

## Nicotinamida: Relevante papel na prevenção e no tratamento da carcinogênese humana, porque regula o NAD+ celular

27/12/2004

### Dr. Jose de Felipe Junior

A nicotinamida é uma vitamina que deve ser adquirida pelos mamíferos , de fontes alimentares. O NAD+ , considerado marcador do status da nicotinamida, têm a sua concentração significativamente diminuída na carcinogênese humana, fato não observado na carcinogênese animal correspondente.

Pelo fato de o NAD ser importante na modulação do metabolismo dos polímeros de ADP-ribose , na expressão da proteína supressora de tumor : p53 , na inibição da síntese de RNA e DNA dos tecidos em proliferação, na metilação do RNA transportador e na participação da crucial fosforilação oxidativa , torna-se evidente o papel relevante da nicotinamida na prevenção e no tratamento da carcinogênese humana.

Salientamos ainda que os polímeros de ADP-ribose , estão envolvidos com respostas celulares que podem levar as células normais à recuperação , apoptose ou necrose e que os polímeros de ADP-ribose cíclico são potentes liberadores de cálcio, os quais podem mediar vias de sinalização celular para a apoptose ou necrose de células malignas.

Os níveis tissulares dos NAD ( NAD+ , NADH , NADP+ , NADPH ) , são regulados primariamente pela concentração de nicotinamida do sangue, que por sua vez é regulada pelo fígado, sob influência hormonal. Quando escrevemos simplesmente, NAD estamos nos referindo à somatória dos quatro piridino nucleotídeos também chamados de nicotinamida adenina dinucleotídeos.

Em resposta à nicotinamida administrada, há uma utilização preferencial de ATP (adenosina trifosfato ) e de PRPP ( 5-fosforilribose-1-pirofosfato ) celular para a síntese dos adenina dinucleotídeos. Esta biosíntese prioritária , cujo propósito é a conservação da nicotinamida intracelular, pode explicar o porquê da nicotinamida inibir a síntese de RNA e DNA nos tecidos em proliferação o que torna claro a razão de níveis elevados de nicotinamida serem tóxicos para animais em fase de crescimento, para células de mamíferos em cultura e para as células em ritmo acelerado de crescimento como o câncer. A nicotinamida não interfere no crescimento de crianças em fase de crescimento.

A regulação hepática da nicotinamida no sangue envolve a conversão do excesso de nicotinamida sérica em "NAD armazenada" ou em produtos inativos de excreção e quando o nível de nicotinamida está diminuído, envolve a conversão por hidrólise do "NAD armazenado" em nicotinamida sérica .

Contribui para o "NAD armazenado" e portanto para a nicotinamida sérica o triptofano e o ácido nicotínico. O fígado e talvez os rins são capazes de converter irreversivelmente o triptofano em NAD. Cada 60 mg de triptofano, consumido na forma de proteína, pode ser convertido em 1 mg de niacina, entretanto tal fato acontece apenas após algumas semanas de deficiência de nicotinamida. O ácido nicotínico é convertido no fígado em nicotinamida e depois irreversivelmente em NAD.

A principal via de excreção da nicotinamida é através da formação da 1-metil nicotinamida. Esta reação requer a presença de S-adenosil-metionina (SAME ) e forma como sub produto a S-adenosil-homocisteína, que é um potente inibidor da enzima t-RNA metiltransferase (metiltransferase do RNA transportador) tanto em células normais como nas células malignas. A inibição desta enzima impede a metilação do t-RNA e portanto impede a sua função. A falência em sintetizar moléculas pelo t-RNA , acarreta a inibição da síntese proteica e a parada da proliferação celular maligna (Swiatek,1973).

Os quatro piridino nucleotídeos , NAD+, NADH, NADP+ e NADPH, estão relacionados uns aos outros, através de reações de oxido-redução, transhidrogenação e fosforilação. O NAD+ é a fonte de todos os outros piridino nucleotídeos.

### **Reparação do DNA**

Existem consideráveis evidências que indicam que o conteúdo de NAD nas células , influenciam a resposta celular às lesões genômicas, porque o NAD é diretamente consumido na síntese de polímeros de ADP-ribose e de ADP-ribose cíclico. Os estudos para determinar as concentrações ótimas de NAD para regenerar o DNA lesado em células epiteliais da mama, revelam que a lesão do DNA serve de estímulo para a biosíntese do NAD e que a restauração do DNA lesado é muito mais rápida , ocorrendo várias horas antes, na presença de altos níveis de NAD.

Análises de pele humana com queratose actínica ou carcinoma epidermoide, mostram que o conteúdo de NAD da pele está inversamente relacionado com o fenótipo maligno.

Jacobson em 1993, estudou a relação entre a deficiência de nicotinamida e o câncer da mulher. O interesse veio da descoberta de que a principal forma desta vitamina, NAD , é consumida como substrato nas reações de transferência de ADP-ribose. A poli-ADP-ribose polimerase, enzima ativada pela quebra do DNA, é a ADP-ribosiltransferase de maior interesse com respeito ao status da nicotinamida nas células, porque o aumento da sua atividade pode depletar o NAD. Estudos sobre as conseqüências da lesão do DNA em células humanas, suportam a hipótese que a nicotinamida funcione como fator de proteção que limita a carcinogênese.

### **Estudos em Cultura**

O intenso metabolismo do NAD nas células dos mamíferos em proliferação, está relacionado com a utilização do NAD para as reações de ribosilação e formação de poli-ADP-ribose.

O conteúdo de NAD+ plus NADH de células normais em crescimento exponencial, aumenta durante a proliferação, alcança um máximo logo antes da inibição-dependente da densidade celular e permanecem em níveis relativamente altos durante o estado de inibição-dependente da densidade celular.

Quando ocorre deficiência de nicotinamida as células normais em cultura permanecem viáveis e continuam a proliferar por mais quatro gerações.

Quando as células normais são obrigadas a se transformar pela ação do vírus SV40, os níveis absolutos de NAD<sup>+</sup> plus NADH intracelular, diminuem de 2 a 3 vezes. Estas células transformadas não exibem inibição dependente da densidade celular e portanto são verdadeiros modelos de crescimento maligno.

Seja qual for a densidade celular, o conteúdo de NAD<sup>+</sup> plus NADH de células não transformadas é maior do que nas células transformadas. Este fato é um claro sinal que a fosforilação oxidativa está prejudicada nas células transformadas, provocando a diminuição da produção de NAD<sup>+</sup> e de ATP.

### **Toxicidade da Nicotinamida**

---

A toxicidade de altas concentrações de nicotinamida é bem documentada em estudos de animais intactos, tecidos em regeneração e células em cultura.

O crescimento de ratos jovens é seriamente retardado quando são alimentados diariamente com excesso de nicotinamida (5mmol/Kg) e os ratos adultos perdem massa muscular quando alimentados diariamente com 10 mmol/kg.

Revel e Mandel em 1962, verificaram que a nicotinamida suprime a síntese de RNA em rins que estão se hipertrofiando pela falta do rim contra lateral. O excesso de nicotinamida inibe a incorporação de fósforo radioativo no RNA nuclear. A prioridade metabólica de formar NAD<sup>+</sup> em resposta à nicotinamida, depleta ATP e PRPP do rim em hipertrofia.

O mesmo mecanismo opera na supressão da síntese de DNA dependente de nicotinamida no fígado em regeneração. A presença de excesso de nicotinamida, diminui o número de mitoses de 1580 para 41 por 10 5 núcleos, demonstrando o efeito direto da nicotinamida sobre a inibição da proliferação celular.

Knip em 2000, fez uma revisão sobre as doses seguras de nicotinamida em seres humanos. Adverte que doses muito elevadas provocam hepatotoxicidade e aumento das enzimas hepáticas, entretanto tais efeitos são reversíveis. Mostrou também que doses elevadas pode inibir o crescimento de ratos, mas, não de crianças. Quando as preparações de nicotinamida são relativamente puras, ela é bem tolerada em doses de até 3 g ao dia, por longos anos.

### **Nicotinamida e Hipertermia**

---

A hipertermia aumenta a potência da quimioterapia e da radioterapia in vitro e in vivo.

Alguns estudos mostraram que a hipertermia altera o metabolismo dos polímeros de adenosina difosfato (ADP)ribose, necessários para a reparação do DNA lesado e que a atividade da enzima poli-ADP-ribose polimerase ( PARP ) é muito sensível aos níveis de NAD celular.

Robins em 1991, estudou os efeitos da hipertermia de 41,8 graus Celsius, sobre os níveis de NAD e ATP de linfócitos do sangue humano, in vitro e in vivo. Os estudos in vitro mostraram significativa diminuição do NAD<sup>+</sup> e dos níveis de ATP. A depleção do NAD não foi atribuída ao aumento do consumo enzimático do NAD<sup>+</sup> ou à perda do nucleotídeo. Como a redução do NAD<sup>+</sup> foi suficiente para diminuir a atividade da enzima PARP em 50%, o autor estendeu seu estudo para casos clínicos.

O conteúdo celular de NAD<sup>+</sup> e ATP foram analisados em linfócitos previamente estocados de quatro pacientes, antes e depois da hipertermia global. O autor observou uma significativa diminuição dos níveis de NAD<sup>+</sup>, consistente com os achados in vitro.

Três pacientes foram estudados prospectivamente. O NAD<sup>+</sup> foi dosado na amostra retirada imediatamente antes e após a hipertermia global. Os resultados foram semelhantes: queda dos níveis de NAD<sup>+</sup>.

A biosíntese de NAD<sup>+</sup> e ATP, estão intimamente relacionadas. A resíntese do ATP consumido nas reações de transferência de radicais adenil, fosforil e pirofosforil, requerem substrato e fosforilação oxidativa a qual por sua vez é altamente dependente das reservas de NAD<sup>+</sup> celular. Se a hipertermia afetar a biosíntese de ATP, o conteúdo de NAD<sup>+</sup> diminuirá e vice-versa.

Os níveis de NAD<sup>+</sup> intracelular se encontram nos níveis mínimos necessários para a síntese da enzima PARP. Qualquer diminuição de NAD<sup>+</sup>, limita a síntese desta enzima o que vai impedir a reparação do DNA lesado pela hipertermia. Já foi demonstrado que a diminuição da atividade da enzima PARP provoca aumento da morte celular.

Concluindo: a hipertermia sensibiliza as células malignas aos agentes anticâncer que lesam o DNA (alguns quimioterápicos e radioterapia), bloqueando a resíntese do NAD que é consumido na síntese dos polímeros de ADP-ribose e portanto limitando a síntese destes polímeros e a reparação do DNA, o que facilitará a morte celular.

### **Nicotinamida e Radioterapia**

---

A hipoxia tumoral limita os resultados da radioterapia: radioresistência.

Overgaard em 1995, a partir de uma meta análise, concluiu que a redução da hipoxia confere vantagens à radioterapia, quando comparada com a radioterapia isolada.

É necessário reduzir as duas formas de hipoxia, a de difusão e a de perfusão. O uso do carbogênio ( 95% oxigênio e 5% gás carbônico ) , melhora a hipoxia por difusão, porque aumenta a liberação de O<sub>2</sub> pela hemoglobina e porque maior quantidade de O<sub>2</sub> é dissolvida no plasma. A nicotinamida em altas doses provoca vasodilatação arteriolar e melhora a hipoxia aumentando a perfusão tumoral.

Vários estudos mostram que a nicotinamida possui um efeito sensibilizante da radioterapia e da hipertermia. ( Horsman -1987 - 1988 - 1990 )

Dragovic em 1995, estudou as doses necessárias de nicotinamida para aumentar a sensibilidade tumoral à radioterapia e hipertermia. Concluiu que para provocar sensibilização em tumores humanos a dose segura e bem tolerada é de 6 g por via oral, em dose única, em jejum, administrada 60 minutos antes da radioterapia ou imediatamente antes da hipertermia. MacLaren em 1997, mostrou que a nicotinamida diminui a hipoxia de tumores humanos quando administrada imediatamente antes da radioterapia.

## Proteína p53

A nicotinamida e o resultante NAD celular modulam a expressão da proteína supressora de tumor p53 , em várias linhagens de células malignas de pulmão, de pele e de mama.

Donehower em 1992, mostrou que em ratos a perda de função da proteína p53 , contribui para a emergência de um fenótipo maligno.

Whitacre em 1995, concluiu que o NAD é o único substrato da poli-ADP-ribose-polimerase (PARP) e assim a síntese da poli-ADP-ribose (pADPR) se encontra deficiente nas células com restrição severa de NAD. As células deficientes em NAD e na enzima PARP exibem significativa redução da expressão do importante gene supressor de tumor: p53.

Luo em 2001, mostrou que a nicotinamida inibe a desacetilação da p53 dependente da NAD, quando induzida pela Sir2alfa e também a nicotinamida aumenta a acetilação da p53 in vivo. A proteína p53 somente se encontra ativa na forma acetilada.

## NAD+ e Metabolismo Tumoral

A depleção de NAD+ intracelular, provoca conseqüências metabólicas específicas.

Comes em 1976, dosou o NAD e o NADH no sangue de 188 pacientes com câncer. O NAD estava significativamente diminuído nos pacientes com carcinoma de mama e de cervix e inalterado nos pacientes com câncer de pulmão e câncer metastático, quando comparado com pessoas normais. O NADH não mostrou diferenças conclusivas.

Chung em 1982, mostrou a associação entre a carcinogênese humana e a diminuição do NAD celular, assinalando as seguintes evidências: 1- as concentrações de NAD e ATP são baixas nas células com câncer; 2- os carcinogênicos químicos e a radiação podem provocar a queda do NAD em células pré cancerosas; 3- o NAD está envolvido na regulação da síntese do DNA; 4- a queda da concentração do NAD pode levar à expressão de oncogenes e ou virogenes, de acordo com a hipótese do protovírus .

Jacobson em 1993, verificou que as mulheres com câncer apresentam níveis menores de NAD no sangue, quando comparado com controles normais. Quando o aporte de nicotinamida da dieta diminui, a NAD prontamente declina no intracelular, enquanto que o NADP permanece relativamente constante.

Albeniz em 1997, estudou a ribosilação do ADP das proteínas do soro em vários grupos de doenças humanas e mostrou alterações da ribosilação apenas nas doenças neoplásicas : aumento maior do que 5 vezes na ribosilação do ADP no câncer. Amostras de sangue com altos níveis de ribosilação de ADP, revelam em geral o aumento da atividade da NAD glicohidrolase sérica e baixos níveis de NAD sérico.

Whigh e Wei em 1996, mostraram o papel do NAD intracelular na ativação da protease 24-KD ( AP24 ) , que provoca a fragmentação internucleossomal do DNA e morte celular.

A depleção nutricional do NAD , a níveis indetectáveis, em duas linhagens de leucemia ( U937 e HL-60 ) as torna completamente resistentes à apoptose, quando expostas ao fator de necrose tumoral, luz ultravioleta e alguns quimioterápicos. Este fato foi atribuído ao bloqueio da ativação da protease apoptótica AP24. Os autores também observaram o mesmo efeito em outras linhagens de leucemia : KG1a, YAC-1 e BW1547, suportando o papel essencial dos sinais de transdução dependentes do NAD, na apoptose dessas células. Ressaltemos que este mecanismo não é universal, pois não opera nas leucemias tipo BJAB e tipo Jurkat, que experimentam apoptose independentemente dos níveis de NAD intracelular.

Quando os níveis de NAD+ caem na célula, o metabolismo energético torna-se dependente da enzima GAPDH ( gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase ) e de outras desidrogenases contendo piridino nucleotídeos .

A mitocôndria intacta é relativamente impermeável aos piridino nucleotídeos, porém pode se tornar permeável em vários graus e perder NAD+. Nesta linha de raciocínio, Kielley-1952 , Wenner e Weinhouse -1953 e Hawtrey-1960 , mostraram que a mitocôndria isolada de diversos tumores são deficientes na sua capacidade oxidativa , porém a respiração normal pode ser restaurada pela suplementação com NAD+ .

Esses trabalhos sugerem que as mitocôndrias dos tumores não são integras e que prontamente podem perder ou ganhar o seu suprimento de NAD+. Desta forma, as mitocôndrias de diversos tumores perdem NAD+ , porém o processo é reversível. Este fato é mais uma evidência que nos faz acreditar na possibilidade de recuperação da célula maligna: diferenciação celular. Uma vez diferenciada as células seguirão o seu normal caminho biológico : morte celular programada.

A perda de NAD+ mitocondrial na presença de NADglicohidrolases ativas, provocam o aumento da glicólise anaeróbia e o aumento da acidez intracelular , por aumento do lactato. A transformação do ácido láctico em piruvato requer a presença de NAD+ como cofator essencial.

O aumento da glicólise anaeróbia, freqüentemente associada com os tumores em fase de franco crescimento, pode ser causada em parte pela combinação do defeito mitocondrial e em parte pelos efeitos depletórios do NAD+ provocados pela ativação das NAD glicohidrolases ou das poli ADP-ribose polimerases.

O NAD+ é também cofator essencial da piruvato-dehidrogenase , isocitrato-dehidrogenase e alfa-cetoglutarato-dehidrogenase , enzimas do ciclo de Krebs, que fazem parte de fosforilação oxidativa.

Warburg em 1926 demonstrou que a glicólise anaeróbia sempre está presente nas células cancerosas e que embora a fosforilação oxidativa possa estar presente, ela não guarda relação com a proliferação do câncer.

Devemos ressaltar que a correlação entre o aumento da glicólise anaeróbia e a proliferação celular maligna tem sido freqüentemente citada e defendida na literatura, após o trabalho e intuição de Warburg ( Boxer-1961 , Aisenberg-1961 , Burk-1967 ) e que a diminuição do NAD+ intracelular observado nas células em proliferação maligna tem sido muito bem documentada ( Von Euler-1938 , Bernheim-1940 , Kensler-1940 , Taylor-1942 , Schlenk-1946 , Carruthers-1953 , Strength-1954 , Jedeikin-1955 , Jedeikin-1956 , Narurkar-1957 , Glock-1957 , Briggs-1960 , Wintzerith-1961 , Clark-1966 ).

## Referências Bibliográficas

1. Aisenberg, A.C. The Glycolysis and Respiration of Tumors, Academic Press, New York, 224 pp. 1961.
2. Albeniz, I.U.; Nurten, R.; Bermek, E.. ADP-ribosylation of serum proteins: elevated levels in neoplastic cases due to altered

- NAD/ADP-ribose metabolism. *Cancer Invest*; 15(3):217-23, 1997.
3. Bernheim, F.; Von Felsovanyi, A., *Science*, 91,p.76, 1940.
  4. Bernofsky, C.. Physiology aspects of pyridine nucleotide regulation in mammals. *Mol Cell Biochem*; 33(3): 135-43,1980.
  5. Boxer, G.E.; Devlin, T.M. *Science*, 134,1495-1501, 1961.
  6. Briggs, M.H.. *Nature*, 187,249-250, 1960.
  7. Burk, D.; Woods, M.; Hunter, J.. *J. Nat. Canc. Inst.*, 38, 839-863, 1967.
  8. Carruthers, C., Suntzeff, V. *Arch. Biochem. Biophys.*, 45,140-148, 1953.
  9. Carruthers, C., Suntzeff, V. *Cancer Res.* , 14,29-33, 1954.
  10. Chung, K.T.. An association of carcinogenesis and decrease of cellular NAD concentration. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi*; 15(4):309-18 , 1982.
  11. Clark, J.B.; Greenbaum, A.L.; McLean, P. *Biochem. J.*, 98,546-556, 1966.
  12. Comes, R.; Mustea, I. The levels of NAD and NADH in blood of patients with cancer. *Neoplasma*; 23(4):451-5, 1976.
  13. Donehower, L.A.; Harvey, M.; Slagle, B.L.; McArthur, M.J.; Montgomery, C.A.; ButelAllanBradley, J.S.. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours . *Nature* 356, 215-221, 1992.
  14. Dragovic, J.; Kim, S.H.; Brown, S.L. ; Kim, J.H.. Nicotinamide pharmacokinetics in patients . *Radiotherapy and Oncology*, 36, 225-228, 1995.
  15. Glock, G.E. ; McLean, P. *Biochem. J.*, 65, 413-416, 1957.
  16. Hawtrey,A.O. ; Silk, M.H. *Biochem, J.* 74, 21-26, 1960.
  17. Horsman, M.R., Brown, J.M., Hirst, V.K., Lemmon, M.J., Wood, P.J., Dunphy, E.P. and Overgaard, J. Mechanism of action of the selective tumor radiosensitizer nicotinamide. *Int. J. Radiat. Oncol. Bio. Phys.* 15:685-690, 1988.
  18. Horsman, M.R., Chaplin, D.J. and Brown, D.M. Radiosensitization by nicotinamide in vivo: A greater enhancement of tumor damage compared to that of normal tissues. *Radiat. Res.* 109:479-489, 1987.
  19. Horsman, M.R., Chaplin, D.J. and Overgaard, J. Combination of nicotinamide and hyperthermia to eliminate radioresistant chronically and acutely hypoxic tumor cells. *Cancer Res.* 50: 7430-7436, 1990.
  20. Jacobson, E.L. Niacin deficiency and cancer in women. *J. Am. Coll Nutr*; 12(4): 412-6, 1993.
  21. Jacobson, E.L.; Shieh, W.M.; Huang, A. C.. Mapping the role of NAD metabolism in prevention and treatment of carcinogenesis. *Mol Cell Biochem*; 193(1-2):69-74, 1999.
  22. Jedeikin, L. ; Weinhouse, S., *J. Biol. Chem.* , 213, 271-280, 1955.
  23. Jedeikin, L. ; Weinhouse, S., *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 2, p.26, 1955.
  24. Jedeikin, L.; Thomas, A.J. ;Weinhouse, S., *Cancer Res.*, 16,867-872, 1956.
  25. Kensler, C.J.; Suguira, K.; Rhoads, C.P. *Science*, 91, p. 623, 1940.
  26. Kielley, R. K. *Cancer Res.*, 12, 124-128, 1952.
  27. Knip, M.; Douek, I.F.; Moore, W.P.; Gillmor, H.A; McLean, AE.; Bingley, P.J.; Gale, E.A.. Safety of high-dose nicotinamide : a review. *Diabetologia* ; 43(11): 1337-45, 2000.
  28. Luo, J.;Nikolaev, A.Y.; Imai, S.; Chen, D.; Su, F.; Shiloh, A.; Guarente, L. Gu, W.. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress . *Cell*; 107( 2):137-48, 2001.
  29. McLaren, D.B.; Pickles, T.; Thomson, T.; Olive, P.L.. Impact of nicotinamide on human tumour hypoxic fraction measured using the comet assay. *Radiother Oncol* ; 45(2):175 - 82, 1997.
  30. Narurkar, M.V.; Kumta, U.S., Sahasrabudhe, M.B.. *Brit. J. Cancer* , 11,482-486, 1957.
  31. Overgaard J. Modification of tumour hypoxia – from Gottwald Schwartz to Nicotinamide . Have we learnt the lesson ? Fifth International Meeting on Progress in Radio-Oncology. Salzburg, Austria, 1995.
  32. Revel, M. ; Mandel, P. *Cancer Res.*, 22,456-462, 1962.
  33. Robins, H.I.; Jonsson, G.G.; Jacobson, E.L.; Schmitt, C.L.; Cohen, J.D.; Jacobson, M.K.. Effect of hyperthermia in vitro and in vivo on adenine and pyridine nucleotide pools in human peripheral lymphocytes . *Cancer*; 67(8):2096-102, 1991.
  34. Schlenk, F.. *Cancer Res.*, 6, 495-496, 1946.
  35. Sibtain, A.; Hill, S.; Goodchild, K.; Shah, N.; Saunders, M.; Hoskin, P.J. . The modification of human tumour blood flow using pentoxifylline, nicotinamide and carbogen. *Radiotherapy and Oncology* 62, 69-76, 2002.
  36. Strength, D.R.; Seibert, M.A.. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1, p. 47, 1954.
  37. Swiatek, K.R.; Simon,L.N.; Chao, K.L.. Nicotinamide Methyltransferase and S-Adenosylmethionine : 5´ - Methylthioadenosine Hydrolase . *Control of Transfer Ribonucleic Acid Methylation. Biochemistry*, Vol. 12 no. 23, 1973.
  38. Taylor, A.; Pollack, M.A. ; Hofer, M.J.; Williams, R. *J. Cancer Res.*, 2, 744-747, 1942.
  39. Von Euler, H.; Schlenk, F.; Heiwinkel, H.; Hogberg, B.. *Z. Physiol. Chem.*, 256,208-228, 1938.
  40. Warburg, O.. On the origin of cancer cells. *Science* 123:309-314, 1956.
  41. Warburg, O.. Ubre den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochem Zeitschr* 152:308, 1924.
  42. Wenner, C.E.; Spirtes, M.A. ;Weinhouse, S. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 78,416-421, 1951.
  43. Wenner, C.E.; Weinhouse, S..*Cancer Res.*, 13, 21-26,1953.
  44. Whitacre, C.M.; Hashimoto, H.; Tsai, M.L.; Chatterjee, S.; Berger, S.J.; Berger, N.A.. Involvement of NAD-Poly (ADP-Ribose) Metabolism in p53 Regulation and Its Consequences . *Cancer Research* 55,3697-3701, 1995.
  45. Wintzerith, M.; Klein, N.; Mandel, L.; Mandel, P. *Nature*, 191, 467-469, 1961.
  46. Wright, B.S.C.; Wei, Q.S.; Kinder, D.H.; Larrick, J.W.. Biochemical Pathways of Apoptosis : Nicotinamide Adenine Dinucleotide-deficient Cells Are Resistant to Tumor Necrosis Factor or Ultraviolet Light Activation of the 24-kD Apoptotic Protease and DNA Fragmentation. *J.Exp.Med.*, 463-471, 1996.

José de Felipe Junior