



# Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo

[www.spedmjournal.com](http://www.spedmjournal.com)



Artigo Revisão

## Influência da Restrição Calórica no Envelhecimento



Filipe Mateus <sup>a,\*</sup>, Anabela Mota Pinto <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Fisiopatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

### INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

#### Historial do artigo:

Received/ Recebido: 2019-02-226

Accepted/Aceite: 2019-05-11

Online: 2020-01-22

© Autor (es) (ou seu (s) empregador (es)) 2019.

Reutilização permitida de acordo com CC BY-NC. Nenhuma reutilização comercial.

© Author(s) (or their employer(s)) 2019.

Re-use permitted under CC BY-NC.

No commercial re-use.

#### Palavras-chave:

Envelhecimento;  
Expectativa de Vida;  
Restrição Calórica

#### Keywords:

Aging;  
Caloric Restriction;  
Life Expectancy

### R E S U M O

Neste trabalho foi feita uma revisão da literatura mais recente sobre o tema da restrição calórica na sua relação com o equilíbrio de nutrientes. Daqui resulta a ideia de que é no contexto da investigação do equilíbrio de nutrientes que a restrição calórica tem a sua ação central, e não como estratégia isolada. Estes estudos, cada vez mais pormenorizados, avançam no sentido de que o contributo das proporções ideais de nutrientes na longevidade é o mais importante. O entrecruzamento de vários mecanismos e vias de transdução de sinais de nutrientes e de energia está implicado na proporção dietética testada desde as leveduras, a moscas da fruta e a mamíferos. Daqui resulta uma explicação plausível dos resultados da “dieta tradicional de Okinawa”. A via de sinalização da glicose, nuclear nas dietas de restrição calórica, e as vias de sinalização de aminoácidos, mediante o entrecruzamento das vias *general control nonderepressible 2* (GCN2) e *mammalian/mechanistic target of rapamycin* (mTOR), estão implicadas na regulação da longevidade verificada nos regimes de restrição de proteínas com alto teor de hidratos de carbono: *low protein, high carb* (LPHC), numa proporção dietética semelhante à verificada na dieta tradicional de Okinawa.

### Influence of Caloric Restriction on Ageing

#### A B S T R A C T

In this paper the most recent literature on the subject of caloric restriction in its relation to the macronutrients balance was reviewed. From the review comes the suggestion that it is in the context of nutrient balance and ideal ratios that caloric restriction plays its central role, and not as an isolated strategy. This idea corresponds to a scientific shift towards the detailed investigation of the contribution of optimal nutrient ratios on longevity. The interweaving of various mechanisms and signal transduction pathways of nutrient and energy is involved in the dietary proportion tested in yeast, fruit flies and mammals. From the investigation of these mechanisms comes a plausible explanation of the results of “traditional Okinawa diet”. The signaling pathways of glucose, nuclear in energy-restricted diets, and of amino acids detection, through the intersection of general control nonderepressible 2 (GCN2) and mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) pathways, are implicated in the regulation of longevity recorded in the low protein, high carb (LPHC) restriction systems, a dietary proportion similar to that of the traditional Okinawan diet.

\* Autor Correspondente / Corresponding Author.

E-Mail: [filipemateus@hotmail.com](mailto:filipemateus@hotmail.com) (Filipe Mateus)

Ladeira da Portela da Cobiça, nº 74, 3030-168 Coimbra, Portugal

<https://doi.org/10.26497/ar190007>

1646-3439/© 2019 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introdução

Nas sociedades contemporâneas, com crescente esperança média de vida, a temática do envelhecimento ganhou novos contornos. O interesse pela manutenção de qualidade de vida no envelhecimento, tem orientado inúmeras investigações.<sup>1</sup>

O envelhecimento e a longevidade são extremamente complexos, muito contribuindo fatores genéticos, ambientais e comportamentais.<sup>2</sup> Desde as leveduras aos insetos e mamíferos, as atividades da célula, como a regulação do metabolismo, crescimento e envelhecimento, são harmonizadas por uma rede de vias de sinalização de nutrientes: a regulação pelas sirtuínas,<sup>3</sup> *insulin growth factor – 1* (IGF-1), o alvo de rapamicina (TOR-Sch9 - ortólogo nas leveduras do mTOR/S6K) e a Ras/proteína quinase A (PKA). A redução da atividade destas vias foi reconhecida como suscetível de produzir efeitos na saúde e na longevidade.<sup>4</sup>

O interesse em torno das propriedades e interações dos vários nutrientes e os seus efeitos no envelhecimento, tem vindo a articular-se com experiências em restrição calórica (RC), no sentido de encontrar as proporções dietéticas adequadas a uma vida saudável e maior longevidade.

Neste trabalho procura-se dar relevo a este interesse crescente, destacando a problemática da restrição calórica e/ou equilíbrio de macronutrientes. Neste sentido, encontram-se os processos que poderão justificar casos de longevidade, como na comunidade de Okinawa, no Japão, exemplo da importância da RC e de certas proporções dietéticas, como as dietas restritivas *low protein, high carb* (LPHC).<sup>5-7</sup>

## Métodos

Pesquisaram-se na PubMed os termos MeSH (*Medical Subject Headings*): “*caloric restriction*”; “*longevity*”; “*diet, protein-restricted*”; “*signal transduction*”; “*TOR serine-threonine kinases*”, incluindo as possíveis relações destas palavras-chave. Pesquisaram-se ainda outros termos, que, não sendo MeSH, se consideraram relevantes para aprofundar alguns aspetos do trabalho: “*dieta de Okinawa*”; “*equilíbrio de macronutrientes*”. Encontrou-se assim a linha de desenvolvimento central do nosso trabalho.

Encontrados os artigos, fez-se um estudo das teses propostas ou defendidas pelos autores, do tipo de investigação dirigida e metodologias utilizadas e dos modelos animais testados. Procurou-se utilizar artigos com informação relevante e cientificamente correta, de acordo com os conhecimentos atuais.

## Resultados/Discussão

### Inflexão nas investigações sobre dieta e longevidade

O estudo dos mecanismos que regulam o processo do envelhecimento tem sido realizado quer por meio de manipulações genéticas das vias de sinalização de nutrientes, quer através de protocolos de restrição dietética, nos quais a ingestão de um ou mais macronutrientes é reduzida. O protocolo dietético mais antigo e mais bem documentado é a redução da ingestão calórica sem falta de nutrientes essenciais, a chamada restrição calórica. Os seus benefícios foram descritos pela primeira vez em 1935, no artigo clássico de Clive McCay e Mary Crowell,<sup>8</sup> com dados sobre o aumento da esperança de vida de ratos, face à redução da ingestão de alimentos.<sup>4</sup> Esse protocolo<sup>8</sup> foi colocado em prática durante cerca de 4 anos, ao longo dos quais se avaliou o impacto da restrição de alimentos em vários parâmetros, entre os quais a

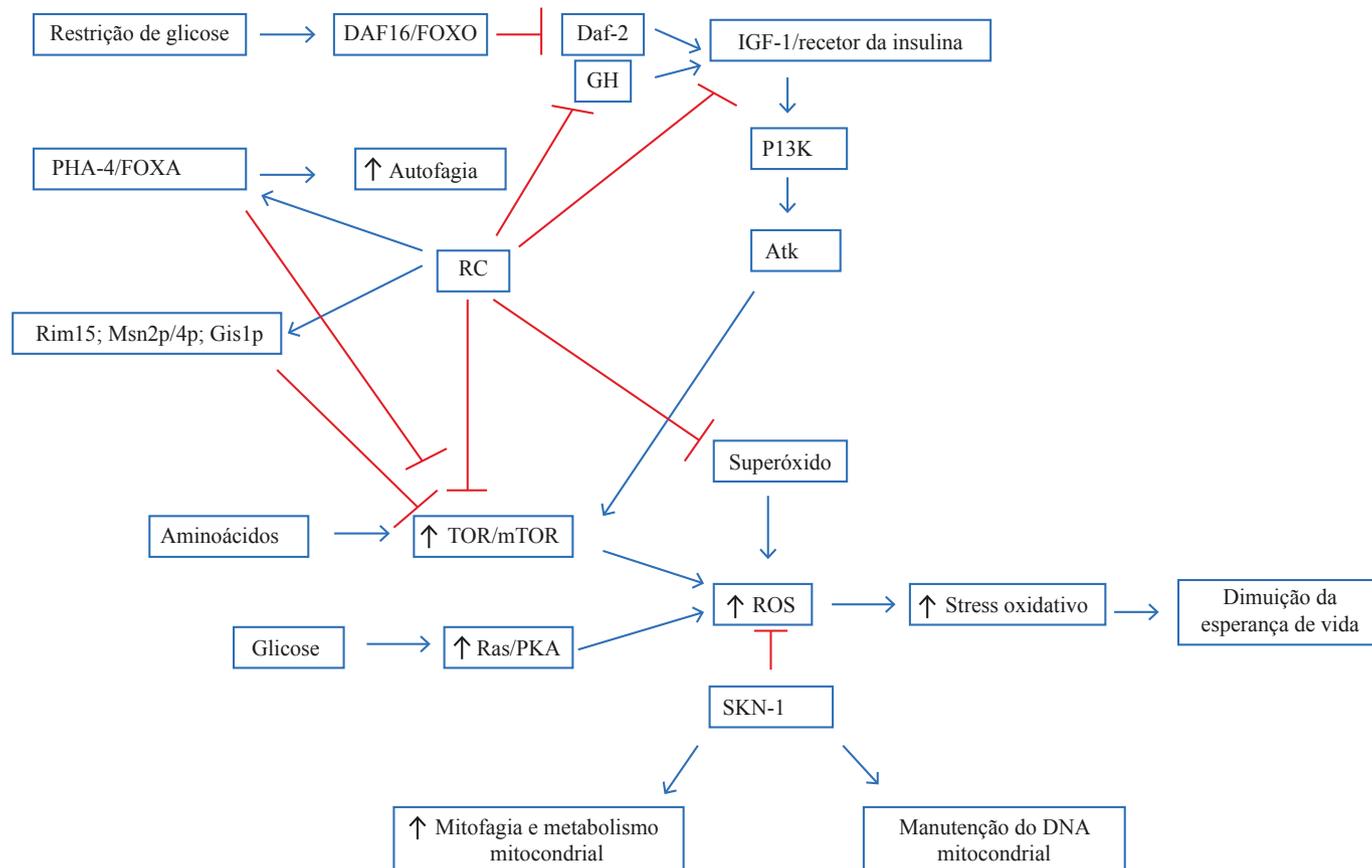
longevidade dos ratos. Para tal dividiram-se 106 ratos em três grupos: um primeiro grupo constituído por 34 ratos, sujeitos a dieta *ad libitum*; um segundo grupo de 36 elementos, submetidos a RC a partir do momento em que pararam de ser amamentados; e um terceiro grupo também de 36 elementos, submetidos a RC desde duas semanas depois de pararem a amamentação. A dieta do grupo sujeito a RC resultou de uma mistura sintética de vários alimentos, sem falta de qualquer nutriente essencial, não tendo sido, contudo, quantificada comparativamente com a dieta *ad libitum*, em termos percentuais. Obtiveram-se nesta experiência resultados positivos face ao aumento da esperança média de vida nos ratos machos, com uma sobrevivência média de 483 dias no grupo I, 820 dias no grupo II e 894 dias no grupo III. Nas fêmeas não houve diferenças estatisticamente significativas, segundo os autores, por duas fêmeas do grupo II terem morrido muito cedo, devido a condições climáticas adversas. Este artigo terá marcado a linha de investigação sobre os mecanismos envolvidos nos efeitos positivos da RC no aumento da esperança de vida, bem como sobre a melhoria da saúde em geral. As experiências desenvolvidas desde então testaram diversas hipóteses em organismos modelo, tais como: leveduras, moscas da fruta, nemátodes, ratinhos e macacos.<sup>9,11</sup>

As vias sinalizadoras, como da *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) e das sirtuínas, são conhecidas como portadoras da capacidade de intervir na longevidade de vários organismos, em resposta aos regimes alimentares.<sup>4,9,11</sup>

A *Saccharomyces cerevisiae* tem sido o modelo de levedura mais testado.<sup>10,12</sup> Experiências realizadas sob diferentes regimes alimentares revelaram que a redução da concentração de glicose no meio (geralmente de 2% para 0,5%) aumenta a esperança média de vida em cerca de 25%.<sup>13</sup> Foram também investigados os resultados da variação de outros nutrientes, sendo que a presença maior ou menor de certos nutrientes pode ativar múltiplas vias de sinalização, como a TOR1-Sch9, via ativada essencialmente por aminoácidos, e a Ras/PKA, que responde, principalmente, à presença da glicose.<sup>11,12,14</sup> (Fig. 1). Estas vias sinalizadoras são suscetíveis de promover a divisão celular e crescimento em resposta a nutrientes, ao mesmo tempo que reduzem a capacidade de resposta celular do organismo ao stress e o processo da autofagia, diminuindo, portanto, a longevidade. Verifica-se, de facto, que o mTOR é o principal regulador negativo da autofagia. Além do mais, apresenta uma forte associação ao processo de envelhecimento, tendo estreita relação com algumas doenças a ele normalmente associadas, nomeadamente neurodegenerativas.<sup>15</sup> Numa experiência induziu-se uma mutação de TOR e Sch9p, conferindo-lhes deficiência, o que proporcionou resistência ao stress oxidativo e permitiu uma prorrogação da esperança de vida.<sup>12</sup> De forma semelhante, a supressão de Ras2 aumenta a vida útil e induz maior resistência ao stress oxidativo.<sup>12,14</sup>

A quinase Rim15 e os seus fatores de transcrição resistentes ao stress, Msn2p/4p e Gis1p, desempenham papéis fundamentais na mediação de efeitos da RC na longevidade (Fig. 1). Diminuem a sinalização da via TOR-Sch9, estendendo a vida da *S. cerevisiae*, através da modulação de funções mitocondriais.<sup>12,14</sup> Nestes testes de manipulação foi comprovado que a inibição do TOR resulta numa ampliação do acoplamento mitocondrial, com diminuição das espécies reativas de oxigénio (ROS). Além disso, a RC reduz os níveis do anião superóxido, independentemente da Rim15, havendo menor produção de ROS. Daqui resulta um aumento da ativação de membrana mitocondrial, que fornece um sinal adaptativo suscetível de prolongar a esperança de vida desta levedura<sup>16</sup> (Fig. 1).

No nemátode *Caenorhabditis elegans*, demonstrou-se que a



**Figura 1.** Principais vias envolvidas no processo de envelhecimento e na sua relação com a restrição calórica.

Akt (proteína quinase B); Daf-2 (gene ortólogo do *caenorhabditis elegans* que codifica o recetor de insulina/IGF-1); DAF16 (fator de transcrição da FOXO); FOXA (*a subclass of the forkhead family of transcription factors*); GH (hormona de crescimento); Gis1p (fator de transcrição da Rim15); IGF-1 (*insulin growth factor-1*); MSN2p/4p (fator de transcrição da Rim15); mTOR (*mammalia n/mechanistic target of rapamycin*); PHA-4 (fator de transcrição da FOXA); PI3K (fosfatidilinositol 3-quinase); PKA (proteína quinase A); Ras (proteína da família de proteínas de pequenas GTPases); RC (restrição calórica); RIM15 (quinase resistente ao stress); ROS (espécies reativas de oxigénio); SKN-1 (ortólogo no *C. elegans* das proteínas NRF dos mamíferos); TOR (ortólogo do mTOR nas leveduras).

via de sinalização iniciada pelo IGF-1 estimula a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), que ativa a proteína quinase B (akt) (e esta, por sua vez, o mTOR), o que diminui a longevidade (Fig. 1).<sup>17</sup> A inibição desta via, mediante mutações funcionais no Daf-2, um gene do *C. elegans* que codifica o recetor de insulina/IGF-1, retarda o processo de envelhecimento. Essa inibição, causadora das mutações no Daf-2, pode ser feita através do DAF-16, fator de transcrição da FOXO (família de fatores de transcrição, codificada pelo gene homólogo, que está associada a maior longevidade, pela regulação que exerce sobre a auto-imunidade e protecção celular). Verifica-se que a ingestão de glicose diminui a expressão de proteínas pró-longevidade, entre as quais a FOXO. Como tal, restringindo-se o seu consumo, aumentará a expressão dessas proteínas e, conseqüentemente, a esperança de vida.<sup>11,17</sup> (Fig. 1). Também a quantidade e o tipo de lípidos ingeridos parecem influenciar a longevidade e saúde destes nemátodes. Por exemplo, os ácidos gordos polinsaturados (PUFAs) ω-6 promovem autofagia, reduzem as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e aumentam as lipoproteínas de alta densidade (HDL), melhorando a saúde metaólica.<sup>11</sup> Um outro processo que aumenta a longevidade nos seres com mutação no Daf-2 é a regulação negativa da via de sinalização mTOR-S6K e a autofagia parcialmente induzida pelo PHA-4/FOXA (fator de transcrição desta família).<sup>14</sup> Um terceiro fator de transcrição é o SKN-1, ortólogo no *C. elegans* das proteínas *nuclear respiratory factor* (NRF) dos mamíferos, que regula

a mitofagia e metabolismo mitocondrial, reduz as ROS e é essencial para a manutenção do ácido desoxirribonucleico (DNA) mitocondrial<sup>16,18</sup> (Fig. 1). Todos estes processos controlam os genes envolvidos no processo da autofagia, contribuindo para maior longevidade. No *C. elegans*, um transportador de glicose, FGT-1 (gene ortólogo da proteína transportadora GLUT dos mamíferos), parece ser responsável pela atividade de transporte e sinalização do metabolismo da glicose. Reduzindo a sua atividade, aumenta a esperança de vida para níveis semelhantes obtidos através da diminuição da sinalização Daf-2.<sup>20</sup>

Na mosca da fruta *Drosophila melanogaster*, a redução da ativação da via de sinalização IGF-1, mediante restrição de consumo proteico, mostra extensão da vida útil.<sup>11</sup> A inibição da via do TOR nesta espécie traduz-se num aumento de até 30% de vida saudável. O protocolo de restrição dietética habitual nestes seres consiste numa dieta *ad libitum* diluída, em que os teores de açúcar e de proteínas são alterados para determinar a longevidade máxima. De facto, o emprego de concentrações fixas de açúcar, com redução proteica, prolonga significativamente a longevidade, enquanto que a simples restrição de açúcar atinge uma extensão mais modesta da vida útil.<sup>21</sup>

Quanto à experimentação em mamíferos, a modulação genética, nutricional ou farmacológica, das vias IGF-1 e mTOR, também revela impacto no envelhecimento e no retardar de doenças a ele ligadas. A hormona do crescimento (GH) estimula a produção

de IGF-1. Em ratinhos, a RC em até 30% comparativamente com a dieta *ad libitum*, ao limitar a sinalização da via IGF-1 e do receptor da GH e reduzir os níveis de insulina, é capaz de melhorar significativamente o estado de saúde, reduzir a ocorrência de inúmeras doenças relacionadas com a idade e de estender a vida útil em até 60%.<sup>3</sup> Os efeitos benéficos da RC e da redução dos níveis de IGF-1 foram confirmados, exercendo ação inibitória sobre a via de sinalização PI3K/Akt/mTOR, com redução da atividade do mTOR, aumentando significativamente a vida útil<sup>6</sup> (Fig.1). Noutro estudo,<sup>14</sup> os ratinhos submetidos a RC de 20% a 40% da dieta *ad libitum* ministrada aos animais do grupo de controlo apresentam prolongamento da vida útil de cerca de 40%. Estes efeitos devem-se em parte à redução da ocorrência de doenças crónicas, como cancro, diabetes e doenças cardiovasculares.<sup>14</sup>

### O papel e efeitos dos aminoácidos

Nas leveduras, os efeitos da privação de aminoácidos no envelhecimento dependem do aminoácido específico do qual estas foram privadas. Sabe-se que a carência de aminoácidos não essenciais, utilizados como fontes preferenciais de azoto, pode estender a esperança média de vida, enquanto a supressão de certos aminoácidos essenciais tem efeito contrário. É o caso da leucina, cuja suplementação durante a RC resulta em extensão da esperança de vida.<sup>10</sup> Pelo contrário, a restrição de metionina parece estender a esperança média de vida.<sup>21</sup> A isoleucina, treonina e valina têm a capacidade de estender a vida através da via de sinalização e de controlo geral de aminoácidos (GAAC). A sinalização de certos aminoácidos, como a leucina, ocorre através da sua regulação sobre o mTOR,<sup>10</sup> enquanto a ausência de aminoácidos individuais é detetada através do GCN2 (*general control nonderepressible 2*).<sup>23</sup> A regulação destas duas quinases aparece, em muitas investigações, como estando envolvida na modulação da longevidade mediante restrição dietética.<sup>9,11,14</sup> Neste âmbito, foi atestado que a GCN2 desempenha um papel central na extensão de vida útil. Isto acontece devido à ativação, em condições de restrição, da via de sinalização PHA-4/FOXA e respetivos genes alvo, antagonizada pela mTOR/S6K.<sup>14</sup>

Para além dos aminoácidos, uma outra fonte de azoto utilizada pela *S. cerevisiae*, o amónio, foi identificada como fator chave na modulação da longevidade. A presença de amónio, enquanto fonte de azoto, será parcialmente responsável pela diminuição da esperança de vida em células privadas de certos aminoácidos essenciais. Surgem, assim, novas perspetivas sobre a modulação da longevidade por parte de vários nutrientes, ligando toxicidade à limitação de aminoácidos específicos.<sup>10</sup>

A equipa de investigação de Piper<sup>21</sup> desenvolveu uma dieta completa quimicamente definida (dieta holística), que testou na *D. melanogaster* e verificou que a ausência total de aminoácidos essenciais diminui o tempo de vida e a fecundidade, efeitos que não ocorrem com a ausência total apenas de aminoácidos não essenciais; a ausência total de hidratos de carbono também reduz a longevidade, sem contudo afetar a fertilidade. Deste modo, variações desta dieta holística permitem maximizar a fertilidade e longevidade das moscas.

Os ratinhos submetidos constantemente a baixa ingestão de proteína, de 5% - 15% da ingestão calórica total, têm uma esperança média de vida cerca de 25% maior do que os sujeitos a alta ingestão proteica, de 50% do valor energético total.<sup>6</sup> Num estudo da equipa de *D. Raubenheimer*,<sup>24</sup> os maiores valores de longevidade atingiram-se com percentagens de proteína a rondar os 7,7% para os machos e 9% para as fêmeas. Contudo, a maior

taxa de fertilidade verificou-se para os ratinhos com regimes de elevada ingestão proteica, a 50% da ingestão calórica total. Esta longevidade prolongada deve-se ao facto da restrição proteica reduzir a ativação do mTOR, com menores danos oxidativos ao DNA, menor formação de tumores e melhoria das funções renal, cardíaca e cerebral.<sup>15</sup>

### Proporções dietéticas e/ou restrição calórica

Seguindo a linha de pensamento que defende a importância da proporção de macronutrientes, com realce para a proporção *low protein, high carb* (LPHC), Le Couteur afirma que esta é a proporção típica da dieta dos centenários de Okinawa.<sup>4</sup> De facto, num estudo que realizou com 858 ratinhos, verificou a eficácia dos regimes LPHC no prolongamento da vida e na melhoria da saúde metabólica dos animais. Contudo, quando testou dietas com redução do aporte proteico e elevada ingestão de lípidos, ao invés de hidratos de carbono, obteve um aumento de patologias cardiovasculares e diabetes nos ratinhos, enfatizando a importância que têm as proporções dietéticas destes três macronutrientes.<sup>4,11</sup> Merece especial referência por parte daquele autor uma abordagem designada *Geometric Framework* (GF), que consiste numa representação multidimensional da nutrição, a fim de melhor compreender os efeitos dos nutrientes na saúde metabólica, reprodução e longevidade, entre outros resultados.<sup>5,6,9,24</sup>

Num estudo realizado com primatas (*Macaca mulatta*),<sup>25</sup> a média de sobrevivência global em cativeiro foi, para o grupo de controlo, de 25,91 anos, sendo que cerca de 20% atingiu os 30 anos; noutro grupo, sujeito a 30% de RC, verificou-se um aumento da sobrevivência para 28,32 anos, sendo que cerca de 40% dos animais sobreviveram pelo menos até aos 30 anos. Ainda de referir que no grupo de controlo 63% dos animais morreram de causas relacionadas com o envelhecimento, enquanto no grupo com RC, isso apenas ocorreu em 26% dos casos, tendo os restantes sido por situações agudas, não relacionadas com o envelhecimento (Fig. 2).

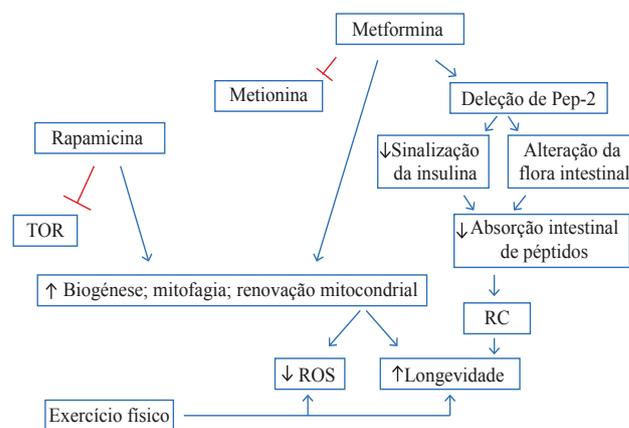


Figura 2. Efeitos metabólicos de dois miméticos da restrição calórica e do exercício físico.

Pep-2 (transportadores de péptidos em *c. elegans*, ortólogo do PEPT-1); RC (restrição calórica); ROS (espécies reativas de oxigénio); TOR (ortólogo do mTOR nas leveduras).

### Miméticos da restrição calórica

O uso do antidiabético oral metformina altera o metabolismo de metionina e parece prolongar a vida nas leveduras, moscas da

fruta, ratinhos, e macacos *rhesus* (*M. mulatta*).<sup>19</sup> Uma das hipóteses colocadas defende que esta diminuirá a quantidade de metionina disponível, o que está de acordo com o facto de atuar como mimético da restrição calórica (Fig. 3). Outra hipótese sugere que o fármaco atuará a nível do intestino, alterando a flora intestinal.<sup>19</sup> A redução da absorção de peptídeos pela deleção de Pep-2 (um transportador de péptidos das células intestinais de *C. elegans*, ortólogo do transportador PEPT1, presente em mamíferos) aumenta a vida útil, através da redução da sinalização da insulina, e da alteração da flora intestinal. Consequentemente, ocorre uma diminuição da absorção intestinal de di e tripéptidos, havendo restrição calórica e expandindo o tempo de vida. Contudo, esta deleção tem outros efeitos, tais como um desenvolvimento mais lento, redução do tamanho e da fertilidade.<sup>26</sup>

Um outro mimético da RC é a rapamicina, que foi originalmente desenvolvido como antifúngico e atua através da inibição do TOR (Fig. 3). Contudo, hoje é mais utilizado como agente imunossupressor, para evitar a rejeição de transplantes de órgãos. Devido às reações adversas inerentes à imunossupressão, retira-se a aplicabilidade da rapamicina como mimético da RC.<sup>27</sup>

Apesar de não se incluir no grupo dos miméticos da RC, o exercício físico moderado tem também consequências positivas, semelhantes às da RC e seus miméticos<sup>4,27</sup> (Fig. 3).

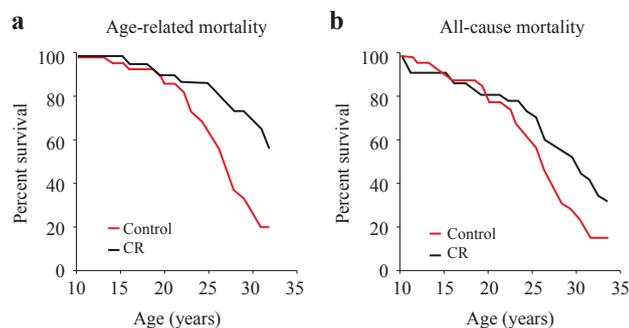


Figura 3. Reproduzido com permissão de Colman *et al.*<sup>25</sup> Curvas de mortalidade numa experiência com macacos *rhesus*.

a) Mortes relacionadas com o envelhecimento. b) Mortes por qualquer causa. CR (restrição calórica)

## O “caso de Okinawa” e a tese da proporção dietética ideal

Os habitantes da ilha de Okinawa, no Japão, são a comunidade humana que apresenta maior longevidade, sendo o exemplo paradigmático das blue zones, regiões do mundo com elevada quantidade de centenários e longa esperança de vida.<sup>28</sup> Esta comunidade ostenta até cinco vezes mais centenários do que as demais nações desenvolvidas. Haverá, certamente, muitos fatores que contribuem para tal, incluindo a restrição calórica, qualidade e tipo de alimentos, genética, hábitos de atividade física, quem sabe, a própria valorização da família e das relações comunitárias. No entanto, verifica-se que a energia resultante das dietas desta população de Okinawa provém de uma proporção de 9% de proteína para 85% de hidratos de carbono (com baixo índice glicémico), proporção semelhante a valores testados nos estudos sobre o envelhecimento em animais.<sup>4,7,14</sup> Além disso, eles tradicionalmente mantêm um regime de restrição calórica, praticando o chamado *hara hachi bu*, nome dado ao hábito de comer apenas até se ficar 80% saciado.<sup>28</sup> É de notar que as dietas pobres em proteína poderão aumentar a ingestão de alimentos, provavelmente através

do efeito de saciedade conferido por estas.<sup>29</sup>

No contexto do *Geometric Framework* há a registar um conjunto de experiências que vai no sentido do estabelecimento de rácios de macronutrientes e de calorías (Fig. 4).

Numa destas experiências,<sup>30</sup> 900 ratinhos são submetidos, ao longo da sua vida, a 1 de 30 tipos de dietas *ad libitum*, com variação das proporções de proteínas, hidratos de carbono, gordura e conteúdo energético. Associou-se então menor ingestão proteica a maior longevidade (Fig. 4), mas a menor fertilidade. Além disso, os animais sujeitos a dietas com cerca de 5% de proteínas tiveram perda de massa muscular, impedindo o crescimento normal e tiveram de ser descontinuadas, o que sugere que este valor está abaixo do limite dietético viável para estes animais.

A aplicação do método à *D. melanogaster* associou dietas LPHC a maior longevidade, relativamente à mera variação da ingestão total de calorías<sup>11</sup> (Fig. 4).

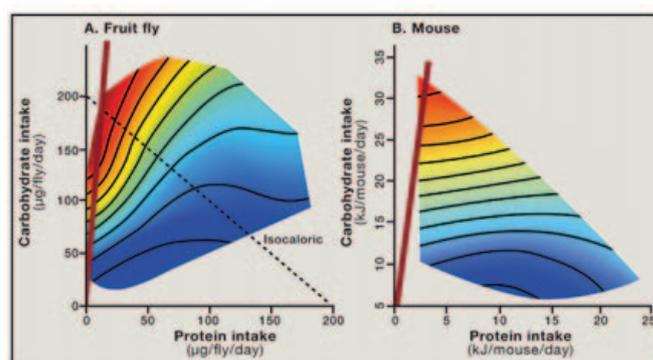


Figura 4. Reproduzido, com permissão, de Simpson *et al.*<sup>30</sup> Análise segundo a abordagem do Geometric Framework que relaciona a relação proteína/hidratos de carbono com longevidade de *D. melanogaster* e ratinhos.

A linha a vermelho representa a proporção que a maximiza.

A proporção ideal de proteínas/hidratos de carbono para o aumento da vida em muitas espécies parece então rondar 1:10 ou menos, sendo também o que se verifica na dieta tradicional de Okinawa, em que o teor proteico é de 9%.<sup>4</sup>

Os valores habituais de proteína presentes nas dietas das populações humanas não excedem os 25% e, em geral, encontram-se perto dos 15%.<sup>4</sup> No entanto, há que não esquecer que o organismo humano apresenta diferenças substanciais relativamente aos restantes seres vivos. Exemplo disso é o facto de se realizarem experiências com ratinhos com consumos proteicos de 50%, o que seria impraticável em humanos, visto que o limite de teor proteico máximo para humanos é de 35%, a partir do qual surge toxicidade que pode mesmo ser letal.<sup>24</sup>

Um aspeto curioso sobre o caso de Okinawa prende-se com a diferença entre as gerações nascidas antes e após a segunda guerra mundial. A elevada esperança de vida mencionada apenas se aplica às pessoas nascidas antes deste marco histórico. Daí em diante, ocidentalizou-se o modo de vida, com aparecimento de cadeias de *fast food*, aumento da ingestão calórica e redução da atividade física, o que aumentou as doenças cardiovasculares e diminuiu a esperança de vida.<sup>7</sup>

A equipa de Pedersen *et al.*<sup>29</sup> encontrou uma relação entre dietas *high protein, low carb* (HPLC) e o aumento da incidência de diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e mortalidade. Nos casos em que a proteína tinha origem animal, as dietas mostraram piores efeitos do que proteínas de origem vegetal, que apresentavam efeitos menos prejudiciais ou mesmo nulos.

Numa investigação no âmbito do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), as dietas com maior percentagem proteica (> 20%) foram associadas ao aumento de cancro e da mortalidade em indivíduos com menos de 65 anos, mas a riscos reduzidos nos idosos. Nestes, verificou-se que o ideal para reduzir a mortalidade será manter um consumo proteico no mínimo de 10% do consumo calórico, de forma a minimizar a perda ponderal e a perda excessiva de IGF-1, próprias da idade avançada e que poderão ter consequências nefastas e contribuir para uma maior fragilidade e mortalidade dos idosos. Não será então a redução do consumo de proteínas pelos idosos, mas antes a redução ao longo de toda a vida, que será capaz de reduzir a mortalidade.<sup>4</sup>

## Estudos realizados em humanos

O *Comprehensive Assessment of the Long-term Effect of Reducing Intake of Energy* (CALERIE) foi o primeiro ensaio clínico randomizado, que visou determinar os efeitos biológicos da RC nos biomarcadores do envelhecimento em seres humanos, sujeitos a 25% de restrição calórica durante dois anos. Um grupo de 225 pessoas não obesas, com idades entre 21 e 50 anos, foram aleatoriamente distribuídas, numa proporção de 2 para 1, num grupo com RC e noutro com dieta *ad libitum*, respetivamente. Apenas 82% das pessoas sujeitas a RC concluíram os dois anos de estudo, conseguindo manter 19,5% de RC nos primeiros 6 meses e 11,7% ao fim dos dois anos. Ainda assim, obtiveram resultados francamente positivos: houve uma queda abrupta de cerca de 7 kg, em média, nos primeiros 6 meses, que depois praticamente estabilizou, tendo a média da perda ponderal ao fim de 2 anos rondado os 8 kg. No grupo de controlo houve uma variação inferior a 1 kg. No grupo da RC, houve redução do metabolismo basal e do gasto energético diário, diminuição da concentração plasmática de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), mediador inflamatório conhecido e ainda uma diminuição acentuada dos triglicerídeos, colesterol total e LDL e aumento de HDL, resultando num perfil cardiovascular mais saudável. Demonstrou-se assim algumas das vantagens obtidas pela RC em humanos, além de se demonstrar também que, apesar das dificuldades, é possível fazer-se estudos de RC em humanos, sem efeitos adversos na qualidade de vida.<sup>31</sup>

## Conclusão

A partir desta revisão da literatura depreende-se que é no contexto da investigação dos equilíbrios de nutrientes que a restrição calórica tem a sua principal ação, e não apenas como estratégia isolada.

Nos trabalhos analisados, observou-se de que forma o entrecruzamento dos mecanismos e vias de sinalização de nutrientes e de energia está implicado na proporção dietética testada em diversos seres vivos. Partindo dessa análise dos efeitos metabólicos causados por diferentes proporções dietéticas dos vários macronutrientes, foi possível tirar algumas ilações sobre a longevidade atribuída à “dieta tradicional de Okinawa”. As vias de sinalização da glicose e dos aminoácidos estão implicadas na regulação da longevidade verificada nos regimes LPHC. Esta dieta é baseada nas fontes mais saudáveis de aminoácidos essenciais, que, ao contrário dos aminoácidos não essenciais, desencadeiam estímulos pró-longevidade, e de hidratos de carbono, preferencialmente de absorção lenta e com baixo índice glicémico, numa proporção dietética semelhante à verificada na dieta tradicional de Okinawa. Igualmente importante para a saúde metabólica revelaram ser a

quantidade e tipo de lípidos ingeridos, com destaque para a melhoria de saúde metabólica proporcionada pelos PUFAs  $\omega$ -6.

A possibilidade das experiências mais recentes poderem recorrer a um padrão como o *Geometric Framework* vem permitir uma comparação das mesmas e a oportunidade de empreender investigações cada vez mais pormenorizadas sobre o papel e as interações dos nutrientes no crescimento e envelhecimento.

Apesar da tendência geral ser no sentido da tese do equilíbrio de nutrientes, e de já existirem múltiplas conclusões dentro deste âmbito, persistem ainda inúmeras dúvidas, que exigem que novos estudos mais detalhados continuem a surgir, para tentar dar resposta às múltiplas e pertinentes questões ainda existentes sobre o tema.

## Responsabilidades Éticas

**Conflitos de Interesse:** Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

**Fontes de Financiamento:** Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

**Proveniência e Revisão por Pares:** Não comissionado; revisão externa por pares.

## Ethical Disclosures

**Conflicts of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financing Support:** This work has not received any contribution, grant or scholarship.

**Provenance and Peer Review:** Not commissioned; externally peer reviewed.

## References / Referências

- Piper MDW, Partridge L, Raubenheimer D, Simpson SJ. Dietary restriction and ageing : a unifying perspective. *Cell Metab.* 2011;14:154–60. doi: 10.1016/j.cmet.2011.06.013.
- Kolovou GD, Kolovou V, Mavrogeni S. We are ageing. *Biomed Res Int.* 2014;2014:1–12. doi: 10.1155/2014/808307.
- Wang Y. Molecular links between caloric restriction and Sir2/SIRT1 activation. *Diabetes Metab J.* 2014;38:321–9. doi: 10.4093/dmj.2014.38.5.321.4. Le Couteur DG, Solon-Biet S, Wahl D, Cogger VC, Willcox BJ, Willcox DC, et al. New Horizons: Dietary protein, ageing and the Okinawan ratio. *Age Ageing.* 2016;45: 43–7. doi: 10.1093/ageing/afw069.
- Efeyan A, Comb WC, Sabatini DM. Nutrient sensing mechanisms and pathways. *Nature.* 2015;4:302–10. doi: 10.1038/nature14190.
- Solon-Biet SM, McMahon AC, Ballard JWO, Ruohonen K, Wu LE, Cogger VC, et al. The ratio of macronutrients, not caloric intake, dictates cardiometabolic health, aging, and longevity in ad libitum-fed mice. *Cell Metab.* 2014;19:418–30. doi: 10.1016/j.cmet.2014.02.009.
- Gavrilova NS, Gavrilov LA. Comments on dietary restriction, okinawa diet and longevity. *Gerontology.* 2012;58:221–3. doi: 10.1159/000329894.
- McCay C, Crowell M, Maynard L. The effect of retarded growth upon the length of life and upon ultimate size. *J Nutr.* 1935; 10: 63–79.
- Solon-Biet SM, Mitchell SJ, de Cabo R, Raubenheimer D, Le Couteur DG, Simpson SJ. Macronutrients and caloric intake in health and longevity. *J Endocrinol.* 2015;226:R17–28.
- Santos J, Leao C, Sousa MJ. Ammonium-dependent shortening of CLS in yeast cells starved for essential amino acids is determined by the specific amino acid deprived, through different signaling pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:161986. doi: 10.1155/2013/161986.
- Lee D, Hwang W, Artan M, Jeong DE, Lee SJ. Effects of nutritional components on aging. *Aging Cell.* 2015;14:8–16. doi: 10.1111/acel.12277.
- Hu J, Wei M, Mirzaei H, Madia F, Mirisola M, Amparo C, et al. Tor-Sch9 deficiency activates catabolism of the ketone body-like acetic acid to promote trehalose accumulation and longevity. *Aging Cell.* 2014;13:457–67. doi: 10.1111/acel.12202.

13. Lin S-J, Kaerberlein M, Andalis AA, Sturtz LA, Defossez P-A, Cullota VC, et al. Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature*. 2002;418:336–40.
14. Mirzaei H, Suarez JA, Longo VD. Protein and amino acid restriction, aging and disease: from yeast to humans. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25:558–66. doi: 10.1016/j.tem.2014.07.002.
15. Dong W, Wang R, Ma LN, Xu BL, Zhang JS, Zhao ZW, et al. Autophagy involving age-related cognitive behavior and hippocampus injury is modulated by different caloric intake in mice. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8:11843–53.
16. Diot A, Morten K, Poulton J. Mitophagy plays a central role in mitochondrial ageing. *Mamm Genome*. 2016;27:381–95. doi: 10.1007/s00335-016-9651-x.
17. Kenyon C. A pathway that links reproductive status to lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1204:156–62. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05640.x.
18. Sui B, Hu C, Jin Y. Mitochondrial metabolic failure in telomere attrition-provoked aging of bone marrow mesenchymal stem cells. *Biogerontology*. 2016;17:267–79. doi: 10.1007/s10522-015-9609-5.
19. Cabreiro F, Au C, Leung KY, Vergara-Irigaray N, Cochemé HM, Noori T, et al. Metformin retards aging in *C. elegans* by altering microbial folate and methionine metabolism. *Cell*. 2013;153:228–39. doi: 10.1016/j.cell.2013.02.035.
20. Feng Y, Williams BG, Koumanov F, Wolstenholme AJ, Holman GD. FGT-1 is the major glucose transporter in *C. elegans* and is central to aging pathways. *Biochem J*. 2013;456:219–29. doi: 10.1042/BJ20131101.
21. Piper MDW, Blanc E, Leitão-Gonçalves R, Yang M, He X, Linford NJ, et al. A holidic medium for *Drosophila melanogaster*. *Nat Methods*. 2014;11:100–5. doi: 10.1038/nmeth.2731.
22. Lee BC, Kaya A, Ma S, Kim G, Gerashchenko M V, Yim SH, et al. Methionine restriction extends lifespan of *Drosophila melanogaster* under conditions of low amino-acid status. *Nat Commun*. 2014;5:3592. doi: 10.1038/ncomms4592.
23. Gallinetti J, Harputlugil E, Mitchell JR. Amino acid sensing in dietary-restriction-mediated longevity: roles of signal-transducing kinases GCN2 and TOR. *Biochem J*. 2013;449:1–10. doi: 10.1042/BJ20121098.
24. Raubenheimer D, Simpson SJ, Le Couteur DG, Solon-Biet SM, Coogan SCP. Nutritional ecology and the evolution of aging. *Exp Gerontol*. 2016; :50–61. doi: 10.1016/j.exger.2016.04.007.
25. Colman RJ, Beasley TM, Kemnitz JW, Johnson SC, Weindruch R, Anderson RM. Caloric restriction reduces age-related and all-cause mortality in rhesus monkeys. *Nat Commun*. 2014;5:3557. doi: 10.1038/ncomms4557.
26. Meissner B, Boll M, Daniel H, Baumeister R. Deletion of the intestinal peptide transporter affects insulin and TOR signaling in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem*. 2004;279:36739–45.
27. Roth GS, Ingram DK. Manipulation of health span and function by dietary caloric restriction mimetics. *Ann N Y Acad Sci*. 2016;1363:5–10. doi: 10.1111/nyas.12834.
28. Mishra BN. Secret of Eternal Youth; Teaching from the Centenarian Hot Spots (“Blue Zones”). *Indian J Community Med*. 2009;34:273–5.
29. Pedersen AN, Kondrup J, Børsheim E. Health effects of protein intake in healthy adults: a systematic literature review. *Food Nutr Res*. 2013;1:1–29. doi: 10.3402/fnr.v57i0.21245.
30. Simpson SJ, Le Couteur DG, Raubenheimer D. Putting the balance back in diet. *Cell*. 2015;161:18–23. doi: 10.1016/j.cell.2015.02.033.
31. Ravussin E, Redman LM, Rochon J, Das SK, Fontana L, Kraus WE, et al. A 2-year randomized controlled trial of human caloric restriction: Feasibility and effects on predictors of health span and longevity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2015;70:1097–104. doi: 10.1093/gerona/glv057.