

BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO EM COMPONENTES DO LEITE



Os laticínios, leite e derivados, como iogurte e queijo, são as principais fontes de cálcio, elemento essencial para a transmissão nervosa, coagulação do sangue, contração muscular, e que também atua na respiração celular, além de garantir uma boa formação e manutenção de ossos e dentes. Por sua presença na formação óssea, o cálcio é um dos elementos mais abundantes no corpo humano.

INTRODUÇÃO

Os produtos lácteos são reconhecidos como excelentes fontes de nutrientes essenciais, de forma geral e, em particular, de cálcio. Na dieta norte-americana, os produtos lácteos representam aproximadamente 75%, ou mais, da ingestão diária de cálcio, sendo o restante proveniente de vegetais, grãos e frutas. A Tabela 1 lista o conteúdo de minerais de vários produtos lácteos e de alguns vegetais.

O teor de cálcio dos diferentes produtos lácteos varia consideravelmente, de 60mg/100g, no queijo Cottage, para 110 a 120mg/100g, em vários leites e iogurtes líquidos, e de 500 a 700mg/100g, em diversos produtos derivados do queijo. O queijo Cottage preparado a partir do leite desnatado, sem adição de cloreto de cálcio (CaCl_2), possui apenas 9mg/100g. A adição de CaCl_2 ao leite fresco resulta em uma mudança do

TABELA 1 - CONTEÚDO MINERAL DE ALGUNS PRODUTOS LÁCTEOS E VEGETAIS*

Constituinte	Ca	P	Ca/P	Fe	Na	Na/K
Leite fluido	119	93	1.3:1	0,04	49,0	0.3:1
Leite desnatado	129	104	1.2:1	0,04	53,0	0.3:1
Leitelho	116	89	1.3:1	0,04	105,0	0.7:1
logurte	121	95	1.3:1	0,04	46,0	0.3:1
Queijo Cottage	60	132	0.5:1	0,24	405,0	4.8:1
Queijo Cheddar	729	521	1.4:1	0,28	629,0	6.3:1
Queijo processado	621	754	0.8:1	0,56	1450,0	8.8:1
Leite de soja	21	48	0.4:1	0,90	21,0	0.2:1
Tofu	105	97	1.1.:1	6,30	7,0	0.0:1
Couve	82	26	3.0:1	20,00	18,0	0.4:1
Espinafre	20	11	1.8:1	16,00	15,0	0.1:1
Soja	52	129	0.4:1	7,00	1,6	0.1:1

* valores em miligramas por 100 gramas

cálcio líquido nas micelas da caseína; portanto, a adição de CaCl_2 para promover a ação de coalho, aumenta o teor de cálcio do produto. Em comparação, o leite de soja e produtos de tofu contém 21 e 105mg/100g, respectivamente. Este exemplo é importante para compreender como a distribuição de cálcio varia em diferentes produtos lácteos e, além disso, como a distribuição de cálcio pode influenciar na biodisponibilidade desse mineral.

Além do fato dos produtos lácteos representarem excelentes fontes de cálcio na dieta, é importante notar que a biodisponibilidade de cálcio também é elevada nesses sistemas alimentícios. Estudos realizados em ratos relataram a aparente eficiência da absorção de cálcio, que varia de 54% a 75%, a qual é equivalente ou superior à eficiência obtida com suplementos de cálcio. Em humanos adultos, a absorção radioisotópica de cálcio variou de 25% a 35%. A absorção de cálcio em recém-nascidos prematuros pode atingir até 82% da ingestão de cálcio. O “fator leite” tem sido relatado para facilitar a solubilidade de cálcio, zinco e ferro na presença de fibras de cereais e fitato de sódio. Isso explica, parcialmente, a melhora na absorção de cálcio observada em indivíduos que consomem leite contendo cereal de farelo de trigo. Além disso, outros estudos com humanos analisaram a absorção relativa de cálcio dos diferentes alimentos, relatando que produtos lácteos, como o leite

e o queijo, fornecem relativamente maior biodisponibilidade de cálcio do que o espinafre, por exemplo.

O conjunto desses resultados mostra a importância dos componentes presentes no leite, que pode incluir a lactose ou produtos associados a hidrólise e proteínas lácteas; esses componentes podem contribuir para aumentar a absorção de cálcio, facilitando a solubilidade. É necessário ter cuidado na extrapolação desses resultados nas recomendações específicas para o consumidor, pois, primeiramente, existem limitações para a confirmação dos resultados entre estudos distintos, devido as diferentes metodologias utilizadas para avaliar a biodisponibilidade do cálcio.

A proteína do leite contém um certo número de peptídeos com atividade biológica potencialmente ativa, que contribuem, ou modulam um número específico de mecanismos fisiológicos que regulam a homeostase metabólica. Estudos têm demonstrado que os peptídeos da caseína soltos no duodeno apresentam a função fisiológica de regular a secreção gástrica e pancreática, proporcionando atividades de imunoestimulação, e atua no transporte do cálcio. Um trabalho considerável tem sido dedicado à descoberta e caracterização dos fosfopeptídeos bioativos do leite, que são considerados facilitadores da absorção intestinal de cálcio e solubilizadores de fosfato de cálcio. Caracterizar as estruturas primária e secundária dos fosfopeptídeos deriva-

dos das caseínas é um passo importante na compreensão do significado biológico desses peptídeos para o metabolismo do cálcio. Além disso, essa informação é fundamental para a geração de alimentos derivados fisiologicamente dos componentes ativos das fontes de proteínas do leite com aplicações comerciais. Alguns produtos alimentícios e outros contendo caseinofosfopeptídeos foram desenvolvidos na Europa e no Japão com a intenção de fornecer um nutracêutico destinado a aumentar a biodisponibilidade dos minerais suplementados nos alimentos.

Os caseinofosfopeptídeos (CPP) serão discutidos mais adiante.

O CÁLCIO DIETÉTICO

O cálcio é encontrado em maiores ou menores concentrações, dependendo do alimento analisado, sendo, geralmente, mais abundante e biodisponível no leite bovino e derivados. Com a mudança dos hábitos e necessidades dietéticas das populações, bem como com o avanço da medicina em diagnosticar e tratar pacientes com distúrbios, como a intolerância à lactose ou a alergia à proteína do leite de vaca, o estudo de outras fontes biodisponíveis de cálcio tornou-se necessário.

Embora alguns alimentos tenham teores razoáveis de cálcio, sua absorção pode ser bastante variável. No ano 2000, um estudo comparou a biodisponibilidade do cálcio do leite de soja enriquecido com leite de vaca, demonstrando que a biodisponibilidade do primeiro correspondia a apenas 75% da biodisponibilidade do segundo. O estudo sugeriu que para se atingir uma equivalência entre os dois leites, seria necessário que o de soja fosse enriquecido com 500mg de Ca/porção e não apenas com os atuais 300mg/porção referidas pela maioria dos fabricantes.

Por outro lado, um estudo realizado em 2002, sobre a absorção do cálcio com a ingestão de um suco de laranja industrializado enriquecido com citrato-malato de cálcio, con-



O cálcio é encontrado em maiores ou menores concentrações, dependendo do alimento analisado, sendo, geralmente, mais abundante e biodisponível no leite bovino e derivados.

cluiu que a mesma era semelhante à do leite de vaca. O suco de laranja enriquecido com cálcio esteve disponível por algum tempo no Brasil, mas não tem sido mais encontrado no comércio atualmente.

O leite de outros animais também teve a sua absorvabilidade averiguada. Em 1995, um estudo comparando os leites de ovelha e cabra com o de vaca não encontraram diferenças na biodisponibilidade de cálcio dos mesmos.

Os peixes pequenos, quando ingeridos com os ossos, também poderiam representar uma rica fonte de cálcio.

A eficiência da absorção de cálcio é afetada pela presença intraluminal de outros componentes dietéticos. Cerca de 30% do cálcio dietético está biodisponível nos alimentos. Esta biodisponibilidade refere-se à digestibilidade e absorção do elemento. A digestibilidade pode ser comparada com a solubilidade ou, mais precisamente, com a solubilização. Aminoácidos e pequenos peptídeos presentes na dieta não costumam alterá-las. Por outro lado, muitas gorduras, carboidratos complexos e alguns minerais podem influenciar tanto na digestibilidade como na biodisponibilidade do cálcio. Já alguns produtos industrializados e enriquecidos, como, por exemplo, a farinha de trigo, apesar de poder conter cálcio, apresentam uma pior biodisponibilidade quando comparados ao leite.

A ação da vitamina D é necessária para que ocorra uma adequada absorção intestinal de cálcio. Como esse nutriente também está disponível a partir da ação da luz solar

nos tecidos subcutâneos, a quantidade necessária a partir de fontes dietéticas depende de fatores não dietéticos.

Nos últimos anos, vem sendo aumentada a indicação de alimentos ricos em fibras na dieta. Embora isso seja interessante do ponto de vista das dislipidemias, constipação e diabetes *Mellitus*, pode prejudicar a absorção de diversos minerais, entre os quais o cálcio. Um estudo realizado em pacientes submetidos à dieta para perda de peso, com elevados teores diários de cálcio (em torno de 1.302mg/dia) e de fibras, mostrou uma redução no balanço corpóreo de cálcio, que passou de +32 para -77mg/dia. Além disso, em pacientes submetidos a uma dieta geral, o simples acréscimo de frutas e vegetais, apesar de causar um aumento da ingestão de cálcio de 1.070 para 1.166mg/dia, também provocou uma queda no balanço do elemento, que passou de +72 para -122mg/dia. Sendo assim, altas fontes dietéticas de fibras e vegetais contribuem consideravelmente para diminuir a absorção de cálcio.

Enquanto alguns pesquisadores insistem no papel das fibras como fator principal na diminuição da biodisponibilidade de cálcio, outros defendem que os efeitos observados diretamente na absorção do cálcio parecem ser devidos mais a outros fatores alimentícios do que às fibras propriamente ditas. Alimentos ricos em fibras frequentemente contêm também fitatos ou ácido oxálico, substâncias que interagem com o cálcio. Contudo, estudos sobre o efeito dos oxalatos e fitatos no metabolismo do cálcio em humanos são poucos e os resultados contraditórios.

Já os carboidratos, de forma geral, aumentam a absorção de cálcio. Nesse aspecto, a lactose seria a mais eficiente dentre eles.

Durante o decorrer de 50 anos, muitos estudos têm sido publicados sobre a importância da suplementação de lactose na absorção de cálcio em dietas de animais. Também em humanos, inúmeros pesquisadores têm estudado a sua eficácia em uma variedade de experimentos. Alguns, inclusive, têm sugerido que a osteoporose seria mais prevalente na deficiência de lactase. Até o momento, contudo, as afirmações sobre a importância do açúcar do leite na absorção do cálcio têm sido controversas.

Além dos citados acima, outros componentes podem influenciar a absorção do cálcio.

cio. Existem evidências, por exemplo, de que vários oligossacarídeos não digeríveis melhoram a absorção de cálcio em adolescentes e adultos. Em contrapartida, alguns estudos têm mostrado que a adição de gordura pode produzir má absorção, ou esteatorréia, reduzindo a absorção de cálcio. Já os suplementos protéicos ou alimentos enriquecidos com proteína têm um potencial impacto sobre o balanço de cálcio. Alguns pesquisadores defendem uma associação entre aumento da ingestão protéica e a piora do metabolismo do cálcio, enquanto outros não demonstraram essa relação.

FATORES FISIOLÓGICOS E A BIODISPONIBILIDADE DO CÁLCIO

A absorção intestinal de cálcio pode ser dividida em duas partes: uma ativa saturável, a qual é mediada pela vitamina D e envolve a proteína ligadora de cálcio (Ca-Bp), e uma passiva, que pode corresponder a difusão simples ou facilitada (carreadora-mediada).

Provavelmente, todo o intestino é capaz de absorver cálcio. Contudo, sob condições normais, acredita-se que apenas o intestino delgado participe nessa absorção. O local onde a maior parte da absorção do elemento ocorre depende da capacidade absorptiva, do comprimento do segmento intestinal, do tempo de trânsito, da biodisponibilidade e da concentração intraluminal de cálcio. O duodeno possui a maior capacidade absorptiva por unidade de comprimento, mas a maioria do cálcio é absorvido no jejuno devido ao seu maior comprimento total.

A absorção intestinal ativa de cálcio é primariamente regulada pela 1,25-dihidroxitamina D [1,25(OH)₂D]. Outros hormônios também podem influenciar esta absorção, aumentando-a (paratormônio → PTH, hormônio do crescimento → GH) ou diminuindo-a (glicocorticóides, excesso de hormônios tireoi-

dianos e possivelmente calcitonina), via interação com a conversão renal de 25-hidroxitamina D (25-OHD) a 1,25(OH)₂D ou com o efeito da 1,25(OH)₂D sobre o intestino, ou ainda, por uma ação hormonal direta.

Por outro lado, uma série de cátions, ânions, proteínas, carboidratos, gorduras e drogas influenciam na absorção intestinal de cálcio. Contudo, com exceção das gorduras e algumas drogas, esses compostos têm pouca importância prática na vida diária. O cálcio e o fósforo (P) absorvidos participam da manutenção da absorção de cálcio devido aos efeitos do cálcio sérico sobre a secreção do PTH e dos efeitos do fósforo e PTH séricos sobre a produção renal de 1,25(OH)₂D.

O cálcio é continuamente perdido no lúmen intestinal devido à secreção do suco digestivo. Uma parte deste é reabsorvido e o restante é excretado nas fezes (Ca fecal endógeno).

A absorção e os requerimentos de cálcio variam conforme a faixa etária e as condições clínicas dos indivíduos (veja Tabela 2). Em geral, quanto maior a necessidade e menor o fornecimento dietético, mais eficiente será a absorção. O aumento das necessidades do elemento encontrado

em situações como crescimento, gravidez, lactação, deficiência de cálcio, e na atividade física que resulta em alta densidade óssea, intensifica a absorção de cálcio.

Na infância, o cálcio é necessário para a mineralização e crescimento ósseo adequados. A quantidade real de cálcio necessária depende, além da idade da criança, das taxas individuais de absorção e de outros fatores dietéticos. Também a retenção de cálcio é variável nos indivíduos. Nas crianças entre dois e oito anos de idade, por exemplo, totaliza aproximadamente 100mg/dia. Como a ingestão de cálcio tem pouca influência sobre seu grau de excreção urinária, durante períodos de crescimento rápido as crianças precisam de duas a quatro vezes mais cálcio por kg de peso do que os adultos. Como o leite e outros produtos lácteos são as fontes principais do elemento, as crianças que não os consomem, ou os ingerem em quantidades limitadas, estão em risco de deficiência de cálcio.

Na gestação ocorrem mudanças no metabolismo de cálcio que favorecem a transferência deste elemento para o feto, incluindo alterações nos hormônios reguladores de cálcio. A taxa de absorção intestinal é aumentada, principalmente a partir do 2º trimestre, de 27% (em mulheres não gestantes) para 54% no 5º ou 6º mês de gestação, sendo de 42% ao término (40ª semana gestacional). Também estão aumentados a reabsorção renal e o *turnover* do cálcio ósseo, favorecendo o atendimento dos requerimentos de cálcio e a mineralização óssea fetais. Na gestação, também é observado um aumento de cálcio urinário, provavelmente devido ao aumento da taxa de filtração glomerular.

Depois do parto, a absorção de cálcio e a excreção urinária do mesmo voltam aos níveis pré-gravídicos.

A absorção de cálcio, particularmente a absorção ativa, declina com a idade. Esse declínio pode ser causado por deficiência dietética e diminuição endógena na produção de vitamina D. Essa diminuição da produção é devida, em parte, à menor exposição solar

TABELA 2 – RECOMENDAÇÕES DE CÁLCIO CONFORME A FAIXA ETÁRIA E SITUAÇÕES ESPECIAIS

Idade ou grupo	Recomendações (mg/d)
Idade	
0-6 meses	210
6-12 meses	270
1-3 anos	500
4-8 anos	800
9-13 anos	1300
14-18 anos	1300
19-30 anos	1000
31-50 anos	1000
51-70 anos	1200
> 70 anos	1200
Gravidez	
≤ 18 anos	1300
19-50 anos	210
Lactação	
≤ 18 anos	1300
19-50 anos	210

Fonte: referência 10



A eficiência da absorção de cálcio aumenta se o indivíduo é mantido com uma dieta deficiente de cálcio, provavelmente porque o processo de transporte saturável, vitamina D-dependente, está aumentado.

nos grupos etários mais avançados. Além disso, com o processo de envelhecimento, ocorre piora da função renal e diminuição da produção de vitamina D, com conseqüente hiperparatireoidismo secundário.

Nas mulheres, a diminuição estrogênica observada após a menopausa também reduz a produção renal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Por outro lado, o alto *turnover* ósseo que ocorre nos primeiros anos da menopausa pode inibir a absorção intestinal de cálcio, devido à mobilização do osso mineral, com diminuição da secreção do PTH e da 1-hidroxilação da 25-OHD.

OS COMPONENTES DA PROTEÍNA DO LEITE E A BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO

O leite bovino contém aproximadamente 33g/l de proteína total, e é uma mistura complexa de caseinatos e proteínas do soro. Os caseinatos do leite precipitam em pH 4,6, enquanto que as proteínas do soro são solúveis nesse mesmo nível de pH. Os caseinatos representam de 75% a 85% da proteína total; as proteínas do soro constituem os restantes 15% a 25%. Os caseinatos dominantes no leite bovino são as α -caseínas, que estão presentes cerca de duas vezes mais do que a concentração de β -caseínas (veja Tabela 3). Em comparação, o leite humano contém metade do total de proteínas encontradas no leite bovino, tendo apenas uma pequena quantidade de

proteínas que corresponde a α -caseína; o componente principal é a β -caseína. Outra característica diferente entre o leite bovino e o humano envolve a quantidade e composição das proteínas do soro. Estas proteínas incluem aproximadamente 5,5 e 7,0g/l de leite humano e bovino, no entanto, ao contrário do leite bovino, o leite humano é desprovido de β -lactoglobulina, mas contém, proporcionalmente, mais α -lactalbumina.

Um aspecto importante das diferenças nas características no conteúdo de proteína no leite humano e bovino envolve a distribuição de minerais. Por exemplo, a fração da caseína do leite bovino contém a maior parte dos minerais totais (Zn, 84%; Cu, 44%; Ca, 41%; Mg, 25%; Fe, 24%), em comparação com uma quantidade relativamente pequena de minerais presentes na fração de caseinato humano (Zn, 8%; Ca, 6%; Cu, 7%; Mg, 6%; Fe, 9%). Além disso, existem vários peptídeos bioativos no leite de mamíferos, tais como prolactina, insulina, fatores de crescimento epidérmico, fatores de liberação hormonal de somatostatina e peptídeo, secretagogos e calcitonina. Embora presentes em quantidades muito pequenas no leite, estes peptídeos biologicamente ativos não só podem afetar diretamente a biodisponibilidade de cálcio, como também podem modular a motilidade do trato gastrointestinal, o que influencia indiretamente a biodisponibilidade de cálcio. Por exemplo, a prolactina é conhecida por aumentar a absorção intestinal de cálcio, possivelmente pela regulação da biossíntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (veja mais acima).

CARÊNCIAS NUTRICIONAIS, DOENÇAS E A BIODISPONIBILIDADE DO CÁLCIO

A eficiência da absorção de cálcio aumenta se o indivíduo é mantido com uma dieta deficiente de cálcio, provavelmente porque o processo de transporte saturável, vitamina D-dependente, está aumentado. Não está claro, contudo, quanto tempo é necessário para que a adaptação à mudança de ingestão ocorra. A maioria dos estudos de adaptação em humanos foi feita com indivíduos adaptados a uma baixa ingestão de cálcio por várias semanas, e a pouca informação disponível de estudos mais profundos é confusa. Pesquisas mostraram

que a quantidade de cálcio (entre 12 e 400mg) consumida em uma refeição, 2,5 horas antes da administração oral de 47mg de cálcio, teve efeito significativo sobre o aparecimento plasmático (absorção) do isótopo. Todavia, a infusão intravenosa de hormônio paratireoideo não teve efeito sobre a absorção de cálcio por, no mínimo, quatro a cinco horas, no mesmo experimento. Outro estudo com indivíduos colocados em uma dieta deficiente de cálcio por oito semanas, pesquisou se o jejuno poderia se adaptar rapidamente à concentração intraluminal de cálcio. A conclusão foi de que este não reduz sua taxa de absorção imediatamente (em 1:30 horas) em resposta à alta concentração intraluminal de cálcio.

Pode parecer, pelos dados acima, que são necessárias muitas horas antes que a taxa de absorção se adapte à mudança no cálcio intraluminal. Além da concentração do cálcio intraluminal, a ingestão habitual do elemento afeta a eficiência de absorção, mostrando que um mecanismo adaptativo de longo prazo também atua.

A absorção de cálcio pelo cólon contribui significativamente para a absorção total do elemento em pacientes com pequenas ressecções intestinais. O cólon também pode ser importante na recuperação do cálcio liberado de complexos da dieta (fitatos, ácido urônico e pectina) no intestino grosso pelas bactérias colônicas.

Já que o intestino pode se adaptar às baixas ingestões de cálcio, acredita-se comumente que a deficiência dietética do elemento não leva à desmineralização óssea. Todavia, evidências consideráveis demonstram que, em algumas situações, a adaptação à baixa ingestão pode não ser suficiente para prevenir o balanço negativo de cálcio. Pesquisas demonstraram que há um limite inferior de ingestão de cálcio, abaixo do qual a absorção não pode se adaptar suficientemente para manter o balanço do elemento. Em outra pesquisa, que estudou o balanço de cálcio em adultos, foram encontradas altas taxas de balanços negativos quando a ingestão do elemento era de 600mg/dia, concluindo-se que eram necessários 950mg/dia para atingir um equilíbrio em 95% dos pacientes.

Até alguns anos atrás, acreditava-se que várias regiões do mundo consumiam consideravelmente menos cálcio do que nos Estados Unidos, sem efeitos prejudiciais sobre o crescimento ou mineralização óssea. Evidências mais recentes contradizem esta crença. Um estudo realizado em crianças sul-africanas mostrou que as que ingeriam uma média de 125mg/dia de cálcio apresentavam hipocalcemia e elevação da fosfatase alcalina, enquanto que as que ingeriam 337mg/dia não apresentavam. Outro estudo, realizado com iugoslavos, pesquisou a mineralização óssea em dois

grupos de indivíduos: um com ingestão de cálcio de 400mg/dia e outro de 900mg/dia. O grupo com menor teor de ingestão de cálcio na dieta teve menor mineralização óssea, aos 30 anos de idade, e maior taxa de fraturas.

Enfim, aparentemente a absorção de cálcio se adapta às baixas ingestões do elemento. Contudo, essa adaptação não é suficiente para evitar o balanço negativo quando a ingestão, em longo prazo, é igual ou inferior a 400mg/dia.

OS CASEINOFOSFOPEPTÍDEOS

O termo caseinofosfopeptídeo (CPP) foi introduzido na década de 50 para descrever peptídeos fosforilados derivados da caseína que apresentavam a propriedade de melhorar a calcificação de crianças portadoras de raquitismo. Essa influência de peptídeos no metabolismo mineral foi observada após incubação de caseína com pepsina e suco pancreático, o que permitia a obtenção de uma fração peptídica resistente à degradação posterior por outras enzimas.

Os peptídeos obtidos apresentavam elevado conteúdo de resíduos fosfoserina e aumentavam o balanço de cálcio de 39% a 78% em neonatos raquíticos. Desde então, verificou-se cientificamente que os caseinofosfopeptídeos possuíam a habilidade de ligar micro elementos, como Ca, Mg e Fe, e também elementos-traço, como Zn, Ba, Cr, Ni, Co e Se.

Os primeiros estudos sobre a hidrólise da caseína, em 1895, já demonstravam que compostos fosforilados derivados da caseína formavam sais insolúveis com vários metais, sendo denominados fosfopeptonas. A partir da caseína, e com uso de tripsina, foi obtido um polipeptídeo com relação nitrogênio:fósforo (N:P) de 4:1, indicando que os peptídeos apresentavam alta fosforilação. A caracterização desta fosfopeptona foi realizada pelos métodos então disponíveis, revelando a presença de serina e um ácido dicarboxílico, que aparentemente seria o ácido hidroxilglutâmico.

TABELA 3 - DISTRIBUIÇÃO DAS PRINCIPAIS PROTEÍNAS EM LEITE BOVINO E HUMANO

Componente protéico	Proteínas totais de bovinos (%)	Conc. (g/L)	Proteínas totais de humanos (%)	Conc. (g/L)
Caseínas	75 – 85	25,0	25,0	2,0
αs1-caseína	45 – 65	8 – 10		
β-caseína	30 – 40	8 – 10	65	1,3
κ-caseína	12	3	27	0,5
v-caseína	4,1	1		
Proteínas de soro de leite	20 – 30	7,0	75 – 80	6,0
α-Lactalbumina	33	1	50	35 – 37
β-Lactoglobulina	13	4		
Imunoglobulinas	20	6,6	13 – 15	1,1
Albumina	1,2	0,4	6,3	0,5
Aminoácidos Essenciais (g)		16,0		4,0
Aminoácidos		33		13



O teor e a biodisponibilidade do cálcio variam muito nos diversos alimentos, sendo que um grande número de fatores influencia no aproveitamento do elemento presente nas refeições.

Estudos subseqüentes verificaram que os caseinofosfopeptídeos consistem em uma mistura de peptídeos de diferentes pesos moleculares formados, *in vivo*, quando a caseína é degradada pelas enzimas proteolíticas no trato digestivo. Esses peptídeos, em sua estrutura primária, apresentam uma seqüência de aminoácidos carregados negativamente em pH fisiológico, constituída por resíduos de ácido glutâmico e serina fosforilada (Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu).

A partir de então, vários estudos têm demonstrado que a digestão da caseína eleva a biodisponibilidade do cálcio. Os caseinofosfopeptídeos formam complexos solúveis com fosfato de cálcio em pH alcalino. Esses complexos previnem a precipitação do fosfato de cálcio e aumentam a concentração do cálcio solúvel *in vitro* e no lúmen do intestino delgado.

A elevada afinidade das moléculas de caseína por cátions di e trivalentes é atribuída à sua fosforilação. A extensão da fosforilação das caseínas é dependente do tipo de caseína em questão. Por exemplo, a caseína bovina α_2 possui 13 grupos fosfato, enquanto a κ -caseína apresenta somente um grupamento. O fósforo aparece ligado às caseínas através de ligações monoéster nos resíduos serina, criando um domínio ácido favorável à ligação com metais.

A presença de sítios fosforilados conduz a um aumento na hidrofiliabilidade e na mobilidade daquele determinado sítio peptídico. Aproximadamente 80% das regiões fosforiladas da caseína se apresentam com a estrutura β -pregueada.

AÇÃO DOS CASEINOFOSFOPEPTÍDEOS NA ABSORÇÃO DE MINERAIS

Os fosfopeptídeos possuem um alto conteúdo de cargas negativas e sítios de ligação fosfoseril ou carboxílicos que os tornam eficientes na formação de complexos solúveis com cátions divalentes. São relatados complexos formados entre fosfopeptídeos e diversos minerais. Quando são comparados os níveis intestinais de isótopos de Ca 45 entre animais que recebem diferentes fontes protéicas em suas dietas (caseína, glúten, gelatina, caseína desfosforilada, albumina de ovo, soro de leite ou isolado protéico de soja) se torna claro que a fosforilação da caseína é um pré-requisito indispensável para o efeito significativamente maior dessa proteína na solubilidade do mineral.

O leite e os produtos lácteos representam uma excelente fonte de cálcio. As formas básicas de absorção de cálcio pelo homem são: um sistema dependente de vitamina D localizado no duodeno e jejuno. Neste, o fator-chave é uma proteína (*calcium-binding protein* - CaBP) que facilita a difusão do mineral pelas membranas, participando do transporte ativo. Esta proteína é estimulada pela vitamina D ou por seu metabólito ativo (1,25 - (OH)₂ - D₃). Outra forma de absorção se faz por meio de um sistema passivo, independente de vitamina D localizado no íleo. O transporte passivo constitui o principal canal de absorção do mineral derivado da dieta. Alguns estudos sugerem que a absorção de caseinofosfopeptídeos ocorre pelo sistema passivo, independente de vitamina D. Além disso, quando se formam complexos solúveis entre o peptídeo e o mineral há prevenção da precipitação do fosfato de cálcio e, como consequência, aumenta a quantidade de cálcio solúvel.

Estudos pesquisaram as interações entre o CPP e as células intestinais, utilizando o cultivo de células tumorais humanas (HT-29). Foi sugerido que a ação do CPP no fluxo de cálcio esteja relacionada à formação de canais próprios ou ao carregamento do mineral via endocitose.

A utilização de CPP para a suplementação de Zn é capaz de impedir a precipitação deste mineral, bem como sua interação com outros metais e inibidores de absorção (fitatos), aumentando sua biodisponibilidade.

A avaliação da habilidade de CPP (contendo 80% de peptídeos fosforilados e obtida pela

remoção seletiva dos não-fosforilados) em solubilizar o cálcio foi comparada com hidrolisado protéico de soro de leite. Uma solução de cloreto de cálcio foi preparada e teve seu pH elevado para 7,4 com a adição de fosfato de potássio, tendo sido adicionada ao CPP ou ao hidrolisado de soro. O aumento progressivo da solução de CPP levou à prevenção da precipitação de fosfato de cálcio em pH neutro, sendo que 150mg de CPP ligaram 100mg de cálcio. O hidrolisado de soro de leite não solubilizou o cálcio.

Embora a aplicação potencial do CPP se relacione à sua habilidade em solubilizar minerais, são observadas diferenças de solubilidade em diferentes estudos realizados. Essas disparidades podem ser atribuídas a diferenças na metodologia utilizada para medir a solubilidade e a absorção de cálcio. A utilização do cálcio absorvido na mineralização óssea é um método alternativo para avaliar a biodisponibilidade do mineral.

As pesquisas sobre o papel do CPP na melhora da absorção de cálcio também apresentam resultados contraditórios. Estudos em suínos em crescimento e em ratas lactentes demonstram que a suplementação de CPP não foi capaz de influenciar a mineralização óssea. Por outro lado, a adição de CPP às dietas de ratas ovariectomizadas preveniu o declínio na densidade mineral óssea. Galinhas normais e raquíticas tiveram aumento da absorção do mineral. Ratos alimentados com dieta contendo 200g/kg de caseína tiveram a formação de 5mg de CPP (aproximadamente 1,6 μ mol de CPP de β -caseína), que evitou a precipitação de 20 μ mol de cálcio no íleo distal. O caseinofosfopeptídeo também foi capaz de aumentar a incorporação de Ca²⁺ aos espermatozoides, facilitando sua penetração nos oócitos de suínas. Um estudo realizado avaliou pacientes acima de 50 anos que receberam suplementação de 1.200mg/dia de cálcio bioativo (cálcio ligado ao CPP), em um período de 34 meses. Houve redução significativa nas fraturas ósseas.

A influência dos métodos de preparação de caseinofosfopeptídeos na

absorção de ferro foi avaliada, sendo que os estudos concluíram que a eficiência do CPP em aumentar a absorção de ferro depende de sua origem e propriedades estruturais. Caseinofosfopeptídeos produzidos pela digestão de β -caseína resultaram em índices maiores de absorção do mineral do que CPP produzido a partir de caseína integral e de frações obtidas de α -caseína. A biodisponibilidade do ferro é melhorada pela ligação com os caseinofosfopeptídeos por diversos mecanismos: a hidrólise protéica melhora a absorção do mineral, provavelmente por melhorar sua solubilidade, que se correlaciona com sua melhor absorção. A ligação do ferro ao CPP forma complexos solúveis e resistentes a alterações no pH e força iônica, que ocorrem no trato digestivo.

A maioria dos dados apresentados na literatura sobre os efeitos do CPP na absorção mineral se baseia em estudos *in vitro*, *in situ* e de cultivo celular. Muitos foram realizados com roedores. Ao se realizar um balanço entre os resultados apresentados, se conclui que há elevada evidência de que estes peptídeos melhoram a absorção mineral. Entretanto, há necessidade de estudos longitudinais em humanos, com monitoramento de dados relativos a mineralização óssea.

POTENCIAIS BENEFÍCIOS À SAÚDE DOS CASEINOFOSFOPEPTÍDEOS

O consumo de produtos lácteos e leite está associado à redução no aparecimento de cáries dentárias, sendo que os derivados de leite podem ser considerados o grupo de alimentos com maior atividade anticariogênica. As cáries estão relacionadas à desmineralização dentária gerada por ácidos orgânicos produzidos por bactérias durante a fermentação dos açúcares da dieta. A aderência de *Streptococcus sobrinus* e *Streptococcus mutans* à película salivária pode ser reduzida pela incorporação de CPP. Provavelmente se dá a formação de um biofilme que aumenta a remineralização dos dentes e impede a adesão

bacteriana. Quando as lesões dentais já estão instaladas, a adição de CPP aumenta significativamente a habilidade do leite bovino em remineralizá-las *in situ*. Fosfopeptídeos possuem também a habilidade de prevenir a formação de cálculos dentários, que constituem um depósito de fosfato de cálcio na forma de hidroxiapatita. Agem como agentes tampões contra a placa dentária ácida.

O CPP pode ser incorporado a uma série de produtos para higiene oral e em gomas de mascar com ação anticariogênica. Após três horas do uso de goma de mascar de xilitol contendo CPP ainda foi possível se detectar a presença do peptídeo na superfície dos dentes. O uso de enxaguatório bucal contendo CPP aumenta o nível de cálcio e fosfato na região oral. Pasta dentária com CPP aumenta a remineralização impedindo a formação de placas dentárias. O uso de pasta dental contendo CPP também reduz a sensibilidade em indivíduos que sofrem de elevada sensibilidade dos dentes em sua higiene oral.

Estudos demonstraram que tanto os caseinofosfopeptídeos como seus derivados desfosforilados possuem efeitos imunomoduladores.

A atividade imunoestimuladora de fosfopeptídeos derivados da caseína foi avaliada em culturas de células de baço, timo e intestino de ratos. Os estudos apontaram que o resíduo 59-79 da α 1-caseína, derivada de hidrólise triptica, é responsável pelo aumento da produção de imunoglobulinas nas células de baço desses animais. Na produção de caseinofosfopeptídeos com diversas seqüências foi observado que aqueles cuja matéria-prima recebeu tratamento térmico antes do processo apresentaram atividade mitogênica sobre células de baço de ratos. Esses peptídeos também aumentaram as respostas proliferativas nas células, induzidas por lipopolissacarídeos e concanavalina-A.

O efeito da administração oral de caseinofosfopeptídeo em camundongos indicou aumento na produção de imunoglobulina A (IgA) pela mucosa intestinal nos animais estudados. A partir desse resultado, foram realiza-

O termo caseinofosfopeptídeo (CPP) foi introduzido na década de 50 para descrever peptídeos fosforilados derivados da caseína que apresentavam a propriedade de melhorar a calcificação de crianças portadoras de raquitismo.

dos estudos para investigar qual a seqüência aminoacídica responsável pela produção de IgA e também pela proliferação de linfócitos. Com este objetivo foi avaliada a proliferação de linfócitos B estimulados com LPS derivada de *Salmonella typhimurium* e de linfócitos T pelo uso de PHA e concanavalina A, bem como a produção de IgA secretória. Os ensaios foram realizados em células de baço de camundongos e o estudo concluiu que os fosfopeptídeos que contêm a seqüência SerP- X – SerP são responsáveis pela atividade imunoregulatória. A seqüência do estudo utilizou o tripeptídeo SerP- X – SerP como ingrediente alimentício adjuvante no estímulo da produção de IgA. Indivíduos que ingeriram produtos de panificação contendo CPP na formulação, por um período de 15 dias, apresentaram valores aumentados de IgA secretória, sendo que a resposta foi maior naqueles indivíduos que raramente consumiam leite e seus derivados.

Caseinofosfopeptídeo produzidos a partir da hidrólise triptíca de caseinato de sódio, seguida de agregação mineral e precipitação com etanol foram avaliados em um modelo experimental de endotoxemia em ratos. Realizou-se a determinação dos níveis de interleucina 6 (IL-6) no plasma, sendo que os níveis da interleucina se apresentaram diminuídos pela administração do peptídeo via oral, sugerindo que o mesmo tenha apresentado um papel imunomodulador na redução do processo inflamatório dos animais.

Os caseinofosfopeptídeos também apresentaram atividade antioxidante primária e secundária em modelo que avaliou a degradação da desoxiribose. Os caseinofosfopeptídeos também protegeram os lipossomas de soja da oxidação gerada pela adição de íons ferro e de radicais livres, como a AAPH (2,2'-azobis-2-amidinopropano-dihidroclorida). Esses estudos iniciais sobre o papel antioxidante dos caseinofosfopeptídeos apontam efeitos benéficos da sua presença no intestino após o consumo de leite, contribuindo provavelmente para a redução do stress oxidativo e manutenção da saúde intestinal.

Por fim, algumas evidências epidemiológicas, clínicas e de experimentação animal apontam uma possível relação entre a suplementação de cálcio e a redução nos níveis de pressão arterial. O íon Ca^{2+} possui atividade na regulação do tônus da musculatura vascular. Estudos avaliaram o papel da ingestão de cálcio ou de fosfopeptídeos que melhoram a biodisponibilidade do mineral

no desenvolvimento da hipertensão.

Os estudos concluíram que o uso dessa suplementação não leva a uma redução significativa nos níveis arteriais de ratos espontaneamente hipertensos.

CONCLUSÃO

O teor e a biodisponibilidade do cálcio variam muito nos diversos alimentos, sendo que um grande número de fatores influencia no aproveitamento do elemento presente nas refeições. O leite de vaca e derivados constituem as fontes mais ricas e com maior percentual de absorção do mineral. Porém, alguns outros alimentos, quando ingeridos em quantidades adequadas, podem contribuir consideravelmente para o seu fornecimento, de forma aproveitável, aos indivíduos. Assim, o leite de outros animais (como cabras e ovelhas, por exemplo) e os queijos e iogurtes feitos a partir deste leite, podem ser usados em porções equivalentes às dos laticínios de origem bovina, como substitutos. Já o leite de soja enriquecido com cálcio se constituiria em uma alternativa interessante, desde que fossem adequados os volumes das porções à biodisponibilidade do elemento. Outros alimentos, como o feijão branco, o brócolis, a couve e os peixes pequenos inteiros, poderiam ser utilizados em associação com produtos de maior teor / biodisponibilidade para atingir-se as metas dietéticas adequadas de cálcio nos indivíduos que não querem ou não podem ingerir o leite de vaca.

Quanto aos caseinofosfopeptídeos, embora tenham sido descobertos a mais de 50 anos, ainda não estão completamente caracterizados em relação ao potencial para a indústria alimentícia e de produtos farmacêuticos. Algumas aplicações foram citadas e incluem a suplementação mineral, o efeito anticariogênico, a modulação do sistema imunológico e atividade antioxidante. São necessários estudos complementares que relacionem métodos de obtenção, distribuição dos peptídeos e atividade biológica. Há necessidade da realização de estudos com humanos, principalmente em relação à suplementação mineral e atividade imunomoduladora.

Do ponto de vista do agronegócio, o aprimoramento da metodologia de obtenção de caseinofosfopeptídeos, fisiologicamente ativos e isentos de toxicidade poderia contribuir para agregação de valor aos produtos lácteos e para a segurança alimentar.

SEU CAMINHO PARA MELHOR NUTRIÇÃO COM QUALI®-BLENDS



DSM Nutritional Products, o único fabricante de pré-misturas integrado verticalmente, pesquisa e desenvolve ingredientes nutricionais para atender às suas necessidades específicas. Através de oito plantas de misturas no mundo, produzimos fórmulas sob medida com os mais altos padrões de qualidade. Nós trazemos os **Benefícios de Saúde** que atendem às expectativas dos consumidores mais exigentes.

Quali®-Blends, nossa marca de pré-misturas, engloba os mais variados ingredientes desde vitaminas, minerais, carotenóides, ômega, nucleotídeos e aminoácidos até os mais recentes desenvolvimentos em ingredientes funcionais para ajudá-lo a coincidir com o perfil nutricional adequado para o posicionamento de seu produto. DSM ajuda você a chegar mais rápido ao mercado com soluções inovadoras que funcionam.