

2 Natureza das Poliaminas

2.1 Aspectos Químicos

As poliaminas são moléculas que apresentam em sua estrutura grupamentos amino separados por cadeias metilênicas hidrofóbicas. Em geral, as poliaminas apresentam baixa massa molecular e considerável solubilidade em água. Essas moléculas também exibem valores de pK abaixo de 10 e se encontram completamente protonadas em pH fisiológico [6-10]. Abaixo é apresentada a estrutura das cinco poliaminas utilizadas nesta pesquisa, a etilenodiamina (figura 2.1), a diaminopropano (figura 2.2), a diaminobutano (figura 2.3), a espermidina (figura 2.4) e a espermina (figura 2.5). A etilenodiamina, por não ser uma poliamina biológica, é utilizada, neste trabalho, a título de comparação com as demais poliaminas.

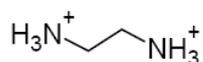


Figura 2.1: Estrutura da 1,2 diaminoetano (Etilenodiamina)



Figura 2.2: Estrutura da 1,3 diaminopropano



Figura 2.3: Estrutura da 1,4 diaminobutano (Putrescina)

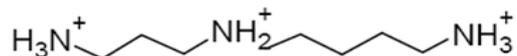


Figura 2.4: Estrutura da N-(3aminopropil)butano-1,4-diamino (Espemidina)

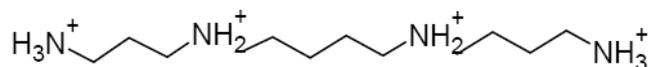


Figura 2.5: Estrutura da N,N'-bis(3aminopropil)butano-1,3-diamino (Espermina)

2.2 Aspectos Biológicos

As poliaminas são moléculas essenciais para o crescimento e funções das células normais, interagindo, no meio biológico, com muitas macromoléculas, tanto eletrostaticamente quanto covalentemente. Como conseqüência dessas variadas formas de interação, as poliaminas desencadeiam uma variedade de efeitos celulares [8-10].

Essas moléculas apresentam importante papel no crescimento e proliferação celular e na síntese de proteínas e ácidos nucléicos. Elas estão também envolvidas na reparação da matriz extracelular, na adesão celular e em certos processos de sinalização [7,12-14]. A complexidade do metabolismo das poliaminas e a infinidade de mecanismos compensatórios que são invocados para a manutenção da homeostase das poliaminas sugerem que estas aminas são críticas para a sobrevivência celular [7,11-14].

Dentre as poliaminas biológicas, as moléculas de ocorrência mais comum são a putrescina, a espermidina e a espermina. Além dessas, um largo número de poliaminas lineares e algumas ramificadas têm sido detectadas em tecidos de mamíferos ou em plantas e microrganismos [9,15,16]. Na tabela 2.1 são apresentadas algumas poliaminas de importância biológica e sua respectiva fórmula química.

Tabela 2.1: Algumas poliaminas biológicas e suas respectivas fórmulas químicas [9]

Nome	Fórmula Química
Diaminopropano	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Putrescina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Cadaverina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$
Norespermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Espermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Aminopropilcadaverina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$
Homoespermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Norespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Termoespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Aminopentilnorespermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$
Espermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Bis(aminopropil)-cadaverina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Aminopropilhomoespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$

Canavalmina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Homoespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Caldopentamina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Aminopropilcanavalmina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Bis(aminopropil)homoespermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Bis(aminobutil)norespermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Aminobutilcanavalmina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Aminopropilhomoespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Homopentamina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
N ⁵ -aminobutilhomoespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Caldohexamina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Homocaldohexamina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Termohexamina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Homotermohexamina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
Agmatina	$\text{NH}_2\text{C}(\text{NH})\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
N ⁶ -metilagmatina	$\text{NH}_2\text{C}(\text{NCH}_3)\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$

A descoberta inicial das poliaminas data de 1678 quando Antonie van Leeuwenhoek isolou alguns cristais do sêmen humano. Contudo, apenas em 1924 foi deduzida a fórmula empírica desses cristais, e só dois anos mais tarde esses compostos foram sintetizados *in vitro*. Os nomes das primeiras poliaminas descobertas, espermidina e espermina, refletem a descoberta inicial [8]. Estudos recentes mostram que essas poliaminas apresentam papel fundamental na espermatogênese e indicam que algumas formas de infertilidade masculina podem estar relacionadas a um erro no metabolismo dessas biomoléculas. A putrescina, por sua vez, foi primeiramente isolada do *Vibrio Cholerae*, mas esta poliamina recebeu este nome por se encontrar em grandes quantidades em carne em decomposição [10-13].

É impressionante saber que, apesar deste inauspicioso início, atualmente, as poliaminas podem ser consideradas como reguladores críticos das células em crescimento, da diferenciação e da morte celular [7-9,17]. Esses importantes ligantes são encontrados em praticamente todas as espécies viventes, com raras exceções. Esta conservação através da evolução é uma característica positiva na argumentação da importância destas moléculas para a sobrevivência celular [10,18].

Evidências sobre as funções das poliaminas podem ser deduzidas a partir da estrutura química desses ligantes. Em pH fisiológico, essas moléculas são positivamente carregadas no grupamento amino primário e secundário e

apresentam valores de pK entre 8 e 10 [7,8,17,19]. Assim, são dominantes as interações eletrostáticas através do grupamento catiônico amino e as interações hidrofóbicas através dos grupamentos metilênicos. A protonação do grupamento amino também introduz rigidez à estrutura molecular da poliamina, uma vez que as cargas positivas em nitrogênios adjacentes fazem com que a amina adote uma orientação estendida com o objetivo de minimizar as repulsões eletrostáticas [19,20,21]. O grau de rigidez, no entanto, está intimamente relacionado com o tamanho da cadeia carbônica entre os grupamentos amino [20,21].

Assim sendo, no meio biológico, as poliaminas podem agir como ligantes em múltiplos sítios do DNA, RNA, proteína, fosfolipídios e nucleotídeo trifosfato [12,22-25]. Enquanto algumas dessas interações podem ser puramente eletrostáticas e facilmente substituídas por cátions inorgânicos, outras são específicas para o comprimento da cadeia carbônica alifática [8].

As cargas positivas das poliaminas permitem que estas moléculas interajam eletrostaticamente com macromoléculas polianiônicas dentro das células [7,8,12-14]. As poliaminas, espermidina e espermina, por exemplo, podem se ligar em sítios do DNA, próximos ou mais distantes, agindo como uma espécie de grampo, segurando duas diferentes moléculas ou duas partes distantes da mesma molécula. Estudos apontam que as poliaminas interagem preferencialmente com uma única molécula de DNA ao invés de interagir com múltiplas [8].

Estudos mostram também que as funções das poliaminas dependem fortemente da carga elétrica que essas moléculas apresentam [17]. A energia ligação decresce da espermina para a espermidina, e tem sido observado que a espermina é mais ativa e a putrescina menos ativa no controle de vários processos biológicos [7].

Além da interação com DNA e RNA, as poliaminas também podem interagir com fosfolipídios em membranas. Em geral, as poliaminas espermidina e espermina, aumentam a rigidez da membrana celular pela formação de complexos com fosfolipídios e proteínas. Essas moléculas também apresentam um papel antioxidante, prevenindo a oxidação lipídica. As poliaminas têm sido relacionadas à regulação de muitas enzimas presentes na membrana celular, incluindo a adenilato ciclase, transglutaminase e também alguns canais iônicos [7,22-25].

Embora os mecanismos de regulação intracelular de poliaminas estejam sendo esclarecidos através de muitos estudos, um entendimento profundo a

nível molecular do papel das poliaminas em células em crescimento ainda é escasso. Entretanto, muitos pesquisadores concordam que os efeitos das poliaminas podem estar completamente relacionados a estimulação da síntese de ácidos nucleicos e proteínas [12,20-27].

Em células normais, os níveis de poliaminas são intrinsecamente controlados por enzimas na biossíntese e no catabolismo. As enzimas envolvidas na biossíntese das poliaminas são a ornitina carboxilase, a s-adenosilmetionina descarboxilase, espermidina isomerase e a espermina isomerase. As enzimas catabólicas incluem a espermidina / espermina acetiltransferase, a poliamina oxidase e a diamina oxidase contendo cobre [9,28]. Anormalidades múltiplas no controle do metabolismo das poliaminas podem ser responsáveis pelos níveis aumentados de poliaminas em células cancerosas em comparação com níveis em células normais [22,23,28].

A biossíntese das poliaminas é estimulada durante resposta celular para a estimulação proliferativa. Todavia, quando o conteúdo celular de poliaminas é excessivo, há uma indução dos sistemas de degradação e excreção, acompanhada pela inibição da biossíntese dessas moléculas [7].

Nas células dos mamíferos, a biossíntese das poliaminas é iniciada com a produção de putrescina pela descarboxilação do aminoácido ornitina através da ação da enzima ornitina descarboxilase. A subsequente adição de um grupo aminopropil à putrescina conduz à síntese de espermidina e outra adição de grupamento aminopropil conduz a formação de espermina. O grupamento aminopropil é derivado da descarboxilação de s-adenosilmetionina através da ação da enzima s-adenosilmetionina descarboxilase [7,17,29].

A enzima s-adenosilmetionina descarboxilase, juntamente com a ornitina descarboxilase, constitui-se como limitadora da biossíntese de poliamina. A adição de grupamentos aminopropil à putrescina e à espermidina é catalisada pelas enzimas espermidina isomerase e espermina isomerase, respectivamente. Os níveis intracelulares das poliaminas são controlados pelo catabolismo, permitindo a conversão de espermina a putrescina. Para esta conversão, a espermidina e a espermina são acetiladas pela espermidina / espermina acetiltransferase. A espermina acetilada é clivada em espermidina através da ação de uma flavina adenina dinucleotídeo dependente de poliamina oxidase [7,17]. Na figura 2.6 é possível observar um esquema da biossíntese das poliaminas e na figura 2.7 um esquema da degradação dessas moléculas [11].

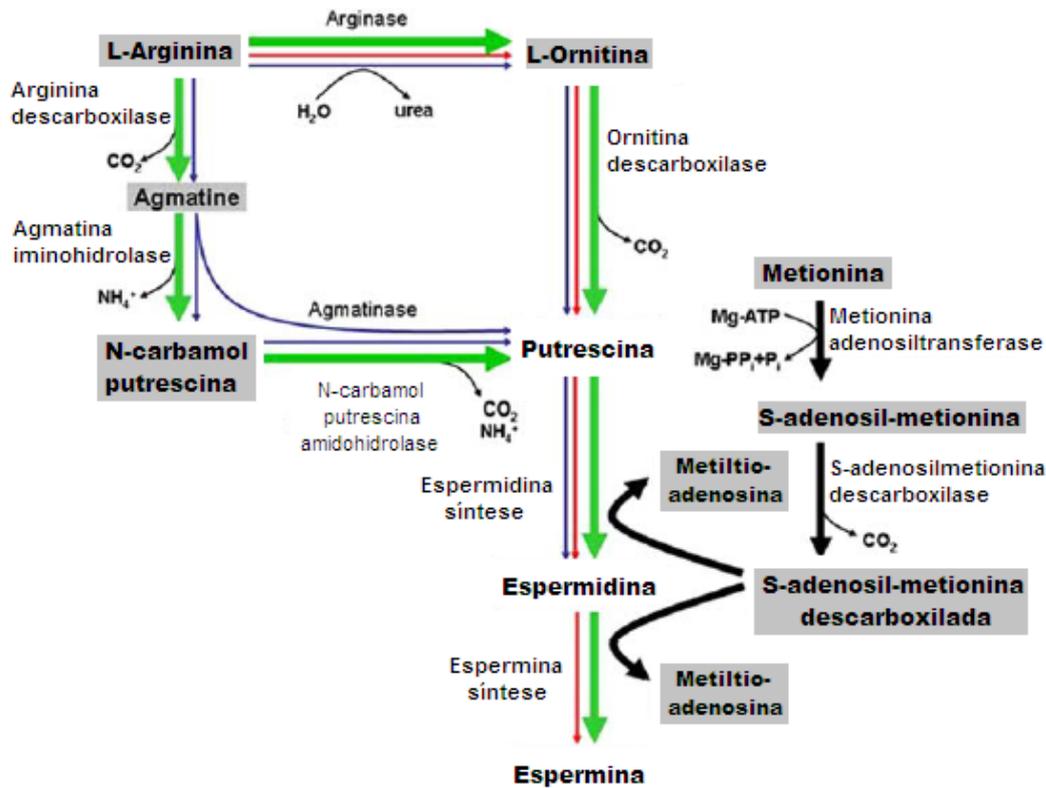


Figura 2.6: Biossíntese das poliaminas [11]

Além do catabolismo, uma das principais maneiras pela qual o conteúdo intracelular de poliaminas é também regulado é através do transporte [7,8,29]. O transporte é estimulado pela redução do conteúdo intracelular de poliamina decorrente, por exemplo, da inibição da enzima ornitina descarboxilase. Nessas circunstâncias, o suprimento de poliamina exógena tende a migrar causando um rápido aumento na concentração de poliamina intracelular. Com a normalização do conteúdo intracelular, há uma inibição do transporte. O transporte de poliaminas tem sido bem caracterizado em bactérias, mas não em mamíferos [7,17].

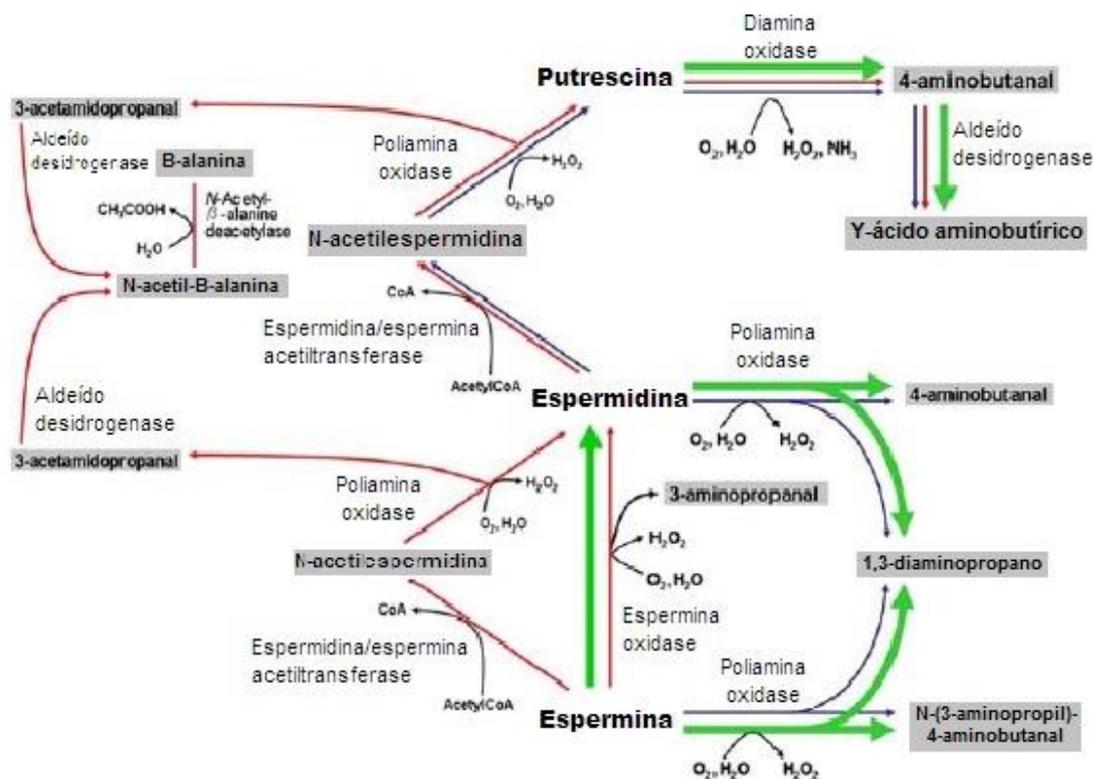


Figura 2.7: Degradação das poliaminas [11]

As poliaminas estão essencialmente envolvidas nos processos de crescimento e diferenciação celular [7-11]. Estudos mostram que esses ligantes se apresentam em concentrações muito elevadas em células cancerígenas, o que sugere que as poliaminas podem ser promotoras de fatores carcinogênicos. As acetilpoliaminas, por exemplo, são encontradas em altas concentrações em células cancerosas, fornecendo, assim, uma ligação entre as alterações no metabolismo das poliaminas e a carcinogênese [8,22,23].

Devido a esta relação, a biossíntese e o transporte das poliaminas têm se tornado alvo da terapia anti-neoplásica. Muitos estudos acerca da ação de drogas como α -(difluorometil)ornitina (DMFO) e metilglioxal bis(guanilhidrazona) (MGBG), além de outras drogas, que atuam como inibidores das enzimas ornitina descarboxilase e s-adenosilmetionina descarboxilase, sobre as células tumorais têm sido promovidos. Entretanto, apesar de reduzirem a concentração de poliaminas celulares, nenhum estudo ainda se mostrou conclusivo em relação a inibição do crescimento tumoral por parte dessas drogas [7,17].

Estudos recentes também vêm relacionando as poliaminas ao diabetes. O glucagon apresenta importante papel na origem de complicações do diabetes e por esse motivo há em curso diversas pesquisas sobre agentes anti-glucagon. Recentemente, estudo *in vitro* mostrou que a espermidina e a espermina apresentam uma significativa ação anti-glucagon em concentrações fisiológicas. Esse promissor estudo sugere um novo papel para as poliaminas no meio biológico, neste caso, como agentes anti-glucagon naturais. Apesar de ser uma interessante descoberta, estudos *in vivo* e outros estudos *in vitro* ainda são necessários para a confirmação dos resultados observados [7].

Apesar de os estudos a respeito das poliaminas terem se iniciado no século XVII, ainda há muitos pontos não esclarecidos sobre o papel dessas moléculas no ciclo biológico. A ação das poliaminas a nível molecular ainda é desconhecida. Desta forma, o presente estudo vem corroborar para um melhor conhecimento a respeito da interação das poliaminas com ânions bivalentes com estruturas semelhantes às encontradas em sítios de muitas proteínas e enzimas biológicas.