



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA A ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

RUI MIGUEL MARQUES BERNARDINO

RESTRIÇÃO CALÓRICA E ENVELHECIMENTO
ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GERIATRIA

**TRABALHO REALIZADO SOB ORIENTAÇÃO DE:
PROF. DOUTOR MANUEL TEIXEIRA MARQUES VERÍSSIMO**

SETEMBRO DE 2013

Índice

RESUMO	2
ABSTRACT	3
TABELAS E FIGURAS	4
INTRODUÇÃO	5
MATERIAL E MÉTODOS	7
DESENVOLVIMENTO	7
Restrição Calórica em Animais	7
Vias reguladoras relacionadas com a Restrição Calórica	9
Diacetilase NAD-dependente Sirt-1	10
Regulador do metabolismo mitocondrial PGC-1alfa	11
Reguladores energéticos, AMPK e mTOR	11
Possível Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento	12
Metabolismo Glicídico e Lipídico	13
Hormesis	13
Metabolismo Mitocondrial	14
Apoptose e os efeitos anti-neoplásicos	15
Efeitos Cardiovasculares, Neurológicos e Imunológicos	16
Alterações Genéticas	17
A Restrição Calórica em Humanos	18
Centenários de Okinawa	18
Biosfera 2	19
Calerie.....	20
Outros Estudos	20
Mimetizar a RC	22
CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

RESUMO

A esperança de vida no mundo aumentou drasticamente no último século, esperando-se, num futuro próximo, que o número de idosos nos países desenvolvidos aumente, contrastando com a diminuição do número de jovens. Esta inversão demográfica acarretará implicações económicas e sociais, uma vez que o envelhecimento está associado ao desenvolvimento de doenças crónicas. A restrição calórica (RC) emergiu como um modelo de grande interesse, sendo universalmente aceite pela comunidade científica, que a RC é a mais potente de todas as intervenções ambientais, que atrasam o Envelhecimento, previne as doenças associadas, e aumenta a esperança de vida em vários organismos experimentais.

Em alguns organismos como leveduras, roedores e primatas o binómio RC/Envelhecimento tem vindo a ser estudado, e várias hipóteses já foram consideradas destacando-se: o envolvimento de proteínas sirtuínas e vias metabólicas associadas, o aumento da eficácia do metabolismo mitocondrial, glucídico e lipídico, hormesis, neuroimuno modelação e alterações genéticas. As investigações efectuadas no ser humano têm revelado resultados positivos, no entanto, encontram-se ainda num estágio bastante precoce, dada a dificuldade de conduzir tais estudos no homem. Já foram também descobertos compostos passíveis de mimetizar a RC, entre os quais o Resveratrol que poderá vir a ser um candidato terapêutico para as doenças associadas ao processo de envelhecimento.

PALAVRAS-CHAVE: Envelhecimento, Longevidade, Restrição calórica, Sirtuínas.

ABSTRACT

Life expectancy has increased dramatically in the last century. Consequently, it is expected, in a near future an increasing number of elderly in developed countries, in contrast to a decline in young people. This tendency entail economic and social implications, since aging is associated with the development of chronic illnesses. Caloric restriction (CR) has emerged as a model of great interest, being universally accepted by the scientific community, that CR is the most potent of all environmental interventions that delay aging, prevents diseases, and increases longevity in various experimental organisms.

In some organisms such yeast, rodents and primates this association has been studied and several hypotheses have been proposed as the involvement of proteins called sirtuins, changes in mitochondrial, glycidic and lipidic metabolism, hormesis, neurodegenerative, immune and genetic. In humans, investigations revealed several positive results, however, are still in a very early stage, due to the difficulty in conducting such studies in humans. It has also been discovered compounds capable of mimic CR, including resveratrol, which can become a possible therapeutic target for diseases associated with aging.

KEYWORDS: Aging, Longevity, Calorie Restriction, Sirtuins.

TABELAS E FIGURAS

- Figura 1 - A melhoria da qualidade e esperança de vida induzida pela RC, é fruto de uma coordenação entre moléculas activadoras chave, que implementam uma reprogramação do metabolismo, na resposta à baixa disponibilidade energética. Este estado metabólico, é mantido e amplificado através de sinais sistémico. Adaptado de 10..... 9
- Figura 2 - Os reguladores metabólicos que funcionam como “termostato” energético, são fortes candidatos como moléculas chave, sobre as quais a RC actua. Existe uma complexa interacção entre estas moléculas, no entanto muito ainda tem que ser estudado, especialmente no contexto da RC. Adaptado de 10..... 12
- Figura 3 - Algumas das associações entre RC e Envelhecimento..... 17
- Figura 4 - Os estudos mais relevantes acerca dos efeitos da RC em Humanos 21

INTRODUÇÃO

Após mais de 70 anos depois do seu primeiro estudo, a restrição calórica (RC) permanece como uma das mais consistentes intervenções não farmacológicas passíveis de aumentar a longevidade e prevenir as doenças associadas ao envelhecimento [1]. Será que a RC se afirmará como um verdadeiro e consistente trunfo na luta contra o envelhecimento ou será antes uma utopia?

O envelhecimento é o reflexo da progressiva decadência funcional não de uma mas de várias funções fisiológicas complexas, reguladas por factores genéticos e ambientais. Neste contexto, distingue-se envelhecimento primário ou fisiológico, de envelhecimento secundário ou patológico. O fisiológico refere-se à fisiológica deterioração de células e tecidos independente da presença de condições patológicas e factores ambientais. Por sua vez, o envelhecimento secundário resulta da pressão de factores externos como doenças. Como exemplos do envelhecimento primário temos o aumento da gordura corporal, a diminuição da massa magra e da massa óssea, atrofia do tecido celular subcutâneo, presbiopia e presbiacusia, e do envelhecimento secundário, as doenças cardiovasculares, os acidentes vasculares cerebrais, a obesidade e o cancro. Assim, ao influenciar positivamente o envelhecimento primário, obteremos um aumento da esperança média de vida sem adiar o desenrolar de doenças associadas à idade; por outro lado actuando no envelhecimento secundário, obteremos tanto um aumento da esperança média de vida, bem como uma regressão nas doenças relacionadas com o envelhecimento [2].

A RC é definida como uma redução moderada (normalmente entre 20 e 40%) das calorias ingeridas, comparativamente à dieta *ad libitum*, sem comprometendo o aporte dos nutrientes necessários [3]. Em várias espécies animais, como moscas [4], algumas espécies de peixes [5] e cães [6], a RC demonstrou ser responsável pelo aumento da longevidade. A RC, também provou ter um efeito protector no envelhecimento secundário ao diminuir a

morbilidade de uma variedade de doenças incluindo doenças auto-imunes, aterosclerose, cardiomiopatias, cancro, diabetes e doenças neuro degenerativas [7,8].

Os mecanismos responsáveis pelo aumento da longevidade associada à restrição calórica ainda estão longe de serem completamente conhecidos, no entanto, várias vias reguladoras associadas à restrição calórica foram já consideradas: As Sirtuínas (*silent information regulator two* - SIRT), da família das proteínas diacetilases dependentes de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD), estão associadas ao envelhecimento, por estarem implicadas na regulação de vários processos biológicos, como regulação genética, apoptose e funcionam também como sensores metabólicos [9]. O *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha* (PGC-1alfa), regulador do metabolismo mitocondrial e implicado na sinalização das espécies reactivas de oxigénio, a *5' adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) e o *mammalian target of rapamycin* (mTOR), associados principalmente à regulação energética, desempenham papéis importantes no mecanismo pelo qual a RC actua [10].

O intuito deste trabalho é fazer uma análise à literatura publicada sobre estudos já efectuados acerca da RC, não só nos animais, mas também referenciar os poucos trabalhos que envolveram humanos, assim como incluir alguns mecanismos que pretendem explicar a associação entre a RC e o Envelhecimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Para revisão da literatura, realizou-se uma pesquisa nas bases de dados MedLine/Pubmed, recorrendo ao serviço de pesquisa, oferecido pela biblioteca dos Hospitais da Universidade de Coimbra. A estes serviços foi pedida, numa primeira fase, que fosse fornecida uma listagem de artigos (contendo título, *abstract*, autores, datas e revistas onde foram publicados) potencialmente relevantes para o tema. Os artigos por mim escolhidos, após a listagem que me apresentaram, pautaram-se pela relação com a temática em estudo e a actualidade da data de publicação.

DESENVOLVIMENTO

Restrição Calórica em Animais

A RC permanece a intervenção experimental mais adequada para aumentar a longevidade em várias espécies, incluindo leveduras, moscas, peixes ratos e cães [1,11]. Os modelos animais invertebrados (ex. Levedura, *C. elegans*, e *Drosophila*) são bem adequados para entender os mecanismos moleculares anti envelhecimento da RC devido à sua relativa simplicidade e ao pouco tempo necessário para completar estudos de longevidade [12,13]. Contudo, as diferenças metabólicas, anatómicas, fisiológicas entre estes modelos invertebrados e os mamíferos são enormes, daí que os roedores sejam um modelo animal valioso para determinar a influência da RC na longevidade nos mamíferos. Os primeiros estudos acerca do tema surgiram em 1935, em roedores, comprovando um aumento da longevidade e atenuação das co morbilidades associadas às doenças crónicas quando a RC era introduzida após a puberdade [14]. Até à data, os ratos foram os únicos mamíferos nos quais a RC demonstrou claramente aumentar tanto a longevidade média como máxima, bem como desacelerar processos fisiológicos relacionados com o envelhecimento e alterações estruturais em órgãos e tecidos. A RC também demonstrou inibir o desenvolvimento de cancro espontâneo, induzido por radiação ou por químicos em vários modelos de ratos [15] e atrasou

o desenvolvimento de nefropatias crónicas, cardiomiopatias, diabetes e doenças auto-imunes e respiratórias [1,16]. Outros autores vão mais longe, propondo que a RC nos roedores diminui a neuro degeneração, a deposição de beta-amilóide no cérebro e promove a neurogénese em modelos com a doença de Alzheimer, doença de Parkinson e doença de Hungtinton [17,18].

Há estudos randomizados que pretendem testar o benefício a longo prazo da RC na prevenção de doença e longevidade em primatas não-humanos como os macacos *Rhesus monkey*. Salientam-se essencialmente, um na Universidade de Wisconsin em Madison e outro no Instituto Nacional do Envelhecimento nos Estados Unidos (NIA) [19, 20]. Muito recentemente o estudo realizado no NIA, revelou que apesar de não existir uma diferença notável referente à longevidade entre os diferentes grupos de macacos [21], alguns efeitos positivos dos dados disponíveis merecem ser considerados. Semelhantemente aos roedores, da RC nos macacos *Rhesus monkey* resultou uma diminuição do peso corporal, da massa gorda, da temperatura corporal, dos valores de insulina, glicose em jejum (com aumento da sensibilidade insulínica) e perfil lipídico, dos valores de triiodotironina (T3), de deidroepiandrosterona, dos marcadores inflamatórios, senescência imune e neuro degeneração de algumas áreas cerebrais [20,22]. Para além disso, a RC em macacos *Rhesus* resultou numa redução de 50% nas doenças relacionadas com a idade, quando consideramos o cancro e as doenças cardiovasculares [20], bem como preveniu parcialmente o desenvolvimento de sarcopenia [22]. O estudo Universidade de Wisconsin em Madison, por sua vez, demonstrou que a longevidade aumentava nos macacos submetidos à mesma restrição calórica [20], contradizendo o estudo do NIA. No entanto, a diferença poderá ser explicada pela composição da comida dada aos macacos do grupo de controlo. Os macacos do grupo de controlo do NIA desfrutaram de uma alimentação "particularmente saudável", com vitaminas e complementos minerais, o que poderia explicar uma duração das suas vidas similar à do grupo de controlo.

Por outro lado, os macacos do grupo de controlo da Universidade de Wisconsin podiam se alimentar do que queriam, como acontece com o ser humano.

Vias reguladoras relacionadas com a Restrição Calórica

Existe um vasto número de artigos científicos descrevendo possíveis vias implicadas na regulação da RC e da longevidade, optou-se por escolher alguns exemplos de vias reguladoras, que actuando em moléculas chave e alterando a sinalização celular, contribuem para o aumento da esperança de vida (Fig.1).

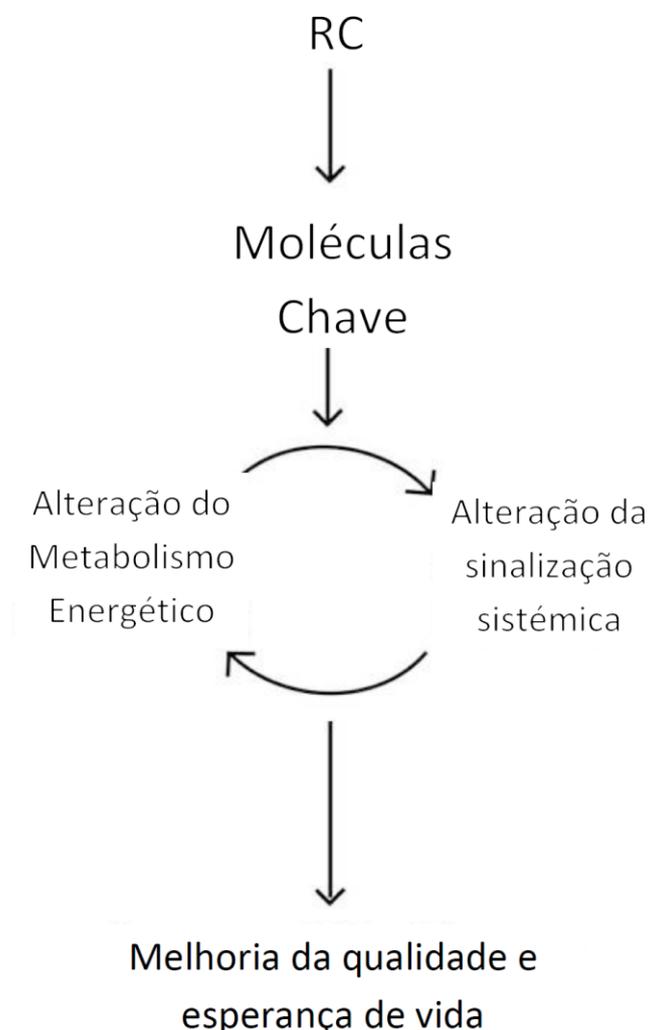


Figura 1 - A melhoria da qualidade e esperança de vida induzida pela RC, é fruto de uma coordenação entre moléculas activadoras chave, que implementam uma reprogramação do metabolismo, na resposta à baixa disponibilidade energética. Este estado metabólico, é mantido e amplificado através de sinais sistémicos. Adaptado de 10.

Diacetilase NAD-dependente Sirt-1

As SIRT são proteínas que pertencem à família de diacetilases que actuam na dependência de NAD. Nas leveduras, estão presentes 5 SIRT homólogas, SIR2 e Hist1-4. Por outro lado, nos mamíferos, existem 7 tipos diferentes de SIRT, nomeando-se de SIRT1 a SIRT7, sendo a SIRT1 aquela que tem sido mais estudada, pois é aquela que mais se assemelha à SIR2 das leveduras. Foram identificadas em vários tecidos como músculo, gordura visceral, cérebro, rim, e fígado [24].

Nas espécies mais simples, sabe-se que a RC ao elevar a concentração das SIRT, também aumenta a longevidade. Foi proposto, que a SIR2 no caso da levedura, funciona como um sensor metabólico, capaz de modular a expressão génica de acordo com o estado metabólico da célula [25]. Nos mamíferos este aumento das SIRT pela RC também já foi evidenciado, fundamentalmente da SIRT1, uma SIRT nuclear que serve de interruptor metabólico em múltiplos tecidos, pela regulação de alvos moleculares diferentes. No tecido adiposo branco, a SIRT1 regula negativamente o receptor nuclear *peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR γ), impedindo o armazenamento de gordura e permitindo a mobilização desta para ser utilizada noutros tecidos. No caso do músculo, através da *up regulation* da SIRT1 ocorre um aumento não só da mobilização de gordura, bem como da oxidação de ácidos gordos [26]. No caso do fígado e do pâncreas, existe ainda alguma discordância entre os estudos, do impacto da RC e concentração das SIRT1 [27]. No entanto, ratos transgénicos que expressam a SIRT1 na sua constituição natural mostram vários fenótipos que se assemelham aos ratos em restrição calórica: são mais magros, metabolicamente mais activos e demonstram uma maior tolerância à glucose [28]. Por sua vez, ratos com uma expressão elevada de SIRT1, parecem estar mais protegidos do desenvolvimento de doenças metabólicas, quando alimentados com dietas com alto teor de gorduras [29].

Uma melhor compreensão do efeito de alterações na concentração de SIRT1, deverão ser recolhidas através de novas abordagens genéticas usando manipulações de tecidos, por forma, a compreender as funções específicas da SIRT1 e como é que esta proteína é actua em cada tecido.

Regulador do metabolismo mitocondrial PGC-1alfa

PGC-1alfa é um co activador da transcrição que regula genes envolvidos no metabolismo energético: é um regulador central da biogénese mitocondrial, fosforilação oxidativa, gluconeogénese hepática, oxidação de ácidos gordos, e responsável pela troca no tipo de fibras musculares para as fibras de tipo I, que têm uma maior componente mitocondrial e uma taxa de oxidação maior que as fibras tipo IIb [31]. Acredita-se que muitos dos benefícios da RC no funcionamento mitocondrial e no metabolismo, se deve ao aumento da actividade do PGC-1alfa. [30]. Para além disso, de acordo com vários autores, o PGC-1alfa nas células neuronais, é capaz de induzir a biogénese mitocondrial e elevar a respiração basal, melhorando disfunções mitocondriais implicadas na patogénese de várias doenças relacionadas com a idade, incluindo as neurodegenerativas [32]. Demonstrou-se que a deficiência do PGC-1alfa conduz a alterações comportamentais, que estão relacionadas com degeneração axonal no cérebro. Contudo, os mecanismos moleculares desta degeneração ainda não são completamente conhecidos, acreditando-se que estejam relacionados com uma deficiente homeostasia energética e com um aumento das espécies reactivas de oxigénio, devido à disfunção mitocondrial.

Reguladores energéticos, AMPK e mTOR

O mTOR regula o crescimento e proliferação celular, síntese proteica e transcrição. Por sua vez, a AMPK actua como um sensor metabólico, que regula vários sistemas intracelulares, incluindo a captação de glucose e a beta-oxidação de ácidos gordos. A

activação tanto da AMPK como do mTOR, influencia activamente a respiração mitocondrial (Fig. 2). A AMPK, fosforila o PGC-1 α , promovendo a sua actividade, bem como aumenta a razão NAD⁺/NADH, o que indirectamente conduz à activação da SIRT1. A capacidade da AMPK em regular a função mitocondrial, está diminuída com a idade. Por sua vez, a RC, neste caso pela restrição de glicose activa a AMPK, bem como a razão NAD⁺/NADH [33]. Paralelamente, o mTOR é activado através do aumento de nutrientes. Em roedores, a RC (4 semanas), resultou num aumento da fosforilação e activação da AMPK e diminuição da fosforilação do mTOR [34].

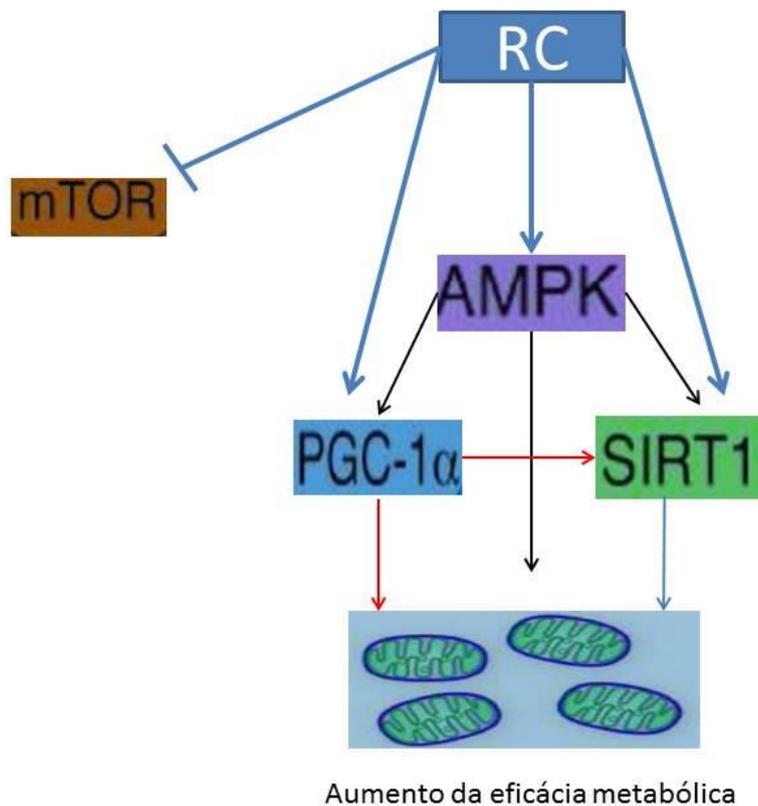


Figura 2 - Os reguladores metabólicos que funcionam como “termostato” energético, são fortes candidatos como moléculas chave, sobre as quais a RC actua. Existe uma complexa interacção entre estas moléculas, no entanto muito ainda tem que ser estudado, especialmente no contexto da RC. Adaptado de 10

Possível Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento

Vários estudos concluíram que de facto existe uma relação entre RC e envelhecimento, através de trabalhos em animais simples como leveduras, mas também em mamíferos como primatas e até mesmo no ser humano [6]. Neste contexto, existem várias hipóteses, que permitem explicar como é que realmente a RC pode actuar (Fig.3).

Metabolismo Glicídico e Lipídico

A resistência à insulina é uma condição na qual os níveis normais de insulina são insuficientes para uma resposta normal à insulina essencialmente nos adipócitos e miócitos. Este estado anormal conduz a alterações a nível do metabolismo dos glúcidos e lípidos precedendo o desenvolvimento de hiperglicemia, hiperlipidemia, e Diabetes Mellitus tipo 2. A RC ao diminuir a glicémia e conseqüentemente diminuindo a produção insulínica pelas células beta pancreáticas, reduz a massa adiposa, atrasando o conhecido síndrome metabólico [35;36]. O tecido adiposo para além de acumular energia, sob a forma de gordura, é um potente órgão endócrino. Neste contexto, produz hormonas que têm impacto em outros órgãos e sistemas, sendo que entre as principais conseqüências do aumento da massa adiposa, se destaca a resistência à insulina. Assim, adiposidade abdominal é uma fonte de inflamação sistémica e “stress” oxidativo, que leva à aceleração do processo de envelhecimento celular, estando ligada a vários tipos de doenças crónicas, bem como morte prematura [37].

Hormesis

Hormesis é um termo usado para referência aos efeitos benéficos resultantes de respostas celulares a uma exposição crónica e moderada de um agente “stressor”. Segundo a Hormesis, estes agentes, estimulam a reparação celular, dotando o organismo de formas mais rápidas de reparação quando sujeito a agressões maiores. Quanto aos efeitos benéficos

incluem: aumento da longevidade, atraso da senescência, do aparecimento de doenças associadas ao envelhecimento, e melhor capacidade de resistência perante “stressores” intensos. A RC, sendo considerada um “stressor” moderado que provoca uma resposta de sobrevivência no organismo, capacita-o a tolerar adversidades pela activação de vias da longevidade [38,39]. A RC em roedores aumenta o pico diário de corticosterona plasmática livre, sendo esperado um aumento da actividade anti-inflamatória e anti neoplásica. A nível celular e molecular induz a actividade de genes que protegem as células de agressores. Neste contexto, a RC demonstrou induzir a transcrição da *Heat Shock Protein 70* (Hsp70) hepática, uma proteína de choque térmico com actividade antioxidante. Para além disso, verificou-se também que a RC promovia a autofagia e os mecanismos de reparação do DNA, bem como promovia a expressão enzimática e não enzimática de mecanismos de defesa antioxidantes [39].

Metabolismo Mitocondrial

As mitocôndrias são organelos celulares pelos quais as células eucarióticas produzem energia. As mitocôndrias são abastecidas pelas células que as hospedam por substâncias orgânicas como a glicose, as quais processa e converte em energia sob a forma de adenosina trifosfato (ATP), que devolve para a célula hospedeira, sendo energia química que pode ser usada em reacções bioquímicas que necessitem de dispêndio de energia. Não só neste processo de obtenção energética, mas também noutros processos celulares são produzidas espécies reactivas de oxigénio, fruto da fosforilação oxidativa, de entre as quais se destacam o peróxido de hidrogénio, anião superóxido e o radical hidroxilo. Estas espécies reactivas vão oxidar outras moléculas como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, contribuindo para a sua progressiva deterioração celular. Sabe-se que os danos oxidativos estão activamente associados não só ao envelhecimento, mas também à patogénese de várias doenças como

Diabetes Mellitus, aterosclerose, Artrite Reumatóide, neoplasias, e doenças neurodegenerativas. Neste contexto, acredita-se que a RC ao diminuir o fluxo energético, diminui as espécies reactivas de oxigénio, e consequentemente reduz os danos oxidativos teciduais. Sendo assim, esta resposta fisiológica que reduz tanto o metabolismo energético, como os danos oxidativos, está ligada a uma diminuição global do “stress” oxidativo, e do dano ao material genético, contribuindo para uma maior longevidade [12].

Apoptose e os efeitos anti-neoplásicos

Há vários estudos que demonstram que a RC atrasa a mortalidade associada a tumores em roedores. Um dos mecanismos chave em que actua, é pela redução da taxa de crescimento de tumores esporádicos, através da estimulação da apoptose nas células tumorais [16]. Para além disso, também diminui as metástases produzidas por vários tumores modelo, incluindo hepatocarcinomas, carcinomas mamários e tumores prostáticos [34]. Um dos modelos largamente aceites, para explicar a carcinogénese, envolve 3 estádios: iniciação, em que uma mutação inicial leva a uma descontrolada divisão celular; promoção, adição de mutações adicionais que levem ao crescimento celular e progressão; expansão clonal, onde a massa tumoral se expande e adquire dimensões significativas. Em tumores modelo, a RC evidenciou conseguir actuar nesses vários estádios do desenvolvimento tumoral.

Por sua vez, os glucocorticóides também podem contribuir para os efeitos anti-neoplásicos da RC. A RC, aumenta os níveis diurnos da corticoesterona plasmática em roedores. Os glucocorticóides, diminuem a proliferação celular, e estimulam a apoptose nalguns tipos de células, incluindo osteoblastos, linfócitos, e queratinócitos [41].

Para além disso, a RC, ao reduzir os níveis insulínicos, e os níveis do factor de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGFI), contribui para aumentar a apoptose em tecidos mitóticos. O IGFI, desempenha um papel crucial na mitose, transformação e inibição

da apoptose. Assim, a diminuição dos níveis séricos de IGFI e insulina, podem desempenhar um papel chave nos efeitos antineoplásicos da restrição calórica. No entanto, pouco se sabe, acerca dos efeitos potenciais da RC em outros factores de crescimento e respectivos receptores [15].

Efeitos Cardiovasculares, Neurológicos e Imunológicos

O envelhecimento, prejudica o sistema cardiovascular, contribuindo não só para a diminuição da contractilidade, mas também para a disfunção sistólica e diastólica. Existem, 3 factores patológicos que estão na base da disfunção cardiovascular: fibrose do miocárdio, hipertrofia compensatória do miocárdio não fibrótico e disfunção metabólica. Existe forte evidência que a RC, diminui a incidência, bem como a idade média inicial de doenças cardiovasculares. Actua essencialmente, na manutenção do metabolismo dos ácidos gordos como fonte energética, diminui a agressão ao DNA, diminui a deposição perivascular de colagénio, diminuindo a fibrose miocárdica [35, 42].

A nível neurológico, vários estudos apontam que a RC poderá estar ligada a uma diminuição da neurodegenerescência cerebral, fruto de doenças bem prevalentes na população mais idosa como por exemplo, Parkinson e Alzheimer. No Alzheimer, os animais sob efeito da RC apresentavam menor acumulação de β -amilóide (peptídeo que se acumula no cérebro com o decorrer da patologia) e na doença da Parkinson demonstrou-se um menor défice motor, e um aumento dos níveis de dopamina e seus metabolitos [43].

No que concerne ao Sistema Imunitário, a RC poderá atenuar o declínio imunitário relacionado com a idade. Enquanto o envelhecimento, cursa com um aumento das células de memória e diminuição das células T naive, a RC aumenta o número de células T naive. Por outro lado, em modelos animais, a RC parece atrasar o desenvolvimento das doenças auto-

imunes, como Artrite Reumatóide e Lúpus Eritematoso Sistémico, ao proteger estas células de degeneração [44].

Alterações Genéticas

O que herdamos do nosso património genético que é determinante na longevidade é efectivamente inferior a cerca de 20%. Essa percentagem, tem vindo a ser substancialmente reduzida com o progredir da ciência e com o conhecimento de vias complexas do envelhecimento. São os factores externos como a RC, e outras influências ambientais, que se acumulam a nível genético, alterando a regulação genética, promovendo ou inibindo vias metabólicas e exercendo assim a sua função.

Os mecanismos epigenéticos têm-se tornado os principais modeladores da expressão genética, unindo a RC com o seu potencial benefício na função celular, e conseqüente atraso no processo de envelhecimento. Os códigos epigenéticos mais importantes que permitem a regulação da estrutura da cromatina e expressão de genes chave que por sua vez levam à resposta global à RC, são a metilação do DNA e modificação das hístonas. A facilidade de reversibilidade das alterações epigenéticas, faz com que estas possam ser um grande potencial para o uso de intervenções específicas com o objectivo de atrasar o envelhecimento e prevenir as doenças relacionadas com o envelhecimento [43].

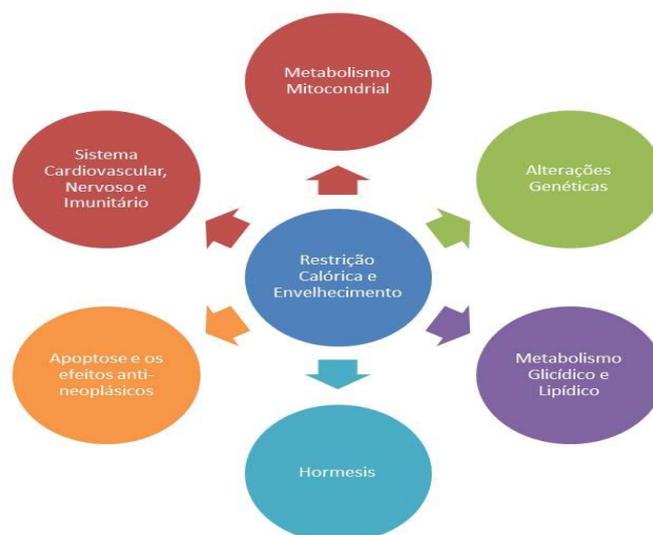


Figura 3 - Algumas das associações entre Restrição Calórica e Envelhecimento

A Restrição Calórica em Humanos

Existem vários estudos que investigaram o efeito da RC nos humanos (Fig.4), tanto intencionalmente como acidentalmente. Entre os principais estudos observacionais, destacam-se os Centenários de Okinawa e Biosfera 2, e um outro estudo controlado randomizado designado por CALERIE. Enquanto não existem dados definitivos acerca do aumento da longevidade humana pela RC, os dados que estão disponíveis acerca dos claros benefícios na saúde são bastante convincentes.

Centenários de Okinawa

A RC foi de facto uma realidade para alguns povos ao longo da nossa história. No presente, apenas os países pobres, se deparam com esta realidade de uma forma mais constante. Todavia, os estudos baseados nestas populações, poucas conclusões nos têm fornecido acerca dos seus efeitos no envelhecimento, uma vez que este tipo de alimentação, apesar de serem hipocalóricas são muito deficitárias em nutrientes essenciais e concomitantemente estes povos têm uma alta prevalência de doenças infecciosas. É neste contexto que surge a população de Okinawa, uma ilha a sul do Japão, que tendo boas normas de saúde pública, incentivou a uma dieta relativamente equilibrada conseguindo evitar enormes deficiências nutricionais e prevenir a alta taxa de doenças infecciosas verificada nos países de terceiro mundo [2]. A ilha apresenta a maior taxa de centenários de todo o planeta, e os seus residentes apresentam também um baixo risco de desenvolvimento de doenças relacionadas com a idade. Contudo não é em Okinawa que estão os centenários mais antigos do mundo. Estes estão espalhados por diversas zonas do globo onde a RC não se verifica. Em Okinawa, assistiu-se a uma diminuição da ingestão calórica em crianças em idade escolar há mais de 40 anos e estudos mais recentes comprovaram que os adultos residentes na ilha tinham uma redução de 20% da dieta *ad libitum* comparativamente aos adultos residentes

noutras áreas do Japão. Nos habitantes de Okinawa verifica-se também uma menor taxa de mortalidade por doença coronária e cancro, quando comparado com o resto da população japonesa e com a população dos Estados Unidos da América. A dieta era composta essencialmente por vegetais verdes e frutas, legumes (maioritariamente soja), alguns peixes e hidratos de carbono de baixo índice glicémico, ou seja, estas alterações são semelhantes às observadas em estudos onde entra a RC: quantidade adequada de nutrientes, vitaminas essenciais e minerais [2, 45].

Biosfera 2

O *Projecto Biosfera 2* foi um projecto realizado no ano de 1986 em Arizona, nos Estados Unidos e tinha como objectivo a recriação do nosso ambiente natural artificialmente em forma de laboratório de pesquisas. Era um local projectado para ser auto-suficiente e ecologicamente controlado (não tinham acesso a nada do exterior), onde 8 participantes (metade de cada sexo) ficariam enclausurados durante dois anos. Nos primeiros 18 meses, devido a dificuldades variadas decorrentes de falhas no projecto, os seus participantes tiveram uma dieta com RC de 22% onde se observou uma redução do perfil lipídico, do índice de massa corporal (IMC), do colesterol, da pressão arterial (PA), dos valores da glicémia e de insulina em jejum, da T3 e dos glóbulos brancos. Quando o projecto terminou, as variáveis estudadas retomaram progressivamente aos valores iniciais, demonstrando a dificuldade em manter um estilo de vida com uma dieta que tenha como base a RC. [2, 43].

Calerie

Comprehensive Assessment of Long-term effects of Reducing Calorie Intake (CALERIE) pretende explorar a exequibilidade do uso da RC como uma ferramenta terapêutica. É constituído por três centros de estudos Americanos: Tufts University, Pennington Biomedichal Research Center e Washington University, e um centro coordenador (Universidade de Duke) e consiste em 2 fases. A fase 1 divide-se em três estudos- piloto para determinar a viabilidade da RC em pessoas da comunidade, não-obesas, vivendo livremente durante 12 meses. Alguns dos resultados publicados desta fase revelaram a perda de 10% de peso nos participantes, diminuição da temperatura corporal, do IMC, do gasto energético nas 24h, da T3, da massa gorda corporal, do tecido adiposo, da gordura intra-hepática, da insulina em jejum, da glicose, e aumento da sensibilidade à insulina. A fase 2 teve 24 meses de duração e inclui mais indivíduos eutróficos e saudáveis com idades compreendidas entre 25 e 45 anos, com IMC entre 22 e 28 kg/m², e submetidos a uma redução de 25% da ingestão calórica. [2, 43, 45]. Os resultados da fase 2 serão publicados em final de 2013 ou início de 2014, e terão implicações muito importantes no conhecimento no impacto da RC na saúde cardiovascular, bem como no envelhecimento e longevidade. Neste contexto, iremos ter o nosso primeiro contacto com resultados de um ensaio clínico controlado e randomizado, para documentar os efeitos da RC nos marcadores de envelhecimento primário e secundário, numa coorte de humanos não obesos ao longo de 2 anos.

Outros Estudos

Para além dos mencionados em cima, existe um estudo que se realizou sobre os membros da *Caloric Restriction Society* que aderem à RC por vontade própria, crendo no seu benefício na saúde e longevidade, baseando-se nos resultados dos estudos realizados em

animais. Quando estudados ao fim de cerca de 6 anos e meio, estes indivíduos mostraram ter um consumo calórico de cerca de 30% menor do que a dieta típica americana, convenientemente ajustada à idade e sexo. A sua dieta era essencialmente baseada na alta ingestão de alimentos ricos em nutrientes, incluindo uma grande variedade de vegetais, frutas, leite e derivados, proteína derivada de soja e baixo consumo de alimentos refinados. Estes indivíduos apresentavam uma diminuição da gordura corporal, melhorias no perfil lipídico, tensão arterial sistólica e diastólica, redução da insulina e glicose em jejum, aumento de sensibilidade à insulina, diminuição de marcadores inflamatórios, diminuição da T3 e melhor função diastólica ventricular esquerda, devido à diminuição da fibrose miocárdia [2, 43, 46]. Por último, os padrões de jejum de algumas religiões, Mulçumanos, Gregos Ortodoxos, também foram investigados. Os resultados não foram muito consistentes no que respeita aos Mulçumanos, no entanto quanto aos Ortodoxos Gregos, verificou-se melhoria do IMC, Colesterol total, e LDL, após o período em que vigora a dieta vegetariana (200 dias anuais), comparativamente ao pré-dieta [47].



Figura 4 - Os estudos mais relevantes acerca dos efeitos da Restrição Calórica em Humanos

Mimetizar a RC

Para a generalidade das pessoas, melhorar a saúde e aumentar a longevidade é algo bastante atractivo e desejado, no entanto, o compromisso com uma dieta com baixa índice calórico que isso pode acarretar, é difícil de implementar nas sociedades modernas, não só por factores sociais, mas também psicológicos. Desta forma, pensou-se em explorar drogas ou suplementos nutricionais que mimetizem os efeitos da RC.

Compostos que activem o eixo AMPK/SIRT1/PGC-1alfa, são candidatos muito fortes a usar como mimetizadores da RC. Um dos outros alvos é a inibição de mTOR. Uma das moléculas que tem sido mais estudada é o Resveratrol, que activa as sirtuínas, regula factores de transcrição que controlam a sobrevivência das células tumorais, podendo prevenir ou atrasar o início de neoplasias, doenças cardiovasculares, lesões isquémicas, Diabetes Mellitus e inflamações patológicas [24].

Por sua vez, a Rapamicina, inibe selectivamente mTOR, tendo também um efeito antibiótico e antineoplásico. Parece ter um efeito benéfico na prevenção de algumas doenças relacionadas com o envelhecimento, bem como aumenta a longevidade em roedores [48]. Contudo, o benefício/risco da sua utilização para aumentar a longevidade humana, permanece ainda desconhecido.

CONCLUSÃO

Hoje em dia, ainda não existe nenhuma intervenção cientificamente provada que desacelere substancialmente o processo de envelhecimento no ser humano. O efeito particular da RC no aumento da longevidade humana ainda não está bem fundamentado, dado que este tipo de estudos, exige uma condução algo difícil. Sendo a única forma de conseguir provar o verdadeiro efeito da RC no ser humano, o recurso ao Homem como objecto de estudo, recorre-se a conclusões de investigações conduzidas em animais, onde a relação RC e Longevidade se considera com alicerces bem fundamentados. Todavia, sabe-se que a RC nos humanos, se demonstrou capaz de diminuir os factores de risco cardiovasculares, protege da degenerescência celular, diminui estados inflamatórios, neoplasias, fibrose miocárdica, obesidade abdominal e visceral, Diabetes Mellitus tipo 2, e doenças cardiovasculares, bem como melhorou a função ventricular esquerda. Assim, mesmo que a RC não nos faça atingir a longevidade máxima, minora o envelhecimento primário, tendo também um efeito protector no envelhecimento secundário, contribuindo assim não só para uma melhoria na qualidade de vida mas também para um aumento da esperança média de vida.

Comparar as conclusões de estudos animais e correlacioná-las com aquelas que seriam de esperar obter no ser humano não é viável, pois mesmo os animais mais complexos têm diferenças biológicas significativamente diferentes comparativamente ao homem, e para além disso o ser humano apresenta todo um conjunto de factores biopsicossociais que naturalmente teriam influência ao inferir qualquer conclusão. Os efeitos benéficos observados nos estudos em humanos poderiam igualmente estar ligados a hábitos alimentares e de vida mais saudáveis, logo, seria crucial comparar e distinguir entre o efeito da redução quantitativa e a alteração qualitativa dos alimentos, dado que ambos geralmente estão ligados. Um outro problema, é a capacidade de aderir a um regime de RC. Perante uma sociedade com uma vida social e profissional cada vez mais exigente, será muito árduo, implementar regimes de RC.

Este e outro tipos de problemas têm sido descritas na literatura, sendo contudo necessário mais trabalhos para poder confirmar se realmente serão determinantes para não empregar a RC na espécie humana.

A utilização de moléculas mimetizadoras da RC, poderá ser uma das ferramentas futuras a ultrapassar alguns dos problemas associados à RC, no entanto serão necessários mais trabalhos a fim de avaliar se o seu efeito será igual ao da RC e se não comportam riscos acrescidos ao ser humano.

Estamos portanto ainda distante de um fármaco ou regime alimentar que nos faça viver livre de doenças e nos aumente a longevidade. Contudo, temos uma janela aberta, conhecendo melhor mecanismos moleculares onde a RC actua, e as suas consequências a nível biológico, poderemos vir a ter um verdadeiro trunfo na luta contra o envelhecimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Masoro EJ. Overview of caloric restriction and ageing. *Mechanisms of Ageing and development* 126 (2005) 913
2. Holloszy JO, Fontana L. Caloric restriction in humans. *Exp Gerontol* 2007 Aug;42(8):709-12.
3. Piper, M.D. and Bartke, A. (2008) Diet and Aging. *Cell Metab.* 8, 99-104.
4. Min KJ, Flatt T, Kulaots I, Tatar M : Counting calories in *Drosophila* diet restriction. *Exp Gerontol* 2007, 42: 247-251.
5. Comfort A: Effect of delayed and resumed growth on the longevity of a fish (*Lebistes reticulares*, Peters) in captivity. *Gerontologia* 1963, 150-5.
6. Lawler DF, Larson BT, Ballam JM, Smith GK, Biery DN, Evans RH, Greeley EH, Segre M, Stowe HD, Kealy RD: Diet restriction and ageing in the dog: major observations over two decades. *Br J Nutr* 2008, 99:793-805.
7. Imai S: SIRT1 and caloric restriction: an insight into possible trade-offs between robustness and frailty. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009, 12: 350-356.
8. Vaquero A, Reinberg D: Calorie restriction and the exercise of chromatin. *Genes Dev* 2009, 23: 1849-1869.
9. Xiaolei Q, Brown KV, Moran Y, Chen Danica : Sirtuin regulation in calorie restriction. *Biochimica et Biophysica Acta* 2010
10. Anderson RM, Weindruch R: Metabolic reprogramming, caloric restriction and aging. *Trends Endocrinol Metab.* 2010 *Maech*; 21 (3): 134-141.
11. Christensen K, Doblhammer G, Rau R, Vaupel JW. Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet*, 2009; 374:1196-1208.

12. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending Healthy Lifespan – From Yeast to Humans. *Science*.2010; 328:321-326.
13. Kenyon C. The plasticity of aging: Insights from Long-Lived Mutants. *Cell*. 2005; 120: 449-460.
14. Archer CR, Royle N, South S, Selman C, Hunt J. Nutritional geometry provides food for thought. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*2009 Sep;64(9):956-9.
15. Longo VD, Fontana L. Calorie restriction and cancer: metabolic and molecular mechanisms. *Trens in Pharmacological Sciences*. 2010; 31:89-98.
16. Shimokawa I, Higami Y, Hubbard GB, McMahan CA, Masoro EJ, Yu BP. Diet and the suitability of the male Fisher 344 rat as a model for aging research. *J, Gerontol*. 1993; 48:B27-32.
17. Cohen E, Paulsson JF, Blinder P, Burstyn Cohen T, Du D, Estepa G, Adame A, Pham HM, Holzenberger M, Kelly JW, Masliah E, Dillin A. Reduced IGF.1 signaling delays age-associated proteotoxicity in mice. *Cell*. 2009; 139:1157.1169.
18. Mattson MP. Energy intake, meal frequency, and health: a neurobiological perspective. *Annu. Rev. Nutr*. 2005; 25:237-260.
19. Ingram DK, Cutler RG, Weindruch R, Renquist DM, Knapka JJ, April M, Belcher CT, Clark MA, Hatcherson CD, Marriott BM, Roth GS. Dietary restriction and aging: the initiation of a primate study. *J. Gerontol*. 1990; 45: 148-163
20. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, Allison DB, Cruzen C, Simmons HA, Kemnitz JW, Weindruch R. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*2009 Jul 10;325(5937):201-4.

21. Mattison JA, Roth GS, Beasley TM, Tilmont EM, et al. Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study. *Nature*. 2012 Sep 13;489(7415):318-21.
22. Mattson MP. Dietary factors, hormesis and health. *Ageing Res Rev* 2008 Jan;7(1):43-8
23. Colman RJ, Beasley TM, Allison DB, Weindruch R. Attenuation of sarcopenia by dietary restriction in rhesus monkeys. *Journals of Gerontology, Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*. 2008; 63:556-559.
24. Allard JS, Perez E, Zou S, de Cabo R. Dietary activators of Sirt1. *Mol Cell Endocrinol* 2009 Feb 5;299(1):58-63.
25. Guarente, L. (2000) Sir2 links chromatin silencing, metabolism, and aging. *Genes Dev*. 14, 1021-1026.
26. Z Gerhart-Hines, JT Rodgers, O Bare, C Lerin, SH Kim, R Mostoslavsky, FW Alt, Z Wu, P Puigserver, Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty oxidation through SIRT1/PGC-1alpha, *EMBO J*. 26 (2007) 1913-1923.
27. Chen D, et al. Tissue-specific regulation of Sirt1 by caloric restriction. *Genes Dev* 2008; 22:1753-1757.
28. Bordone, L. et al. (2007) SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling caloric restriction. *Aging Cell* 6, 759-767.
29. Pfluger, PT et al. (2008) Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.* 105, 9793-9798.
30. Baker DJ, Betik AC, Krause DJ, Hepple RT 2006. No decline in skeletal muscle oxidative capacity with aging in long term calorically restricted rats: effects are independent of mitochondrial DNA integrity. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 61, 675-684.

31. Canto C, Auwerx J, 2009. PGC-1alpha, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Curr. Opin. Lipidol.* 20, 98-105.
32. Cui L, Jeong H, Borovecki F, Parkhurst CN, Tanese N, and Krainc, “Transcriptional repression of PGC-1 α by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration,” *Cell*, vol. 127, no. 1, pp. 59–69, 2006.
33. Jager S, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104:12017-12022.
34. Jiang W, et al. Dietary energy restriction modulates the activity of AMPactivated protein Kinase, Akt, and mammalian target of rapamycin in mammary carcinomas, mammary gland and liver. *Cancer Res* 2008; 68:5492-5499.
35. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Ueki Y, Tominaga T, Miyake S. Inflammation and insulin resistance are independently related to all-cause of death and cardiovascular events in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2003 Aug;169(2):317-21.
36. Utschneider KM, Carr DB, Hull RL, Kodama K, Shofer JB, Retzlaff BM, Knopp RH, Kahn SE. Impact of intra-abdominal fat and age on insulin sensitivity and beta-cell function. *Diabetes* 2004 Nov;53(11):2867-72.
37. Epel ES. Psychological and metabolic stress: a recipe for accelerated cellular aging? *Hormones (Athens)* 2009 Jan-Mar;8(1):7-22.

38. Masoro EJ. The role of hormesis in life extension by dietary restriction. *Interdiscip. Top. Gerontol.* 2007; 35:1 – 17.
39. Omodei D, Fontana L. Calorie restriction and prevention of age-associated chronic disease. *FEBS Lett.* 2011 Jun 6; 585(11):1537-42
40. Hyun DH, Emerson SS, Jo DG, Mattson MP, de Cabo R. Calorie restriction upregulates the plasma membrane redox system in brain cells and suppresses oxidative stress during aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 Dec 26;103(52):19908-12.
41. Herold, M.J., McPherson, K.G., Reichardt, H.M., 2006. Glucocorticoides in Tcell apoptosis and function. *Cell. Mol. Life Sci.* 63, 60-72.
42. Spindler, S.R., Dhahbi, J.M., 2007. Conserved and tissue-specific genetic and physiologic responses to caloric restriction and altered igfi signaling in mitotic and postmitotic tissues. *Annu. Rev. Nutr.* 27, 193-217.
43. Genaro Pde S, Sarkis KS, Martini LA. [Effect of caloric restriction on longevity]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*2009 Jul;53(5):667-72.
44. Jolly CA, Muthukumar A, Avula CP, Troyer D, Fernandes G. Life span is prolonged in food-restricted autoimmune-prone (NZB x NZW)F(1) mice fed a diet enriched with (n-3) fatty acids. *J Nutr*2001 Oct;131(10):2753-60.

45. Redman LM, Martin CK, Williamson DA, Ravussin E. Effect of caloric restriction in non-obese humans on physiological, psychological and behavioral outcomes. *Physiol Behav* 2008 Aug 6;94(5):643-8.
46. Meyer TE, Kovacs SJ, Ehsani AA, Klein S, Holloszy JO, Fontana L. Long-term caloric restriction ameliorates the decline in diastolic function in humans. *J Am Coll Cardiol* 2006 Jan 17;47(2):398-402.
47. Trepanowski JF, Bloomer RJ. The impact of religious fasting on human health. *Nutr J* 2010; 9: 57.
48. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*. 2009; 460:392-395.