



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

A ALIMENTAÇÃO E O SISTEMA IMUNITÁRIO

Trabalho submetido por
Samuel Ribeiro Correia Ladeira de Figueiredo
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

fevereiro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

A ALIMENTAÇÃO E O SISTEMA IMUNITÁRIO

Trabalho submetido por
Samuel Ribeiro Correia Ladeira de Figueiredo
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Maria Guilhermina Martins Moutinho

e coorientado por
Prof. Doutora Paula Pereira

fevereiro de 2021

Dedicatória

Dedico esta monografia às minhas avós Isabel e Isaura, fontes de inspiração de vida, de carinho e de amor.

Queridas avós, tantos obstáculos que desviaram do meu caminho! Como eu gostaria que ainda estivessem cá, para me verem alcançar o fim de um ciclo muito importante, mas sei que estão aí em cima, felizes, a olhar por mim!

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, à minha irmã e Idalina, pelo seu apoio incondicional, nas diferentes etapas da minha vida, sempre presentes para mim em tudo, e neste percurso académico.

Aos meus pais, muito obrigado por toda a formação que me deram, pelo rumo que me traçaram, pela fortaleza e sabedoria que me transmitiram nos momentos difíceis e principalmente, pelo vosso amor e carinho.

À minha namorada, Isabel, por ter estado presente nas boas e más ocasiões, pelo seu apoio incansável, pela motivação que me transmitiu, estando constantemente ao meu lado e, sobretudo, por todo o auxílio que me prestou na realização e concretização deste curso. Obrigado por tudo!

Não posso deixar de agradecer à minha numerosa família, de tios e primos...e que primos... pois nunca me falharam e que constantemente, me incentivaram, acreditando em mim e apoiando-me em todos os sentidos.

Aos meus amigos de sempre, grandes companheiros deste meu percurso de vida, aos amigos que fiz na faculdade, por todo o apoio que me prestaram na realização deste curso e, que certamente, se transformaram em amigos para sempre.

À minha Orientadora, Prof. Doutora Maria Guilhermina Moutinho, pela sua disponibilidade, conhecimentos, ensinamentos, ajuda, dedicação, conselhos e, principalmente, por ter acreditado em mim e, nunca ter desistido deste seu aluno, incentivando-me a ultrapassar as fases complicadas com que me deparei, pelo que ficarei eternamente grato.

À minha co-Orientadora, Prof. Doutora Paula Pereira, pelo seu auxílio, disponibilidade, orientação, compreensão, paciência e conhecimentos partilhados que foram imprescindíveis para a realização da minha monografia, um bem-haja!

Por último, agradeço ao Instituto Universitário Egas Moniz, a todos os meus professores que me formaram e transformaram num profissional de saúde e, a todos os funcionários, que se disponibilizaram para me auxiliar em diversas situações do quotidiano.

Resumo

O sistema imunitário tem como função proteger o organismo contra agentes patogênicos e a sua resposta é influenciada por diversos fatores, como por exemplo a dieta alimentar. A carência de micronutrientes e macronutrientes pode reduzir a eficácia da ação deste sistema.

A classe dos carotenoides é umas das principais classes de micronutrientes presentes nos alimentos que podem influenciar a atividade do sistema imunitário. Destes, e dada a sua relevância, utilizou-se um conjunto de estudos que relacionam a influência do β -caroteno e licopeno com a atividade neste sistema.

De acordo com a pesquisa realizada, os resultados obtidos nos estudos utilizados nesta monografia, sugerem que o β -caroteno e o licopeno apresentam uma atividade antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena. Em virtude destas atividades, tudo indica que estes micronutrientes contribuem para aumentar a atividade do sistema imunitário.

Palavras-Chave: Sistema Imunitário, Carotenoides, β -caroteno, Licopeno

Abstract

The function of the immune system is to protect the body against pathogens, and its response is influenced by a number of factors, namely dietary choices. The lack of micro and macronutrients can reduce the efficiency of action of this system.

The class of carotenoids is one of the main classes of micronutrients present in food products that can influence the activity of the immune system. Of these, and given their relevance, a set of studies relating the influence of β -carotene and lycopene with the activity of the immune system was used.

After extensive research, the results obtained in the studies used for the writing of this monograph observe that β -carotene and lycopene possess a number of benign activities, namely antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer. In light of these activities, there is strong evidence that these micronutrients contribute for the increase of the activity of the immune system.

Keywords: Immune System, Carotenoids, β -carotene, Lycopene

Índice Geral

| | |
|--|----|
| Resumo | 1 |
| Abstract..... | 3 |
| Capítulo 1 – Introdução | 13 |
| Capítulo 2 – O Sistema Imunitário | 15 |
| 2.1. Imunidade Inata | 15 |
| 2.1.1. Células da Imunidade Inata | 16 |
| 2.1.1.1. Monócitos | 16 |
| 2.1.1.2. Macrófagos | 16 |
| 2.1.1.3. Neutrófilos | 16 |
| 2.1.1.4. Eosinófilos | 17 |
| 2.1.1.5. Mastócitos e Basófilos..... | 17 |
| 2.1.1.6. Células <i>Natural Killer</i> | 18 |
| 2.1.1.7. Células Dendríticas..... | 18 |
| 2.1.2. Complemento | 19 |
| 2.1.3. Citocinas | 20 |
| 2.2. Imunidade Adaptativa..... | 21 |
| 2.2.1. Linfócitos..... | 22 |
| 2.2.1.1. Linfócitos B | 22 |
| 2.2.1.2. Linfócitos T | 23 |
| Capítulo 3 – Carotenoides | 25 |
| 3.1. Fontes Alimentares | 27 |
| 3.2. Absorção e Transporte..... | 28 |
| 3.3. Biodisponibilidade..... | 30 |
| 3.4. Atividade Antioxidante..... | 32 |
| 3.5. Precursores de Vitamina A | 34 |

| | |
|---|----|
| Capítulo 4 – Carotenoides e Sistema Imunitário | 37 |
| 4.1. β -caroteno e sua Influência no Sistema Imunitário | 37 |
| 4.1.1. Carotenoides e Inflamação | 39 |
| 4.1.1.1. β -caroteno e Inflamação | 40 |
| 4.1.2. Carotenoides e Cancro..... | 41 |
| 4.1.2.1. β -caroteno e Cancro..... | 42 |
| 4.2. Licopeno e sua Influência no Sistema Imunitário | 43 |
| 4.2.1. Licopeno e Inflamação | 44 |
| 4.2.2. Licopeno e Cancro..... | 47 |
| Capítulo 5 – Conclusão..... | 49 |
| Referências Bibliográficas..... | 51 |

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1: Estrutura do anticorpo (Nicholson, 2016)..... | 23 |
| Figura 2: Estruturas químicas dos principais carotenoides presentes na circulação sanguínea (Abdel-Aal & Akhtar, 2006). | 26 |
| Figura 3: Reação de supressão do oxigénio singleto por ação do carotenoide: (a) reação de conversão de oxigénio singleto em oxigénio tripleto; (b) reação em que o carotenoide no estado tripleto retorna ao estado fundamental (Da et al., 2017). | 33 |
| Figura 4: Reações dos processos químicos de extinção dos radicais livres pelos carotenoides. Hx significa o átomo de hidrogénio abstraído e Cx significa o átomo de carbono ao qual o radical acrescenta para formar o aduto (Pérez-gálvez et al., 2020). . | 34 |
| Figura 5: Estrutura química do anel β -ionona (Uenojo, Maróstica, Gláucia, & Pastore, 2007)..... | 35 |

Índice de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Principais famílias de citocinas humanas (Xing & Wang, 2005)..... | 21 |
| Tabela 2: β -caroteno e licopeno presentes em alimentos comuns na dieta humana ($\mu\text{g}/100\text{g}$) (Westphal & Böhm, 2015). | 28 |

Lista de Abreviaturas

| | |
|---------|---|
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| AKT | Proteína quinase B |
| APC | Células apresentadoras de antígenos |
| AP-1 | Proteína ativadora 1 |
| BCR | Recetor das células B |
| CAF | Células de fibroblastos associadas ao cancro (do inglês: <i>Cancer associated fibroblasts</i>) |
| CAT | Catalase |
| COX-2 | Ciclooxigenase-2 |
| DC | Células dendríticas |
| FAP | Proteína α de ativação de fibroblastos (do inglês: <i>Fibroblast activation protein alfa</i>) |
| GPx | Glutathiona peroxidase |
| GSH | Glutathiona reduzida |
| HDL | Lipoproteína de alta densidade |
| HO-1 | Proteína heme oxigenase-1 |
| IAP | Proteína supressora de apoptose (do inglês: <i>Inhibitor of apoptosis</i>) |
| ICAM-1 | Molécula de adesão intercelular-1 (do inglês: <i>Inter cellular adhesion molecule 1</i>) |
| IFN | Interferões |
| IGF-I | Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (do inglês: <i>Insuline-like growth factor 1</i>) |
| IGF-IR | Recetor do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (do inglês: <i>Type 1 insulin-like growth factor receptor</i>) |
| IGFBP-3 | Proteína ligante do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 3 (do inglês: <i>Insulin-like growth factor-binding protein 3</i>) |
| IL | Interleucina |
| IRF-1 | Fator regulador de interferão-1 |
| LDL | Lipoproteína de baixa densidade |
| LFA-3 | Molécula antígeno associado à função linfocitária 3 (do inglês: <i>Leucocyte Functional Antigen type 3</i>) |
| LPS | Lipopolissacarídeo |
| MAPK | Proteína quinase ativada por mitogénio |
| MHC | Complexo major de histocompatibilidade |
| M1 | Macrófagos classicamente ativados |
| M2 | Macrófagos alternativamente ativados |
| NF-kB | Fator nuclear Kappa B |
| NK | Células Natural Killer |
| NO | Oxido nítrico |

| | |
|-----------------|---|
| NO ₂ | Nitrito |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PGE2 | Prostaglandina E2 |
| RNS | Espécies reativas de azoto |
| ROS | Espécies reativas de oxigénio |
| SOD | Superóxido dismutase |
| STAT-3 | Fator transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (do inglês: <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>) |
| STAT-1 α | Fator transdutor de sinal e ativador de transcrição 1 α (do inglês: <i>Signal transducer and activator of transcription 1α</i>) |
| TCR | Recetor das células T |
| TGF | Fatores de crescimento |
| Th | T helper |
| TNF | Fatores de necrose tumoral |
| VLDL | Lipoproteína de muita baixa densidade |
| α -SMA | Alfa actina de músculo liso (do inglês: <i>Alpha-smooth muscle actin</i>) |
| 7-KC | 7-Cetocolesterol |

Capítulo 1 – Introdução

O sistema imunitário é um conjunto de moléculas, células, tecidos e órgãos que tem como função proteger o organismo contra organismos patogênicos (bactérias, vírus, fungos e parasitas) (Cooper & Ma, 2017).

Existem vários fatores que afetam a integridade do sistema imunitário, como por exemplo a faixa etária, o sexo, a genética e a dieta alimentar. Segundo a literatura, a nutrição é um dos fatores que influencia mais a resposta do sistema imunitário, dado que a energia e os nutrientes que se obtêm através da alimentação exercem um papel importante no desenvolvimento e na manutenção da homeostase do sistema imunitário (Philip C. Calder & Kew, 2002; Cotter, Simpson, Raubenheimer, & Wilson, 2011; França *et al.*, 2009; López Plaza & Bermejo López, 2017; Wichers, 2009). Os tecidos, as células e as moléculas envolvidos no adequado funcionamento do sistema imunitário requerem uma energia estrutural e suficiente, baseada num equilíbrio entre macronutrientes e micronutrientes, obtida através dos alimentos (França *et al.*, 2009; López Plaza & Bermejo López, 2017; Maggini, Pierre, & Calder, 2018).

A classe dos carotenoides é uma das principais classes de micronutrientes presentes nos alimentos, nomeadamente em frutas e vegetais (Maiani *et al.*, 2009). Muitos estudos têm evidenciado que esta classe de micronutrientes, presente nos alimentos, pode potenciar um aumento da atividade do sistema imunitário (Sepp, Karu, Sild, Männiste, & Hõrak, 2011). A literatura também evidencia que estes estão associados a uma diminuição da incidência de patologias como a diabetes, doenças cardiovasculares e vários tipos de cancro (Rodriguez-Concepcion *et al.*, 2018; Saini, Nile, & Park, 2015).

O objetivo desta monografia consistiu numa revisão bibliográfica sobre a influência dos carotenoides no sistema imunitário. Devido à abrangência da relação da alimentação com o sistema imunitário, optou-se por reduzir a extensão do tema de monografia. Desta forma, abordou-se a classe dos carotenoides, em particular os carotenoides β -caroteno e licopeno, dado que são carotenoides particularmente relevantes a nível fisiológico para o organismo humano.

Para a realização desta revisão bibliográfica foi efetuada uma pesquisa através de um conjunto de bases de dados científicas, nomeadamente o PubMed, ScienceDirect e SpringerLink.

Capítulo 2 – O Sistema Imunitário

O sistema imunitário é o conjunto de órgãos, tecidos, células e proteínas que estabelecem proteção contra agentes patogénicos, como: bactérias, vírus, fungos e parasitas (Carr & Maggini, 2017). Além de assegurar a proteção ao hospedeiro, o sistema imunitário tem igualmente um papel importante na manutenção da homeostase (Sattler, 2017). Encontrando-se subdividido em sistema imunitário inato (imunidade inata) e o sistema imunitário adaptativo (imunidade específica ou adquirida), que se diferenciam pela rapidez e duração da resposta imunitária e pelas células que envolvem (Tomar & De, 2014).

2.1. Imunidade Inata

A imunidade inata é um “mecanismo” de defesa do organismo que se traduz numa reação que não é específica para os microrganismos, sendo, no entanto, de resposta rápida (Patel & Chatterjee, 2017; Riera Romo, Pérez-Martínez, & Castillo Ferrer, 2016).

A imunidade inata é constituída por barreiras mecânicas como a pele, as mucosas que estão associadas ao trato gastrointestinal, respiratório e urinário e por mediadores químicos de superfície, tais como as enzimas presentes na saliva e noutras secreções corporais, muco e secreções ácidas. A função destas barreiras consiste em impedir a entrada de agentes patogénicos (Khan & Khan, 2016; Marshall, Warrington, Watson, & Kim, 2018). No entanto, se os microrganismos conseguirem transpor as barreiras mencionadas anteriormente e penetrarem no hospedeiro, nomeadamente na circulação sanguínea ou nos tecidos, serão acionados outro mediador químico – o complemento e as células características deste tipo de imunidade, isto é, os neutrófilos, macrófagos, basófilos, eosinófilos, mastócitos, as células natural killer (NK) e as células dendríticas (DC) (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2015; Elliott, Siddique, & Weinstock, 2014). O acionamento destas células para o local da infeção é causado pela produção de citocinas (Marshall *et al.*, 2018).

2.1.1. Células da Imunidade Inata

2.1.1.1. Monócitos

Os monócitos são as células do sistema imunitário com maior dimensão, e correspondem a 10% do total das células do sistema imunitário (leucócitos) na circulação sanguínea (Koenderman, Buurman, & Daha, 2014; Sompayrac, 2019; Spiering, 2015; Wacleche, Tremblay, Routy, & Ancuta, 2018). São células apresentadoras de antígenos (APC) aos linfócitos T, participando assim, na fomentação da resposta do sistema imunitário adaptativo (Carrillo, Rodríguez, Coronado, García, & Cordero, 2017). Estas células neutralizam os agentes patogénicos por fagocitose e produzem citocinas pró-inflamatórias que possibilitam que estes se diferenciem em macrófagos e em células dendríticas quando se deslocam para os tecidos no decorrer de uma resposta inflamatória (Geissmann *et al.*, 2010; Wacleche *et al.*, 2018).

2.1.1.2. Macrófagos

Os macrófagos provêm dos monócitos e, podem apresentar na sua diferenciação, dois géneros de fenótipos, o M1 (macrófagos classicamente ativados) e o M2 (macrófagos alternativamente ativados) (Italiani & Boraschi, 2014; Martinez, Sica, Mantovani, & Locati, 2008). Estas células são encontradas em todos os tecidos conjuntivos e órgãos do organismo humano, persistindo nos tecidos por longos períodos de tempo (P. Calder & Kulkarni, 2017).

Estes libertam citocinas pró-inflamatórias, como a IL-12, IL-1, IL-6 e o interferão gama (IFN- γ), que permitem potenciar a ativação de outras células do sistema imunitário, para o local da inflamação. Estas células são APC e possuem ainda a capacidade de eliminar os microrganismos pelo processo de fagocitose sendo também eficazes na cicatrização de tecidos (Abbas *et al.*, 2015; P. Calder & Kulkarni, 2017; Castelo-Branco & Soveral, 2014; Spiering, 2015).

2.1.1.3. Neutrófilos

Os neutrófilos são as células do sistema imunitário que existem em maior concentração na circulação sanguínea, correspondendo entre 50%-70% de todas as

células (Liew & Kubes, 2019; Navegantes *et al.*, 2017). Estes são a primeira classe de células do sistema imunitário inato a responder às infecções, eliminando principalmente, os agentes patogênicos extracelulares através do processo de fagocitose. São, também, as primeiras células a integrar o início de uma resposta inflamatória (Rosales, Lowell, Schnoor, & Uribe-Querol, 2017).

Posteriormente à estimulação dos neutrófilos, estes produzem citocinas com o intuito de provocar quimiotaxia para outros neutrófilos e outras células do sistema imunitário, como: macrófagos, DC, células NK e células B e T (Selders, Fetz, Radic, & Bowlin, 2017).

2.1.1.4. Eosinófilos

Os eosinófilos correspondem entre 1% a 6% dos leucócitos presentes na circulação sanguínea. Estes têm uma função relevante na proteção do hospedeiro, visto que o protegem das infecções parasitárias, podendo neutralizar os agentes patogênicos através do processo de fagocitose, sendo também capazes de originar apoptose em células cancerígenas. Eles podem, igualmente, intervir no processo de cicatrização de tecidos e intercedem em respostas alérgicas, que por sua vez estão implicados em ações inflamatórias. Estas propriedades dos eosinófilos são fomentadas pela sua desgranulação através dos seus grânulos citoplasmáticos. Os grânulos contêm um elevado número de citocinas e proteínas catiónicas que são mediadores muito citotóxicos (Chaplin, 2010; Legrand, Woerly, Driss, & Capron, 2008; Long, Liao, Wang, & Lu, 2016; Travers & Rothenberg, 2015; Yang, Seoh, & Jang, 2017).

2.1.1.5. Mastócitos e Basófilos

Mastócitos e basófilos são células que possuem funções idênticas e processos de formação e maturação igualmente semelhantes (Kubo, 2018; Spiering, 2015).

Os mastócitos representam 6% do total dos leucócitos presentes na circulação sanguínea, apresentam um período de duração de vida de meses, e localizam-se em tecidos, como na pele e os tratos respiratório, trato gastrointestinal e urinário (Otsuka & Kabashima, 2015; Sarrafzadeh, Dehnavi, Banaem, Talebi, & Gharibi, 2017; Stone, Prussin, & Metcalfe, 2010).

Os basófilos representam menos de 1% do total dos leucócitos na circulação sanguínea, sendo, as células do sistema imunitário presentes em menor quantidade na circulação sanguínea (Cromheecke, Nguyen, & Huston, 2014; Spiering, 2015). Estes apresentam um período de duração de vida de alguns dias e, são identificados maioritariamente, na circulação sanguínea (Galli, Wedemeyer, & Tsai, 2002; Stone *et al.*, 2010).

Quando ativados, os mastócitos e basófilos procedem à sua desgranulação, libertando grânulos citoplasmáticos que contém histamina, citocinas, mediadores lipídicos e proteases. A libertação destes grânulos promove uma resposta imunitária que por sua vez, induz uma resposta inflamatória e, reações específicas de defesa do hospedeiro em relação a infeções parasitárias (Yamanishi & Karasuyama, 2016).

2.1.1.6. Células *Natural Killer*

Células NK são linfócitos que correspondem a cerca de 10% dos linfócitos presentes no sangue (Aktaş *et al.*, 2018). Estas divergem dos linfócitos T e B em algumas características, principalmente na ausência de recetores específicos para antígenos (Kennedy, 2010). Estas são células que integram o sistema imunitário inato, mas também cooperam em respostas do sistema imunitário adaptativo (Raulet, 2004).

Estas células desempenham como principal função a eliminação de agentes patogénicos, como vírus, bactérias, parasitas, fungos e até células cancerígenas (Lodoen & Lanier, 2006; Schmidt, Tramsen, & Lehrnbecher, 2017; Walzer, Dalod, Robbins, Zitvogel, & Vivier, 2005). Esta atividade é regulada pela produção de citocinas por parte das células NK, tais como: o IFN- γ , o TNF- α , algumas interleucinas e quimiocinas (Andoniou, Andrews, & Degli-Esposti, 2006).

2.1.1.7. Células Dendríticas

As DC são essencialmente células especializadas em apresentar antígenos a outras células, nomeadamente aos linfócitos T. Estas têm como função estabelecer uma ligação entre o sistema imunitário inato e o adaptativo e, são a classe de APC mais eficientes (Patente *et al.*, 2019).

Estas células encontram-se em diversos tecidos, como na pele, vários órgãos e em órgãos linfóides primários e secundários e, apresentam-se sob a forma de um estado

imaturu e maduro. As DC num estado imaturu detêm a capacidade de captar e processar antigénios, enquanto que num estado maduro, exercem a função de apresentar os antigénios a outras células (Castell-Rodríguez, Piñón-Zárate, Herrera-Enríquez, Jarquín-Yáñez, & Medina-Solares, 2017; Tanne & Bhardwaj, 2017).

2.1.2. Complemento

Para além das barreiras físicas e das células da imunidade inata, existe um outro elemento de proteção deste tipo de imunidade, conhecido por complemento. Este mecanismo de defesa também é capaz de interagir com o sistema imunitário adaptativo, e consiste num conjunto de proteínas solúveis que atuam no plasma, nos tecidos, na superfície das células e no interior das células. Este sistema pode ser ativado por três métodos diferentes (Merle, Noe, Halbwachs-Mecarelli, Fremeaux-Bacchi, & Roumenina, 2015; Varela & Tomlinson, 2015):

- via clássica, sendo principalmente estimulado pela ligação dos anticorpos aos antigénios dos agentes patogénicos (Varela & Tomlinson, 2015);
- via alternativa, sendo iniciado quando determinadas proteínas do complemento são acionadas nas paredes celulares dos microrganismos (Abbas *et al.*, 2015);
- ativação da lectina, sendo esta via ativada quando uma proteína específica, a de lectina de ligação à manose se liga à manose. A manose consiste numa molécula de hidratos de carbono identificada na superfície de muitos agentes patogénicos (Sompayrac, 2019).

Os três métodos de ativação do complemento variam no modo como são iniciados, mas partilham em comum as etapas finais, assegurando assim a mesma função (Varela & Tomlinson, 2015).

O sistema do complemento apresenta três funções essenciais para a proteção do organismo (Abbas *et al.*, 2015).

A primeira é a opsonização. As proteínas do complemento, (C3b), ligam-se aos agentes patogénico, permitindo a ligação destes às células do sistema imunitário que realizam fagocitose, devido aos recetores dos fragmentos C3b, que se manifestam nas células do sistema imunitário. Por conseguinte, os agentes patogénicos que são marcados com as proteínas de complemento são eliminados pelas células fagocitárias. Este procedimento de marcação de microrganismos com proteínas, para sua posterior

eliminação através do processo de fagocitose, é designado por opsonização (Abbas *et al.*, 2015).

A segunda função é a inflamação. Os fragmentos das proteínas C5a e C3 manifestam uma função quimiotractante para células do sistema imunitário, nomeadamente neutrófilos e monócitos, fomentando assim, o deslocamento destas células para o local em que o complemento foi ativado, traduzindo-se esta deslocação das células pelo efeito quimiotático numa resposta inflamatória (Abbas *et al.*, 2015).

Por fim, a terceira função do complemento é a lise celular. O acionamento do complemento origina a elaboração de um complexo proteico polimérico que se introduz na membrana celular dos microrganismos originando, assim, a lise destes (Abbas *et al.*, 2015).

2.1.3. Citocinas

As citocinas são proteínas solúveis produzidas por células que intervêm nas respostas do sistema imunitário, a fim de modificar a atividade das próprias células que as produzem ou a atividade de outras células. A ação destas interfere na ativação, divisão e apoptose celular (Abbas *et al.*, 2015; P. Calder & Kulkarni, 2017). Diferentes tipos de células podem produzir a mesma citocina, e uma citocina pode modificar a atividade de várias células, o que atribui às citocinas uma característica pleiotrópica (J. M. Zhang & An, 2007).

Existem várias classes de citocinas (Tabela 1) como: (i) as interleucinas (IL), que são produzidas por leucócitos e têm como função regular a proliferação, diferenciação e ativação celular no decorrer das respostas inflamatórias e imunitárias; (ii) as quimiocinas, que têm um efeito quimiotático, isto é, permitem ativar a deslocação de células do sistema imunitário para certos locais, nomeadamente para as áreas onde ocorre a infeção e a inflamação; (iii) os interferões (IFN), que têm como intuito inibir a replicação dos microrganismos (um exemplo onde se verifica uma grande libertação de interferões é na replicação de vírus); (iv) a família dos fatores de necrose tumoral (TNF) que regulam a proliferação celular, morte celular (apoptose) e a morfogénese e, ainda, (v) os fatores de crescimento (TGF) que modulam o crescimento e a diferenciação celular (Akdis *et al.*, 2011; P. Calder & Kulkarni, 2017; Riera Romo *et al.*, 2016; Vanamee & Faustman, 2018).

Tabela 1: Principais famílias de citocinas humanas (Xing & Wang, 2005).

| | |
|-----------------------------------|---|
| Interleucinas | IL-1/IL-1 α /IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18 |
| Quimiocinas | CC: MCP-1,2,3,4, RANTES, MIP-1s, MIP-3,4,5, CXC: IL-8, PF-4, NAP-2, GROs, ENA-78, IP-10, Mig IL-16 CX ₃ C |
| Interferões | IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IFN- Ω |
| Fatores de necrose tumoral | TNF- α , TNF- β , LT- β , FasL, CD27L, CD30L, CD40L, TRAIL, NGF, TRANCE, THANK, LIGHT, APRIL, TALL-1 |
| Fatores de crescimento | CTAP-3, FGFs, ECGF, EGF, IGFs, HGF, PAF, PDGFs, KGF, CTGF, GDF-15/MIC-1 |

2.2. Imunidade Adaptativa

O sistema imunitário adaptativo é extremamente relevante para a proteção do hospedeiro quando os microrganismos conseguem transpor as barreiras da imunidade inata e assim, resistir às células do sistema imunitário inato (Labrecque & Cermakian, 2015).

A imunidade adaptativa apresenta uma ação mais tardia e específica (Labrecque & Cermakian, 2015). Esta resposta específica deve-se à intervenção das células características deste tipo de imunidade, os linfócitos B e os linfócitos T, que apresentam recetores muito específicos para os antígenos, particularmente o recetor das células B (BCR) e o das células T (TCR) (Netea, Schlitzer, Placek, Joosten, & Schultze, 2019). A memória imunológica destas células, permite que identifiquem antígenos que já foram expostos noutras respostas anteriores, possibilitando uma próxima resposta mais rápida e eficaz (Sun, Ugolini, & Vivier, 2014).

Este sistema está dividido em dois subtipos. Subdivide-se no sistema imunitário mediado por células, onde intervém os linfócitos T, na proteção contra microrganismos intracelulares e, no sistema imunitário humoral, mediado pelos linfócitos B, que potenciam a proteção contra microrganismos extracelulares (Kennedy, 2010).

2.2.1. Linfócitos

Os linfócitos são células que intervêm no sistema imunitário adaptativo e que se caracterizam por serem exclusivamente células que detêm a possibilidade de identificar antígenos específicos. Existem duas classes principais de linfócitos, os linfócitos B e linfócitos T (Bonilla & Oettgen, 2010).

Estes permanecem principalmente nos órgãos linfóides que se dividem em: órgãos linfóides primários ou centrais (medula óssea e timo), local onde os linfócitos se formam e se desenvolvem até se encontrarem aptos para intervir contra os microrganismos e, em órgãos linfóides secundários ou periféricos (exemplo: baço, os gânglios linfáticos e os tecidos linfóides da mucosa), que se caracterizam por ser o local onde se encontram os linfócitos que estão no estado maduro, isto é, que estão aptos para serem ativados e intercederem contra os microrganismos (Parham, 2015; Yatim & Lakkis, 2015).

2.2.1.1. Linfócitos B

No período de formação dos linfócitos B, estes apresentam como função a criação de um anticorpo apenas para um único antígeno específico. Deste modo, os linfócitos B originam anticorpos de diferentes classes, sendo a gênese de anticorpos a principal função destas células (Parham, 2015). Os linfócitos B que não estabeleceram ligação aos respetivos antígenos, denominam-se linfócitos B virgens ou *naïves* e detêm a possibilidade de serem acionados pelos antígenos (Sompayrac, 2019; Wang, Bolger-Munro, & Gold, 2018).

Os anticorpos, imunoglobulinas livres, são proteínas produzidas pelos plasmócitos. A estrutura do anticorpo é constituída por duas cadeias leves e por duas cadeias pesadas, tendo a molécula do anticorpo uma forma em “Y” (Figura 1) (Moser & Leo, 2010). Os dois géneros de cadeia são constituídos por zonas constantes e variáveis. A zona constante intervém nas características funcionais do anticorpo e a zona variável corresponde ao sítio de ligação do anticorpo ao antígeno (parátipo) (Liu *et al.*, 2019; Valenzuela & Schaub, 2018). As imunoglobulinas dividem-se em cinco classes, ou cinco isótopos, IgG, IgM, IgD, IgA, e IgE e estas divergem entre si nas estruturas das cadeias pesadas (Nicholson, 2016).

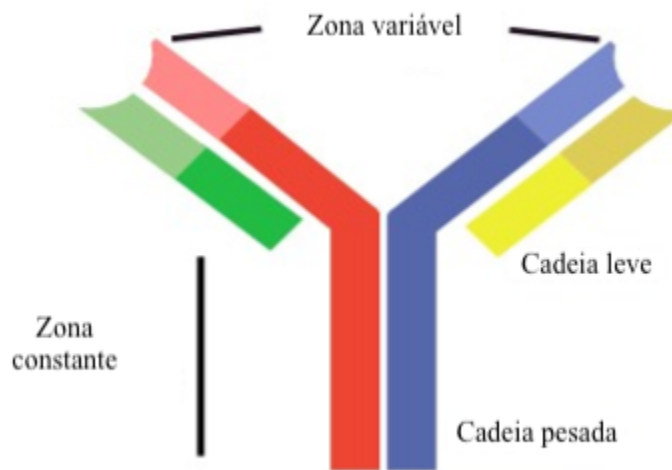


Figura 1: Estrutura do anticorpo (Nicholson, 2016).

2.2.1.2. Linfócitos T

As células T ou linfócitos T são produzidas na medula óssea, tal como os linfócitos B, mas o amadurecimento dos linfócitos T ocorre no timo (Tomar & De, 2014).

Os TCR reconhecem somente fragmentos de peptídeos de antígenios quando apresentados pelas moléculas do complexo major de histocompatibilidade (MHC) que são moléculas especializadas em apresentar peptídeos.

O MHC está ligado à superfície das APC e divide-se em três classes, MHC I, MHC II e MHC III (Khan & Khan, 2016; Sanchez-Trincado, Gomez-Perosanz, & Reche, 2017; Tomar & De, 2014).

Os linfócitos T, agrupam-se em dois géneros: linfócitos T citotóxicos ou linfócitos T CD8⁺ e, linfócitos T auxiliar, T Helper ou linfócitos T CD4⁺. As CD4 e CD8 são glicoproteínas que estão presentes na superfície dos linfócitos T, e apresentam como função auxiliar estes linfócitos na identificação dos antígenios péptidos e das moléculas MHC (Abbas *et al.*, 2015; Chaplin, 2010).

Os linfócitos T citotóxicos detêm como função eliminar agentes patogénicos, como bactérias, fungos, parasitas, vírus e células cancerígenas (Mody & Oykhman, 2010). A apresentação de antígenios a estes linfócitos é efetuada pelo MHC de classe I (Wieczorek *et al.*, 2017). Estes linfócitos, ao serem ativados, libertam mediadores citotóxicos, que incluem perforina e granzima, e vão provocar apoptose nas células alvo (Ito & Seishima, 2010). Além da libertação destes mediadores, estes linfócitos também produzem citocinas como o IFN- γ e o TNF- α , que são eficazes na eliminação de células cancerígenas e nas infeções virais (Cano & Lopera, 2013).

Os linfócitos T helper (Th), possuem esta designação, por não eliminarem de um modo direto os agentes patogénicos, ativando antes, outras células do sistema imunitário através da produção de citocinas, com o intuito de eliminar os agentes patogénicos (Nicholson, 2016; Spiering, 2015). A apresentação de antígenos aos linfócitos Th é feita através das moléculas MHC de classe II (Wieczorek *et al.*, 2017). Estes linfócitos podem-se subdividir em quatro géneros, em Th1, Th2, Th17 e em linfócitos T reguladores (Kennedy, 2010).

Os linfócitos Th1 produzem o IFN- γ e o TNF- β e são responsáveis pela proteção em relação aos agentes patogénicos intracelulares, bactérias e vírus. Os linfócitos Th2, libertam interleucinas como IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, potenciando o aumento de produção da imunoglobulina IgE e a eliminação de parasitas por parte dos eosinófilos. Os Th17 apresentam como função a eliminação de agentes patogénicos extracelulares, bactérias e fungos, pela produção de citocinas IL-6, IL-17a, IL-17f, e IL-22. Os linfócitos T reguladores moderam as respostas imunológicas e, têm uma função essencial na tolerância imunológica. Estas células impossibilitam as células do sistema imunitário de combaterem as células saudáveis do hospedeiro impedindo, assim, a progressão de doenças autoimunes (Bedoya, Lam, Lau, & Larkin, 2013; P. Calder & Kulkarni, 2017; Kaiko, Horvat, Beagley, & Hansbro, 2008; Marshall *et al.*, 2018; Moser & Leo, 2010; Rich *et al.*, 2019; Spiering, 2015).

Capítulo 3 – Carotenoides

Os carotenoides são um conjunto de pigmentos que se encontram dispersos no meio ambiente e que estão presentes em microrganismos, plantas e animais (Harrison & Curley, 2016; Maoka, 2020). Estes são produzidos por organismos fotossintéticos, por algumas bactérias não fotossintéticas e por fungos (Woodside, McGrath, Lyner, & McKinley, 2015).

Os carotenoides nos organismos fotossintéticos desempenham uma função essencial para o funcionamento correto do processo da fotossíntese, pois, apresentam-se como pigmentos auxiliares neste processo, sendo capazes de proteger os organismos fotossintéticos do excesso de luz solar (Jaswir, Noviendri, Hasrini, & Octavianti, 2011; Khoo, Prasad, Kong, Jiang, & Ismail, 2011).

A nível químico, estes caracterizam-se na sua estrutura molecular como terpenóides, contendo quarenta átomos de carbono, o que corresponde a oito unidades de isopreno (Tan & Norhaizan, 2019). Podem ser acíclicos ou cíclicos (apresentam um anel com seis átomos de carbono numa das extremidades da molécula ou em ambas as extremidades). A sua estrutura apresenta-se intercalada entre ligações duplas e simples, sendo que as ligações duplas são de uma extrema importância, uma vez que estas ligações detêm a capacidade de moldar a forma e o comprimento das moléculas dos carotenoides (Amaya, Rodriguez, 2016; Boon, McClements, Weiss, & Decker, 2010). Além desta função, é nas ligações duplas que está localizado o cromóforo, que corresponde à parte ou às partes das moléculas dos carotenoides que são responsáveis pela absorção de luz visível, atribuindo, assim, cor a estes compostos (Amaya, Rodriguez, 2016).

Estes podem apresentar como cor, tons de vermelho, laranja, amarelo e lilás, mediante da absorção de luz no espectro de luz visível, sendo esta absorção em comprimentos de onda de 400 a 500 nm, o que corresponde a uma absorção de luz visível na zona de cor azul – verde, refletindo, assim, as cores mencionadas anteriormente (vermelho, laranja, amarelo e lilás) (Harrison & Curley, 2016; Tan & Norhaizan, 2019).

As estruturas moleculares dos carotenoides podem ser alteradas devido a vários processos químicos, tais como: substituição, ciclização, adição e eliminação de grupos funcionais (Berman *et al.*, 2015; Green & Fascetti, 2016). Assim sendo, existem carotenoides que apresentam na sua estrutura 45 ou 50 átomos de carbono, designando-

se por carotenoides superiores, ou carotenoides que apresentam menos de 40 átomos de carbono denominam-se por apocarotenoides (Maoka, 2020).

No meio ambiente existem mais de 700 carotenoides, mas apenas 50 estão presentes em alimentos que integram a dieta humana e, somente, 20 se encontram presentes no sangue e em tecidos humanos. Por fim, apenas 6 se encontram numa percentagem muito significativa na circulação sanguínea, sendo estes o licopeno, α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina e luteína, que correspondem a cerca de 90% do total de carotenoides presentes no sangue (Maoka, 2020; Marhuenda-Muñoz, Hurtado-Barroso, Tresserra-Rimbau, & Lamuela-Raventós, 2019; Tan & Norhaizan, 2019).

Na Figura 2, está representada as estruturas químicas dos carotenoides que se encontram em maior percentagem na circulação sanguínea.

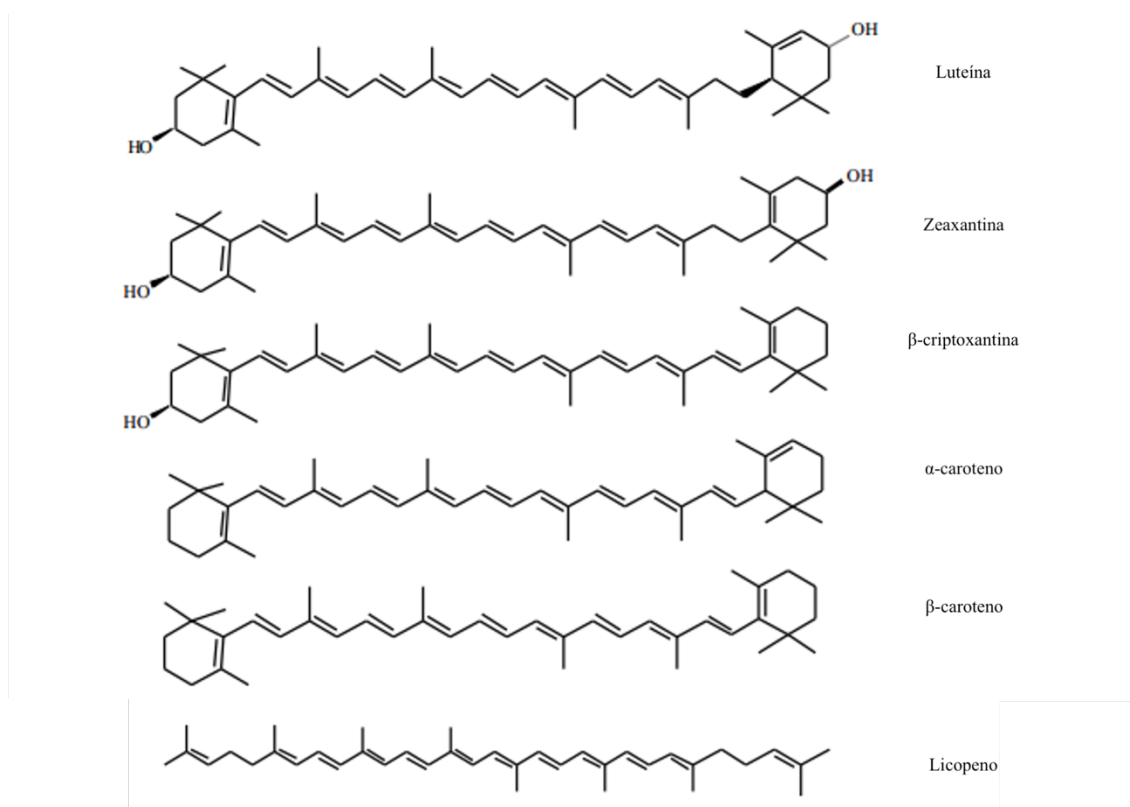


Figura 2: Estruturas químicas dos principais carotenoides presentes na circulação sanguínea (Abdel-Aal & Akhtar, 2006).

Os carotenoides classificam-se em carotenos, se na sua estrutura química contiverem apenas átomos de carbono e de hidrogénio, como por exemplo o α -caroteno, β -caroteno e o licopeno. Classificam-se ainda, em xantofilas, se na sua estrutura

contiverem hidrocarbonetos e átomos de oxigénio, como por exemplo a luteína e a zeaxantina (Milani, Basirnejad, Shahbazi, & Bolhassani, 2017; Tan & Norhaizan, 2019).

De entre os vários carotenoides, alguns detêm a capacidade de se converter em Vitamina A no organismo humano, o que lhes confere uma outra classificação, isto é, podem afirmar-se como precursores de Vitamina A (β -caroteno, α -caroteno e β -criptoxantina), ou como não precursores de Vitamina A (luteína, licopeno e zeaxantina) (Amorim-Carrilho, Cepeda, Fente, & Regal, 2014; Milani *et al.*, 2017; Toti, Chen, Palmery, Valencia, & Peluso, 2018).

3.1. Fontes Alimentares

Como referido anteriormente na introdução desta revisão bibliográfica, a classe de micronutrientes dos carotenoides está presente particularmente em frutas e vegetais (Woodside *et al.*, 2015).

O β -caroteno é o carotenoide que se encontra presente num maior número de alimentos comparativamente aos outros carotenoides (Elvira-Torales, García-Alonso, & Periago-Castón, 2019). A cenoura é o alimento que contém a maior concentração de β -caroteno (Khoo *et al.*, 2011).

O licopeno é um carotenoide que apresenta essencialmente a coloração vermelha, os alimentos que contem uma maior concentração deste são o tomate e a melancia (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Khoo *et al.*, 2011).

Na Tabela 2 encontram-se representadas as concentrações, em média, dos carotenoides β -caroteno e licopeno em frutas e legumes comuns na dieta humana.

Tabela 2: β -caroteno e licopeno presentes em alimentos comuns na dieta humana ($\mu\text{g}/100\text{g}$) (Westphal & Böhm, 2015).

| Alimentos | β -Caroteno | Licopeno |
|--------------|-------------------|--------------|
| Laranja | 71-476 | - |
| Maçã | 27 | - |
| Banana | 26-131 | 247 |
| Pêssego | 162 | - |
| Uva | 39 | - |
| Morango | 7 | - |
| Framboesa | 12 | - |
| Melancia | 303-777 | 4,532-13,523 |
| Manga | 109-1,201 | 3-724 |
| Pera | 14 | - |
| Ameixa | 190 | - |
| Ananás | 35-347 | 265-605 |
| Papaia | 81-664 | 7,564 |
| Abacate | 48-81 | - |
| Cenoura | 4,350-8,840 | - |
| Brócolo | 291-1,750 | - |
| Couve | 1,020-7,380 | - |
| Alho francês | 1,000-3,190 | - |
| Pepino | 45-270 | - |
| Salsa | 4,440-5,054 | - |
| Espinafre | 3,100-5,626 | - |
| Abóbora | 490-3,100 | 500 |
| Batata | 1 | - |
| Tomate | 320-1,500 | 850-12,700 |

3.2. Absorção e Transporte

O processo de absorção de carotenoides no organismo humano caracteriza-se pela deslocação dos mesmos, ou dos seus metabolitos desde a boca até à circulação linfática ou portal (Kiokias, Proestos, & Varzakas, 2016).

A primeira fase do processo da absorção começa na boca com a desintegração dos alimentos, através da ação dos dentes – mastigação, e com a intervenção de enzimas salivares (nomeadamente a amilase salivar), o que potencia, assim, a dissociação dos

carotenoides da matriz alimentar (Britton, Jensen, Liaaen, & Pfander, 2009; Peyrot des Gachons & Breslin, 2016; Shilpa, Shwetha, Raju, & Lakshminarayana, 2020). Posteriormente, no estômago, pela intervenção das enzimas digestivas, como por exemplo, a pepsina, amilase, lipase gástrica e, ainda, pelo valor baixo do pH do ácido clorídrico presente também no estômago ocorre, novamente e de uma forma mais completa a libertação dos carotenoides da matriz alimentar (Cervantes-Paz, Victoria-Campos, & Ornelas-Paz, 2016; Westphal & Böhm, 2015).

As moléculas dos carotenoides são hidrofóbicas, ou seja, não se dissolvem em meios aquosos, logo existe uma tendência destas se juntarem a moléculas lipídicas (Britton, Jensen, Liaaen, & Pfander, 2008). Deste modo, pode-se considerar que os carotenoides são compostos lipossolúveis. Assim, após a dissociação da matriz alimentar no estômago, as moléculas de carotenoides são integradas em glóbulos lipídicos, que após entrarem em contacto com a junção do conteúdo gástrico começam a integrar emulsões lipídicas/micelas mistas (Britton *et al.*, 2009; Yeum & Russell, 2002).

As micelas são compostas por ácidos gordos, ácidos biliares, fosfolípidos e monoglicerídeos e são originadas pelas forças da mistura e cisalhamento derivado da movimentação do trato digestivo (Perera & Yen, 2007).

Posteriormente a este processo, estes deslocam-se para o intestino delgado, onde vai ocorrer a sua absorção na mucosa do intestino, nomeadamente nos enterócitos, células epiteliais do intestino por meio do processo de difusão passiva (Priyadarshani, 2017). De seguida, os carotenoides são incluídos em quilomícrons (partículas de lipoproteínas) e deslocam-se para o sistema linfático que os conduz para o fígado. Neste órgão, certos carotenoides são capazes de se depositar, enquanto que outros, estabelecem ligação às lipoproteínas que, conseqüentemente os transportam para diversos órgãos e tecidos através da circulação sanguínea. As lipoproteínas que são responsáveis por este transporte são as de muita baixa densidade (VLDL), as de baixa densidade (LDL) e as de alta densidade (HDL). Os carotenoides associam-se a lipoproteínas diferentes dependendo da sua classe, isto é, os compostos da classe dos carotenos ligam-se na sua maioria às lipoproteínas HDL e os da classe das xantofilas integram as lipoproteínas LDL, contudo não existe uma especificidade na associação dos carotenoides às lipoproteínas (Britton *et al.*, 2008; Kopsell & Kopsell, 2010; Perera & Yen, 2007; Rao & Rao, 2007; Rodriguez-Concepcion *et al.*, 2018).

Os carotenoides estão presentes em diversos órgãos, tais como o pulmão, a pele, a próstata, os testículos, o cérebro, os ovários e o fígado, sendo neste último e, no tecido adiposo, que se encontram em maior concentração no organismo humano (Kiokias *et al.*, 2016; Maoka, 2020).

3.3. Biodisponibilidade

A biodisponibilidade de carotenoides é caracterizada pela quantidade destes compostos que após serem absorvidos no organismo, se encontram disponíveis tanto para a realização das funções fisiológicas, como para o metabolismo ou até para a deposição nos vários órgãos e tecidos (Britton *et al.*, 2009; Rodriguez-Concepcion *et al.*, 2018).

Diversos fatores influenciam a biodisponibilidade dos carotenoides, como por exemplo, a ligação molecular. Ou seja, as ligações duplas presentes nas moléculas dos carotenoides são mais suscetíveis de sofrer reações oxidativas, quando comparadas com as ligações simples. Consequentemente, podem originar uma degradação na própria molécula do carotenoide, o que origina uma redução de conteúdo do carotenoide na matriz alimentar, implicando uma menor biodisponibilidade (Fraser & Bramley, 2004; Toti *et al.*, 2018).

Outro fator é a porção de carotenoides que é consumida através da matriz alimentar. Isto é, numa amostragem até 20 a 30 mg de carotenoides presentes na matriz, o valor de biodisponibilidade é o mesmo, por outro lado numa amostragem superior aos valores mencionados anteriormente verifica-se uma diminuição da biodisponibilidade, podendo esta derivar de uma saturação das micelas mistas e dos quilomicrons em solubilizar os carotenoides (Desmarchelier & Borel, 2017).

A ingestão em simultâneo de lípidos com alimentos que contenham carotenoides é outro dos fatores que potencia uma maior integração dos carotenoides nas micelas, traduzindo-se isto numa maior absorção no intestino o que, consequentemente, promove um aumento da biodisponibilidade. Verificou-se que para ocorrer uma boa absorção de carotenoides, deve ser consumida uma fração de lípidos de cerca de três a cinco gramas. (Namitha & Negi, 2010; Westphal & Böhm, 2015).

As características da matriz alimentar em que o carotenoide se encontra inserido também se pode considerar um fator. A maioria dos compostos carotenoides encontram-se presentes em alimentos como os vegetais, mais especificamente nos cloroplastos e

cromoplastos e nas frutas. A constituição da parede celular presente nestas duas classes de alimentos difere, na medida em que nas frutas é mais frágil em relação à dos vegetais, logo a biodisponibilidade das frutas é superior à dos vegetais, dado que é mais fácil ocorrer uma libertação dos carotenoides da matriz alimentar nas frutas (Desmarchelier & Borel, 2017; Schönfeldt, Pretorius, & Hall, 2015; Shilpa *et al.*, 2020).

Outro fator é o processamento térmico da matriz alimentar. Este processamento potencia uma maior biodisponibilidade em relação a um alimento no seu estado natural, pois este aquecimento, bem como a movimentação associada a este processo térmico permite a dissociação das membranas celulares e das paredes celulares dos alimentos, permitindo que ocorra assim uma maior libertação dos carotenoides das matrizes. Este processamento térmico não deve exceder os 100 °C, dado que a uma temperatura extremamente elevada é capaz de fomentar uma reação de oxidação/degradação e conseqüentemente, uma diminuição da biodisponibilidade (Amaya, Rodriguez, 2016; Boon *et al.*, 2010; Perera & Yen, 2007; Priyadarshani, 2017; Westphal & Böhm, 2015).

A biodisponibilidade depende ainda de outros fatores, como por exemplo: a interação entre diferentes carotenoides. Alguns estudos têm realçado uma biodisponibilidade inferior quando comparado o consumo de dois ou mais carotenoides em simultâneo, em relação ao consumo de apenas um (Kopec & Failla, 2018; Kopsell & Kopsell, 2010).

O estado nutricional do hospedeiro é outro fator a ter em conta, particularmente ao nível da vitamina A, relacionando-se diretamente com os carotenoides precursores desta vitamina. Ou seja, se o hospedeiro possuir um nível inferior da vitamina A em relação ao valor padrão, terá uma maior biodisponibilidade em caso de consumo de alimentos que contenham carotenoides precursores de vitamina A (DS & K, 2012).

Também a faixa etária constitui um fator relevante, pois certos estudos realizados numa população com faixas etárias diferentes, demonstraram que a administração de alguns carotenoides resulta numa menor absorção destes compostos e, por conseguinte, numa menor biodisponibilidade numa população mais idosa. Segundo a literatura, considera-se que a razão deste comportamento é o envelhecimento do trato gastrointestinal, o que dificulta a absorção na população mais idosa (Desmarchelier & Borel, 2017).

O sexo do hospedeiro é também outro fator, visto que em alguns estudos, o sexo feminino potencia uma maior biodisponibilidade para determinados carotenoides (DS & K, 2012; Tan & Norhaizan, 2019).

Por fim, os fatores genéticos são também influenciadores da biodisponibilidade (DS & K, 2012; Tan & Norhaizan, 2019).

3.4. Atividade Antioxidante

Os seres humanos geram frequentemente radicais livres derivados dos processos metabólicos e de fatores externos (poluição ambiental e radiação) (Kawamura & Muraoka, 2018; Satyanarayana, Viswa Prasad, Kumar, & Naidu, 2014). Está estabelecido que um radical livre é um átomo ou uma molécula que inclui um ou vários elétrons não emparelhados (Halliwell, 1994; Kawamura & Muraoka, 2018). Estes elétrons não emparelhados originam no radical, uma elevada instabilidade e, conseqüentemente, uma elevada reatividade permitindo, assim, que estes radicais recebam ou forneçam elétrons a outras moléculas para obter uma situação mais estável (Betteridge, 2000; Satyanarayana *et al.*, 2014). A maioria dos radicais são provenientes do átomo oxigénio (espécies reativas de oxigénio, ROS) e do átomo azoto (espécies reativas de azoto, RNS) (Jomova & Valko, 2013).

Os radicais livres, nomeadamente os ROS e RNS, podem ser benéficos, bem como prejudiciais para o organismo humano (Jomova & Valko, 2013). Quando estes apresentam baixa concentração são benéficos e intervêm em diversos processos fisiológicos, como por exemplo, no sistema imunitário, em algumas vias de sinalização celular e na regularização de reações redox (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy, 2015). Quando estes apresentam numa alta concentração, os ROS e RNS podem degenerar membranas celulares, algumas moléculas, como proteínas, lípidos e ADN o que, conseqüentemente, pode originar a manifestação de certas patologias crónicas tais como: diabetes *mellitus* tipo 2, cancro, doenças cardiovasculares, diferentes géneros de inflamação, doenças neurodegenerativas, artrite reumatoide e doenças pulmonares (Cicero & Colletti, 2017; Fiedor & Burda, 2014a; Imam, Zhang, Ma, Wang, & Wang, 2017; Meléndez-Martínez, 2019; Phaniendra *et al.*, 2015; Prakash & Gupta, 2014).

O organismo humano detém processos para controlar ou reverter o excesso de concentração de radicais livres (Imam *et al.*, 2017). Nas células estão presentes moléculas

antioxidantes, capazes de extinguir e reduzir a quantidade de radicais livres (Ali, Ahsan, Zia, Siddiqui, & Khan, 2020). Os compostos antioxidantes subdividem-se em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos são constituídos por enzimas antioxidantes, como por exemplo, a catalase, glutathione peroxidase, superóxido dismutase, etc. Os antioxidantes não enzimáticos, são constituídos por antioxidantes que derivam dos processos metabólicos do próprio organismo, tais como: tiol; melatonina; proteínas quelantes metálicas; etc. E por antioxidantes que são obtidos do exterior, através de alimentos ou de suplementos alimentares, como é o caso dos carotenoides, a vitamina C, vitamina E, oligoelementos e polifenóis (Amir Aslani & Ghobadi, 2016). Este complemento de moléculas antioxidantes proveniente do exterior é fundamental para uma ação eficiente destas moléculas sempre que ocorrer um stress oxidativo e nitrosativo. (excesso de ROS e RNS no organismo) (Kurutas, 2016).

Os carotenoides são capazes de suprimir diferentes radicais livres, especialmente o radical oxigénio singlete (1O_2) (Fiedor & Burda, 2014). A atividade de neutralização realizada pelos carotenoides é executada por um processo físico e três químicos (Da, Mesquita, Teixeira, & Servulo, 2017). O processo físico, é o processo pelo qual os carotenoides extinguem o radical oxigénio singlete. Este processo caracteriza-se por uma transferência de energia. O oxigénio singlete transfere a energia de excitação para a molécula de carotenoide, originando uma molécula carotenoide no estado excitado (estado tripleto) e um oxigénio tripleto. Após a formação do composto carotenoide no estado excitado, este restitui ao seu estado fundamental através da libertação de energia sob a forma de calor (Figura 3) (Prakash & Gupta, 2014).

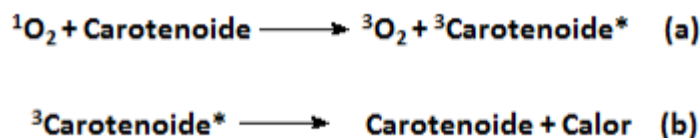


Figura 3: Reação de supressão do oxigénio singlete por ação do carotenoide: (a) reação de conversão de oxigénio singlete em oxigénio tripleto; (b) reação em que o carotenoide no estado tripleto retorna ao estado fundamental (Da et al., 2017).

Dos três processos químicos, um define-se pela doação de eletrões, na qual as moléculas de carotenoides transferem um eletrão da sua molécula para o radical livre, de modo a emparelhar o eletrão do radical que se encontra desemparelhado, de forma a

implementar estabilidade no radical. O segundo processo consiste na transferência de um átomo de hidrogénio das estruturas moleculares dos carotenoides, de modo a emparelhar o único eletrão presente no átomo de hidrogénio com o do radical livre. Por fim, o último processo é através da adição de um outro radical livre às moléculas dos carotenoides, de forma a criar-se um radical intermédio (aduto) que vai permitir que o eletrão desemparelhado deste radical intermédio se emparelhe com o eletrão do radical livre (Figura 4) (Pérez-gálvez, Viera, & Roca, 2020).

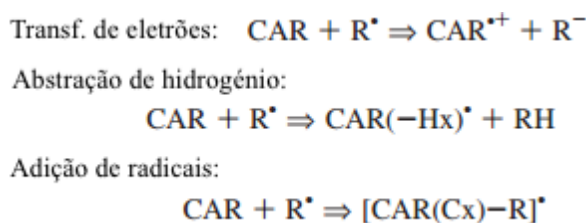


Figura 4: Reações dos processos químicos de extinção dos radicais livres pelos carotenoides. Hx significa o átomo de hidrogénio abstraído e Cx significa o átomo de carbono ao qual o radical acrescenta para formar o aduto (Pérez-gálvez et al., 2020).

A eficiência dos compostos carotenoides como moléculas antioxidantes está dependente de alguns fatores como, o comprimento das moléculas dos carotenoides, as propriedades químicas destas moléculas e o número de ligações duplas presentes nestas moléculas (Krinsky, Mayne, & Sies, 2004). Dos carotenoides com maior presença no organismo humano, destacam-se o licopeno e o B-caroteno com maior atividade antioxidante, sendo a atividade antioxidante do licopeno superior à do β-caroteno devido ao facto de o licopeno apresentar na sua estrutura molecular um número superior de ligações duplas em relação à estrutura do β-caroteno (Amir Aslani & Ghobadi, 2016; Prakash & Gupta, 2014).

3.5. Precursores de Vitamina A

De entre as diversas vitaminas, a vitamina A é a mais interveniente nos diferentes processos fisiológicos do organismo humano (Meléndez-Martínez, 2019). A sua ação é evidente no sistema imunitário, na visão, na diferenciação celular, na proliferação celular e na apoptose, no desenvolvimento, no crescimento embrionário e na manutenção de tecido epitelial (Álvarez, Vaz, Gronemeyer, & De Lera, 2014). A vitamina A apresenta-se sob três formas no organismo humano: retinal, retinol e ácido retinóico (Cañete, Cano,

Muñoz-Chápuli, & Carmona, 2017). Dado que o organismo humano não é capaz de sintetizar, esta vitamina é obtida através de suplementos ou alimentos como os laticínios, os vegetais, determinados peixes e em alimentos de origem animal (Cañete *et al.*, 2017; Eggersdorfer & Wyss, 2018; Tanumihardjo *et al.*, 2016).

Atualmente, existe uma elevada deficiência de vitamina A em crianças, particularmente nos países subdesenvolvidos (Wirth *et al.*, 2017). Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde) a deficiência de vitamina A afeta cerca de 19 milhões de mulheres grávidas e 190 milhões de crianças em idade pré-escolar (WHO, 2011). Esta deficiência pode originar xeroftalmia, que resulta por diversas situações em cegueira, potencia a redução da eficiência do sistema imunitário, amplifica o risco de mortalidade por patologias infecciosas, nomeadamente do trato pulmonar e gastrointestinal e pode, por fim, originar anemia (Cervantes-Paz *et al.*, 2016; Oliveira, Teixeira, & Sato, 2018). Dado este contexto, a OMS aconselha a suplementação de vitamina A para bebés e crianças dos 6 a 59 meses em países subdesenvolvidos (WHO, 2011).

Como descrito no Capítulo 3 – Carotenoides, alguns carotenoides possuem a capacidade de se converter em Vitamina A no organismo humano, sendo estes precursores de vitamina A. Cerca de 30% a 85% de vitamina A obtida na alimentação diária é através de alimentos que contenham carotenoides (Cervantes-Paz *et al.*, 2016). Somente os carotenoides que possuam na sua estrutura pelo menos um anel β -ionona (Figura 5) e pelo menos 11 átomos de carbono detêm a possibilidade de ser precursores de vitamina A (Amengual, 2019; Eroglu & Harrison, 2013).

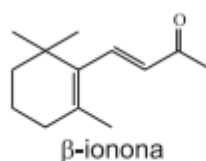


Figura 5: Estrutura química do anel β -ionona (Uenojo, Maróstica, Gláucia, & Pastore, 2007).

O β -caroteno comparado com outros carotenoides precursores de vitamina A é o que apresenta maior atividade em relação a esta vitamina, dado que este é o único carotenoide que apresenta uma molécula capaz de originar duas moléculas de retinol (vitamina A), enquanto que os outros carotenoides precursores de vitamina A, apenas são capazes de originar uma molécula de retinol (Bendich, 2004; Donhowe & Kong, 2014).

Capítulo 4 – Carotenoides e Sistema Imunitário

A carência de certos micronutrientes por déficit de ingestão pode reduzir a eficácia da ação do sistema imunitário na defesa contra de agentes patogénicos (Philip C. Calder & Kew, 2002).

Diversos estudos evidenciaram que certos constituintes dos alimentos como os carotenoides, estão associados a um aumento da atividade do sistema imunitário, influenciando deste modo, diretamente a imunidade humoral e celular (Philip C. Calder, 2013; Pechinskii & Kuregyan, 2014). Os carotenoides mais estudados em termos da sua relação com a atividade no sistema imunitário foram o β -caroteno e o licopeno (Pechinskii & Kuregyan, 2014).

4.1. β -caroteno e sua Influência no Sistema Imunitário

Num estudo realizado por Watson e col. (Watson, Prabhala, Plezia, & Alberts, 1991), que incluiu 20 pessoas, sem registo de qualquer patologia, com uma média de idades de 56 anos, foi dada uma suplementação de β -caroteno através de cápsulas que continham, 0, 15, 30, 45, 60 miligramas, durante um período de 2 meses. A amostra foi dividida de forma aleatória em grupos de 4 pessoas que, continham 2 pessoas do sexo feminino e 2 do sexo masculino. Cada grupo, tomou uma vez ao dia, a uma refeição principal, a respetiva dose de β -caroteno. Após dois meses de suplementação com β -caroteno, procedeu-se à recolha de amostras sanguíneas, tendo-se verificado, que tinha ocorrido um aumento do número de células Th e células NK de uma forma significativa ($P < 0,05$), principalmente nas doses de 30, 45 e 60 miligramas. Os resultados obtidos neste estudo, sugerem que o β -caroteno tem a capacidade de aumentar o número de células Th e células NK em seres humanos, reforçando a resposta do sistema imunitário (Watson *et al.*, 1991).

Outro estudo, aleatório, duplamente-cego, com placebo, analisou a influência do β -caroteno na citotoxicidade das células NK. Este estudo inclui, 59 pessoas saudáveis, do sexo masculino (38 indivíduos dos 51 aos 64 anos e, 21 indivíduos, dos 65 aos 86 anos). O estudo teve uma duração de 12 anos e, os voluntários, tomaram uma dose de 50 miligramas de β -caroteno em dias alternados. Perante os resultados, verificou-se que a suplementação de β -caroteno aumentou com significância ($P < 0,05$) a citotoxicidade das

células NK, na faixa etária idosa dos 65 aos 86 anos, em relação ao grupo placebo da mesma faixa etária. Na faixa etária de meia-idade dos 51 aos 64 anos, não se verificou uma variação considerável, na citotoxicidade das células NK, entre o grupo da suplementação e o grupo de placebo. Porém, comparando a citotoxicidade das células NK, no grupo de suplementação da faixa etária idosa com a da meia idade, aferiu-se uma atividade semelhante, entre a citotoxicidade das células NK entre os dois grupos (Santos *et al.*, 1996).

Um aumento gradual da idade está correlacionado com uma diminuição da atividade do sistema imunitário, deste modo, os resultados obtidos neste estudo são indicadores que a toma de β -caroteno na população idosa, pode promover um aumento da atividade das células NK. Assim, a suplementação de β -caroteno, em população idosa, pode ser uma forma de melhorar a atividade dos respetivos sistemas imunitários (Santos *et al.*, 1996).

Hughes e col. (Hughes *et al.*, 1997) realizaram um estudo, duplamente-cego, cruzado, com placebo, vinte e cinco indivíduos do sexo masculino, sem registo de patologias, com idades compreendidas entre os 18 e 60 anos. Durante o estudo estes indivíduos receberam uma suplementação de β -caroteno através de uma cápsula de 15 miligramas, uma vez ao dia, durante um período de 26 dias. O presente estudo teve o intuito de avaliar o efeito da suplementação de β -caroteno, na manifestação de certas moléculas presentes na superfície de monócitos humanos, tais como as moléculas de MHC II (HLA-DR, HLA-DP e HLA-DQ), na molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1 – do inglês: *Inter Cellular Adhesion Molecule 1*) e na molécula antígeno associado à função linfocitária 3 (LFA-3 – do inglês: *Leucocyte Functional Antigen type 3*) e, ainda, na influência do TNF- α por parte dos monócitos. Após a suplementação com β -caroteno, registaram-se aumentos significativos ($P < 0.05$) nas percentagens de monócitos que expressam a molécula HLA-DR, e as moléculas ICAM-1 e LFA-3. Em relação ao TNF- α , também se verificou um aumento significativo da sua expressão. Neste estudo, aferiu-se que uma suplementação com β -caroteno durante um período de vinte e seis dias, fomentou uma expressão elevada de moléculas de superfície de monócitos humanos e, num aumento de expressão do TNF- α por monócitos. Face a estes resultados, constatou-se que o β -caroteno pode influenciar de um modo positivo a imunidade celular. (Hughes *et al.*, 1997).

Maria Konopacka e Joanna Rzeszowska-Wolny, averiguaram, *in vitro*, a influência do β -caroteno no ADN de linfócitos humanos danificados, e que foram posteriormente sujeitos a radiação γ . Os linfócitos foram sujeitos a diferentes concentrações de β -caroteno (1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$) antes e depois de serem sujeitos à radiação. Antes da emissão de radiação, verificou-se uma diminuição no dano cromossómico dos linfócitos para as várias concentrações de β -caroteno, tendo sido esta mais significativa para concentrações mais elevadas. Após a emissão de radiação, observou-se que a diminuição no dano dos linfócitos se acentuou comparativamente à fase anterior à emissão da radiação, sendo esta mais pronunciada para concentrações de β -caroteno mais elevadas. Mediante estes resultados, o estudo evidenciou que o β -caroteno pode ter um efeito radioprotector no ADN de linfócitos humanos. (Konopacka & Rzeszowska-Wolny, 2001).

4.1.1. Carotenoides e Inflamação

A inflamação é um processo fisiológico que tem como função eliminar agentes patogénicos presentes no hospedeiro, reparar tecidos danificados e estabelecer um equilíbrio na homeostase destes tecidos, entre outras funções (P. C. Calder *et al.*, 2013). O processo de inflamação é originado por mediadores pró-inflamatórios, como por exemplo: citocinas, prostaglandinas, proteína C reativa, e outros mediadores, que são produzidos por diferentes tipos de células, para além das células do sistema imunitário (Philip C. Calder, Carr, Gombart, & Eggersdorfer, 2020; Kaulmann & Bohn, 2014). A inflamação classifica-se consoante o seu período de duração de atividade, isto é, em inflamação aguda se a inflamação perdurar num período de minutos até a alguns dias, ou inflamação crónica, se a inflamação no organismo perdurar durante meses e até anos (Arulselvan *et al.*, 2016; Fleit, 2014). Um estado de inflamação crónica pode potenciar a origem de patologias de carácter inflamatório, como por exemplo: doenças cardiovasculares, cancros, diabetes *mellitus*, entre outras (Arulselvan *et al.*, 2016).

Estudos epidemiológicos têm sugerido uma correlação entre a redução da incidência das patologias inflamatórias com uma dieta rica em frutas e vegetais, devido à presença de micronutrientes nestes alimentos. Os carotenoides, como micronutrientes presentes nestes alimentos, têm demonstrado que detêm a capacidade de reduzir o aumento da expressão dos mediadores pró-inflamatórios originados por estas patologias,

o que sugere que os carotenoides podem diminuir a incidência de patologias inflamatórias (Jahns *et al.*, 2018; P. Palozza, Parrone, Catalano, & Simone, 2010). O β -caroteno e o licopeno são dos carotenoides com resultados mais promissores na redução dos mediadores pró-inflamatórios (Jing *et al.*, 2018).

4.1.1.1. β -caroteno e Inflamação

Para avaliar o efeito do β -caroteno na expressão de certos mediadores pró-inflamatórios, tais como: óxido nítrico (NO), prostaglandina E2 (PGE2), ciclooxigenase-2 (COX-2), óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) e, em citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF- α , um estudo foi realizado *in vivo*, em ratos, e *in vitro*, em células RAW264.7 de macrófagos de ratos. A fim de induzir a produção de uma resposta inflamatória, foi adicionado lipopolissacarídeo (LPS) à amostra de ratos e às células RAW264.7 (Bai *et al.*, 2005). O LPS caracteriza-se por ser uma endotoxina produzida por bactérias gram-negativas que fomenta um choque séptico, o qual origina um aumento na produção de mediadores pró-inflamatórios no organismo em causa (Bai *et al.*, 2005; Qi *et al.*, 2013). Verificou-se no presente estudo, que o aumento da concentração de β -caroteno foi inversamente proporcional ao aumento dos mediadores pró-inflamatórios na presença de LPS, tanto nos ratos como nas células RAW264.7. Verificou-se que o β -caroteno anulou a expressão do fator nuclear Kappa B (NF- κ B), que se caracteriza por ser um fator de transcrição para diversos mediadores inflamatórios. Em suma, verificou-se com o presente estudo, que o β -caroteno detém uma atividade anti-inflamatória, visto que conseguiu diminuir o aumento de produção dos marcadores pró-inflamatórios induzida pelo LPS ao inibir o fator NF- κ B (Bai *et al.*, 2005).

Jang, Lim e Kim (Jang, Lim, & Kim, 2009) realizaram um estudo que teve como objetivo, analisar o efeito do β -caroteno na expressão de marcadores pró-inflamatórios, iNOS, COX-2, NF- κ B, proteína quinase ativada por mitogénio (MAPK) e proteína ativadora 1 (AP-1) em células epiteliais gástricas infetadas com *Helicobacter pylori*. A bactéria *H. pylori* produz espécies reativas de oxigénio nas células epiteliais gástricas. O aumento da produção de ROS, detém a possibilidade de gerar uma resposta inflamatória, ativando deste modo os fatores de transcrição NF- κ B, MAPK e AP-1, originando, consequentemente, o aumento de expressão de iNOS e COX-2 nas células epiteliais gástricas. Aferiu-se que o β -caroteno diminuiu de uma forma significativa as ROS, permitindo assim, uma inibição dos fatores de transcrição NF- κ B, MAPK e AP-1 e, por

consequente, uma diminuição da expressão de iNOS e COX-2 nas células epiteliais gástricas. Face aos resultados, comprovou-se que o β -caroteno inibiu a ativação de marcadores inflamatórios, através da redução de ROS, cuja produção destas, foi estimulada pela bactéria *H. pylori* (Jang *et al.*, 2009).

Segundo Li e col. (Li, Hong, & Zheng, 2019) analisou-se a influência do β -caroteno na expressão de citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-6 e IL-1 β e nas vias de sinalização que promovem uma resposta inflamatória, JAK2 / STAT3, MAPK e NF- κ B em células RAW264.7 de macrófagos de rato com LPS. Este estudo foi realizado com concentrações de 10, 25, 50, 75, 100 μ M de β -caroteno. O LPS estimulou a produção das citocinas e o aumento da atividade das vias de sinalização, mas constatou-se que o β -caroteno teve a capacidade de diminuir a produção de citocinas e a atividade das vias de sinalização de uma forma significativa ($P < 0,05$). De um modo geral, registou-se uma maior inibição na produção das citocinas TNF- α , IL-6 e IL-1 β e na diminuição da atividade das vias de sinalização JAK2 / STAT3, MAPK e NF- κ B, consoante o aumento da concentração de β -caroteno. Os resultados deste estudo demonstraram que o β -caroteno foi capaz de diminuir a expressão de marcadores inflamatórios estimulados por LPS em células RAW264.7 de macrófagos de rato (Li *et al.*, 2019).

4.1.2. Carotenoides e Cancro

Segundo a OMS, o cancro é a segunda principal causa de morte no mundo. Em 2018, foi responsável por 9,6 milhões de mortes no mundo. Em cada seis mortes a nível mundial, uma é devido a cancro. Fumar, ingerir bebidas alcoólicas, adotar uma dieta desequilibrada e, não praticar exercício físico, são considerados os principais fatores de risco na indução de cancro (WHO, 2018).

Segundo a literatura, um aumento de consumo de alimentos com um alto teor de carotenoides está associado a uma diminuição de risco de diversos cancros, destacando-se, principalmente, o β -caroteno e o licopeno como os carotenoides com mais estudos em relação ao risco de cancro. (Black, Boehm, Edge, & Truscott, 2020; Fiedor & Burda, 2014a).

4.1.2.1. β -caroteno e Cancro

Na Youn Lee e col. (Lee *et al.*, 2020) analisaram a atividade do β -caroteno na polarização de macrófagos M2 e na expressão do TGF- β 1, em células de fibroblastos presentes em células HCT116 (células humanas do cancro do cólon) *in vitro*. Estes autores observaram que o β -caroteno inibiu a polarização de macrófagos M2 em células HCT116, visto que conseguiu restringir a manifestação de marcadores que estão associados à polarização de macrófagos M2, tais como a citocina IL-6 e o fator transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT3 – do inglês: *Signal transducer and activator of transcription 3*). A manifestação destes marcadores, IL-6 e STAT3 está correlacionada com um aumento do desenvolvimento tumoral. Os macrófagos M2 integram o microambiente tumoral, podendo fomentar o crescimento tumoral e o surgimento de metástases (Lee *et al.*, 2020). Neste estudo, células de fibroblastos foram expostas ao TGF- β 1, com o intuito destas células se transformarem em células de fibroblastos associadas ao cancro (CAF - do inglês: *Cancer Associated Fibroblasts*). As CAF incorporam o microambiente tumoral contribuindo também para um crescimento do cancro e a formação de metástases (Lee *et al.*, 2020; Nurmik, Ullmann, Rodriguez, Haan, & Letellier, 2020). As CAF ao serem ativadas por TGF- β 1, expressam certos marcadores como, alfa actina de músculo liso (α -SMA – do inglês: *Alpha-smooth muscle actin*), proteína α de ativação de fibroblastos (FAP – do inglês: *Fibroblast activation protein alfa*) e vimentina. Verificou-se que o β -caroteno diminuiu a expressão do fator de crescimento TGF- β 1 e, por conseguinte, os marcadores das CAF, α -SMA, FAP e vimentina em células HCT116. Os resultados deste estudo, demonstraram que o β -caroteno inibiu a polarização de macrófagos M2 e o fator de crescimento TGF- β 1 em fibroblastos, presente nas células HCT116. Os resultados obtidos sugerem, que o β -caroteno pode cooperar na reversão e na prevenção do cancro colorretal (Lee *et al.*, 2020).

Um estudo realizado por Upadhvava e col. (Upadhyaya, Radha, & Madhyastha, 2007), teve como finalidade, analisar se o β -caroteno induzia apoptose em células HL-60 (células de leucemia humana) e células U937 (células de linfoma histiocítico). Estas duas classes de células foram expostas a concentrações de 0, 5, 10, 20, 50 e 100 μ M de β -caroteno. A partir da concentração de 20 μ M, verificou-se que o β -caroteno promoveu uma redução significativa ($P < 0,05$) no número de células HL-60 e U937. Através de uma análise microscópica, observaram que com o aumento da concentração de β -caroteno, foi registado um maior número de corpos apoptóticos presentes nas células HL-60 e U937.

Por fim, analisaram o padrão do ciclo celular das células HL-60 e U937 e verificaram que nas células HL-60, expostas ao β -caroteno, ocorreu uma diminuição significativa da atividade da fase G1 comparativamente, com as células referentes ao grupo controlo. Nas células U937 expostas ao β -caroteno, verificaram uma diminuição pouco significativa da atividade da fase G1 em comparação com o grupo controlo. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que o β -caroteno teve uma ação apoptótica em células HL-60 e U937, demonstrando uma maior ação apoptótica para as células HL-60. Esta atividade apoptótica, poderá ser atribuída pelo facto de ter ocorrido uma redução da atividade da fase G1 do ciclo celular das células HL-60 e U937 (Upadhyaya *et al.*, 2007).

4.2. Licopeno e sua Influência no Sistema Imunitário

M. Srinivasan e col (Srinivasan, Devipriya, Kalpana, & Menon, 2009), analisaram o efeito do licopeno em danos induzidos por radiação γ no ADN de linfócitos e em enzimas antioxidantes presentes no ADN dos linfócitos. A cultura de linfócitos foi submetida a concentrações de 1, 5, 10 $\mu\text{g/ml}$ de licopeno. Os linfócitos foram expostos a radiação γ depois de ocorrer a incubação destes com as concentrações de licopeno. A radiação γ suscitou um aumento significativo de danos no ADN dos linfócitos, nomeadamente, no aumento de micronúcleos e no aumento de aberrações dicêntricas em cromossomas. Os linfócitos que foram expostos às diferentes concentrações de licopeno, apresentaram uma diminuição significativa nos danos no ADN, particularmente nos micronúcleos e nas aberrações dicêntricas, em que a concentração de 5 $\mu\text{g/ml}$ a mais eficaz. A incidência da radiação γ pode causar o surgimento de stress oxidativo através da formação de ROS, originando assim um desequilíbrio na eficácia dos antioxidantes das células. Deste modo, constatou-se que os antioxidantes presentes no ADN dos linfócitos, catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e glutathione reduzida (GSH), apresentaram atividades significativamente reduzidas, devido à incidência da radiação γ , enquanto que os linfócitos que foram submetidos ao licopeno, demonstraram um aumento significativo das atividades destes antioxidantes nas concentrações de 1, 5 e 10 $\mu\text{g/ml}$, tendo-se verificado o aumento mais significativo para a concentração de 5 $\mu\text{g/ml}$. Os resultados deste estudo sugerem que o tratamento prévio dos linfócitos com licopeno, pode contribuir para uma diminuição dos danos do ADN

assim como aumentar a atividade dos antioxidantes presentes no ADN dos linfócitos, quando expostos a radiação γ (Srinivasan *et al.*, 2009).

Outro estudo realizado por Paola Palozza e colaboradores, teve como finalidade analisar o efeito do licopeno no stress oxidativo e no processo de apoptose originado por 7-cetocolesterol (7-KC) em macrófagos humanos THP-1. Os macrófagos foram submetidos a concentrações de 0,5, 1 e 2 μM de licopeno. A presença de 7-KC nos macrófagos gerou um aumento significativo na produção de ROS, que consequentemente aumentou a expressão de NOX-4. Este aumento de ROS possibilitou o aumento da expressão de proteínas que estão associadas ao stress oxidativo: hsp70 e hsp90. Os macrófagos que foram expostos ao licopeno, apresentaram uma redução na produção de ROS e NOX-4 consoante o aumento da concentração de licopeno, tendo-se verificado uma redução significativa na presença da concentração de 2 μM de licopeno. A expressão das proteínas hsp70 e hsp90 ficou significativamente reduzida na presença da concentração de 2 μM de licopeno. Em relação ao processo de apoptose em macrófagos THP-1, o 7-KC potenciou um aumento significativo de apoptose nestas células que, por conseguinte, promoveu a diminuição da proteína quinase B (AKT) que detém uma função anti-apoptótica. No entanto, a presença do licopeno na concentração de 2 μM , permitiu reverter a ação apoptótica do 7-KC e a diminuição da expressão de AKT. Além do stress oxidativo e do processo de apoptose ainda foi analisado o ciclo celular dos macrófagos THP-1, tendo-se observado que o 7-KC conseguiu inibir a progressão do ciclo celular na transição da fase G0/G1 e aumentar significativamente a manifestação de proteínas inibidoras do ciclo celular, p53 e p21. Contudo, na presença do licopeno (2 μM), verificou-se que este conseguiu anular o efeito do 7-KC, conseguindo deste modo, que o ciclo celular de macrófagos THP-1 retornasse à sua progressão normal e houvesse uma diminuição significativa da expressão das proteínas p53 e p21. Os resultados deste estudo, realçam que o licopeno pode reduzir significativamente o stress oxidativo e o processo de apoptose, induzido por 7-KC em macrófagos humanos THP-1 (Paola Palozza *et al.*, 2010).

4.2.1. Licopeno e Inflamação

De Stefano e col. (De Stefano *et al.*, 2007) investigaram o efeito de diferentes concentrações de licopeno (5, 10 e 20 μM) na expressão de mediadores pró-inflamatórios

em macrófagos RAW 264.7 de ratos. Na incubação dos macrófagos, foi adicionada a proteína gliadina e o IFN- γ com o intuito de provocarem a estimulação dos macrófagos a produzirem mediadores pró-inflamatórios. Deste modo, ocorreu uma manifestação de forma significativa de mediadores pró-inflamatórios tais como, PGE₂, nitrito (NO₂), iNOS e COX-2. Na presença do licopeno, verificou-se uma diminuição significativa dos mediadores NO₂ e de PGE₂, dependente do aumento de concentração de licopeno, enquanto que no iNOS e COX-2 ocorreu uma diminuição significativa na concentração de 20 μ M de licopeno. A proteína gliadina e o IFN- γ também potenciaram o aumento significativo da expressão de fatores de transcrição de mediadores pró-inflamatórios, tais como, o fator NF- κ B, fator regulador de interferon-1 (IRF-1), transdutor de sinal e ativador de transcrição-1 α (STAT-1 α) em macrófagos RAW 264.7. No tratamento dos macrófagos com licopeno, observou-se uma redução significativa na expressão destes fatores de transcrição de mediadores pró-inflamatórios numa concentração de 20 μ M de Licopeno. Os resultados deste estudo, demonstraram que o licopeno pode reduzir significativamente os fatores de transcrição e, por conseguinte, os mediadores pró-inflamatórios em macrófagos RAW264.7 na presença da proteína gliadina e IFN- γ , sugerindo assim que o licopeno possa ter uma atividade anti-inflamatória. (De Stefano *et al.*, 2007).

Goncu e col. (Goncu *et al.*, 2016) analisaram o efeito do licopeno na uveíte (Inflamação intraocular) e compararam a eficácia anti-inflamatória do licopeno com o corticoide dexametasona (tratamento padrão para a uveíte). O estudo foi realizado em 28 ratos, a uveíte foi induzida nos olhos dos ratos por uma injeção da endotoxina LPS, de forma a reproduzir um modelo semelhante à manifestação da patologia em humanos. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos:

- grupo I (n=6): grupo controlo, em que os ratos foram submetidos a uma injeção de concentração de 0.9% NaCl;
- grupo II (n=6): os ratos foram sujeitos à injeção de 0.9% NaCl com a adição da injeção da endotoxina LPS (0.9% NaCl + LPS);
- grupo III (n=7): os ratos foram submetidos a uma injeção de licopeno de concentração 10 mg/kg com o acréscimo da injeção de LPS (Licopeno + LPS);
- grupo IV (n=7): os ratos foram sujeitos a uma injeção de dexametasona de concentração 1 mg/kg e a adição da injeção LPS (DEX + LPS).

A seguir à administração da injeção de LPS, os olhos dos ratos ficaram “enevoados” sintoma da patologia uveíte, e foram recolhidas amostras do humor aquoso, nas quais se verificou a presença de um aumento significativo das concentrações de mediadores pró-inflamatórios tais como do TNF- α ($71,0 \pm 22,3$ ng/ml), NO ($0,29 \pm 0,1$ μ M), e IL-6 ($121,6 \pm 3,0$ pg/ml) e um aumento do índice de stress oxidativo ($14,5 \pm 0,3$ AU). O tratamento com licopeno (Licopeno + LPS) conseguiu diminuir significativamente as concentrações dos mediadores pró-inflamatórios TNF- α ($50,1 \pm 2,1$ ng/ml, $p=0,043$), NO ($0,19 \pm 0,1$ μ M, $p=0,003$), IL-6 ($111,1 \pm 5,6$ pg/ml, $p=0,008$) e do índice de stress oxidativo ($12,2 \pm 3,6$ AU, $p=0,025$). O corticoide dexametasona (DEX + LPS) também conseguiu reduzir significativamente as concentrações dos mediadores pró-inflamatórios TNF- α ($50,0 \pm 1,2$ ng/ml, $p=0,035$), NO ($0,21 \pm 0,06$ μ M, $p=0,043$), IL-6 ($111,9 \pm 4,3$ pg/ml, $p=0,004$) e do índice de stress oxidativo ($11,9 \pm 1,2$ AU, $p=0,008$). De acordo com os resultados deste estudo, o licopeno é capaz de reduzir significativamente os mediadores pró-inflamatórios e o stress oxidativo derivado da patologia inflamatória uveíte, e ainda, apresenta uma eficácia anti-inflamatória comparável ao fármaco dexametasona, o qual apresenta uma elevada eficácia anti-inflamatória no tratamento da uveíte (Goncu *et al.*, 2016).

Zhang e col. (F. Zhang *et al.*, 2016) realizaram um estudo para aferir a influência do licopeno na expressão de mediadores pró-inflamatórios no sistema nervoso central de ratos. O Licopeno foi administrado em ratos por via oral (60 mg/kg) seguido de uma injeção intraperitoneal de LPS (1 mg/kg). A injeção de LPS aumentou significativamente a expressão da citocina pró-inflamatória IL-1 β e da proteína heme oxigenase-1 (HO-1), na zona do hipocampo, nos cérebros dos ratos. Os ratos que foram tratados com licopeno, apresentaram uma diminuição significativa na expressão da citocina IL-1 β e da proteína HO-1. O LPS também aumentou significativamente a produção de citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α no plasma dos ratos e constatou-se que o licopeno conseguiu diminuir de uma forma significativa a produção destas citocinas no plasma. Os resultados deste estudo sugerem que o licopeno consegue diminuir a neuroinflamação em cérebros de ratos, através da diminuição da expressão de mediadores pró-inflamatórios, localizados na zona do hipocampo (F. Zhang *et al.*, 2016).

4.2.2. Licopeno e Cancro

Um estudo realizado por Kanagaraj e col. (Kanagaraj *et al.*, 2007) analisou a influência do licopeno sobre o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I – do inglês: *Insuline-like growth factor 1*) e, proteína ligante do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 3 (IGFBP-3 – do inglês: *Insulin-like growth factor-binding protein 3*) e sobre o recetor do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-IR – do inglês: *type 1 insulin-like growth factor receptor*) presente em células PC-3 (células de adenocarcinoma de próstata humana). O IGF-I apresenta uma função mitogénica, potenciando o aumento da expansão de células cancerígenas, o IGF-IR regula a atividade do IGF-I e a IGFBP-3 inibe a progressão das células cancerígenas. A adição de IGF-I às células PC-3, diminuiu de uma forma significativa a concentração de IGFBP-3. Após a adição do licopeno aos meios de cultura, em simultâneo com IGF-I, verificou-se que o licopeno aumentou significativamente a concentração de IGFBP-3 nas células PC-3. Em relação ao receptor IGF-IR, constatou-se que na presença de IGF-I, o fator IGF-I aumentou significativamente a expressão de IGF-IR em células PC-3, observando-se que com o tratamento do licopeno ocorreu uma diminuição significativa desse recetor. Neste estudo, ainda se aferiu, se o licopeno era capaz de induzir apoptose nas células PC-3. Comparando com as células controlo, observou-se que o licopeno conseguiu aumentar a percentagem de células que foram alvo de apoptose. Perante os resultados, deste estudo, demonstrou-se que o licopeno é capaz de inibir a progressão das células PC-3 *in vitro*, devido ao facto de poder induzir um aumento no IGFBP-3 e uma diminuição no IGF-IR, e ainda demonstrou uma ação apoptótica nas células PC-3 (Kanagaraj *et al.*, 2007).

Yoonseon Jeong e col. (Jeong, Lim, & Kim, 2019), investigaram se o licopeno induzia apoptose em células PANC-1 (células de cancro do pâncreas humano). As células cancerígenas apresentam um elevado número de ROS. Este aumento das espécies reativas de oxigénio ativa o fator de transcrição NF-κB, que por sua vez, fomenta a expressão de proteínas supressoras de apoptose (IAP – do inglês: *Inhibitor of Apoptosis*): cIAP1, cIAP2, e survivin ou BIRC5 (do inglês: *baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5*) que promovem a expansão das células cancerígenas no hospedeiro. No presente estudo, a presença do licopeno nas células PANC-1 originou uma diminuição das ROS e, por conseguinte, inibiu a atividade do fator NF-κB e a expressão dos IAP. O licopeno também potenciou um aumento da expressão da proteína Bax, proteína pró-

apoptótica e uma diminuição na expressão da proteína Bcl-2, proteína anti-apoptótica. Face a estes resultados, verificou-se que o licopeno pode induzir apoptose nas células PANC-1 visto que pode reduzir a expressão de proteínas supressoras de apoptose, cIAP1, cIAP2, e survivin, aumentar a expressão da proteína Bax e diminuir a expressão da proteína Bcl-2 (Jeong *et al.*, 2019).

Outro estudo, *in vitro*, teve como objetivo avaliar a influência do licopeno nas células MCF-7 (células de cancro da mama humano) (Peng *et al.*, 2017). As células MCF-7 foram incubadas com diferentes concentrações de licopeno (0,2,4,8 e 16 μ M) durante 24, 48 e 72 horas. Verificou-se que o licopeno teve a capacidade de diminuir significativamente ($P < 0,05$) a proliferação das células MCF-7, de acordo com o aumento da concentração do licopeno e com o aumento do período de incubação. Tendo-se observado uma maior redução na proliferação destas células com a concentração de 16 μ M/72 horas. A apoptose das células MCF-7 por ação do licopeno deveu-se ao aumento da expressão dos genes Bax (gene pró-apoptótico) e p53 (gene que inibe o ciclo celular destas células). Neste estudo, ainda se observou ao microscópio, o efeito do licopeno na morfologia das células MCF-7 e, constatou-se que comparando com as células controlo (concentração 0 μ M de licopeno), o aumento da concentração de licopeno e do período de incubação causava uma maior redução no número de células MCF-7 e um aumento maior nos danos celulares. Em suma, os dados obtidos neste estudo, mostraram que o licopeno consegue reduzir significativamente a proliferação e provocar apoptose nas células MCF-7 (Peng *et al.*, 2017).

Capítulo 5 – Conclusão

De entre os fatores que podem influenciar a resposta do sistema imunitário, podemos incluir a alimentação e mais especificamente os nutrientes que a constituem. De acordo com a pesquisa bibliográfica efetuada para realizar esta monografia, os carotenoides e em particular, o β -caroteno e o licopeno, encontram-se entre os micronutrientes capazes de desempenhar essa atividade, pelo facto de possuírem atividade antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena.

Em relação à atividade antioxidante, estudos efetuados sugerem que têm a capacidade de reduzir significativamente o stress oxidativo induzido nas células do sistema imunitário. Dada esta capacidade de redução do stress oxidativo, o β -caroteno e o licopeno conseguiram também restabelecer a atividade das próprias moléculas antioxidantes presentes nas células do sistema imunitário e consequentemente reduzir assim, os danos no ADN destas células.

No que diz respeito à atividade anti-inflamatória, o β -caroteno e o licopeno conseguiram inibir a expressão de fatores de transcrição, tais como NF-Kb, MAPK, AP-1 e JAK2/STAT3 assim como também conseguiram diminuir a expressão de mediadores pró-inflamatórios como as citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 e outros mediadores como NO, PGE₂, COX-2, INOS.

A atividade anticancerígena deve-se à capacidade destes carotenoides, potenciarem o processo de apoptose das células cancerígenas. O processo de apoptose é originado por estes conseguirem diminuir significativamente as atividades das fases dos ciclos celulares das células cancerígenas, por deterem a capacidade de aumentar a expressão da proteína Bax (proteína pró-apoptótica), diminuir a expressão da proteína Bcl-2 (proteína anti-apoptótica), aumentarem a produção do IGFBP-3 e reduzirem a produção dos IGF-IR, TGF- β 1 e IAP.

Assim, estes estudos que evidenciaram um aumento das atividades antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena sugerem que estes carotenoides (β -caroteno e o licopeno) podem aumentar desta forma a atividade do sistema imunitário.

Apesar da existência desta correlação entre os carotenoides e o aumento da atividade do sistema imunitário, é necessário a realização de mais estudos, sobretudo ensaios clínicos em humanos que envolvam: uma amostra maior; num maior período de tempo de estudo com uma maior variedade de células do sistema imunitário, visto que os

estudos mencionados nesta monografia, na sua maioria, foram realizados *in vitro* e em cobaias de laboratório.

Referências Bibliográficas

- Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2015). *Basic immunology functions and disorders of the immune system* (5th ed.).
- Abdel-Aal, E.-S., & Akhtar, M. (2006). Recent Advances in the Analyses of Carotenoids and Their Role in Human Health. *Current Pharmaceutical Analysis*, 2(2), 195–204. <https://doi.org/10.2174/157341206776819319>
- Akdis, M., Burgler, S., Cramer, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., ... Akdis, C. A. (2011). Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : Receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(3), 701-721.e70. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.11.050>
- Aktaş, O. N., Öztürk, A. B., Erman, B., Erus, S., Tanju, S., & Dilege, Ş. (2018). Role of natural killer cells in lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00432-018-2635-3>
- Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T., & Khan, F. H. (2020). Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13145>
- Álvarez, R., Vaz, B., Gronemeyer, H., & De Lera, R. A. (2014). Functions, therapeutic applications, and synthesis of retinoids and carotenoids. *Chemical Reviews*. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/cr400126u>
- Amaya, Rodriguez, D. (2016). *Food Carotenoids: Chemistry, Biology, and Technology* (1st ed.). <https://doi.org/10.1002/9781118864364>
- Amengual. (2019). Bioactive Properties of Carotenoids in Human Health. *Nutrients*, 11(10), 2388. <https://doi.org/10.3390/nu11102388>
- Amir Aslani, B., & Ghobadi, S. (2016). Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sciences*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.014>
- Amorim-Carrilho, K. T., Cepeda, A., Fente, C., & Regal, P. (2014). Review of methods for analysis of carotenoids. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.12.011>
- Andoniou, C. E., Andrews, D. M., & Degli-Esposti, M. A. (2006). Natural killer cells in viral infection: More than just killers. *Immunological Reviews*. Immunol Rev.

<https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00465.x>

- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
- Bai, S. K., Lee, S. J., Na, H. J., Ha, K. S., Han, J. A., Lee, H., ... Kim, Y. M. (2005). β -carotene inhibits inflammatory gene expression in lipopolysaccharide-stimulated macrophages by suppressing redox-based NF- κ B activation. *Experimental and Molecular Medicine*, 37(4), 323–334. <https://doi.org/10.1038/emm.2005.42>
- Bedoya, S. K., Lam, B., Lau, K., & Larkin, J. (2013). Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Clinical & Developmental Immunology*. <https://doi.org/10.1155/2013/986789>
- Bendich, A. (2004). From 1989 to 2001: What Have We Learned about the “Biological Actions of Beta-Carotene”? In *Journal of Nutrition* (Vol. 134, pp. 225S-230S). American Institute of Nutrition. <https://doi.org/10.1093/jn/134.1.225s>
- Berman, J., Zorrilla-López, U., Farré, G., Zhu, C., Sandmann, G., Twyman, R. M., ... Christou, P. (2015). Nutritionally important carotenoids as consumer products. *Phytochemistry Reviews*. Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9373-1>
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? In *Metabolism: Clinical and Experimental* (Vol. 49, pp. 3–8). W.B. Saunders. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)
- Black, H. S., Boehm, F., Edge, R., & Truscott, T. G. (2020). The benefits and risks of certain dietary carotenoids that exhibit both anti-and pro-oxidative mechanisms—A comprehensive review. *Antioxidants*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antiox9030264>
- Bonilla, F. A., & Oettgen, H. C. (2010). Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017>
- Boon, C. S., McClements, D. J., Weiss, J., & Decker, E. A. (2010). Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(6), 515–532. <https://doi.org/10.1080/10408390802565889>
- Britton, G., Jensen, Liaaen, S., & Pfander, H. (2008). *Carotenoids Volume 4: Natural Functions* (1st ed.). <https://doi.org/10.1007/978-3-7643-7499-0>

- Britton, G., Jensen, Liaaen, S., & Pfander, H. (2009). *Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health* (1st ed.). <https://doi.org/10.1007/978-3-7643-7501-0>
- Calder, P. C., Ahluwalia, N., Albers, R., Bosco, N., Bourdet-Sicard, R., Haller, D., ... Zhao, J. (2013). A Consideration of Biomarkers to be Used for Evaluation of Inflammation in Human Nutritional Studies. *British Journal of Nutrition*, 109(SUPPL. S1), S1–S34. <https://doi.org/10.1017/S0007114512005119>
- Calder, P., & Kulkarni, A. (2017). *Nutrition, Immunity, and infection* (1st ed.).
- Calder, Philip C. (2013). Feeding the immune system. In *Proceedings of the Nutrition Society* (Vol. 72, pp. 299–309). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S0029665113001286>
- Calder, Philip C., Carr, A. C., Gombart, A. F., & Eggersdorfer, M. (2020). Optimal nutritional status for a well-functioning immune system is an important factor to protect against viral infections. *Nutrients*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12041181>
- Calder, Philip C., & Kew, S. (2002). The immune system: a target for functional foods? *British Journal of Nutrition*, 88(S2), S165–S176. <https://doi.org/10.1079/bjn2002682>
- Cañete, A., Cano, E., Muñoz-Chápuli, R., & Carmona, R. (2017). Role of Vitamin A/Retinoic Acid in Regulation of Embryonic and Adult Hematopoiesis. *Nutrients*, 9(2), 159. <https://doi.org/10.3390/nu9020159>
- Cano, L., & Lopera, D. (2013). Introduction to T and B lymphocytes. In *Autoimmunity: From Bench to Bedside* (1st ed.). El Rosario University Press. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459471/>
- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu9111211>
- Carrillo, J. L. M., Rodríguez, F. P. C., Coronado, O. G., García, M. A. M., & Cordero, J. F. C. (2017). Physiology and Pathology of Innate Immune Response Against Pathogens. In *Physiology and Pathology of Immunology*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70556>
- Castell-Rodríguez, A., Piñón-Zárate, G., Herrera-Enríquez, M., Jarquín-Yáñez, K., & Medina-Solares, I. (2017). Dendritic Cells: Location, Function, and Clinical Implications. In *Biology of Myelomonocytic Cells*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68352>

- Castelo-Branco, C., & Soveral, I. (2014). The immune system and aging: A review. *Gynecological Endocrinology*. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.852531>
- Cervantes-Paz, B., Victoria-Campos, C. I., & Ornelas-Paz, J. de J. (2016). Absorption of Carotenoids and Mechanisms Involved in Their Health-Related Properties. In *Sub-Cellular Biochemistry* (Vol. 79, pp. 415–454). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_16
- Chaplin, D. D. (2010). Overview of the immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2), S3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.12.980>
- Cicero, A. F. G., & Colletti, A. (2017). Effects of Carotenoids on Health: Are All the Same? Results from Clinical Trials. *Current Pharmaceutical Design*, 23(17). <https://doi.org/10.2174/1381612823666170207095459>
- Cooper, E. L., & Ma, M. J. (2017). Understanding nutrition and immunity in disease management. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. National Taiwan University. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.002>
- Cotter, S. C., Simpson, S. J., Raubenheimer, D., & Wilson, K. (2011). Macronutrient balance mediates trade-offs between immune function and life history traits. *Functional Ecology*, 25(1), 186–198. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01766.x>
- Cromheecke, J. L., Nguyen, K. T., & Huston, D. P. (2014). Emerging role of human basophil biology in health and disease. *Current Allergy and Asthma Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1007/s11882-013-0408-2>
- Da, S., Mesquita, S., Teixeira, C. M. L. L., & Servulo, E. F. C. (2017). Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Mercado.
- De Stefano, D., Maiuri, M. C., Simeon, V., Grassia, G., Soscia, A., Cinelli, M. P., & Carnuccio, R. (2007). Lycopene, quercetin and tyrosol prevent macrophage activation induced by gliadin and IFN- γ . *European Journal of Pharmacology*, 566(1–3), 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.03.051>
- Desmarchelier, C., & Borel, P. (2017). Overview of carotenoid bioavailability determinants: From dietary factors to host genetic variations. *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.002>
- Donhowe, E. G., & Kong, F. (2014). Beta-carotene: Digestion, Microencapsulation, and In Vitro Bioavailability. *Food and Bioprocess Technology*. Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1244-z>

- DS, M., & K, K. (2012). Bioavailability of Carotenoids. In *World review of nutrition and dietetics* (Vol. 103, pp. 27–32). World Rev Nutr Diet. <https://doi.org/10.1159/000171008>
- Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.06.001>
- Elliott, D. E., Siddique, S. S., & Weinstock, J. V. (2014). Innate immunity in disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12(5), 749–755. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.03.007>
- Elvira-Torales, L. I., García-Alonso, J., & Periago-Castón, M. J. (2019). Nutritional Importance of Carotenoids and Their Effect on Liver Health: A Review. *Antioxidants*, 8(7), 229. <https://doi.org/10.3390/antiox8070229>
- Eroglu, A., & Harrison, E. H. (2013). Carotenoid metabolism in mammals, including man: Formation, occurrence, and function of apocarotenoids. *Journal of Lipid Research*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology. <https://doi.org/10.1194/jlr.R039537>
- Fiedor, J., & Burda, K. (2014a). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, 6(2), 466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>
- Fleit, H. B. (2014). Chronic Inflammation. In *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms* (pp. 300–314). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.01808-6>
- França, T. G. D., Ishikawa, L. L. W., Zorzella-Pezavento, S. F. G., Chiuso-Minicucci, F., Da Cunha, M. L. R. S. M., & Sartori, A. (2009). Impact of malnutrition on immunity and infection. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*. CEVAP. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992009000300003>
- Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*. Pergamon. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2003.10.002>
- Galli, S. J., Wedemeyer, J., & Tsai, M. (2002). Analyzing the roles of mast cells and basophils in host defense and other biological responses. *International Journal of Hematology*. Int J Hematol. <https://doi.org/10.1007/BF02982125>
- Geissmann, F., Manz, M. G., Jung, S., Sieweke, M. H., Merad, M., & Ley, K. (2010). Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science*. American

- Association for the Advancement of Science.
<https://doi.org/10.1126/science.1178331>
- Goncu, T., Oğuz, E., Sezen, H., Koçarslan, S., Oğuz, H., Akal, A., ... Aksoy, N. (2016). Anti-inflammatory effect of lycopene on endotoxin-induced uveitis in rats. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 79(6), 357–362. <https://doi.org/10.5935/0004-2749.20160102>
- Green, A. S., & Fascetti, A. J. (2016). Meeting the Vitamin A Requirement: The Efficacy and Importance of β -Carotene in Animal Species. *Scientific World Journal*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7393620>
- Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*, 344(8924), 721–724. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)92211-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)92211-X)
- Harrison, E. H., & Curley, R. W. (2016). Carotenoids and Retinoids: Nomenclature, Chemistry, and Analysis. *Sub-Cellular Biochemistry*. https://doi.org/10.1007/978-94-024-0945-1_1
- Hughes, D. A., Wright, A. J. A., Finglas, P. M., Peerless, A. C. J., Bailey, A. L., Astley, S. B., ... Southon, S. (1997). The effect of β -carotene supplementation on the immune function of blood monocytes from healthy male nonsmokers. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 129(3), 309–317. [https://doi.org/10.1016/S0022-2143\(97\)90179-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2143(97)90179-7)
- Imam, M., Zhang, S., Ma, J., Wang, H., & Wang, F. (2017). Antioxidants Mediate Both Iron Homeostasis and Oxidative Stress. *Nutrients*, 9(7), 671. <https://doi.org/10.3390/nu9070671>
- Italiani, P., & Boraschi, D. (2014). From monocytes to M1/M2 macrophages: Phenotypical vs. functional differentiation. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>
- Ito, H., & Seishima, M. (2010). Regulation of the induction and function of cytotoxic T lymphocytes by natural killer T cell. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1155/2010/641757>
- Jahns, L., Conrad, Z., Johnson, L. A. K., Whigham, L. D., Wu, D., & Claycombe-Larson, K. J. (2018). A diet high in carotenoid-rich vegetables and fruits favorably impacts inflammation status by increasing plasma concentrations of IFN- α 2 and decreasing MIP-1 β and TNF- α in healthy individuals during a controlled feeding trial. *Nutrition*

- Research*, 52, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.02.005>
- Jang, S., Lim, J., & Kim, H. (2009). Beta-carotene inhibits Helicobacter pylori-induced expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in human gastric epithelial AGS cells. *Undefined*.
- Jaswir, I., Noviendri, D., Hasrini, R. F., & Octavianti, F. (2011). Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(33), 7119–7131. <https://doi.org/10.5897/JMPRx11.011>
- Jeong, Y., Lim, J. W., & Kim, H. (2019). Lycopene inhibits reactive oxygen species-mediated nf-kb signaling and induces apoptosis in pancreatic cancer cells. *Nutrients*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/nu11040762>
- Jing, L., Xiao, M., Dong, H., Lin, J., Chen, G., Ling, W., & Chen, Y. (2018). Serum carotenoids are inversely associated with RBP4 and other inflammatory markers in middle-aged and elderly adults. *Nutrients*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/nu10030260>
- Jomova, K., & Valko, M. (2013). Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.054>
- Kaiko, G. E., Horvat, J. C., Beagley, K. W., & Hansbro, P. M. (2008). Immunological decision-making: How does the immune system decide to mount a helper T-cell response? *Immunology*. *Immunology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02719.x>
- Kanagaraj, P., Vijayababu, M. R., Ravisankar, B., Anbalagan, J., Aruldas, M. M., & Arunakaran, J. (2007). Effect of lycopene on insulin-like growth factor-I, IGF binding protein-3 and IGF type-I receptor in prostate cancer cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 133(6), 351–359. <https://doi.org/10.1007/s00432-006-0177-6>
- Kaulmann, A., & Bohn, T. (2014). Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. *Nutrition Research*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.07.010>
- Kawamura, T., & Muraoka, I. (2018). Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. *Antioxidants*, 7(9), 119.

- <https://doi.org/10.3390/antiox7090119>
- Kennedy, M. A. (2010). A Brief Review of the Basics of Immunology: The Innate and Adaptive Response. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. Vet Clin North Am Small Anim Pract. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.01.003>
- Khan, M. M., & Khan, M. M. (2016). Overview of the Immune Response. In *Immunopharmacology* (pp. 1–55). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30273-7_1
- Khoo, H. E., Prasad, K. N., Kong, K. W., Jiang, Y., & Ismail, A. (2011). Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules16021710>
- Kiokias, S., Proestos, C., & Varzakas, T. (2016). A review of the structure, biosynthesis, absorption of carotenoids-analysis and properties of their common natural extracts. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 4(SpecialIssue1), 25–37. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.4.Special-Issue1.03>
- Koenderman, L., Burman, W., & Daha, M. R. (2014). The innate immune response. *Immunology Letters*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.10.010>
- Konopacka, M., & Rzeszowska-Wolny, J. (2001). Antioxidant Vitamins C, E and β -carotene reduce DNA damage before as well as after γ -ray irradiation of human lymphocytes in vitro. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 491(1–2), 1–7. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(00\)00133-9](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(00)00133-9)
- Kopec, R. E., & Failla, M. L. (2018). Recent advances in the bioaccessibility and bioavailability of carotenoids and effects of other dietary lipophiles. *Journal of Food Composition and Analysis*. Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.06.008>
- Kopsell, D. A., & Kopsell, D. E. (2010). Carotenoids in vegetables: Biosynthesis, occurrence, impacts on human health, and potential for manipulation. In *Bioactive Foods in Promoting Health* (pp. 645–662). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374628-3.00040-2>
- Krinsky, N., Mayne, S., & Sies, H. (2004). *Carotenoids in Health and Disease*.
- Kubo, M. (2018). Mast cells and basophils in allergic inflammation. *Current Opinion in Immunology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.06.006>
- Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. *Nutrition Journal*.

- BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5>
- Labrecque, N., & Cermakian, N. (2015). Circadian Clocks in the Immune System. *Journal of Biological Rhythms*, 30(4), 277–290. <https://doi.org/10.1177/0748730415577723>
- Lee, N. Y., Kim, Y., Kim, Y. S., Shin, J. H., Rubin, L. P., & Kim, Y. (2020). β -Carotene exerts anti-colon cancer effects by regulating M2 macrophages and activated fibroblasts. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 82, 108402. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108402>
- Legrand, F., Woerly, G., Driss, V., & Capron, M. (2008). Innate immune function of eosinophils: from antiparasite to antitumor cells. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 415, 215–240. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-570-1_13
- Li, R., Hong, P., & Zheng, X. (2019). β -carotene attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation via inhibition of the NF- κ B, JAK2/STAT3 and JNK/p38 MAPK signaling pathways in macrophages. *Animal Science Journal*, 90(1), 140–148. <https://doi.org/10.1111/asj.13108>
- Liew, P. X., & Kubes, P. (2019). The Neutrophil's role during health and disease. *Physiological Reviews*, 99(2), 1223–1248. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2018>
- Liu, J., Wang, Y., Xiong, E., Hong, R., Lu, Q., Ohno, H., & Wang, J.-Y. (2019). Role of the IgM Fc Receptor in Immunity and Tolerance. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00529>
- Lodoen, M. B., & Lanier, L. L. (2006). Natural killer cells as an initial defense against pathogens. *Current Opinion in Immunology*. Elsevier Current Trends. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2006.05.002>
- Long, H., Liao, W., Wang, L., & Lu, Q. (2016). A Player and Coordinator: The Versatile Roles of Eosinophils in the Immune System. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000445215>
- López Plaza, B., & Bermejo López, L. M. (2017). Nutrición y trastornos del sistema inmune. *Nutricion Hospitalaria*. Nutr Hosp. <https://doi.org/10.20960/nh.1575>
- Maggini, S., Pierre, A., & Calder, P. C. (2018). Immune function and micronutrient requirements change over the life course. *Nutrients*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu10101531>
- Maiani, G., Castón, M. J. P., Catasta, G., Toti, E., Cambrodón, I. G., Bysted, A., ...

- Schlemmer, U. (2009). Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition and Food Research*. Mol Nutr Food Res. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800053>
- Maoka, T. (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
- Marhuenda-Muñoz, M., Hurtado-Barroso, S., Tresserra-Rimbau, A., & Lamuela-Raventós, R. M. (2019). A review of factors that affect carotenoid concentrations in human plasma: differences between Mediterranean and Northern diets. *European Journal of Clinical Nutrition*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41430-018-0305-9>
- Marshall, J. S., Warrington, R., Watson, W., & Kim, H. L. (2018). An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>
- Martinez, F. O., Sica, A., Mantovani, A., & Locati, M. (2008). Macrophage activation and polarization. *Frontiers in Bioscience*. Front Biosci. <https://doi.org/10.2741/2692>
- Meléndez-Martínez, A. J. (2019). An Overview of Carotenoids, Apocarotenoids, and Vitamin A in Agro-Food, Nutrition, Health, and Disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(15), 1801045. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801045>
- Merle, N. S., Noe, R., Halbwachs-Mecarelli, L., Fremeaux-Bacchi, V., & Roumenina, L. T. (2015). Complement system part II: Role in immunity. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00257>
- Milani, A., Basirnejad, M., Shahbazi, S., & Bolhassani, A. (2017). Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *British Journal of Pharmacology*. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/bph.13625>
- Mody, C. H., & Oykman, P. (2010). Direct microbicidal activity of cytotoxic T-lymphocytes. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1155/2010/249482>
- Moser, M., & Leo, O. (2010). Key concepts in immunology. *Vaccine*. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.022>
- Namitha, K. K., & Negi, P. S. (2010). Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(8), 728–760. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499811>
- Navegantes, K. C., Souza Gomes, R., Pereira, P. A. T., Czaikoski, P. G., Azevedo, C. H.

- M., & Monteiro, M. C. (2017). Immune modulation of some autoimmune diseases: The critical role of macrophages and neutrophils in the innate and adaptive immunity. *Journal of Translational Medicine*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1141-8>
- Netea, M. G., Schlitzer, A., Placek, K., Joosten, L. A. B., & Schultze, J. L. (2019). Innate and Adaptive Immune Memory: an Evolutionary Continuum in the Host's Response to Pathogens. *Cell Host and Microbe*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.12.006>
- Nicholson, L. B. (2016). The immune system. *Essays in Biochemistry*, 60(3), 275–301. <https://doi.org/10.1042/EBC20160017>
- Nurmik, M., Ullmann, P., Rodriguez, F., Haan, S., & Letellier, E. (2020). In search of definitions: Cancer-associated fibroblasts and their markers. *International Journal of Cancer*. Wiley-Liss Inc. <https://doi.org/10.1002/ijc.32193>
- Oliveira, L. D. M., Teixeira, F. M. E., & Sato, M. N. (2018). Impact of Retinoic Acid on Immune Cells and Inflammatory Diseases. *Mediators of Inflammation*. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/3067126>
- Otsuka, A., & Kabashima, K. (2015). Mast cells and basophils in cutaneous immune responses. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/all.12526>
- Palozza, P., Parrone, N., Catalano, A., & Simone, R. (2010). Tomato Lycopene and Inflammatory Cascade: Basic Interactions and Clinical Implications. *Current Medicinal Chemistry*, 17(23), 2547–2563. <https://doi.org/10.2174/092986710791556041>
- Palozza, Paola, Simone, R., Catalano, A., Boninsegna, A., Böhm, V., Fröhlich, K., ... Ranelletti, F. O. (2010). Lycopene prevents 7-ketocholesterol-induced oxidative stress, cell cycle arrest and apoptosis in human macrophages. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(1), 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.10.002>
- Parham, P. (2015). *The immune system* (4th ed.).
- Patel, P., & Chatterjee, S. (2017). Innate and adaptive immunity: Barriers and receptor-based recognition. In *Immunity and Inflammation in Health and Disease: Emerging Roles of Nutraceuticals and Functional Foods in Immune Support* (pp. 3–13). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805417-8.00001-9>
- Patente, T. A., Pinho, M. P., Oliveira, A. A., Evangelista, G. C. M., Bergami-Santos, P.

- C., & Barbuto, J. A. M. (2019). Human dendritic cells: Their heterogeneity and clinical application potential in cancer immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, *10*(JAN), 3176. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03176>
- Pechinskii, S. V., & Kuregyan, A. G. (2014). The impact of carotenoids on immunity (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s11094-014-0992-z>
- Peng, S. J., Li, J., Zhou, Y., Tuo, M., Qin, X. X., Yu, Q., ... Li, Y. M. (2017). In vitro effects and mechanisms of lycopene in MCF-7 human breast cancer cells. *Genetics and Molecular Research*, *16*(2). <https://doi.org/10.4238/gmr16029434>
- Perera, C. O., & Yen, G. M. (2007). Functional Properties of Carotenoids in Human Health. *International Journal of Food Properties*, *10*(2), 201–230. <https://doi.org/10.1080/10942910601045271>
- Pérez-gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>
- Peyrot des Gachons, C., & Breslin, P. A. S. (2016). Salivary Amylase: Digestion and Metabolic Syndrome. *Current Diabetes Reports*. Current Medicine Group LLC 1. <https://doi.org/10.1007/s11892-016-0794-7>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. Springer India. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Prakash, D., & Gupta, C. (2014). Carotenoids: Chemistry and health benefits. <https://doi.org/10.1079/9781780643632.0181>
- Priyadarshani, A. M. B. (2017). A review on factors influencing bioaccessibility and bioefficacy of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(8), 1710–1717. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1023431>
- Qi, Z., Yin, F., Lu, L., Shen, L., Qi, S., Lan, L., ... Yin, Z. (2013). Baicalein reduces lipopolysaccharide-induced inflammation via suppressing JAK/STATs activation and ROS production. *Inflammation Research*, *62*(9), 845–855. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0639-7>
- Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>
- Raulet, D. H. (2004). Interplay of natural killer cells and their receptors with the adaptive immune response. *Nature Immunology*. Nat Immunol.

- <https://doi.org/10.1038/ni1114>
- Rich, R., Fleisher, T., Shearer, W., Schroeder, H., Frew, A., & Weyand, C. (2019). *Clinical Immunology* (5th ed.).
- Riera Romo, M., Pérez-Martínez, D., & Castillo Ferrer, C. (2016). Innate immunity in vertebrates: An overview. *Immunology*, *148*(2), 125–139. <https://doi.org/10.1111/imm.12597>
- Rodriguez-Concepcion, M., Avalos, J., Bonet, M. L., Boronat, A., Gomez-Gomez, L., Hornero-Mendez, D., ... Zhu, C. (2018). A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progress in Lipid Research*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.004>
- Rosales, C., Lowell, C. A., Schnoor, M., & Uribe-Querol, E. (2017). Neutrophils: Their role in innate and adaptive immunity 2017. *Journal of Immunology Research*. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2017/9748345>
- Saini, R. K., Nile, S. H., & Park, S. W. (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>
- Sanchez-Trincado, J. L., Gomez-Perosanz, M., & Reche, P. A. (2017). Fundamentals and Methods for T- and B-Cell Epitope Prediction. *Journal of Immunology Research*. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2017/2680160>
- Santos, M. S., Meydani, S. N., Leka, L., Wu, D., Fotouhi, N., Meydani, M., ... Gaziano, J. M. (1996). Natural killer cell activity in elderly men is enhanced by β -carotene supplementation. *American Journal of Clinical Nutrition*, *64*(5), 772–777. <https://doi.org/10.1093/ajcn/64.5.772>
- Sarrafzadeh, O., Dehnavi, A. M., Banaem, H. Y., Talebi, A., & Gharibi, A. (2017). The Best Texture Features for Leukocytes Recognition. *Journal of Medical Signals and Sensors*, *7*(4), 220–227. https://doi.org/10.4103/jmss.JMSS_7_17
- Sattler, S. (2017). The role of the immune system beyond the fight against infection. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1003, pp. 3–14). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-3-319-57613-8_1
- Satyanarayana, U., Viswa Prasad, D., Kumar, A., & Naidu, J. (2014). Antioxidant supplementation for health - a boon or a bane? *Journal of Dr. NTR University of Health Sciences*, *3*(4), 221. <https://doi.org/10.4103/2277-8632.146595>
- Schmidt, S., Tramsen, L., & Lehrnbecher, T. (2017). Natural killer cells in antifungal

- immunity. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01623>
- Schönfeldt, H. C., Pretorius, B., & Hall, N. (2015). Bioavailability of Nutrients. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 401–406). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00068-4>
- Selders, G. S., Fetz, A. E., Radic, M. Z., & Bowlin, G. L. (2017). An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. *Regenerative Biomaterials*, 4(1), 55–68. <https://doi.org/10.1093/rb/rbw041>
- Sepp, T., Karu, U., Sild, E., Männiste, M., & Hõrak, P. (2011). Effects of carotenoids, immune activation and immune suppression on the intensity of chronic coccidiosis in greenfinches. *Experimental Parasitology*, 127(3), 651–657. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.12.004>
- Shilpa, S., Shwetha, H. J., Raju, M., & Lakshminarayana, R. (2020). Factors affecting bioaccessibility and bio-efficacy of carotenoids. In *Carotenoids: Properties, Processing and Applications* (pp. 41–73). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817067-0.00002-6>
- Sompayrac, L. (2019). *How the Immune system works* (6th ed.).
- Spiering, M. J. (2015). Primer on the immune system. *Alcohol Research: Current Reviews*. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA).
- Srinivasan, M., Devipriya, N., Kalpana, K. B., & Menon, V. P. (2009). Lycopene: An antioxidant and radioprotector against γ -radiation-induced cellular damages in cultured human lymphocytes. *Toxicology*, 262(1), 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.05.004>
- Stone, K. D., Prussin, C., & Metcalfe, D. D. (2010). IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2), S73. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.11.017>
- Sun, J. C., Ugolini, S., & Vivier, E. (2014). Immunological memory within the innate immune system. *The EMBO Journal*. <https://doi.org/10.1002/emboj.201387651>
- Tan, B. L., & Norhaizan, M. E. (2019). Carotenoids: How Effective Are They to Prevent Age-Related Diseases? *Molecules*, 24(9), 1801. <https://doi.org/10.3390/molecules24091801>
- Tanne, A., & Bhardwaj, N. (2017). Dendritic Cells. In *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology* (pp. 126-144.e6). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323->

31696-5.00009-7

- Tanumihardjo, S. A., Russell, R. M., Stephensen, C. B., Gannon, B. M., Craft, N. E., Haskell, M. J., ... Raiten, D. J. (2016). Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—Vitamin A Review. *The Journal of Nutrition*, 146(9), 1816S-1848S. <https://doi.org/10.3945/jn.115.229708>
- Tomar, N., & De, R. K. (2014). A brief outline of the immune system. *Methods in Molecular Biology*, 1184, 3–12. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1115-8_1
- Toti, E., Chen, C.-Y. O., Palmery, M., Valencia, D. V., & Peluso, I. (2018). Non-Provitamin A and Provitamin A Carotenoids as Immunomodulators: Recommended Dietary Allowance, Therapeutic Index, or Personalized Nutrition? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4637861>
- Travers, J., & Rothenberg, M. E. (2015). Eosinophils in mucosal immune responses. *Mucosal Immunology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/mi.2015.2>
- Uenojo, M., Maróstica, R., Gláucia, J. E., & Pastore, M. (2007). CAROTENÓIDES: PROPRIEDADES, APLICAÇÕES E BIOTRANSFORMAÇÃO PARA FORMAÇÃO DE COMPOSTOS DE AROMA. *Quim. Nova* (Vol. 30).
- Upadhyaya, K. R., Radha, K. S., & Madhyastha, H. K. (2007). Cell cycle regulation and induction of apoptosis by β -carotene in U937 and HL-60 leukemia cells. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 40(6), 1009–1015. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2007.40.6.1009>
- Valenzuela, N. M., & Schaub, S. (2018). The biology of IgG subclasses and their clinical relevance to transplantation. *Transplantation*. Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001816>
- Vanamee, É. S., & Faustman, D. L. (2018). Structural principles of tumor necrosis factor superfamily signaling. *Science Signaling*. American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aao4910>
- Varela, J. C., & Tomlinson, S. (2015). Complement. An Overview for the Clinician. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2015.02.001>
- Wacleche, V. S., Tremblay, C. L., Routy, J. P., & Ancuta, P. (2018). The biology of monocytes and dendritic cells: Contribution to HIV pathogenesis. *Viruses*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/v10020065>
- Walzer, T., Dalod, M., Robbins, S. H., Zitvogel, L., & Vivier, E. (2005). Natural-killer

- cells and dendritic cells: “L’union fait la force.” *Blood*. American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1154>
- Wang, J. C., Bolger-Munro, M., & Gold, M. R. (2018). Imaging the interactions between B cells and antigen-presenting cells. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1707, pp. 131–161). Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7474-0_10
- Watson, R. R., Prabhala, R. H., Plezia, P. M., & Alberts, D. S. (1991). Effect of β -carotene on lymphocyte subpopulations in elderly humans: Evidence for a dose-response relationship. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53(1), 90–94. <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.1.90>
- Westphal, A., & Böhm, V. (2015). Carotenoids. Properties, distribution, bioavailability, metabolism and health effects. *Ernahrungs Umschau*, 62(11), 196–207. <https://doi.org/10.4455/eu.2015.036>
- WHO. (2011). Guideline: vitamin A supplementation in infants and children 6-59 months of age. Retrieved September 5, 2020, from <https://www.who.int/publications/i/item/9789241501767>
- WHO. (2018). Cancer. Retrieved September 5, 2020, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Wichers, H. (2009). Immunomodulation by food: Promising concept for mitigating allergic disease? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2838-1>
- Wieczorek, M., Abualrous, E. T., Sticht, J., Álvaro-Benito, M., Stolzenberg, S., Noé, F., & Freund, C. (2017). Major histocompatibility complex (MHC) class I and MHC class II proteins: Conformational plasticity in antigen presentation. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00292>
- Wirth, J., Petry, N., Tanumihardjo, S., Rogers, L., McLean, E., Greig, A., ... Rohner, F. (2017). Vitamin A Supplementation Programs and Country-Level Evidence of Vitamin A Deficiency. *Nutrients*, 9(3), 190. <https://doi.org/10.3390/nu9030190>
- Woodside, J. V., McGrath, A. J., Lyner, N., & McKinley, M. C. (2015). Carotenoids and health in older people. *Maturitas*. Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.10.012>
- Xing, Z., & Wang, J. (2005). Consideration of Cytokines as Therapeutics Agents or Targets. *Current Pharmaceutical Design*, 6(6), 599–611.

- <https://doi.org/10.2174/1381612003400623>
- Yamanishi, Y., & Karasuyama, H. (2016). Basophils and mast cells in immunity and inflammation. *Seminars in Immunopathology*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00281-016-0582-0>
- Yang, B. G., Seoh, J. Y., & Jang, M. H. (2017). Regulatory eosinophils in inflammation and metabolic disorders. *Immune Network*. Korean Association of Immunologists. <https://doi.org/10.4110/in.2017.17.1.41>
- Yatim, K. M., & Lakkis, F. G. (2015). A brief journey through the immune system. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(7), 1274–1281. <https://doi.org/10.2215/CJN.10031014>
- Yeum, K.-J., & Russell, R. M. (2002). Carotenoid Bioavailability and Bioconversion. *Annual Review of Nutrition*, 22(1), 483–504. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.010402.102834>
- Zhang, F., Fu, Y., Zhou, X., Pan, W., Shi, Y., Wang, M., ... Song, Y. (2016). Depression-like behaviors and heme oxygenase-1 are regulated by Lycopene in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation. *Journal of Neuroimmunology*, 298, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.06.001>
- Zhang, J. M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *International Anesthesiology Clinics*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>