o oxigênio molecular, gerando ânions superóxido que se

dismutarão, ou seja, sofrerão uma reação auto-redox, gerando peróxido de hidrogênio.²³

A eficiência de compostos tióis para ocasionar a redução metálica está relacionada ao pKa dos grupos tióis presentes no composto, ou seja, sua facilidade de se dissociar, formando grupos desprotonados. Tendo isso em vista, a glutatona é bem menos eficiente quando comparada a outros tióis, sendo isso relacionado à proximidade do grupo SH da cisteína ao grupo α -carboxil do ácido glutâmico. Se houver remoção do mesmo, há um significativo aumento na habilidade redutora de metais, implicando a promoção de processos oxidativos.²³

Outra característica relacionada à função pró-oxidante é a capacidade da GSH se combinar com o radical livre óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$) para formar S-nitrosoglutationa (GSNO), servindo como uma forma de transporte para esse radical, que é um potente pró-oxidante relacionado a muitas condições fisiopatológicas.²³

A figura 10 mostra, de forma concisa, os diversos processos relacionados à participação de GSH na homeostase celular.

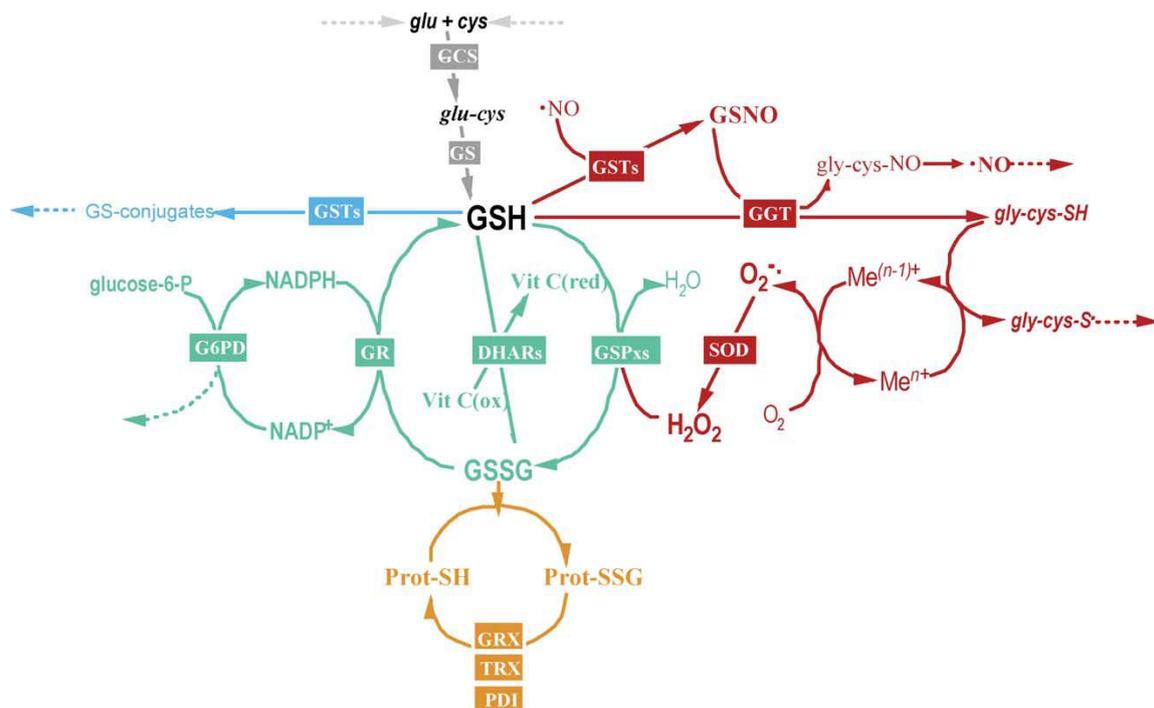


Figura 10: Esquema mostrando as interrelações das várias funções desempenhadas por GSH na homeostase celular: antitóxica (azul), antioxidante (verde), pró-oxidante (vermelho), modulador (amarelo). Abreviações: γ -GCS, gama-glutamyl-cisteína sintetase; DHARs, desidroascorbato redutases; G6PD, glucose 6-fosfato desidrogenase; GPxs, glutatona peroxidases; GR, glutatona redutase; GRX, glutaredoxina; GS, glutatona sintetase; GSNO, S-nitrosoglutatona; GSTs, glutatona S-transferases; Me, metal; PDI, proteína dissulfeto isomerase; SOD, superóxido dismutase; TRX, tioredoxina²³

3.2.2. Interação entre a glutatona e a cisplatina

Como discutido, a glutatona tem uma ação desintoxicante em diversos processos celulares. No que se refere à cisplatina, tem sido proposto que a GSH atue de forma protetora na célula, de modo a ocasionar a resistência à ação do quimioterápico.^{8,25,26} Isso se baseia na observação de que elevadas concentrações de glutatona (em torno de 10 mM) foram encontradas em algumas células tumorais submetidas a estudo.^{8,25} Entretanto, esta relação não foi observada em todos os casos.²⁵

Essa ação protetora tem sido relacionada com a identificação de um aumento da entrada de glutatona ou de seus produtos de degradação em alguns tecidos que possuem uma grande produção de γ -glutamyl transpeptidase

na superfície de suas membranas, como aqueles presentes nos rins. A partir disso, tem-se atribuído à glutathione o papel de mais provável agente quimioprotetor celular no que se refere à cisplatina.⁸

A resistência se encontra relacionada à ligação do enxofre do grupo tiol à cisplatina, impedindo que esta alcance seu alvo celular (DNA) e forme as ligações cruzadas, predominantemente com as guaninas de um mesmo filamento, de forma a acarretar a inativação da mesma.^{3,25,27,28}

Entretanto, muitos estudos feitos com camundongos têm mostrado que a glutathione, quando administrada antes ou após a terapia com cisplatina, diminui a sua ação tóxica, sem afetar a ação antitumoral.⁸