



JULIANA MEISSNER MORAES

**EFEITO ANTITUMORAL DA LACTOFERRICINA: UMA
ALTERNATIVA PARA O TRATAMENTO CONTRA O CÂNCER?**

**INCONFIDENTES- MG
NOVEMBRO-2014**



JULIANA MEISSNER MORAES

**EFEITO ANTITUMORAL DA LACTOFERRICINA: UMA
ALTERNATIVA PARA O TRATAMENTO CONTRA O CÂNCER?**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como pré-requisito de conclusão do curso de Licenciatura em Ciências biológicas no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Inconfidentes, para obtenção do título de Licenciado em Ciências biológicas.

Orientador(a): Profa. Msc. Ana Paula Dantas Passos

**INCONFIDENTES –MG
NOVEMBRO-2014**

JULIANA MEISSNER MORAES

**EFEITO ANTITUMORAL DA LACTOFERRICINA: UMA
ALTERNATIVA PARA O TRATAMENTO CONTRA O CÂNCER?**

Data de aprovação: 10 de Novembro de 2014.

**Profa. Msc. Ana Paula Dantas Passos
(IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes)
Professor Orientador**

**Profa. Msc. Constantina Dias Papparidis
(IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes)
Membro 1**

**Prof. Dr. Jorge Alexandre Nogueira
(IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes)
Membro 2**

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que me deu o dom da vida, me deu virtudes para que hoje eu possa estar apresentando este e nunca me desamparou nas minhas dificuldades.

Dedico também à minha família, em especial aos meus pais que nunca mediram esforços para me dar o melhor e realizar meus sonhos, que sempre foram meu exemplo e minha base. À minha querida irmã, nenhuma palavra do mundo seria capaz de expressar meu amor por ela.

Aos meus amigos, que foram anjos que entraram na minha vida, a família que eu pude escolher. E a todos que de alguma forma, torceram por mim.

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, que me deu força e capacidade para que hoje possa estar aqui. Nunca me desamparou, guiou meus passos e iluminou cada virgula, não apenas deste trabalho, como da minha vida toda.

Ato meu pai, meu herói. Aquele que teve coragem necessária de me fazer entender que eu precisava me atirar em águas mais profundas, que não mediu esforços para que hoje eu esteja aqui, você segurou em minha mão e me trouxe para um novo mundo. Hoje eu consigo ver o quanto você estava certo me trazendo para cá. Meu muito obrigada é insignificante diante de sua importância não só nesta etapa de formação, como na minha vida. Fu te amo até as duas pontas onde não tem mais casas.

À minha mãe, minha melhor amiga, minha rainha, minha vida. Que passou os últimos anos sem poder virar na cama para não ver meu lado vazio. Obrigada por ser essa mãe maravilhosa, guerreira, que fez dos meus sonhos os seus, que tantas vezes renunciou tanta coisa por mim. Minha Glivia Palito, eu te amo mais que tudo!

À minha irmã, minha pequenininha. Muitas vezes eu precisei me fazer ausente por causa da distância. Obrigada por ser essa irmã tão maravilhosa, o meu maior presente de Deus. Obrigada por me fazer de exemplo, de cúmplice, um pouco minha filha, minha amiga, minha parceira. Minha mimã, eu te amo do tamanho do buraco negro!

À minha família, que é tão perfeita em sua imperfeição. Aos meus avós que passaram esses anos todos sem entender direito meus planos, mas mesmo assim torceram por mim. À minha madrasta e meu padrasto, por serem os melhores do

mundo. À vocês que tem muito mais que uma ligação de sangue, mas uma ligação de amor, eu amo cada um de vocês.

Àos meus amigos de Guará, em especial ao Luiz, que tanto torceu por mim, à Fernanda que mesmo estando tão longe neste momento nunca deixou de se fazer presente e à Débora que não foi só a minha amiga de infância mas me deu um grande presente, confiar a Javinia a mim como madrinha só me faz feliz. À Carol Souza e sua bonequinha Alice, que mesmo de longe, nunca deixou de torcer por mim. À Carol Azevedo, porque seria muita ingratidão de minha parte não citar seu nome aqui. À vocês, meu eterno muito obrigada!

À Mari, que foi muito mais que companheira de casa. Um verdadeiro anjo em minha vida, uma irmã espetacular. Que aguentou meus chiliques, meu chororô, meu mau humor matinal. Perdeu noites de sono me dando conselhos, me deu broncas e não mediu esforços para me ajudar. Tudo que passamos aqui, os problemas que enfrentamos juntas, as dificuldades, quantas vezes você não me deixou desmoronar. Fu te amo muito, muito obrigada!

Àos amigos que fiz aqui, que foram minha família, me deram colo, sorrisos, broncas, vodka e muito amor e carinho. Mã, minha primeira amiga, que compartilhou as histórias mais malucas de bebedeira, de risadas e de cumplicidade sem limites. A vaca argentina está com saudade de você debaixo do meu cobertooooor...Suh, que desde o começo foi tão prestativa. Mih, com seu jeitinho levemente ácido, foi uma maravilhosa surpresa na minha vida, poucas pessoas que conheço tem um coração tão enorme quanto o seu, sempre prestativa, merece muito mais que um muito obrigada. Lidia, que me deu as noites mais malucas neste lugar, mas muito mais que isso, me deu sua amizade, seu carinho, obrigada por tudo, irm Fortinho, que foi muitas vezes precisou ser firme comigo, e mesmo depois de todas as agressões físicas, eu só tenho a agradecer por tudo que você significa pra

mim. Figia, que me deu o prazer de morar com ela, sempre doce e calma, meu anjinho lindo, muito obrigada. Flavinho, que me aguentou te assediando, me convidou pros porres e muito além disso, se tornou a minha sementinha do mal preferida, obrigada por tudo! Ato Marcos, aquela frase de que “ a gente não faz amigos, os reconhece ” nunca fez tanto sentido depois de te conhecer. Je amo muito! Ato Biga, uma das pessoas que eu mais me orgulho de ter conhecido. Mesmo depois de tantos altos e baixos, eu só tenho a agradecer por todos os conselhos, broncas e noites em claro jogando conversa fora. Ato povo do Pibid, por terem sido os melhores companheiros do mundo. Ato povo de Natal da separação, por todas as histórias que não podem ser citadas aqui. E a todos que eu tenho muito orgulho de ter conhecido aqui.

Ato alef, meine lieben! Que é o primeiro publicitário com curso online de Lactoferrina. Com doutorado em me deixar aguada, umas das melhores partes de mim, Ich liebe dich, meine lieben!

Aos amigos da minha sala, que estão longe de ter sido amor à primeira vista, mas eu aprendi a amar e admirar cada um de vocês. Vou sentir muita falta do contato diário e os melhores votos para que possam realizar seus sonhos.

A todos os professores que passaram pela minha vida escolar desde o começo até hoje, que me ensinaram muito mais que os conteúdos que se encontravam nos livros, que deram exemplo, serviram de estímulo. Queria eu que todas as pessoas tivessem a sorte de ter vocês na vida delas, muito obrigada mestres!

E por fim, mas não menos importante, meu eterno agradecimento à minha orientadora Ana Paula. Obrigada por ter aparecido na época certa, por ter reacendido a chama em mim de buscar coisas novas. Por sempre me apoiar, me fazer ver um mundo novo. Por ser muito mais que uma professora, mas uma amiga,

*psicóloga, uma pessoa que só me trouxe bons exemplos. Ana, meu eterno e infinito
muito obrigada!*

RESUMO

O presente trabalho buscou investigar, a partir da reunião de trabalhos sobre o efeito antitumoral da Lactoferricina, um subproduto da lactoferrina, se a Lactoferricina poderia ser uma alternativa para o tratamento de tumores, uma vez que os tratamentos existentes atualmente são muito agressivos.

Os resultados apontaram que a estrutura da lactoferricina garante inúmeras propriedades, como efeito antibacteriano, antiviral, promoção do sistema imunitário e efeito antitumoral. Sua capacidade de sequestrar o ferro e/ ou desestruturar a membrana de microorganismos é de grande importância.

Há fortes evidências que a Lactoferricina seja eficaz no tratamento de tumores, promovendo a apoptose de células cancerosas, impedindo a angiogênese. Estudos mostraram que esse subproduto se mostrou eficaz no combate a diferentes tipos de cânceres. Porém, poucos estudos já investigaram essa propriedade de Lactoferricina.

A partir das pesquisas reunidas, pode-se mostrar que há fortes evidências de que essa glicoproteína pode ser uma alternativa para o tratamento do câncer, além de que ainda há pontos a serem investigados que contemplem esse aspecto.

Palavras-chave: Lactoferrina, Lactoferricina, tumores, câncer

ABSTRACT

This work attempted to investigate, by a literature review, if Lactoferricin, a subproduct of lactoterrin, could be an alternative to tumor treatment, once conventional treatments are very aggressive.

The researches showed that the lactoferricin structure provides a variety of properties, such as an antibacterial and antiviral effect, an immune system promotor, and an antitumoral effect. Its capacity to sequestrate iron and disorganize the membrane of microorganisms is very important to its action.

There are strong evidences that the lactoferricin is effective against tumors promoting the cancerous cells apoptosis, preventing the angiogenesis and being effective against different types of cancer. However, there are still a few studies about lactoferricin.

As from the studies gathered in this present work, we showed that there are evidences that this glycoprotein could be a better and healthier alternative to cancer treatment, in addition to show that there are gaps that needed to be investigated yet.

Key ords: Lactoferrin, Lactoferricin, tumors, câncer

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	11
	1.1 O SISTEMA IMUNITÁRIO.....	13
	1.2 AS CÉLULAS CANCEROSAS.....	16
	1.2.1 OS TRATAMENTOS CONTRA O CÂNCER.....	17
	1.3 A LACTOFERRICINA.....	24
2.	JUSTIFICATIVA.....	26
3.	OBJETIVO.....	27
4.	METODOLOGIA.....	28
5.	RESULTADOS.....	29
	5.1 A LACTOFERRINA.....	29
	5.1.1 EFEITO ANTIBACTERIANO DA LACTOFERRINA.....	32
	5.1.2 EFEITO ANTIPARASITÁRIO E ANTIFÚNGICO DA LACTOFERRINA.....	35
	5.1.3 ATIVIDADE ANTIVIRAL DA LACTOFERRINA.....	36
	5.1.4 EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DA LACTOFERRINA.....	38
	5.1.5 EFEITO ANTITUMORAL DA LACTOFERRINA.....	39
	5.2 A LACTOFERRICINA.....	42
	5.2.1 EFEITO ANTITUMORAL DA LACTOFERRICINA.....	44
	5.2.1.1. EFEITO DA LACTOFERRICINA NA APOPTOSE.....	45
	5.2.1.2. EFEITO DA LACTOFERRICINA NA ANGIOGÊNESE.....	47
	5.2.1.3 EFEITO DA LACTOFERRICINA NA METÁSTASE.....	48
	5.3 QUADRO COMPARATIVO ENTRE LACTOFERRINA E LACTOFERRICINA.....	48
6.	DISCUSSÃO.....	51
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

1. INTRODUÇÃO

O estudo do mundo vivo mostra que a evolução produziu uma imensa variedade de formas. Existem milhões de espécies diferentes de bactérias, protozoários, vegetais e animais, que diferem em sua morfologia, função e comportamento. Entretanto sabe-se agora que, quando os organismos vivos são estudados em nível celular e molecular, observa-se um plano único principal de organização (DE ROBERTIS, 1995).

Os seres vivos que habitam nosso planeta compartilham um conjunto de características comuns que os distinguem da matéria não viva, como um tipo preciso de organização; a habilidade em manter um meio interno em equilíbrio dinâmico frente a variações do meio externo (homeostasia); a capacidade de movimentação (para alguns); a reatividade a determinados estímulos; crescimento; o desenvolvimento e reprodução, dentre outras (BATASTINNI *et al*, 2011).

Considerando o corpo animal, este funciona como uma sociedade ou um ecossistema, cujos integrantes são as células, que se reproduzem por divisão celular e organizam-se em conjuntos que colaboram entre si (os tecidos). Para coordenarem este comportamento, as células enviam, recebem e interpretam um conjunto sofisticado de sinais que servem como controles sociais, que ditam a cada uma como deve atuar. Disso resulta que cada célula comporta-se de uma maneira socialmente correta, repousando, dividindo-se ou morrendo quando necessário, para o bem-estar do organismo. Porém, algumas mutações podem comprometer o equilíbrio dessa sociedade (ALBERTS, 2010).

Assim como todos os seres vivos, as células têm o seu ciclo de vida, denominado de ciclo celular. Ele é compreendido de intérfase, que é o período no qual as células não estão se dividindo, e da fase em que ocorre a divisão celular. A intérfase é o período de maior metabolismo na célula, na qual ocorre a síntese de substâncias, além de outros processos

químicos e físicos. Essa fase do ciclo celular pode ser dividida em três fases menores: G1, S e G2 (Fig 01).

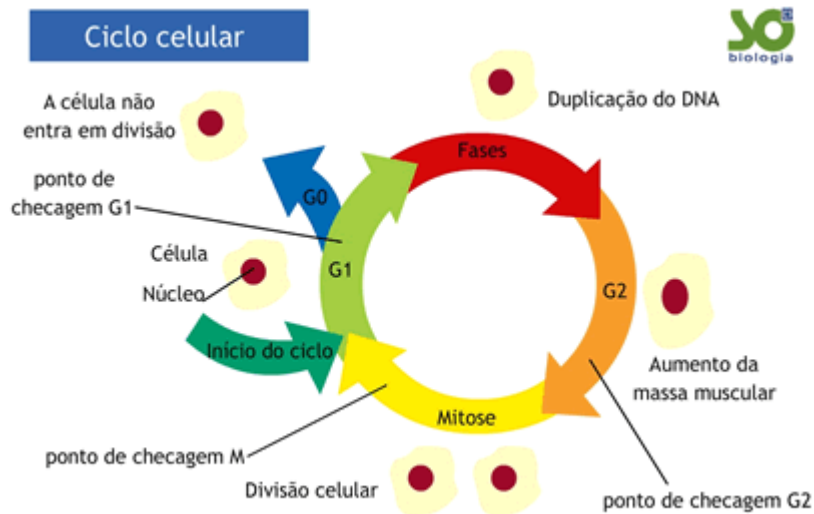


Figura 01: O ciclo celular

Fonte: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Citologia2/nucleo11.php>

O período G1 é o que ocorre imediatamente ao fim da divisão celular. Nesse período não há estímulos para mitose, apenas ocorre a atividade celular e a produção de proteínas. Na fase S, também chamada de fase de síntese, ocorre a duplicação do material genético. Por fim, na fase G2, a célula irá produzir substâncias que serão importantes na divisão celular - nesta fase são duplicadas todas as organelas (ALBERTS, 2010).

Após o período de intérfase, ocorre a mitose, que é dividida em quatro fases: Prófase, Metáfase, Anáfase e Telófase. Após a divisão celular, as células-filhas voltam a estar em intérfase, reiniciando o ciclo. Qualquer perturbação nesse ciclo pode causar sérias consequências.

Novas células surgem o tempo todo em nosso organismo por mitose e, por dia, ocorrem aproximadamente 100 alterações do genoma durante a replicação do DNA que podem resultar em células alteradas. Há o mecanismo de reparo de DNA para que estas alterações não sejam efetivadas (ALBERTS, 2010). Entretanto, eventualmente algumas células com DNA alterado podem surgir, podendo comprometer a integridade do indivíduo. É quando o sistema imunitário, responsável pela integridade física de um organismo, entra em ação (ALBERTS, 2010).

1.1 O SISTEMA IMUNITÁRIO

A integridade de um organismo vivo, tratando-se do reino animal, é dada por um sistema responsável pelo reconhecimento de patógenos (organismos estranhos e patogênicos a um indivíduo), como bactérias e vírus, e também de células anormais do próprio corpo, como acontece no caso de tumores. A este sistema dá-se o nome de Sistema Imunitário. Em se tratando de imunidade, esta pode ser inata ou adquirida, dependendo do funcionamento do sistema imunitário (ABBAS *et al*, 1994 APUD PASSOS, 2003).

A imunidade inata é inespecífica e constitutiva, sendo composta por barreiras físicas, químicas e celulares, cuja função é o combate a patógenos. Dentre as barreiras físicas, pode-se destacar a pele, os cílios e os pelos. A pele é um componente importante; pois além de resistente, a pele também secreta substâncias antibacterianas e é considerada a primeira linha de defesa de um indivíduo (ABBAS *et al*, 2009).

Dentre as barreiras químicas, pode-se citar o pH vaginal, o ácido clorídrico no estômago, as lágrimas, o muco e saliva, entre outros, que também auxiliam no combate a patógenos. Há também as barreiras biológicas, que consistem da flora da pele e do intestino, por exemplo, nas quais as bactérias que compõem a flora são responsáveis por evitar que microorganismos patogênicos ocupem os órgãos onde habitam (ABBAS *et al*, 2009).

O sistema do complemento é a porção induzível da imunidade inata: é composto por uma série de glicoproteínas que podem ser ativadas por componentes da parede celular de bactérias (LPS – lipopolissacarídeos ou manoses) ou pelo complexo antígeno-anticorpo. A função principal é a de promover a lise da célula-alvo. Ao longo do processo de ativação da cascata do sistema complemento, ocorre a produção de mediadores que aumentam a permeabilidade vascular e contribuem para o desenvolvimento da resposta inflamatória, além da produção do complexo de ataque à membrana, que promove a lise osmótica da célula-alvo (ABBAS *et al*, 2009).

As células que compõem o sistema imunitário, que são produzidas principalmente na medula óssea e denominados de leucócitos ou células brancas e ocupam o tecido sanguíneo, órgãos linfoides, mucosas, nódulos linfóides. Dentre aquelas que fazem parte da imunidade inata, pode-se citar os neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, mastócitos, basófilos, células *natural killer* (NK). Os linfócitos são responsáveis pela imunidade

adquirida e trabalham em conjunto com células fagocíticas, como os macrófagos e células dendríticas (ABBAS *et al*, 2009).

Os neutrófilos são os leucócitos mais abundantes no sangue. Estão entre as primeiras células a migrarem para o local de inflamação e são ativados por diversos estímulos, como produtos bacterianos, proteínas do sistema complemento e citocinas. Os macrófagos são fagócitos eficientes, englobando e destruindo partículas estranhas. Ao contrário dos neutrófilos, podem permanecer por meses no tecido. Os eosinófilos são células com função de prender e danificar os invasores; quando estimulados, eles liberam seus grânulos, com toxinas, tais como histaminas e arilsulfatase. Os eosinófilos combatem principalmente vermes, pois estes últimos não conseguem ser fagocitados. Os mastócitos não são encontrados na circulação. Distribuem-se junto a vasos sanguíneos, nervos e sob o epitélio da pele e mucosas. Desempenham papel primordial nas reações inflamatórias agudas. Os basófilos, embora não estejam presentes nos tecidos, são recrutados para sítios inflamatórios, juntamente aos eosinófilos. As células *natural killers* (NK) matam células infectadas por vírus e células tumorais. Essas células não são parte da resposta inflamatória, mas são importantes na imunidade não específica a infecções virais e na prevenção de tumores (ABBAS *et al*, 2009).

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC – *Major Histocompatibility Complex*) são proteínas de membrana que têm papel na apresentação de antígenos (porções protéicas de patógenos ou células próprias alteradas). Há duas classes: MHC I e MHC II. A classe I está presente em todas as células nucleadas. É por meio desse conjunto de proteínas que o sistema imunitário consegue perceber células anormais e senescentes. A classe II está presente nas células fagocíticas e é por meio dele que o sistema imunitário consegue reconhecer o que é próprio e não-próprio (ABBAS *et al*, 2009).

O reconhecimento do próprio e do não-próprio é feito pela imunidade adquirida, cujos principais leucócitos envolvidos são os linfócitos. As principais características desse tipo de imunidade são a especificidade (específica a antígenos específicos); diversidade (há determinantes antigênicos para cada um dos diferentes antígenos que o sistema entrar em contato); reconhecimento do próprio e do não-próprio (distingue antígenos próprios e estranhos ao hospedeiro); e memória (a resposta da imunidade adquirida aumenta quando exposta uma segunda vez ao mesmo antígeno). Dependendo do tipo de célula envolvido na resposta imunitária adquirida, pode-se ter dois tipos de resposta: celular e humoral.

Numa típica resposta humoral T-dependente, antígenos exógenos são internalizados pelas CAAs (Células Apresentadoras de Antígenos: macrófagos, linfócitos B, células dendríticas foliculares, etc.) e processados a fragmentos peptídicos. Esses fragmentos são, então, apresentados conjuntamente com o MHC II na superfície das CAAs ao TCR (*T Cell Receptors* ou Receptores de Células T) presente em linfócitos T CD4+ (Ta = T auxiliar ou *T helper*). Esse linfócito T é, então, ativado, passando a se replicar e a liberar citocinas que ativarão as células envolvidas no processo. Linfócitos B ativados se replicam, diferenciando-se em células de memória e efectoras (plasmócitos) produzindo, então, anticorpos (imunoglobulinas = Ig). A resposta a este primeiro contato com o antígeno é chamado de resposta primária. Num segundo contato com o antígeno, a resposta é mais rápida e mais longa que a resposta primária - sendo esta a resposta secundária. Geralmente, nessa resposta, são linfócitos B de maior afinidade que estão atuando, devido à mudança de classes de imunoglobulinas ocorrida após o contato primário. Mais ainda, nas respostas há a chamada maturação de afinidade, na qual se selecionam linfócitos B que produzem imunoglobulinas de afinidade maior aos determinantes antigênicos do agente infectante. A mudança de classe e a maturação de afinidade são mecanismos TCD4+-dependentes.

Em uma resposta celular, na qual não há produção de anticorpos, uma célula TC (T citotóxica) reconhece o fragmento peptídico correspondente a um determinante antigênico no MHC I. Esta célula replica-se e se diferencia em células de memória e efectoras (LTC = linfócito T citotóxico), que se encarregam de matar a célula alterada (fig. 02) (ABBAS *et al*, 1994; KUBY, 1998 APUD PASSOS, 2003). Por vezes, esta célula alterada escapa ao sistema imunitário, provocando tumores.

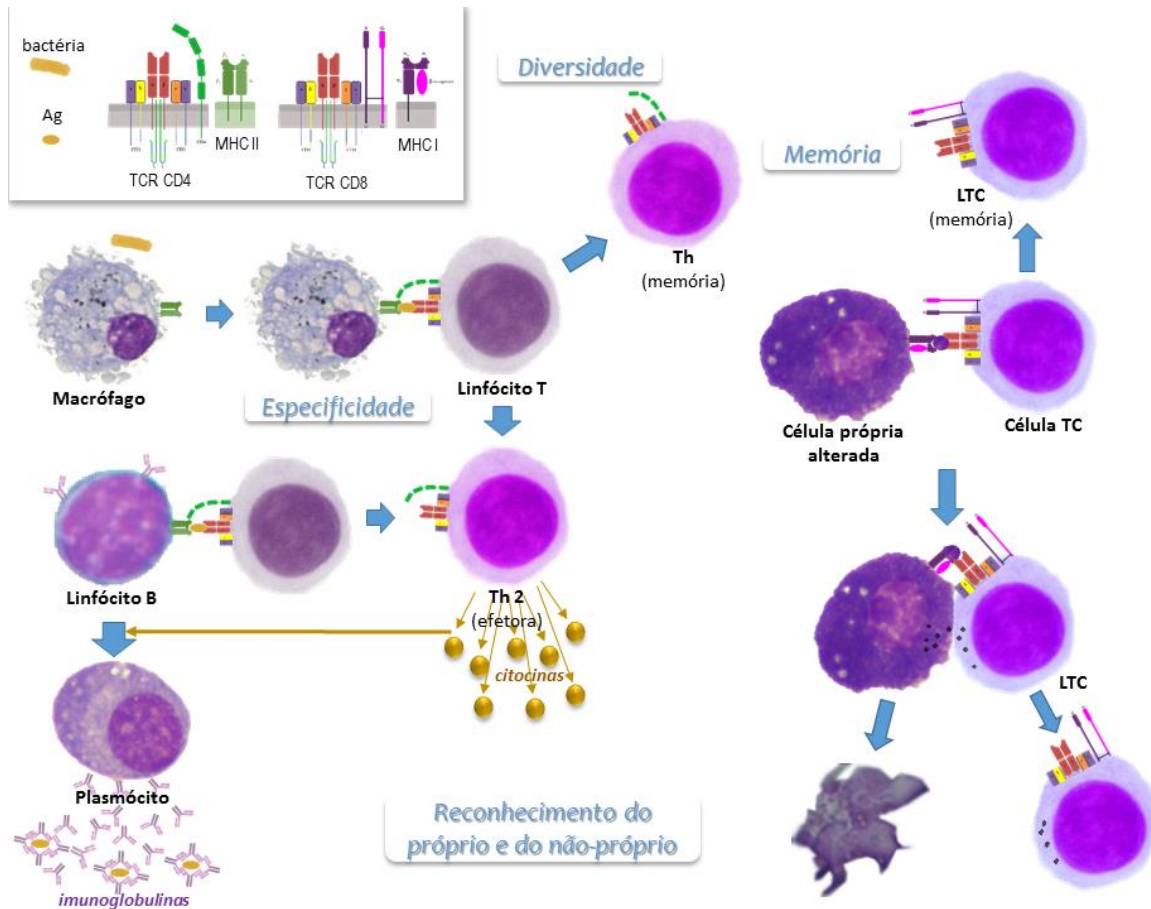


Figura 02: Esquema demonstrando as vias de ação da imunidade adquirida. Uma CAA (célula apresentadora de antígeno), como o macrófago, fagocita uma bactéria. Esta bactéria é digerida e fragmentos peptídicos desta bactéria são apresentados no MHC II do macrófago que, ao encontrar um linfócito T CD4, apresenta o antígeno (Ag) ao TCR CD4, ativando o linfócito T a Th2 (*T helper 2*) de memória e Th2 efetor, que produz citocinas. Estas citocinas ativarão linfócitos B, que passarão a plasmócitos, produzindo anticorpos (Ac) ou imunoglobulinas (Ig). Os Ac específicos ao patógeno reconhecido se ligam à membrana das bactérias, inativando-as e facilitando a fagocitose destas bactérias pelas CAAs, fenômeno chamado de opsonização. No caso de uma célula própria alterada, O TCR CD8 de uma célula TC (citotóxica) se liga ao MHC I de uma célula alterada, reconhecendo o fragmento como próprio modificado. A célula TC se ativa a LTC (linfócito T citotóxico), que passa a se dividir em LTC de memória e LTC efetor. O LTC efetor perfura a membrana da célula alterada, liberando componentes citotóxicos que destroem o DNA da célula alterada, provocando sua morte. Fonte: Passos (2003)

1.2 AS CÉLULAS CANCEROSAS

Câncer é uma doença na qual uma célula originada por mitose, ou seja, um clone individual mutado, passa a prosperar às custas das células vizinhas e, por fim, os descendentes de tal célula levam à completa destruição da sociedade celular. As células cancerosas são definidas por duas propriedades hereditárias: reproduzem-se desobedecendo aos limites

normais da divisão celular e invadem e colonizam regiões normalmente destinadas a outras células (ALBERTS, 2010).

Sendo assim, tumor pode ser definido como uma célula anormal que cresce e prolifera fora de controle. Pode ser benigno, quando as células neoplásicas¹ não se tornam invasivas, ou maligno quando suas células tiverem a capacidade de invadir tecidos adjacentes. Quando é maligna, a célula cancerosa se desprende do tecido, penetra na corrente sanguínea e forma tumores secundários, denominados metástases. Os tumores podem ser divididos em vários tipos: Carcinomas, Sarcomas, Leucemias e Linfomas. Os carcinomas são cânceres derivados de células epiteliais. São os mais comuns entre todos os tipos, compreendendo o câncer de mama, de pulmão, de bexiga, de próstata, de pele, de estômago, de ovário e de pâncreas. Os sarcomas são derivados de tecidos conectivos ou células musculares, também conhecidos como tumores malignos dos tecidos moles. Podem se originar em ossos, cartilagens, gordura, músculos, vasos sanguíneos ou tecidos moles. As Leucemias são caracterizadas pelo acúmulo de células jovens anormais na medula óssea. Por fim, os linfomas são tumores malignos do sistema linfático (ALBERTS, 2010).

1.2.1 TRATAMENTOS CONTRA O CÂNCER

O tratamento contra o câncer não é restrito a apenas uma forma. Atualmente, os principais tratamentos existentes no combate ao câncer são a quimioterapia, a radioterapia e a imunoterapia. Em linhas gerais, a quimioterapia se trata da utilização de compostos químicos para o tratamento de neoplasias. A radioterapia baseia-se na utilização de radiação para o combate de tumores. Por fim, a imunoterapia consiste na estimulação e promoção do sistema imunológico de modo que o corpo consiga combater o câncer (INCA, 2014).

O primeiro registro de tratamento com um quimioterápico antineoplásico foi em 1946 (INCA,2014). Desenvolvido a partir do gás mostarda², utilizado como arma química nas Guerras Mundiais, pôde ser observado que os soldados que tiveram exposição a este agente desenvolveram hipoplasia³ medular e linfóide, o que levou a seu uso no tratamento de linfomas malignos (INCA, 2014)

Os quimioterápicos são classificados conforme a sua atuação sobre o ciclo celular em:

¹ Neoplasia: corresponde à forma de crescimento não controlada e é denominada comumente "tumor".

² Gás mostarda: também chamado de Iperita, é um composto químico cuja fórmula é $C_4H_8Cl_2S$. Provoca lesões e bolhas na pele, cegueira e a morte. Foi muito utilizado como arma química na 1ª Guerra mundial.

³ Hipoplasia: diminuição da atividade que leva à formação de tecidos orgânicos.

- Ciclo-inespecíficos - Aqueles que atuam nas células que estão ou não no ciclo proliferativo, como, por exemplo, a mostarda nitrogenada.
- Ciclo-específicos - Os quimioterápicos que atuam somente nas células que se encontram em proliferação, como é o caso da ciclofosfamida.
- Fase-específicos - Aqueles que atuam em determinadas fases do ciclo celular, como, por exemplo, o metotrexato (fase S), o etoposídeo (fase G2) e a vincristina (fase de divisão celular) (INCA,2014).

De acordo com o INCA, a quimioterapia pode ser utilizada combinada com a cirurgia e a radioterapia. A quimioterapia é classificada de acordo com a sua finalidade, podendo ser curativa, quando é utilizada com o objetivo de destruição completa do tumor, é utilizada nos casos de leucemias agudas, carcinomas de testículo, entre outros tumores. Pode ser adjuvante, quando utilizada posteriormente à cirurgia curativa, cujo objetivo é esterilizar células residuais e circulantes, diminuindo a incidência de metástase⁴ (um bom exemplo é o caso e câncer de mama). Pode ser neoadjuvante⁵ ou prévia, que é utilizada quando deseja-se obter a redução parcial do tumor, como uma complementação terapêutica. E a última finalidade é a paliativa, que acontece com a finalidade de melhorar a qualidade da sobrevivência do paciente.

Entretanto, segundo o INCA, há inúmeros efeitos colaterais da quimioterapia.

“Os efeitos terapêuticos e tóxicos dos quimioterápicos dependem do tempo de exposição e da concentração plasmática da droga. A toxicidade é variável para os diversos tecidos e depende da droga utilizada” (INCA, 2014).

O quadro a seguir (quadro 01) mostra os efeitos colaterais causados pela quimioterapia.

⁴ Metástase: Ocorre quando a célula cancerosa se desprende do tecido, penetra a corrente sanguínea e forme tumores secundários.

⁵ Terapia neoadjuvante: é a administração de agentes terapêuticos antes do tratamento principal contra o câncer. O objetivo é reduzir o tamanho ou extensão do câncer antes do tratamento com intervenção radical

Precoces* (de 0 a 3 dias)	Imediatos (de 7 a 21 dias)	Tardios (meses)	Ultra-Tardios (meses ou anos)
<ul style="list-style-type: none"> • Náuseas • Vômitos • Mal estar • Adinamia • Artralgias • Agitação • Exantemas • Flebites 	<ul style="list-style-type: none"> • Mielosupressão granulocitopenia plaquetopenia anemia • Mucosites • Cistite hemorrágica devida à ciclofosfamida • Imunossupressão • Potencialização dos efeitos das radiações devida à actinomicina D, à adriamicina e ao 5-fluoruracil 	<ul style="list-style-type: none"> • Miocardiopatia devida aos antracíclicos e outros • Hiperpigmentação e esclerodermia causadas pela bleomicina • Alopecia • Pneumonite devida à bleomicina • Imunossupressão • Neurotoxicidade causada pela vincristina, pela vimblastina e pela cisplatina • Nefrotoxicidade devida à cisplatina 	<ul style="list-style-type: none"> • Infertilidade • Carcinogênese • Mutagênese • Distúrbio do crescimento em crianças • Sequelas no sistema nervoso central • Fibrose/cirrose hepática devida ao metotrexato

* Síndrome da toxicidade precoce (Delgado 1983)
Retirado do site do INCA

Quadro 01: Efeitos colaterais da quimioterapia.

Fonte: Retirado do site do INCA

É notável o quanto são severos os efeitos da quimioterapia. Infelizmente, apesar de todos os avanços na área, os pacientes submetidos a este tratamento têm sua qualidade de vida prejudicada, uma vez que os efeitos colaterais são severos e podem causar sequelas permanentes (INCA, 2014).

Porém a quimioterapia não é o único tratamento para o câncer. A radioterapia é outro método muito utilizado no tratamento de tumores, com o emprego de feixes de radiação ionizante. As radiações ionizantes são eletromagnéticas ou corpusculares (a primeira se dá pela oscilação entre um campo elétrico e um campo magnético, enquanto a segunda é constituída por partículas subatômicas, sendo os tipos mais conhecidos: elétrons, prótons, nêutrons e partículas alfa e beta) e carregam energia. Ao interagirem com os tecidos, dão origem a elétrons rápidos que ionizam o meio e criam efeitos químicos, como a hidrólise da água e a ruptura das cadeias de DNA. A morte celular pode ocorrer, então, por variados mecanismos, desde a inativação de sistemas vitais para a célula até sua incapacidade de reprodução (INCA, 2014).

Desde o final do século XIX, pacientes com tumores são tratados com radiação ionizante. A descoberta dos Raios X e da radioatividade foi prontamente seguida do uso terapêutico dos mesmos. O primeiro uso terapêutico dos Raios X foi realizado em 29 de

janeiro de 1896, no tratamento de uma paciente com câncer de mama. Em 1899, um carcinoma de célula basal foi curado pela radiação (INCA 2014).

Atualmente, pode-se dividir a radioterapia moderna em Teleterapia e Braquiterapia. A primeira consiste na terapia a curta distância, com a fonte emissora de radiação encontrando-se a cerca de 1 metro de distância do paciente. Nesse tipo de tratamento, tem-se os feixes de Raios X, Radiação Gama, elétrons de alta energia e nêutrons. De acordo com o planejamento terapêutico, o fracionamento varia de 25 a 35 aplicações. Os principais elementos radioativos utilizados são o Cobalto-60, que é uma fonte de radiação que emite fótons sob a forma de radiação, com a energia de 1,17 MeV⁶ e 1,33 MeV. Como é uma fonte radioativa, a emissão de fótons é contínua.

Já a braquiterapia é um tratamento radioterápico no qual as fontes de radiação são colocadas dentro de reservatórios metálicos e aplicadas a poucos centímetros dos tumores. Ela pode ser dividida em: (i) intraluminal, na qual a fonte é colocada no lúmen de estruturas anatômicas. O exemplo mais comum é o tratamento do câncer de pulmão; (ii) intersticial, na qual agulhas são utilizadas para que a fonte fique a poucos centímetros do tumor. Pode ser utilizada como implante temporário ou permanente (Ex.: câncer de mama e cérebro); (iii) superficial ou de contato, que é realizada utilizando-se moldes, nos quais são colocadas as fontes de radiação; (iv) intracavitária, na qual a fonte é introduzida em cavidades do corpo adjacentes aos tumores (Ex.: traquéia, esôfago, vagina, reto, uretra) (INCA, 2014).

Assim como a quimioterapia, a radioterapia pode ser classificada quanto à sua finalidade: (i) curativa, quando se busca a cura total do tumor; profiláticas, quando se trata a doença em apenas para exterminar possíveis células neoplásicas; (ii) paliativa, quando se busca remissão de sintomas, tais como dor intensa, sangramento e compressão de órgãos e (iii) e ablativa, quando é utilizada para suprimir a função de um órgão, por exemplo, quando se quer obter a castração, aplicando radiação no ovário (INCA, 2014).

Quanto aos efeitos colaterais, são, muitas vezes, bastante agressivos, assim como na quimioterapia. De acordo com o INCA, os efeitos colaterais podem ser classificados como imediatos e tardios. A primeira classe é observada nos tecidos que apresentam maior capacidade proliferativa, como as gônadas, a epiderme, as mucosas do trato digestivo, urinário e genital, e a medula óssea. Porém eles só ocorrem, se esses tecidos estiverem expostos nos campos de irradiação e podem ser potencializados pela administração simultânea

⁶ MeV= megaeletrovolt = $1,60217657 \times 10^{-13}$ joules

de quimioterápicos. Manifestam-se, por exemplo, anovulação⁷ ou azoospermia⁸, que devem ter os sintomas tratados. Normalmente, são reversíveis. Já os efeitos tardios manifestam-se por atrofias⁹ e fibroses¹⁰. As alterações de caráter genético e o desenvolvimento de outros tumores malignos são raramente observados (INCA, 2014).

Outro tipo de tratamento contra o câncer é a imunoterapia, que consiste em promover o fortalecimento do sistema imunológico. As principais estratégias para a imunoterapia do câncer visam prover efetores antitumorais (anticorpos e células T) aos pacientes, imunizar ativamente os pacientes contra seus tumores e estimular as respostas imunológicas dos pacientes. As reações imunitárias podem ser resultado da interação antígeno-anticorpo ou dos mecanismos envolvidos na imunidade mediada por células (ABBAS, 2009).

Como já foi dito, o tratamento das neoplasias depende da quimioterapia e da radioterapia, ambas com efeitos devastadores em tecidos não tumorais normais. Como a resposta imune é altamente específica aos tumores, a imunoterapia se mostra como vantajosa, uma vez que pode ser usada para erradicar os tumores de forma seletiva sem provocar lesões no paciente (ABBAS, 2009).

Um das estratégias para a imunoterapia baseou-se em várias formas de imunização passiva, na qual efetores imunológicos eram injetados em pacientes com câncer, ou seja, eram injetados no paciente os anticorpos prontos. Os anticorpos se ligam aos antígenos tumorais e tanto ativam os mecanismos efetores do hospedeiro, tais como fagócitos ou o sistema do complemento, como liberam toxina para o interior das células tumorais (ABBAS, 2009).

Outros anticorpos monoclonais¹¹ que são utilizados na terapia do câncer podem trabalhar bloqueando a sinalização do fator de crescimento ou pela inibição da angiogênese.¹²

Presume-se que as células T contêm receptores de células T tipo troll, específicos para o tumor, que o encontram e destroem. Esta abordagem, chamada de “imunoterapia celular adotiva”, está sendo tentada em diversas neoplasias metastásicas, mas os resultados têm sido variáveis entre diferentes pacientes e tumores (ABBAS, 2009).

⁷ Anovulação: Consiste no bloqueio da ovulação da mulher, causando desta forma, infertilidade.

⁸ Azoospermia: Acontece quando nenhum espermatozoide é detectado no sêmen. Sendo assim, o homem se torna estéril.

⁹ Atrofias: Resultante da redução do volume celular, que reflete na redução do tecido ou órgão afetado.

¹⁰ Fibrose: é a formação ou desenvolvimento de tecido conjuntivo em determinado órgão ou tecido como parte de um processo de cicatrização.

¹¹ Anticorpos monoclonais: surgem a partir de um único linfócito B, que é clonado e imortalizado, produzindo sempre os mesmos anticorpos, em resposta um agente patogênico. Tem se tornado alvo de interesse pelo seu potencial no tratamento do câncer.

¹² Angiogênese: é o termo usado para descrever o mecanismo de crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes, que são responsáveis por nutrir o tumor.

Muitas estratégias novas para a imunoterapia do câncer dependem da catalisação das próprias respostas imunológicas do hospedeiro contra tumores. Uma maneira de estimular a resposta contra os tumores é vacinar os pacientes com as próprias células tumorais ou os antígenos dessas células (ABBAS, 2009).

Vacinas podem ser administradas como proteínas recombinantes com adjuvantes. Recentemente, tem havido grande interesse no crescimento de células dendríticas de indivíduos. Espera-se que as células dendríticas com antígenos tumorais possam imitar o caminho normal de apresentação cruzada e gerar linfócitos citotóxicos contra as células tumorais (ABBAS, 2009).

Outra abordagem para a vacinação usa um plasmídeo¹³ contendo um DNA complementar que codifica um antígeno tumoral. A injeção do plasmídeo resulta na expressão do cDNA pelas células hospedeiras, incluindo células apresentadoras de antígeno que tomam o plasmídeo (ABBAS, 2009)

Os tumores causados por vírus oncogênicos podem ser prevenidos pela vacinação contra esses vírus, como o vírus da hepatite B e papilomavírus humano.

Outra alternativa é tratar pacientes com citocinas que estimulem respostas imunitárias, como a interleucina-2¹⁴. Porém, não foi muito eficiente pelos graves efeitos tóxicos das altas doses que são necessárias para estimular as respostas de células T antitumorais (ABBAS, 2009).

Como forma de variação dessa abordagem, um gene de citocina pode ser utilizado para imunizar o paciente, expressando-o em células tumorais. Uma variação recente e interessante da ideia de aumentar as respostas imunológicas do hospedeiro contra os tumores é eliminar os sinais inibitórios normais para os linfócitos. Em alguns modelos animais, o bloqueio dos receptores inibitórios de células T citotóxicas ocasionou respostas imunitárias potentes contra tumores transplantados (ABBAS, 2009).

Bernardi (2003) explica que, atualmente, existem 209 drogas em fase de testes divididas em oito grupos:

1. Drogas que visam alteração da expressão gênica: para isso é utilizado oligonucleotídeos anti-sentido, que são pequenos segmentos sintéticos de DNA de filamento único que são complementares a uma porção de mRNA e que permitem o bloqueio da expressão de um oncogene.

¹³ Plasmídeo: Material genético circular não ligado ao cromossomo que fica espalhado pelo hialoplasma das bactérias. O plasmídeo é retirado das células bacterianas para que se possa inserir o gene de estudo. Muito utilizado em biotecnologia.

¹⁴ Interleucina-2: são proteínas responsáveis pela maturação dos linfócitos B e T.

2. Inibidores de transdução de sinal: são os inibidores da transdução de sinal. Quando fatores de crescimento se ligam a proteínas de membrana, essas dimerizam e enviam ao núcleo sinais pró-mitóticos. Os fármacos desse grupo têm como função impedir que as proteínas da membrana formem dímeros. Desta forma, as células tumorais se dividem menos. A este grupo também pertencem os inibidores de Ras, (uma proteína acoplada na face interna da membrana cujo aumento costuma ser associado à formação de tumores). Foi demonstrado que o gene Ras reverte a transformação maligna em células cancerosas que contém o gene Ras, restaurando os padrões normais de crescimento, sem interferir na divisão celular de células normais.

3. Inibidores da invasão do tumor e metástase: o terceiro grupo são os inibidores da invasão do tumor e metástase. Existem algumas enzimas envolvidas no mecanismo de invasão e metástase. Essas drogas agem inibindo essas enzimas.

4. Inibidores de angiogênese: como os tumores são nutridos por vasos específicos, essas substâncias agem nestes vasos, pois a morte deles implica na não irrigação do tumor e, por consequência, sua regressão. Nesta categoria inclui-se a Talidomida.

5. Agentes diferenciadores: induzem a diferenciação e tornam as células normais. Para isso são utilizados análogos da vitamina D e agonistas do receptor do ácido retinoico.

6. Inibidores imunogênicos: que se dá pela utilização de anticorpos monoclonais, que são moléculas versáteis com grande potencial terapêutico.

7. Reversores de resistência induzida por drogas: como se sabe, muitas vezes as células cancerosas podem desenvolver resistência às drogas, então, esse grupo inibe uma proteína transportadora envolvida nesse processo de resistência.

8. Novas drogas citotóxicas e indutores de apoptose: este grupo compreende as drogas que são capazes de matar seletivamente as células cancerosas ou induzir a morte celular programada das esmas.

Pode-se perceber que os tratamentos para o câncer tem tido grandes avanços. Devido à grande complexidade do câncer, os tratamentos são muito diversos, podendo agir em determinada fase do processo de carcinogênese ou tendo ação mais geral. Porém, infelizmente, muitos estudos se fazem necessários, uma vez que os tratamentos atuais não são suficientes, haja vista o imenso grau de agressividade deles e em muitos casos não são eficientes, como em casos mais avançados.

Apesar de muitos estudos, os mecanismos de ação de células tumorais que provocam câncer ainda são pouco conhecidos e, conseqüentemente, os recursos para tratamento e prevenção passam a ser limitados. Só em 2010, o câncer causou sete milhões de mortes no mundo, o que corresponde a 15% do total da mortalidade do ano. No Brasil, é a segunda causa de morte e estima-se que em 2020 seja a primeira (PINTO, 2013).

Diante disso, estudar seus mecanismos de ação é fundamental para que se encontrem substâncias que possam se tornar fármacos eficientes na prevenção e tratamento. Uma substância que pode se tornar eficiente neste contexto é a Lactoferrina.

1.3 A LACTOFERRICINA

A Lactoferrina é uma glicoproteína descoberta na década de 50 e que tem sido alvo de interesse pelas suas funções fisiológicas, em especial a ação antimicrobiana¹⁵, anti-inflamatória¹⁶ e imunomoduladora¹⁷.

Dentre suas funções, a mais bem compreendida é sua ação antimicrobiana. A Lactoferrina destaca-se pelo mecanismo de sequestro do íon Fe^{2+} ou Fe^{3+} dos fluidos biológicos e sua capacidade de desestruturar a membrana de micro-organismos (QUEIROZ *et al*, 2013).

Sua capacidade de interação com o ferro presente nestes micro-organismos faz com que estes fiquem com as suas estruturas fracas, principalmente a membrana celular. Estudos demonstram que essa glicoproteína tem papel importante na ativação do sistema imune inato de crianças. Esta também parece ser eficaz na inibição da replicação de uma ampla variedade de vírus e apresenta eficácia contra doenças parasitárias. Independentemente do tipo de micro-organismo, a ação da Lactoferrina está na sua interação com a membrana dos mesmos.

A lactoferrina também apresenta atividade na promoção da proliferação celular e é um componente da homeostase imunológica, com capacidade de reduzir o estresse oxidativo¹⁸, controlando a resposta inflamatória em excesso (QUEIROZ *et al*, 2013).

As funções da Lactoferrina compreendem uma grande variedade de propriedades fisiológicas: anti-inflamatória, antioxidante, anticâncer (apoptótica, antiproliferativa, inibidora

¹⁵ Ação antimicrobiana: Ação que reduz ou elimina microorganismos, como bactérias, fungos, vírus, entre outros.

¹⁶ Ação anti-inflamatória: Ação que reduz ou elimina a inflamação.

¹⁷ Ação imunomoduladora: Ação de promoção e estimulação do sistema imunitário.

¹⁸ Estresse oxidativo: Condição biológica em que ocorre desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a sua desintoxicação através de sistemas biológicos que as removam ou reparem os danos por elas causados.

do NF-kappa β), imunoestimulante e quimiopreventiva no câncer colo-retal. A Lactoferrina possui efeito contra bactérias, vírus, fungos e parasitas intestinais. Já se demonstrou “in vitro” o papel apoptótico e antiproliferativo da lactoferrina bovina em vários tipos de cânceres humanos: mama, próstata, pulmão, colo-retal, gástrico, leucemia de linfócitos T, linfoma de células B, melanoma, entre outros. O seu mecanismo de ação principal, porém não único, é a quelação¹⁹ do íon ferro. Diminuindo a biodisponibilidade do ferro livre diminui-se a geração de radicais livres (JUNIOR, 2011).

Uma característica extremamente importante da Lactoferrina está em sua digestão. Esta proteína em contato com a pepsina produz um subproduto, a Lactoferricina, substância que parece ser eficiente pelas suas propriedades antitumorais (QUEIROZ *et al*, 2013).

A Lactoferricina (LFcin) foi identificada inicialmente como um peptídeo antimicrobiano derivado da Lactoferrina (LF) por meio da digestão pela pepsina. Essa é uma proteína multifuncional de defesa inata presente no leite. LFcin pode inibir uma gama de micro-organismos, tais como bactérias gram-negativas e positivas; leveduras; fungos filamentosos e protozoários parasitas, inclusive resistentes a antibióticos. Assim como a LF, LFcin mata os micro-organismos por perturbação na membrana e atuando em conjunto com alguns agentes antimicrobianos. LFcin apresenta inúmeras atividades biológicas em comum com os de LF, como atividade antibacteriana e antitumoral (GIFFORD *et al*, 2005).

¹⁹ Quelação: Pode ser definido como o aprisionamento de íons metálicos por determinado composto.

2. JUSTIFICATIVA

O estudo sobre a Lactoferrina e Lactoferricina B é de extrema importância, considerando o contexto atual de recursos limitados para o tratamento do câncer. Conhecer profundamente a estrutura, propriedades e mecanismos de ação pode ser a chave para o desenvolvimento de novos fármacos que trariam benefícios a milhares de pessoas.

A ação antitumoral da Lactoferricina em conjunto com todas as propriedades da Lactoferrina, principalmente a de promoção do restabelecimento do sistema imunitário, podem ser um caminho alternativo para a prevenção e tratamento de tumores que, além de disporem de poucas possibilidades de tratamento, esses são geralmente extremamente agressivos, com inúmeros efeitos colaterais.

3. OBJETIVO

Notavelmente, pouco se sabe sobre o mecanismo pelo qual Lfcin B exerce a sua atividade anticancerígena, embora os dados disponíveis favoreçam um efeito inibidor direto de Lfcin B no crescimento de células cancerosas e metástase (MADER *et al*, 2005).

Diante disso, levanta-se a questão: será que a Lactoferricina e a Lactoferrina apresentam as mesmas propriedades? A combinação destas substâncias seria algo válido para as pesquisas de tratamento de tumores?

O presente trabalho tem por objetivo apresentar as propriedades de cada uma dessas proteínas, seus mecanismos de ação, similaridades e diferenças. Por meio de uma pesquisa bibliográfica, pretende-se conhecer as pesquisas que já foram desenvolvidas sobre o assunto e elencar o que ainda precisa ser estudado em relação a elas, colocando as lacunas existentes, no intuito de contribuir para prováveis direcionamentos das pesquisas sobre o assunto.

4. METODOLOGIA

O presente trabalho deu-se por meio de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório.

O levantamento bibliográfico foi realizado nas bases de dados eletrônicas *Scientific Electronic Library On-line* (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs) e *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MedLine), da *National Library of Medicine*, Biblioteca Digital de Teses da USP e Biblioteca do Instituto Nacional do Câncer (INCA,2006), considerando o período de 1940 (ano que a Lactoferrina foi descoberta) a 2013. Serão consultadas também as listas de referências dos artigos selecionados para identificar trabalhos clássicos sobre o tema. Os descritores utilizados na língua portuguesa e seus respectivos correspondentes na língua inglesa foram: Lactoferrina (*lactoferrin*), Lactoferricina (*lactoferricin*), lfcin B 25, células tumorais (*tumor cells*), estrutura (*structure*), anti-microbiano (*anti-microbial*), anti-inflamatório (*anti-inflammatory*), antiparasitário (*anti-parasitic*), promoção celular (*promote cell*), anti-tumoral (*anti-tumor*), anti-viral(*antiviral*), angionese (*angiogenesis*), metástase (*metastasis*), apoptose (*apoptosis*). As expressões de pesquisa serão construídas combinando-se os descritores ou utilizando-os de forma isolada.

5. RESULTADOS

A seguir, são apresentadas as caracterizações das proteínas lactoferrina e lactoferricina a partir da pesquisa bibliográfica realizada.

5.1 A LACTOFERRINA

Neste contexto de busca de novas substâncias para o tratamento do câncer, uma substância que merece destaque é a Lactoferrina (Lf). Esta é uma glicoproteína²⁰, cujo peso molecular é 80kD produzida por células epiteliais das mucosas dos mamíferos. Pertence à família das transferrinas, proteínas transportadoras de ferro (LEVAY,1995).

A Lactoferrina foi descoberta e isolada por Sorensen e Sorensen em 1939 e publicada no artigo “The proteins the whey”, publicado na França em 1939. Já a Lactoferrina humana foi descoberta em 1960 (ADLEROVA, 2008) e foi declarada com a principal proteína de ligação no leite humano por três laboratórios independentes.

Muitas propriedades fisiológicas têm sido atribuídas à Lactoferrina. Sendo assim, essa substância ganhou interesse científico a partir da década de cinquenta por ser um componente /capaz de responder a uma variedade de alterações fisiológicas e ambientais (Groves, 1960; Johanson, de 1960; Montreuil *et al*, 1960 citado por ADLEROVA, 2008).

Estruturalmente, cada Lactoferrina é composta por um único polipeptídeo com dois lóbulos globulares nas regiões terminais denominados de lóbulo C (acetil) e N (amino), que são conectados por α -hélice, contendo cada lóbulo um sítio de ligação (OCHOA, STEJINS, 2000). Cada um deles consiste de dois sublóbulos denominados N1, N2, C1 e C2 (STEIJNS, 2000) (fig 02).

²⁰ Glicoproteína: Proteínas que têm um ou mais açúcares ligados covalentemente à estrutura peptídica da mesma.

Sua característica estrutural permite que esta tenha inúmeras funções, entre elas, ação antimicrobiana contra bactérias, fungos, parasitas e vírus; atividade anti-inflamatória, anticancerígenas e várias funções enzimáticas (GONZÁLEZ-CHÁVEZ *et al*, 2009).

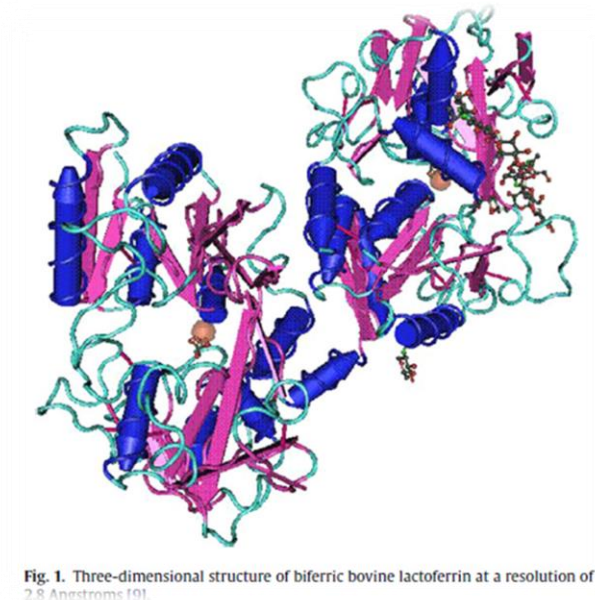


Figura 03: Estrutura tridimensional de lactoferrina bovina biférrica em resolução de 2,8 ângstrons.

Fonte: ADLEROVA, 2008

A estrutura da Lactoferrina lhe confere a propriedade de se ligar a diversos metais , como Cu, Zn, Mg e especialmente os íons Fe²⁺ ou Fe³⁺,(VAN DER STRATE, 2001).

A Lactoferrina pode ser classificada de duas formas, conforme sua capacidade de ligar com o ferro. Uma vez que o íon ferro pode ser encontrado em duas formas distintas, Fe²⁺ e Fe³⁺, conforme o ligante, essa glicoproteína pode ser chamada como holo, quando ligada ao Fe³⁺ e apo, quando ligada ao Fe²⁺. Lf é uma molécula fortemente catiônica com um ponto isoelétrico entre 8,5 e 9. Isso significa que, ao se ionizar, ela tem a capacidade de formar íons carregados positivamente, os cátions. O pH em que suas cargas se encontram neutras é básico.

A Lf começa a liberar íons Fe³⁺ a pH 6, sendo capaz de reter o valor de pH tão baixo quanto 3.5 - 4.0. Isso acontece porque quando começa a liberação os cátions Fe³⁺, os ânions presentes irão se ligar preferencialmente ao Fe³⁺ ao invés do H⁺, sendo assim, o pH é diminuído, por ter mais íons H⁺ livres na solução (SERRANO, 2006).

A Lactoferrina não possui apenas a capacidade de se ligar ao ferro, mas é capaz se ligar a uma gama imensa de compostos, como lipossacarídeos²¹, heparina²²,

²¹ Lipossacarídeos: constituintes das membranas de bactérias

glicosaminoglicanos²³, DNA, e outros íons e metais tais como o Al^{3+} , Ga^{3+} , Mn^{3+} , Co^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , etc . No entanto, a sua afinidade para outros íons é muito menor. Além de CO_3^{2-} , lactoferrina pode ligar-se uma variedade de outros ânions, como os oxalatos²⁴, carboxilatos²⁵ e outros, podendo, dessa forma, afetar o metabolismo e a distribuição de várias substâncias (BAKER, 1994).

González-Chávez *et al* (2008) comentam que a Lactoferrina (fig. 03) está presente em várias secreções mucosas como lágrimas, saliva, fluídos seminais e vaginais. Também está presente dentro dos grânulos secundários de neutrófilos. O leite é a principal fonte de Lactoferrina. É excretada abundantemente no colostro em concentrações de 7 mg/mL, e diminuem com o tempo.

A imagem a seguir demonstra a Lactoferrina e as suas porções N e C terminal:

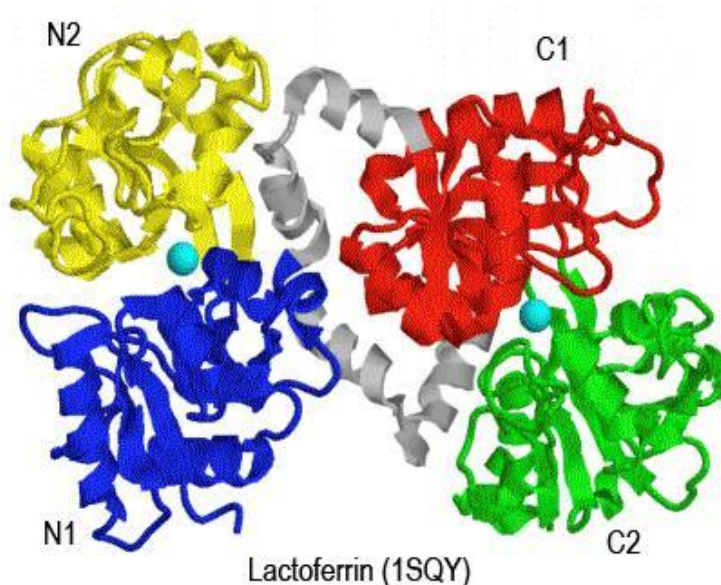


Figura 03: As porções N e C terminal da lactoferrina

Fonte:<http://ddcnovasperspectivas.blogspot.com.br/2012/12/lactoferrina-alactoferrina-e-uma.html>

Apesar de ter sua estrutura relativamente bem conhecida e os estudos atribuírem a ela propriedades biológicas, são necessários mais estudos que demonstrem como sua estrutura bioquímica contempla tantas propriedades distintas.

²² Heparina: Ocorre naturalmente no corpo e está associada à coagulação sanguínea.

²³ Glicosaminoglicanos: São componentes fundamentais na Matriz Extracelular, nos tecidos conectivos, cumprindo várias funções.

²⁴ Oxalatos: Os oxalatos são sais ou ésteres do ácido oxálico

²⁵ Carboxilatos:

A Lactoferrina é isolada a partir da purificação do soro de queijo e leite desnatado. Como é uma proteína fortemente catiônica, ela é rapidamente absorvida a uma troca iônica e, em seguida, é eluída por soluções salinas. Depois, a LF é dessalinizada e concentrada por ultrafiltração para posteriormente ser submetida a pasteurização. LF em pó purificada com uma pureza de 95 % ou mais, é finalmente obtida por secagem por congelamento. Em alternativa ao processo de pasteurização e secagem por congelamento, pode ser utilizada microfiltração e secagem por pulverização (TOMITA *et al*, 2002).

Foi descoberto que LF é estável contra tratamento térmico sob condições ácidas, enquanto que o tratamento térmico a um valor e pH neutro desnatura a proteína. Sendo assim, considera-se o aquecimento a um pH maior que 4 e temperatura de 90 a 100° C, durante 5 a 10 minutos (TOMITA *et al*, 2002).

Um hidrolisado de LF é obtido através de um tratamento com pepsina sob condições ácidas. Após a hidrólise ter sido completada, a pepsina é inativada por aquecimento. Em seguida, a mistura é filtrada e concentrada por osmose reversa. Finalmente o hidrolisado de LF é pasteurizado e liofilizado (TOMITA *et al*, 2002).

5.1.1 EFEITO ANTIBACTERIANO DA LACTOFERRINA

Na década de setenta já havia estudos sobre a ação antibacteriana da Lactoferrina. Reiter (1967), Bullen (1972), entre outros já comentavam sobre esta propriedade biológica da Lactoferrina. Estes autores já associavam a capacidade de interação com o ferro com a capacidade de inibir bactérias.

A propriedade antibacteriana se dá através de dois mecanismos distintos, relacionados à capacidade de sequestro de ferro dos fluidos biológicos e/ou desestruturação da membrana de bactérias (QUEIROZ *et al*, 2013).

Serrano (2009) comenta sobre isso: “O efeito bacteriostático de Lf em sua forma apo de Lf tem sido atribuído à sua capacidade para capturar o íon Fe^{3+} e assim limitar a sua utilização por bactérias patogênicas, que é exigido como um fator essencial para o crescimento e expressão de fatores de virulência”

O primeiro mecanismo de ação bactericida se refere à afinidade da ligação da Lactoferrina com íons de ferro. Desta forma, o crescimento das bactérias que necessitam deste nutriente fica inibido. Este mecanismo denomina-se bacteriostático, pois detém o crescimento

de bactérias, dificultando sua proliferação (QUEIROZ *et al*, 2013). Já o segundo mecanismo de ação bactericida da Lactoferrina está associado a sua interação com a superfície bacteriana (fig. 04). Estudos da estrutura molecular da lactoferrina demonstram que a proteína tem interação direta com lipídios aniônicos, componentes de lipopolissacarídeos, que são constituintes da membrana celular externa das bactérias Gram-negativas. A maior afinidade da lactoferrina com os lipopolissacarídeos está associada com o fragmento da porção terminal N da lactoferrina, ao contrário do C-terminal, que tem baixa afinidade (QUEIROZ *et al*, 2013).

Esse processo de interação pode danificar a membrana externa das bactérias Gram-negativas, alterando sua permeabilidade e promovendo a liberação de lipopolissacarídeos. Tal alteração facilita a ação da lactoperoxidase²⁶ e de outras proteínas de defesa sobre a bactéria. A interação da lactoferrina com os lipopolissacarídeos também potencializa a ação dos antibacterianos naturais como a lisozima (QUEIROZ *et al*, 2013).

González-Chávez (2008) também comenta sobre essa propriedade. Em 1988 foi demonstrado que danos à membrana externa de bactérias Gram-negativas foram causados por meio de uma interação da LF com lipopolissacarídeos (LPS). Carregada positivamente, a porção N terminal da LF impede a interação entre LPS de bactérias e cátions (Ca²⁺ e Mg²⁺) causando a liberação de LPS a partir da membrana celular e um aumento na permeabilidade da membrana, conseguindo danificar as bactérias e impedindo a proliferação bacteriana. A interação entre LF e LPS também potencializa ação de antibacterianos naturais, como a lisozima.

A Lactoferrina também pode contribuir para a defesa contra a invasão de bactérias intracelulares pois impede a adesão de patógenos às células-alvo. Esta capacidade foi relatada pela primeira vez contra enteroinvasivos *E. coli* HB e mais tarde também contra *Yersinia enterocolica*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus* (ADLEROVA, 2009) (quadro 02).

²⁶ Lactoperoxidase: Substância presente em secreções que funciona como um antibiótico natural.

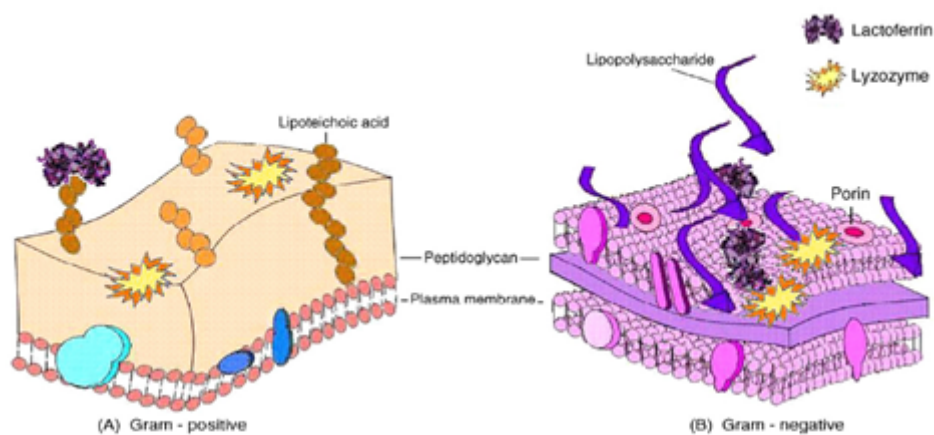


Fig. 2. Mecanismo de ação antibacteriana de lactoferrina (LF). (A) as bactérias Gram-positivos: LF está ligado a moléculas carregadas negativamente da taxa de neutralização da parede da membrana celular e permitindo que a ação de outros compostos antibacterianos tais como a lisozima. (B) As bactérias gram-negativas: LF pode ligar-se ao lipídio A de lipopolissacarídeos, causando a liberação de este lípido com consequente dano para a membrana celular.

Fonte: S.A. González-Chávez et al. / *International Journal of Antimicrobial Agents* 33 (2009) 301.e1–301.e8

Figura 04: Ação antibacteriana da Lactoferrina.

Quadro 02: Bactérias contra as quais Lactoferrina se mostra eficaz.

Table 1
Bacteria against which lactoferrin (LF) has a reported effect

Bacteria	Study model	Agent administered	Reference
Gram-positives			
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	In vitro	hLF	[5]
<i>Bacillus subtilis</i>	In vitro	hLF	[5]
<i>Clostridium</i> sp.	In vitro	hLF and bLF	[5]
<i>Haemophilus influenzae</i>	In vivo	bLF	[17]
Gram-Negative			
<i>Listeria monocytogenes</i>	In vivo	hLF	[18]
<i>Micrococcus</i> sp.	In vitro	hLF and bLF	[5]
<i>Staphylococcus aureus</i>	In vivo	bLF	[19]
<i>Streptococcus mutans</i>	In vitro	hLF	[20]
Gram-negatives			
<i>Chlamydomonas psittaci</i>	In vitro	hLF and bLF	[21]
Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> (EPEC)	In vitro	hLF	[22]
Enteraggregative <i>E. coli</i> (EAEC)	In vitro	hLF	[23]
Diffusely adherent <i>E. coli</i> (DAEC)	In vitro	hLF	[23]
<i>Helicobacter jejuni</i>	In vivo	rhLF	[24]
<i>Helicobacter pylori</i>	In vivo	bLF	[25]
<i>Legionella pneumophila</i>	In vitro	bLF ^a	[26]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	In vivo	hLF	[27]
<i>Stigella</i> spp.	In vitro	hLF	[28]
<i>Vibrio cholerae</i>	In vitro	hLF	[5]
Acid-alcohol-resistant bacilli			
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	In vitro	hLF	[29]

hLF, human LF; bLF, bovine LF; rhLF, recombinant human LF.

^a For this study, LF was not effective while binding Fe²⁺; it only inhibited the pathogen when binding Zn²⁺ or Mn²⁺.

Fonte: S.A. González-Chávez et al. / *International Journal of Antimicrobial Agents* 33 (2009) 301.e1–31.e8

No entanto, algumas bactérias são capazes de se adaptar às novas condições e liberar sideróforos (compostos quelantes de ferro de origem bacteriana) que competem com lactoferrina para íons Fe^{3+} , ou seja, algumas bactérias são capazes de criar mecanismos que as tornam resistentes ao efeito da Lactoferrina (SERRANO, 2006).

5.1.2 EFEITO ANTIPARASITÁRIO E ANTIFÚNGICO DA LACTOFERRINA

A ação antiparasitária de Lactoferrina é atribuída a um mecanismo semelhante ao efeito antibacteriano. Sua capacidade de interação com a membrana dos protozoários faz que estas percam sua integridade, conseqüentemente causando a morte do parasita (FARNAUD,2003).

Estudos *in vitro* demonstraram que a apolactoferrina é a proteína do leite com maior atividade contra *Entamoeba histolytica* (LEÓN-SICAIROS,1999).

Outros estudos *in vitro* mostram que LF poder se ligar ao parasita intracelular *Toxoplasma gondii*, causador da toxoplasmose, que afeta seres humanos e animais. No entanto, LF não pode evitar que o parasita entre no hospedeiro. Seu mecanismo de ação neste caso é inibição de crescimento intracelular de *T. gondii* no interior das células hospedeiras (DZITKO *et al*, 2007).

A Lactoferrina bovina demonstrou ter atividade giardicida e causar alterações ultraestruturais em trofozoítos²⁷ de Giardia, sugerindo que a lactoferrina pode ser um importante componente não-imune do hospedeiro na defesa da mucosa contra Giardia (OCHOA e CLEARY, 2009).

Não foram encontrados registros de estudos da LF em outros parasitas.

Estudos também mostram que a Lactoferrina possui efeito antifúngico. Estudos na década de 1970 já mostravam o potencial antifúngico desta glicoproteína. Em 1971, Kirkpatrick atribuiu o efeito antifúngico da Lf ao sequestro de Fe^{3+} .

Posteriormente, foi provado que ambas as formas de Lf podem apresentar essa propriedade. Seu mecanismo de ação é semelhante à sua ação bactericida e parasitária, na qual LF altera a permeabilidade da superfície celular (GONZÁLEZ-CHAVEZ *et al*, 2009).

²⁷ Trofozoíto: Forma ativa de protozoário que se movimenta, alimenta e reproduz.

Diversos estudos mostraram a eficácia da Lactoferrina sobre uma gama de fungos, entre eles *Candida albicans* e *Candida krusei* (KATAKURA et al, 2003), *Aspergillus fumigatus* (ZAREMBER et al, 2007), *Trichophyton mentagrophytes* (WAKABAYASHI et al, 2000).

Em 2003, um estudo com a administração oral de LF em ratos demonstrou que ela promoveu a cura e reduziu o nível do agente patogênico *C. albicans* (TAKAKURA et al, 2003). Foi demonstrado também que a LF pode reduzir fungos de infecção de pele nas costas (WAKABAYASHI et al, 2000).

Não foram encontrados dados detalhados sobre a ação antifúngica de LF.

5.1.3 ATIVIDADE ANTIVIRAL DA LACTOFERRINA

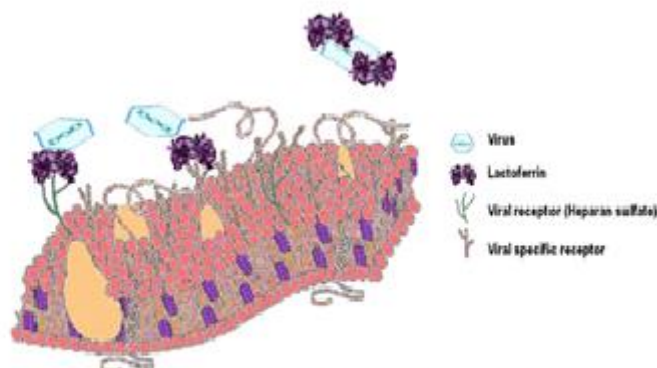
A ação antiviral da Lactoferrina se dá de forma diferente de como ocorre com outros micro-organismos, como fungos e bactérias: sua ação não se baseia em desestabilizar as membranas do envelope viral dos vírus e conseqüentemente causar a morte dos mesmos. A Lactoferrina bovina é capaz de ligar às proteínas do envelope viral²⁸. Esta ligação inibe qualquer interação possível com receptores celulares, sendo assim, não é possível ocorrer a infecção viral (SR-FAKARHANY, 2013) (fig. 4).

A atividade antiviral da Lactoferrina é dirigida contra um largo espectro de vírus, incluindo os vírus de RNA e DNA, envelopados, bem como vírus não encapsulados (VALENTI et al, 1998).

Os mecanismos antivirais da Lactoferrina não foram ainda caracterizados. Acredita-se que a Lactoferrina pode bloquear a internalização de certos vírus na célula hospedeira, pois bloqueia o primeiro contato entre vírus e célula hospedeira, impedido a infecção (VAN DER STRATE BWA et al, 2001).

Muitos vírus podem ser inibidos por esta glicoproteína, pois ela consegue prevenir a entrada do vírus através da interação com o receptor de ligação sulfato de heparano sulfato, bloqueando esse receptor de modo a não ocorrer a ligação entre o vírus e a célula hospedeira, impedindo a infecção (FAKARHANY, 2013).

²⁸ Envelope viral: Os vírus são constituídos basicamente de um núcleo de DNA ou RNA, circundado por uma camada proteica, denominada capsídio ou cápside, formada de unidades chamadas capsômeros. Determinados vírus possuem ainda uma segunda capa de revestimento externo, a que se denomina em inglês e francês, de envelope, de natureza proteica, glicoproteica e lipídica, derivada principalmente da membrana das células do hospedeiro



Fonte: S.A. González-Chávez et al. / *International Journal of Antimicrobial Agents* 33 (2009) 301.e1–301.e8

Figura 05: Mecanismos da ação antiviral da Lactoferrina. LF pode estar ligada à partícula viral e a glicosaminoglicanos específicos de receptores virais ou ao heparano sulfato para prevenir a internalização de vírus na célula hospedeira.

Fonte: GONZÁLEZ-CHAVEZ, 2009

Estudos sobre a ação antiviral da Lactoferrina demonstraram que esta foi capaz de inibir o vírus da Hepatite C (SR-FAKARHANY,2013), da Herpes (*Herpes simplex vírus*) HSV-1 e HSV-2 (VALENTI *et al*, 1998), Poliovírus de tipo 1, que provoca a poliomielite em humanos (MARCHETTI, 1999), Citomegalovírus (BELJARS, 2004).

Dentre os vírus, o que sem dúvida é o maior desafio médico, é o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Como é bem sabido, este vírus causa a AIDS, doença que tem altíssima mortalidade no mundo, para a qual não foi descoberta a cura e cujo tratamento não é completamente eficaz. Estudos “*in vitro*” mostram que LF exerce uma forte atividade contra o HIV. Este efeito é devido à inibição da replicação do vírus na célula hospedeira (VIANNI *et al*, 1999).

No entanto, o bloqueio os receptores de ligação virais na superfície da célula não consegue explicar completamente a atividade antiviral de LF (SEGANTI,2001).

Queiroz (2013) comenta que

“A lactoferrina na forma apo tem se mostrado mais potente do que na forma holo, porém, a razão para isto não é bem estabelecida. Especula-se que a maioria das enzimas requer íons metálicos para realizar suas funções e a apolactoferrina é mais eficiente na retirada de íons metálicos do ambiente em comparação às formas de lactoferrina saturadas, encontradas em maior proporção no leite de vaca.”

5.1.4 EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DA LACTOFERRINA

Pesquisas mostraram que a Lactoferrina é um componente importante no sistema imunitário, responsável pela integridade física de um organismo. Um dos componentes do sistema inato é a Lactoferrina, que se liga ao Ferro, limitando o crescimento bacteriano. Pesquisas identificaram a Lactoferrina como uma importante mediadora da resposta imunitária, especialmente nas interações entre os componentes do sistema inato e adaptativo (ACTOR *et al*, 2009).

A Lactoferrina tem capacidade de induzir mediadores a partir de células imunes inatas que afetam posteriormente a função celular imune adaptativa (ACTOR *et al*, 2009) e exercendo assim uma importante ação moduladora²⁹ sobre o sistema imunitário adaptativo, ao promover a maturação dos precursores de células T auxiliares e a diferenciação de células B em células apresentadoras de antígenos (ZIMECKI,1991 citado por ACTOR, 2010).

A Lactoferrina é constituinte da homeostase imune, funcionando para reduzir o stress oxidativo em nível molecular e, assim, controlando a resposta inflamatória em excesso. O estresse oxidativo ocorre quando as espécies reativas e oxigênio potencialmente destrutivos (ROS) (resposta inflamatória que é responsável por eliminar os patógenos através da perturbação química destes) ultrapassa as próprias defesas naturais do corpo e resulta em danos celulares, podendo causar a morte da célula (ACTOR *et al*, 2009).

Como Lactoferrina é componente da primeira linha de defesa contra patógenos e desempenha regulação de respostas imunes inatas, vários laboratórios investigam o papel da Lactoferrina na modulação da inflamação crônica e aguda (KRUZEL *et al*, 2002).

Entre outros efeitos específicos da Lactoferrina, pode-se incluir a ativação de macrófagos, aumento da fagocitose e aumento da resposta de hipersensibilidade do tipo tardio³⁰ para uma variedade de antígenos (ACTOR *et al*, 2009), aumento das células *natural killer* (DAMIENS *et al*,1998), modulação de neutrófilos, aumento da atividade fagocitária e modificação da produção de ROS (MIYAUCHI *et al*, 1998).

A descoberta de há receptores de Lactoferrina em uma ampla variedade de células do sistema imunitário, e estes tem capacidade demonstrada de se ligar à esta (SUZUKI *et*

²⁹ Ação moduladora: Atua no sistema imunitário modulando a resposta.

³⁰ Hipersensibilidade do tipo tardio: forma de resposta mediada por células, em que a célula efetora final é o macrófago ativado.

al.2005), confirma o potencial para essa molécula de funcionar de uma forma modular e afetar as respostas tanto da imunidade inata e sistema adaptativo.

Para Actor (2010), os efeitos reguladores da Lactoferrina em citocinas e interleucina-2 ilustram claramente que esta age como uma ponte entre as respostas inata e adaptativa.

Groot (2005) comenta sobre a capacidade da Lactoferrina em promover respostas através das células apresentadoras de antígenos (APC). Segundo o autor, a Lactoferrina tem capacidade de promover respostas de hipersensibilidade tardia e tem papel na ativação de células T, possivelmente através da modulação da função de células dendríticas.

Os efeitos acima descritos de Lactoferrina na ativação de CAA, maturação, migração, e a apresentação de antígeno sugerem que a Lactoferrina tem uma capacidade única para preencher a função de células inata e adaptativa, para ambas as células T, bem como respostas de células B (ACTOR *et al*, 2009).

Diante disso, acredita-se que a Lactoferrina pode potencializar o restabelecimento da resposta humoral de pessoas imunocomprometidas³¹

Com efeito, a Lactoferrina administrada pode potencializar o restabelecimento da resposta imune humoral em hospedeiros imunocomprometidos, sugerindo um mecanismo para estimular a reconstituição de células de adaptação por meio de vias proliferativas. Em um modelo murino (pesquisa realizada em ratos) de supressão imune induzida por um agente imune supressor (ciclofosfamida) ou stress, a Lactoferrina inoculada por via oral ou por via intraperitoneal restaurou a resposta de hipersensibilidade tardia, em parte, pelo aumento da população de células T circulantes (ARTYM,2005 citado por ACTOR,2009)

Zimecki (2000) e Actor (20002) colocam que a Lactoferrina pode ser um excelente adjuvante³². Os efeitos anti-inflamatórios de Lactoferrina em leucócitos estimulados com Lipossacarídeos (LPS)são bem conhecidos. Estes efeitos anti-inflamatórios da Lactoferrina se relacionam diretamente com a interação com as proteínas envolvidas na sinalização de LPS.

5.1.5 EFEITO ANTITUMORAL DA LACTOFERRINA

Dentre as propriedades fisiológicas da Lactoferrina, uma que tem sido alvo de interesse nos últimos anos é seu efeito antitumoral. Como já foi comentado anteriormente, os

³¹ Imunocomprometidos: Refere-se a pessoas que estão com o sistema imunológico suprimido. Acontece em casos de má alimentação, estresse, quimioterapia, transplantes, entre outros.

³² Adjuvante: São substâncias que tem como função de favorecer as propriedades de outra. Muito utilizado em vacinas.

tratamentos contra tumores atualmente são muito limitados e com efeitos colaterais agressivos. Desta forma, a Lactoferrina tem se mostrado como uma alternativa para o tratamento de tumores.

A Lactoferrina já é conhecida pela sua ação na inibição da proliferação celular, atividade anti-inflamatória e antioxidante. Recentemente tem sido referenciada como um agente anticancerígeno (RODRIGUES *et al*, 2007).

Essa glicoproteína possui a capacidade de estimular a produção de citocinas, assim como induzir a apoptose e inibir o crescimento do tumor *in vitro*. Ela também pode bloquear o ciclo celular de células malignas, bloqueando a transição da fase G1 para S (ÖTZAS,2005).

Essa estimulação mediada por citocinas é de extrema importância para a defesa contra o crescimento do tumor, pois aumenta o número de células NK, linfócitos citotóxicos e auxiliares no sangue e no tecido linfático (ADLEROVA *et al*, 2008).

Estudos feitos com ratos mostraram que o tratamento de tumores com hLF recombinante (rhLF) inibiu o crescimento em 60% em comparação com um placebo e aumentou os níveis de citocinas anticancerígenas, tais como IL-18, ativando as células NK e linfócitos T- citotóxicos (WANG,2000).

Adlerova (2008) comenta que o resultado da influência da Lactoferrina em células tumorais se dá pela soma da ativação de células NK e aumento da sensibilidade das células-alvo para a lise.

Estudos recentes têm sugerido que a Lactoferrina é promissora como um agente terapêutico do câncer. O tratamento com Lactoferrina reduziu a carcinogênese do cólon em ratos e diminuiu o crescimento do tumor e metástases em camundongos (BEZAULT *et al*,1994).

Outros estudos mostram que a Lactoferrina inibe o crescimento de carcinomas de células escamosas da cabeça e do pescoço, porém o mecanismo de inibição de crescimento permanece incerto (XIAO *et al*, 2004).

Wolf (2007) observou, em pesquisa sobre o efeito da Lactoferrina em carcinomas de células escamosas do pescoço, que a Lactoferrina inibiu o crescimento do carcinoma por meio do bloqueio do ciclo celular (G1), a ativação de NF-KB³³ e redução de citocinas pró-inflamatórias celulares. O mecanismo de controle de tumores parece ser regulado, principalmente, pelo braço celular da resposta imunitária.

³³ NF- KB: fator de transcrição que participa da resposta inflamatória.

No estudo de Wolf (2007), demonstrou-se que a Lactoferrina inibiu a proliferação de linha celular de carcinoma escamoso de uma forma dose-dependente. Esta inibição do crescimento é independente do estado de ligação do ferro e não é devido à baixa regulação de NF- κ B.

Administração vi oral da LF, comparada com a via intravenosa ou a injetada diretamente no tumor, é a que promoveu maior inibição tumoral (VARADHACHARY *et al*, 2004).

Demonstrou-se que a Lactoferrina pode reconstituir a população de células circulantes e baço de CD4+ e CD8+, em ratos tratados com ciclofosfamida (ARTYM *et al*, 2003). Neste estudo foi elucidado que além deste aumento no soro e linfócitos do baço, Lactoferrina induz a infiltração destas células em tumores (WOLF *et al*, 2007).

O efeito da lactoferrina oral sobre o crescimento do tumor *in vivo* parece ser em grande parte devido à imunomodulação. A Lactoferrina pode potencialmente ser utilizada administrada diretamente no tumor, bem como por via oral. Embora mais informações referentes ao mecanismo de Lactoferrina oral sejam necessárias, estes dados demonstram que a Lactoferrina precoce tem potencial como um meio seguro e eficaz para o tratamento de câncer da cabeça e pescoço (WOLF *et al*, 2007).

LF demonstrou inibir a formação de metástase em pulmão em ratos implantados subcutaneamente com células tumorais altamente metastáticas de forma intravenosa, intraperitoneal, subcutânea ou oral. Além disso, recentemente constatou-se a capacidade de Lf para inibir a angiogênese induzida em um modelo animal de modo que a supressão do crescimento de novos vasos de sangue pode estar relacionada com os seus efeitos antitumorais (SHIMAMURA *et al*, 2004).

Estudos recentes sobre a prevenção do câncer tem sido alvo de atenção. Em um modelo murino, a administração oral de LF suprimiu a formação de lesões pré-cancerosas no intestino grosso e a incidência do carcinoma também foi significativamente reduzida. A administração oral de LF também aumentou *natural killer* (NK) a atividade das células do baço (TOMITA *et al*, 2002).

Modelo de Câncer	Eficácia	Modelo animal	Agente administrado e dose
Câncer de cólon, pulmão, esôfago, bexiga, fígao e língua induzido por agentes químicos cancerígenos	Inibição do desenvolvimento do tumor	do Rato	LF bovina 0,2 e 2% na dieta
Desenvolvimento espontâneo de pólipos intestinais	Inibição do desenvolvimento de pólipos	do Rato	LF bovina 2% na dieta
Injeção de células tumorais	Inibição do desenvolvimento de tumores	do Rato	LF bovina 0,3 g/kg LF humana recombinante 1g; kg na dieta

Quadro 03: Resumo dos estudos de LF em diferentes tipos de câncer
 Fonte: RODRIGUES et al, 2007

5.2 LACTOFERRICINA

A Lactoferricina bovina (LFcin B) é um fragmento da Lactoferrina produzido pela digestão com pepsina. Consiste em resíduos de aminoácidos 17 a 41 proximal do NH₂ terminal da Lactoferrina bovina (Fig 06).

Gifford (2005) comenta que esta porção não somente possui as mesmas propriedades da proteína intacta como em alguns casos pode ser ainda mais potente que a Lactoferrina.

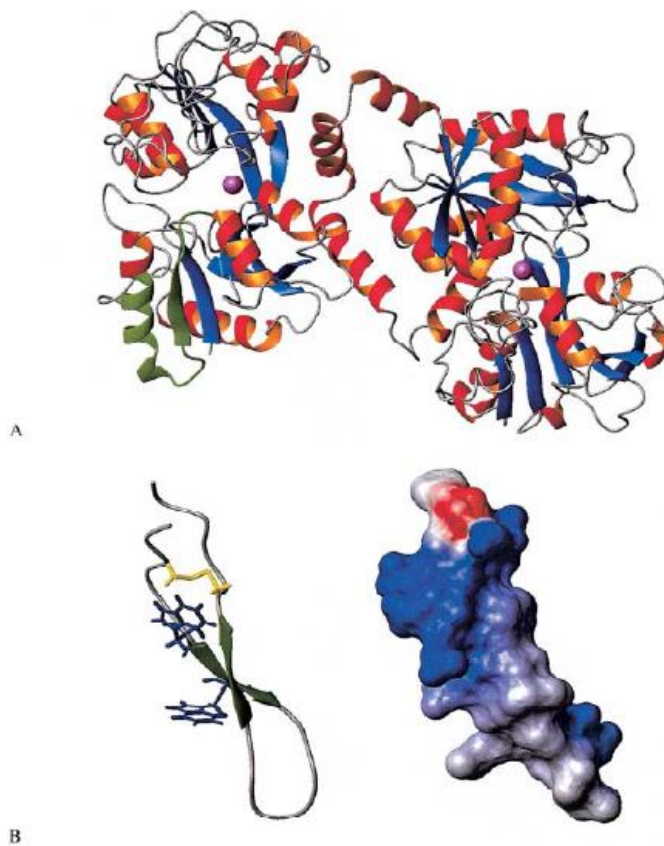


Figura 06: Estrutura tridimensional da Lactoferrina bovina (Lfcin B): Pela imagem pode-se perceber a estrutura tridimensional da LFCin B. A primeira estrutura (A) é a cristalografia de bLF. A estrutura secundária realçada com azul representando as folhas beta e o vermelho representa as Alfa- hélices. A região constante em LfcinB é mostrado em verde. (B) Estrutura da LfcinB. Diagrama representando a estrutura secundária de LfcinB à esquerda, com a ponte dissulfeto indicada em amarelo e os resíduos TRP, em azul. À direita, o peptídeo mostrado para ilustrar a distribuição de cargas que estão nas cores azul, vermelho e branco para carga positiva, negativa e neutra, respectivamente. A face anfipática é vista claramente. Ambos os diagramas estão aproximadamente nas mesma orientação.

Fonte: Gifford, J. L et al, 2005

Níveis substanciais de LfcinB são encontrados no estômago humano a seguir da ingestão de Lactoferrina bovina, o que implica que LfcinB é um produto de degradação natural da digestão de leite de vaca (MADER *et al*, 2005).

Atualmente, LFcín pode ser extraída artificialmente através de um processo patenteado. Após a pasteurização e liofilização do hidrolisado de LF, a Lactoferricina pode ser purificada por cromatografia hidrofóbica de duas etapas. O peptídeo é eluído por um tampão ácido, a solução é concentrada por osmose reversa e, finalmente, a lactoferricina é produzida por liofilização como um pó com mais de 95% de pureza (TOMITA *et al*, 2002).

LFcin B possui ação contra uma ampla variedade de bactérias gram-negativas e as bactérias gram-positivas, assim como a Lactoferrina. LFcín também possui propriedades antifúngicas e antiparasitárias, por meio de dois mecanismos distintos, o primeiro de interação com a membrana desses patógenos e o segundo relacionado com ela poder afetar o citoplasma destes patógenos. Estudos também apontam que LFcín possui ação antiviral (GIFFORD *et al*, 2005).

Esses estudos ajudam a confirmar a hipótese que mesmo após a digestão com pepsina, os efeitos de Lactoferrina se mantêm e se tornam até mais fortes. Esses dados levam a crer que as propriedades biológicas se encontram na Lactoferricina (MADER *et al*, 2005).

Embora a LfcínB tenha atraído interesse considerável por causa da sua atividade antimicrobiana bem estabelecida, evidências recentes indicam que LfcínB também possui uma potente atividade *in vivo* contra células cancerosas (MADER *et al*, 2005).

A LfcínB foi relatada por induzir necrose e a apoptose *in vitro*, bem como possuindo efeito antitumoral direto *in vivo*. Tanto a administração sistêmica e intratraqueal (i.t.) de LfcínB demonstraram capacidade para inibir o crescimento de tumores e metástases em vários modelos experimentais de rato (CAMILIO *et al*, 2013).

A seguir será mostrado mais detalhadamente tal efeito. Conhecer tal ação é de extrema importância, pois pode trazer avanços para um tratamento alternativo para tumores e câncer.

5.2.1 EFEITO ANTITUMORAL DA LACTOFERRICINA

Os efeitos fisiológicos de Lactoferrina e mais recentemente da Lactoferricina vem sido estudado há anos, haja vista que essa substância tem se mostrado como uma proteína chave devido a sua ampla gama de ações. Porém, os estudos envolvendo a ação antitumoral da mesma são muito recentes, sendo assim pouco conhecida.

Os parâmetros estruturais que descrevem os efeitos antitumorais de Lfcín são muito semelhantes às que descrevem a atividade antibacteriana (GIFFORD *et al*, 2005).

Lfcin é direcionada para células tumorais pelas mudanças que ocorrem na membrana da célula. Após a ligação à célula tumoral, acredita-se que Lfcin interrompe a membrana da célula e desencadeia a apoptose através de Ca^{2+}/Mg^{2+} e de endonuclease. Porém não se sabe exatamente o mecanismo pela qual Lfcin desencadeia a apoptose (GIFFORD *et al*, 2005).

Estudos indicam que, *in vitro*, a exposição à LfcinB provoca em células de fibrossarcoma de Meth de camundongo a perda da integridade da membrana e, eventualmente, lise celular (MADER *et al*, 2005).

Além disso, LfcinB é um potente indutor de apoptose em culturas de células de leucemia monocítica humana. Em contraste, a Lactoferrina bovina intacta é incapaz de provocar a apoptose em células de leucemia mesmo a concentrações dez vezes mais elevadas do que as concentrações LfcinB, indicando que a atividade indutora de apoptose é único para LfcinB (MADER *et al*, 2005).

No entanto, não se sabe se LfcinB é um indutor eficaz de apoptose em uma gama maior de células cancerosas humanas, incluindo os cânceres mais comuns que são de origem epitelial (MADER *et al*, 2005).

Embora a base molecular da LfcinB e a seletividade para as células de câncer não sejam ainda conhecidas, uma possibilidade é de que a forma catiônica e sua natureza anfipática da LfcinB, permitam o peptídeo interagir com a membrana carregada negativamente de células cancerosas, mas não com a membrana neutra de células não transformadas. Este mecanismo também foi elucidado para mostrar que LfcinB pode permeabilizar e penetrar na membrana citoplasmática de bactérias, o que também transporta uma carga negativa.

Recentemente, foi descoberto que a LfcinB compromete a integridade da membrana de células murino de fibrossarcoma, o que pode permitir a LfcinB de ganhar acesso e perturbar a mitocôndrias de células cancerosas (MADER *et al*, 2005).

5.2.1.1 EFEITO DA LACTOFERRICINA NA APOPTOSE

Sobre a apoptose, Parolin e Reason (2001) colocam que a manutenção da homeostase tecidual é dada por diversos mecanismos regulatórios, entre eles a apoptose. O termo apoptose (do grego *apo*= separação, *ptosis*= queda), designa a morte celular que ocorre segundo um programa genético. A apoptose acontece através da autodigestão controlada de células lesadas, senescentes ou que perderam suas funções. De acordo com Alberts (2004), este seria um processo de suicídio das células mediado por enzimas proteolíticas denominadas caspases,

que provocam a morte das células por clivagem de proteínas específicas no citoplasma e núcleo. As caspases existem em todas as células, como precursores inativos, ou pró-caspases, que são geralmente ativados por clivagem por outras caspases, produzindo uma cascata caspase-proteolítica. O processo de ativação é iniciado por ambos os sinais de morte extracelulares ou intracelulares, que causam moléculas adaptadoras intracelulares para agregar e ativam pró-caspases. A ativação da caspase é regulada por membros das famílias Bcl-2 e IAP de proteínas³⁴.

Por conta de sua atuação sobre as caspases, estudos associam a atividade anticancerígena da Lactoferricina a sua ação apoptótica para células tumorais. Mader *et al* (2005) mostram em seus estudos que a exposição de 18 horas para LfcinB sintético (200 mg/mL) foi citotóxico para as diferentes linhagens de leucemia humana e de células de carcinoma. Um efeito citotóxico semelhante foi obtido quando as células de leucemia T (Jurkat) ou de células MCF-7, de carcinoma da mama foram tratadas com 200 ng/mL LfcinB gerada por pepsina ($86 \pm 2\%$ e $43 \pm 3\%$ de morte celular, respectivamente). Em contraste, LfcinB não foi citotóxico para as culturas primárias de linfócitos T normais humanos (em repouso e ativadas por mitogênico), fibroblastos ou células endoteliais. O tratamento com LfcinB desencadeou a fragmentação do DNA em células T de leucemia (Jurkat), nas células de cancro da mama (MCF-7), e nas células de cancro do cólon (Colo-35) de uma forma dependente da dose, com um efeito em concentrações muito baixas, como 25 ng/mL. A análise revelou que o curso de tempo de fragmentação de DNA induzida por LfcinB em células de leucemia Jurkat T foi detectado dentro de 2 horas de tratamento com 200 ug/ml LfcinB e tornou-se máxima em 8 horas. A fragmentação de DNA induzida por LfcinB em células de carcinoma da mama MDA-MB-435 foi ligeiramente tardia em comparação com as células de leucemia Jurkat T, embora a morte celular substancial foi evidente em 16 horas.

Furlong *et al* (2010) demonstraram, em seus estudos, que no tratamento “in vitro” com LfcinB, as células de linfoma B humanas morreram por apoptose, indicado por fragmentação de DNA, condensação da cromatina, desintegração nuclear. LfcinB matou linfoma de células B de forma mais eficiente a baixas concentrações de soro e foi inibida na presença de albumina de soro bovino, o que sugere a neutralização parcial LfcinB catiônico por componentes séricos aniônicos. A apoptose induzida por LfcinB em linfoma de células B foi independente de caspase - caspase-3 de ativação não foi detectada por *Western blotting* e do

³⁴ Famílias Bcl-2 e IAP de proteínas: família de proteínas indutoras e repressoras de morte por apoptose que participam ativamente da regulação da apoptose. IAP são proteínas inibidoras da apoptose.

inibidor de caspase z-VAD-FMK geral não impediu a fragmentação do DNA induzido por LfcinB.

5.2.1.2 EFEITO DA LACTOFERRICINA NA ANGIOGÊNESE

Segundo o dicionário médico “dicionariomédico.com” , a angiogênese pode ser definida como “*O crescimento de novos vasos sanguíneos, seja espontâneo ou induzido por medicamentos.*” Pode ser algo benéfico, quando, por exemplo, se trata de doenças coronárias. O crescimento destes novos vasos sanguíneos pode ajudar a melhorar uma doença oclusiva das artérias coronárias, criando novos caminhos para a passagem do sangue. A formação de novos vasos capilares a partir de células endoteliais é essencial ao desenvolvimento de órgãos, cicatrização de ferimentos e nos processos inflamatórios (SILVA *et al*, 2007).

Porém, quando se trata de tumores, a angiogênese não é tão benéfica. Silva *et al* (2007) falam que a angiogênese tumoral e a metástase são processos relacionados, pois ambos envolvem mobilidade celular, proteólise³⁵ tecidual e proliferação. O processo de angiogênese envolve uma série de etapas e é um dos fatores principais que podem dificultar o tratamento do câncer, pois esses novos vasos irão nutrir os tumores. Estudos mostram que combater a angiogênese é um caminho para o combate do câncer e muitos dos quimioterápicos existentes possuem essa linha de ação.

Shimamura *et al* (2004) em seu estudo sobre a ação da LFcín sobre a angiogênese, mostrou que o estudo de angiogênese em sacos de ar dorsais de ratos forneceu evidências de inibição da angiogênese por LFcín B por meio da estimulação de Interleucina-18. A Interleucina-18 é uma citocina anti-angiogênica. O mesmo autor colocou que a administração intraperitoneal ou oral de LFcín B suprimiu a angiogênese induzida por células cancerosas, sendo uma forte evidência de que a ação antitumoral de LFcín seria dependente da inibição da angiogênese. Desta forma, o autor conclui que LFcín B pode ser um agente terapêutico por via oral que pode regular vários distúrbios angiogênicos que contribuem para o crescimento de tumores e metástases.

Mader *et al* (2005) também estudaram os efeitos da LFcín B na angiogênese. Ele diz, em seus estudos, que LFcín B provocou a diminuição da proliferação de células endoteliais e

³⁵ Proteólise: Processo de degradação de proteínas por enzimas.

migração, o que por consequência diminuiu a angiogênese. Segundo Alberts (2010), inibir a angiogênese é de extrema importância no tratamento de tumores, que tem como consequência a regressão do tumor e, desta forma, a cura pode ser obtida.

5.2.1.3 EFEITO DA LACTOFERRICINA NA METÁSTASE

Até a finalização deste trabalho não foram encontrados estudos que tratassem diretamente da ação da Lactoferricina na metástase. Faz-se necessários estudos que abordem esse aspecto de forma mais específica.

5.3 QUADRO COMPARATIVO ENTRE LACTOFERRINA E LACTOFERRICINA

A partir da pesquisa realizada, foi criado o quadro abaixo como um resumo comparativo entre a Lactoferrina e a Lactoferricina

	Lactoferrina (LF)	Lactoferricina (LFcin B)
Estrutura	Os estudos apontam que estruturalmente é composta por um único polipeptídeo com dois lobulos globulares nas regiões terminais denominados de lóbulo C (acetil) e N (amino) que são conectados por hélice. Sua estrutura permite que ela se ligue a metais, mas também a outras substâncias, como LPS.	A Lactoferrina bovina (LFcin B) é um fragmento da Lactoferrina produzido pela digestão com pepsina. Consiste em resíduos de aminoácidos 17 a 41 proximal do NH ₂ terminal da Lactoferrina bovina. Estudos apontam que esta porção não somente possui as mesmas propriedades da proteína intacta como em alguns casos pode ser ainda mais potente que a Lactoferrina.
Ação antibacteriana	Os estudos mostram que a propriedade antibacteriana se dá por meio de dois mecanismos distintos. Eles estão relacionados à capacidade de sequestro de ferro dos fluidos biológicos e/ou desestruturar a membrana de bactérias. Algumas das bactérias nas quais Lactoferrina se mostra eficaz são <i>Yersinia enterocolica</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> e	Estudos apontam que a ação antibacteriana pode ser mais eficaz devido ao tamanho reduzido de LFcin em relação a LF.

	<i>Staphylococcus</i>	
Ação antiviral	Sua ação não se baseia em desestabilizar as membranas dos vírus e conseqüentemente causar a morte dos mesmos. A Lactoferrina bovina é capaz se ligar às proteínas do envelope viral. Esta ligação inibe qualquer interação possível com receptores celulares, sendo assim, não é possível ocorrer a infecção viral. Foram encontrados estudos sobre a ação de LF em <i>Herpes simplex vírus</i> , poliovírus de tipo 1, Citomegalovírus.	Estudos apontam que a ação antiviral deve ser mais potente em relação a LF devido a seu tamanho reduzido.
Ação anti-parasitária	A ação antiparasitária de Lactoferrina é atribuída a um mecanismo semelhante ao efeito antibacteriano. Sua capacidade de interação com a membrana dos protozoários faz que esta percam sua integridade, causando a morte do parasita. Lactoferrina se mostra eficaz contra <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Giardia</i> . Os estudos se resumiram a poucos parasitas.	O mesmo se aplica à ação antiparasitária. Os estudos apontam que devido a seu tamanho reduzido sua ação deve ser mais potente em relação à LF.
Ação antifúngica	O efeito antifúngico atribuído a LF altera a permeabilidade da superfície celular. Dentre os fungos estudados pode-se citar <i>Candida albicans</i> , <i>Candida kusei</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Trichophyton mentagrophtes</i>	Os estudos apontam que devido ao tamanho reduzido sua ação deve ser mais potente em relação à LF.
Ação anti-inflamatória	A Lactoferrina tem uma importante ação moduladora sobre o sistema imunitário adaptativo. Ela promove a maturação dos precursores de células T auxiliares e a diferenciação de células B em células apresentadoras de antígenos. Os estudos apontam que a Lactoferrina pode potencializar o restabelecimento da resposta humoral de pessoas	Estudos apontam que LFCin possui ação imunomoduladora.

	imunocomprometidas.	
Ação antitumoral	Os estudos sobre o efeito antitumoral são recentes e limitados. Os estudos apontam que a lactoferrina é capaz de inibir a proliferação celular, possui atividades anti-inflamatórias e antioxidantes. Pode estimular a produção de citocinas no câncer, induzir a apoptose e inibir o crescimento do tumor. Aumenta o número de células NK e inibe o ciclo celular das células cancerosas	Pesquisadores constataram que LFc _{in} é direcionada para as membranas celulares que possuíam mudanças. A proteína rompe a membrana e desencadeia a apoptose. Portanto, sua ação antitumoral está relacionada com a perda da integridade da membrana e eventualmente lise celular. Estudos apontam que a capacidade de provocar a apoptose de LFc _{in} é bem maior quando comparada a LF.
Ação na apoptose	Não foram encontrados estudos que tratassem deste aspecto especificamente.	LFc _{in} atua nas caspases. Estudos mostram que a ação apoptótica de LFc _{in} se limita a células cancerosas, não atingindo células saudáveis. LFc _{in} matou as células cancerosas de forma mais eficiente a baixas concentrações. Porém esses mecanismos não estão bem claros.
Ação na angiogênese	Não foram encontrados estudos que tratassem deste aspecto especificamente	Estudos mostraram que LFc _{in} se mostrou eficaz no combate à angiogênese. LFc _{in} suprimiu a angiogênese induzida por células cancerosas, sendo uma forte evidência que a ação antitumoral de LFc _{in} seria dependente da inibição da angiogênese, sendo crucial na inibição da progressão do tumor.
Ação na metástase	Não foram encontrados estudos que tratassem deste aspecto especificamente	Estudos citam que a LFc _{in} atua na metástase, porém nada foi encontrado até o momento que descreva tal ação.

Fonte: A autora

6. DISCUSSÃO

De acordo com as fontes consultadas, a Lactoferrina é uma glicoproteína que tem sido alvo de interesse científico devido às suas inúmeras propriedades fisiológicas, e tem se mostrado muito eficiente como antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, promotora na ativação do sistema imunitário entre outra. Porém, seu tamanho é relativamente grande, de forma que suas atividades biológicas ficam um pouco reduzidas em relação à proteínas de tamanho menor, como mostra a tabela anterior comparativa entre LF e Lfcin B.

As propriedades fisiológicas de Lactoferrina e Lactoferricina podem trazer inúmeros benefícios para a população, porém há muitas lacunas a serem preenchidas.

O mecanismo de ação antibacteriano de Lactoferrina é bem conhecido. Entretanto, sabe-se que algumas bactérias são capazes de criar mecanismos que as tornam resistentes ao efeito da Lactoferrina, como Serrano (2006) apontou. Todavia não há estudos que mostrem se as bactérias são capazes de fazer o mesmo com Lactoferricina. Caso as bactérias não conseguissem criar mecanismos contra Lfcin, seria uma imensa vantagem para a utilização desta em relação à LF.

Apesar do efeito antibacteriano da Lactoferrina ser algo bem estudado, é preciso saber como deixá-lo constante, uma vez que depende do grau de saturação do ferro e, como foi dito anteriormente algumas, bactérias possuem mecanismos que podem se tornar resistentes a eles. São necessários mais estudos que contemplem esses aspectos referentes à ação antibacteriana de LF e Lfcin.

Estudos *in vitro* mostram que LF possui atividade antiparasitária. No entanto, LF não pode evitar que o parasita entre nas células do hospedeiro. Especificamente sobre a Lfcin, não há estudos que contemplem tal aspecto, se ela se comporta da mesma forma de LF ou não, se permite ou não que o parasita entre na célula. São necessárias mais pesquisas que investiguem tal aspecto.

Pouco se sabe sobre os mecanismos de ação do efeito antiparasitário da Lactoferrina, assim como os estudos abrangeram poucos parasitas. São necessárias mais pesquisas que demonstrem de forma minuciosa todas as etapas da ação antiparasitária da Lactoferrina, da Lactoferricina e que investiguem outros parasitas.

Já referente à ação antifúngica da Lactoferrina, os mecanismos não foram ainda caracterizados. Acredita-se que a Lactoferrina pode bloquear a internalização de certos vírus na célula hospedeira, pois bloqueia o primeiro contato entre vírus e célula hospedeira, impedido a infecção, como foi comentado por Van der Strate Bwa (2001).

Não se pode afirmar com certeza se a ação antifúngica se dá pela interação com a membrana dos fungos, assim como pouco se sabe sobre as etapas que estão envolvidas neste processo. Há a necessidade de mais estudos que respondam essas lacunas, bem como testes com mais espécies de fungos. São necessários mais estudos que contemplem essas lacunas e também investiguem se a Lactoferricina se comporta da mesma forma que a Lactoferrina.

As pesquisas sobre o efeito antiviral de LF é de grande relevância, uma vez que muitos vírus causam doenças que acometem o ser humano, podendo ser letais, como acontece na Hepatite C e HIV. Sabe-se que os tratamentos existentes atualmente para o tratamento contra vírus são muito limitados e alvo de controvérsias, até porque esses organismos são alvos de debates, haja vista a complexidade destes seres. Sendo assim, a Lactoferrina pode ser um grande avanço neste sentido.

É conhecido que alguns tipos de câncer são causados por vírus. Sua atividade antiviral também pode estar associada a prevenção desses tipos de tumores. Van der Strate bwa (2001) comenta sobre isso: “A ligação do Lf e SH impede o primeiro contato entre vírus e célula hospedeira e, portanto, impede a infecção.” Assim, a atividade anti-viral da Lactoferricina pode ajudar também na prevenção de tumores desencadeados por vírus, são necessários mais estudos para que possa se explicar de forma precisa como acontece a atividade antiviral da Lactoferrina, uma vez que esta não é bem compreendida, bem como suas etapas. Estes estudos são de extrema relevância, haja vista o contexto atual de tratamentos contra vírus.

Um ponto muito importante da ação da Lactoferrina está na sua ação anti-inflamatória. Apesar de vários estudos, esta ação não é compreendida em sua totalidade. É preciso identificar resíduos de açúcar na Lactoferrina que medeiam as interações com receptores que se ligam e participam das várias funções do sistema imunitário. É preciso compreender também o mecanismo da Lactoferrina em relação à função da modulação dos

leucócitos. São necessários mais estudos que investiguem tais aspectos bem como a ação da Lactoferrina para tal.

Referindo-se mais especificamente ao efeito antitumoral da Lactoferrina, pode-se observar que os estudos são recentes e limitados. O tratamento do câncer atualmente possui um certo número de alternativas, normalmente causando efeitos colaterais devastadores, como a quimioterapia e a radioterapia. Normalmente, a base do tratamento está na destruição das células cancerosas, por meio de medicamentos ou radiação, o que causa destruição de células saudáveis também. É sabido o quanto as pessoas que se submetem a esses tratamentos sofrem com os efeitos colaterais e se tornam vulneráveis a outras doenças. Portanto, conhecer profundamente o efeito antitumoral da Lactoferrina pode ser a chave para novos avanços neste contexto tão hostil e delicado.

Todavia não se sabe quais os tipos de tumores que a Lactoferrina é eficaz nem sabe-se com precisão quais são os mecanismos envolvidos na ação antitumoral. Muitos fatores estão envolvidos neste processo como a NF-KB, indução de apoptose, modulação do sistema imunitário, entre outros. Por este motivo, faz-se necessário mais estudos que demonstrem detalhadamente os mecanismos e fatores envolvidos na ação antitumoral da Lactoferrina.

Estudos de Xiao (2004) mostram que a Lactoferrina inibe o crescimento de carcinomas de células escamosas da cabeça e do pescoço, porém o mecanismo de inibição de crescimento permanece incerto.

Com relação à Lactoferrina, especificamente, estudos demonstraram que ela pode atuar em várias fases da carcinogênese, levando a crer que pode ser um tratamento menos agressivo e mais pontual contra o câncer. Primeiramente, ela possui propriedades de modulação do sistema imunológico, o que se mostra muito bom, pois pode atuar tanto na prevenção de alguns tipos de câncer, como no auxílio para que o próprio corpo combata células cancerosas. Actor (2009) comenta sobre isso: “A Lactoferrina é um constituinte principal da homeostase imune, funcionando para reduzir o stress oxidativo, no nível molecular, e assim controlando o excesso de resposta inflamatória”. Mader et al (2005) mostram em seu estudo que LfcinB não foi citotóxico para as culturas primárias de linfócitos T normais humanos (em repouso e ativadas por mitogênico), fibroblastos ou células endoteliais, preservando células saudáveis.

A Lactoferrina também atua na apoptose, sendo essa uma interessante propriedade para o tratamento contra o câncer, pois estudos demonstraram que ela promove a apoptose apenas em células tumorais, de forma que as células saudáveis não sofrem com esse tipo de

tratamento. De acordo com os estudos, pode-se deduzir que ela, de alguma forma, reconhece nas células os peptídeos que as identificam como saudáveis ou cancerosas.

Mader *et al* (2005) comenta que LfcinB é um potente indutor de apoptose em culturas de células de leucemia monocítica humana. Em contraste, a Lactoferrina bovina intacta é incapaz de provocar a apoptose em células de leucemia mesmo a concentrações 10 vezes mais elevadas do que as de LfcinB, indicando que a atividade indutora de apoptose é único para LfcinB. Isso mostra uma grande vantagem da Lactoferricina em relação à Lactoferrina.

O autor também comenta que não se sabe se LfcinB é um indutor eficaz de apoptose em uma gama maior de células cancerosas humanas, incluindo os câncros mais comuns que são de origem epitelial. Isso mostra a necessidade de pesquisas que contemplem tais aspectos.

Embora a base molecular da LfcinB e a seletividade para as células de cancro não é ainda clara, uma possibilidade é de que a forma catiônica, a natureza anfipática da LfcinB, permite o peptídeo interagir com a membrana carregada negativamente de células cancerosas, mas não com a membrana neutra de células não transformadas. Este mecanismo também foi elucidado para mostrar que LfcinB pode permeabilizar e penetrar na membrana citoplasmática de bactérias, o que também transporta uma carga negativa.

Recentemente, foi descoberto que a LfcinB compromete a integridade da membrana de células murinos de fibrossarcoma, o que pode permitir LfcinB ganhar acesso e perturbar a mitocôndrias de células cancerosas (MADER *et al*, 2005). Isso é mais uma forte evidência que a ação da LFCin é específica a células cancerosas, preservando as saudáveis.

Por conta de sua atuação nas caspases, estudos associam a atividade anticancerígena da Lactoferricina a sua ação apoptótica para células tumorais. Mader *et al* (2005) mostram em seu estudo que a exposição de 18 horas para LfcinB sintético (200 mg/mL) foi citotóxico para as diferentes linhagens de leucemia humana e de células de carcinoma. Em contraste, LfcinB não foi citotóxico para as culturas primárias de linfócitos T normais humanos (em repouso e ativadas por mitogênico), fibroblastos ou células endoteliais. Este estudo é de extrema importância, pois mostra quão vantajosa é a utilização de LFCin, uma vez que sua ação é específica a células cancerosas.

A ação antitumoral de Lactoferricina foi comparada à ação antibacteriana. Todavia, apesar dos avanços e das descobertas animadoras, LFCin parece ter requisitos estruturais mais rigorosos para sua ação antitumoral em relação à ação antibacteriana. Os mecanismos da ação apoptótica também não são tão claros, de modo que são necessários mais estudos para entender esse processo. Compreender de fato como essa ação acontece é de extrema importância, pois

essa é a chave para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento contra o câncer a partir da LFcín.

A Lactoferricina também se mostra eficiente no bloqueio angiogênese e metástase, dois processos muito importantes do câncer. Bloqueando esses processos, os tumores não podem crescer, multiplicar-se e invadir outros tecidos, bloqueando a principal característica do câncer, que é a invasibilidade. Shimakura (2004) relata que a administração sistêmica de uma dose relativamente pequena de LFcín B inibiu a angiogênese induzida por tumor, o que é uma forte evidência para a dependência da atividade antitumoral por LFcín B na inibição da angiogênese e influências terapêuticas potentes.

Os estudos nesse campo são extremamente limitados e os poucos existentes tratam do assunto em linhas gerais. São necessários mais estudos que tentem responder perguntas mais específicas em relação ao processo de inibição da angiogênese, por exemplo, as etapas envolvidas, se os mecanismos são semelhantes a outras propriedades biológicas da Lactoferricina, entre outros. Apesar disso, os estudos que existem mostram que a Lactoferricina pode ser um potente agente terapêutico para tratamento antitumoral e anticâncer, pois também possui ação numa etapa crucial da progressão do tumor e conseqüentemente a metástase, assim como na apoptose, além de ter sido demonstrada como seletiva para células cancerosas, são necessários estudos mais aprofundados sobre o assunto para que se possa responder como a Lactoferricina pode atuar em tipos de cânceres tão diferentes e na busca de metodologias para a utilização dessa substância para o tratamento de tumores.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há vários tratamentos contra o câncer que podem levar à cura. Infelizmente, a maioria dos tratamentos são extremamente agressivos, deixando sequelas nos pacientes, além de serem custosos.

A Lactoferrina é uma glicoproteína que tem se mostrado muito eficaz para uma ampla gama de propriedades. Recentemente, a sua ação antitumoral ganhou relevância, o que seria a chave para avanços em um problema de saúde pública de grande importância mundial como o câncer.

Com o presente trabalho, foi possível mostrar que a Lactoferrina parece ser um agente terapêutico potente para o tratamento de tumores. Porém, ainda faltam estudos que contemplem esta temática para que se possa afirmar com certeza a eficiência da lactoferrina como agente antitumoral. São necessários estudos mais específicos tanto *in vitro* quanto *in vivo*, pois o número ainda é extremamente reduzido.

Além disso, foi possível criar um panorama geral da ação antitumoral da Lactoferrina e os estudos sobre ela. Pode-se perceber que, enquanto alguns aspectos estão muito bem caracterizados e explicados, há outros cujos estudos referentes são quase inexistentes. São necessárias pesquisas que busquem responder essas lacunas, pois seria a chave para avanços no tratamento contra tumores que trariam benefícios para milhares de pessoas.

Com a presente revisão, pode-se observar que há fortes evidências de que a Lactoferrina é uma alternativa para o tratamento contra câncer, porém, faltam estudos que comprovem isso nos diversos tipos e estágios em que o câncer pode ser encontrado.

Até a finalização deste trabalho, os estudos encontrados e aqui listados mostram a lactoferrina como uma forte candidata a um tratamento muito menos agressivo e, portanto, como uma alternativa mais saudável na luta contra o câncer. Espera-se que esta reunião de

informações realizada sobre o tema forneça um direcionamento para pesquisas futuras sobre os efeitos antitumorais da lactoferricina, revelando sua real eficácia.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K., Lichtman, A. H. e Pober, J. S. (1994) **Cellular and molecular immunology**. 2ª edição. W. B. Saunders Company. Philadelphia. 457 p.

ABBAS, A.K. ; LICHTMAN, A.H. **Imunologia básica**. 3ª Edição. Elsevier, 2009. 328 p.

ACTOR, J. K.; HWANG, S.; KRUZEL, M.L. Lactoferrin as a Natural Immune Modulator. *Curr Pharm* Dezembro 2009 15(17): 1956–1973. Disponível em < www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2915836/ > Acesso em 20/04/14

ADLEROVA, A. B.; FALDYNA, M. Lactoferrin: a review. **Veterinarni Medicina**, 53, 2008 (9): 457–468 Disponível em < <http://www.vri.cz/docs/vetmed/53-9-457.pdf> > Acesso em 26/02/14

ALBERTS, B. et al, **Biologia Molecular da Célula**. 5ª Edição. Porto Alegre: Artmed,2010

ARTYM, J. ; ZIMECKI, M. PAPROCKA, M. ; KRUZEL. M. L. Orally administered lactoferrin restores humoral immune response in immunocompromised mice. **Immunol Lett** 2003;89:9–15. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165247803001020> > Acesso em 12/08/14

BAKKER, E. N. Structure and reactivity of transferrins. **Advances in Inorganic Chemistry**, 1994 .41, 389–463. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898883808601762>> Acesso em 14/ 08/14

BATTASTINI, Ana Maria Oliveira; ZANIN, Rafael Fernandes; BRAGANHOL, Elizandra. Récentes Avanços não Estudo das Enzimas Opaco hidrolisam o ATP extracelular. **Cienc. Cult.** , São Paulo, v 63, n. 1, janeiro de 2011. Disponível em <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252011000100011&script=sci_arttext > Acesso em 15 de maio de 2014.

BELJAARS, L.; VAN DER STRATE, B. W. ; BAKER, H. I. Inhibition of cytomegalovirus infection by lactoferrin in vitro and in vivo. **Antiviral Res** 2004;63:197–208 Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354204000920>> Acesso em 20/06/14

BERNARDI, A.; JAQUES-SILVA, M. C.;LENZ, G. Abordagem molecular no desenvolvimento de fármacos anti-tumorais. *Infarma*, v.15, nº 9-10, Set/Out 2003. Disponível

em <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/86/infarma003.pdf>> Acesso em 06/03/14

BEZAULT, J.; BHIMANI, R.; WIPROVNICK, J.; FURMANSKI, P. Human lactoferrin inhibits growth of solid tumors and development of experimental metastases in mice. **Cancer Research**, 1994, 54, 2310–2312. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8162571>> Acesso em 09/03/14

BULLEN, J.J. ; ROGERS, H.J. ; GRIFFITHS, E. Role of iron in bacterial infection. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.** 1978 80:1–35.

CAMILIO, K. A.; BERGE, G. SVEINBJORNSSON, B. Complete regression and systemic protective immune responses obtained in B16 melanomas after treatment with LTX-315. **Cancer Innol Immunother**, 2004; 63(6): 601-61. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4024132/>> Acesso em 12/09/14

DAMIENS, E.; MAZURIER, J.; EL YAZIDI, I.; MASSON, M. DUTHILLE, I.; SPICK, G. et al Effects of human lactoferrin on NK cell cytotoxicity against haematopoietic and epithelial tumour cells. **Biochim Biophys Acta** 1998;1402:277–87. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488998000135>> Acesso em 12/04/14

DE ROBERTIS, E.D.P. & E.M.F. DE ROBERTIS. 1995. **Bases da Biologia Celular e Molecular**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro. 307p.

DZITKI, K.; DZIADEK B.; DLUGON'SKA, H. Toxoplasma gonii: inhibition of the intracellular growth by human lactoferrin. **Pol J Microbiol.** 2007 Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17419186>> Acesso em 12/05/14

EL- FAKHARANY, E. M.; SÁNCHEZ, L.; AL-MEHDAR, H. A. ; REDWAN, E. M. Effectiveness of human, camel, bovine and shepp lactoferrin on the hepatitis C virus cellular infectivity: comparison study. **Virology Journal**, 2013, 10:199. Disponível em <<http://www.virologyj.com/content/10/1/199>> Acesso em 13/03/14

FARNAUD S.; EVANS R.W. Lactoferrin – a multifunctional protein with antimicrobial properties. **Mol Immunol** ,2003;40:395-405. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14568385>> Acesso em 20/05/14

FURLONG, S. J.; MADER, J. S. HOSKIN, D. W. Bovine lactoferricin induces caspase-independent apoptosis in human B-lymphoma cells and extends the survival of immune-deficient mice bearing B-lymphoma xenografts. **Exp Mol Pathol.** 2010 Jun;88(3):371-5. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014480010000286> Acesso em 09/09/14

GIFFORD, J.L.; HUNTER, H.N.; VOGEL, H.J. Lactoferricin: a lactoferrin-derived peptide with antimicrobial, antiviral, antitumor and immunological properties. **Celular Mol Vida Sci.** novembro de 2005; 62 (22): 2588-98. Disponível em <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00018-005-5373-z>> Acesso em 10/08/14

GONZALEZ-CHAVEZ, S.A.; AREVALO-GALLEGOS, S.; RASCON-CRUZ, Q. Lactoferrin: structure, function and applications. **International Journal of Antimicrobial Agents** 33 (2009) 301.e1–301.e8 Disponível em < bch.cbd.int/database/attachment/?id=12740 > Acesso em 21/11/13

GROOT, F.; GEIJTENBEEK, T.B.; SANDERS, R.W.; BALDWIN, C.E.; SANCHEZ-HERNANDEZ, M.; FLORIS, R. et al. Lactoferrin prevents dendritic cell-mediated human immunodeficiency virus type 1 transmission by blocking the DC-SIGN—gp120 interaction. **J Virol** 2005; 79: 3009-15 Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15709021>> Acesso em 12/04/14

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, **Quimioterapia**. Disponível em < http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=101 > Acesso em 04/03/14

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **A situação do câncer no Brasil**. Rio de Janeiro. 2006. 119 p.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Fisiopatologia do câncer**. Disponível em < <http://www1.inca.gov.br/enfermagem/docs/cap2.pdf> > Acesso em 04/03/14

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Imunoterapia**. Disponível em < http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=104 > Acesso em: 04/03/14

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Radioterapia**. Disponível em < http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=100 > Acesso em 04/03/14

JUNIOR, J.de F.; **Lactoferrina diminui a proliferação e aumenta a apoptose no câncer de Mama**. Março 2011. Disponível em <<http://www.medicinabiomolecular.com.br/biblioteca/pdfs/Cancer/ca-0915.pdf>> Acesso em 22/02/14

KATARURA, N.; WAKABAYASHI, H. TERAGUCHI, S. TAMURA, T. YAMAGUCHI, H. et al. Oral lactoferrin treatment of experimental oral candidiasis in mice. **Antimicrob Agents Chemother** 2003; 47: 2619 -23. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC166093/> > Acesso em 09/04/14

KIRKPATRICK, C.H.; GREEN, I.; RICH, R.R.; SCHADE, A. L. Inhibition of growth of *Candida albicans* by iron-unsaturated lactoferrin: relation to host-defense mechanisms Inhibition of poliovirus type 1 infection by iron, manganese, and zinc-saturated lactoferrin. **Med Microbiol Immunol** 1999;187:199–204. Disponível em <> Acesso em 22/06/14

KRUZEL, M.L.; HARARI, H; MAILMAN, D.; ACTOR, J.K.; ZIMECKI, . Differential effects of prophylactic, concurrent and therapeutic lactoferrin treatment on LPS-induced inflammatory responses in mice. **Clin Exp Immunol** 2002;130:25–31. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1906493/>> Acesso em 12/04/14

KUBY, J. **Immunology** . 1998, 3ª edição. WH Freeman and Company. Nova Iorque. EUA 664p.

LEÓN-SICAIROS N.; LÓPEZ-SOTO, F.; REYES-LÓPEZ, M. GODÍNEZ-VARGAS D.; ORDAZ-PICHARDO, GARZ, M. de la. Amoebicidal activity of milk, apo-lactoferrin,slgA and lysozym. **Clin Med Res** 2006;4:106-13. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1906493/>> Acesso em 13/04/14

LEVAY, P. F. ; VILJOEN, M. Lactoferrin: a general review. **Haematologica**. 1995 80, 252–267. Disponível em < <http://www.haematologica.org/content/80/3/252.full-text.pdf+html>> Acesso em 12/08/14

MADER, J.S.; SALSAMAN, J.; CONRAD, D. M.; HOSKIN, D. W. Bovine lactoferricin selectively induces apoptosis in human leukemia and carcinoma cell lines. **Mol Cancer Ther** 2005;4:612-624. Abril 2005. Disponível em < <http://mct.aacrjournals.org/content/4/4/612> > Acesso em 16/02/14.

MARCHETTI, M. ; SUPERTI, F. ; AMMENDOLIA, M.G. ; VALENTI, P; SEGANTI, L. MIYAUCHI, H.; HASHIMOTO, S.; NAKAJIMA, M.; SHINODA, I.; FUKUWATARI, Y.; HAYASAWA, H. Bovine lactoferrin stimulates the phagocytic activity of human neutrophils: identification of its active domain. **Cell Immunol** 1998;187:34–7. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008874997912466> > Acesso em 14/04/14

OCHOA, T. J. ; CLEARY, T. G. Effect of lactoferrin on enteric pathogens. **Biochimie**. Janeiro 2009; 91 (1); 30-34. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2626156/> > Acesso em 09/04/14

ÖTZAS, Y. IM,E.R; ÖZGÜNES, N. Lactoferrin: a multifunctional protein. **Adv Mol Med** ,2005;1:149–54. Disponível em < <http://www.advmolmed.com/issue/20054/pdf/01.pdf>> Acesso em 30/05/14

PAROLIN, M. B. ; REASON, I. J. Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares. **Arq Gastroenterol** V. 38 - no. 2 - abr./jun. 2001 Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/ag/v38n2/14243.pdf>> Acesso em 08/04/14

PASSOS, A. P. D. **Aspectos Comparativos do Efeito da Temperatura em Sistemas de Lise Celular**. 2003. 57f. Dissertação de Mestrado (Fisiologia Geral). Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. 2003.

PINTO,L. F. R. **Câncer é uma Doença celular: passado, presente e futuro**. In: 5º Curso de Verão em Pesquisa em Oncologia. Governo Federal: Instituto Nacional do Câncer. 2013

QUEIROZ, V. A. de O.; ASSIS, A. M. O.; R JUNIOR, H. da C. Efeito protetor da Lactoferrina humana no trato gastrointestinal. **Rev. Paul. Pediatr.**, São Paulo, v.31, n. 1, Mar.2013. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-05822013000100015&script=sci_arttext>.Acesso em 01/12/14

REITER, B. The biological significance of lactoferrin. **Int. J.Tissue React**.1983 5:87-96.

RODRIGUES, L.; TEIXEIRA, J. A. O potencial da Lactoferrina na prevenção do cancro de mama. **Leite I+D+T** Julho 2007 2-3 Disponível em < <http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/6941/1/Leiteidt200707-Rodrigues.pdf>> Acesso em 02/02/14

SEGANTI, L. ; DI BIASE, A. M. ; MARCHETTI, M. ; PIETRANTONI, A. ; TINARI, A. ; SUPERTI, F. Antiviral activity of lactoferrin towards naked viruses. **Biometals** 2001;17:295–9. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15222481>> Acesso em 10/08/14

SERRANO, M. E.D. Atividades antibacterianas de Lactoferrina. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología**. volume 26, no. 2 abril-junho 2006

SHIMAMURA, M. ; YAMAMOTO, Y. ; ASHINO, Y. ; OIKAWA, T. ; HAZATO, T. ; TSUDA, H.; LIGO, M. Bovine lactoferrin inhibits tumor-induced angiogenesis. **International Journal of Cancer** Volume 111, Issue 1, pages 111–116, 10 August 2004 Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15185351>> Acesso em 12/09/14

SUZUKI, Y.A.; LONNERDAL, B. Mammalian lactoferrin receptors: structure and function. **CellMol Life Sci** 2005;62:2560–75. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16261254> > Acesso em 14/04/14

TOMITA, M. ; WAKABAYASHI, H. ; YAMAUCHI, K. ; TERAGUCHI, S.; HAYASAWA, H. Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk: production and applications. **Biochem Cell Biol**. Vol. 80, 2002.

VALENTI, P.; MARCHETTI, M.; SUPERTI, F. ; AMENDOLIA, M.G. ; PUDDU, P.; GESSANI, S. BORGHI, P.; BELARDELLI, F. ; ANTININI, G. SEGANTI, L. Antiviral activity of lactoferrin. **Adv. Exp. Med. Biol**. 1998, 443:199–203.

VAN DER STRATE, B.W.; BELJAARS, L.; MOLEMA, G.; HARMSSEN, M.C. , Meijer DK. Antiviral activities of lactoferrin. **Antiviral Res** 2001;52:225–39. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354201001954> > Acesso em 05/04/14

VARADHACHARY, A. ; WOLF, J. S. ; PETRAK, K.; MALLEY, B. W. O. Jr; SPADARO, M. ; CURCIO, C. ; FORNI, F. ; PERICLE, F. Oral lactoferrin inhibits growth of established tumors and potentiates conventional chemotherapy **Int. J. Cancer**: 2004, 111, 398–403. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15221967> > Acesso em 30/07/14

VIANI, R. M. ; GUTTENBERG, T.J.; LATHEY, J. L. ; SPECTOR, S. A. Lactoferrin inhibits HIV-1 replication in vitro and exhibits synergy when combined with zidovudine. **AIDS**, 1999;13:1273–4. Disponível em < http://www.researchgate.net/publication/12882073_Lactoferrin_inhibits_HIV-1_replication_in_vitro_and_exhibits_synergy_when_combined_with_zidovudine> Acesso em 12/07/14

WAKABAYASHI, H. ; UCHIDA K. ; YAMAUCHI, K. TERAGUCHI, S. ; HAYASAWA, H. YAMAGUCHI, H. Lactoferrin given in food facilitates dermatophytosis cure in guinea pig in chronic mucocutaneous candidiasis. **J Infect Dis** 1971;124:539– 44. Disponível em < <http://jid.oxfordjournals.org/content/124/6/539.long>> Acesso em 20/08/14

WANG, J. CHUNG, H.J. ; WONG, W. SPENCER, D.M. , LENARDO, M.J. Caspase-10 is an initiator caspase in death receptor signaling. **Proc Natl Acad Sci U S A**

2001;98:13884–8. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC61136/>>
Acesso em 25/05/14

WOLF, J.S.; GUOYAN, L.; ATUL, V.; KAREL, P.; SCHNEYER, D. ONGKASUWAN, J. ;
XIAOYU, Z.; RODNEY, J. T, SCOTT, E.; BERT, W. O. Oral Lactoferrin Results in T Cell
Dependent Tumor Inhibition of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma In vivo **Clin
Cancer Res** 2007;13:1601-1610. Disponível em <
<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/13/5/1601> > Acesso em 12/03/14

XIAO, Y.; MONITTO., C.L.; MINHAS, K.M., SIDRANSKY, D. Lactoferrin down-
regulates G1 cyclin-dependent kinases duringg rowth arrest of head and neck cancer cells.
Clin Cancer Res 2004;10:86836. Disponível em <
<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/10/24/8683.long> > Acesso em 22/04/14

ZAREMBER, K. A.; SUGUI J. A. ; CHANG, Y. C.; KWON-CHUNG, K.J.; GALLIN, J. I.
Human polymorphonuclear leukocytes inhibit Aspergillus fumigtus conidial growth by
lactoferrin -mediated iron depletion. **J Immunol** 2007;178:6367–73.