

Ana Isabel Miranda dos Santos

Nutrigenética e Nutrigenómica em doenças oncológicas

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Maria da Conceição G. B. O. Castilho e apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

 O tutor da Monografia,

(Professora Doutora M^a Conceição G. B. O. Castilho)

O Estudante,



(Ana Isabel Miranda dos Santos)

Eu, Ana Isabel Miranda dos Santos, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o número 2010114926, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Relatório apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer informação ou expressão, por mim utilizada está referenciada na bibliografia do relatório, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os direitos de autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Julho, de 2014

Assinatura

Agradecimentos

À Professora Dr.^a M^a Conceição G. B. O. Castilho deixo um especial agradecimento por toda a disponibilidade, atenção e orientação prestadas na elaboração desta monografia;

À minha família e amigos por estarem sempre presentes, apoiando-me incondicionalmente;

Ao Hugo por tudo o que significa na minha vida.

Índice

Abreviaturas.....	6
Resumo	7
Abstract	7
1. Introdução	8
2. Objetivo	10
3. O que são doenças oncológicas?.....	10
4. Fatores de risco para o desenvolvimento de doenças oncológicas	12
5. Nutrigenética e Nutrigenómica	13
5.1 Definições e conceitos.....	13
5.1.1 Nutrigenómica	13
5.2 Nutrigenética e Nutrigenómica em doenças oncológicas	15
5.3 Compostos bioativos dos alimentos para a prevenção de doenças oncológicas:.....	16
5.3.1 Polifenóis – Catequinas	16
5.3.2 Isotiocianatos – Sulforafano	18
5.3.3 Calciferol (Vitamina D)	19
5.4.1 Exemplos de Interações medicamento – alimento.....	21
6. Nutrigenómica e Nutrigenética na Comunidade Científica	22
7. Perspetivas Futuras	23
8. Papel do Farmacêutico.....	24
9. Considerações Finais.....	25
Bibliografia	27

Abreviaturas

ATP - Adenosina Trifosfato

DNA - Deoxyribonucleic Acid

EC - Epicatequina

ECA - Enzima Conversora de Angiotensina

EGC- Epigalocatequina

EGCG - epigalocatequina-3-galato

GEC - 3-galato de epicatequina

GST - Glutathione S-transferase

GSTM1- Glutathione S-transferase Mu 1

HER2 - Human Epidermal growth factor Receptor 2

ITCs - Isotiocianatos

NGx - Nutrigenómica e Nutrigenética

PGH - Projeto do genoma humano

ROS - Espécies reativas de oxigénio

Resumo

As doenças oncológicas são das principais causas de morte no mundo inteiro e caracterizam-se pela existência de células anormais. Contudo sem haver mudanças do estilo de vida, a sua prevalência tem tendência a aumentar, tornando-se necessário recorrer a uma personalização do tratamento com base nas variáveis genéticas.

Como a alimentação influencia a expressão génica e os genótipos associados às doenças oncológicas, podemos recorrer a uma nutrição personalizada.

Surgem assim a Nutrigenética e Nutrigenómica com o objetivo de compreender melhor as interações gene-nutriente. Diversos estudos demonstram a sua eficácia recorrendo a uma alimentação com determinados compostos bioativos que favorecem determinados genótipos. Esta interação pode também associar-se ao tratamento das doenças oncológicas mas, contudo à ainda muito a descobrir.

Palavras-chave: Nutrigenética; Nutrigenómica; Cancro.

Abstract

Cancer is a leading cause of death worldwide and is characterized by the presence of abnormal cells. However with no changes in lifestyle, its prevalence is likely to increase, making it necessary to resort to a personalized treatment based on genetic variables.

As nutrition influences gene expression and genotypes associated with malignancies, we may turn to a personalized nutrition.

Thus arise Nutrigenetics and Nutrigenomics with the aim to better understand gene-nutrient interactions. Several studies demonstrate their effectiveness resorting to a diet with certain bioactive compounds that favor certain genotypes. This interaction may also be associated with the treatment of oncological diseases but however still much to discover.

Key words: Nutrigenetics; Nutrigenomics; Cancer.

I. Introdução

A palavra Oncologia tem origem grega: “oykos”=volume, tumor e é um ramo da patologia que estuda as neoplasias. Desta forma, as doenças oncológicas estão relacionadas com tumores, os quais podem ser benignos ou malignos. Estes podem estar localizados ou invadir outros tecidos, disseminando-se por todo o corpo. A Oncologia está voltada para como o cancro se desenvolve no organismo e para qual o tratamento mais adequado para cada caso[8].

No mundo inteiro, milhões de pessoas vivem com o diagnóstico de doenças oncológicas, sendo estas a principal causa de morte no mundo e todos os anos cerca de 11 milhões de pessoas são diagnosticadas com doenças oncológicas (excluindo cancro de pele).

A comunidade científica está convencida de que a alta suscetibilidade de herdar cancro afeta apenas uma pequena proporção de casos e, apesar de estarmos todos mais ou menos suscetíveis a várias doenças, a maioria das doenças oncológicas de adultos são principalmente causadas por fatores ambientais, podendo o número de casos e mortes duplicar até 2030. De acordo com estimativas atuais, a doença poderá ser evitável em 30-40% dos casos ao longo do tempo recorrendo a uma alimentação e nutrição adequada, atividade física regular e prevenção da obesidade [1,2,3].

A doença oncológica é cada vez mais prevalente e uma das principais causas de morte, tornando-se uma das maiores ameaças para a saúde humana. Embora a pesquisa sobre estas patologias nos proporcione uma melhor compreensão da sua biologia, ainda existem inúmeros desafios no seu tratamento e prevenção [13].

Desta forma, torna-se assim evidente que as nossas atitudes diárias afetam probabilidade de contrair doenças oncológicas, podendo algumas escolhas aumentar o risco de incidência deste tipo de doenças. No entanto, podem ser prevenidas através de melhorias na dieta e estilo de vida. Não há garantias, mas várias pesquisas demonstram que podemos tomar medidas para nossa protecção [2].

Não existe um único alimento ou ingrediente que nos possa proteger por si só mas há uma forte evidência de que uma dieta rica, com uma variedade de alimentos de origem vegetal, como legumes, frutas, grãos integrais e feijões ajuda a diminuir o risco de contrair várias doenças oncológicas. De facto, estudos demonstraram que muitos minerais, vitaminas e fitoquímicos têm efeitos anti-cancro. Contudo, as evidências sugerem que é a sinergia de compostos, que trabalham em conjunto, na dieta geral que oferecem a protecção mais forte contra o cancro [6].

A investigação constante, numa área de intervenção tão importante como a oncológica é,

inquestionavelmente, necessária. Cada vez se sabe mais sobre as suas causas, sobre a forma como se desenvolve e cresce, ou seja, como progride. Estão, também, a ser estudadas novas formas de o prevenir, detetar e tratar, tendo sempre em atenção a melhoria da qualidade de vida das pessoas com estas doenças, durante e após o tratamento.

A conclusão do projeto do genoma humano (PGH), abriu portas para estudos na área da Nutrigenómica, os quais estão centrados sobre os efeitos dos nutrientes ao longo do genoma, proteoma, e metaboloma, como ilustrado na Figura 1 [11].

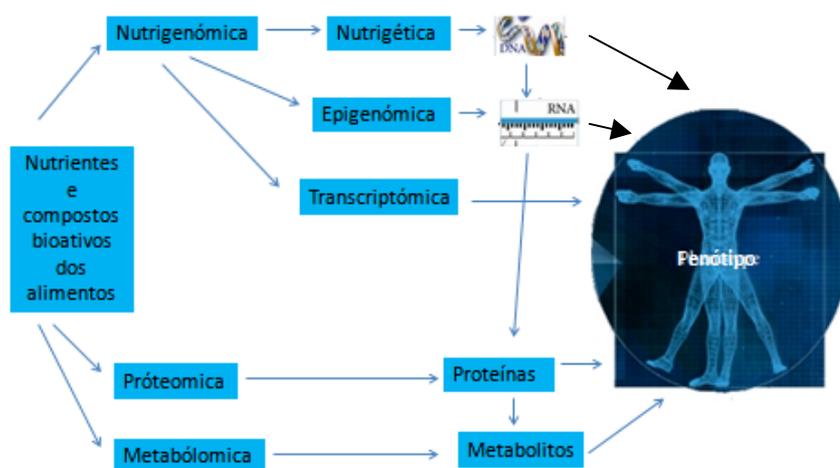


Figura 1: Ciências “ômicas” utilizadas para compreender a relação nutrição, saúde e doença [11].

Atualmente é uma prioridade identificar e desenvolver opções alternativas de tratamento que possam aumentar a eficácia, reduzir os efeitos colaterais e melhorar a qualidade de vida de pacientes com doenças oncológicas. Neste contexto, a Nutrigenómica está a emergir como um campo promissor devido à sua capacidade de modular o metabolismo destas doenças através da intervenção nutricional [12].

A nutrição moderna centra-se na prevenção de doenças e manutenção da saúde. Entender como os diferentes meios de interação entre genes e dieta podem contribuir para alcançarmos este objetivo torna-se de fundamental importância. Este é um tema complexo, porém fascinante, sobre o qual ainda pouco conhecemos, mas que muito interesse tem despertado no mundo da Ciência.

No sentido de evitar a progressão destas patologias, devemos relacionar as interações entre a predisposição genética, a nutrição e o exercício físico. Como tal, desenvolveram-se diversos estudos nas áreas da Nutrigenética e Nutrigenómica.

A Nutrigenética identifica e caracteriza as alterações genéticas consoante os hábitos alimentares praticados, para que se consiga detetar e prevenir determinadas doenças. Já a Nutrigenómica estuda as funções dos nutrientes e dos compostos bioativos presentes nos alimentos, assim como o seu impacto sobre a expressão génica [2]. Apesar de apresentarem definições diferentes, ambas têm um objetivo comum: desenvolvimento de estratégias nutricionais personalizadas de modo a promover a saúde e prevenir as doenças.

2. Objetivo

Com este trabalho pretende-se elucidar a forma como os componentes dos alimentos podem afetar a expressão de genes através da nutrigenética e nutrigenómica, tornando possível reduzir a incidência de doenças oncológicas, atuando de forma preventiva ou até mesmo curativa.

A pesquisa foi realizada utilizando as palavras chave Nutrigenética, Nutrigenómica e Cancro em bases de dados científicas electrónicas PubMed e Elsevier, abrangendo um periodo compreendido entre 2002 e 2014.

3. O que são doenças oncológicas?

É o nome genérico para um grupo de mais de 100 doenças e consiste numa proliferação anormal de células [4]. São caracterizadas pela existência de células anormais, crescendo de uma forma descontrolada, com a capacidade de invadir os tecidos vizinhos e de se distribuírem, por vezes, por locais distantes da localização inicial, originando as metástases à distância.

Também podem ser designadas de neoplasias (de NEOS = novo + PLASIA = crescimento), sendo esta uma característica comum e bastante importante.

O corpo humano é composto por triliões de células vivas e estas formam os tecidos, que por sua vez, formam os órgãos.

As células normais do corpo crescem, dividem-se originando novas células. Estas envelhecem, morrem e são substituídas por nova células, de uma forma ordenada mantendo a integridade e o

correcto funcionamento dos diferentes órgãos. Durante os primeiros anos de vida de uma pessoa, as células normais dividem-se mais rapidamente. Após chegar à fase adulta, a maioria

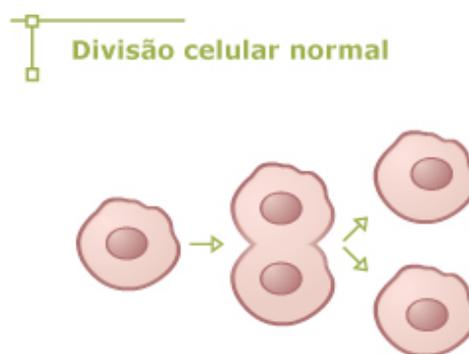


Figura 2: Divisão celular [9].

das células dividem-se apenas para substituir células danificadas ou mortas [4].

No processo de divisão celular, cada célula “mãe” divide-se e dá origem a duas “células filhas”, de características semelhantes (figura 2), sendo que, em condições normais, este é um processo ordenado e controlado, responsável pela formação, crescimento e regeneração de tecidos saudáveis do corpo [9].

Contudo, por vezes, este processo ordeiro sofre algumas alterações, originando novas células, das quais o organismo não necessita e, ao mesmo tempo, as células velhas não morrem, começando assim a crescer fora de controlo e a formar novas células, anormais. As células cancerosas também podem invadir outros tecidos, algo que as outras células não podem fazer. Este conjunto de células “em excesso” forma um tumor na maioria dos casos (figura 3) [7].

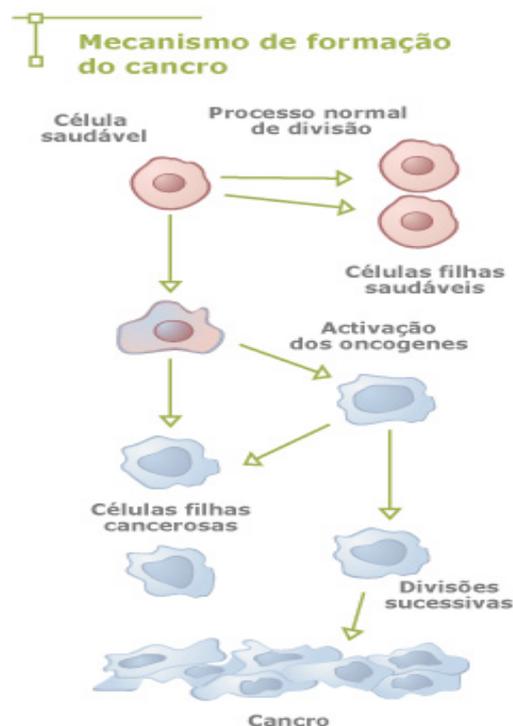


Figura 3: Mecanismo de formação do cancro

[9].

Mas nem todos os tumores correspondem a cancro. Os tumores podem ser benignos ou malignos. Os tumores benignos não são cancro e raramente põem a vida em risco. Estes podem ser removidos e, muitas vezes, regredem e não se "espalham", ou seja, não se disseminam para os tecidos em volta ou para outras partes do organismo (metastização à distância).

Os tumores malignos são denominados de cancro e são mais graves que os tumores benignos pois podem colocar a vida dos doentes em risco. Estes podem ser removidos mas, por vezes, podem voltar a crescer. As células dos tumores malignos podem invadir e danificar os tecidos e órgãos circundantes e podem, ainda, libertar-se do tumor inicial, entrar na corrente sanguínea ou no sistema linfático, sendo transportados para outros órgãos, onde podem crescer e formar novos tumores. Este processo designa-se de metastização das células cancerígenas, a partir do tumor primário, formando novos tumores noutros órgãos [9].

O novo tumor tem o mesmo tipo de células anormais do tumor primário independentemente do órgão onde se aloja como podemos ver na figura 4 [7].

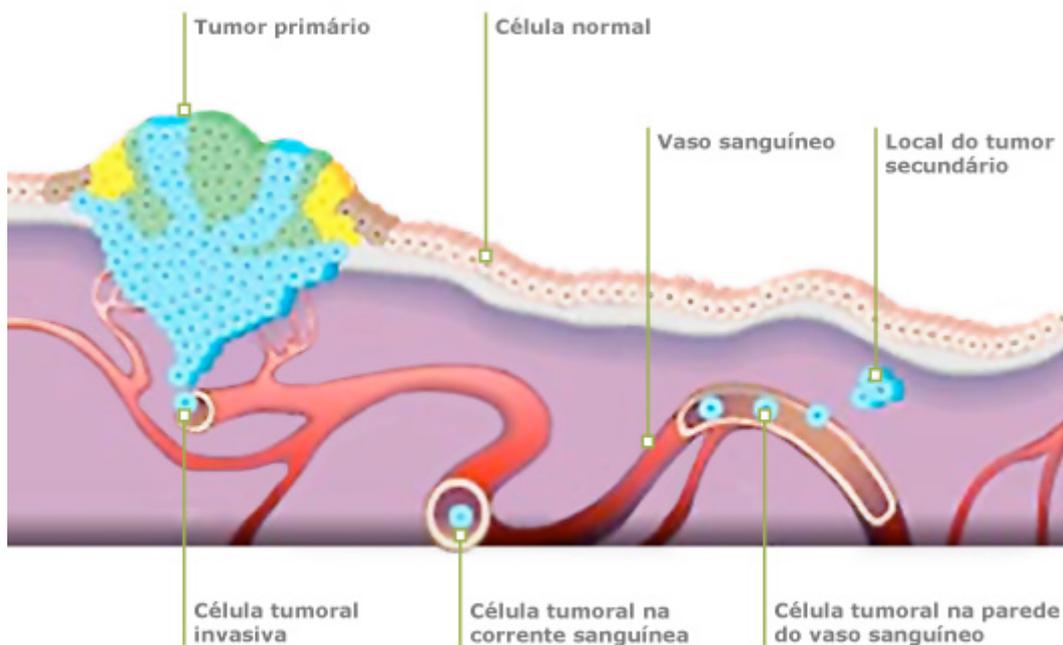


Figura 4: Células tumorais que entram na corrente sanguínea (metástase) [9].

4. Fatores de risco para o desenvolvimento de doenças oncológicas

Existem inúmeros fatores de risco alimentares que podem levar ao desenvolvimento de doenças oncológicas e que passam pelo consumo de gorduras saturadas, carnes vermelhas e enchidos e alimentos queimados, os quais podem em determinadas circunstâncias desencadear um processo cancerígeno. O sal e as bebidas alcoólicas também são fatores de risco. O excesso de calorias e açúcares também está fortemente ligado à carcinogênese, bem como à obesidade. As interações gene-nutriente podem explicar as complicações de mortalidade e morbidade que estão associadas à obesidade e que poderão assim levar ao desenvolvimento de doenças oncológicas. A figura 5 mostra-nos os desequilíbrios que podem estar na origem destas doenças [34].

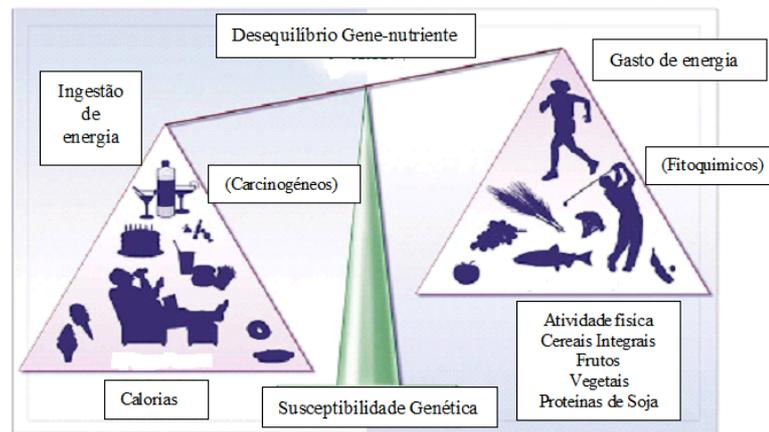


Figura 5: Desequilíbrios gene-nutriente [34].

5. Nutrigenética e Nutrigenômica

5.1 Definições e conceitos

A nutrigenética e nutrigenômica surgiram depois da conclusão do PGH, numa altura em que diversas questões começaram a ser formuladas em relação às ciências ómicas. Estas ciências surgiram com o intuito de promover a saúde e prevenir o aparecimento de doenças, através da relação entre a interação dos alimentos com a predisposição genética para certas doenças [11].

5.1.1 Nutrigenômica

A Nutrigenômica, inicialmente, referia-se apenas ao estudo do papel dos alimentos e dos nutrientes ingeridos sobre a expressão e regulação de genes, identificando e investigando as interações entre o genoma e os compostos bioativos. Recentemente expandiu-se, envolvendo também estudos sobre fatores nutricionais que atuam protegendo o genoma [11,13,26]. Permite determinar as exigências nutricionais individuais com base na composição genética do indivíduo (dieta personalizada), bem como a associação entre dieta e doenças crónicas. Também possibilita a identificação dos genes envolvidos em respostas fisiológicas e os genes em que pequenas mudanças, chamados polimorfismos (SNPs), podem ter consequências nutricionais significativas sobre a expressão génica [26].

5.1.2 Nutrigenética

A Nutrigenética pode ser definida como a ciência do efeito de variação genética em resposta aos nutrientes, identificando o modo como a composição genética de um indivíduo em particular coordena a sua resposta a vários nutrientes. Ela também revela por que é que as

peessoas reagem de forma diferente relativamente ao mesmo nutriente [26].

5.1.3 Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

“Single nucleotide polymorphism (SNP) descreve um polimorfismo, causado por uma alteração num único nucleótido. Esta alteração é responsável pela maior parte da variação genética entre indivíduos. Estima-se que o genoma humano contenha cerca de 10 milhões de SNPs e supõe-se que os genes sejam susceptíveis de ser importantes nos processos de doença e a forma como eles irão interagir com os nutrientes [26]. Parecem ser uma ferramenta de diagnóstico eficaz na nutrigenética, permitindo detetar pequenas variações em dezenas de genes importantes para a saúde geral do organismo.

A figura 6 demonstra como pode ocorrer um SNP em que, neste caso, houve a alteração de um nucleótido, ocorrendo a substituição de uma Adenina por uma Guanina [35].

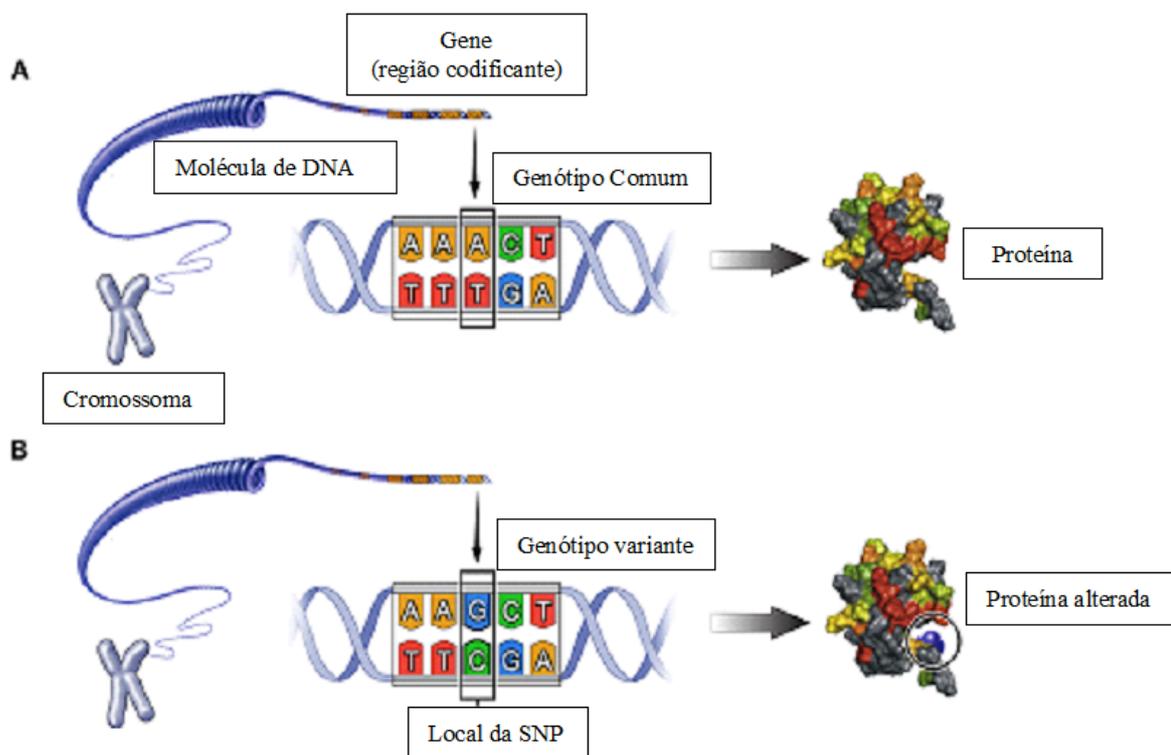


Figura 6: Exemplo de um SNP [35].

Juntas, estas abordagens prometem transmitir o conhecimento científico necessário para compreender como a dieta afeta os seres humanos, individualmente, e, possivelmente a nutrigenómica irá conduzir a estratégias de intervenção, na dieta, baseadas em evidências por forma a prevenir ou evitar a incidência de doenças relacionadas com a dieta [26].

5.2 Nutrigenética e Nutrigenómica em doenças oncológicas

Os principais fatores que afetam a saúde da população passam pela ingestão de alimentos e o meio ambiente. A ingestão de alimentos ou mais especificamente, a exposição a compostos bioativos, é um fator chave ambiental que influencia o estado de saúde e o desempenho [15]. Desta forma, têm sido desenvolvidos estudos na área nutricional ampliando a compreensão de como preservar a saúde de um grupo de indivíduos que vivem em diferentes condições dietéticas [11].

A dieta tem um papel fundamental uma vez que os nutrientes e compostos bioativos, presentes nos alimentos, tanto podem ser benéficos como iniciar várias doenças, dependendo assim o estado de saúde da interação gene-nutriente [12].

Tendo como prioridade identificar e desenvolver alterações no tratamento que possam aumentar a eficácia, reduzir efeitos colaterais e melhorar a qualidade de vida das pessoas com estas doenças, começou a emergir nesta área a nutrigenética e a nutrigenómica, as quais são muito promissoras pela capacidade de modular o metabolismo do cancro e da formação do tumor através da intervenção nutricional [12,15].

A compreensão das interações entre os alimentos e os diferentes genes, envolvidos nas distintas patologias, bem como as vias metabólicas implicadas neste processo, permite-nos detetar novos biomarcadores que poderão indicar a presença de patologias crónicas, permitindo atuar de forma a prevenir ou atrasar o aparecimento dessas mesmas patologias [26].

Ao percebermos quais os nutrientes e compostos bioativos e respetivas quantidades indicadas para cada pessoa, dado que cada indivíduo responde de forma diferente aos nutrientes e compostos bioativos, estaremos a conceptualizar a “nutrição personalizada”[14].

A carência sistemática de determinados micronutrientes como vitaminas e sais minerais, pode levar a alterações do DNA, as quais podem conduzir à rutura da dupla cadeia de DNA, a lesões oxidativas ou mesmo ambas, as quais demonstraram estar estritamente relacionadas com o desenvolvimento de cancro [11].

Desta forma, o conhecimento do metabolismo de compostos bioativos é fundamental para a biologia do cancro e, assim, a modulação das vias metabólicas, induzida por estes compostos, teria efeitos profundos no desenvolvimento das doenças oncológicas como podemos ver na figura 7 [12].

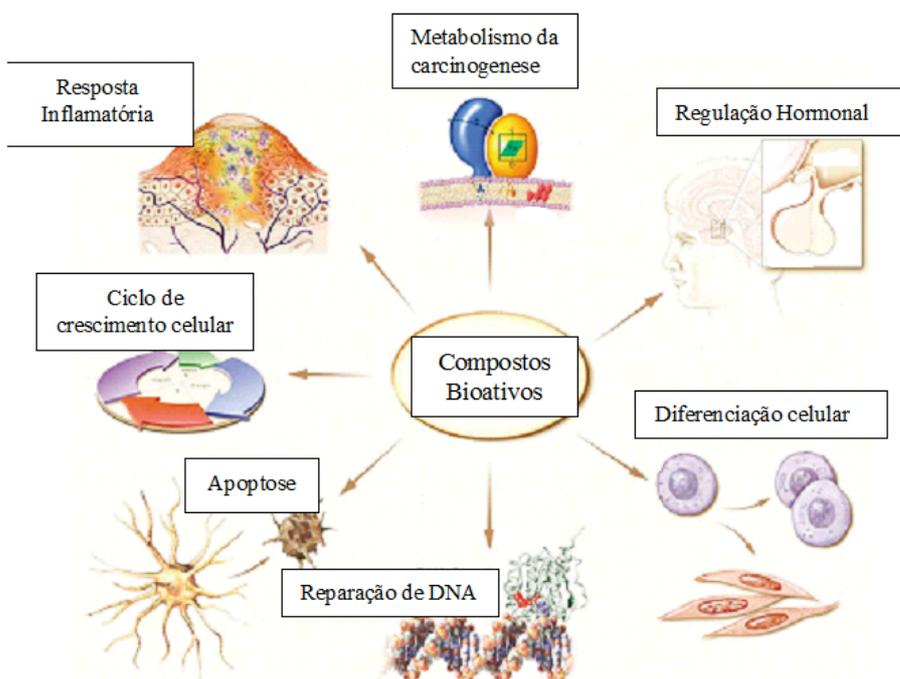


Figura 7: Componentes alimentares bioativos que podem influenciar eventos genéticos e epigenéticos associados a vários processos de doenças [34].

As atuais terapias para o combate às doenças oncológicas estão limitadas à cirurgia, radioterapia e quimioterapia e continuam a ser insatisfatórias. A quimioterapia, por exemplo, tem muitas limitações, como: baixa resposta; baixa especificidade; resistência aos fármacos; efeitos colaterais graves, havendo ainda muito a explorar para melhorar o tratamento destas patologias.

5.3 Compostos bioativos dos alimentos para a prevenção de doenças oncológicas:

5.3.1 Polifenóis – Catequinas

O chá verde (obtido a partir das folhas *Camellia sinenses*), tem sido objeto de diversos estudos, os quais apontam para o efeito preventivo, desta bebida, em várias doenças entre elas as oncológicas por supressão da carcinogênese.

O chá verde contém componentes polifenólicos, os quais incluem os flavanóis, os flavandióis, os flavonóides e os ácidos fenólicos, que somam cerca de 30% do peso seco das folhas. A maioria dos polifenóis do chá verde surge como flavanóis, e dentro destes, prevalecem as catequinas.

As catequinas principais do chá verde são a epicatequina (EC), a 3-galato de epicatequina (GEC), a epigalocatequina (EGC) e a epigalocatequina-3-galato (EGCG).

Estes compostos caracterizam-se por possuírem grupos hidroxilo ligados a anéis aromáticos, como podemos ver na figura 8 [16].

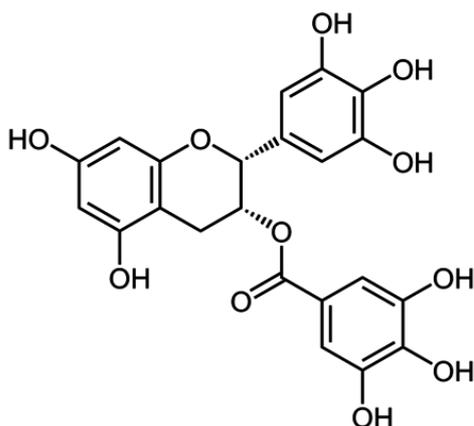


Figura 8: Epigallocatequina-3-galato [37].

O mecanismo de ação das catequinas está relacionado com o seu potente poder antioxidante, tendo a EGCG demonstrado inibir a ação da redutase na via do folato, induzindo a paragem do ciclo celular e estimulando a apoptose [16].

Contudo, os efeitos benéficos do chá verde são influenciados pelo genótipo, pelo que numa população com alto risco de desenvolver cancro, o consumo de chá verde pode ser particularmente benéfico para certos indivíduos.

A apresentação do caso-controlo dentro de um estudo de cohort, em Singapura, mostrou uma interação significativa entre a quantidade de chá verde ingerida e o ato de beber chá verde, relacionada com a atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) no que diz respeito ao risco de cancro de mama, dependendo do polimorfismo do gene da ECA [13,25]. A angiotensina II tem sido associada com o desenvolvimento do cancro da mama. A enzima conversora angiotensina I (ECA) é codificada e origina a angiotensina II a partir da angiotensina I. As mulheres com um genótipo da ECA, que leva a uma baixa atividade de conversão, têm um risco reduzido de cancro da mama em comparação com aquelas que possuem o genótipo de atividade elevada. Neste estudo, que envolveu 297 casos de incidência de cancro de mama e 665 controlo, ficou demonstrado que, para as mulheres com a variante ECA de alta atividade, o aumento da ingestão de chá verde reduziu o risco de desenvolver cancro de mama, para cerca de um terço dos níveis originais. Yuan et al em 2005 propuseram que tal como em estudos *in vitro*, os polifenóis do chá verde (principalmente a EGCG) são particularmente protetores contra as espécies reativas de oxigénio (ROS) geradas na presença de altos níveis de angiotensina II. No entanto, quando foi estudada a relação entre a frequência com que bebiam chá verde e o risco de contraírem

cancro da mama, os autores verificaram que não houve redução desse nas mulheres do estudo, mesmo entre aquelas com fenótipo de ECA de baixa atividade [25].

Com base na Nutrigenética e Nutrigenómica pode-se sugerir a ingestão de chá verde às mulheres com a variante ECA de alta atividade. Contudo também não ficou demonstrado ser prejudicial na variante ECA de baixa atividade, apenas uma eficácia mais reduzida não sendo, por isso, desaconselhado o seu consumo.

5.3.2 Isotiocianatos – Sulforafano

As plantas da família das *Cruciferae*, às quais pertencem os brócolos, o repolho, a couve de Bruxelas, a couve-flor, o nabo entre outros são ricas em glucosinolatos. Quando os vegetais crus são mastigados ou cortados a enzima tioglucosidase (encontrado no solo ou na flora intestinal) entra em contacto com os glucosinolatos, catalisando a hidrólise da ligação glicosídica, levando à formação de isotiocianatos (ITCs) e de indóis. Há evidências de que o consumo de vegetais crucíferos, podem estar associados a uma menor incidência de cancro de próstata e mama devido à presença dos isotiocianatos.

Os principais isotiocianatos presentes de forma natural naqueles vegetais são: o sulforafano, o alil isotiocianato e o fenetil isotiocianato que exibem elevadas propriedades anticancerígenas. Na figura 9 apresenta-se a estrutura do sulforafano.

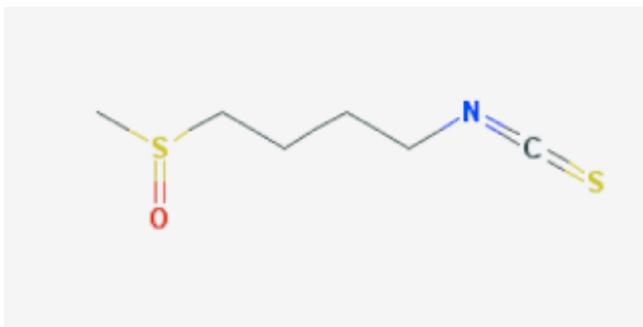


Figura 9: Estrutura química de sulforafano 1-Isotiocianato-4-metilsulfenilbutano [40].

O sulforafano é absorvido sendo conjugado com a glutathione e metabolizado pela via ácido mercaptúrico e, posteriormente excretado principalmente como conjugado de N-acetilcisteína [20].

Glutathione S-transferases (GSTs) são enzimas de fase II de desintoxicação, que eliminam possíveis carcinógenos bem como compostos de oxigénio reativo e são, portanto, importantes para a proteção do DNA contra danos oxidativos. Deleções de genes GSTM1 resultam numa perda completa da atividade da enzima GSTM1, e tais genótipos GSTM1 -

negativos ocorrem com uma frequência entre 40 e 60% em populações caucasianas, tendo sido sugeridos por apresentarem um risco aumentado de cancro da próstata [20].

Foi descoberta a evidencia de que os indivíduos GSTMI-negativo têm significativamente maior concentração plasmática de metabólitos de sulforafano e um ritmo mais rápido de eliminação de metabólitos de sulforafano durante as primeiras 6-24 h após o consumo de brócolos, em comparação com indivíduos GSTMI-positivo. Desta forma são retidos, níveis mais elevados de sulforafano no corpo de indivíduos GSTMI-positivo. No entanto, menos sulforafano foi excretada em indivíduos GSTMI- negativo após o consumo de alta quantidade de glucosinolatos contida em brócolos. Esta constatação sugere que pessoas GSTM-I-negativo podem compensar sua perda de sulforafano via excreção se tiverem um alto consumo de vegetais crucíferos (ou alta ingestão do componente bioativo), reafirmando assim o efeito protetor do GSTM I através da ingestão de um certo nível de vegetais crucíferos [21-24].

Com base na Nutrigenética e Nutrigenómica o que podemos salientar que é possível adaptar a ingestão destes vegetais, não só às diferentes variações genéticas, como aos diferentes estilos de vida e hábitos alimentares. Desta forma, identificamos qual o teor ideal que deve ser ingerida por cada indivíduo, em específico, de modo a obtermos um efeito protetor, tornando-se a ingestão destes vegetais um valioso auxiliar na prevenção e tratamento de doenças oncológicas.

5.3.3 Calciferol (Vitamina D)

Alguns autores estudaram o papel da Vitamina D na prevenção do Cancro.[27] Encontra-se nos peixes gordos (salmão, atum e cavala), e também em quantidades menores no fígado, queijo, gema de ovo, cogumelo e em alimentos enriquecidos com esta Vitamina, como o leite e derivados, cereais, entre outros. Para além da alimentação, outra fonte resulta da exposição ao Sol, mais propriamente aos raios UVB [27].

A vitamina D apresenta-se na forma de vitamina D2 (ergocalciferol) e vitamina D3 (colecalfiferol). O ergocalciferol é de origem vegetal, ao passo que o colecalfiferol é de origem animal e é formado pela irradiação ultravioleta.

A sua estrutura química difere pela presença de uma ligação dupla adicional e um grupo metil incorporados à cadeia lateral da forma biológica D2, como podemos ver na figura 10.[39]

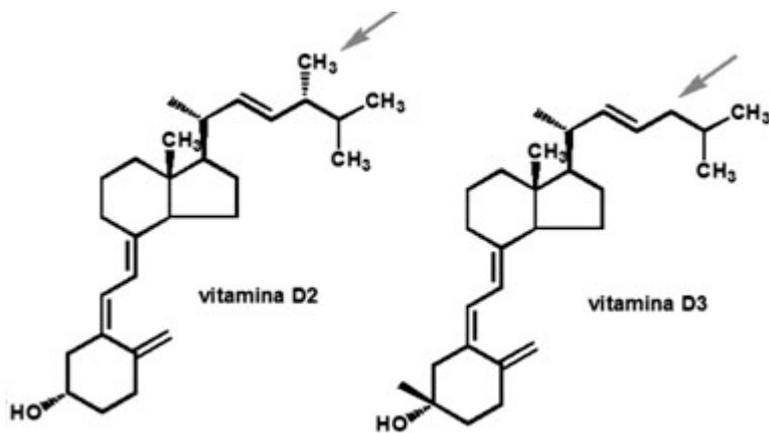


Figura 10: Estrutura química da Vitamina D2 e da Vitamina D3 [39].

Na literatura encontramos algumas evidências que levam a crer que possa existir uma relação entre a Vitamina D e a prevenção de cancro. Verificou-se em estudos ecológicos ou geográficas que sugeriram o aumento da exposição solar ou as populações que vivem em latitudes mais baixas tiveram uma menor incidência de cancro de cólon, e, posteriormente, um risco reduzido de cancro de próstata. Neste caso, podemos relacionar que a exposição a radiação aos UVB levanta a hipótese de que a vitamina D ou um dos seus metabolitos 25-hidroxicolecalciferol (25 (OH) D) ou 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25- (OH)₂ D₃) pode ser protetor contra o cancro. Outro caso que demonstra que esta relação é possível é o facto de que num estudo piloto canadiano se ter verificado que, uma dose diária de 2000 Ui de vitamina D3 em doentes com cancro, em alguns abrandou a progressão dos seus níveis de PSA e noutros chegou mesmo a regredir quando comparados com os níveis do início do tratamento [27].

Porém, também existe o oposto e, alguns estudos apontam que a Vitamina D é mais eficaz para a progressão do cancro do que para retardar a sua incidência. No caso por exemplo do cancro da pele esta relação é impensável (aliás na maior parte dos casos a origem esta na exposição solar) [27].

Com base na Nutrigenética e Nutrigenómica podemos acentuar a adaptação da ingestão de vitamina D e a exposição solar, não só às diferentes patologias, como aos diferentes estilos de vida, hábitos alimentares e de acordo com a sua variabilidade genética. Desta forma, fica identificada qual a quantidade ideal que esta vitamina deve ser ingerida especificamente por cada individuo. Assim, a Vitamina D poderá tornar-se um auxiliar valioso na prevenção e tratamento de doenças crónicas e graves, como é o caso do cancro.

5.4 Interações Alimento – Medicamento

Os alimentos podem alterar o efeito dos fármacos, por mecanismos relacionados fundamentalmente com a intervenção no seu comportamento farmacocinético, muito especialmente nos processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção [38].

Os diversos componentes da dieta podem ter atividade farmacológica, em determinadas circunstâncias. Esta atividade pode variar de acordo com o genótipo e pode ser necessário quantidades de certos compostos bioativos muito superiores às exigidas pela maioria das pessoas. Tais erros inatos do metabolismo foram identificados para as enzimas necessárias à absorção, metabolismo ou armazenamento de quase todas as vitaminas. Assim, como as relações entre os alimentos e os fármacos se tornaram mais facilmente compreendidas, poderão haver ligações entre farmacogenómica e nutrigenómica [28].

5.4.1 Exemplos de Interações medicamento – alimento

- **Epigallocatequinas (chá verde) e trastuzumab**

Em cerca de 30% de cancros da mama existe a sobre expressão de membros da família do recetor do fator de crescimento epidérmico de HER2, o qual é alvo de imunoterapia.

O Trastuzumab é um anticorpo monoclonal humanizado contra HER2, sendo um citostático quando adicionado sozinho e altamente bem sucedido na prática clínica quando usado em combinação com outros agentes quimioterapêuticos. Contudo, os tumores HER2 desenvolvem resistência ao trastuzumab, tornando inacessível a terapia com anticorpos. Os diferentes modos de ação de EGCG e trastuzumab colocam à hipótese de que o EGCG vai inibir células de cancro de mama HER2 resistentes ao trastuzumab. Foram estudadas as células BT474, que são células de cancro de mama humano resistentes a trastuzumab, as quais foram isoladas por exposição crónica a trastuzumab, e também as células JIMT-1 de cancro de mama, mas derivadas de um derrame pleural numa paciente que apresentou resistência clínica à terapia com trastuzumab. O tratamento com EGCG causou uma diminuição do crescimento celular e da produção de ATP, aumentando bastante a apoptose. Assim, EGCG em combinação com trastuzumab pode proporcionar uma nova estratégia para o tratamento de cancros da mama [29].

A associação descrita ilustra bem como a Nutrigenética e Nutrigenómica pode contribuir para a prevenção de doenças oncológicas, atuando de forma integrada no combate a este tipo de doenças. Beber chá verde conjuntamente com o trastuzumab irá colmatar a falha que existe ao nível do desenvolvimento de resistência ao fármaco, permitindo que este atue em pessoas que manifestam ter a variabilidade genética que confere resistência ao fármaco.

- **α -Tomatina e Paclitaxel**

A α -tomatina, a maior saponina encontrada no tomate demonstrou inibir o crescimento das linhas de células PC-3 do cancro da próstata.

Lee et al (2013) investigaram o efeito da α -tomatina em combinação com o paclitaxel, agente quimioterápico contra células PC-3. Neste estudo, o tratamento combinado, com uma dose sub-tóxica de α -tomatina e paclitaxel, diminuiu significativamente a viabilidade celular, aumentando bastante a percentagem de apoptose das células PC-3. O tratamento combinado não teve qualquer efeito citotóxico nas células não neoplásicas RWPE-1 da próstata. A apoptose das células PC-3 foi acompanhada pela inibição da via de sinalização PI3K/Akt, por um aumento na expressão da proteína pro-apoptótica BAD e por uma diminuição na expressão de proteínas anti-apoptóticas Bcl-2 e Bcl-xL. Os resultados de um modelo de xenoinxerto de ratinho revelaram que o tratamento combinado suprimiu completamente o crescimento do tumor, sem causar efeitos secundários significativos. Em conformidade com os efeitos anti-cancro demonstrados in vitro, extratos tumorais de ratos mostraram um aumento da apoptose de células tumorais com expressão reduzida da proteína PI3K/Akt ativada. Estes resultados sugerem que os efeitos sinérgicos anti-cancerígenos do paclitaxel e α -tomatina podem ser benéficos para o tratamento do carcinoma refractário próstata [18,19].

Assim verifica-se que a Nutrigenética e Nutrigenómica podem contribuir para a prevenção de doenças oncológicas, atuando também de forma integrada. O consumo de α -tomatina ajuda a suprimir o crescimento do tumor atuando de forma sinérgica em conjunto com o fármaco originando um aumento da apoptose das linhas celulares humanas PC-3.

6. Nutrigenómica e Nutrigenética na Comunidade Científica

Com base num inquérito realizado um pouco por todo o Mundo, a indivíduos com conhecimento científico (professores, investigadores, entre outros), foi desenvolvido um estudo, no qual a questão principal prendia-se com as expectativas futuras sobre o benefício da implementação da Nutrigenómica e Nutrigenética (NGx), na saúde pública e individual, sobretudo na prevenção de doenças crónicas, tais como as doenças oncológicas [33].

Os entrevistados, (n=126), quando questionados sobre os benefícios da NGx, a maioria concordava com todas as questões colocadas e referiam que a NGx iria aumentar a adesão aos conselhos dietéticos, graças a recomendações personalizadas, enquanto que uma minoria

considerou que eram incertos os potenciais benefícios sugeridos pela NGx, não estando livre de considerações éticas e sociais que desafiam a sua implementação [33].

Os resultados deste estudo, *online*, mostraram que esses investigadores estão bastante confiantes sobre os potenciais benefícios da NGx, e que a maioria minimiza os seus potenciais riscos. Investigadores da área não acreditam que a NGx vai reconfigurar alimentos como medicamentos ou transformar o conceito de alimentação num perigo para a saúde [33].

Os inquiridos foram também convidados a apresentar a sua opinião sobre cinco riscos potenciais associados com o desenvolvimento de NGx. Estes riscos foram:

“A NGx vai transformar alimentos em medicamentos”;

” Transformar um atividade agradável, como comer num perigo para a saúde”;

”Impedir a autonomia dos indivíduos”, ”levar a um excessivo fardo para os indivíduos”;

”Levar à discriminação e/ou estigmatização de pessoas que não cumprem as recomendações dietéticas da NGx”[33].

A maioria acha que NGx não produzirá nenhuma carga adicional sobre os indivíduos que fizeram o teste que ou permanecerem em conformidade com as recomendações da NGx nem que a NGx vá ameaçar a autonomia individual na escolha alimentar diária.

A maioria dos investigadores não acha que NGx vá levar a discriminação e/ou estigmatização de pessoas que não cumpram as recomendações dietéticas.

Apesar deste otimismo entre os investigadores, sugere-se que é necessário considerar os fatores de risco chave levantados pelo contexto ético e social, no caso de aplicação da NGx [33].

7. Perspetivas Futuras

Numa altura em que a medicina assume cada vez mais um papel preventivo, espera-se que a terapêutica nutricional assuma aqui um importante papel, tornando-se uma ferramenta terapêutica fundamental para a diminuição do risco de doença em indivíduos mais susceptíveis.

A Era Pós-Genómica abriu portas para o interesse pela área da nutrição, uma vez que os nutrientes e outros componentes alimentares se demonstram bastante relevantes na interação gene-ambiente. É cada vez mais evidente que a NGs estão a emergir ao nível da investigação sobre o impacto da nutrição sobre a saúde, e que os impactos de nutrientes podem ser avaliados de forma abrangente através das ciências ómicas e biomarcadores [13, 36].

A terapia nutricional será então orientada, de acordo com o genótipo de cada indivíduo, podendo a nutrição ser a chave para prevenir a expressão de doenças para as quais o indivíduo é susceptível.

Como a nutrição está cada vez mais integrada, na medicina preventiva, é essencial que os diversos profissionais de saúde estejam devidamente instruídos no campo da nutrigenética / nutrigenómica.

Nos últimos anos, um mapa da recombinação, de alta resolução, do genoma humano aumentou a informação sobre a ordem genética dos marcadores polimórficos e o mapa de SNPs do genoma humano [31]. Espera-se que o este nos forneça ferramentas moleculares poderosas para podermos descodificar o papel da nutrição na saúde humana, permitindo-nos, definir uma dieta ideal para as diferentes patologias [30]. A análise genética avançada, em combinação com os estudos de gémeos, podem oferecer oportunidades para compreender a base de características complexas, e o papel do genótipo nos indivíduos sobre o desenvolvimento de doenças relacionadas com a alimentação, tais como as doenças oncológicas [32].

A abordagem da nutrição personalizada, para a prevenção de doenças, vai exigir um entendimento muito mais abrangente das interações gene-nutriente, e seu impacto no fenótipo, a fim de identificar e avaliar possíveis estratégias direcionadas para a intervenção nutricional. Desta forma, o doente, no futuro, quando chega à consulta, vem acompanhado do seu perfil genético, cabendo ao profissional de saúde interpretar e associar o genótipo a determinada patologia subjacente, optando pelas estratégias terapêuticas mais adequadas, tirando partido da genética individual [13].

Esta nova era da medicina genómica irá incluir não só a genética, como também a biologia molecular, a bioquímica, o metabolismo (metabolómica), como outros campos das ciências da nutrição.

8. Papel do Farmacêutico

O farmacêutico enquanto agente de saúde pública encontra-se numa situação privilegiada, devido ao facto de se tratar do primeiro profissional de saúde a contactar com a população em geral.

Cada vez mais a população recorre, em primeiro lugar, à farmácia de oficina, cabendo-nos a nós estar disponíveis para aconselhar e tentar perceber qual será a melhor abordagem.

O farmacêutico deve sempre atuar mediante o utente em questão, recolhendo toda a informação que possa ser pertinente.

Mas não é só ao nível da farmácia comunitária que o farmacêutico pode intervir, porque apesar de em algumas áreas serem necessários conhecimentos mais específicos, a sua formação académica, como é bastante abrangente, permite-lhe trabalhar de forma integrada com outros profissionais de saúde, tanto ao nível das análises clínicas, da investigação e desenvolvimento, da indústria farmacêutica, e farmácia hospitalar.

Ao nível das análises clínicas, é através desta área que se podem realizar testes genéticos, os quais vão fornecer informações cruciais para a identificação de patologias.

A investigação e desenvolvimento permite detetar a existência de SNPs, alterações epigenéticas, bem como novos biomarcadores para doenças, estudando de forma exaustiva as interações que possam ocorrer, de forma a desenvolver possíveis abordagens que permitam minimizar ou mesmo prevenir o aparecimento da patologia.

A indústria farmacêutica pode produzir dispositivos que permitam, detetar determinados parâmetros implicados na doença em estudo.

Por último, mas não menos importante, temos a Farmácia Hospitalar, na qual o farmacêutico é o Farmacêutico clínico por excelência e desempenha um papel de proximidade com o doente e com todos os outros profissionais de saúde. Nesta área, o farmacêutico poderá também contribuir para a realização do mapa genético dos doentes, principalmente nas famílias que se suspeita terem determinadas patologias de acordo com o seu Historial clínico. Como tive a oportunidade de estagiar também em Farmácia Hospitalar, acho importante referir que a minha passagem pela Unidade de Farmácia Oncológica me permitiu ver como a quimioterapia é complexa e como é complicado quando acontecem recidivas e as pessoas desenvolvem resistências a fármacos. Ao elaborar este trabalho fiquei com mais esperança de podermos, realmente, ajudar as pessoas através dos alimentos, minimizando os efeitos adversos ou até mesmo podermos evitar que o organismo desenvolva resistências, através do consumo de alguns alimentos no nosso dia a dia.

Todas estas áreas, ao trabalharem de forma integrada e para o mesmo objetivo, vão-nos permitir auxiliar a população da melhor forma possível.

9. Considerações Finais

Por tudo o que foi descrito ao longo deste trabalho é possível comprovar a importância que a Nutrigenética e Nutrigenómica adquiriram atualmente.

Devido ao sucesso obtido no PGH, este veio impulsionar uma nova era na nutrição, alterando de modo determinante a investigação nesta área abrindo portas para a Nutrigenética e Nutrigenómica e facilitando a compreensão de como responde o ser

humano aos estímulos provenientes do ambiente.

Através da detecção de biomarcadores específicos, é possível recorrer a uma nutrição personalizada, a qual permite minimizar a incidência de doenças oncológicas. Os nutrientes podem até mesmo atuar em sinergia com alguns fármacos permitindo ajudar a combater a doença.

A interação gene-nutriente e gene-fármaco leva-nos a reconhecer que as alterações alimentares podem ter um impacto diferente, variando consoante o genótipo da pessoa.

Os compostos bioativos têm mecanismos de ação complementares e de sobreposição para a prevenção e possível intervenção.

A compreensão destas interações, abre o caminho para as recomendações de ingestão de alimentos baseada na constituição genética de um indivíduo, de forma a melhorar a prevenção de doenças, sendo um resultado potencialmente promissor da revolução genómica em ciências da nutrição. Contudo mais estudos são necessários para esclarecer o efeito anticancerígeno de alimentos.

Como a incidência de doenças oncológicas está constantemente a aumentar existindo uma forte evidência entre o aparecimento destas patologias e os hábitos alimentares. Torna-se assim necessário tomar uma atitude a fim de tenter minimizar o impacto destas doenças, a qual poderá passar pela alteração do estilo de vida e mudança de hábitos alimentares, com o intuito de atuar de forma preventiva.

Os alimentos que ajudam a prevenir o cancro, ajudam a remover substâncias cancerígenas e podem inibir o crescimento de células malignas. Alimentos diferentes podem combater o cancro de maneira diferente, por isso a alimentação deve ser variada e equilibrada.

Os compostos bioativos parecem ser uma arma promissora contra o cancro, contudo é necessário realizar mais estudos para permitir esclarecer o seu efeito anticancerígeno, quer em células saudáveis, em humanos, no desenvolvimento de efeitos secundários, e passando também pelo estudo da biodisponibilidade desses compostos.

Contudo estas ciências são ainda muito recentes, geram ainda alguma controvérsia na comunidade científica, pois ainda há muito para descobrir.

Para tal torna-se necessário trabalhar em parceria e de forma integrada com as diversas áreas para permitir tirar partido do melhor que cada uma delas tem para oferecer.

Bibliografia

- [1] Thun, M.J., DeLancey, J.O., Center, M.M., Jemal, A., Ward, E.M. **The global burden of cancer: priorities for prevention.** Carcinogenesis. 31 (2010) 100-110.
- [2] World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. **Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective.** Washington, American Institute for Cancer Research (2014).
- [3] http://www.dietandcancerreport.org/cancer_resource_center/downloads/chapters/chapter_07.pdf [acedido a 31-05-2014]
- [4] <http://www.cancer.org/cancer/cancerbasics/what-is-cancer> [acedido a 30-05-2014]
- [5] <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002048-pdf.pdf> [acedido a 30-05-2014]
- [6] <http://www.aicr.org/foods-that-fight-cancer/> [acedido a 02-06-2014]
- [7] <http://www.ligacontracancro.pt/gca/index.php?id=176> [acedido a 02-06-2014]
- [8] <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/o-que-e-oncologia/82/1/> [acedido a 01-06-2014]
- [9] <http://www.pop.eu.com/porta/publico-geral/o-cancro2.html> - [acedido a 02-06-2014]
- [10] <http://www.ff.ul.pt/~mcmarques/Microsoft%20PowerPoint%20-%20Neoplasia.pdf> [acedido a 30-05-2014]
- [11] Sales, N. M. R., Pelegrini, P. B., Goersch, M. C. **Nutrigenomics: Defenitions and advances of this new science.** Journal of Nutrition and Metabolism. Volume 2014 (2014) 1-6.
- [12] Kang, J. X. **Nutrigenomics and cancer therapy.** Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics. 6 (2013) I-II.
- [13] Fenech, M. **Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints on the Current Status and Applications in Nutrition Research and Practice.** Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics. 4 (2011) 69-89.
- [14] Hesketh, J. et al. **Nutrient-gene interactions in benefit-risk analysis.** British Journal of Nutrition. 95 (2006) 1232-1236.
- [15] Ronteltap, J., Van Trijp, J. C. M., Renes, R. J. **Consumer acceptance of nutrigenomics-based personalised nutrition.** 101 (2009) 132-144.
- [16] Ferguson, L. R. **Nutrigenomics Approaches to Functional Foods.** Journal of the American Dietetic Association. 109 (2009) 452-458.
- [17] Fenech, M. **Genome health nutrigenomics and nutrigenetics –diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis.** Food Chemical

Toxicology. 46 (2008) 1365-1370.

[18] Lee, S. T., Wong, P. F., Hooper, J. D., Mustafa, M. R. **Alpha-tomatine synergises with paclitaxel to enhance apoptosis of androgen-independent human prostate cancer PC-3 cells in vitro and in vivo.** *Phytomedicine*. 20 (2013) 1297-1305.

[19] Silberstein, T., Silberstein, E., Saphier, O. **Lycopene and tomatoes--their effect on prevention of prostatic cancer.** *Harefuah*. 152 (2013) 461-463.

[20] Gasper, A.V., Al-Janobi, A., Smith, J.A., Bacon, J.R., Fortun, P., Atherton, C., et al. **Glutathione S-transferase M1 polymorphism and metabolism of sulforaphane from standard and high-glucosinolate broccoli.** *Am J Clin Nutr* 82 (2005) 1283-1291.

[21] Joseph M. A., Moysich K. B., Freudenheim J.L., Shields P.G., Bowman E.D., Zhang, Y. et al. **Cruciferous vegetables, genetic polymorphisms in glutathione S-transferases M1 and T1, and prostate cancer risk.** *Nutr Cancer*. 50 (2004) 206-213.

[22] Agalliu, I., Langeberg, W.J., Lampe, J.W., Salinas C.A., Stanford, J.L. **Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and prostate cancer risk in middle-aged men.** *Prostate*. 66 (2006) 146-156.

[23] Traka, M., Gasper, A.V., Melchini, A., Bacon, J.R., Needs, P.W., Frost, V., et al. **Broccoli consumption interacts with GSTM1 to perturb oncogenic signalling pathways in the prostate.** *PLoS One*. 3 (2008) 2568.

[24] Gasper, A.V., Al-Janobi, A., Smith, J.A., Bacon, J.R., Fortun, P., Atherton, C., et al. **Glutathione S-transferase M1 polymorphism and metabolism of sulforaphane from standard and high-glucosinolate broccoli.** *Am J Clin Nutr*. 82 (2005) 1283-1291.

[25] Yuan, J.M., Koh, W.P., Sun, C.L., Lee, H.P., Yu, M.C. **Green tea intake, ACE gene polymorphism and breast cancer risk among Chinese women in Singapore.** *Carcinogenesis*. 26 (2005) 1389-1394.

[26] Gaboon, N.E.A. **Nutritional genomics and personalized diet.** *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 12 (2011) 1-7.

[27] Davis, C.D. , Milner, J.A. **Nutrigenomics, Vitamin D and Cancer Prevention.** *Journal Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 4 (2011) 1-11.

[28] Ghosh, D., Skinner, M. A., Laing, W. A. **Pharmacogenomics and nutrigenomics: synergies and differences.** *European Journal of Clinical Nutrition*. 61 (2007) 567-574.

[29] Eddy, S.F., Kane, S.E., Sonenshein, G.E. **Trastuzumab-resistant HER2-driven breast cancer cells are sensitive to epigallocatechin-3 gallate.** *Cancer Research*. 67 (2007) 9018-9023.

[30] Ardekani, A.M., Jabbari, S. **Nutrigenomics and cancer.** *Avicenna J Med Biotechnol*. 1

(2009)9–17

[31] Kong, A., Gudbjartsson, D.F., Sainz, J., Jonsdottir, G.M., Gudjonsson, S.A., Richardsson, B., et al. **A high resolution recombination map of the human genome.** Nat Rev Genet. 31 (2002) 241-247.

[32] Boomsma, D., Busjahn, A., Peltonen, L. **Classical twin studies and beyond.** Nat Rev Genet. 3 (2002) 872-882.

[33] Hurlimann, T., Menuz, V., Graham, J., Robitaille, J., Vohl, M.C., Godard, B. **Risks of nutrigenomics and nutrigenetics? What the scientists say.** Genes nutr, 9 (2014) 370.

[34] Trujillo, E., Davis, C., Milner, J. **Nutrigenomics, Proteomics, Metabolomics, and the Practice of Dietetics.** Journal of the American Dietetic Association. 106 (2006) 403-413.

[35] Camp, K.M., Trujillo, E. **Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Nutritional Genomics.** Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics. 114 (2014) 299-312.

[36] Pereira, F., Machado, J. C., Almeida, M.D. V. **Nutrigenética e Nutrigenômica: em direção à nutrição personalizada.** Revista Ser Saúde. 2(2006) 18-24

[37] https://www.google.pt/search?q=ch%C3%A1+verde&espv=2&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=2E69U_nxMaelsQTZo4DYDA&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAQ&biw=1366&bih=667#q=catequinas+egcg&tbm=isch&facrc=_&imgdii=_&imgrc=6lTjqHIToXHU3M%253A%3BatJ2kWjFrADZhM%3Bhttp%253A%252F%252Fqnint.s bq.org.br%252Fsbq_uploads%252Flayers%252Fimagem4215.png%3Bhttp%253A%252F%252Fqnint.s bq.org.br%252Fqni%252Fpopup_visualizarMolecula.php%253Fid%253DzSWyviMTmjYy0Er35Dc0YElyZ28ul2LA5Rgl5pUz kpXUy91BtQw8z9_HXIU_OgTUppom_3nTYKCIRK-RnfOmpg%253D%253D%3B449%3B460 [acedido a 09-07-2014]

[38] Ramos, F., J., Santos, L., M., L., Castilho, M., C., G., B., O., Silveira, M., I., N. **Manual de Interações Alimentos-Medicamentos.** Hollyfar. 3ª edição (2012) 16.

[39] https://www.google.pt/search?q=vitamina+D3+estrutura+quimica&tbm=isch&ei=_me9U42nMuay0QXvnYDgAw#q=vitamina+D3+e+D2+estrutura+quimica&tbm=isch&facrc=_&imgdii=_&imgrc=AXppMfhdwmxTeM%253A%3BylNzDnGaXp-WWM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.scielo.br%252Fimg%252Frevistas%252Fpvb%252Fv32n7%252Fa01fig01.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.scielo.br%252Fscielo.php%253Fpid%253DS0100-736X2012000700001%2526script%253Dsci_arttext%3B388%3B293 [acedido a 09-07-2014]

[40] <http://nutraceuticos2012.blogspot.pt/2012/11/sulfurafano.html> [acedido a 09-07-2014]