



Raquel Carolina Pereira de Sousa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Potencial da Restrição Calórica como Complemento na Terapêutica” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Cláudia Furtado, do Dr. Luís Cantante e do Professor Doutor Carlos Manuel Freire Cavaleiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Raquel Carolina Pereira de Sousa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Potencial da Restrição Calórica como Complemento na Terapêutica” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Cláudia Furtado, do Dr. Luís Cantante e do Professor Doutor Carlos Manuel Freire Cavaleiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

# Declaração de Honra

Eu, Raquel Carolina Pereira de Sousa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2012149462, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Potencial da Restrição Calórica como Complemento na Terapêutica*” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 5 de setembro de 2017.

Raquel Carolina Pereira de Sousa

(Raquel Carolina Pereira de Sousa)



# Agradecimentos

*Aos meus pais e avós, por todo o esforço, sacrifício, apoio incondicional, força, coragem e confiança transmitidas.*

*Ao Daniel Magano, pela constante presença, motivação, compreensão, paciência e carinho, apoiando-me sempre em todos os momentos.*

*À minha amiga de sempre e para sempre, Magda Castro. E a ti, Daniela Coelho, pelo apoio, carinho e companheirismo.*

*Aos meus amigos de faculdade, a todos aqueles que fizeram de Coimbra a minha segunda casa.*

*A todos os docentes de não docentes da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pelo esforço e dedicação na transmissão de conhecimentos nas mais diversas áreas.*

*A toda a equipa da Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde do INFARMED, I.P. e da Farmácia do Sameiro pela forma acolhedora como fui recebida, pela atenção, compreensão e disponibilidade sempre demonstradas. Obrigada por toda a amizade, bons momentos e todos os conhecimentos partilhados.*

*Ao meu orientador, Professor Doutor Carlos Cavaleiro, pelo auxílio e disponibilidade, assim como pela notável orientação dirigida.*

*À grandiosa cidade do Conhecimento, por tudo o que me ensinou, mostrou e proporcionou, a ti COIMBRA a minha eterna e sincera gratidão.*

# Índice

<b>Relatório de Estágio na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.</b>	<b>8</b>
Lista de Abreviaturas .....	8
1. Introdução.....	9
2. A Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.....	10
3. A Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde .....	11
4. Análise SWOT .....	12
4.1. Pontos Fortes .....	12
4.1.1. Integração na equipa da DATS .....	12
4.1.2. Contacto com a área da Farmacoeconomia.....	13
4.1.3. Detalhe de conhecimentos adquiridos ao longo do MICF.....	13
4.2. Pontos Fracos.....	13
4.2.1. Duração do estágio .....	13
4.2.2. Falta de oportunidade de conhecimento do papel do farmacêutico nas outras Direções do INFARMED, I.P. ....	14
4.2.3. Foco em determinada área.....	14
4.3. Oportunidades .....	15
4.3.1. Realização de um segundo Estágio Curricular .....	15
4.3.2. Realização de um estudo .....	15
4.4. Ameaças.....	16
4.4.1. Estágios não reconhecidos .....	16
4.4.2. Não abertura de concursos externos.....	16
5. Considerações Finais.....	17
6. Bibliografia.....	18
<b>Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária .....</b>	<b>19</b>
Lista de Abreviaturas .....	19

1. Introdução.....	20
2. Farmácia do Sameiro .....	21
3. Análise SWOT .....	21
3.1. Pontos Fortes.....	22
3.1.1. Equipa farmacêutica com elevado conhecimento científico e espírito pedagógico	22
3.1.2. Localização da farmácia .....	23
3.1.3. Aprendizagem e acompanhamento contínuos .....	23
3.2. Pontos Fracos.....	24
3.2.1. Dificuldade na concretização da venda de produtos de dermofarmácia e cosmética e produtos de uso veterinário .....	24
3.2.2. Insegurança na dispensa e aconselhamento farmacêutico .....	24
3.3. Oportunidades .....	25
3.3.1. Utentes e situações clínicas heterogéneas.....	25
3.3.2. Formações.....	26
3.4. Ameaças.....	26
3.4.1. Falta de conhecimento público .....	26
3.4.2. Rotura de stocks e medicamentos esgotados .....	27
4. Aconselhamento farmacêutico.....	28
4.1. Caso clínico 1 .....	28
4.2. Caso clínico 2.....	29
5. Considerações Finais.....	30
6. Bibliografia.....	31
<b>Potencial da Restrição Calórica como Complemento na Terapêutica.....</b>	<b>32</b>
Lista de Abreviaturas .....	32
Resumo .....	34
Abstract .....	34
1. Introdução.....	35
2. Elucidação de conceitos.....	36

3. Mecanismos de atuação e suas consequências celulares e tecidulares .....	37
3.1. Hipótese da redução da gordura corporal e sinalização da insulina.....	37
3.2. Hipótese redução da produção de espécies reativas de oxigénio e atenuação dos danos oxidativos.....	38
3.3. Mecanismos moleculares envolvidos no efeito da restrição calórica.....	39
3.3.1. Sistema de sinalização do recetor do fator de crescimento semelhante à insulina-I .....	39
3.3.2. Alvo da rapamicina .....	40
3.3.3. Sinalização celular mediada pela proteína cinase A.....	40
3.3.4. Família das sirtuínas.....	41
3.4. Substâncias capazes de mimetizar os efeitos da restrição calórica.....	43
4. A restrição calórica como estratégia de prevenção nas doenças associadas ao envelhecimento .....	45
5. A restrição calórica na terapêutica oncológica .....	51
5.1. O papel da restrição calórica no metabolismo das células cancerígenas .....	52
5.2. Modulação da apoptose e da autofagia mediada pela restrição calórica .....	54
5.3. A combinação da restrição calórica com a quimioterapia .....	55
5.4. A restrição calórica e a terapia oncológica específica e dirigida.....	58
6. Perspetivas futuras .....	60
7. Conclusão .....	61
8. Bibliografia.....	62

# *Relatório de Estágio na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.*

## Lista de Abreviaturas

**AUE** – Autorização de Utilização Excepcional

**CEE** – Comunidade Económica Europeia

**DAM** – Direção de Avaliação de Medicamentos

**DATS** – Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde

**DCQ** – Direção de Comprovação da Qualidade

**DGIC** – Direção de Gestão de Informação e Comunicação

**DGRM** – Direção de Gestão de Risco de Medicamentos

**DIL** – Direção de Inspeção e Licenciamento

**DIPE** – Direção de Informação e Planeamento Estratégico

**DPS** – Direção de Produtos de Saúde

**DRHFP** – Direção de Recursos Humanos, Financeiros e Patrimoniais

**DSTI** – Direção de Sistemas e Tecnologias de Informação

**FFUC** – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**GJC** – Gabinete Jurídico e de Contencioso

**GPQ** – Gabinetes de Planeamento e Qualidade

**INFARMED** – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**SiNATS** – Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde

**SNS** – Serviço Nacional de Saúde



## I. Introdução

O relatório aqui apresentado insere-se no âmbito da disciplina de Estágio Curricular, a qual integra o plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC). Este estágio decorreu na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. – INFARMED, I.P. – em Lisboa no período entre 9 de janeiro e 31 de março de 2017, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Cláudia Furtado, tendo tido também a oportunidade de contactar com uma equipa de profissionais de excelência.

Através do presente relatório de estágio, pretendo de uma forma breve destacar o enfoque do INFARMED, I.P. e da Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde (DATS) no serviço público. Este tem ainda o objetivo de apresentar uma reflexão crítica e pessoal relativamente à aprendizagem realizada durante o estágio curricular e de que forma os conhecimentos adquiridos se repercutirão no meu futuro profissional. Tal será abordada segundo uma análise SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats* – sendo então descritos os pontos fortes e os pontos fracos, numa perspetiva mais relacionada com a dinâmica interna, e as ameaças e oportunidades, num ponto de vista de dimensão externa.

## 2. A Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.

O INFARMED, I.P., criado pelo Decreto-Lei nº 11/93, de 15 de janeiro no seguimento do processo de adesão à Comunidade Económica Europeia (CEE), é uma entidade que se encontra integrada na administração indireta do Estado Português e a qual é dotada de autonomia administrativa e financeira, e património próprio (*Ministério da Saúde, 2012*). Este Instituto Público exerce a sua atividade sob tutela do Ministro da Saúde e compõe a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde. Esta instituição é um organismo central com jurisdição sobre todo o território nacional, com sede no Parque da Saúde de Lisboa, sem prejuízo da colaboração dos órgãos próprios das Regiões Autónomas, de acordo com as suas atribuições (*Ministério da Saúde, 2012*). O INFARMED, I.P. tem então como missão “regular e supervisionar os sectores dos medicamentos de uso humano e dos produtos de saúde, segundo os mais elevados padrões de proteção da saúde pública, e garantir o acesso dos profissionais da saúde e dos cidadãos a medicamentos e produtos de saúde de qualidade, eficazes e seguros” (*Ministério da Saúde, 2012*). Deste modo, esta autoridade é responsável pela prestação de serviço público e com este, o seu compromisso com os portugueses em garantir a acessibilidade aos medicamentos e produtos de saúde de forma segura, com qualidade e eficácia.

Quanto à sua estrutura, esta entidade encontra-se organizada em cinco órgãos: o Conselho Diretivo, o Fiscal Único, o Conselho Consultivo, as Comissões Técnicas Especializadas e o Conselho Nacional de Publicidade de Medicamentos e Produtos de Saúde e doze unidades orgânicas, das quais oito direções com funções de negócio: a Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM), a Direção de Gestão de Risco de Medicamentos (DGRM), a Direção de Produtos de Saúde (DPS), a Direção de Inspeção e Licenciamento (DIL), a Direção de Comprovação da Qualidade (DCQ), a Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde (DATS), a Direção de Gestão de Informação e Comunicação (DGIC), e a Direção de Informação e Planeamento Estratégico (DIPE); e quatro direções com funções de suporte: as Direções de Sistemas e Tecnologias de Informação (DSTI) e de Recursos Humanos, Financeiros e Patrimoniais (DRHFP), e os Gabinetes de Planeamento e Qualidade (GPQ) e Jurídico e de Contencioso (GJC) (*Estrutura e organização - INFARMED, I.P.*).

### 3. A Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde

A unidade orgânica Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde (DATS) é dirigida pela Dr.<sup>a</sup> Cláudia Furtado e tem um papel fundamental na gestão do Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde (SiNATS). A avaliação das tecnologias de saúde integra um processo multidisciplinar o qual reúne a informação dos assuntos médicos, sociais, económicos e éticos relacionados com uma determinada tecnologia de saúde. Esta, por sua vez, designa qualquer medicamento, dispositivo médico ou procedimento médico ou cirúrgico, bem como as medidas de prevenção, diagnóstico ou tratamento de doenças utilizadas na prestação de cuidados de saúde (*Ministério da Saúde, 2015*).

Esta direção destaca-se pela sua atuação em termos de avaliação custo-efetividade dos medicamentos e dispositivos médicos, de recolha de informação dos hospitais e de reavaliações sistemáticas das tecnologias de saúde já existentes no mercado dando ainda prioridade àquelas ligadas aos objetivos nacionais em saúde, tendo sempre como foco o doente e como base a investigação e o método científico.

Grande parte do trabalho desenvolvido nesta direção assenta no SiNATS criado pelo Decreto-Lei nº 97/2015, de 1 de junho, o qual se debruça no modo de utilização e aquisição das tecnologias de saúde, nomeadamente medicamentos e dispositivos médicos. Deste sistema são objetivos maximizar os ganhos em saúde e a qualidade de vida dos nossos cidadãos, contribuir para a sustentabilidade do Serviço Nacional de Saúde (SNS), garantir que a utilização dos recursos públicos em saúde seja eficiente reduzindo desperdícios e ineficiências através da monitorização da utilização e efetividade das tecnologias, bem como promover o acesso equitativo às diversas tecnologias, premiando ainda o desenvolvimento de inovação relevante. Assim, com a criação deste sistema de avaliação, passaram a ser abrangidos também os dispositivos médicos, dita também a reavaliação das tecnologias já presentes no mercado, além de que dá um maior a participação na rede europeia European network for Health Technology Assessment (EUnetHTA), que tem como um dos principais objetivos uma avaliação conjunta europeia.

## 4. Análise SWOT

A análise SWOT destaca-se como uma ferramenta direcionada para a análise e compreensão dos pontos fortes (*Strengths*) e dos pontos fracos (*Weaknesses*), das oportunidades (*Opportunities*) e das ameaças (*Threats*) intrínsecas ao estágio realizado. Esta por sua vez assume duas dimensões, uma dimensão interna e uma dimensão externa.

Num ponto de vista mais interno, os pontos fortes e os pontos fracos refletem fatores internos à instituição que se apresentam como vantagens ou desvantagens para o estágio. Enquanto que na perspetiva mais externa, as oportunidades e as ameaças realçam aspetos positivos e negativos que não estão sob a influência direta da instituição.

<b>Pontos Fortes</b>	<b>Pontos Fracos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Integração na equipa da DATS</li> <li>- Contacto com a área da Farmacoeconomia</li> <li>- Detalhe de conhecimentos adquiridos ao longo do MICF</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Duração do estágio</li> <li>- Falta de oportunidade de conhecimento do papel do farmacêutico nas outras Direções do INFARMED, I.P.</li> <li>- Foco em determinada área</li> </ul>
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Realização de um segundo Estágio Curricular</li> <li>- Realização de um estudo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estágios não reconhecidos</li> <li>- Não abertura de concursos externos</li> </ul>

**Quadro I:** Quadro resumo da análise SWOT.

### 4.1. Pontos Fortes

#### 4.1.1. Integração na equipa da DATS

A DATS é constituída por uma equipa competente, jovem e dinâmica, a qual se destaca pelo seu profissionalismo e experiência nas atividades desenvolvidas. Apesar das inúmeras atividades executadas na direção, considero que fui rapidamente integrada nas atividades desempenhadas e tive sempre uma formação adequada antes de executar qualquer

tarefa pela primeira vez. Todos os profissionais sempre se mostraram bastante disponíveis para esclarecer qualquer dúvida ou prestar algum tipo de orientação. Toda a dinâmica da equipa facilitou, portanto, a minha integração, o que fez com que sempre me sentisse acompanhada e orientada durante todo o meu percurso no estágio.

#### 4.1.2. *Contacto com a área da Farmacoeconomia*

Durante a realização do meu estágio tive a oportunidade de contactar com uma área menos abordada no plano de estudos do MICEF, a farmacoeconomia. Considero que este foi sem dúvida um dos grandes pontos fortes deste estágio, pois permitiu-me adquirir novos conhecimentos numa área que não me era de todo familiar.

Assim, o estágio nesta direção permitiu-me não só o contacto com o mercado de trabalho que aborda uma questão mais regulamentar e todo ele assente na devida legislação como também beneficiar o máximo dos novos conhecimentos em farmacoeconomia.

#### 4.1.3. *Detalhe de conhecimentos adquiridos ao longo do MICEF*

Ao longo da execução deste estágio tive a oportunidade de detalhar em maior pormenor e mais profundamente alguns conteúdos lecionados no plano de estudos do MICEF, nomeadamente as Autorizações de Utilização Excecional (AUEs). O processamento dos pedidos de AUE requeridos foi uma das tarefas à qual me dediquei predominantemente neste estágio. Foi, portanto, bastante proveitoso na medida em que pude concretizar e ver aplicado na prática, aquilo que nos foi transmitido durante a formação teórica dada durante o percurso académico. Penso que esta foi então uma grande vantagem, poder compreender de perto todo o processo inerente a um pedido de AUE.

### **4.2. Pontos Fracos**

#### 4.2.1. *Duração do estágio*

O estágio curricular realizado no INFARMED, I.P. tem a sua duração de apenas três meses. Devido aos limites temporais para a realização do(s) estágio(s) curricular(es) e apresentação de respetivo(s) relatório(s) e monografia compreendo que apenas seja possível que este decorra durante um período de tempo mais restrito. No entanto, considero que

este estágio seria muito mais proveitoso se a sua realização acontecesse durante um período mais prolongado, de forma a permitir aprofundar as competências até então adquiridas e a contactar com um maior número de atividades desenvolvidas na direção.

Também por motivos de limites temporais considero que a minha passagem por algumas das funções exercidas na direção foi um pouco superficial e os conhecimentos adquiridos foram menos bem consolidados.

#### 4.2.2. Falta de oportunidade de conhecimento do papel do farmacêutico nas outras Direções do INFARMED, I.P.

Devido ao facto do elevado número de estagiários acolhidos e do estágio realizado ter uma duração mais restrita compreendo a necessidade de distribuir os diversos alunos pelas diferentes direções integrantes da instituição. Contudo, tal não permitiu que cada um de nós possuísse um conhecimento mais abrangente da intervenção que o farmacêutico exerce nas restantes direções da instituição. Este é um aspeto que ao ser colmatado traria algum benefício ao estagiário na medida que lhe permitiria uma visão mais abrangente do impacto do INFARMED, I.P., quer sobre as entidades que disponibilizam os medicamentos e outros produtos de saúde quer sobre o público em geral.

No entanto, é também facilmente perceptível que com a reduzida duração do estágio seja complicada toda essa articulação, dado que ao serem necessários profissionais que nos possam dar uma formação adequada também nós devemos contribuir com o máximo possível do trabalho ao desempenhar aquilo que nos é proposto e a colocar em prática o que realmente aprendemos. Toda a aprendizagem e colocação em prática dos conhecimentos adquiridos acaba por ser um pouco condicionada pelo tempo, e por esse motivo não foi possível uma maior diversificação do estágio.

#### 4.2.3. Foco em determinada área

A DATS encontra-se essencialmente organizada em duas áreas distintas, a área dos medicamentos e a área dos dispositivos médicos. Nesta direção estivemos duas estagiárias, sendo que cada uma de nós teve o seu período de estágio predominantemente focada em apenas uma destas vertentes. Na minha opinião, teria sido mais vantajoso se ambas pudessemos ter um maior contacto com as atividades desenvolvidas quer nos medicamentos



quer nos dispositivos médicos para que assim, ainda que de uma forma mais superficial e abrangente, conseguíssemos um maior enquadramento das ações executadas na direção. Além do facto do estágio se ter debruçado essencialmente sobre uma destas áreas, estive ainda grande parte da sua duração focada na mesma atividade. Este facto, em conjunto com a reduzida duração do estágio, não permitiu que me fosse possível um contacto mais aprofundado com as restantes atividades desempenhadas na direção.

### **4.3. Oportunidades**

#### **4.3.1. Realização de um segundo Estágio Curricular**

Considero que a oportunidade que os alunos do MICF estudantes na FFUC têm em concretizar um segundo estágio é, sem dúvida, um enorme contributo e uma mais-valia na nossa formação. Estes três meses de estágio no INFARMED, I.P. permitiram-me um contacto com o mercado de trabalho numa área mais regulamentar, a qual até então era para mim praticamente desconhecida nomeadamente a vertente farmacoeconómica.

Este estágio tornou-se assim numa experiência bastante enriquecedora, na medida em que me permitiu encarar esta realidade de trabalho com uma visão mais ampla e informada das áreas possíveis onde poderei no futuro desenvolver e aplicar novos conhecimentos e competências.

#### **4.3.2. Realização de um estudo**

Durante a realização do estágio, além de executar as tarefas que me foram propostas, tive a oportunidade de desenvolver um estudo sobre as AUEs concedidas pela DATS no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2016. Tal permitiu-me aplicar competências, aprender a dominar bases de dados e procurar informação relevante, ao mesmo tempo que pude contribuir para um estudo que sintetiza e destaca a informação mais significativa produzida nesse período de análise.

#### **4.4. Ameaças**

##### **4.4.1. Estágios não reconhecidos**

Uma das ameaças identificadas neste tipo de estágios é o facto de não serem reconhecidos, e com isto acabam por condicionar o estagiário a um esforço muito maior para conseguir gerir e conciliar o estágio curricular em Farmácia Comunitária com este segundo estágio. Além de que, este aspeto é também assim influenciado pelo tempo mínimo de estágio solicitado pelas diversas entidades. Considero que se estes estágios fossem também eles reconhecidos poderíamos obter melhores oportunidades de ingressar em muito mais áreas para as quais nos apresentamos como profissionais aptos e competentes.

##### **4.4.2. Não abertura de concursos externos**

Uma outra questão que se apresenta como uma ameaça é o facto do INFARMED, I.P. não abrir concursos externos. Isto porque aquando do recrutamento dos seus novos colaboradores apenas se encontram disponíveis concursos de mobilidade interna destinados a profissionais que são já parte integrante da administração pública e, portanto, desempenham funções para o Estado.

Este fator mostra-se desde logo uma barreira à nossa entrada para o mercado de trabalho nesta instituição, constituindo-se assim uma ameaça evidente.

## 5. Considerações Finais

Este estágio na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., designadamente INFARMED, I.P. revelou-se uma experiência extremamente enriquecedora, na medida em que me permitiu adquirir inúmeros novos conhecimentos, complementando aquilo que nos foi já transmitido ao longo do MICEF. Todo o trabalho e aprendizagem junto de profissionais com disponibilidade e vontade em partilhar os seus conhecimentos e competências foi um aspeto essencial na minha formação e aprendizagem da prática farmacêutica.

Em última análise, considero que o estágio no INFARMED, I.P. foi bastante proveitoso uma vez que me possibilitou ter uma melhor compreensão da função e das ações desempenhadas pela entidade que regula o medicamento e os produtos de saúde em Portugal, assim como o impacto que esta tem também no público em geral. Tal possibilitou que facilmente me apercebesse da importância do farmacêutico não só como profissional do medicamento, mas também como agente de saúde pública.

A todos aqueles que me apoiaram e sempre estiveram presentes e disponíveis em todo o meu período de estágio, o meu mais sincero obrigada.

## 6. Bibliografia

1. **Estrutura e organização - INFARMED, I.P.** - [Acedido a 15 de março de 2017]. Disponível na internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao>.
2. MINISTÉRIO DA SAÚDE - Decreto-Lei N° 46/2012, de 24 de fevereiro. **Diário da República, 1ª Série, n° 40.** 2012) 884–890.
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE - Legislação Compilada, Decreto-Lei n.º 97/2015 , de 1 de junho. Regime da formação do preço dos medicamentos sujeitos a receita médica e dos medicamentos não sujeitos a receita médica comparticipados. **Diário da República.** 1.ª série:105 (2015) 3453–3464.

# *Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária*

## Lista de Abreviaturas

**APADIMP** – Associação de Pais e Amigos dos Diminuídos Mentais de Penafiel

**FFUC** – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**FS** – Farmácia do Sameiro

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

## I. Introdução

Na qualidade de agente de saúde pública e especialista do medicamento, o farmacêutico desempenha um papel fundamental quer na farmácia quer na sociedade, mostrando-se apto para prestar o devido apoio aos utentes no que concerne ao aconselhamento de medicamentos e produtos cosméticos, informando relativamente a interações medicamentosas, reações adversas e contraindicações, destacando deste modo para o correto e racional uso do medicamento.

A formação académica disponibilizada pela Faculdade de Farmácia da Universidade Coimbra (FFUC) apresenta um carácter essencial na formação de profissionais de saúde competentes e aptos a responder às necessidades de saúde presentes na sociedade. Contudo, a oportunidade de concretizar e consolidar os conhecimentos adquiridos numa abordagem prática mostra-se indispensável. Deste modo, a componente do estágio curricular em farmácia comunitária é crucial na formação de profissionais capazes e munidos das competências profissionais e sociais à adequada prática da profissão farmacêutica.

O presente relatório refere-se ao estágio realizado na Farmácia do Sameiro, decorrido no período de 3 de abril a 31 de julho de 2017, sendo parte integrante da disciplina Estágio Curricular, a qual se insere no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

Com o presente relatório pretendo ainda apresentar a minha análise pessoal desta experiência, focando os aspetos que considero mais relevantes.



## 2. Farmácia do Sameiro

A Farmácia do Sameiro (FS) encontra-se localizada na avenida D. António Ferreira Gomes n° 230 B, em Penafiel. A sua direção técnica encontra-se a cargo do Dr. Luís Cantante. A restante equipa da Farmácia do Sameiro é integrada por mais três farmacêuticas, a Dr.<sup>a</sup> Gisela Salvador, a Dr.<sup>a</sup> Raquel Melo e a Dr.<sup>a</sup> Margarida Barbosa e um farmacêutico, o Dr. Nuno Pedrosa e ainda pela técnica de farmácia Cristina Maioto e o técnico auxiliar de farmácia António Magalhães.

A farmácia é constituída pela área de atendimento ao público, pelo gabinete do diretor técnico, por uma sala para os funcionários, pela casa de banho, o laboratório e um armazém. Quanto à área de atendimento esta apresenta-se organizada em zonas de destaque para os vários produtos de dermofarmácia e cosmética e em áreas de produtos de venda livre e de produtos veterinários. Para além da dispensa de medicamentos e outros produtos de venda livre a Farmácia do Sameiro presta ainda alguns serviços farmacêuticos de relevância para a população que abarca. Entre eles, destacam-se a medição da pressão arterial, da glicémia, do colesterol total e triglicéridos, a administração de vacinas e consultas de nutrição, e ainda a participação no programa de troca de seringas.

## 3. Análise SWOT

Tal como já referido anteriormente, a análise SWOT surge então como um instrumento utilizado para a análise e perceção dos pontos fortes (*Strengths*) e dos pontos fracos (*Weaknesses*), das oportunidades (*Opportunities*) e das ameaças (*Threats*) relativas ao estágio realizado.

Na sua dimensão interna, os pontos fortes e os pontos fracos refletem fatores intrínsecos à farmácia que se destacam como vantagens ou desvantagens para o estágio. Enquanto que na sua dimensão mais externa, as oportunidades e ameaças salientam aspetos positivos e negativos que a farmácia não controla ou sobre os quais não exerce a sua influência direta.

<b>Pontos Fortes</b>	<b>Pontos Fracos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Equipa farmacêutica com elevado conhecimento científico e espírito pedagógico</li> <li>- Localização da farmácia</li> <li>- Aprendizagem e acompanhamento contínuos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dificuldade na concretização da venda de produtos de dermofarmácia e cosmética e produtos de uso veterinário</li> <li>- Insegurança na dispensa e aconselhamento farmacêutico</li> </ul>
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utentes e situações clínicas heterogéneas</li> <li>- Formações</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Falta de conhecimento público</li> <li>- Rotura de stocks e medicamentos esgotados</li> </ul>

**Quadro I:** Quadro resumo da análise SWOT.

### **3.1. Pontos Fortes**

#### **3.1.1. Equipa farmacêutica com elevado conhecimento científico e espírito pedagógico**

A equipa farmacêutica da FS é integrada por profissionais competentes e dotados de elevado conhecimento científico, o que permitiu contribuir para a minha formação e acompanhamento contínuo durante todo o período de estágio.

A capacidade de resposta aos diversos problemas pelos utentes apresentados e o profissionalismo que a equipa da farmácia detém ao esclarecer as suas dúvidas e questões, é maioritariamente, devida à formação proporcionada aos seus colaboradores. Neste sentido, a FS possui um plano de formação que inicialmente se direciona predominantemente a atividades de *back-office*, nomeadamente a receção de encomendas, seguindo-se uma apresentação da organização da farmácia em termos de áreas e produtos de venda livre disponíveis, finalizando com o atendimento ao público. Relativamente aos produtos de venda livre, da área da dermocosmética e produtos de veterinária foi também realizada uma apresentação mais geral e abrangente de acordo com as situações que surgem mais frequentemente no quotidiano da FS. Por este motivo, a formação de base inicial que forneceu os conhecimentos técnicos e científicos proporcionada pela equipa de excelência se mostrou essencial no decorrer do restante período de estágio.

Considero assim, que o facto de ter contactado com profissionais experientes contribuiu em grande parte para que o estágio se tornasse numa experiência enriquecedora e uma mais-valia na minha formação académica, destacando-se, portanto, um excelente espírito pedagógico.

### 3.1.2. Localização da farmácia

Apesar do número de farmácias distribuídas na freguesia de Penafiel e da proximidade entre elas, a FS encontra-se numa excelente localização. A sua localização favorável deve-se ao facto de estar presente num local que é rota de passagem para muitos e de possuir nas suas proximidades o Centro de Saúde, as escolas básica e secundária e uma associação que se destina a indivíduos com necessidades especiais, designada Associação de Pais e Amigos dos Diminuídos Mentais de Penafiel (APADIMP). Neste sentido, a FS é frequentada tanto por utentes ocasionais como por um elevado número de clientes habituais, bem como os indivíduos integrantes da APADIMP, constituindo assim uma base de clientes estável, o que permite prestar melhores serviços aos mesmos.

O facto de o estágio ter decorrido numa farmácia com uma base de clientes tão diversificada permitiu-me contactar com diferentes e variadas situações, o que contribuiu para uma melhor consolidação dos conhecimentos no âmbito do aconselhamento e da prestação de serviços.

Contudo, e apesar da heterogeneidade referida, a FS possui uma relevante fidelização dos utentes. Este fator possibilitou-me prestar um melhor atendimento, mais dinâmico, dado que existia já uma relação mais próxima com o utente, o que se revelou fundamental para um acompanhamento e aconselhamento farmacêutico mais eficiente.

### 3.1.3. Aprendizagem e acompanhamento contínuos

Ao longo do estágio fui desempenhando tarefas que se revelaram de bastante utilidade na aquisição de novas competências. Durante cada fase do estágio foi-me sempre elucidada a forma mais correta de executar cada uma das atividades colocadas em prática, desde a receção de encomendas e armazenamento de medicamentos e produtos de saúde, e tudo o que lhe é inerente, numa fase inicial até ao atendimento ao público e o aconselhamento farmacêutico quando necessário. Foram também esclarecidos aspetos como

os organismos de comparticipação e o procedimento de conferência do receituário. Tal permitiu-me obter uma melhor compreensão das atividades desempenhadas, reduzindo a ocorrência de erros, nomeadamente aquando da receção de uma receita médica, e também a melhor dinamizar o atendimento, particularmente em situações de aconselhamento farmacêutico.

Ao longo do estágio toda a equipa se mostrou interessada e disponível para esclarecer quaisquer dúvidas surgidas, e assim facilitar o meu processo de aprendizagem de uma forma gradual. Deste modo, considero que o estágio curricular se tornou uma mais-valia na minha formação académica dado que me permitiu consolidar o conhecimento adquirido ao longo do restante plano de estudos do MICEF.

### **3.2. Pontos Fracos**

#### **3.2.1. Dificuldade na concretização da venda de produtos de dermofarmácia e cosmética e produtos de uso veterinário**

Devido ao menor número de formações disponíveis durante o período de estágio, senti alguma dificuldade na realização da venda de produtos de dermofarmácia e cosmética assim como de produtos de uso veterinário, pois o conhecimento dos produtos presentes na farmácia era insuficiente, levando a alguma insegurança na sugestão dos mesmos.

Além da formação básica sobre estes produtos proporcionada pelos membros da equipa da FS, considero que a participação em formações específicas das diversas marcas teria sido bastante vantajosa e proveitosa, além de que, na minha opinião, estes foram assuntos menos abordados e realçados no âmbito da formação académica.

#### **3.2.2. Insegurança na dispensa e aconselhamento farmacêutico**

O trabalho desempenhado em farmácia comunitária acarreta uma responsabilidade notável, uma vez que qualquer erro cometido terá um impacto final mais ou menos negativo, podendo refletir-se diretamente no utente ou na gestão da própria farmácia. Dado este aspeto, facilmente identifico a minha insegurança e receio de cometer erros como um ponto fraco do meu estágio. Este fator levou a que muitas vezes sentisse a necessidade de

confirmar o que estava a executar, nomeadamente em situações nas quais foi solicitado algum tipo de aconselhamento.

Considero assim, que este aspeto da insegurança teve um grande impacto no meu desempenho, especialmente na fase mais inicial do estágio. No entanto, e muito devido ao acompanhamento constante por parte dos membros da equipa da farmácia que me permitiu desenvolver uma aprendizagem contínua, com o decorrer do estágio e a aquisição de mais experiência e conhecimento dos medicamentos consegui superar essa insegurança, tendo-me tornado mais autónoma e confiante na realização das minhas tarefas.

### **3.3. Oportunidades**

#### **3.3.1. Utentes e situações clínicas heterogéneas**

Tal como supracitado anteriormente, a localização da farmácia permite abarcar uma grande diversidade de utentes e situações clínicas, o que proporcionou uma excelente oportunidade de aprendizagem nos mais variados contextos.

A FS é frequentada por um conjunto diversificado de utentes que abrangem diferentes extratos socioeconómicos, faixas etárias e níveis de literacia, o que me permitiu o contacto com realidades distintas. Tal exigiu assim uma constante capacidade de adaptação e adequação às mesmas, de forma a permitir um atendimento eficiente e apropriado a cada tipo de utente. Uma vez no atendimento, tornou-se evidente a necessidade de me adequar aos perfis dos utentes com as suas diferentes mentalidades e noções de farmácia e farmacêutico distintas. Este aspeto permitiu-me adquirir uma maior experiência e desenvolver a capacidade de adaptar a intervenção a quem o atendimento em causa se direciona, personalizando cada um dos atendimentos efetuados.

Um outro aspeto que considero relevante destacar é, a meu ver, o facto de cada vez mais os utentes exporem o seu problema e colocarem questões sobre determinado assunto e que, portanto, pretendem ouvir a opinião e aconselhamento do farmacêutico, contrariamente aos que apenas desejam adquirir os medicamentos indicados na sua prescrição médica, com o mínimo de intervenção. Esta questão evidencia assim a maior confiança depositada no farmacêutico bem como a sua valorização, permitindo-lhe colocar em prática os seus conhecimentos e competências.

### 3.3.2. Formações

Na qualidade de profissionais de saúde a nossa aprendizagem será sempre um processo contínuo, sendo, portanto, fulcral a constante atualização e aquisição de novos conhecimentos. Este conhecimento aprofundado e preciso sobre os produtos disponíveis na farmácia exerce uma importante influência no aconselhamento ao doente.

Durante o estágio tive a oportunidade de participar numa formação *online*, subordinada ao tema “Indicação Farmacêutica na Diarreia Aguda”, promovida por um dos laboratórios a qual se revelou bastante interessante, uma vez que o seu tema era referente a uma situação para a qual é muitas vezes solicitado aconselhamento. Também a apresentação de novos produtos por parte dos delegados na farmácia e o material de consulta nesta existente, tais como panfletos e revistas, compõem excelentes fontes e formas de aprendizagem.

Ao longo do decorrer do estágio, e em períodos de menor movimento na FS, foram efetuadas, por elementos da equipa da farmácia, pequenas formações relativas aos produtos existentes na farmácia e dos quais é mais frequentemente solicitado o seu aconselhamento. Este ponto evidenciou-se bastante benéfico e proveitoso, dado que a informação específica e direcionada acerca dos produtos disponibilizados pela farmácia me permitiu ter uma perspetiva mais abrangente das opções disponíveis aquando do aconselhamento farmacêutico.

## 3.4. **Ameaças**

### 3.4.1. Falta de conhecimento público

Durante o atendimento ao público apercebi-me que, na população em geral, está presente alguma lacuna de conhecimento no que respeita ao conceito de medicamentos genéricos e medicamentos de marca, seja em termos de eficácia e segurança ou mesmo questões económicas, assim como no que concerne à necessidade de determinado medicamento requerer ou não receita médica.

Por um lado, parte dos utentes ao estar pouco informado sobre estas questões acaba, por vezes, por ter pouca confiança no produto enquanto medicamento genérico. Tal ocorre muitas vezes devido à ideia errónea de que devido à diferença de preço quando



comparado ao medicamento de marca, o medicamento genérico será de qualidade inferior e por isso não irá exercer o efeito terapêutico pretendido, levando à sua descredibilização. Aqui o farmacêutico assume um papel essencial na explicação ao utente do que se trata um medicamento genérico e por isso de onde surgem as suas diferenças relativamente ao medicamento de marca, o que nem sempre é fácil de fazer o utente entender.

Também no facto que concerne aos medicamentos que necessitam de receita médica e aqueles que podem ser dispensados sem tal prescrição, muitos dos utentes não entendem o motivo que leva a essa distinção e por isso, por vezes, não compreendem a não cedência dessa medicação mesmo que quando efetuada de forma crónica. Nestas situações, identicamente à anterior, o farmacêutico assume uma posição indispensável na promoção do uso racional e responsável do medicamento, alertando para a existência de riscos associados quando o medicamento é tomado para fins distintos daqueles a que se destina ou sem vigilância médica.

Contudo, num outro ponto de vista, a informação a que utente tem acesso nem sempre é a mais correta e fidedigna, o que por vezes motiva a automedicação de forma inadequada, acabando por ter consequências mais ou menos graves para o utente. Nestas situações, cabe também ao farmacêutico ter em atenção aquilo que o utente muitas vezes solicita, para que quando se justifique possa efetuar o melhor aconselhamento possível.

#### 3.4.2. Rotura de stocks e medicamentos esgotados

Uma outra ameaça que identifiquei com o decorrer do estágio diz respeito aos momentos em que algum medicamento se encontrava esgotado ou não disponível. Também pela falta de informação por parte do utente, como acima indicado, ou devido à relutância do utente em aceitar novos preços de medicamentos ou até porque o utente toma já há bastante tempo certo medicamento, quando este se encontra esgotado e sem previsão de entrega existem utentes que ponderam mesmo comprometer a sua toma até aquele estar novamente disponível. Esta resistência à mudança de medicamento de marca ou mesmo apenas à alteração do laboratório em questão afeta, por vezes, a adesão à terapêutica por parte do utente.

Cabe, portanto, ao farmacêutico contornar este obstáculo elucidando o utente que não deve suspender a medicação por este motivo, indicando-lhe as alternativas disponíveis

com o devido esclarecimento a que se deve a troca e que o efeito terapêutico não se encontra comprometido, permitindo assim satisfazer as necessidades por este apresentadas.

## 4. Aconselhamento farmacêutico

### 4.1. Caso clínico I

Um menino, com cerca de 12 anos, dirigiu-se à farmácia acompanhado pela sua mãe referindo que sentia bastante desconforto no pé e que pretendia algo para aliviar esse incômodo. Após a observação do seu pé, na qual eram evidentes, nomeadamente nos espaços interdigitais e na planta do pé, pequenas manchas vermelhas, estando também presente um odor intenso e uma abundante transpiração, e tendo em conta as queixas apontadas como o prurido intenso, e com a ajuda de uma das farmacêuticas concluímos que se tratava de uma situação de pé de atleta.

Tendo em conta o referido, aconselhei o menino, que após a lavagem do pé realizada à noite, aplicasse cuidadosamente um pouco de Betadine<sup>®</sup> para desinfetar a área na qual estava presente a infeção fúngica, seguindo-se a aplicação de Canespor<sup>®</sup> (Bifonazol) em creme. Este medicamento antifúngico possui também a sua apresentação em solução cutânea, que apesar de se tornar numa aplicação mais prática, expliquei que não seria a mais adequada para o tratamento em causa, dado que o menino apresentava áreas em que a sua pele estava mais fragilizada e por isso ao aplicar a solução cutânea esta poderia provocar ardor devido à presença de álcool na mesma.

Em conversa com a mãe, esta mencionou que o menino utilizava frequentemente o mesmo calçado fechado e durante muito tempo. Perante este comentário, enquanto medidas não farmacológicas, sugeri que o menino deveria mudar de calçado com frequência e quando possível utilizar um tipo de calçado que permitisse uma maior exposição do pé ao ar. Além destas indicações aconselhei também o uso de um pó com propriedades desodorizante, antisséptica e também antitranspirante, designado Orcel<sup>®</sup>, o qual iria permitir diminuir a transpiração, e assim eliminar o odor associado bem como reduzir a proliferação fúngica. Este produto destinava-se a ser aplicado de manhã, diretamente no calçado, para que durante o dia permitisse a absorção da humidade, uma vez que este é um fator que contribui para o desenvolver da infeção fúngica.

## 4.2. Caso clínico 2

Uma senhora, com cerca de 50 anos, dirigiu-se à farmácia acompanhada de uma receita médica na qual se encontrava prescrita a substância Fosfomicina 3000 mg, indicando que pretendia levar o medicamento Fosfomicina Monuril<sup>®</sup>, dado que já era o do seu conhecimento. Quando estava a explicar a posologia correta do medicamento em causa e que após a sua toma deveria tentar aguentar o máximo de tempo possível sem urinar, facilitando assim a atuação do antibiótico, a senhora refere que já sabe como proceder pois já o tomou algumas vezes. Tendo em conta esta observação, indicativa de que as infeções urinárias seriam, portanto, recorrentes e após confirmar com a utente a frequência das mesmas, indiquei algumas medidas de prevenção de carácter não farmacológico, como a ingestão de um consumo de água adequado de modo a favorecer a sua diurese e assim limpar o trato urinário de agentes infecciosos, não reter a urinar por longos períodos de tempo e utilizar produtos de higiene íntima adequados que respeitassem a flora vaginal.

Além destas sugestões, aconselhei como coadjuvante da terapêutica instituída um suplemento à base de arando americano e vitamina C, designado Monurelle Cranberry<sup>®</sup>. O arando americano é adequado devido à sua utilização na profilaxia de infeções do trato urinário e a vitamina C (ácido ascórbico) devido à sua função antioxidante, vai reforçar as defesas do organismo e acidificar a urina provocando assim condições desfavoráveis à proliferação bacteriana. A posologia que indiquei foi de 1 comprimido por dia, preferencialmente à noite, após o término do antibiótico e durante pelo menos 20 dias. Este produto vai então prevenir novas recidivas de infeções urinárias, através da inibição da adesão de bactérias, como a *Escherichia coli* muitas vezes responsável por este tipo de infeções, ao epitélio que reveste as vias urinárias sendo também benéfico, porque ao não possuir qualquer ação bactericida ou bacteriostática, não provoca o aparecimento de resistências.

## 5. Considerações Finais

O papel desempenhado pelo farmacêutico comunitário na sociedade tornou-se cada vez mais relevante, não se cingindo apenas à cedência de medicamentos, mas sim intervindo na promoção da saúde pública e do bem-estar dos seus utentes, adotando uma posição de grande proximidade com os mesmos.

Este estágio na Farmácia do Sameiro destacou-se como uma excelente oportunidade, não só de sedimentar os conhecimentos transmitidos ao longo da formação académica com a sua prática profissional e adaptação a diferentes contextos e problemas reais, mas também de adquirir novos saberes. Compreendi também que a realização deste estágio curricular é essencial no desenvolvimento de farmacêuticos capazes e com as competências necessárias, preparados de uma forma mais adequada para o mercado de trabalho. Uma outra vertente que considero fundamental e que esta componente prática da minha formação me permitiu desenvolver foi a postura a adotar aquando do contacto com o utente e a componente social inerente ao farmacêutico, os quais aponto como fatores imprescindíveis na prática farmacêutica.

O facto deste estágio se ter revelado tão positivo em muito se deve também à equipa da Farmácia do Sameiro, pois sempre se mostraram profissionais com imensa disponibilidade para ensinar. Pela forma como fui recebida, por todos os momentos partilhados e por tudo o que me transmitiram, deixo o meu enorme agradecimento a todos os membros desta equipa, assim como às restantes estagiárias com as quais tive o prazer de partilhar esta etapa. Contribuíram, sem dúvida, para que este estágio se tornasse uma enorme mais-valia na minha formação e evolução enquanto futura farmacêutica.

## 6. Bibliografia

1. **Apadimp** - [Acedido a 4 de agosto de 2017]. Disponível na internet:  
<http://www.apadimp.pt>.

# *Potencial da Restrição Calórica como Complemento na Terapêutica*

## Lista de Abreviaturas

**AMP** – Adenosina monofosfato cíclico

**ATP** – Adenosina trifosfato

**CALERIE** – Comprehensive Assessment of Long-term Effects of Reducing Intake of Energy

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**DRC** – Doença renal crônica

**ENCORE** – Exercise and Nutrition Interventions for Cardiovascular Health

**EROs** – Espécies reativas de oxigênio

**FC** – Fatores de crescimento

**FDA** – Food and Drug Administration

**FoxO** – Fator de transcrição *forkhead box*

**HELENA** – Healthy Nutrition and Energy Restriction as Cancer Prevention Strategies: a randomized controlled intervention trial

**IGF-I** – Fator de crescimento semelhante à insulina-I

**IGF-IR** – Recetor do fator de crescimento semelhante à insulina-I

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**NAD<sup>+</sup>** – Nicotinamida adenina dinucleótido em estado oxidado

**NADH** – Nicotinamida adenina dinucleótido em estado reduzido

**NF- $\kappa$ B** – Fator de transcrição pró-inflamatório

**NQO1** – Quinona oxidoreductase I ou NADH desidrogenase

**Nrf2** – Fator de transcrição relacionado com o NF-E2

**PDK1** – Isoforma I da piruvato desidrogenase cinase

**PGC 1 $\alpha$**  – Coativador I $\alpha$  do recetor gama ativado pelo proliferador de peroxissoma

**PI3K** – Fosfatidilinositol-3 cinase

**PIP3** – Fosfatidilinositol trisfosfato

**PKA** – Proteína cinase A

**PRA** – Proteínas relacionadas com a autofagia

**RC** – Restrição calórica

**RCI** – Restrição calórica intermitente

**RDS** – Resistência diferencial ao stresse

**S6K** – Proteína cinase ribossomal 6

**SIRT** – Sirtuínas

**TNF- $\alpha$**  – Fator de necrose tumoral alfa

**TOR** – Alvo da rapamicina

## Resumo

A restrição calórica consiste na redução da ingestão de calorias na dieta numa extensão de 20 a 40% das necessidades normais e sem atingir um estado de desnutrição. Esta assume um destaque relevante com potencial preventivo e terapêutico, inserindo-se como uma importante intervenção no combate a uma diversidade de doenças associadas ao envelhecimento e ao sedentarismo.

No seguimento desta monografia pretende-se abordar os conceitos básicos da restrição calórica, dando ênfase aos mecanismos de ação pela qual esta se exerce, bem como o seu potencial preventivo nas doenças associadas ao envelhecimento e o seu impacto no tratamento oncológico. Adicionalmente, será ainda dado destaque às substâncias capazes de mimetizar os efeitos benéficos desta intervenção nutricional e não farmacológica nas doenças crónicas e não transmissíveis.

**Palavras-Chave:** Restrição calórica, envelhecimento, doenças cardiovasculares, desordens metabólicas, autofagia, neurodegenerescência, apoptose, cancro.

## Abstract

Calorie restriction consists of reducing the intake of calories in the diet to an extent of 20 to 40% of normal needs and without reaching a state of malnutrition. This is a relevant highlight with preventive and therapeutic potential and an important intervention in fighting a variety of diseases associated with aging and a sedentary lifestyle.

This monograph aims to address the basic concepts of caloric restriction, emphasizing the mechanisms of action by which it is exercised, as well as its preventive potential in diseases associated with aging and its impact on cancer treatment. In addition, emphasis will be given to substances capable of mimicking the beneficial effects of this nutritional and non-pharmacological intervention in chronic and non-hereditary diseases.

**Keywords:** Caloric restriction, aging, cardiovascular diseases, metabolic disorders, autophagy, neurodegeneration, apoptosis, cancer.



## I. Introdução

O ambiente da sociedade atual é marcado pela transição nutricional, ou seja, o aumento da energia fornecida pela dieta aliada à forte tendência para o sedentarismo. Estes fatores contribuem, em grande parte, para a predisposição a inúmeras doenças, algumas relacionadas com a idade e, por isso, com o envelhecimento (*Holloszy e Fontana, 2007; Wegner et al., 2016*).

Assim, no sentido de combater a crescente incidência das patologias relacionadas com a idade, a comunidade científica tem-se focado no estudo da restrição calórica (RC) como uma condição com potencial impacto preventivo e terapêutico (*Wegner et al., 2016*).

A restrição calórica, sem atingir a desnutrição, é uma das formas de intervenção nutricional e experimental, de caráter não-genético e não-farmacológico, mais amplamente estudada e discutida pela relação com aumento do tempo de vida, com qualidade, em diversas espécies animais, incluindo os seres humanos (*Genaro et al., 2009; Most et al., 2016*).

A redução da energia disponibilizada pela nutrição exerce os seus benefícios mediante adaptações metabólicas e moleculares que induz, diminuindo e retardando a acumulação de danos moleculares e com isto favorecer a condição de saúde (*Most et al., 2016*). Os mecanismos pelos quais se exercem os efeitos da RC ainda não se encontram devidamente esclarecidos, contudo têm sido propostas algumas hipóteses que poderão estar na sua origem e que abordaremos em detalhe. Estas estão suportadas em fatores como a redução da gordura corporal e sinalização da insulina, a atenuação da produção de espécies reativas de oxigénio (EROs) e respetivos danos oxidativos, além de teorias que envolvem a regulação molecular de determinados genes (*Genaro et al., 2009*).

Desta forma, tem sido demonstrado que a RC em humanos melhora múltiplos fatores, quer metabólicos, quer hormonais que se encontram implícitos na patogénese da diabetes tipo 2, em doenças cardiovasculares e no cancro e, por isso, contribuem fortemente para as principais causas de incapacidade, morbidade e mortalidade (*Most et al., 2016*). Contudo, são ainda necessários mais estudos que permitam elucidar todo o processo desencadeado pela RC nos humanos, seja em termos de prevenção de doença ou extensão do tempo de vida (*Genaro et al., 2009; Wegner et al., 2016*).

De destacar ainda que é importante ter sempre presente a diferença entre os efeitos benéficos que advêm da restrição calórica daqueles que se obtêm com a adoção de hábitos alimentares e um estilo de vida saudável (Genaro et al., 2009).

Um outro aspeto relevante refere-se às substâncias que induzem efeitos miméticos aos da RC e que, por isso, são estratégias que permitem obter os benefícios biológicos da RC, sem que seja necessária uma redução da ingestão real de energia fornecida pela dieta. Essas substâncias podem ainda ser de natureza funcional, farmacêutica, nutracêutica ou outra, sendo que entre os melhores candidatos estão o resveratrol e outros polifenóis relacionados, o fármaco antidiabético metformina, o fármaco imunossupressor rapamicina (sirolimus) e outros reguladores do alvo da rapamicina (TOR) (Roth e Ingram, 2016).

## 2. Elucidação de conceitos

A restrição calórica designa a redução da ingestão de calorias 20 a 40% das necessidades normais, mas que mantém a nutrição adequada, permitindo promover a redução dos riscos para o desenvolvimento de doenças de carácter crónico e não transmissíveis (Wegner et al., 2016).

Esta intervenção dietética é a única conhecida capaz de diminuir significativamente o envelhecimento biológico ao mesmo tempo que aumenta a esperança média e máxima de vida. Segundo estudos realizados, maioritariamente em espécies com tempo de vida curto, este processo tem adquirido potencial não farmacológico para evitar doenças relacionadas com a idade, sejam de patogénese cardiovascular, neurodegenerativa ou o próprio envelhecimento, além de atrasar a morte (Hollozy e Fontana, 2007).

Quanto aos efeitos terapêuticos da RC em espécies com longo tempo de vida, onde se incluem os seres humanos, os resultados dos estudos realizados são mais difíceis de elucidar dado que os efeitos benéficos observados poderiam ser devidos a hábitos alimentares e estilos de vida saudáveis e não à RC. Além de que, mesmo com a realização de ensaios clínicos randomizados como é o exemplo do estudo CALERIE (Most et al., 2016), a adesão à RC por um período de tempo prolongado é incerta e esta pode variar de estudo para estudo (Genaro et al., 2009).

Estudos indicam ainda que a RC associada a alterações na qualidade da dieta reduzem significativamente a incidência de doenças cardiovasculares, cancro, diabetes, e atenua a

neurodegenerescência relacionada com a idade, sarcopenia e a perda de audição (Most et al., 2016).

### 3. Mecanismos de atuação e suas consequências celulares e tecidulares

Devido ao facto dos efeitos da RC serem diversos, tais como o efeito metabólico, o efeito neuroendócrino e até as mudanças apoptóticas, os mecanismos biológicos responsáveis pelos benefícios induzidos não estão ainda completamente esclarecidos, apesar de algumas teorias já enunciadas (Genaro et al., 2009; Wegner et al., 2016).

Das hipóteses sugeridas destaca-se o mecanismo biológico elucidado através da redução da gordura corporal e sinalização da insulina bem como aquele explicado pela redução da produção de espécies reativas de oxigénio (EROs) e consequente atenuação dos danos oxidativos por estas provocados.

#### 3.1. Hipótese da redução da gordura corporal e sinalização da insulina

Segundo esta teoria, a restrição da energia fornecida pela dieta, está associada à redução da glicémia, sendo expectável uma diminuição da produção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas. Com esta alteração haverá, consequentemente, redução da síntese de triacilgliceróis e, portanto, uma diminuição da energia acumulada sob esta forma, nomeadamente no tecido adiposo branco. Este tipo de tecido conjuntivo, além de permitir a acumulação de energia, tem ainda uma função endócrina, sendo responsável pela libertação de mediadores do metabolismo celular como o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), a resistina, a adiponectina e a leptina. Devido às mudanças de acumulação de gordura no tecido adiposo branco a produção destes mediadores sofre também alterações. Verifica-se, assim, o aumento da adipocina responsável pela sensibilização direta do corpo à insulina, a adiponectina, a qual assume um papel fundamental na supressão de eventos metabólicos que podem causar patologias como a diabetes, síndrome metabólica, obesidade, aterosclerose e outras. Pode, também, reduzir a libertação do TNF- $\alpha$ , o qual promove a resistência à insulina e pode mediar a apoptose de células tumorais, dependendo dos oncogenes e genes supressores de tumores presentes, e em ações pró-inflamatórias. (Cordero et al., 2010;

*Genaro et al., 2009; Kadowaki et al., 2006; Wegner et al., 2016*) Tais consequências, no seu conjunto, podem representar importantes benefícios para a condição de saúde.

### 3.2. Hipótese redução da produção de espécies reativas de oxigénio e atenuação dos danos oxidativos

A hipótese da redução de espécies reativas de oxigénio (EROs) e atenuação dos danos oxidativos associada à RC encontra fundamento na atenuação dos danos oxidativos provocados pelas EROs, como a supressão da expressão e ativação do fator de transcrição pró-inflamatório (NF- $\kappa$ B), assim como na melhoria no sistema de reparação do DNA celular. Os radicais livres como são exemplo principalmente o anião superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e o radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ), são formados, essencialmente, na respiração celular e caracterizam-se por serem espécies quimicamente instáveis e reativas. Por este motivo, exercem efeito oxidante sobre inúmeras estruturas celulares, lípidos, proteínas e ácidos nucleicos, provocando danos oxidativos de maior ou menor extensão. Além da reatividade oxidativa, as EROs são também capazes de ativar o NF- $\kappa$ B, indutor da transcrição de proteínas pró-inflamatórias como o TNF- $\alpha$  e das interleucinas 1, 2 e 6. Este stresse oxidativo verifica-se quando está presente um desequilíbrio entre a produção e a remoção dos radicais livres por parte dos mecanismos de defesa antioxidante. O excesso destas EROs traduz-se em efeitos perniciosos, tais como a peroxidação dos lípidos das membranas celulares, a oxidação de proteínas (tecidulares e enzimáticas) ou a oxidação e alquilação de ácidos nucleicos.

Assim, a ativação de genes pró-inflamatórios, tal como os outros danos oxidativos encontra-se relacionada com as mudanças biológicas. Destas destacam-se a síntese e degradação proteica, a produção de EROs, a peroxidação lipídica e alterações das funções mitocondriais, pois as EROs podem induzir mutações no DNA mitocondrial. Estas alterações estão por sua vez na base da patogénese de diferentes doenças crónicas de carácter não transmissível como sejam doenças cardiovasculares, doenças auto-imunes, desordens neurodegenerativas e cancro. (*Genaro et al., 2009; López-Lluch e Navas, 2015; Wegner et al., 2016*)

Muitos dos efeitos obtidos com a RC parecem estar relacionados com a regulação de alguns genes, quer estejam envolvidos na resistência ao stresse e proteção contra danos oxidativos bem como na reparação celular, quer sejam genes responsáveis pela diminuição do processo inflamatório e pela prevenção de alterações na expressão génica decorrentes da idade (*Genaro et al., 2009*).

### 3.3. Mecanismos moleculares envolvidos no efeito da restrição calórica

Em relação aos mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos obtidos com a RC sabe-se que a redução das calorias da dieta conduz a um desequilíbrio no sistema metabólico do organismo, o qual é posteriormente reestabelecido através da interação entre diversas vias e mecanismos reguladores. A RC é então responsável pela indução de múltiplos mecanismos com um papel fundamental na eficácia energética do metabolismo, assim como numa maior proteção contra danos celulares e em mecanismos de renovação, e inibição daqueles que se mostram menos eficientes no consumo energético e na proliferação (López-Lluch e Navas, 2015).

#### 3.3.1. Sistema de sinalização do recetor do fator de crescimento semelhante à insulina-1

Uma das vias que contribui para o novo equilíbrio é o sistema de sinalização do recetor do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1R). Com a RC ocorre uma diminuição das concentrações plasmáticas, não só de glucose e insulina, como também do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1). O envelhecimento é responsável pela ativação da cascata de sinalização dependente do IGF-1 promove a síntese proteica, mediante a ativação do TOR e da proteína cinase 6 ribossomal (S6K), assim como a inibição da atividade transcricional do fator de transcrição *forkhead box* (FoxO), indo, portanto, bloquear a expressão de antioxidantes e a autofagia. Este FoxO encontra-se associado à indução de genes com atividade na resposta ao stresse e à regulação da expressão de genes envolvidos no crescimento celular, proliferação e diferenciação e ainda na longevidade. Com a inibição da cascata de sinalização dependente do IGF-1 decorrente da RC, ocorre uma diminuição da produção de fosfatidilinositol trifosfato (PIP3), o que conduz a uma redução da atividade da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K) e da AKT cinase. Esta por sua vez diminui a fosforilação do FoxO, permitindo que estas proteínas FoxO se mantenham no núcleo celular, levando a um aumento da transcrição de genes que codificam enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase 2, a catalase e a glutationala peroxidase (Veech et al., 2017). O FoxO mostra-se, assim, um mediador fundamental na indução de mecanismos de proteção do organismo após a RC, ou seja, na presença de stresse moderado é gerada uma resposta protetora do organismo, o que pode ser explicado à luz da teoria da hormese. (López-Lluch e Navas, 2015)

### 3.3.2. Alvo da rapamicina

Outra via diz respeito às proteínas constituintes do TOR (família das cinases), as quais também se apresentam como o equilíbrio do sistema metabólico, respondendo ao stress, aos nutrientes e também a fatores de crescimento. Na presença de alimentos o TOR estimula o crescimento celular, proliferação e produção de anticorpos. Este inibe ainda a autofagia e estimula também a síntese proteica e a proliferação celular devido à ativação da S6K, a qual, por sua vez, desempenha um importante papel não só na extensão do tempo de vida como também no atraso de doenças relacionadas com a idade. Por outro lado, quando o TOR se encontra inibido ocorre um aumento da autofagia dependente do FoxO. (Hadamitzky et al., 2014; López-Lluch e Navas, 2015)

### 3.3.3. Sinalização celular mediada pela proteína cinase A

A proteína cinase A (PKA), que sinaliza a disponibilidade da glicose para as células, e as sirtuínas são reguladores que contribuem para a eficiência do metabolismo. A razão entre AMP/ATP (adenosina monofosfato cíclico/adenosina trifosfato) e NAD<sup>+</sup>/NADH (nicotinamida adenina dinucleótido) funciona como sinal para ativar respetivamente a PKA e as sirtuínas, e são estes sensores e reguladores de nutrientes os responsáveis pelo bloqueio do sinal dependente do IGF-I e do TOR. Ao mesmo tempo que exercem esta ação ativam também mecanismos que levam ao aumento da produção de energia de forma mais eficiente, através do metabolismo oxidativo, e mecanismos que promovem o aumento da proteção das células, nomeadamente através de antioxidantes e do turnover dos organelos celulares mediante o processo de autofagia. Esta regulação faz-se ainda sentir a diferentes níveis, sendo que estes mediadores produzem uma resposta como a ativação da autofagia quer seja pelo bloqueio da inibição do FoxO dependente da inibição do TOR, quer seja através da indução da sua atividade devido às proteínas relacionados com a autofagia (PRA). (Genaro et al., 2009; López-Lluch e Navas, 2015)

A PKA atua como um sensor muito sensível nas células do organismo, sendo a sua ativação resultado do aumento da razão AMP/ATP, o qual por sua vez ocorre em situações em que as células têm carência de glucose, baixo balanço energético, levando também à acumulação de NAD<sup>+</sup>. Em alguns organismos foi demonstrado que o aumento da sua atividade como efeito da RC se encontra relacionada com a extensão do tempo de vida, contudo nos mamíferos este dado não está devidamente claro. No entanto, múltiplos fatores podem estar na origem desta divergência de opiniões, como seja tanto a duração da RC

como a extensão em que esta se realizou, pois estes são aspectos com influência no balanço nutricional.

#### 3.3.4. Família das sirtuínas

Relativamente às sirtuínas, sabe-se que o seu efeito na longevidade advém da indução do gene *sir2* (*silent information regulator 2*) o qual codifica uma enzima, designadamente uma histona desacetilase que depende do  $\text{NAD}^+$  (Genaro et al., 2009). Estas desempenham também um papel essencial como efeito benéfico da RC, na medida em que, entre outros aspectos, são capazes de bloquear os mediadores da inflamação. Esta família de proteínas desacetilases dependentes de  $\text{NAD}^+$  influencia a atividade de algumas enzimas porque tem a capacidade de lhes remover os grupos acetilo. Em oposição ao parâmetro anterior, está claro que a RC promove a expressão e atividade das sirtuínas nos mamíferos e que a sua ação se encontra relacionada com alguns dos efeitos metabólicos verificados com a realização da RC. Após a entrada de glucose na célula as sirtuínas vão exercer uma ação oposta à ativação do TOR uma vez que é induzida a autofagia. Estas proteínas assumem cada vez mais relevância dado que há um crescente número de proteínas que têm a sua regulação mediada pelo processo de desacetilação e as quais se encontram envolvidas em diversos aspectos da fisiologia celular. Assim, facilmente compreendemos a sua importância na regulação do ciclo celular, do metabolismo, na proteção antioxidante, na resposta à insulina, na autofagia, entre outros pontos. (López-Lluch e Navas, 2015)

Devido aos seus efeitos fisiológicos, quer no metabolismo energético, no envelhecimento e em doenças relacionadas com a idade, as sirtuínas têm tido um maior destaque. Dependendo dos organismos, tanto o número como as próprias proteínas desacetiladoras são distintas e, nos mamíferos, esta família possui sete membros, cada uma delas com funções e localização a nível celular diferentes. (Wegner et al., 2016) A primeira sirtuína a ser descoberta, a proteína *sir2*, resultante da expressão do gene com a mesma designação (gene *sir2*) da levedura *Saccharomyces cerevisiae* revelou exercer um papel preponderante na longevidade. Nos mamíferos a sirtuína I é a desacetilase mais parecida com a *sir2* da *S. cerevisiae*, tendo já sido demonstradas funções análogas, associando-se-lhe, por isso, potenciais efeitos na longevidade. A expressão do gene *sir2* assim como a atividade da proteína codificada são ainda bastante afetadas por múltiplos fatores externos como a RC, stresse oxidativo, ingestão de compostos antioxidantes, entre outros (Genaro et al., 2009; Wegner et al., 2016). Nos mamíferos a RC aumenta as concentrações de sirtuína I

bem como a sua expressão, e por isso a sua atividade biológica faz-se sentir através de diversos reguladores de transcrição do metabolismo. No fígado, verifica-se a indução da ativação da gliconeogénese o que diminui a glicólise; ao nível do tecido muscular há um aumento da oxidação dos ácidos gordos; no tecido adiposo branco ocorre uma maior mobilização da gordura diminuindo a adipogénese (Genaro et al., 2009). As sirtuínas relevam-se também muito úteis na medida em que, quando estimuladas pela RC, inibem a expressão do NF- $\kappa$ B o que permite a redução da inflamação, da imunossenescência e do envelhecimento celular. Além disto, estas proteínas estão ainda envolvidas na reparação de danos presentes no DNA, na resistência celular ao stresse e na regulação metabólica (Wegner et al., 2016).

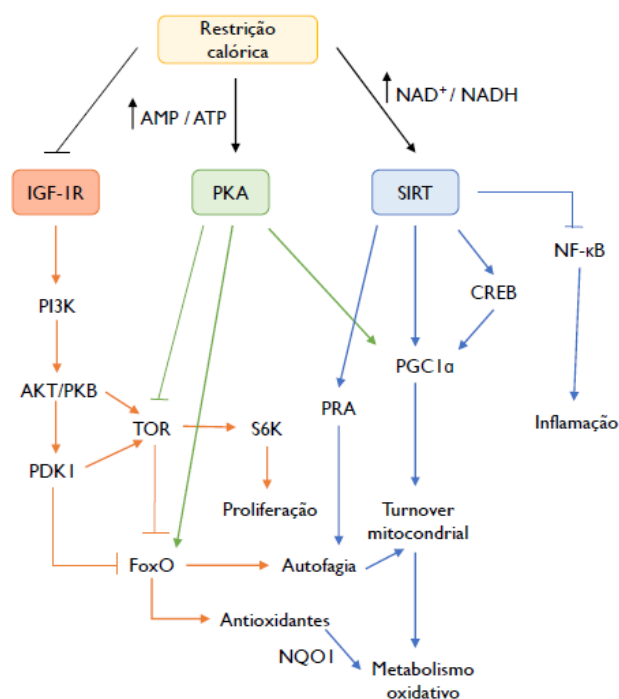


Figura 1: **Interação entre os diversos mecanismos de atuação da restrição calórica.** Com a RC são ativados mecanismos protetores do organismo e inibidos mecanismos envolvidos num consumo energético e proliferação menos eficaz. Podemos assim verificar a inibição da sinalização dependente do IGF-1 que culmina com a desativação da síntese proteica, devido à desativação do TOR, e com a indução da expressão de antioxidantes e a autofagia, mediada pelo aumento da atividade transcrional do FoxO. Em termos de vias que são estimuladas, apresentam-se a PKA e as sirtuínas, que funcionam como sensores de nutrientes sensíveis respetivamente à razão de AMP/ATP e NAD<sup>+</sup>/NADH. Estas quando ativadas bloqueiam o sinal ao nível do TOR, e o qual é dependente do IGF-1, ao mesmo tempo que permitem o turnover de organelos como a mitocôndria através da autofagia, e a proteção celular através do metabolismo oxidativo e dos antioxidantes. As sirtuínas destacam-se ainda pelo seu papel no bloqueio de mediadores da inflamação, como o NF- $\kappa$ B. (adaptado de López-Lluch e Navas, 2015)



A sirtuína-I revela um importante destaque enquanto elemento mediador dos efeitos benéficos que advêm com a RC. A atividade desta classe de desacetilases dependentes de NAD<sup>+</sup> é necessária para que os efeitos da RC se façam sentir em alguns dos organismos. A sirtuína I, predominantemente localizada no núcleo celular, é sem dúvida a mais estudada desta família. Tal como já indicado, os níveis e atividade aumentada desta proteína estão intimamente relacionados com os efeitos na longevidade e neuroproteção mediados pela RC. Com a ativação da sirtuína I induzida pela RC diminuem os níveis acetilados do seu substrato, a proteína FOXO. A RC permite reestabelecer os níveis de expressão da sirtuína I, sendo por isso capaz de atenuar a neuropatologia, inibir a neuroinflamação e ativar a autofagia em modelos de doença de Machado-Joseph. Esta doença neurodegenerativa caracteriza-se falta de coordenação motora, instabilidade postural e disfagia, entre outros sintomas, e para a qual ainda se encontram apenas disponíveis tratamentos que melhoram a sua sintomatologia, mas que não a previnem ou retardam a sua progressão. Tal como acontece em outras patologias neurodegenerativas, a RC consegue reestabelecer os níveis da proteína sirtuína I e assim reduzir significativamente a neuropatologia associada, nomeadamente através do aumento dos níveis de proteínas envolvidas na resistência ao stress, e de alterações em proteínas reguladoras, como as FOXOs, contribuindo para a neuroproteção. (Cunha-Santos et al., 2016)

A sirtuína I tem também a capacidade de desacetilar e assim inativar o NF-κB, impedindo a transcrição e consequente expressão de genes que codificam as citocinas pró-inflamatórias como o TNF-α. Esta proteína apresenta ainda um papel fundamental na ativação da autofagia, a qual é especificamente mediada pela sua atividade desacetiladora em substratos autofágicos importantes. Desta forma, permite reduzir os fragmentos tóxicos e com isto melhorar a neurodegenerescência. Autores referem que a ativação da sirtuína I melhora o défice motor e a neuropatologia em modelos animais de ratinhos com a doença de Machado-Joseph, e por isso uma terapêutica baseada na ativação e aumento dos níveis de sirtuína I, como o resveratrol, torna-se promissora no tratamento desta doença. (Cunha-Santos et al., 2016)

### 3.4. Substâncias capazes de mimetizar os efeitos da restrição calórica

Dado que um protocolo de RC seria relativamente complicado de cumprir a longo prazo as atenções focaram-se na obtenção dos efeitos benéficos obtidos com a RC, ainda

que parcialmente, através de determinadas substâncias ou estratégias com a capacidade de os mimetizar sem que seja necessária redução de calorias na dieta. Após investigações e testes rigorosos a RC tem sido aplicada a diversas espécies, mas por algumas razões a sua aplicação prática em humanos requer ainda mais estudos. (López-Lluch e Navas, 2015; Roth e Ingram, 2016)

Compostos como os polifenóis, nomeadamente o resveratrol, como a rapamicina (sirolimus) e como o antidiabético oral metformina são capazes de ativar as vias moleculares envolvidas no processo da RC. Da atividade do resveratrol destaca-se a sua capacidade para diminuir a secreção da insulina, bem como os seus níveis plasmáticos, e por outro lado em aumentar a sua sensibilidade e contribuir para a redução de reservas lipídicas. Este permite ainda aumentar a razão  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ , o que como já acima referido, leva à ativação das sirtuínas e a um aumento da atividade da PKA e da autofagia.

Na categoria de sensores de nutrientes e proteínas sinalizadoras como alvos de atuação da RC, também a rapamicina, substância inibidora do TOR, permitiu a extensão do tempo de vida em ensaios in vivo realizados com leveduras, nemátodos e moscas da fruta (Roth e Ingram, 2016). Tal deve-se não só ao facto de diminuir a síntese proteica em células humanas, assim como em outros organismos por permitir a inibição da S6K inerente a esse processo, como também devido à indução da autofagia através da inibição do TOR e consequente ativação do FoxO (López-Lluch e Navas, 2015). Também, marcadores da extensão do tempo de vida, como a melhoria cognitiva, e da função cardiovascular ou a proteção contra tumores suportam o facto desta substância se apresentar como um bom candidato a mimetizar a RC (Roth e Ingram, 2016). Contudo, para que se possa concluir inequivocamente sobre a sua atividade em mamíferos são necessários mais estudos. Além disso, deve atentar-se para a qualidade de vida em causa, uma vez que estudos realizados com ratinhos evidenciaram consequências neurocomportamentais, traduzidas em manifestações de ansiedade por hiperatividade da amígdala, e depressão após a administração de dose única de rapamicina (Hadamitzky et al., 2014). Problemas como resistência à insulina, hiperlipidémia e intolerância à glucose, aumento da incidência de catarata e degeneração testicular assim como os seus efeitos imunossupressores, para os quais é frequentemente indicada, colocam em causa a segurança da rapamicina e impedem a sua aplicabilidade a longo prazo na mimetização da RC. (López-Lluch e Navas, 2015; Roth e Ingram, 2016)

Outro composto com interesse é a metformina, uma biguanida utilizada no tratamento da diabetes tipo 2. Além da diabetes, foi também reportada em doentes tratados

com metformina uma menor incidência da doença renal crônica, de cancro e de doenças cardiovasculares, patologias também relacionadas com a idade (Roth e Ingram, 2016). Esta substância, administrada a ratinhos em doses baixas, mostrou ser capaz de aumentar a sensibilidade à insulina, de reduzir os níveis plasmáticos de colesterol, bem como de aumentar a proteção antioxidante e reduzir a inflamação crônica (López-Lluch e Navas, 2015). Tais efeitos devem-se também à ativação da PKA e, têm também sido associados à autofagia mediada pela ativação da sirtuína I, segundo uma via independente da PKA. A metformina mostra-se ainda promissora, dado que em experiências com fibroblastos humanos, foi possível restabelecer a disfunção mitocondrial em células envelhecidas. (López-Lluch e Navas, 2015)

(Roth e Ingram, 2016) referem que a estratégia mais eficiente para mimetizar a RC é atuar o mais próximo possível das etapas iniciais do processamento da energia, e por isso focadas na inibição da via glicolítica. Assim, também bloqueadores da glicólise como a 2-desoxi-D-glucose podem mimetizar os efeitos fisiológicos da RC. No entanto, este tipo de compostos merece uma vigilância acrescida, já que, em tratamentos de longa duração, pode sobrevir cardiotoxicidade e aumento da incidência de tumores da medula da glândula suprarrenal (López-Lluch e Navas, 2015).

Todas estas substâncias, pelo menos em parte, desencadeiam, nos órgãos, efeitos semelhantes à RC, através do turnover e metabolismo oxidativo que permite uma regulação mitocondrial, fundamental para os efeitos da RC. (López-Lluch e Navas, 2015)

#### 4. A restrição calórica como estratégia de prevenção nas doenças associadas ao envelhecimento

Tal como já referido, a RC contribui para inúmeros efeitos benéficos para a saúde do nosso organismo, nomeadamente a redução da massa gorda abdominal, da temperatura corporal e do metabolismo, o aumento da sensibilidade à insulina e a redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, de EROs e de lípidos na circulação sanguínea que contribuem para o desenvolvimento de aterosclerose (Cauwenberghe, Van et al., 2016). Por este motivo, podemos considerar que a RC se apresenta como uma estratégia com interesse no combate ao aparecimento ao desenvolvimento das complicações associadas à idade. O entendimento de que o envelhecimento é o maior fator de risco para diversas doenças, incluindo diabetes,

cancro, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas está já bem fundamentado (Miller et al., 2017).

Duas das doenças associadas ao envelhecimento mais prevalentes em humanos são a diabetes tipo 2 e a doença cardiovascular e, para ambas, intervenções na dieta ou exercício físico têm efeitos positivos na prevenção e no controle da evolução das doenças. O envelhecimento natural, entre outros aspetos, traz associadas a disfunção mitocondrial, que provoca danos como a resistência à insulina e a diabetes tipo 2, interferências nos mecanismos que mantêm a atividade cardíaca, como a autofagia, o *turnover* mediado pelos proteossomas e a apoptose, assim como danos oxidativos que aumentam a concentração de LDL com consequências no desenvolvimento de aterosclerose. Todos estes aspetos podem ser melhorados com a RC e exercício físico, não apenas pela modulação da fisiologia endotelial e do coração, mas também pela redução da oxidação dos lípidos no plasma, diminuindo assim a probabilidade do aparecimento da placa aterosclerótica (López-Lluch e Navas, 2015).

Em termos endócrinos, e consequentemente cardiovasculares, também a adiponectina tem assumido cada vez mais protagonismo dada a sua capacidade em sensibilizar o organismo para a insulina. A obesidade encontra-se frequentemente associada à síndrome metabólica, na qual coexistem patologias como a diabetes tipo 2, a doença da artéria coronária e a hipertensão, as quais apresentam como ponto-chave a resistência à insulina. O metabolismo do tecido adiposo e o seu perfil de secreção alteram-se com a idade e são ambos responsivos à RC (Miller et al., 2017). O tecido adiposo branco tem então uma importante função secretora, sendo responsável pela libertação de diversas adipocinas ativas, nomeadamente a adiponectina que tem a sua produção aumentada com a RC. Em humanos obesos, em particular com obesidade visceral, foram reportados baixos níveis plasmáticos de adiponectina, relacionados com uma maior resistência à insulina, sendo então necessária uma maior quantidade de insulina para se observarem os mesmos efeitos biológicos. Também, diversos estados de hipertensão, doença cardiovascular e resistência à insulina têm sido associados à hipoadiponectinémia. De destacar que um aumento agudo dos níveis de adiponectina plasmática desencadeia uma diminuição dos níveis basais de glucose devido não só à inibição da expressão de enzimas gluconeogénicas hepáticas, mas também à diminuição da produção de glucose endógena, corroborando assim no seu papel de sensibilização da insulina. Estes níveis plasmáticos de adiponectina encontram-se então afetados por múltiplos fatores, entre eles, o género, a idade e o estilo de vida, nomeadamente o tipo de

alimentação. Devido aos efeitos antidiabéticos e antiateroscleróticos, a adiponectina apresenta-se como uma nova ferramenta terapêutica quer para a diabetes quer para a síndrome metabólica (Kadowaki et al., 2006). Também, a sinalização do tecido adiposo se apresenta como um alvo de possível intervenção com o intuito de atrasar o envelhecimento. Tal assenta no facto de dados demonstrarem que o metabolismo do tecido adiposo é específico em cada fase da vida e a RC encontra-se associada a diferentes estados metabólicos, isto porque o impacto da idade na circulação dos lípidos restringiu-se apenas aos fosfolípidos mas o impacto da RC foi detetado em todas as classes de lípidos, o que sugere uma grande distinção no metabolismo lipídico (Miller et al., 2017). Assim, a RC, que contribui para o aumento da produção desta adipocina chave no metabolismo, assume-se como um ponto estratégico no combate de doenças de carácter cardiovascular relacionadas com o envelhecimento (Kadowaki et al., 2006).

Alguns estudos (Sch et al., 2016) sugerem que os benefícios da restrição calórica intermitente (RCI) excedem aqueles obtidos com protocolos contínuos, particularmente na prevenção de doenças crónicas na população geral. Contudo, apesar dos resultados se mostrarem promissores, continua por elucidar se as alterações metabólicas induzidas pela RCI reportadas em estudos experimentais podem ser observadas em humanos e se estes regimes são praticáveis e efetivos em situações reais. No sentido de se avaliar esta questão da efetividade do tipo de regime da RC bem como outros aspetos realizou-se um ensaio clínico randomizado e controlado em humanos, o ensaio HELENA. (Sch et al., 2016) Este ensaio pretende avaliar como aspeto primário a diferença entre regimes de RCI e contínuos, tendo como base as alterações ocorridas em genes que representam vias que podem estar relacionadas com a disfunção metabólica associada à obesidade e que se apresentam como um risco acrescido para doenças crónicas. Este conceito de RCI, que se baseia em fases alternadas de ingestão calórica e de restrição calórica, apresentou já efeitos biológicos em estudos pré-clínicos assim como em ensaios em animais, onde revelou que a RCI pode proteger contra doenças crónicas como a diabetes, doenças cardiovasculares, cancro e doenças neurodegenerativas. Existem também evidências experimentais que sugerem que estes efeitos observados são, pelo menos parcialmente, independentes dos efeitos obtidos com a perda de peso, os quais claramente também contribuem para a maximização dos ganhos na saúde. Além das alterações biológicas induzidas pela RCI, o ensaio HELENA tem também como objetivo testar se a RCI tem maior adesão que RC contínua por parte dos indivíduos, e por isso inclui o seu seguimento para investigar a aplicabilidade em contexto real e avaliar a sustentabilidade dos efeitos. (Sch et al., 2016)

Dados de estudos recentes realizados em animais e humanos indicam que a RC melhora o desempenho da memória e atrasa o processo de envelhecimento além dos benefícios na saúde em geral que acarreta (Cauwenberghe, Van et al., 2016). O maior fator de risco para a neurodegenerescência é o envelhecimento e a RC tem, portanto, também a capacidade de retardar e abrandar a progressão de diferentes doenças relacionadas com a idade, como sejam as neurodegenerativas (Cauwenberghe, Van et al., 2016; Ntsapi e Loos, 2016). Os efeitos anti-envelhecimento da RC podem, então, atenuar a progressão da morte celular assim como evitar a agregação de proteínas anormais relacionadas com as doenças neurodegenerativas. A RC destaca-se como um potente indutor da autofagia, e é através da estimulação deste alvo, devidamente controlado, que a RC se mostra como uma promissora estratégia terapêutica para atrasar a progressão de doenças neurodegenerativas, como são exemplo a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson e a doença de Huntington. Este processo intracelular minuciosamente regulado facilita a reciclagem de proteínas anormais, agregados proteicos e organelos danificados em materiais bioenergéticos e biossintéticos, de forma a manter a homeostase fundamental. A autofagia, descrita como uma resposta celular à privação de nutrientes, possui também um papel na redução da produção de EROs e na promoção do turnover mitocondrial e biogénese, uma vez que permite incitar as células a autofagocitar proteínas já antigas e organelos danificados. Desta forma facilmente nos apercebemos da imprescindibilidade do seu papel, pois uma desregulação na autofagia terá inúmeros impactos no organismo. Desde logo, ocorre a disfunção celular, provocando também a acumulação das proteínas anormais agregadas, proteotoxicidade e consequentemente o desencadear de diversas doenças neurodegenerativas. Diversas patologias neurodegenerativas caracterizam-se pela presença de agregados proteicos de inclusões citoplasmáticas e nucleares em regiões cerebrais afetadas para as quais ainda não se conhece a sua cura ou qualquer terapêutica preventiva. Evidências sugerem que defeitos nas vias relacionadas com a autofagia, de que são exemplo o sistema ubiquitina-proteossoma e o sistema de degradação dependente de lisossomas, contribuem substancialmente para o envelhecimento prematuro e neurodegenerescência. Assim, intervenções terapêuticas que têm como alvos estados defetivos em sistemas de degradação relacionados com a autofagia podem revelar a sua utilidade em diversas doenças neurodegenerativas. (Ntsapi e Loos, 2016)

O envelhecimento é caracterizado por inúmeras alterações funcionais e estruturais, incluindo o funcionamento inadequado das barreiras do sistema nervoso central, que no seu conjunto, afetam a plasticidade cerebral. Os processos e mecanismos envolvidos no envelhecimento são complexos e multifatoriais, sendo que com o crescente envelhecimento

da população são cada vez mais prevalentes as doenças neurodegenerativas. A RC melhora a resiliência das sinapses face ao dano metabólico e oxidativo e está associada a uma melhor atividade sináptica, o que proporciona uma plasticidade sináptica superior e a estimulação das vias neuroprotetoras no cérebro. Além do já referido a RC é também capaz de incitar a produção de fatores neurotróficos que contribuem para o efeito neuroprotetor. Estes fatores promovem ainda a função sináptica e são essenciais para a sobrevivência neuronal e para a morfologia e diferenciação no sistema nervoso central adulto. Foram também realizados ensaios em adultos, como o estudo ENCORE, que demonstrou melhorias no desempenho da memória em indivíduos idosos saudáveis que cumpriam um regime de RC (Cauwenberghe, Van et al., 2016). Foi ainda proposto que a melhoria na sensibilidade à insulina e a redução da atividade inflamatória podem ter mediado os benefícios obtidos com a RC nas funções de memória. (Cauwenberghe, Van et al., 2016)

Tal como referido, é já sabido que os efeitos da RC se devem, pelo menos em parte, ao mecanismo de autofagia desencadeado. A RC possui a capacidade não só de elevar o neuropeptídeo Y na área cerebral do hipotálamo assim como os níveis plasmáticos da grelina, uma hormona intestinal periférica que atua no hipotálamo de forma a modular a homeostase energética. Ambas as substâncias indicadas apresentam um efeito neuroprotetor em diferentes áreas do cérebro e induzem diversas modificações fisiológicas semelhantes àquelas induzidas pela RC, como a temperatura corporal, o ritmo circadiano e o processo de memória e conhecimento. Deste modo, o neuropeptídeo Y e a grelina exibem um efeito sinérgico na estimulação da autofagia, podendo assim constituir uma estratégia inovadora para atrasar o processo de envelhecimento. O envelhecimento implica o declínio progressivo das funções fisiológicas intrínsecas do organismo e é neste sentido, com uma população cada vez mais envelhecida, que se destaca uma maior prevalência das doenças neurodegenerativas. O stresse metabólico celular é, em grande parte, responsável pelo desenvolvimento de condições patológicas, as quais evidenciam a sua prevalência aumentada com a idade. Está também já estabelecido que a atividade autofágica basal das células vai sendo cada vez mais reduzida com o avanço da idade e, portanto, esta constitui um ponto característico quer do envelhecimento quer das doenças neurodegenerativas. A RC é responsável pela indução de uma resposta neuroendócrina, sendo um dos seus maiores efeitos o referido aumento dos níveis de neuropeptídeo Y no hipotálamo. A ativação dos seus recetores desencadeia a regulação de inúmeras funções fisiológicas, obtendo-se efeitos neuroprotetores que permitem retardar as doenças neurodegenerativas. Este composto tem, não só a capacidade de ela própria induzir a autofagia nos neurónios hipotalâmicos,

como também é capaz de mediar a autofagia induzida pela RC. A RC aumenta também os níveis de grelina em circulação no organismo, a qual se encontra envolvida na regulação das funções cardiovasculares, do metabolismo ósseo e da inflamação. A grelina tem também impacto na memória e aprendizagem e exibe um efeito neuroprotetor nas doenças neurodegenerativas e em modelos isquémicos de lesões cerebrais, sendo realmente eficaz na melhoria da sobrevivência celular. Contudo, o envelhecimento traz consigo a atenuação da sua atividade de sinalização, sendo que esta pode ser também um dos mecanismos ativados pela RC. Isto porque, a sinalização da grelina estimula também a autofagia. Esta hormona tem sido já utilizada em diversos ensaios clínicos como estratégia terapêutica para o tratamento de patologias como cancro, anorexia nervosa, entre outras. Tendo em conta estes dados, podemos considerar que ambas as substâncias são potenciais mimetizadores da RC, na medida em que propiciam a estimulação da autofagia e, com esta, os seus efeitos benéficos. É ainda importante destacar que o neuropeptídeo Y medeia o efeito antitumorigénico da RC. (Aveira et al., 2015; Marques et al., 2016)

Uma das complicações associadas à idade e que a RC é capaz de retardar, em diversas espécies, especialmente em roedores, é a doença renal crónica (DRC). Estudos demonstraram que a RC diminuiu, de facto, a ureia nitrogenada, a creatinina e as proteínas na urina, os quais designam os marcadores da função renal mais frequentemente utilizados, levando a uma menor incidência de doenças renais (Xu et al., 2015). A nefropatia relacionada com a idade desempenha um importante papel na DRC, tendo sido evidenciado que indivíduos idosos possuem um risco de desenvolvimento de DRC superior aos indivíduos jovens. Muitas são as causas que contribuem para o risco de desenvolvimento da disfunção renal em idosos, nomeadamente as alterações anatómicas e fisiológicas e diminuição da função fisiológica. Também a nefropatia diabética é outra importante componente da DRC, sendo a causa maioritariamente presente em doentes que iniciaram a terapia de substituição renal. Pesquisas apresentam então a RC como uma estratégia capaz de, entre outros benefícios em saúde, reduzir o enfraquecimento da função renal, diminuir a incidência de lesões renais e reduzir as alterações na morfologia renal associadas à idade em ratinhos (Xu et al., 2015). A RC desempenha assim um papel crítico na supressão e retardar do desenvolvimento e progressão da DRC, destacando-se na redução dos níveis dos marcadores já referenciados (Xu et al., 2015).



## 5. A restrição calórica na terapêutica oncológica

O cancro é a segunda principal causa de morte, sendo que a também a morbidade por este provocada tem sido crescente nos países desenvolvidos. As estratégias terapêuticas mais comumente aplicadas dizem respeito à quimioterapia, à radioterapia ou mesmo a combinação de ambas. Contudo, estas revelam muitas vezes uma eficácia insuficiente e são frequentemente associadas a inúmeros efeitos tóxicos para as células saudáveis do organismo. Neste sentido, a RC ou as substâncias capazes de a mimetizar, em combinação com a terapêutica oncológica mostra-se útil na supressão do crescimento das células tumorais bem como na morte das mesmas. Tal vai então permitir o uso doses de fármaco inferiores, o que conseqüentemente leva a uma redução dos efeitos tóxicos verificados. A RC e os compostos capazes de a mimetizar mostram-se aptos para sensibilizar diferentes tumores à quimioterapia ou radioterapia. A via de regulação do TOR nos mamíferos é um dos efeitos mais vantajosos da RC e são os inibidores deste alvo que se destacam como compostos mais promissores e com eficácia aprovada na mimetização da RC no combate ao cancro. (Kopeina et al., 2017)

Um índice de massa corporal aumentado relacionado com algum sedentarismo encontra-se, não só relacionado com a incidência de diversos tumores, como também pode estar inerente à redução da sobrevivência após a terapia oncológica ou ao piorar do prognóstico. Após a terapêutica, a RC consegue atenuar a o processo de formação de tumores e acentuar a morte das células cancerígenas devido ao seu impacto no peso corporal. A modulação do nível de metabolitos como a razão de AMP/ATP, de acetil CoA/CoA, de NAD<sup>+</sup>/NADH efetuada pela RC promove a diminuição dos níveis dos fatores de crescimento (FC), os quais se mostram fundamentais para o crescimento e divisão celular. Esta intervenção na dieta, além de regular também a autofagia e a apoptose, consegue ainda regular o estado hormonal através do controlo dos níveis séricos de glucocorticoides, os quais vão exercer influência sobre diversas funções metabólicas e ativar vias envolvidas na resistência ao stresse e inflamação. O controlo destes FCs desempenha um papel crítico nas propriedades anti-tumorogénicas da RC, uma vez que a hormona do crescimento e o IGF-I são os principais reguladores extracelulares do crescimento e proliferação celular. A estimulação de vias de sinalização da mitose induzida pelos FCs é uma característica das células cancerígenas. Por este motivo, a modulação dos FCs através do controlo da ingestão de nutrientes poderá ter um elevado potencial na redução da incidência de cancros bem como na melhoria das estratégias terapêuticas anticancerígenas. Um outro

aspecto benéfico da RC neste contexto de terapia oncológica é o facto desta se mostrar capaz de promover mecanismos adaptativos nas células normais em resposta ao stresse provocado pelo tratamento com os fármacos antineoplásicos. Muitos destes compostos induzem danos no DNA e ativam diferentes mecanismos de morte celular programada, no entanto apresentam efeitos tóxicos relevantes nas células saudáveis. Algumas evidências sugerem, ainda, que a combinação de danos no DNA e da RC que conduzem à estimulação do stresse têm um efeito sinérgico na morte das células cancerígenas, ao mesmo tempo que reduzem os efeitos tóxicos indesejáveis. Deste modo, a redução destes efeitos mediada pela combinação da terapêutica oncológica com a RC pode ser alcançada não só pela redução da dose de fármaco necessária, devido ao aumento da eficácia do tratamento, como também pelo aumento da resistência à quimioterapia dos próprios tecidos normais. A RC destaca-se assim capaz de influenciar não só a regulação da homeostase dependente da componente hormonal, mas também diversas vias relacionadas com a formação de tumores e a morte celular (Kopeina et al., 2017).

### 5.1. O papel da restrição calórica no metabolismo das células cancerígenas

A redução da ingestão de nutrientes, nomeadamente de glúcidos, culmina em várias alterações bioquímicas e metabólicas, como sejam as razões de AMP/ATP e  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ , a depleção de acetil-CoA e a diminuição das concentrações sanguíneas de insulina, glucose, IGF-I e outros FCs. A ligação da IGF-I e da insulina aos seus recetores regula a glicólise, o que vai contribuir para o metabolismo e proliferação das células tumorais e, portanto, a ausência destes fatores, que advém da RC, atenua a progressão tumoral. A via da sinalização na qual estão envolvidos a PI3K e o TOR, ativada em condições de dieta normais, designa o maior ponto regulador que controla a síntese proteica, o ciclo celular e o crescimento e sobrevivência em resposta à estimulação extracelular. A hiperativação desta via, por exemplo devido a mutações, tem sido detetada em diversos tipos de cancro, pelo que a diminuição da sua estimulação é um dos efeitos mais vantajosos da RC a nível celular, apontando assim para o seu potencial uso na terapêutica antineoplásica.

Entre outros efeitos, o aumento da razão AMP/ATP intracelular induzido pela RC leva à ativação da PKA, a qual é um supressor tumoral e um regulador essencial da biogénese mitocondrial e que ativa processos de compensação da energia em condições de restrição da ingestão de nutrientes. A PKA, que inibe a síntese de ácidos gordos, esteróis e RNA ribossomal além de conduzir a processos catabólicos como a glicólise e a oxidação de

ácidos gordos, quando ativada, provoca a supressão da via do TOR. Assim a PKA e o TOR modulam a autofagia, permitindo o uso e reciclagem de componentes celulares. Se por um lado o TOR estimula a síntese proteica e divisão celular e inibe processos catabólicos, como a autofagia, por outro lado a PKA reduz a atividade proliferativa das células e promove esses processos catabólicos que suprem o metabolismo do rápido crescimento das células cancerígenas. Verifica-se assim que ambos exibem efeitos antagonistas e fazem a regulação do estado energético celular consoante a disponibilidade de nutrientes.

Também a razão  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  se mostra aumentada com a RC levando à ativação da sirtuína-1, a qual destaca um papel regulador determinante na adaptação à deficiência de nutrientes. A sua expressão e atividade podem também ser estimuladas pela grelina, secretada pelo estômago, em resposta à RC. A sirtuína-1 é então capaz de estimular a oxidação de ácidos gordos, a produção hepática da glucose e a gliconeogénese, ao mesmo tempo que inibe a glicólise através da desacetilação direta das enzimas glicolíticas. A sua excessiva expressão conduz ainda à estimulação da PKA. Esta, por sua vez, regula também positivamente a sirtuína-1 e, portanto, a RC estimula o aumento recíproco de ambas as proteínas que impedem processos anabólicos e promovem os catabólicos. Contudo, tanto a PKA como a sirtuína-1 além de possuírem efeitos na supressão tumoral foi também descrito que tinham propriedades oncogénicas (Kopeina et al., 2017). Esta contradição pode ser explicada pela natureza multifuncional das proteínas envolvidas diretamente na manutenção da viabilidade celulares durante o stresse. Estas proteínas podem também levar a eventos catabólicos produtores de ATP e à supressão da síntese proteica e da glicólise que regulam o crescimento tumoral. É então o equilíbrio entre estas funções opostas que determina a consequência final destas proteínas na formação de tumores.

A RC intervém também na ativação do fator de transcrição relacionado com o NF-E2 (Nrf2), que tem como principal função a ativação da resposta celular de combate ao stresse induzida pela transcrição de diferentes genes. Estes promovem a proteção celular face a agressões endógenas e exógenas tais como EROs e xenobióticos. A deficiência de Nrf2 evidenciou provocar o desenvolvimento de tumores assim como a sua multiplicidade e disseminação metastática. A regulação do Nrf2 e dos seus alvos moleculares modulam o metabolismo e amplificam a proteção celular face a danos induzidos pelos fármacos que casualmente protegem contra o desenvolvimento do cancro.

A RC tem impacto na redução dos níveis séricos de glucose e outros FCs, que vão estimular a resposta de defesa celular, a autofagia, a lipólise e a utilização de ácidos gordos

como substrato energético de forma a manter nos níveis de ATP. Em situações de deficiência nutricional é reprimida a glicólise e a lipogénese e é promovida a cetogénese para prover de energia os diversos órgãos. A alteração no metabolismo dependente da glucose e a deficiência de enzimas que permitem a utilização dos corpos cetónicos levam a que as células cancerígenas fiquem sensíveis à disponibilidade de glucose e aos efeitos tóxicos que advêm dos corpos cetónicos. Nestas células o metabolismo dependente da glucose mantém níveis de substratos elevados para permitir a biossíntese de ácidos nucleicos e lípidos, e por isso uma queda da glucose, do NADH e uma perda das enzimas que utilizam os corpos cetónicos leva à diminuição da produção de ATP. Também a ativação da PKA e a inibição do TOR impedem a biossíntese das proteínas. São então estas modificações bioquímicas e metabólicas as responsáveis por impedir a rápida proliferação das células cancerígenas, e por isso constituem um elevado potencial como estratégias terapêuticas anticancerígenas (Kopeina et al., 2017).

## 5.2. Modulação da apoptose e da autofagia mediada pela restrição calórica

A RC tem a capacidade de modular a autofagia e apoptose através de diferentes mecanismos moleculares, os quais se encontram implícitos na formação de tumores. Como anteriormente referido, a autofagia designa um processo de degradação que ocorre de forma a possibilitar a manutenção da homeostasia intracelular. A autofagia é estimulada por uma via sensível aos nutrientes a qual se refere à desacetilação de fatores autofágicos em resposta à diminuição de acetil-CoA, sendo que este processo é também regulado a nível transcricional pela sirtuína-1 através da ativação de membros da família dos fatores de transcrição FoxO.

A autofagia estimulada pela RC é desencadeada por diferentes e independentes, mas relacionadas vias moleculares, promovendo a adaptação das células e do organismo a situações de stresse. Apesar do seu papel protetor as implicações que a autofagia tem na carcinogénese é controversa. Foi já reportada a função oncosupressora da autofagia, e segundo este ponto de vista, este processo é benéfico no sentido de que ajuda a evitar produção de componentes danificados como as EROs, mediante a remoção de proteínas mal estruturadas ou de mitocôndrias defeituosas, conduzindo à manutenção da estabilidade genómica e celular. No entanto, segundo uma outra perspetiva, os mecanismos de autofagia induzidos pelo stresse podem estar envolvidos na progressão tumoral dado que contribuem

para a adaptação das células cancerígenas ao microambiente hipóxico e à escassez de nutrientes (Kopeina et al., 2017).

Em oposição à autofagia, a apoptose tanto pode ser atenuada como acentuada pela RC. Observações *in vivo* revelaram as propriedades anti-apoptóticas da RC como eficazes no combate ao envelhecimento e na proteção pós-traumática cardiovascular, de tecidos nervosos e da musculatura esquelética. As vias moleculares inerentes a esta proteção incluem a ativação mediada pela RC de membros da família das sirtuínas, como a sirtuína-3. A apoptose pode também ser suprimida pela autofagia induzida pela RC, sendo que a RC atua também sensibilizando as células tumorais para estímulos apoptóticos. A atenuação da proteção anti-apoptótica induzida pela RC nas células de rápido crescimento tumoral pode ser explicada pela inibição do TOR e consequente supressão da tradução proteica, levando a uma desregulação na síntese de moléculas.

A autofagia e a apoptose podem assim ser iniciadas por perturbações metabólicas e as vias moleculares correspondentes podem ser ativadas em resposta à insuficiência de nutrientes. A autofagia estimulada pela RC conduz à reciclagem de componentes celulares, ao fornecimento de energia e substratos e à eliminação de fatores danificados, promovendo a adaptação celular à RC. A redução da ingestão de nutrientes providencia a prevenção dos danos mediados pela apoptose em tecidos normais, mas é também capaz de sensibilizar as células tumorais para eventos apoptóticos através da regulação do equilíbrio entre as proteínas pró- e anti-apoptóticas, ajudando no controle e manutenção da homeostase dos tecidos. (Kopeina et al., 2017).

### 5.3. A combinação da restrição calórica com a quimioterapia

As evidências da ligação entre as alterações metabólicas e a gênese de tumores foram já há muito descritas. Por isso, a aplicação de estratégias baseadas em efeitos metabólicos no tratamento de combate ao cancro tem-se revelado um conceito atrativo. Contudo, a RC é, neste contexto, a única intervenção terapêutica dirigida não só a processos catabólicos como também anabólicos (Kopeina et al., 2017).

Em modelos animais de ratinhos e galinhas foi demonstrado um efeito sensibilizador semelhante em diversos tipos de tumores face ao estímulo de morte induzida quer pela quimioterapia quer pela radioterapia. Os dados obtidos confirmaram a supressão do crescimento tumoral, da vascularização e angiogénese, bem como a redução do número e

tamanho das metástases. As alterações ao nível dos mecanismos moleculares regulam a defesa anti-apoptótica das células tumorais, provocando a sua apoptose mais precocemente. Apesar das observações do impacto clínico da RC na terapia anticancerígena serem reduzidas, estudos em humanos demonstraram a redução dos efeitos indesejados causados pela quimioterapia (Safdie et al., 2009). Outros estudos revelaram que uma dieta hipocalórica pode melhorar a qualidade de vida em doentes com cancro da mama, reduzindo os sintomas depressivos, o peso, o colesterol total e a pressão sanguínea diastólica em repouso, quando tratados em fases mais precoces do processo (Fontana et al., 2008; Scott et al., 2013).

De notar que as propriedades anticancerígenas da RC podem depender de múltiplos fatores, como sejam a intensidade da diminuição dos FCs e da glucose no sangue. Alguns dados permitem concluir que a RC, quando aplicada a apenas um dos nutrientes como os glúcidos, se mostra mais eficaz para a potencial aplicação na terapia anticancerígena, uma vez que promove uma redução mais pronunciada tanto da glucose como do IGF-I. Quanto mais significativa for esta diminuição maior será a estimulação para a morte das células tumorais. Um outro aspeto, também ele benéfico, é que com a diminuição do aporte nutricional e, portanto, a redução das reservas energéticas, ocorre a paragem do ciclo celular nos tecidos normais. Isto vai permitir que se desencadeie a ativação do sistema de degradação mediado pela via do Nrf-2, protegendo assim as células normais da apoptose consequente do tratamento com fármacos que danificam o DNA. Protocolos de RC dirigidos a um único nutriente podem então ser utilizados para reforçar a eficácia da terapia oncológica bem como para reduzir a toxicidade conferidas pelos agentes antineoplásicos. (Kopeina et al., 2017)

A dieta cetogénica também pode ser aplicada para a redução dos parâmetros sanguíneos de glucose e FCs, mimetizando os efeitos da RC com a redução da ingestão de 20 a 40% dos nutrientes. Alguns autores propõem ainda, que a extensão do tempo de vida produzida pela RC pode ser duplicada devido às alterações metabólicas induzidas pela cetogénese (Veech et al., 2017). Neste sentido, referem ainda que um composto cetónico exógeno constitui uma nova ferramenta que pode ser utilizada no futuro para mimetizar os efeitos da RC (Veech et al., 2017). Substituindo os glúcidos por alimentos ricos em gordura, estimula-se a formação de corpos cetónicos pela via da cetogénese. Perante uma diminuição da glicémia o organismo utiliza os triglicéridos acumulados nos adipócitos como fonte de energia, pois após a lipólise, seguida da  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos, fica disponível uma grande quantidade de acetil-CoA. Este, por sua vez, vai funcionar como substrato para a

formação dos corpos cetónicos que, sendo solúveis em água, são transportados pela corrente sanguínea para os diversos tecidos e órgãos periféricos, fornecendo-lhes a energia necessária. As modificações a nível genético e metabólico tornam as células cancerígenas exigentes quanto à glicose disponível, a qual será reduzida perante esta dieta, para além de que, alguns tipos de tumores são incapazes de utilizar os corpos cetónicos como fonte energética. Deste modo, a dieta cetogénica tem sido destacada por melhorar a terapia oncológica em modelos animais com glioma, astrocitoma e cancros do pâncreas, do estômago, dos pulmões, entre outros (Vidali et al., 2015). Aspectos como o atraso do crescimento tumoral, a sobrevivência prolongada, a redução do peso e volume do tumor, e a diminuição da expressão dos genes codificadores dos FCs foram identificados no desenvolvimento do glioma, um dos tipos de tumor cerebral. Alguns estudos apoiam as conclusões de ensaios pré-clínicos, nomeadamente no que refere ao facto desta dieta cetogénica se apresentar como segura e praticável e possível de ser utilizada para controlar a progressão do glioma, como uma dieta específica de um tumor (Kensler et al., 1998; Klaassen e Slitt, 2005; Lee et al., 2010).

Além de promover o aumento da eficácia terapêutica oncológica, a RC apresenta também como potencial benéfico o facto de reduzir a toxicidade consequente da quimioterapia através da diferente sensibilização ao stresse das células normais e tumorais. Esta diferente sensibilização ao stresse em ambos os tipos de células designa-se por resistência diferencial ao stresse (RDS). Em situações de deficiência nutricional, dados indicaram que as células normais exibem uma resistência ao stresse oxidativo induzido pela quimioterapia superior às células cancerígenas. Os mecanismos moleculares nos quais a RDS assenta não se encontram completamente esclarecidos. Contudo, este acontecimento pode ser, pelo menos em parte, explicado pela ativação e regulação da transcrição de genes envolvidos no processamento dos xenobióticos mediadas pela RC, os quais são fundamentais no metabolismo e eliminação destes fármacos. (Kopeina et al., 2017)

É também importante destacar que a RC segundo um protocolo de redução da ingestão de 20 a 40% dos nutrientes está, por vezes, associada a efeitos prejudiciais nomeadamente o impacto negativo no sistema imunitário. Alterações como a diminuição da quantidade de citocinas no plasma ou alterações no desenvolvimento, ativação e proliferação das células T CD8<sup>+</sup>, estão na origem da suscetibilidade aumentada do organismo para doenças infecciosas e a possível consequente morte do indivíduo. Por este motivo, a RC durante a gravidez ou a infância deve ser minuciosamente avaliada, uma vez que o sistema

imunitário se encontra em desenvolvimento e por isso pode provocar a incapacidade de eliminar as infecções. No entanto, estudos demonstraram que a RC restritiva ou os seus fármacos miméticos são capazes de aumentar a resposta imunológica anticancerígena, resultando na supressão do crescimento tumoral (*Biase, Di et al., 2016; Pietrocola et al., 2016*).

Da RC podem advir efeitos negativos como a atenuação do sistema imunitário e o comprometimento da resposta de defesa em situações de infecção mas, ao mesmo tempo, dietas restritivas específicas ou que utilizam compostos naturais que mimetizam a restrição nutricional, melhoram a terapia anticancerígena através da estimulação da resposta imunitária. Esta contradição pode ser explicada pelos diversos regimes de RC. Por um lado, é perceptível que em momentos nos quais os nutrientes são essenciais para a maturação do organismo, a sua redução vai atenuar as funções do sistema imunitário. Mas em oposição, a RC referente a um tipo de nutriente e durante um curto período de tempo, assim como as dietas saudáveis têm a capacidade de estimular a atividade antitumoral das células imunológicas. (*Kopeina et al., 2017*)

#### 5.4. A restrição calórica e a terapia oncológica específica e dirigida

Resultados recentes das investigações biomédicas facilitaram a descoberta de novos alvos para a terapêutica oncológica. Foram identificados e desenvolvidos compostos ativos dirigidos a alvos terapêuticos como os FCs ou os seus recetores, as tirosina cinases e as histonas desacetilases. São exemplo os anticorpos trastuzumab, bevacizumab e cetuximab aprovados pela FDA para o tratamento dos cancros da mama e colorretal. Diversos estudos evidenciaram que a combinação da RC ou das substâncias capazes de a mimetizar com a terapêutica oncológica além de melhorar a quimioterapia e radioterapia pôde ainda realçar a eficácia dos fármacos que atuam num alvo específico. A potenciação deste efeito, em particular a inibição da proliferação produzida pelos inibidores da tirosina cinase, como o erlotinib, crizotinib, entre ou outros, foi já evidenciada em culturas de células cancerígenas sob condições de RC (*Caffa et al., 2015*). Também a dieta cetogénica com redução de glúcidos, combinada com o bevacizumab foi testada em ratinhos e em humanos com glioma, tendo sido igualmente registados melhores resultados nos animais tratados com a dieta cetogénica associada ao bevacizumab. Nos estudos em humanos, o número limitado de doentes e a ausência de randomização e grupo controlo no estudo impediram a demonstração inequívoca da eficácia deste tipo de dieta. (*Kopeina et al., 2017*)



As substâncias capazes de mimetizar a RC quando combinadas com fármacos antineoplásicos direcionados a um determinado alvo terapêutico exibem também um efeito sinérgico. Deste modo, estes compostos podem ser utilizados como sensibilizadores aptos para melhorar a estratégia terapêutica dirigida a um dado alvo. A associação da metformina com um inibidor da tirosina cinase melhorou o prognóstico de doentes com cancro do pulmão das células não pequenas portadores de diabetes *mellitus* tipo 2 (Chen et al., 2015).

A combinação da RC ou dos compostos que a mimetizam com os fármacos direcionados a um alvo terapêutico em concreto tem demonstrado uma atividade anticancerígena sinérgica e promissora. Esta irá assim contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias efetivas passíveis de se exercerem na clínica. O tratamento que consiste na associação destes dois aspetos referidos anteriormente parece possuir um potencial superior à RC apenas. Isto porque o uso de compostos que mimetizam a RC permite o direcionamento a ponto específico do processo metabólico e assim a supressão do crescimento das células cancerígenas, tornando o tratamento mais preditivo. (Kopeina et al., 2017)

## 6. Perspetivas futuras

Analisando um futuro próximo, prevê-se que as sirtuínas constituam um alvo terapêutico cada vez mais explorado para muitas das doenças associadas à idade, nomeadamente doenças metabólicas como a diabetes e a obesidade. Diferentes autores indicam que estas sejam um possível caminho para atenuar os efeitos e complicações do envelhecimento como sejam a diabetes, as doenças cardiovasculares e neurodegenerativas e o cancro (Wegner *et al.*, 2016).

Também a identificação dos mediadores genéticos e fisiológicos da RC são um ponto que poderá auxiliar na descoberta de tratamentos que atuam sobre as vias metabólicas. Assim, cada vez mais o foco irá incidir nos compostos capazes de mimetizar a RC sem a necessidade da imposição de restrição alimentar (Wegner *et al.*, 2016).

Outro ponto-chave que será útil de investigar mais detalhadamente é a mecanística e modulação de estádios específicos da autofagia. Surgindo assim como uma intervenção terapêutica não farmacológica capaz de atrasar o envelhecimento prematuro, a neurodegenerescência e as suas doenças associadas (Ntsapi e Loos, 2016).

A nível oncológico, estão atualmente a ser realizados ensaios clínicos piloto em doentes com diversos tipos de cancro. Um dos aspetos que requererá uma maior atenção no futuro serão os mecanismos pela qual a RDS atua e, conseqüentemente, como se exerce a redução dos efeitos tóxicos dos medicamentos antineoplásicos. Também a ligação entre a RC e a oncogénese possui alguns aspetos que devem ser devidamente elucidados, nomeadamente o modo como as alterações epigenéticas, dependentes da RC, são capazes de influenciar o efeito anticancerígeno (Kopeina *et al.*, 2017).

## 7. Conclusão

Facilmente nos apercebemos que estamos perante uma população cada vez mais envelhecida e que o excesso de peso se assume como um dos mais sérios problemas da civilização moderna. Neste sentido, são diversas as doenças que surgem associadas quer à idade e quer ao excesso de peso, como são notórias as doenças cardiovasculares, as desordens metabólicas como a diabetes, as doenças neurodegenerativas e o cancro.

Tendo em conta estes aspetos urge a necessidade de investigar formas de as combater, sendo a RC uma das potenciais estratégias. A RC, sem desnutrição, tem a capacidade de prevenir a obesidade, a diabetes e a hipertensão, assim como de reduzir os fatores de risco para as doenças cardíacas, a atrofia cerebral, patologias musculoesqueléticas como a osteoartrite, a aterosclerose e o cancro.

A elevada variabilidade individual em resposta à dieta, a extrema complexidade do organismo humano, a adesão à terapêutica por parte do doente e a diversidade de protocolos de RC, em termos de intensidade ou duração, são fatores que tornam a sua correta aplicabilidade na prática clínica um desafio. Por este motivo as substâncias capazes de mimetizar os seus efeitos biológicos assumem cada vez mais importância. Estes por sua vez, além de não requerem a restrição da ingestão de calorias na dieta propriamente dita, destacam-se como uma opção bastante vantajosa, nomeadamente quando associados a outros agentes terapêuticos, na medida em que nos permitem atuar num ponto específico do encadeamento metabólico e assim tornar o tratamento mais preditivo.

É já sabido que a RC ou os compostos capazes de a mimetizar tem um papel essencial e são responsáveis por inúmeros impactos positivos que desencadeiam no organismo e é perfeitamente aplicável no contexto real. No entanto, mais estudos e investigações são necessários para que se possa elucidar todos os mecanismos que estão na base da RC e pela qual esta exerce os seus benefícios e efeitos terapêuticos, em particular nos humanos.

## 8. Bibliografia

1. AVELEIRA, Célia A. *et al.* - Neuropeptide Y stimulates autophagy in hypothalamic neurons. **Pnas.** . ISSN 1091-6490. 2015) E1642–51.
2. BIASE, Stefano DI *et al.* - Fasting-Mimicking Diet Reduces HO-1 to Promote T Cell-Mediated Tumor Cytotoxicity. **Cancer Cell.** . ISSN 18783686. 30:1 (2016) 136–146.
3. CAFFA, Irene *et al.* - Fasting potentiates the anticancer activity of tyrosine kinase inhibitors by strengthening MAPK signaling inhibition. **Oncotarget.** . ISSN 1949-2553. 6:14 (2015) 11820–32.
4. CAUWENBERGHE, Caroline VAN *et al.* - Caloric restriction: beneficial effects on brain aging and Alzheimer’s disease. **Mammalian Genome.** . ISSN 14321777. 27:7–8 (2016) 300–319.
5. CHEN, Hengyi *et al.* - Synergistic effects of metformin in combination with EGFR-TKI in the treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer and type 2 diabetes. **Cancer Letters.** . ISSN 18727980. 369:1 (2015) 97–102.
6. CORDERO, Julia B. *et al.* - Article Oncogenic Ras Diverts a Host TNF Tumor Suppressor Activity into Tumor Promoter. **Developmental Cell.** . ISSN 1534-5807. 18:6 (2010) 999–1011.
7. CUNHA-SANTOS, Janete *et al.* - Caloric restriction blocks neuropathology and motor deficits in Machado-Joseph disease mouse models through SIRT1 pathway. **Nature communications.** . ISSN 2041-1723. 7:May (2016) 11445.
8. FONTANA, Luigi *et al.* - Long-term effects of calorie or protein restriction on serum IGF-I and IGFBP-3 concentration in humans. **Aging Cell.** . ISSN 14749718. 7:5 (2008) 681–687.
9. GENARO, Patrícia De Souza; SARKIS, Karin Sedó; MARTINI, Ligia Araújo - O efeito da restrição calórica na longevidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.** . ISSN 0004-2730. 53:5 (2009) 667–672.
10. HADAMITZKY, Martin *et al.* - Acute systemic rapamycin induces neurobehavioral alterations in rats. **Behavioural Brain Research.** . ISSN 0166-4328. 273:2014) 16–22.
11. HOLLOSZY, John O.; FONTANA, Luigi - Caloric restriction in humans. **Experimental Gerontology.** . ISSN 05315565. 42:8 (2007) 709–712.
12. KADOWAKI, Takashi *et al.* - Review series Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance , diabetes , and the metabolic syndrome. 116:7 (2006).
13. KENSLER, Thomas W. *et al.* - Oltipraz chemoprevention trial in Qidong, People’s

- Republic of China: Modulation of serum aflatoxin albumin adduct biomarkers. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**. . ISSN 10559965. 7:2 (1998) 127–134.
14. KLAASSEN, C. D.; SLITT, A L. - Regulation of hepatic transporters by xenobiotic receptors. **Current drug metabolism**. . ISSN 13892002. 6:4 (2005) 309–328.
15. KOPEINA, Gelina S.; SENICHKIN, Vyacheslav V.; ZHIVOTOVSKY, Boris - Caloric restriction - A promising anti-cancer approach: From molecular mechanisms to clinical trials. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**. . ISSN 0304419X. 1867:1 (2017) 29–41.
16. LEE, Chaghan *et al.* - Reduced levels of IGF-I mediate differential protection of normal and cancer cells in response to fasting and improve chemotherapeutic index. **Cancer Research**. . ISSN 00085472. 70:4 (2010) 1564–1572.
17. LÓPEZ-LLUCH, Guillermo; NAVAS, Plácido - Calorie restriction as an intervention in ageing. **The Journal of Physiology**. . ISSN 00223751. 594:8 (2015) 2043–2060.
18. MARQUES, Marisa Ferreira *et al.* - Caloric restriction stimulates autophagy in rat cortical neurons through neuropeptide Y and ghrelin receptors activation. 8:7 (2016) 70–84.
19. MILLER, Karl N. *et al.* - Aging and caloric restriction impact adipose tissue, adiponectin, and circulating lipids. December 2016 (2017) 1–11.
20. MOST, Jasper *et al.* - Calorie restriction in humans: An update. **Ageing Research Reviews**. . ISSN 18729649. 2016).
21. NTSAPI, C.; LOOS, B. - Caloric restriction and the precision-control of autophagy: A strategy for delaying neurodegenerative disease progression. **Experimental Gerontology**. . ISSN 18736815. 83:2016) 97–111.
22. PIETROCOLA, Federico *et al.* - Caloric Restriction Mimetics Enhance Anticancer Immunosurveillance. **Cancer Cell**. . ISSN 18783686. 30:1 (2016) 147–160.
23. ROTH, George S.; INGRAM, Donald K. - Manipulation of health span and function by dietary caloric restriction mimetics. **Annals of the New York Academy of Sciences**. . ISSN 17496632. 1363:1 (2016) 5–10.
24. SAFDIE, Fernando M. *et al.* - Fasting and cancer treatment in humans: A case series report. **Ageing**. . ISSN 19454589. 1:12 (2009) 988–1007.
25. SCH, Ruth *et al.* - The effects of intermittent calorie restriction on metabolic health: Rationale and study design of the HELENA Trial. **Contemporary Clinical Trials**. . ISSN 1551-7144. 2016).
26. SCOTT, E. *et al.* - Effects of an exercise and hypocaloric healthy eating program on

- biomarkers associated with long-term prognosis after early-stage breast cancer: A randomized controlled trial. **Cancer Causes and Control**. . ISSN 09575243. 24:1 (2013) 181–191.
27. VEECH, Richard L. *et al.* - Ketone bodies mimic the life span extending properties of caloric restriction. **IUBMB Life**. . ISSN 15216551. 69:5 (2017) 305–314.
28. VIDALI, Silvia *et al.* - Mitochondria: The ketogenic diet - A metabolism-based therapy. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**. . ISSN 18785875. 63:2015) 55–59.
29. WEGNER, Emanuelli; SIMONI, Dionara; VOLKWEIS, Hermes - RESTRIÇÃO CALÓRICA X LONGEVIDADE: BASES CIENTÍFICAS PARA UMA VIDA LONGA E SAUDÁVEL Caloric Restriction X Longevity: Scientific Basis for a Long and Healthy Life. 2016) 113–125.
30. XU, Xiao-Meng *et al.* - Beneficial Effects of Caloric Restriction on Chronic Kidney Disease in Rodent Models: A Meta-Analysis and Systematic Review. **PloS one**. . ISSN 1932-6203. 10:12 (2015) e0144442.