



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2009/2010

Claudia Sofia da Graça Junqueira
O Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento

Junho 2010

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Claudia Sofia da Graça Junqueira
O Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Envelhecimento

**Trabalho efectuado sob a Orientação de:
Prof. Dr. Pedro von Hafe**

Revista: Arquivos de Medicina

Junho 2010

FMUP

Eu, Claudia Sofia da Graça Junqueira, abaixo assinado, nº mecanográfico 04071, aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que NÃO incorri em plágio (acto pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/04/2010

Assinatura: Claudia Junqueira

Nome: Claudia Sofia da Graça Junqueira

Endereço electrónico: m04071@med-up.pt

Título da Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio:

O Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento

Nome completo do Orientador:

Pedro Manuel von Hafe da Cunha Perez

Nome completo do Co-Orientador:

Ano de conclusão: 2010

Designação da área do projecto de opção:

Envelhecimento

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio (*cortar o que não interessar*) apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/04/2010

Assinatura: Claudia Junqueira

Título: O Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento

Autor: Claudia Sofia da Graça Junqueira ¹

Co-autor: Prof. Dr. Pedro von Hafe ²

Filiação: ^{1,2} Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Contactos: Claudia Sofia da Graça Junqueira

Bairro de Santo António nº 40

5430-455 Valpaços

968435505, m04071@med.up.pt

Contagem de palavras: Abstract em português: 245 palavras

Abstract em inglês: 242 palavras

Abstract em francês: 250 palavras

Texto integral: 4766 palavras

ÍNDICE

Agradecimentos.....	4
Abstract em Português.....	5
Abstract em Inglês.....	6
Abstract em francês.....	7
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	8
Lista de Figuras e Tabelas.....	11
Introdução.....	12
Desenvolvimento.....	14
A Restrição Calórica nos Animais de Espécie não Humana	14
As Sirtuínas.....	15
Outras Teorias para o Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento	19
• Metabolismo Glicídico e Lipídico.....	19
• Metabolismo Mitocondrial;.....	19
• Hormesis.....	21
• Alterações Neurodegenerativas.....	22
• Alterações Imunes.....	23
• Alterações Genéticas.....	23
A Restrição Calórica nos Humanos	24
Efeitos Nefastos da Restrição Calórica	27

Conclusão	29
Bibliografia	31
Anexos.....	37

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao Professor Doutor Pedro von Hafe pela sua motivação, disponibilidade e sabedoria sem a qual esta monografia não seria possível.

Um grande obrigada a todos os meus amigos e família pelo apoio, carinho e paciência ao longo de todo o meu percurso.

ABSTRACT EM PORTUGUÊS

O envelhecimento é um tema recente que surgiu devido ao desenvolvimento da higiene e biomedicina, levando ao incremento da esperança média de vida e assim, ao aumento do número de idosos nos países desenvolvidos. Este processo é complexo e associa-se a uma perda gradual das funções fisiológicas reguladas por factores genéticos e ambientais. Pode-se ainda distinguir entre primário e secundário, sendo que o primeiro corresponde à inevitável deterioração de células, tecidos e funções que decorrem independentemente de doenças, estilo de vida ou causas ambientais. O segundo é provocado por condicionantes externas. O objectivo das pesquisas mais recentes neste tema é perceber se existe algum agente que possa abrandar/parar este processo. De facto, a restrição calórica (RC) é o único mecanismo não-farmacológico conhecido que atenua o envelhecimento primário e tem um efeito protector no secundário, isto é, aumenta a esperança média de vida e atrasa a progressão de doenças relacionadas com a idade.

Em leveduras, *Drosophila*, *C. elegans*, aranhas, peixes, roedores a até primatas esta relação tem sido bem fundamentada e algumas teorias já foram avançadas como: o envolvimento de proteínas sirtuínas, alterações a nível do metabolismo celular, horméticas, neurodegenerativas, imunes e genéticas. Nos humanos, as investigações efectuadas apontam para o mesmo efeito benéfico, no entanto efeitos negativos foram identificados, necessitando-se por isso assegurar a viabilidade e segurança desta dieta. Recentemente, foram descobertas umas moléculas mimetizadoras da RC como o Resveratrol que poderá tornar-se num possível instrumento terapêutico e/ou preventivo das doenças relacionadas com o envelhecimento.

PALAVRAS-CHAVE: Restrição calórica, Envelhecimento, Longevidade, Sirtuína, Resveratrol.

ABSTRACT EM INGLÊS

Aging is a recent theme due to the development of hygiene and biomedicine that have led to enlarged life expectancy and thus the increase of older persons in developed countries. This is a complex process and it is associated with a gradual loss of physiological functions regulated by genetic and environmental factors. We can still distinguish between primary and secondary aging. While the first corresponds to the inevitable deterioration of cells, tissues and functions that happens independently of disease, lifestyle or environmental causes, the second is induced by external factors. The aim of the research on this topic is to understand if there is any factor that may delay/stop this process. In fact, caloric restriction (CR) is the only non-pharmacological mechanism known that slow the primary aging and has a protective effect on the secondary one, in other words, increases life expectancy and delays the progression of age-related diseases.

In yeast, *Drosophila*, *C. elegans*, spiders, fishes, rodents and even primates, this relationship has been already well documented and some theories have been advanced like the contribution of sirtuins proteins, modifications in cell metabolism, hormesis, neurodegenerative, immune and genetic processes. In humans, investigations point to the same beneficial effect of CR, although negative outcomes were identified, then it is necessary to do studies about the viability and safety of this diet. Recently, it has been discovered CR-mimetics molecules like Resveratrol that may become a possible therapeutic and/or preventive tool for aging related diseases.

KEYWORDS: Caloric restriction, Aging, Life span, Sirtuin, Resveratrol

ABSTRACT EM FRANCÈS

Le vieillissement est un thème récent dû au développement de l'hygiène et de la biomédecine, conduisant à l'augmentation de l'espérance de vie et des personnes âgées dans les pays développés. Ce processus est complexe et est associé à une perte progressive des fonctions physiologiques régulées par des préposés génétiques et environnementaux. On peut faire la distinction entre vieillissement primaire et secondaire, correspondant le premier à la dégradation inévitable des cellules, des tissus et des fonctions qui se déroule indépendamment des maladies, modes de vie ou environnement. Le second est causé par des facteurs externes. L'objectifs des dernières recherches est de découvrir s'il existe une cause qui peut freiner/stopper ce mécanisme. La restriction calorique (RC) est le seul instrument non-pharmacologique connu qui atténue le vieillissement primaire et a un effet protecteur sur le secondaire, à savoir, l'espérance de vie augmente et la progression des maladies liées au vieillissement ralentit.

Chez les levures, les *Drosophila*, les *C. elegans*, les araignées, les poissons, les rongeurs et les primates, cette relation est bien documentée. Certaines théories ont été proposées comme la participation des sirtuines, des changements dans le métabolisme cellulaire, *hormesis*, neurodégénératifs, immunitaires et génétiques. Chez les humains, les études mènent au même aboutissement, cependant des effets négatifs ont été identifiés et on doit donc veiller à la viabilité et à la sécurité de ce régime. Récemment, on a découvert des molécules qui simulent les effets de la RC, comme le Resveratrol, qui peut devenir un possible outil thérapeutique et/ou préventif des maladies associées au vieillissement.

MOTS-CLEFS: Restriction calorique, Vieillissement, Longévité, Sirtuine, Resveratrol.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR: Artrite Reumatóide

ATP: Adenosina Trifosfato

AVC: Acidente Vascular Cerebral

BDNF: Factor Neurotrófico Derivado do Encéfalo

BHE: Barreira Hemato-Encefálica

CALERIE: *Comprehensive Assessment of Long-term effects of Reducing Calorie Intake*

DCV: Doenças Cardiovasculares

DHEAS: Sulfato de Dehidroepiandrosterona

DM: Diabetes Mellitus

DMBA: 7,12-Dimetilbenzantraceno

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

ELA: Esclerose Lateral Amiotrófica

EAM: Enfarte Agudo do Miocárdio

ERO: Espécies Reactivas de Oxigénio

FADH: Dinucleótido de Adenina-Flavina Reduzido

FOXO: *Forkhead-box Transcription Factors*

FRCV: Factores de Risco Cardiovasculares

GDNF: Factor Neurotrófico Derivado das Células Gliais

H₂O₂: Peróxido de Hidrogénio

HDL: Lipoproteínas de Alta Densidade

HTA: Hipertensão Arterial

IGF-1: Factor de Crescimento do Tipo Insulina 1

IL1, IL2, IL6: Interleucinas 1, 2 e 6.

IMC: Índice de Massa Corporal

LDL: Lipoproteínas de Baixa Densidade

LES: Lúpus Eritematoso Sistémico

NAD: Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina

NADH: Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina Reduzido

NF- κ B: *Nuclear Factor-KappaB*

NO: Óxido Nítrico

O₂: Oxigénio

O₂⁻: Anião Superóxido

OH⁻: Radical Hidroxilo

PA: Pressão Arterial

PCR: Proteína C Reactiva

PGC1 α : Coactivador 1 α do PPAR γ

PPAR: Receptores dos Proliferadores dos Peroxissomas Activados

RC: Restrição calórica

SIRT: *Silent Information Regulator Two*

SN: Sistema Nervoso

SNC: Sistema Nervoso Central

SNS: Sistema Nervoso Simpático

T3: Tri-iodotironina

TG: Triglicérides

TNF α : Factor de Necrose Tumoral α

UCP: *Uncoupling Proteins*

VEGF: Factor de Crescimento Endotelial Vascular

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Esquema 1: Activação e mecanismos nos tecidos-alvo das SIRT1.

Esquema 2: Hipóteses para explicar a relação Restrição Calórica – Envelhecimento.

Tabela 1: Factores de risco ateroscleróticos nos membros da *Caloric Restriction Society* antes e depois de iniciar RC. Adaptado de (1).

Tabela 2: Comparação dos efeitos nos indivíduos com dieta ocidental e naqueles pertencentes à *Caloric Restriction Society* 6 anos após iniciarem a RC. Adaptado de (1).

Tabela 3: Sumário das respostas fisiológicas e psicológicas/comportamentais após 6 meses de RC em humanos. Estes resultados são do estudo CALERIE, unidade de Pennington. Adaptado de (2).

INTRODUÇÃO

Já vários estudos se debruçaram sobre este controverso tema: o papel da restrição calórica (RC) no envelhecimento. Será que estamos perante um elixir da juventude ou simplesmente encontramos um ponto-chave para viver não só mais tempo, mas com mais qualidade? Uma possível terapia para doenças relacionadas com o envelhecimento, tais como diabetes, cancro ou doenças neurodegenerativas? Ou será tudo uma ilusão?

Antes do tema propriamente dito, é importante expor alguns conceitos fundamentais. O Envelhecimento é um tema relativamente recente que só se começou a explorar graças ao desenvolvimento da higiene e da biomedicina que levaram ao incremento da esperança média de vida e ao aumento do número de pessoas mais velhas nos países desenvolvidos, um artefacto da civilização humana. O processo de envelhecimento é complexo e associa-se a uma perda gradual das funções fisiológicas, regulada por factores genéticos e ambientais e exemplo disso são as alterações metabólicas tais como a predisposição para o aumento da gordura corporal, principalmente da gordura abdominal, a diminuição da tolerância à glicose, o aumento das concentrações de triglicéridos (TG) e colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a diminuição dos níveis de colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (3-5).

Podemos distinguir entre Envelhecimento Primário, que corresponde à inevitável deterioração de células e tecidos estruturados e funções que decorrem independentemente de doenças, estilo de vida ou causas ambientais e Envelhecimento Secundário, consistindo este no declínio da função e estrutura dos tecidos devido à influência de factores externos como doenças. Actuando no envelhecimento primário, obteremos um aumento da esperança média de vida sem atrasar o curso de doenças relacionadas com a idade; em contrapartida, se influenciarmos o envelhecimento secundário, não só teremos um aumento da esperança média de vida, bem como o atraso da progressão de doenças relacionadas com o envelhecimento (1, 6).

Curiosamente, quando submetemos um animal a RC (redução da ingestão calórica abaixo do *ad libitum*, sem desnutrição) (2) sucedem-se precisamente os fenómenos contrários

aos que acontecem no envelhecimento. Os mecanismos responsáveis por tal modificação ainda são desconhecidos, no entanto algumas hipóteses têm sido propostas. Uma delas envolve as proteínas chamadas Sirtuínas (*silent information regulator two* - SIRT), da família das proteínas deacetilases dependentes de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD). Estas provocam alterações a vários níveis como nas mitocôndrias, no genoma e no metabolismo. Para além desta hipótese, outras teorias têm incidido sobre os pontos-chave das diversas teorias do envelhecimento existentes (teoria evolucionista, dos radicais livres, mitocondrial, da regulação dos genes, telomérica, inflamatória, imune, neuroendócrina e neuroendócrina-imune) (5-6).

A RC é o único mecanismo não-farmacológico conhecido que, para além de, atenuar o envelhecimento primário, tem um efeito protector no envelhecimento secundário, isto é, aumenta a esperança média de vida e atrasa a progressão de doenças relacionadas com a idade (1). Para tentar caracterizar/quantificar este efeito usaram-se “biomarcadores do envelhecimento”. Estes são considerados como um parâmetro que reflecte fisiologicamente ou funcionalmente a nossa idade e devem sofrer alterações significativas relacionadas com a idade, sendo atenuados ou revertidos por tratamentos que aumentam a longevidade. Para além disso devem poder ser medidas com fiabilidade. Numeroso biomarcadores já foram identificados em roedores, primatas e humanos com tempo prolongado de RC, sendo eles temperatura, sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS) e níveis de insulina e glicose (2, 7-8).

Infelizmente, também foram identificadas alterações desfavoráveis consequentes a esta restrição, principalmente a nível do sistema reprodutivo.

No presente trabalho pretendeu-se fazer uma análise crítica à literatura publicada sobre estudos já efectuados até hoje em animais, assim como sobre as teorias que pretendem explicar a relação entre a RC e o Envelhecimento. Realizou-se uma pesquisa nas bases de dados MedLine/Pubmed. De referir ainda outros estudos, não incluídos na pesquisa inicial, citados nos artigos da mesma ou na pesquisa manual de artigos sugeridos pelo orientador da tese de mestrado.

DESENVOLVIMENTO

A Restrição Calórica nos Animais de Espécie não-Humana

Os animais mais estudados neste tema têm sido espécies cujo tempo médio de vida seja relativamente curto, de forma a facilitar a observação das ilações finais, tais como as leveduras, *Drosophila*, *C. elegans*, aranhas, peixes, ratos e outros roedores (9-14). Os primeiros a apresentarem resultados sobre este tema foram os ratos estudados por McCay e col. em 1935 que comprovaram um aumento da longevidade e atenuação das severidades de doenças crônicas quando a RC era introduzida após a puberdade em ratos (15). Outros estudos comprovaram que em roedores, a RC aumenta a longevidade impedindo/retardando a ocorrência de doenças crônicas tais como, aterosclerose, cardiomiopatia, diabetes, doenças pulmonares e renais, distúrbios autoimunes, neoplasias, doença de Alzheimer e Parkinson (15-18). Outros autores vão ainda mais longe, sugerindo que a RC aumenta a resistência dos roedores a neoplasias induzidas por agentes carcinogénios em vários tecidos como pâncreas (azaserine) (19), mama (7,12-dimetilbenzantraceno- DMBA) (1), próstata (N-metil-N-nitrosourea e testosterona) (20) ou o sistema nervoso (SN) a neurotoxinas (epilepsia, doença de Huntington, Parkinson e Alzheimer) em modelos experimentais (21-22).

Há evidências que apontam percentagens ótimas entre os 30 a 60% de RC para um aumento de esperança média de vida máxima de cerca de 50%, sendo que, se aumentarmos a RC para além destes valores, a longevidade diminui (6, 8).

No entanto, este efeito não é universal: não é, por exemplo, observável um aumento da longevidade na *Musca domestica* (23) e os seus efeitos são oscilantes conforme o genótipo nas diferentes espécies de ratos (24).

Há estudos que também relacionam a RC com diminuição substancial de marcadores de envelhecimento e da morbilidade associada à idade em primatas não-humanos como os macacos

Rhesus monkeys. Entre estes resultados consta-se uma diminuição do peso corporal, da massa gorda, da temperatura corporal, da taxa de metabolismo basal (em níveis semelhantes de actividade física), dos valores de insulina e glicose em jejum (com aumento da sensibilidade insulínica), dos valores de Tri-iodotironina (T3), de DHEAS, dos marcadores inflamatórios e da senescência imune (1-2, 25-26).

As Sirtuínas

As sirtuínas fazem parte de uma família de diacetilases dependentes de NAD. Nas leveduras, identificaram-se 5 homólogas (Sir2 e Hist1-4), já no *C. elegans* encontra-se a Sir2 e na *Drosophila melanogaster* a dSir2. Nos mamíferos, as sirtuínas correspondentes são 7 e designam-se de SIRT1 a SIRT7, sendo SIRT1 a mais parecida com a Sir2 das leveduras. Encontram-se em vários tecidos como cérebro, rim, músculo, gordura visceral e fígado, principalmente quando submetidos a RC (27).

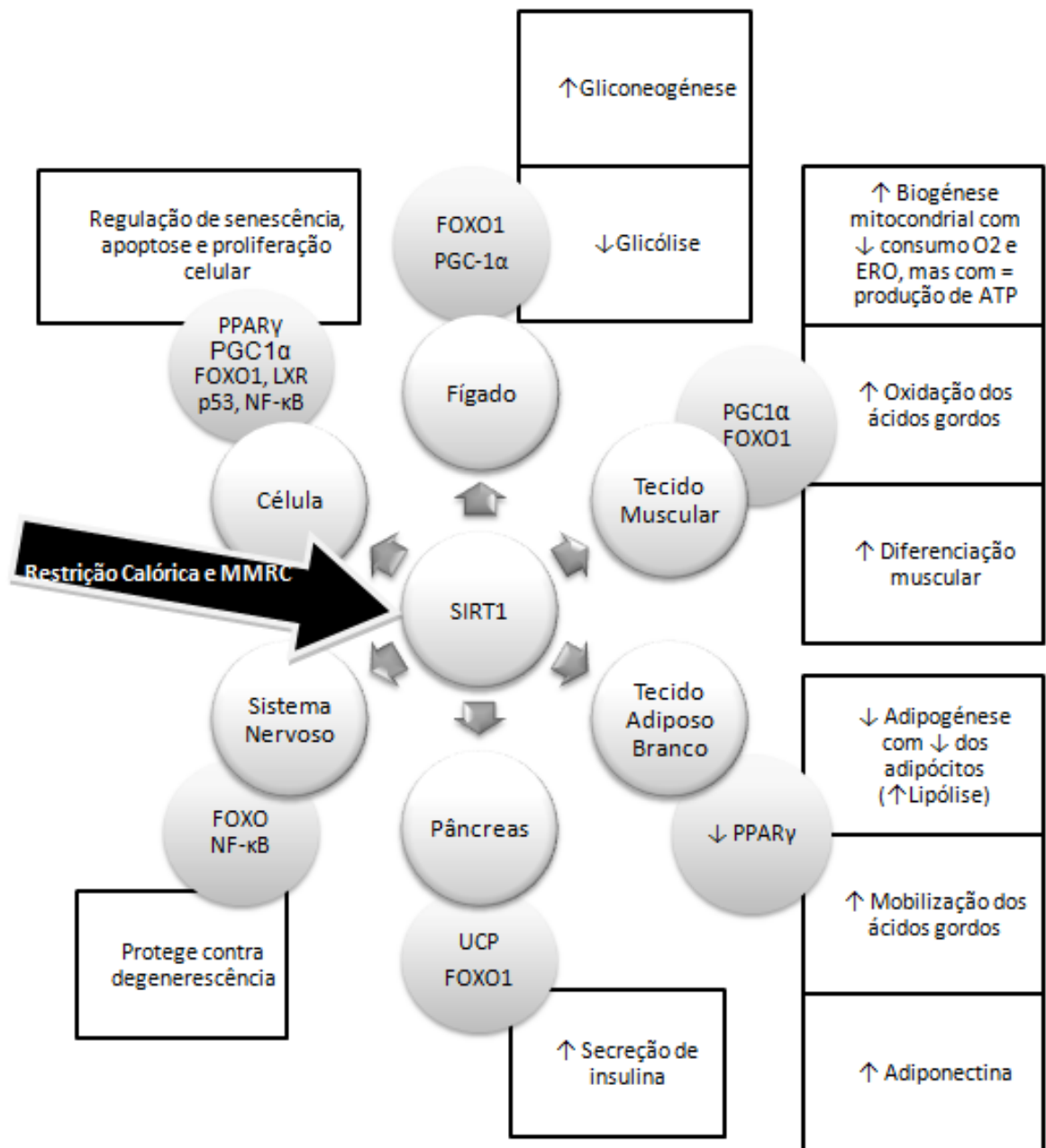
Percebeu-se que existe de facto uma correlação entre estas enzimas e o estado nutricional, uma vez que a maioria das suas funções dependem do NAD. Já foi comprovado nas espécies inferiores que a RC eleva a concentração das SIRT. O que resta saber é se esse aumento se relaciona, de facto, com o aumento da longevidade e o atraso de doenças relacionadas com a idade. Nos mamíferos e humanos este aumento também já foi demonstrado, principalmente da SIRT1, cujo aumento da expressão e actividade biológica parece mediar a actividade de importantes reguladores do metabolismo como *forkhead-box transcription factors 1* (FOXO1), receptores dos proliferadores dos peroxissomas activados α (PPAR α), PPAR γ , coactivador 1 α do PPAR γ (PGC1 α), factor de crescimento do tipo insulina 1 (IGF-1) que intercedendo em determinados tecidos e no sistema endócrino através de sinalização dietética de baixas calorias, despertam alterações privilegiadas que beneficiam os mamíferos saudáveis e assim a longevidade bem como uma maior resistência ao “stress” e à sensibilidade insulínica (28-29).

No fígado (30) verificou-se que a SIRT1 deacetila a PGC1 α que, por sua vez, interage com o FOXO1, o qual leva à activação da gliconeogénese e diminuição da glicólise. Já no tecido muscular (30), a SIRT1 activa a PGC1 α /FOXO1, induzindo a biogénese mitocondrial com decréscimo de consumo de Oxigénio (O₂) e conseqüentemente de espécies reactivas de Oxigénio (ERO), mas mantendo a produção da mesma quantidade de adenosina trifosfato (ATP). Incrementa ainda a oxidação dos ácidos gordos e a diferenciação muscular. No tecido adiposo branco (31), suprime a actividade transcricional do PPAR γ , levando ao aumento da mobilização de ácidos gordos e da expressão do gene para a hormona adiponectina, assim como ao declínio da adipogénese com diminuição do tamanho das células lipídicas. A nível pancreático faz aumentar a secreção insulínica com ajuda das *uncoupling proteins* (UCP) e do FOXO1. Esta última, mais o NF- κ B actuarão a nível do SN, protegendo-o da degenerescência. Finalmente, as SIRT1 intervêm na regulação da senescência, apoptose e proliferação celular através de uma grande variedade de moléculas (PPAR γ , PGC1 α , FOXO1, receptor nuclear LXR e gene supressor tumoral p53) (31-34).

Em suma, o papel preciso das sirtuínas na regulação da longevidade ainda não está totalmente elucidado, mas os estudos realizados até agora mostram que estas proteínas apresentam um papel fundamental na determinação desta, pois pensa-se que estas deacetilam histonas e factores de transcrição que intervêm particularmente no metabolismo energético, na sinalização endócrina e na resposta a “stressores”. (35)

Recentemente, foram estudadas moléculas mimetizadoras dos efeitos da RC como é o caso do Resveratrol, Buteína, Piceatanol, Fisetina, Quercetina (polifenóis encontrados em plantas) numa tentativa de beneficiar dos efeitos da RC sem a privação da alimentação, pois numa sociedade moderna seria difícil cumpri-la, tanto pelos factores psicológico-sociais, como pelas nossas actividades diárias que exigem um grande dispêndio de energia (27). Diversos estudos (36-37) já comprovaram uma melhoria do perfil metabólico em ratos alimentados com uma dieta rica em gordura usando Resveratrol. Nos mamíferos, há a evidência crescente de que este activaria as sirtuínas, regulando factores de transcrição que controlam a sobrevivência das

células tumorais, podendo prevenir ou atrasar o início de neoplasias, assim como doenças cardiovasculares (DCV), lesões isquémicas, diabetes mellitus (DM), inflamações patológicas e infecções virais, isto apesar da sua baixa biodisponibilidade e depuração rápida da nossa circulação (8). Contudo, colocam-se vários problemas, como o facto de esta molécula ter outras proteínas-alvo como as ciclooxigenases, as lipooxigenases, as cinases, as reductases dos ribonucleotídeos, a adenil-ciclase, a aromatase e as polimerases do ácido desorirribonucleico (DNA) poliméras e assim os efeitos provocados não poderão ser analisados exclusivamente a nível das SIRT (27). Por outro lado, temos aqui a supressão da “sensação fome” inerente à RC, que poderá ter um papel relevante nos efeitos desta (24).



Esquema 1: Activação e mecanismos nos tecidos-alvo das SIRT1.

Outras Teorias para o Papel da Restrição Calórica no Envelhecimento

Desde leveduras (38) até cães (39) passando pelos primatas, incluindo humanos (1, 40), vários estudos confirmaram uma relação entre RC e envelhecimento. Diversas teorias se focam em diferentes mecanismos para tentar explicar este fenômeno.

- Metabolismo Glicídico e Lipídico

A resistência insulínica é um estado metabólico anormal precoce que antecede o desenvolvimento de hiperglicemia, hiperlipidemia e DM II. Tanto a resistência insulínica como a disfunção das células β pancreáticas estão associadas à obesidade. A RC reduz a massa adiposa e atrasa o desenvolvimento deste tipo de alterações (41-42). A alteração fisiológica que ocorre é a redução de glicose no sangue, ocasionada pela fraca ingestão de energia proveniente da dieta. Isto levará a uma diminuição da produção de insulina pelas células β do pâncreas e, conseqüentemente do depósito de tecido adiposo, principalmente o branco. Este tecido, para além de acumular a gordura, é um verdadeiro órgão endócrino que produz hormonas activas em todo o organismo como o Factor de Necrose Tumoral α (TNF α), a Resistina, a Adiponectina e a Leptina; logo poderiam modificar a secreção destas hormonas, principalmente aumentando a concentração de Adiponectina e diminuindo o TNF α , melhorando a sensibilidade insulínica em diversos tecidos como o muscular e o hepático e diminuindo o estado de inflamação sistémico, favorecendo assim a longevidade (35, 43).

Para além disso, a adiposidade abdominal (gordura visceral) promove um meio de inflamação sistémica e “stress” oxidativo, sendo que este ambiente bioquímico leva, aparentemente, à aceleração do processo de envelhecimento celular através de vários mecanismos, cujo principal parece ser dependente das telomerasas que promovem o encurtamento dos telómeros e a senescência celular. Este encurtamento, principalmente nas células imunes, está associado a vários estados de doenças crónicas e morte prematura. Logo, a RC intervém em vários mecanismos para maximizar a reparação celular (44).

- Metabolismo Mitocondrial

É conhecido ser através das mitocôndrias que as células eucarióticas obtêm energia. Em animais aeróbios, estas utilizam os electrões provenientes da alimentação e o O₂ para produzir vapor de água e ATP, a forma ubiqüitária de armazenamento de energia. Neste processo (e noutros a nível celular) são geradas as ERO, consequência da fosforilação oxidativa, um sistema que usa a oxidação controlada e regulada do NADH ou do dinucleótido de adenina-flavina reduzido (FADH) de forma a gerar uma energia potencial para os protões através da membrana mitocondrial interna. 2% dos átomos de todo o O₂ utilizado ficarão parcialmente reduzidos por aceitarem um só electrão, sendo que as principais ERO serão o anião superóxido (O₂⁻), o peróxido de hidrogénio (H₂O₂) e o radical hidroxilo (OH⁻). Estas vão oxidar parcialmente outras moléculas que se encontram na sua proximidade como os lípidos, proteínas ou ácidos nucleicos contribuindo para a sua deterioração. Estes danos oxidativos estão fortemente relacionados com o envelhecimento e com a patogenia de diversas doenças crónicas não transmissíveis como aterosclerose, DM, artrite reumatóide (AR), distúrbios neurodegenerativos e neoplasias. Está ainda por esclarecer o mecanismo pelo qual a RC diminui a formação de ERO, no entanto pensa-se que a RC reduziria o fluxo de energia com uma consequente diminuição das ERO e a taxa de danos oxidativos em tecidos vitais, condicionando uma diminuição do metabolismo energético, da taxa de metabolismo basal e da temperatura corporal central, que por sua vez estão também relacionadas com a diminuição de T₃ e da activação do sistema nervoso simpático (SNS), também condicionados pela RC. Sendo assim, esta resposta fisiológica que reduz tanto o metabolismo energético, como os danos oxidativos estão ligados a uma diminuição global do “stress” oxidativo medido indirectamente através de danos no DNA, contribuindo para uma maior longevidade (2, 6).

As ERO vão ainda activar um factor activador transcricional chamado *nuclear factor-kappaB* (NF-κB), responsável pela transcrição de proteínas pró-inflamatórias como TNFα e interleucinas 1,2 e 6 (IL-1, IL-2 e IL-6). A RC parece suprimir a expressão e activação do NF-κB diminuindo o estado de inflamação sistémica e doenças crónicas sistémicas associadas à inflamação, não infecciosas (35, 45).

O “stress” oxidativo desempenha ainda um papel importante na patogenia das doenças coronárias por mediar a expressão de genes inflamatórios e promover modificações oxidativas das partículas lipoproteicas. A RC parece atenuar, o “stress” oxidativo vascular e impor um efeito anti-inflamatório em animais mais velhos. Os mecanismos inerentes são a activação da via Nrf2/ARE que funciona como um sistema anti-inflamatório endógeno nos vasos, aumentando a tolerância ao “stress” oxidativo, o aumento da biodisponibilidade do Óxido Nítrico (NO) e a melhoria da função endotelial, para além dos efeitos óbvios que a RC tem nos factores de risco cardiovasculares (FRCV) (46).

- Hormesis

Esta visão consiste numa resposta geralmente favorável a uma baixa exposição de “stressores”, partindo do princípio que uma exposição repetitiva e moderada resultaria numa reacção adaptativa ou hormética com vários efeitos biológicos benéficos. No envelhecimento, os “stressores” em estudo são a RC, choque térmico, radiação, pró-oxidantes, hipergravidade ou “stressores” endógenos como os ERO.

Algumas investigações comprovaram alterações bioquímicas e moleculares em modelos animais mantidos em RC que apoiam o envolvimento do mecanismo hormético nos seus efeitos benéficos para aumentar a longevidade e qualidade de vida. Entre outros, verificou-se o aumento das proteínas de choque térmico (47-48) (que regulam o metabolismo glicídico e têm efeito antioxidante, entre outros (49-50)), do metabolismo energético celular (49, 51) (aumento da expressão de proteínas envolvidas na regulação da fosforilação oxidativa mitocondrial, glicólise e metabolismo NAD/NADH), diminuição de hormonas anabólicas e por último, o aumento de determinados factores neurotróficos e de crescimento (26, 52) (factor de crescimento endotelial vascular (VEGF) no coração e sistema nervoso central (SNC) aquando de uma isquemia moderada, factor neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e factor neurotrófico derivado das células gliais (GDNF) no SNC para protecção neuronal de Parkinson ou Alzheimer) e a diminuição de outros (insulina, IGF-1).

No entanto, devemos estar atentos à existência de diversos tecidos em que este mecanismo hormético não é eficaz. Exemplo disso são alguns modelos experimentais animais em que há evidência de falha na actuação nos neurónios motores da medula espinal na esclerose lateral amiotrófica (ELA), defeito na cicatrização em ratos e ainda pode ser nefasta para os órgãos reprodutivos, especialmente os femininos (26).

- Alterações Neurodegenerativas

Os neurónios estão protegidos pela barreira hemato-encefálica (BHE), mas uma variedade de moléculas podem atravessá-la, tais como a corticoesterona, insulina, glicose e vários factores de crescimento e citocinas. Estes, vindos da periferia coordenam adaptações a nível central, trazendo ao SNC uma sincronização com a homeostasia periférica (53).

Vários estudos apontam que a RC poderá também ter um papel na diminuição da neurodegenerescência cerebral, causada por doenças como Alzheimer e Parkinson. Na primeira, os animais sob efeito da RC apresentavam menor acumulação de β -amilóide (peptídeo que se acumula no curso da doença) e na doença da Parkinson observou-se um menor défice motor, bem como um aumento dos níveis de Dopamina e seus metabolitos (17, 35).

Outros ensaios procuraram perceber qual a relação entre o metabolismo energético somático global, a neuroplasticidade do hipocampo e as alterações comportamentais na aprendizagem e memória. O hipocampo é essencial para a aprendizagem, a memória e o humor, sendo os seus neurónios dos que consomem maior quantidade de glicose, situação demonstrada através de estudos de *uptake* regional de glicose.

Verificou-se então que tanto o BDNF (potente modulador da excitabilidade neuronal, função sináptica e morfologia hipocampal), como o IGF-1 (que melhora os défices cognitivos em animais diabéticos e aumenta a aprendizagem processada no hipocampo em animais não-diabéticos) estavam elevados na RC e diminuídos nos doentes diabéticos, sugerindo que o estado nutricional também possa ter efeito sobre alterações neurodegenerativas (53).

- Alterações Imunes

As investigações que avaliaram o efeito da RC no sistema imune mostraram que este efeito parece estar dependente da activação dos linfócitos T e dos macrófagos, pois ambos são responsáveis pelo tipo e extensão da resposta imune. Em modelos animais, a RC parece retardar o aparecimento das doenças autoimunes dependentes destas células como AR e lúpus eritematoso sistémico (LES) ao proteger estas células de deterioração (16).

- Alterações Genéticas

A percentagem genética herdada responsável pela longevidade humana é seguramente inferior a 25%. Todavia, variações ambientais como a RC condicionam alterações cumulativas a nível genético a fim de exercer algumas das suas funções. Os mecanismos já identificados são aqueles que actuam essencialmente pela *up-regulation* de genes envolvidos na reparação celular, resistência ao “stress” e protecção contra danos oxidativos, assim como na *down-regulation* de genes envolvidos na mediação inflamatória e na prevenção de algumas alterações da expressão genética que ocorrem com a idade (29, 35, 54).

Foi ainda demonstrado que este perfil genético alterado é visível cerca de 8 semanas após introdução da RC em ratos, revertendo no mesmo espaço de tempo quando a variável é retirada. Pode-se assim inferir que nunca seria tarde demais para iniciar a RC, ficando em aberto quando iniciar, a quantidade de redução calórica e durante quanto tempo fazer a restrição. (24).



Esquema 2: Hipóteses para explicar a relação Restrição Calórica – Envelhecimento.

A Restrição Calórica nos Humanos

A diferença de mortalidade entre os animais e os seres humanos é difícil de comparar, uma vez que as causas principais de óbito nuns e noutros não são iguais. No homem o enfarte agudo do miocárdio (EAM) e o acidente vascular cerebral (AVC) predominam nos países industrializados, onde há maior número de idosos. O facto de a RC atrasar a progressão de DCV ateroscleróticas pode ser um dos mecanismos pelos quais promove a longevidade. Os FRCV compreendem, entre outros, o perfil lipídico, a hipertensão arterial (HTA) a insuficiência à glicose, factores hemostáticos, marcadores inflamatórios e função endotelial. Estes vão-se agravando com o envelhecimento e/ou redução da actividade física, podendo ser revertidos pela

implementação da RC (2, 24, 55). Por outro lado, as condições de vida entre os ratos e os humanos são completamente diferentes, logo, conduzir experiências nestes últimos pode ser problemático, uma vez que perante uma vida social e profissional tão exigente, será que nos podemos dar ao luxo de fazer uma RC acentuada? E conseguiremos mantê-la apesar de algumas sensações negativas já identificadas com a RC como fome, frio, letargia e cansaço(24)?

Ainda não está estabelecido se a restrição calórica teria o mesmo benefício sobre a longevidade humana que tem sobre a de determinados animais. No entanto, a RC foi uma realidade para algumas populações ao longo da história, sendo que ainda hoje permanece nos países em desenvolvimento mais carenciados. Contudo, estas experiências naturais não têm trazido muitas informações sobre os seus efeitos na saúde e longevidade porque estas dietas baixas em calorias são geralmente deficientes nalguns nutrientes essenciais e coexistem com uma alta prevalência de doenças infecciosas agudas e/ou crónicas. Uma excepção é o caso de Okinawa que, graças a boas medidas de saúde públicas fomentou uma dieta relativamente equilibrada conseguindo prevenir grandes deficiências nutricionais e evitar uma alta taxa de doenças infecciosas (1). A percentagem de centenários nesta ilha é uma das mais elevadas do mundo, no entanto os centenários não têm mais anos de vida do que aqueles encontrados noutras regiões onde a RC não foi observada. Foi notado uma diminuição da ingestão calórica em crianças em idade escolar há mais de 40 anos e estudos posteriores confirmaram cerca de 20% de redução da dieta *ad libitum* em adultos residentes nesta ilha em relação aos adultos residentes no Japão. Registou-se ainda que a dieta era composta essencialmente por vegetais verdes, soja e alguns peixes. Ou seja, estas alterações são semelhantes às observadas em estudos propostos para estudar a RC: quantidade adequada de nutrientes, vitaminas essenciais e minerais (2, 56).

Foi também realizado um estudo na Biosfera 2, que é um local projectado para ser auto-suficiente e ecologicamente controlado (não tinham acesso a nada do exterior) onde oito participantes (metade de cada sexo) ficaram enclausurados durante dois anos. Nos primeiros 18 meses, devido a dificuldades variadas, tiveram uma dieta com RC de 22% onde se observou

uma redução do índice de massa corporal (IMC), do perfil lipídico, da pressão arterial (PA), da temperatura corporal, dos valores glicémicos e de insulina em jejum, do colesterol, da T3 e dos glóbulos brancos. Após o término do estudo, as variáveis destes indivíduos retornaram gradualmente aos valores prévios (1, 35).

Existem ainda estudos sobre os membros da *Caloric Restriction Society* que fazem RC por livre vontade, pois acreditam no seu benefício na saúde e longevidade. Quando analisada, ao fim de 6 anos e meio (tabelas 1 e 2), estes indivíduos mostraram ter um consumo de cerca 30% menos do que a dieta típica americana, ajustada à idade e sexo (baseada na alta ingestão de frutas, leite e derivados, proteína derivada de soja e baixo consumo de alimentos refinados). Este grupo apresentava uma menor percentagem de gordura corporal, PA sistólica e diastólica (a rondar os 100 mmHg para a sistólica e os 60 mmHg para a diastólica), melhor perfil lipídico, diminuição da insulina e glicose em jejum com aumento de sensibilidade à insulina, inflamação crónica diminuída (níveis de marcadores inflamatórios baixos: proteína C reactiva (PCR) e TNF α), baixa concentração de T3 e melhor função diastólica ventricular esquerda (1, 35, 57).

Por último, está a ser desenvolvido um programa de pesquisa denominado *Comprehensive Assessment of Long-term effects of Reducing Calorie Intake* (CALERIE) que pretende explorar a viabilidade do uso da RC como um instrumento terapêutico, assim como usar os seus efeitos para prevenção de doenças. Envolve três centros de estudos: Tufts University, Pennington Biomedichal Research Center e Washington University e consiste em 2 fases. A fase 1 compõe-se em três estudos- piloto para determinar a exequibilidade da RC em pessoas da comunidade, não-obesas, vivendo livremente durante 12 meses. Alguns resultados desta fase foram publicados (tabela 3) revelando a perda de 10% de peso nos participantes, diminuição significativa do IMC, da temperatura corporal central, gasto energético nas 24h, T3, massa gorda corporal, massa magra, tecido adiposo visceral e subcutâneo, tamanho das células lipídicas, gordura intra-hepática, insulina em jejum, leptina, glicose e área de insulina abaixo da curva após carga de glicose, enquanto aumentou a sensibilidade à insulina. A fase 2 terá 24 meses de duração e incluirá mais indivíduos eutróficos e saudáveis com idades compreendidas

entre 25 e 40 anos com 25% de RC. Os resultados serão finalizados em 2011 (1-2, 35). Alguns resultados do estudo CALERIE são apresentados segundo a tabela 3.

Efeitos Nefastos da Restrição Calórica

Já foram descritas algumas consequências indesejáveis do efeito da RC como uma diminuição significativa da densidade mineral óssea total, femoral e da coluna lombar (58).

Além disso, o estado metabólico e a capacidade reprodutora estão fortemente ligados, sendo que a disponibilidade energética na forma de alimentação é um factor crítico para a manutenção da capacidade reprodutiva nos animais. Variáveis como a RC podem afectar múltiplos sistemas neuroendócrinos, incluindo hormonas envolvidas no balanço energético, apetite e reprodução. A capacidade de gerar e manter gâmetas parece estar interligada com a aptidão de assegurar e consumir energia na forma de alimentos. Esta conexão é francamente evidente na mulher onde a gravidez e a lactação se encontram aliadas a um desvio considerável de energia necessário ao suporte alimentar dos embriões e recém-nascidos. Os controladores deste mecanismo acham-se a nível central e periférico, através do eixo hipotálamo-hipofisário e hormonas envolvidas no controlo do apetite. Do ponto de vista evolutivo, quando temos uma diminuição de disponibilidade calórica, faz todo o sentido redireccionar a energia disponível para necessidades básicas em detrimento da reprodução, pondo assim em acção os nossos mecanismos de sobrevivência. Exemplos extremos desta forte relação são as amenorreias induzidas por doentes que sofrem de anorexia nervosa, sendo também observável nalguns indivíduos sujeitos a RC (59). Certos estudos já demonstraram a diminuição da reprodução em animais submetidos a RC (15, 60).

A nível psicológico e comportamental, a exequidade desta medida foi sempre posta em causa. Devido ao CALERIE e outros estudos, os resultados apontam para que esta medida seja segura e viável em humanos, pois a RC não foi associada com o desenvolvimento de distúrbios alimentares, diminuição de qualidade de vida, humor depressivo ou perturbações cognitivas. De

facto, muitos destes parâmetros até melhoraram; contudo, mais estudos são necessários, pois alguns trabalhos registaram efeitos negativos nestes campos (2, 6).

CONCLUSÃO

O efeito da RC na longevidade em humanos ainda não está bem estabelecido, pois este tipo de investigação é muito difícil de conduzir. Como esta é a única forma de poder comprovar o seu verdadeiro efeito, socorremo-nos de conclusões de estudos efectuados noutras espécies animais onde esta relação já se encontra bem documentada. Conclui-se então que, mesmo que a RC não nos faça atingir a longevidade máxima, atenua o envelhecimento primário e tem um efeito protector no envelhecimento secundário, contribuindo assim para um aumento da qualidade e uma maximização da esperança média de vida.

Em relação à protecção contra o envelhecimento secundário, temos a diminuição marcada dos FRCV, assim como protecção da degenerescência celular responsáveis pelas causas de morte mais frequentes em humanos. Quanto ao envelhecimento primário, obtivemos evidência de algumas adaptações capazes de o abrandar como uma diminuição global da inflamação, T3 sérica e uma melhor função ventricular esquerda.

Não obstante, os efeitos benéficos observados nos estudos em humanos poderiam igualmente estar relacionados a hábitos alimentares e de vida mais saudáveis, logo, seria necessário comparar e diferenciar entre o efeito da redução na ingestão alimentar e a alteração da qualidade da dieta, uma vez que ambos parecem concomitantes.

Outro aspecto de realce é a capacidade de adesão a esta dieta por períodos prolongados nos humanos, pois os estudos executados não são concordantes, embora o CALERIE aponte para uma visão optimista. Mais limitações têm ainda sido descritas, sendo contudo necessário mais investigação para poder afirmar se serão condicionantes para o uso da RC na espécie humana.

É imprescindível a necessidade de uma abordagem multidisciplinar com vista a integrar todas estas teorias, pois muitas delas incidem sobre os mesmos pontos-chave, inferindo-se que o efeito provocado pela RC far-se-ia sentir numa grande variedade de mecanismos.

Seria ainda fundamental caracterizar e identificar novos marcadores do envelhecimento para avaliar o real efeito da RC na longevidade que estejam relacionados à adaptação do sistema neuroendócrino, prevenção da inflamação e protecção contra os efeitos oxidativos que poderiam ajudar a prever morbidade e mortalidade na população em geral.

Por último, a utilização de moléculas mimetizadoras da RC necessita de mais ensaios a fim de avaliar se o seu efeito seria igual ao da RC. Esta ferramenta promissora tem com objectivo ser utilizada no futuro, tanto para tratamento, como para prevenção de doenças associadas ao envelhecimento. Ou seja, ainda estamos longe de um possível elixir da juventude e de um envelhecimento livre de doenças e com mais qualidade de vida apenas com um simples comprimido ou “dieta”, mas uma porta está aberta.

BIBLIOGRAFIA

1. Holloszy JO, Fontana L. Caloric restriction in humans. *Exp Gerontol*2007 Aug;42(8):709-12.
2. 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.
3. Hayflick L. The future of ageing. *Nature*2000 Nov 9;408(6809):267-9.
4. Hayflick L. New approaches to old age. *Nature*2000 Jan 27;403(6768):365.
5. Tosato M, Zamboni V, Ferrini A, Cesari M. The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Clin Interv Aging*2007;2(3):401-12.
6. Fontana L, Klein S. Aging, adiposity, and calorie restriction. *JAMA*2007 Mar 7;297(9):986-94.
7. Roth GS, Lane MA, Ingram DK, Mattison JA, Elahi D, Tobin JD, Muller D, Metter EJ. Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans. *Science*2002 Aug 2;297(5582):811.
8. Vitetta L, Anton B. Lifestyle and nutrition, caloric restriction, mitochondrial health and hormones: scientific interventions for anti-aging. *Clin Interv Aging*2007;2(4):537-43.
9. Astrom SU, Cline TW, Rine J. The *Drosophila melanogaster sir2+* gene is nonessential and has only minor effects on position-effect variegation. *Genetics*2003 Mar;163(3):931-7.
10. Blander G, Guarente L. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu Rev Biochem*2004;73:417-35.
11. Bryk M, Banerjee M, Murphy M, Knudsen KE, Garfinkel DJ, Curcio MJ. Transcriptional silencing of Ty1 elements in the RDN1 locus of yeast. *Genes Dev*1997 Jan 15;11(2):255-69.
12. Heilbronn LK, Ravussin E. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Am J Clin Nutr*2003 Sep;78(3):361-9.

13. Smith JS, Boeke JD. An unusual form of transcriptional silencing in yeast ribosomal DNA. *Genes Dev*1997 Jan 15;11(2):241-54.
14. Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*2001 Mar 8;410(6825):227-30.
15. 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.
16. 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.
17. Maswood N, Young J, Tilmont E, Zhang Z, Gash DM, Gerhardt GA, Grondin R, Roth GS, Mattison J, Lane MA, Carson RE, Cohen RM, Mouton PR, Quigley C, Mattson MP, Ingram DK. Caloric restriction increases neurotrophic factor levels and attenuates neurochemical and behavioral deficits in a primate model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*2004 Dec 28;101(52):18171-6.
18. Wang Z, Masternak MM, Al-Regaiey KA, Bartke A. Adipocytokines and the regulation of lipid metabolism in growth hormone transgenic and calorie-restricted mice. *Endocrinology*2007 Jun;148(6):2845-53.
19. Roebuck BD, Yager JD, Jr., Longnecker DS. Dietary modulation of azaserine-induced pancreatic carcinogenesis in the rat. *Cancer Res*1981 Mar;41(3):888-93.
20. Boileau TW, Liao Z, Kim S, Lemeshow S, Erdman JW, Jr., Clinton SK. Prostate carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea (NMU)-testosterone-treated rats fed tomato powder, lycopene, or energy-restricted diets. *J Natl Cancer Inst*2003 Nov 5;95(21):1578-86.
21. Ahmet I, Wan R, Mattson MP, Lakatta EG, Talan M. Cardioprotection by intermittent fasting in rats. *Circulation*2005 Nov 15;112(20):3115-21.
22. Yu ZF, Mattson MP. Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration reduce focal ischemic brain damage and improve behavioral outcome: evidence for a preconditioning mechanism. *J Neurosci Res*1999 Sep 15;57(6):830-9.

23. Cooper TM, Mockett RJ, Sohal BH, Sohal RS, Orr WC. Effect of caloric restriction on life span of the housefly, *Musca domestica*. *FASEB J*2004 Oct;18(13):1591-3.
24. Speakman JR, Hambly C. Starving for life: what animal studies can and cannot tell us about the use of caloric restriction to prolong human lifespan. *J Nutr*2007 Apr;137(4):1078-86.
25. 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.
26. Mattson MP. Dietary factors, hormesis and health. *Ageing Res Rev*2008 Jan;7(1):43-8.
27. Allard JS, Perez E, Zou S, de Cabo R. Dietary activators of Sirt1. *Mol Cell Endocrinol*2009 Feb 5;299(1):58-63.
28. Sauve AA, Wolberger C, Schramm VL, Boeke JD. The biochemistry of sirtuins. *Annu Rev Biochem*2006;75:435-65.
29. Geesaman BJ. Genetics of aging: implications for drug discovery and development. *Am J Clin Nutr*2006 Feb;83(2):466S-9S.
30. Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins--emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Genes Dev*2006 Nov 1;20(21):2913-21.
31. Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, Leid M, McBurney MW, Guarente L. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*2004 Jun 17;429(6993):771-6.
32. Chua KF, Mostoslavsky R, Lombard DB, Pang WW, Saito S, Franco S, Kaushal D, Cheng HL, Fischer MR, Stokes N, Murphy MM, Appella E, Alt FW. Mammalian SIRT1 limits replicative life span in response to chronic genotoxic stress. *Cell Metab*2005 Jul;2(1):67-76.
33. Langley E, Pearson M, Faretta M, Bauer UM, Frye RA, Minucci S, Pelicci PG, Kouzarides T. Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *EMBO J*2002 May 15;21(10):2383-96.
34. Lin SJ, Guarente L. Nicotinamide adenine dinucleotide, a metabolic regulator of transcription, longevity and disease. *Curr Opin Cell Biol*2003 Apr;15(2):241-6.

35. Genaro Pde S, Sarkis KS, Martini LA. [Effect of caloric restriction on longevity]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*2009 Jul;53(5):667-72.
36. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*2006 Nov 16;444(7117):337-42.
37. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, Messadeq N, Milne J, Lambert P, Elliott P, Geny B, Laakso M, Puigserver P, Auwerx J. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell*2006 Dec 15;127(6):1109-22.
38. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science*2000 Sep 22;289(5487):2126-8.
39. 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 Apr;99(4):793-805.
40. Ingram DK, Roth GS, Lane MA, Ottinger MA, Zou S, de Cabo R, Mattison JA. The potential for dietary restriction to increase longevity in humans: extrapolation from monkey studies. *Biogerontology*2006 Jun;7(3):143-8.
41. 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.
42. Utzschneider 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.

43. Wu X, Motoshima H, Mahadev K, Stalker TJ, Scalia R, Goldstein BJ. Involvement of AMP-activated protein kinase in glucose uptake stimulated by the globular domain of adiponectin in primary rat adipocytes. *Diabetes*2003 Jun;52(6):1355-63.
44. Epel ES. Psychological and metabolic stress: a recipe for accelerated cellular aging? *Hormones (Athens)*2009 Jan-Mar;8(1):7-22.
45. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*2002 Jan;82(1):47-95.
46. Ungvari Z, Parrado-Fernandez C, Csiszar A, de Cabo R. Mechanisms underlying caloric restriction and lifespan regulation: implications for vascular aging. *Circ Res*2008 Mar 14;102(5):519-28.
47. Guo Z, Ersoz A, Butterfield DA, Mattson MP. Beneficial effects of dietary restriction on cerebral cortical synaptic terminals: preservation of glucose and glutamate transport and mitochondrial function after exposure to amyloid beta-peptide, iron, and 3-nitropropionic acid. *J Neurochem*2000 Jul;75(1):314-20.
48. Heydari AR, Wu B, Takahashi R, Strong R, Richardson A. Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription. *Mol Cell Biol*1993 May;13(5):2909-18.
49. Hyun DH, Emerson SS, Jo DG, Mattson MP, de Cabo R. Calorie restriction up-regulates 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.
50. Ugochukwu NH, Figgers CL. Dietary caloric restriction improves the redox status at the onset of diabetes in hepatocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Chem Biol Interact*2007 Jan 5;165(1):45-53.
51. Liu D, Chan SL, de Souza-Pinto NC, Slevin JR, Wersto RP, Zhan M, Mustafa K, de Cabo R, Mattson MP. Mitochondrial UCP4 mediates an adaptive shift in energy metabolism and increases the resistance of neurons to metabolic and oxidative stress. *Neuromolecular Med*2006;8(3):389-414.

52. Kawata H, Yoshida K, Kawamoto A, Kurioka H, Takase E, Sasaki Y, Hatanaka K, Kobayashi M, Ueyama T, Hashimoto T, Dohi K. Ischemic preconditioning upregulates vascular endothelial growth factor mRNA expression and neovascularization via nuclear translocation of protein kinase C epsilon in the rat ischemic myocardium. *Circ Res*2001 Apr 13;88(7):696-704.
53. Stranahan AM, Mattson MP. Impact of energy intake and expenditure on neuronal plasticity. *Neuromolecular Med*2008;10(4):209-18.
54. Alexeyev MF, Ledoux SP, Wilson GL. Mitochondrial DNA and aging. *Clin Sci (Lond)*2004 Oct;107(4):355-64.
55. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ*1996 Apr 27;312(7038):1061-5.
56. Suzuki M, Wilcox BJ, Wilcox CD. Implications from and for food cultures for cardiovascular disease: longevity. *Asia Pac J Clin Nutr*2001;10(2):165-71.
57. 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.
58. Villareal DT, Fontana L, Weiss EP, Racette SB, Steger-May K, Schechtman KB, Klein S, Holloszy JO. Bone mineral density response to caloric restriction-induced weight loss or exercise-induced weight loss: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*2006 Dec 11-25;166(22):2502-10.
59. Martin B, Golden E, Carlson OD, Egan JM, Mattson MP, Maudsley S. Caloric restriction: impact upon pituitary function and reproduction. *Ageing Res Rev*2008 Jul;7(3):209-24.
60. Hunt J, Brooks R, Jennions MD, Smith MJ, Bentsen CL, Bussiere LF. High-quality male field crickets invest heavily in sexual display but die young. *Nature*2004 Dec 23;432(7020):1024-7.

ANEXOS

Tabela 1: Factores de risco ateroscleróticos nos membros da *Caloric Restriction Society* antes e depois de iniciar RC. Adaptado de (1).

	Antes da RC	1,0+-0,3 v CR	6,5+-4,8 v RC
IMC (kg/m ²)	23,7 +- 2,6 (33)	20,3 +- 2,0 (28)	19,6 +- 1,6 (33)
Colesterol total (mg/dl)	211 +- 36 (24)	165 +- 33 (16)	159 +- 36 (24)
Colesterol LDL (mg/dl)	124 +- 37 (20)	94 +- 21 (14)	89 +- 30 (20)
Colesterol HDL (mg/dl)	47 +- 8 (20)	59 +- 13 (14)	64 +- 21 (20)
Ratio col. total/col. HDL	4,5 +- 1,1 (20)	2,9 +- 0,6 (14)	2,6 +- 0,5 (20)
Triglicédeos	134 +- 81 (24)	68 +- 22 (16)	49 +- 14 (24)
PA sistólica (mmHg)	131 +- 15 (20)	112 +- 12 (14)	101 +- 9 (20)
PA diastólica (mmHg)	82 +- 9 (20)	71 +- 7 (14)	61 +- 7 (20)

Os valores são as médias +- desvio padrão. Os números entre parêntesis correspondem ao número de sujeitos naquele momento.

Tabela 2: Comparação dos efeitos nos indivíduos com dieta ocidental e naqueles pertencentes à *Caloric Restriction Society* 6 anos após iniciarem a RC. Adaptado de (1).

	Dieta Ocidental	Dieta da RC
Idade (anos) (33)	52,3 +- 10	51,4 +- 12
Masculino:Feminino	29,4	29,4
IMC (kg/m ²) (33)	24,8 +- 3,2	19,6 +- 1,6 †
Gordura corporal total (%) (33)	23,1 +- 7	8,4 +- 7 †

Gordura abdominal (%) (33)	23,4 +- 9,7	4,6 +- 5,7 †
PA sistólica (mmHg) (33)	130 +- 13	103 +- 12 †
PA diastólica (mmHg) (33)	81 +- 9	63 +- 7 †
Colesterol total (mg/dl) (33)	202 +- 33	162 +- 34 †
Colesterol LDL (mg/dl) (33)	122 +- 30	86 +- 24 †
Colesterol HDL (mg/dl) (33)	52 +- 15	64 +- 18 *
Ratio col. total:col. HDL	4,2 +- 1,2	2,5 +- 0,5 †
Triglicerídeos (mg/dl) (33)	143 +- 93	58 +- 18 †
Glicose (mg/dl) (33)	95 +- 9	84 +- 8 †
Insulina (µU/ml) (33)	7,4 +- 6	1,5 +- 0,9 †
TNFα (pg/ml) (28)	1,5 +- 0,9	0,7 +- 0,5 *
PCR (mg/L) (31)	1,1 +- 1,2	0,2 +- 0,3 †
TGFβ (ng/ml) (31)	22,1 +- 6,6	14,9 +- 3,1 †
T3 (ng/dl) (28)	91 +- 13	74 - 22 †

Os valores são as médias +- desvio padrão. Os números entre parêntesis correspondem ao número de sujeitos naquele momento.

*P<0,01

†P<0,001 Dieta RC VS Dieta ocidental

Tabela 3: Sumário das respostas fisiológicas e psicológicas/comportamentais após 6 meses de RC em humanos. Estes resultados são do estudo CALERIE, unidade de Pennington. Adaptado de (2).

Respostas Fisiológicas	Respostas Psicológicas/Comportamentais
Composição Corporal	Desenvolvimento de Sintomas de distúrbios
↓Massa gorda	Alimentares

<p>↓Massa magra</p> <p>↓Gordura abdominal (visceral e subcutânea)</p> <p>↓Tamanho dos adipócitos abdominais</p> <p>↓Conteúdo lipídico intra-hepático</p> <p>↔Conteúdo lipídico intramiocelular</p>	<p>↓Desinibição</p> <p>↓<i>Binge eating</i></p> <p>↓Preocupação com forma e tamanho corporal</p> <p>↔Medo de excesso de peso</p> <p>↔Comportamentos purgativos</p>
<p>Factores de Risco para DM</p> <p>↓Sensibilidade à insulina (não significativo)</p> <p>↓Resposta insulínica aguda após carga de glicose</p>	<p>Humor Deprimido</p> <p>↓Escala de depressão MAEDS</p> <p>↔Inventário de depressão Beck II</p>
<p>Risco Cardiovascular</p> <p>↓Risco de 10 anos</p> <p>↓PA</p> <p>↑Colesterol HDL</p> <p>↓Triglicérides</p> <p>↓Factor VIIc</p> <p>↔Fibrinogénio, homocisteína, função endotelial</p>	<p>Sensação Subjectiva de Fome</p> <p>↓Inventário de ingestão, Escala de fome percebida</p>
<p>Biomarcadores do Envelhecimento</p> <p>↓Insulina em jejum</p> <p>↓Temperatura corporal central</p> <p>↔DHEAS</p>	<p>Qualidade de Vida</p> <p>↑Funcionalidade física</p> <p>↔Vitalidade</p>
<p>Gasto Energético</p> <p>↓Gasto energético nas 24h – sedentário</p> <p>Adaptação metabólica para o gasto energético nas 24h</p> <p>↓Taxa metabólica durante o sono</p> <p>Adaptação da taxa metabólica durante o sono</p>	<p>Performance Cognitiva</p> <p>↔Memória verbal</p> <p>↔Memória a curto prazo</p> <p>↔Percepção e memória visual</p> <p>↔Atenção/concentração</p>

Endocrinologia ↓T3 ↓T4 ↔GH ↔IGF-1 ↓Grelina	
Atividade Física ↓Nível de atividade física ↔Atividade física espontânea	