

ÍNDICE

Abreviaturas	2
Resumo	4
Abstract	5
Introdução	6
Métodos	9
Resultados	
1. Restrição calórica e longevidade	10
2. Restrição calórica e os seus efeitos no gasto energético	11
3. Restrição calórica e seus efeitos na doença aterosclerótica/ inflamação/ fibroesclerose	12
4. Restrição calórica e os seus efeitos no eixo neuro-endócrino e no SNA	15
5. O paradoxo da restrição calórica e da obesidade em indivíduos mais velhos	18
6. Restrição calórica e o stresse oxidativo	19
7. Restrição calórica e a neurobiologia	30
8. Restrição calórica e o seu efeito no cancro	32
9. Miméticos da restrição calórica	33
Discussão/Conclusão	36
Referências bibliográficas	38

ABREVIATURAS

8-epi-PGF2 α _ 8-epi-prostaglandina F2 α
 8-OHdG_ 8-hidroxi-2' deoxiguanosina
 8-oxodGuo_ 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine
 8-oxoGua_ 8-oxo-7,8-dihydroguanine
 8-oxoGuo_ 8-oxo-7,8-dihydroguanosine
 ADN_ ácido desoxirribonucleico
 ADNmt_ ADN mitochondrial
 AGE_ advanced glycation end products
 AMPK_ AMP-activated protein kinase
 AP_ activator protein 1
 APP_ amiloide precursor protein
 ARN_ ácido ribonucleico
 BAX_ bcl-2 associated X protein
 BDNF_ brain derived neurotrophic factor
 BEN/NER_ base and nucleotide excision repair
 CALERIE_ Comprehensive Assessment of the Long-term Effect of Reducing Intake of Energy
 CpG_ cytosine phosphate guanine
 CRONies_ Calorie Restriction with Optimal Nutrition
 CTE_ cadeia transportadora de eletrões
 DPOC_ doença pulmonar obstrutiva crónica
 E2F-1_ E2F transcription factor 1
 eNOS_ endothelial nitric oxide synthase
 ERO_ espécies reativas de oxigénio
 FapyGua_ 2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine
 FOXO_ O subclass of the forkhead family of transcription factores
 GH_ growth hormone
 GLUT4_ glucose transporter type 4
 GPx_ glutaciona peroxidase
 H₂O₂_ peróxido de hidrogénio

HDL-C_ high density lipoprotein cholesterol
HNE_ 4-hidroxi-2-nonenal
HRV_ heart rate variability
hTERT_ human telomerase reverse transcriptase
IGF-1_ Insulin-like growth factor 1
IL-6_ interleucina 6
IMC_ índice de massa corporal
JNK_ c-Jun N-terminal kinase
LDL-C_ low density lipoprotein cholesterol
MEC_ matriz extracelular
MRC_ miméticos da restrição calórica
mTOR_ mammalian target of rapamycin
NAD+_ nicotinamide adenine dinucleotide (oxidado)
NADPH_ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen (reduzido)
NE_ norepinefrina
NRF2/ARE _ nuclear factor erythroid 2 related factor 2/ antioxidant response
PCR_ proteína C reativa
PGC-1 α _ peroxisome proliferator-activated receptor G co-activator 1 α
PGDF_ platelet-derived growth factor
RAS_ superfamília de proteínas de pequenas GTPases
RC_ restrição calórica
ROCK1_ Rho-associated protein kinase-1
SIRT_ sirtuína
SNA_ sistema nervosa autónomo
SOD_ superóxido dismutase
SODMn_ superóxido dismutase de manganês
STACs_ sirtuin activating compounds
TGF_ tumor growth factor
TNF α _ tumor necrosis factor α
TTGO_ teste de tolerância à glucose oral
WD_ western diet

RESUMO

A dieta de restrição calórica tem potencial para contrariar o aparecimento de patologias associadas à idade, reduzir o ritmo de envelhecimento, e aumentar a longevidade, intervindo tanto no envelhecimento primário como no secundário. Os seus efeitos vão muito para além da diminuição do peso corporal. Praticamente todos os fatores de risco da doença aterosclerótica são melhorados, o que juntado ao decréscimo dos mediadores inflamatórios e à diminuição de fibrose, vai preservar a integridade da função vascular durante o envelhecimento. A RC revelou diminuir o risco de diabetes *mellitus* tipo 2, e aumentar a adiponetina; os seus efeitos na insulina são complexos mas apontam no sentido de aumentar a sobrevivência. A RC retarda também a deterioração do SNA, tem um papel favorecedor no cérebro, especialmente se este já for envelhecido, e mostra-se capaz de reduzir o aparecimento de neoplasias malignas. Através da modulação do stress oxidativo, a RC afeta amplamente processos inerentes à deterioração do organismo com o tempo, como a peroxidação lipídica, a oxidação de proteínas, o dano do DNA nuclear e mitocondrial, o dano do RNA.

Ao estimular a atividade de sirtuínas, a RC consegue estabilizar a transferência de eletrões na CTE, aumentar a biodisponibilidade da eNOS (diminuindo a pressão arterial), modular a transcrição de genes pela desacetilação de histonas, o que implica a compactação da cromatina, e intervir ainda na prevenção da doença de Alzheimer.

PALAVRAS-CHAVE

Restrição calórica; Envelhecimento primário; Envelhecimento secundário; Longevidade; Stress oxidativo; Sirtuínas.

ABSTRACT

The diet of calorie restriction (CR) has the potential to counteract the emergence of age-associated pathologies, to reduce the rate of aging, and to increase longevity, intervening in both primary and secondary aging. CR effects go far beyond the decrease in body weight. Almost all the risk factors for atherosclerotic disease are improved, which associated to the decrease of inflammatory mediators and of fibrosis will preserve the integrity of the vascular function during aging. CR revealed to decrease the risk of type 2 diabetes mellitus, and increase the adiponectin; CR effects on insulin are complex but they indicate an increase in the survival. RC also delays SNA deterioration, has a protective role in the brain, particularly in the aging brain, and shows capacity to reduce the appearance of cancer. Through the modulation of oxidative stress, RC widely affects processes inherent to the deterioration of the body over time, such as lipid peroxidation, protein oxidation, and damage of nuclear and mitochondrial DNA and RNA.

By stimulating the activity of sirtuins, CR can stabilize the electron transfer in the electron transport chain, increase the bioavailability of eNOS (which will decrease blood pressure), modulate genetic transcription by deacetylation of histones, which implies the compaction of chromatin, and it can even intervene in the prevention of Alzheimer's disease.

KEY-WORDS

Calorie restriction (CR); Primary aging; Secondary aging; Longevity; Oxidative stress; Sirtuins;

INTRODUÇÃO

O envelhecimento é caracterizado pela deterioração progressiva das funções fisiológicas e dos processos metabólicos, levando a um aumento da mortalidade e morbidade. Apesar de muitas teorias terem sido propostas para explicar o processo do envelhecimento, nenhuma delas parece ser completamente satisfatória. A tabela 1 apresenta de uma forma sumária as principais teorias do envelhecimento sugeridas até à data.(1)

O envelhecimento primário refere-se á deterioração inevitável das células e dos tecidos, independentemente de doença ou de fatores ambientais. O envelhecimento secundário consiste no declínio resultante de influências externas, tais como doença e estilos de vida prejudiciais. Enquanto que quando se abranda o envelhecimento primário a longevidade aumenta, o atraso do envelhecimento secundário afeta maioritariamente a esperança média de vida. A restrição calórica (RC) é o único meio não genético conhecido capaz de interferir com ambas as formas de envelhecimento, primário e secundário. (2,3)

A restrição calórica refere-se a uma dieta em que a ingestão energética se encontra notavelmente abaixo do valor que seria consumido numa dieta *ad libitum* (geralmente refere-se a $\leq 10\%$ para humanos e $\leq 20\%$ para animais), mas que não leva ao desenvolvimento de malnutrição (devido a falta de vitaminas, minerais ou biomoléculas essenciais).(4,5) Os estudos realizados têm conferido especial cuidado a este último aspeto, ao realizar uma RC que não assente numa diminuição da ingestão de proteínas e micronutrientes, mas sim numa dieta enriquecida para evitar malnutrição.(4)

Tabela 1: Teorias biológicas do envelhecimento. *Tabela adaptada de (1).*

(A) Teorias Programadas	
1. Teoria do encurtamento dos telómeros	O envelhecimento resulta de trocas sequenciais de certos genes. Os telómeros têm um papel na instabilidade genómica com a idade.
2. Teoria neuro-endócrina	O relógio biológico atua através do sistema neuro-endócrino no controlo da evolução do envelhecimento.
3. Teoria imunológica	O sistema imune está programado para se deteriorar, o que leva a uma maior vulnerabilidade à inflamação aguda ou crónica, resultando em envelhecimento e morte.
(B) Teorias Estocásticas	
1. Teoria do desgaste	As células e tecidos têm constituintes vitais que se desgastam, levando ao envelhecimento.
2. Teoria metabólica	Quanto maior a taxa metabólica basal do oxigénio, menor é o tempo de vida.
3. Teoria da glicosilação/ligações cruzadas	A acumulação de constituintes modificados, como por exemplo ligações cruzadas e glicosilação de proteínas, danifica células e tecidos, resultando no envelhecimento.
4. Teoria dos radicais livres/stress oxidativo/mitocondrial	Os radicais livres e as espécies reativas de oxigénio (ERO) causam dano celular, e a acumulação de dano oxidativo leva ao envelhecimento. A mitocôndria é uma das principais fontes de ERO, bem como um alvo destas.
5. Teoria do dano do ADN somático	O dano do ADN ocorre continuamente em células vivas. A maioria desse dano é reparado, enquanto algum se acumula, resultando em disfunção celular e envelhecimento. Em particular, o dano do ADN mitocondrial leva a disfunção da mitocôndria.

Desde os anos 30 do século passado, a RC ao longo da vida vem sendo consistentemente estabelecida como uma intervenção capaz de abrandar a taxa de envelhecimento e de aumentar tanto o tempo de vida médio como máximo em várias espécies.(1,6) É de referir que o balanço energético negativo pode ser obtido tanto reduzindo a ingestão como aumentando o gasto energético; o exercício físico, no entanto, só foi relatado ter efeitos na esperança média de vida, não afetando o tempo máximo de vida.(7)

É merecido especial foco num estudo recente, o Comprehensive Assessment of the Long-term Effect of Reducing Intake of Energy (CALERIE), cujas descobertas irão incrementar substancialmente o conhecimento científico no que diz respeito à restrição calórica, saúde cardiovascular e envelhecimento em humanos. O CALERIE é o primeiro ensaio clínico aleatório que visa os efeitos da RC nos biomarcadores do envelhecimento e da longevidade na espécie humana. A fase 1 compreendeu 3 estudos independentes, de curto período (6-12 meses) e muitos dos seus resultados serão aqui reportados. A fase 2 foi um estudo multicêntrico que usou uma dieta intensiva e intervenções comportamentais focadas em obter uma RC de 25% durante um período de 2 anos; os indivíduos em estudo eram saudáveis (homens com 21-50 anos e mulheres com 21-47 anos de idade) e não obesos (índice de massa corporal entre 22.0 e 28.0 kg/m²). As descobertas terão implicações de peso na compreensão dos efeitos da RC. No entanto até ao momento só alguns dos resultados foram divulgados.(8,4)

Neste artigo de revisão pretende-se referir e avaliar os factos obtidos até a atualidade que mostraram estar relacionados, ou que têm potencial de se virem a provar relevantes, na hipótese da dieta de RC ter um impacto repressor sobre o envelhecimento.

Serão, então, aqui abordadas as várias vias, potenciais e já instituídas, para esse efeito.

MÉTODOS

Através de pesquisa efetuada na base de dados eletrónica da *PubMed*, procedeu-se inicialmente a uma revisão sistemática da literatura utilizando diversas combinações das seguintes palavras-chave: “alimentação”, “envelhecimento” e “restrição calórica”. Com base no título, no resumo, no número de citações, e de acordo com a sua acessibilidade, procedeu-se à seleção dos artigos publicados em inglês e português entre os anos 2005 e 2013, não descurando, no entanto, qualquer artigo que não se enquadrasse nos parâmetros referidos mas que se revelasse devidamente pertinente. À medida que a revisão bibliográfica foi efetuada, mostrou-se relevante recorrer às referências bibliográficas de determinados artigos, expandindo desta forma, a bibliografia analisada.

Esta revisão foi redigida com base nas normas propostas para o trabalho final do 6º ano, equivalente ao grau de mestre, no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

RESULTADOS

1. Restrição calórica e longevidade

Inicialmente, as teorias do impacto da RC na duração da vida eram baseadas no atraso da taxa de crescimento (ideia que foi afastada devido a efeitos demonstrados em animais já maduros), na diminuição da taxa de metabolismo e na diminuição da gordura corporal. No entanto, estas doutrinas têm sido sobrepostas, dando ênfase a outros mecanismos induzidos pela RC que podem contribuir para uma maior longevidade, a saber: o aumento da apoptose (reduzindo a acumulação de células danificadas), a atenuação do dano oxidativo e a diminuição da temperatura corporal.(4)

Apesar do grande interesse das implicações da RC na saúde e longevidade humana, os efeitos sobre a mortalidade em seres humanos não foram bem caracterizados, em parte devido às óbvias exigências de tempo, e em parte devido às flutuações na adesão evidentes num estudo randomizado.(4)

A conformação em “U” da curva de relação entre o índice de massa corporal e a sobrevivência remete para o facto de que tanto o excesso de peso como o baixo peso se podem associar a uma curta longevidade. No entanto, estes estudos não são causais.(4)

A população do arquipélago Okinawa, no Japão, cuja dieta tradicional é baixa em calorias mas nutricionalmente rica, foi notada ter uma das mais elevadas longevidades do mundo (9), sendo que os indivíduos na sua oitava década de vida revelaram uma ingestão energética 11% mais baixa do que a recomendada ao longo da primeira metade da idade adulta.(6) No entanto, dados recentes mostraram que o baixo peso ao nascimento aumenta o risco de doenças crónicas no futuro, analisando estudos epidemiológicos observacionais que

relacionaram o baixo comprimento e o baixo peso ao nascimento com incidências mais elevadas de doença coronária, diabetes *mellitus* tipo 2 e adiposidade, na vida adulta.(9,5)

Tem sido proposto que o aumento da sensibilidade à insulina e a diminuição da glucose plasmática com menos glicosilação de macromoléculas são importantes fatores na extensão da longevidade pela RC. No entanto, dados recentes sugerem que a resistência à insulina localizada (p.e. tecido adiposo e cérebro) ou sistémica, é associada a um aumento da longevidade. Ratos transgénicos com hiperexpressão da GLUT4 (proteína transportadora de glucose dependente de insulina) no coração, músculo-esquelético e tecido adiposo, mostraram diminuição na glucose plasmática mas não viveram mais tempo. No entanto, os ratos sujeitos a RC, quer transgénicos quer não transgénicos, tiveram um aumento do tempo máximo de vida. (10)

O estudo CALERIE demonstrou recentemente que 6 meses de 25% de RC resultam em diminuições significativas da temperatura corporal e da concentração da insulina de rápida ação, ambos biomarcadores de longevidade.(9)

2. Restrição calórica e os seus efeitos no gasto energético

O estudo CALERIE pretende avaliar a hipótese de que a RC resulta numa adaptação metabólica definida por (a) uma redução do metabolismo basal, ajustado às alterações da composição corporal, e (b) uma diminuição da temperatura corporal, sendo o ponto (a) proposto como um dos mecanismos pelos quais a RC atrasa o envelhecimento, possivelmente pela diminuição de dano oxidativo, que é associado à ingestão energética acima das necessidades corporais. Conjetura-se também acerca da influência da RC na diminuição das concentrações plasmáticas da triiodotironina e na diminuição da inflamação determinada pela concentração plasmática do TNF α . (3) Foram, neste estudo, evidenciadas diferenças no gasto energético com

RC, que incluem diminuições associadas com a perda de peso e de massa magra, mas também diminuições independentes da composição corporal, o que indica uma adaptação do metabolismo com a RC. A adaptação metabólica proporciona maior eficiência na utilização da energia e é provável que esta tenha uma base hormonal e que esteja relacionada com manifestações físicas de baixo gasto energético tais como a redução da temperatura corporal. Sabe-se que a temperatura corporal varia com a taxa de metabolismo, e é considerada um biomarcador de longevidade em roedores e primatas não humanos. Dados preliminares da fase 1 do estudo CALERIE, indicaram uma redução significativa da temperatura corporal nos grupos com RC.(2,11)

Foi comprovado que a diminuição da taxa metabólica em macacos sujeitos a RC por 11 anos se deveu a uma redução do gasto energético em repouso. (12)

3. Restrição calórica e seus efeitos na doença aterosclerótica/ inflamação/ fibrosclerose

Os fatores de risco clássicos das doenças ateroscleróticas (cardiovasculares, cerebrovasculares e vasculares periféricas) incluem dislipidémias (lipoproteína de baixa densidade [LDL-C] alta, lipoproteína de alta densidade [HLD-C] baixa, e triglicédeos elevados), pressão arterial elevada, diabetes *mellitus* e hábitos tabágicos. Todos, exceto os hábitos tabágicos, são melhorados com a RC em modelos animais, quer diretamente quer por via da diminuição de peso a que se associa. A RC melhora o perfil sérico lipídico, reduzindo o risco de aterosclerose; a extensão em que o número ou o tamanho das partículas de lipoproteínas são afetados, permanece desconhecida. A pressão arterial elevada é um fator de risco major para aterosclerose, enfarte e falência renal; além disso, o envelhecimento cardiovascular resulta num aumento progressivo da rigidez arterial o que causa um aumento da pressão arterial

sistólica. No estudo Biosphere 2, realizado em humanos, a RC com a duração de 2 anos teve consequências favoráveis na pressão sanguínea.(4)

A RC severa a longo termo tem um efeito protetor extremamente poderoso contra o risco de desenvolver doença aterosclerótica cardiovascular. Este efeito evidencia-se por notáveis diminuições da pressão arterial, do colesterol total, do LDL-C, dos triglicédeos, da proteína C reativa (PCR), da interleucina 6 (IL-6) e do TNF α , e por aumento do HDL-C. A redução do risco manifesta-se pela ausência do espessamento com o tempo da camada íntima/média da artéria carótida e pela inexistência completa de placas de aterosclerose. A função ventricular diastólica esquerda foi também substancialmente melhor no grupo sujeito a RC. (4,13)

A inflamação crónica e a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos leucócitos mononucleares estimulados, aumenta com a idade. Dado que a RC diminui a libertação aguda das citocinas pró-inflamatórias em resposta a endotoxinas, a resposta inflamatória excessiva pode ser prevenida com a adoção deste tipo de dieta, protegendo também da desregulação da produção de citocinas pró-inflamatórias, que se associa ao envelhecimento.(4)

Um estudo realizado em membros da Calorie Restriction with Optimal Nutrition (CRONies) revelou que o grupo sujeito a RC demonstrou uma diminuição de mediadores inflamatórios e um perfil cardiovascular mais favorável comparativamente aos indivíduos sujeitos a uma dieta ocidental. (6) Resultados similares foram obtidos pelo estudo CALERIE.(5)

Fontana *et al.* avaliou o efeito da RC ao longo de 6 anos, concluindo também que a RC de longa duração melhora significativamente os fatores de risco da aterosclerose, a citar: colesterol total, LDL-C, HDL-C, triglicéridos, PGDF AB, PCR e pressão sistólica e diastólica.(5)

Os produtos finais da glicosilação avançada (AGE) desempenham um notável papel na patogénese do envelhecimento e nas doenças cardiovasculares, entre outras. Os AGEs são modificações de proteínas ou de lípidos que depois de contactarem com açúcares (aldose), se tornam glicosilados e oxidados de uma forma não enzimática. Alguns estudos notaram que a RC atenua a acumulação destes produtos (AGE), incluindo a pentosidina e a carboximetil-lisina, produtos da modificação oxidativa de proteínas glicosiladas. A elevação a longo termo da leptina (hormona produzida nos adipócitos que atua no apetite) tem um efeito pró-inflamatório e promotor da proliferação do músculo liso e da rigidez arterial. A adiponetina reverte a resistência à insulina aumentando a captação de glucose pelo músculo e pelo fígado, diminuindo a produção de glucose hepática e aumentando a sensibilidade à insulina. A RC induz o aumento da concentração de adiponetina circulante, opondo-se aos efeitos do envelhecimento através da diminuição de glicosilação de proteínas e de formação dos AGE. (1,14)

O stress oxidativo é muitas vezes mediado pelos seus próprios produtos finais, sendo um deles o HNE (4-hidroxi-2-nonenal). O HNE é um produto específico da peroxidação lipídica de ácidos gordos polinsaturados n-6, maioritariamente representados nas membranas biológicas. O HNE vem sendo crescentemente relatado como envolvido na patogénese de inúmeros processos inflamatórios e degenerativos, incluindo a aterosclerose, doença de Alzheimer e Parkinson, fibrose hepática, glomeruloesclerose e DPOC. A fibrose pode ser considerada um índice significativo do envelhecimento tecidual. Um aspeto essencial na fibrose é a ativação de fibroblastos ou de células específicas de certos tecidos (miofibroblastos, células mesangiais, entre outras), proliferando e produzindo matriz extracelular (MEC). O aumento da ativação de $TGF\beta 1$ estimula a produção e inibe a degradação de várias proteínas da MEC, com deposição excessiva de MEC e fibrose proeminente. O HNE induz a expressão e a síntese de $TGF\beta 1$ e ativa o fator de transcrição AP-1. Modelos de ratos transgênicos com excessiva produção de $TGF\beta 1$ mostraram um aumento de fibrose e inflamação no fígado,

pâncreas, coração, rins e artérias. A RC tem revelado modular com grande impacto todos estes mecanismos. Evidências existem de que a RC diminui o stress oxidativo, diminuindo a acumulação de HNE e, conseqüentemente, a expressão de $TGF\beta 1$ e a deposição de colagénio, possivelmente por regular negativamente a ativação da JNK, da p38 e da ligação nuclear do fator de transcrição da AP1 (Fig.1). A RC a longo termo diminui a deposição perivascular de colagénio e mantém os cardiomiócitos menores e mais jovens no ventrículo esquerdo; animais sujeitos a RC mostraram-se também com alterações da aorta inerentes à idade avançada menos pronunciadas, relativamente a acumulação de colagénio, degradação de fibras elásticas e modificações celulares. Em suma, a RC preserva a integridade da função vascular durante o envelhecimento, modulando a explosão inflamatória das reações oxidativas. (15)

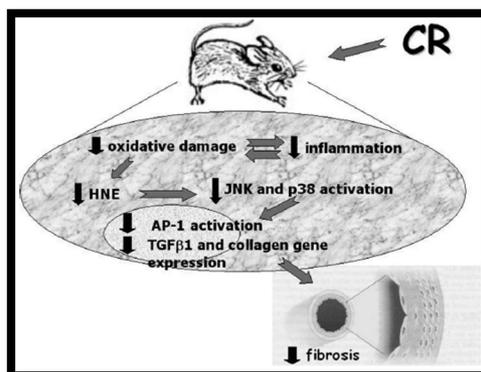


Fig.1 Modelo do mecanismo pelo qual a RC pode exercer uma ação protetora contra a fibrosclerose.(15)

4. Restrição calórica e os seus efeitos no eixo neuro-endócrino e no SNA

Julga-se que a norepinefrina (NE) plasmática medeia alguns dos efeitos da RC no envelhecimento. A concentração de NE aumenta com o avanço da idade, devido tanto ao aumento da secreção como ao decréscimo da sua remoção, o que pode levar à deterioração da função cardiovascular e metabólica. A NE terá, então, potencial de marcador primário do

envelhecimento, acrescentando que a perda de peso se associa com um decréscimo da concentração plasmática da NE.(4)

A função autonómica é alterada com o avanço da idade. O índice de variabilidade da frequência cardíaca (HRV) é um marcador da função do sistema nervoso autónomo (SNA) que declina progressivamente com a idade e também com vários estados de doença, acrescentando que a relação entre uma alta HRV e bons índices de saúde está bem estabelecida. Stein *et al.* (2012), num estudo de corte transversal, que comparou um grupo sujeito a RC por uma média de 7 anos com um grupo sujeito a uma dieta tipicamente ocidental (WD), mostrou todos os valores indicativos da HRV serem significativamente mais altos no grupo com RC, tendo estes valores sido comparáveis aos de indivíduos saudáveis 20 anos mais novos. Outra conclusão relevante deste estudo foi que a RC aumenta a atividade parassimpática e diminui a simpática, para além de fortes evidências sugerindo que a RC de longo termo retarda a deterioração do SNA ligada ao envelhecimento em humanos. (5) Num outro estudo, realizado por Meyer *et al.* os valores da função diastólica comprovaram-se notoriamente mais “jovens” na instituição de RC. (16)

As características biológicas dos animais submetidos a dieta de RC compreendem o aumento das hormonas de stress (cortisona ou cortisol dependendo da espécie), a diminuição da insulina (e da glucose, pelo aumento da expressão de um transportador da glucose), da hormona tiroideia e das hormonas reprodutivas (diminuindo as capacidades reprodutivas) e a supressão da excreção da hormona de crescimento (GH), que por sua vez diminui os níveis de fator de crescimento insulina-like 1 (IGF-1). Alguns destes efeitos mimetizam níveis típicos observados em indivíduos jovens. Em primatas não humanos, a RC revelou diminuir o risco de diabetes *mellitus* tipo 2. (17,10,2,14)

Num estudo, Fontana *et al.*, analisou um grupo de indivíduos sujeito a RC severa por cerca de 7 anos (RC), um grupo de indivíduos com treino de alta resistência por uma média de

21 anos (EX) e um grupo de indivíduos sedentários, não obesos, sujeitos a uma dieta ocidental (WD). O grupo RC revelou um nível significativamente mais alto de adiponectina plasmática, de ácidos gordos livres plasmáticos, e da concentração plasmática do recetor de AGE (tal como o grupo EX). O grupo RC revelou um nível significativamente mais baixo de resistina plasmática e de IL-6 plasmática (à semelhança do grupo EX). A sensibilidade à insulina foi também claramente elevada (mas também no grupo EX), e no TTGO, a glicémia foi evidentemente baixa aos 30 minutos (em relação aos grupos EX e WD), mas bastante mais elevada aos 90 e 120 minutos (comparativamente ao grupo EX). É intrigante que os valores obtidos na maioria dos indivíduos do grupo RC no TTGO aos 120 minutos, tenham satisfeito os critérios de diagnóstico para intolerância à glucose ou valores de glicémia normal-alta, sendo que todos eles eram extremamente magros e tinham um perfil metabólico ótimo. (10)

Os dados sugerem que a RC crónica e severa possa estar associada em alguns indivíduos a uma certa resistência periférica à insulina, maioritariamente causada pela baixa massa muscular com diminuição da capacidade de captação da glucose. A diminuição da sensibilidade à insulina pode elevar a sobrevivência prevenindo a hipoglicémia, mantendo assim a glucose circulante para os órgãos que requerem esta fonte de energia. A RC crónica induz um prejuízo na sinalização da insulina a nível recetor e pós-recetor; esta redução da sinalização da insulina mediada pela RC pode consistir uma resposta metabólica protetora contra a hipoglicémia em condições de escasso alimento. Evidências sugerem que a diminuição da sinalização da insulina, e não o aumento da sensibilidade à insulina, está implicada no atraso do envelhecimento com aumento da longevidade. É possível que a RC severa através deste mecanismo medeie a expressão de genes anti-envelhecimento, e regule negativamente a expressão de genes pro-envelhecimento.(10)

A diminuição da massa gorda durante a RC está fortemente estabelecida. O tecido adiposo branco tem um papel de destaque na resposta inflamatória, imune e na glicémia, mediado pela adiponectina. A secreção da adiponectina é aumentada pela diminuição da ingestão calórica e diminuída pela insulina, pelo IGF1 e também pelo aumento do tamanho dos adipócitos. Esta hormona promove a oxidação dos ácidos gordos no tecido adiposo e diminui a acumulação de lípidos noutros tecidos periféricos. Para além disso a adiponectina suprime desajustes metabólicos que podem levar ao diabetes tipo 2, obesidade, aterosclerose e síndrome metabólico, acrescentando que esta hormona regula a produção energética mitocondrial via AMPK. O AMPK regula positivamente a captação celular de glucose, a β -oxidação de ácidos gordos e a expressão do GLUT4, para além de estimular a atividade da óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS), diminuindo o risco de doença cerebral isquémica. Os efeitos adicionais cardioprotetores da adiponectina numa dieta de RC são a inibição da libertação do TNF α e da síntese de moléculas de adesão nas células endoteliais, adiando a progressão da aterosclerose. A ação inibitória da adiponectina na inflamação é mediada pelo seu envolvimento na redução da secreção de TNF α (citocina envolvida na inflamação sistémica) pelos monócitos, macrófagos e células espumosas.(5)

5. O paradoxo da restrição calórica e da obesidade em indivíduos mais velhos

O conceito de que a redução de ingestão calórica pode levar a um envelhecimento mais bem conseguido pode ser abalada pelo facto da perda de peso em adultos mais velhos gerar um maior declínio na vida tardia, sendo associado a doenças crónicas e prejuízo cognitivo. Desta forma, até recentemente no campo da geriatria, a maior preocupação tem sido prevenir a perda de peso e não promovê-la. Para além disso, existem evidências de maior sobrevivência em adultos pesados com doenças inflamatórias caracterizadas por caquexia, o que leva à “epidemiologia

reversa” da obesidade, pondo em causa a ideia de que a perda de peso é desejável em idosos.

(4)

Vêm também sendo criadas evidências de que os adultos saudáveis têm maiores benefícios fisiológicos com uma dieta bem planeada de moderada restrição, contrariando uma restrição calórica mais pronunciada. Na sequência disso, levanta-se a questão de que os benefícios da instituição da dieta de restrição calórica podem não ser os mesmos se esta for aplicada precoce ou tardiamente na vida.(4)

A RC como intervenção tardia na vida humana, pode revelar-se contraprodutiva em indivíduos frágeis e sarcopénicos, nos quais a ingestão apropriada de proteínas e calorias é essencial para a manutenção da massa óssea e muscular. Contudo, estas preocupações podem ser superadas usando um regime de restrição calórica mais moderado combinado com um programa de treino físico. (17) Para além de que, em múltiplos estudos, analisando diferentes organismos, grupos musculares e várias restrições dietéticas, a RC abrandou a progressão da sarcopenia diminuindo a perda e atrofia das fibras musculares, manteve a força e o tamanho das fibras musculares tipo II e atenuou a remodelação de musculo esquelético reduzindo o tecido fibrótico.(18)

6. Restrição calórica e o stresse oxidativo

O stress oxidativo e os antioxidantes influenciam tanto o processo “intrínseco” primário do envelhecimento como também vários processos patológicos secundários associados à idade (19), sendo a hipótese do stress oxidativo uma das mais correntemente aceites explicações para o envelhecimento a nível bioquímico e celular.(11) A RC terá efeitos nestes processos através de várias proteínas sinalizadoras celulares e, em vias sensíveis à energia, como IGF-1, TOR e sirtuínas são recrutadas e, provavelmente através de antioxidantes e modulação do stress

oxidativo, contrariam o aparecimento de patologias associadas à idade, reduzem o ritmo de envelhecimento, e aumentam a longevidade em vários modelos animais.(19)

A medição da peroxidação lipídica tem sido usada frequentemente para apoiar o envolvimento das reações de radicais livres no envelhecimento e em condições patológicas. Entre vários índices de peroxidação lipídica, os isoprostanos tais como a 8-epi-PGF2 α , produtos da peroxidação não enzimática de lípidos, são tidos como marcadores bons e sensíveis da peroxidação lipídica. Esses produtos, que circulam no plasma, são excretados na urina e crê-se que sejam quimicamente estáveis. Informação recente indica que a excreção urinária de 8-epi-PGF2 α se coliga a stress oxidativo e produção de radicais livres in vivo; portanto, pode servir como um índice não invasivo de peroxidação lipídica in vivo e de alterações na produção de radicais livres associadas à RC.(19,7)

Estudos realizados em animais demonstraram que a RC aumenta significativamente a atividade de várias enzimas antioxidantes, incluindo a catalase, a superóxido dismutase (SOD), a glutathione S-transferase e a glutathione peroxidase (GPx). Por conseguinte, a RC através da regulação positiva de enzimas antioxidantes e mecanismos de reparação, pode reduzir o stress oxidativo e dano de lípidos, proteínas e ADN. Portanto, a determinação de modificações destes parâmetros in vivo pode ajudar a compreender a eficácia da RC nos humanos.(19)

Evidências sugerem que a RC atenua o stress oxidativo pela ativação da via NRF2/ARE, induzindo uma variedade de proteínas antioxidantes como a GPx, acrescentando que a RC parece induzir a expressão da eNOS, produzindo óxido nítrico, o que regula positivamente a GPx.(19)

A carbonilação de proteínas em animais revelou incrementar com a idade, e a RC tem demonstrado diminuir este marcador de oxidação proteica em ratos.(19)

A RC reduz também o dano oxidativo do ADN relacionado com o envelhecimento em modelos animais. A 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG), um marcador do dano oxidativo do ADN, tem mostrado aumentar com o avanço da idade no rim, coração, e cérebro de ratos. Tem-se constatado uma mais alta excreção de 8-OHdG na urina de 24 horas de indivíduos mais velhos, em comparação com a de indivíduos mais jovens, bem como mais elevada em pacientes idosos com artrite reumatóide (associada a stress oxidativo) do que em idosos controlo. Um estudo recente relatou que uma RC de 25% ou mais, em indivíduos com excesso de peso, foi eficaz na redução do dano oxidativo do ADN de linfócitos; no entanto este meio de medição reflete apenas o efeito da RC num tipo específico de células e não a sua ação no organismo como um todo, sugerindo que a medição da excreção do 8-OHdG urinário é um bom biomarcador em humanos. (10)

Um estudo levado a cabo pelo CALERIE analisou indivíduos com peso moderadamente elevado (IMC: 25-30 kg/m²) sujeitos a uma dieta de RC de 10% e de 30% da ingestão calórica basal, por um período de 6 meses. Os resultados demonstraram que a RC teve impacto significativo em dois marcadores de stress oxidativo em humanos, a referir: o aumento da atividade da GPx e a diminuição dos níveis de carbonilos proteicos no plasma. No entanto os resultados relativos à atividade de catalase não alcançaram significado estatístico (apesar de mostrar algum aumento); os níveis do isoprostano 8-epi-PGF2 α plasmático, da atividade da SOD e da 8-OHdG urinária também não alcançaram uma diminuição com significado estatístico. Também não foi verificada qualquer correlação entre os parâmetros de stress oxidativo e as alterações no peso corporal, IMC e massa gorda. No entanto é de salientar que apesar de resultados sem significado estatístico, houve uma tendência no sentido esperado; a ausência de efeitos marcantes em alguns marcadores pode atribuir-se ao curto período de RC (6 meses) e à amostra limitada de indivíduos sujeitos à RC de 10%. O estudo mostrou grandes alterações em vários marcadores metabólicos incluindo a redução do peso corporal, que não foi

relevantemente díspar entre o grupo dos 10% e dos 30% de RC possivelmente pelo fato do grupo dos 10% se ter auto super-restringido e pelo fato do grupo dos 30% se ter auto sub-restringido.(19)

Hofer T. *et al.*, realizou um ensaio clínico controlado e aleatório em indivíduos de meia-idade com IMC compreendido entre 23.5 e 29.9 kg/m², no qual foram sujeitos a uma dieta de RC de 20% durante 1 ano. Os resultados mostraram uma diminuição de 48.5% na oxidação do ADN leucocitário e de 35.7% na oxidação do ARN leucocitário, comparativamente aos valores basais. Os produtos urinários do dano oxidativo do ARN e do ADN FapyGua, 8-oxoGua, 8-oxoGuo e 8-oxodGuo foram medidos (estruturas químicas representadas na Fig.1). Não foram encontradas mudanças significativas nos níveis urinários destes indicadores do dano oxidativo, no entanto, comparando os 4 diferentes produtos, o que apresentou maior variabilidade foi o 8-oxoGua. A análise dos resultados deve ter em conta que a excreção urinária destes produtos é afetada pela absorção de alimentos digeridos oxidados, por células mortas e pela flora intestinal que é modificada tanto em quantidade como em composição num organismo submetido a uma dieta de RC. (7,5)

É desconhecido se o produto maioritariamente excretado na urina provém do ARN ou do ADN, tendo também sido debatido se o radical intermediário inicial de 8-OH-8-H-Gua[•] (Fig. 2) formado após ataque oxidativo, prossegue uma via oxidativa (formando 8-oxoGua) ou se uma via redutora (formando FapyGua). As concentrações de 8-oxoGua são claramente mais elevadas do que as de FapyGua na urina humana, o que veemente indica que a via oxidativa predomina. A excreção urinária do produto específico da oxidação do ARN (8-oxoGuo) foi mais elevada do que a do produto específico da oxidação do ADN (8-oxodGuo).(7)

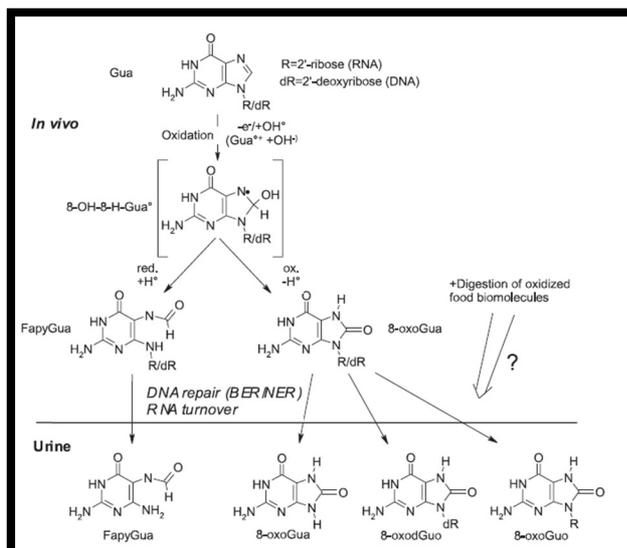


Fig.2. Esquema da reação de oxidação da guanina. A reação de oxidação da guanina com agentes oxidantes forma um radical intermédio instável (8-OH-8-H-Gua●) mediante reação na posição C-8. A reação de redução gera a abertura do anel para formar FapyGua, enquanto a oxidação gera 8-oxoGua. Os sistemas de reparação por excisão de bases e nucleótidos (BER/NER) protegem constantemente o ADN dos produtos mutagénicos da oxidação, sendo estes removidos das células e excretados para o plasma e filtrados pelos rins. O mecanismo pelo qual os produtos da oxidação do ARN são removidos, está presentemente pouco claro, mas acredita-se ocorrer por mecanismos de turnover do ARN danificado. O 8-oxoGua e o FapyGua podem ser excretados como bases livre ou ligados a açúcares presentes no ARN e no ADN (R=ribose, dR=2' desoxirribose).(7)

Stress Oxidativo Cardíaco e o envolvimento de Sirtuínas

A mitocôndria é a principal fonte e alvo das ERO. Este organelo é um dos principais focos da teoria do envelhecimento devido ao seu papel crítico na bioenergética, produção de oxidantes e regulação da morte celular. Os órgãos que exibem altas taxas de consumo de oxigénio, deverão ser especialmente afetados pelo dano oxidativo.(1)

As ERO são produzidas nas células por mecanismos enzimáticos e não enzimáticos e danificam proteínas, lípidos e ADN nuclear e mitocondrial. Qualquer proteína de transferência de eletrões e/ou sistema enzimático, produz ERO como bio produtos de reações redução-oxidação. Embora as ERO sejam produzidas por NADPH oxidases, cicloxigenases,

peroxissomas, xantina oxidases, citocromo P-450, entre outros, a mitocôndria parece ser o produtor major de oxidantes. Como já referido e acrescendo ao facto anterior, a mitocôndria é alvo para o dano oxidativo. As ERO derivadas da respiração mitocondrial atacam os constituintes da mitocôndria. Em particular, acredita-se que a acumulação de mutações somáticas no ADNmt pelo stress oxidativo desempenha um papel na no declínio fisiológico associado ao envelhecimento. O ADNmt localiza-se na matriz mitocondrial, onde as ERO são geradas ativamente. Para além disso, o ADNmt tem falta de histonas protetoras e uma capacidade de reparação relativamente baixa. Dado o ADNmt codificar 13 proteínas da cadeia transportadora de eletrões (CTE) mitocondrial, as suas mutações afetam a produção de ATP e aumentam a fuga de eletrões da CTE com posterior dano do ADNmt, bem como de outros organelos. Sendo assim, acredita-se que a mitocôndria é o principal organelo responsável pelo envelhecimento. (1,2)

A dieta de RC atenua o aumento da produção de ERO associado à idade, a peroxidação lipídica, a oxidação de proteínas e o dano oxidativo do ADN em vários órgãos. (2)

Os cardiomiócitos com mitocôndrias disfuncionais são provavelmente eliminados via apoptose, necrose e/ou autofagia, o que dificulta a deteção de alterações que advêm do envelhecimento, na bioenergética das mitocôndrias cardíacas, pois apenas mitocôndrias relativamente saudáveis são obtidas pelos procedimentos de isolamento. (1)

A controvérsia mantém-se no que diz respeito ao desgaste gradual da fosforilação oxidativa mitocondrial com o envelhecimento. Pensa-se que o complexo I da CTE é uma das maiores fontes de ERO mitocondriais. Acrescendo que 7 dos 13 polipeptídeos codificados pelo ADNmt são encontrados no complexo I da CTE, esta relação vai aumentando com a idade. Tem sido relatado que a atividade dos complexos III e IV, que também contêm polipeptídeos codificados no ADNmt, é afetada com o aumento da idade. O complexo III é também uma fonte

de ERO. O complexo II não parece ser afetado pela idade; o que, relacionando com o facto de este não conter polipeptídeos codificados pelo ADNmt, apoia a teoria mitocondrial do envelhecimento.(1)

Os níveis do 8-oxo-7,8-desidro-2'-desoxiguanosina (8-oxodGuo), um indicador, como já referido, do dano oxidativo do ADN, foi 4 vezes maior no ADNmt em comparação com o ADN nuclear de corações de 8 espécies de mamíferos. Os níveis mais elevados de 8-oxodG no ADNmt são em parte consequência da exposição crónica do ADNmt às ERO devido à sua localização na mitocôndria e a taxa de dano do ADNmt cardíaco aumenta com a idade.(1)

Os níveis de 8-oxodGuo foram menores em mitocôndrias cardíacas obtidas em ratos sujeitos a RC comparativamente com os controlos. Inúmeros relatos indicam que a RC diminui o dano oxidativo de proteínas e lípidos na mitocôndria cardíaca, no entanto os mecanismos exatos envolvidos permanecem indeterminados. (1)

Vários estudos demonstram que a RC prolongada melhora a função mitocondrial em corações envelhecidos. No entanto, existem estudos que não encontram qualquer diferença nesta função; esta discrepância parece dever-se ao tipo de ratos usados, à idade, e à duração da RC. Os resultados sugerem que a RC exerce maior efeito quanto maior for a idade, provavelmente porque a função mitocondrial é mantida em níveis superiores em idades menores.(1)

Conjetura-se que a diferença na função mitocondrial entre uma dieta *ad libitum* e uma dieta de RC, é mais acentuada sob condições de stress. As mitocôndrias obtidas de corações submetidos a RC com lesão de reperfusão -isquémica, produzem menos ERO durante a reperfusão inicial, sugerindo uma maior resistência à lesão isquémica. A supressão da produção de ERO sob a influência de vários fatores de stress, pode atenuar a acumulação de dano oxidativo a longo termo, e retardar a senescência cardíaca.(1)

Os níveis de proteínas acetiladas nos resíduos de lisina aumenta com a idade nas frações mitocondriais; essa alteração é parcialmente atenuada com a RC. Como não houve um aumento da expressão das SIRT3,4 ou 5 com a RC, mas sim um aumento significativo da atividade da desacetilase dependente de NAD⁺ cardíaca, podemos inferir que a atividade das sirtuínas é estimulada pela RC. Conjetura-se que a desacetilação de proteínas vá estabilizar a transferência de elétrons na CTE e diminuir a fuga de elétrons durante a isquémia.(1) A família das sirtuínas é constituída por 7 proteínas (SIRT1-SIRT7), as quais variam em especificidade tecidual, localização subcelular, atividade enzimática e proteínas alvo.(2)

O substrato mais utilizado pelo coração adulto em condições fisiológicas são os ácidos gordos. No entanto, em condições patofisiológicas como a isquémia/reperfusão e a sobrecarga de pressão, o uso de glucose aumenta. Foi demonstrado que a produção de acetil-Coenzima A derivada de glucose aumenta no coração com a RC, o que pode contribuir para melhorar a energética do miocárdio sujeito a fatores de stress.(1)

Estudos experimentais demonstraram que os animais submetidos a RC exibem uma diminuição da pressão sanguínea sistémica; uma observação clinica em indivíduos sujeitos a RC durante uma média de 6 anos mostrou resultados idênticos.(1)

Em estudos recentes foi constatado que a SIRT1 desacetila o eNOS nas células endoteliais, estimulando a atividade desta enzima. Sendo assim, é plausível que a RC, ativando a SIRT1, aumente a biodisponibilidade da eNOS no sistema cardiovascular, resultando num decréscimo da pressão arterial. (1)

Uma hipótese correntemente sob investigação é a implicação de modulação epigenética nos efeitos benéficos da RC. Tanto a hipermetilação como a hipometilação do ADN podem resultar em consequências nefastas, que acompanham o envelhecimento.(6) A metilação do ADN pode impedir fisicamente a ligação de proteínas de transcrição ao gene, ou o ADN

metilado pode ligar-se a proteínas no domínio metil-CpG recrutando outras proteínas para o local (como por exemplo as desacetilases de histonas) que alteram as histonas para uma cromatina compacta e inativa. Uma histona desacetilada no seu resíduo de lisina tem uma carga positiva que atrai a banda de carga negativa do ADN, resultando num estado compacto da cromatina, com repressão da transcrição de genes, ocorrendo o processo inverso com a histona acetilada. O aumento da atividade da SIRT1 nas regiões promotoras dos genes p16^{INK4α} (gene supressor tumoral associado ao envelhecimento) e hTERT (gene da transcriptase reversa da telomerase), leva a alterações benéficas da expressão desses dois genes e contribui para a longevidade sob condições de RC.(5)

A perda de metilação do ADN pode contribuir para um fenótipo celular envelhecido através da promoção da instabilidade genómica e da perda de integridade dos telómeros. Alterações da metilação em locais específicos têm potencial causal no envelhecimento através da alteração da expressão de genes.(6) Em suma, o processo de envelhecimento associa-se a hipometilação global mas a hipermetilação local do ADN.(5) O veículo de ligação entre a RC e a epigenética parece ser a SIRT1 (Fig.3). Crê-se que a SIRT1 é crucial na resposta da longevidade à RC; atuando na epigenética pela desacetilação de histonas, processo intimamente relacionado na modulação da metilação do ADN. O seu homólogo é o Sir2 nas leveduras, *Drosophila* e *Caenorhabditis elegans* (nemátode cujo genoma está completamente sequenciado sendo usado como “organismo modelo”); a ausência de resposta em leveduras, *Drosophila* e *C.elegans* que não expressam a proteína, constitui uma evidência da importância da mediação da Sir2 na longevidade em resposta à RC. (6,14)

Alguns dos efeitos epigenéticos da RC documentados são a supressão de alterações relacionadas com a idade na metilação do oncogene *c-myc* em ratos, e a hipermetilação do oncogene *c-Ha-ras* em células acinares pancreáticas de ratos. A implicação da SIRT1 na epigenética tem sido indicada num amplo sentido numa grande variedade de observações publicadas. (6)

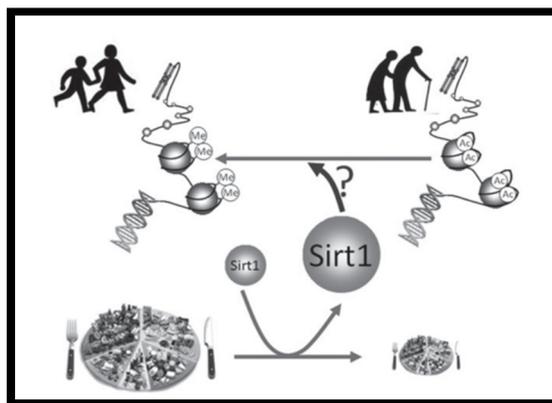


Fig.3 Representação esquemática de uma hipótese do suporte da SIRT1 no estado epigenético perante uma dieta de RC. A proposta é que alterações na metilação do ADN e em outros marcadores epigenéticos como a acetilação de histonas, que acompanham e podem ser causais no processo do envelhecimento, são revertidos ou prevenidos por ações epigenéticas da proteína desacetiladora de histonas SIRT1, que é positivamente regulada em resposta à RC. (6)

A SIRT1 assumidamente medeia alterações metabólicas induzidas pela RC, com retardo subsequente do envelhecimento através do: aumento da resistência ao stress regulando negativamente o p53 e a FOXO; e da iniciação de uma série de respostas endócrinas. Apesar de classificada como uma desacetilase de histonas, a SIRT1 também atua noutros substratos. A inibição do p53 inibe a apoptose e o processo de senescência. A proteína FOXO (pertencente a uma família de fatores de transcrição) é diretamente desacetilada pela SIRT1, sendo a sua expressão reduzida, reprimindo a apoptose mediada pela FOXO. A ku70 (proteína de reparação do ADN), quando desacetilada pela SIRT1, inativa o fator pró-apoptótico BAX, inibindo a

apoptose. O PGC-1 α é desacetilado pela SIRT1 na RC, aumentando a sua regulação, o que promove a expressão de genes da gluconeogénese e reprime genes da glicólise. (5)

A expressão da SIRT1 na RC mostrou-se elevada em vários tecidos de roedores, tais como o fígado, e no músculo esquelético em humanos. Vários efeitos metabólicos e fisiológicos da RC foram mimetizados num modelo de ratos transgénicos no qual a expressão de SIRT1 foi aumentada em vários tecidos incluindo o cérebro e o tecido adiposo. Esses efeitos envolveram a diminuição da insulina rápida, da glucose, do colesterol e da adiposidade. Num outro modelo de ratos com ganho de função da SIRT1, com expressão transgénica 2 a 3 vezes superior aos níveis endógenos, a tolerância à glucose foi melhorada.(6)

Os mecanismos pelos quais os efeitos da ativação da SIRT1 em tais alvos depois se traduzem na modulação do envelhecimento e/ou longevidade, permanecem obscuros. (6)

Em mamíferos, a SIRT2 é uma proteína desacetilase dependente de NAD⁺. Esta dependência sugere a sensibilidade desta enzima ao estado nutricional do organismo. As alterações metabólicas da RC têm um impacto positivo na atividade da SIRT2, sendo conjecturada a sua intervenção diminuindo a apoptose e a degeneração de órgãos relacionada com a idade.(14)

Foi recentemente provado que a sirtuína 3 é essencial para melhorar a defesa antioxidante durante a RC no fígado e no cérebro através da ativação enzimática do superóxido dismutase de manganês (SODMn) por desacetilação direta. A atividade da SODMn foi demonstrada estar significativamente reduzida em mitocôndrias cardíacas de ratos sujeitos a RC durante 8 semanas, associando-se a uma diminuição da produção de H₂O₂. A explicação é que a RC atenua o dano oxidativo mitocondrial através da supressão da geração de ERO, e não através do aumento das defesas. (2)

7. Restrição calórica e a neurobiologia

O envelhecimento é um processo fisiológico que pode desenvolver-se sem o aparecimento de doenças concomitantes. Contudo, muito frequentemente as pessoas idosas apresentam perda de memória e um declínio cognitivo acelerado. Estudos da neurobiologia do envelhecimento começam a decifrar os mecanismos subjacentes não apenas à fisiologia do envelhecimento, mas também os mecanismos que aumentam a vulnerabilidade do Homem à disfunção cognitiva e às doenças neurodegenerativas.(20)

Tem sido proposto que fatores do estilo de vida constituem poderosos instrumentos na promoção da saúde, no envelhecimento bem-sucedido do cérebro e no atraso do aparecimento de défices cognitivos relacionados com a idade. (20)

A RC tem efeitos protetores particularmente no cérebro envelhecido. Alguns desses efeitos são: redução dos défices motores e cognitivos, melhoria de funções metabólicas como a sensibilidade à insulina e a homeostasia da glucose, e diminuição da incidência de doenças cardiovasculares e do aparecimento de tumores. Os mecanismos subjacentes, sobretudo ligados à memória e à capacidade de aprender, em animais envelhecidos; incluem alterações na plasticidade sináptica, reduções na perda de medula espinhal, e aumento da neurogénese no hipocampo. (20)

Os efeitos da RC no cérebro, especialmente se já envelhecido, são específicos por região cerebral, e muito dependentes dos substratos neuronais e sinápticos da área em concreto e dos seus circuitos neuronais. (20)

Também o prejuízo motor detetado em modelos de macacos para a doença de Parkinson, mostraram uma melhoria com medidas de RC. (20)

Múltiplos estudos têm vindo a mostrar que a RC eleva os níveis de BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) em várias áreas cerebrais, particularmente no hipocampo. A expressão de BDNF, tais como outros fatores neurotróficos, no hipocampo, parece diminuir com a idade, contribuindo para a deterioração da função cognitiva. A BDNF mostrou ser essencial para o aumento da capacidade de aprendizagem e para a neurogénese no hipocampo.(20)

A RC pode ser também protetiva na doença de Alzheimer e no Parkinson, assim como em outras doenças neurodegenerativas. Por exemplo, em modelos de ratos com a doença de Alzheimer, a RC mostrou reverter os défices na aprendizagem e na memória típicos destes animais. (20)

A resistência à insulina pode ser revertida pela RC. A insulina e o IGF1 inibem o FOXO, sendo este um regulador da taxa de envelhecimento. Num processo com especificidade pelo tipo celular, os FOXO controlam várias funções celulares como a apoptose, o ciclo celular, a diferenciação e a expressão de genes envolvidos na reparação de ADN e na resistência ao stress oxidativo. A RC estimula a SIRT1 a desacetilar o FOXO3a, prevenindo a sua atividade nuclear e inibindo a expressão da ROCK1 (proteína quinase 1 associada a Rho) o que leva à ativação da α -secretase não amiloidogénica que processa a APP (proteína precursora amiloide) e reduz a geração do peptídeo β -amilóide. Esta diminuição do peptídeo β -amilóide é associada à prevenção da doença de Alzheimer e da deterioração da memória espacial em modelos de ratos. (5) Outra possibilidade em estudo é que a RC ativa o recetor de insulina com consequente hiperfosforilação do FOXO3a, excluindo-o do núcleo.(21)

8. Restrição calórica e o seu efeito no cancro

A RC prolongada mostrou adiar a idade de início de doenças relacionadas com a idade avançada tais como cancro, diabetes, doenças autoimunes, aterosclerose, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas. Assim, revela potencial para estender o alcance de uma vida saudável, aumentando o estado geral de saúde do organismo, e providencia resistência a doenças crónicas e a transtornos metabólicos, culminando no incremento da qualidade de vida. (5,12)

Os processos de doença e de envelhecimento são muitas vezes difíceis de distinguir dado que ambos tendem a desenvolver-se quase simultaneamente. A doença pode acelerar o envelhecimento e o envelhecimento pode tornar um individuo mais suscetível a doenças.(12)

A RC é um regime dietético potente no adiamento da ocorrência de cancro em modelos experimentais induzidos a desenvolver cancro.(12)

Vários estudos retrospectivos levados a cabo em populações submetidas a condições de fome devido a eventos forçosos de tal dieta, sugeriram a diminuição de ingestão calórica como sendo protetora do desenvolvimento de cancro. Um exemplo destes estudos retrospectivos é a constatação de que mulheres hospitalizadas com anorexia nervosa (ou seja, com severa RC) mostraram uma menor incidência de cancro da mama comparativamente à incidência na população geral.(12)

A RC aumenta a metilação do proto-oncogene RAS em ratos. A hipermetilação do promotor do gene leva ao silenciamento desse oncogene, o que contribui para o efeito de prevenção do cancro da RC. Num modelo celular humano de RC in vitro, o local de ligação do E2F-1 no promotor do gene p16^{INK4a}, foi hipermetilado. Este gene é um supressor tumoral e

está associado ao envelhecimento, a sua inativação contribui para a extensão do tempo de vida.

(5)

Será interessante analisar se combinando a RC com outras intervenções dietéticas como o aumento da ingestão de frutas e vegetais, os resultados obtidos mostrarão benefícios adicionais, dado que as duas intervenções isoladas são protetoras contra o desenvolvimento espontâneo de cancro do cólon em ratos.(12)

9. Miméticos da restrição calórica

A possibilidade de atrasar o processo de envelhecimento e melhorar a qualidade de vida nas idades avançadas através de meios nutricionais tem um grande interesse no mundo da terapia anti-envelhecimento. Estes meios nutricionais incluem intervenções dietéticas, adesão à terapia hormonal e de nutrição, manipulação genética e suplementos ou nutrientes anti-envelhecimento. O conceito de Miméticos da Restrição Calórica é tao apelativo que tem sido intensivamente explorado.(14)

A Metformina (fármaco antidiabético), influencia a atividade da glucose, a ação da insulina, reduz a morte celular e afeta múltiplas atividades independentes da glucose, por exemplo via AMPK. A AMPK tem atividade preventiva e reparadora de dano celular.(14)

Os STACs (compostos ativadores de sirtuínas) são outros MRC sob investigação, e que englobam polifenóis como o resveratrol. Os polifenóis são os anti-oxidantes mais abundantes da alimentação e são reportados salvaguardar de doenças cardiovasculares, cancro, acrescentando o seu efeito neuroprotetor. Os polifenóis como a buteína, piceatannol, fisetina, quercetina e resveratrol, têm sido indicados como estimulantes da atividade da Sir2 (homólogo da SIRT1 em leveduras). (14) O resveratrol tem sido alvo de intenso debate e controvérsia em volta da

sua implicação na ativação da SIRT1. O tratamento com resveratrol aumentou a desacetilação do substrato da SIRT1, o PGC-1 α em vários tecidos de ratos; no entanto, o resveratrol falhou na indução da desacetilação do PGC-1 α em fibroblastos embrionários de ratos com SIRT1^{-/-}. Suportando que o resveratrol atua através da ativação da SIRT1. No entanto, certos estudos contrariam esta hipótese. De qualquer forma, existem robustas evidências que o resveratrol desempenha um efeito benéfico no envelhecimento saudável. (6)

Outros MRC como a aminoguanidina, a carnosina e a 2-desoxiglucose, diminuem a acumulação de proteínas, previnem a glicosilação, e assim diminuem os AGEs. Os moduladores do Neuropeptídeo Y (substância que atua no cérebro estimulando o apetite), do peptídeo YY 3-36 (hormona que regula a saciedade pós-prandial) e da leptina, são outros MRC promissores. (14)

A rapamicina é usada como um imunossupressor, que inibe o mTOR. Recentes estudos experimentais implicaram a via de sinalização pelo mTOR como tendo um papel de peso no processo de envelhecimento celular.(2) O TOR, é uma proteína quinase sensível a nutrientes e envolvida no controlo do crescimento celular e no envelhecimento; as suas funções são modular a síntese proteica (TOR1), a endocitose, a glucose hepática, o metabolismo lipídico, entre outras (TOR2). Fatores estimulantes do TOR são a insulina, a IGF1, aminoácidos e stress; fatores inibidores da sua atividade são a cafeína, a hipoxia e o dano do ADN. (12)(2) A inibição do mTOR com a rapamicina expande a idade máxima e média de vida em ratos, sendo este efeito observado quando o tratamento se instituiu tardiamente (o correspondente a 60 anos na espécie humana). Esta via não foi associada a alterações nos mecanismos de doença ou causas de morte, o que sugere que a rapamicina aumenta a longevidade através do retardo da degeneração relacionada com a idade de órgãos e tecidos. Inibindo a via mTOR com rapamicina, restaura-se a auto-renovação das células-tronco hematopoiéticas e a função hematopoiética, aumenta-se

a imunidade e impulsiona-se a longevidade. A inibição do mTOR também estimula a autofagia, o que pode promover a longevidade pela degradação de proteínas aberrantes e de organelos danificados que se acumulam ao longo do tempo e interferem na homeostasia celular. (2)

Na espécie humana, os MRC pontencialmente poderão vir a proporcionar uma abordagem prática contra o envelhecimento. Contudo, não existe no presente nenhum candidato capaz de reproduzir todos os efeitos benéficos da RC, portanto a estratégia mais viável será uma combinação de vários miméticos. (14)

DISCUSSÃO/CONCLUSÃO

Apesar de ser commumente aceite que o stress oxidativo está relacionado com o processo de envelhecimento e que o efeito anti-envelhecimento da RC é fortemente dependente da redução do dano celular induzido pelas ERO, há poucas evidências que o demonstrem em humanos ou em animais de grande porte. Assim, a traduzibilidade de animais pequenos de curta vida para o envelhecimento em humanos, será uma questão a debater. Deve haver uma clara distinção entre a observação de que a RC parece resultar em humanos e a sua recomendação na prática. Em relação à RC em humanos muitas questões permanecem por ser esclarecidas.(1)

A ativação de SIRT1 confere efeitos anti-inflamatórios e anti-oxidativos na vasculatura, atenuando a senescência vascular. Logo, os agentes ativadores da SIRT1 têm potencial utilitário na modulação das doenças cardiovasculares associadas à idade avançada. Foi descoberto que baixas doses de resveratrol mimetizam o efeito da RC na desacetilação de proteínas mitocondriais específicas da CTE. No entanto, o resveratrol não é um ativador específico de sirtuínas. Logo, estudos futuros deverão focar-se na descoberta de outros compostos ativadores de sirtuínas que desacetilem, com alta especificidade e eficiência, proteínas mitocondriais.(1)

A intervenção farmacológica tem potencial de mimetizar o efeito da RC de longo prazo reduzindo o trabalho mitocondrial cardíaco. (1)

Como os benefícios da RC se associam à saúde e à sobrevivência em humanos, torna-se relevante apurar, em ensaios clínicos realizados em humanos, a viabilidade, segurança e efeitos prejudiciais que dela possam advir à saúde.(2) As consequências potencialmente nefastas que estão atualmente a ser estudadas são: diminuição de hormonas sexuais com adelgaçamento ósseo consequente, diminuição da massa muscular, sensibilidade ao frio, atraso na cura de feridas, défices imunitários, sensação de fome e alterações psicológicas como ansiedade, depressão e letargia. (9,17,14)

A dieta de RC apresenta sempre benefícios, independentemente da sua composição e não é simplesmente um meio de perder peso ou melhorar a ingestão do tipo de nutrientes. Os efeitos referidos deste tipo de dieta são referentes a uma diminuição de pelo menos 10% (em humanos) das calorias necessárias para manter o peso. (4)

Uma restrição calórica modesta é usada frequentemente como estratégia em programas de reabilitação cardíaca, especialmente quando combinados com treino físico. Os benefícios da restrição calórica moderada, independentemente da composição desta, são tão evidentes que devem continuar a incorporar os programas de estilo de vida com vista a melhorar a saúde cardiometabólica. (4)

A adesão a programas convencionais prolongados de perda de peso é notoriamente fraca, possivelmente devido a sistemas de feedback internos que protegem das mudanças de peso sinalizando o organismo a aumentar a ingestão de alimentos e a diminuir o gasto de energia, em resposta à RC.(3)

Torna-se, assim, importante estudar se a adesão a longo prazo pode ser melhorada através de novas abordagens comportamentais, tais como jejum intermitente, intercalado ou não com períodos de RC, ou através de componentes farmacológicos ou naturais que aumentem a saciedade.(3)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shinmura K. Effects of caloric restriction on cardiac oxidative stress and mitochondrial bioenergetics: potential role of cardiac sirtuins. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013 Jan;2013:528935.
2. Rochon J, Bales CW, Ravussin E, Redman LM, Holloszy JO, Racette SB, et al. Design and conduct of the CALERIE study: comprehensive assessment of the long-term effects of reducing intake of energy. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2011 Jan; 66(1):97–108.
3. Anton S, Leeuwenburgh C. Fasting or caloric restriction for healthy aging. *Exp. Gerontol.* Elsevier Inc.; 2013 Oct;48(10):1003–5.
4. Bales CW, Kraus WE. Caloric restriction: implications for human cardiometabolic health. *J. Cardiopulm. Rehabil. Prev.* 2013; 33(4):201–8.
5. Ribarič S. Diet and aging. University of Ljubljana. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2012 Jan;2012:741468.
6. Ford D, Ions LJ, Alatawi F, Wakeling L a. The potential role of epigenetic responses to diet in ageing. *Proc. Nutr. Soc.* 2011 Aug;70(3):374–84.
7. Hofer T, Fontana L, Anton SD, Weiss EP, Villareal D. Long-Term Effects of Caloric Restriction or Exercise on DNA and RNA Oxidation Levels in White Blood Cells and Urine in Humans. 2008;11(4):793–9.
8. TM Stewart¹, M Bhapkar², S Das³, K Galan², CK Martin¹, L McAdams², C Pieper², L, Redman¹, S Roberts³, RI Stein, J Rochon² and DW for the CS, Group*. Comprehensive Assessment of Long-Term Effects of Reducing Intake of Energy Phase 2 (CALERIE Phase 2) Screening and Recruitment: Methods and Results. 2013;34(1):10–20.
9. Gavrilova NS, Gavrilov L a. Comments on dietary restriction, Okinawa diet and longevity. *Gerontology.* 2012 Jan; 58(3):221–3; discussion 224–6.
10. Fontana L, Klein S, Holloszy JO. Effects of long-term calorie restriction and endurance exercise on glucose tolerance, insulin action, and adipokine production. *Age (Dordr).* 2010 Mar; 32(1):97–108.
11. Luigi Fontana, MD P. Excessive Adiposity, Calori Restriction, and Aging. 2006, April
12. Jolly C a. Diet manipulation and prevention of aging, cancer and autoimmune disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2005 Jul;8(4):382–7.
13. Phyllis K. Stein^{1,*}, Andreea Soare^{2, 3,*}, Timothy E. Meyer², Roberto Cangemi^{2, 4} JO, Holloszy², and Luigi Fontana² 5. Caloric restriction may reverse age-related autonomic decline in humans. 2013;11(4):644–50.

14. Dabhade P, Kotwal S. Tackling the aging process with bio-molecules: a possible role for caloric restriction, food-derived nutrients, vitamins, amino acids, peptides, and minerals. *J. Nutr. Gerontol. Geriatr.* 2013 Jan; 32(1):24–40.
15. Chiarpotto E, Bergamini E, Poli G. Molecular mechanisms of calorie restriction's protection against age-related sclerosis. 2006 Dec; 58(12):695–702.
16. Gerstenblith G. Cardiovascular aging: what we can learn from caloric restriction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006 Jan 17; 47(2):403–4.
17. Barzilai N, Huffman DM, Muzumdar RH, Bartke A. The critical role of metabolic pathways in aging. *Diabetes.* 2012 Jun; 61(6):1315–22.
18. Burks TN, Cohn RD. One size may not fit all: anti-aging therapies and sarcopenia. *Aging (Albany. NY).* 2011 Dec;3(12):1142–53.
19. Meydani M, Das S, Band M, Epstein S, Roberts S. The effect of caloric restriction and glycemic load on measures of oxidative stress and antioxidants in humans: results from the CALERIE Trial of Human Caloric Restriction. *J. Nutr. Health Aging.* 2011 Jun;15(6):456–60.
20. Francisco Mora, MD, PhD DP (Oxon). Successful brain aging: plasticity, environmental enrichment, and lifestyle. 2013;45–52.
21. Weiping Qina, 1, Wei Zhaoa, 1, Lap Hoa, b, d, Jun Wanga, Kenneth Walshe, Sam Gandyc A, Giulio Maria Pasinettia, b D. Regulation of forkhead transcription factor FoxO3a contributes to calorie restriction-induced prevention of Alzheimer's disease type amyloid neuropathology and spatial memory deterioration. 2008;335–47.