

EM BUSCA DA HOMEOSTASE BIOENERGÉTICA: OBESIDADE OU LONGEVIDADE?

Artigo de Revisão

Celio Mendes de Almeida Filho

Farmacêutico-Bioquímico

Professor de Pós Graduação na Universidade Veiga de Almeida

RESUMO: sobrepeso e obesidade ocorrem alarmantemente em consequência das mudanças nos hábitos alimentares e *modus vivendi* da sociedade moderna, em crescente sedentarismo. Nos EUA estima-se que 65% da população estão acima do peso, revelando um avanço assustador quando comparados aos valores das pesquisas na década de 1980. No Brasil o *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)* e o *Ministério da Saúde* revelaram em pesquisa de 2002/2003 que 40,6% da população com ≥ 20 anos apresentam excesso de peso – 10,5 milhões estão obesos. Segundo o *IBGE*, o sobrepeso em homens pulou de 18,6% para 41% em apenas três décadas, enquanto a obesidade nesta população avançou de 2,8% para 8,8% no mesmo período. Após conclusões inequívocas sobre os malefícios da dieta contendo ácidos graxos trans-esterificados (TFAs), foram necessários muitos anos para que os governos determinassem a sua substituição. Mesmo assim, não estão claros os seus sucedâneos, a sua segurança e seu comportamento metabólico no homem.

A adaptação geneticamente estabelecida durante a evolução coloca em primeiro lugar para utilização como fonte bioenergética os carboidratos, do plasma e do glicogênio hepático. As reservas de açúcar no organismo são limitadas e rapidamente consumidas no jejum. Segundo os estudos com atletas, no esforço agudo as reservas de glicogênio podem ser consumidas em 30 minutos ou menos. A reserva de L-glutamina no plasma é a segunda fonte de substrato bioenergético, já que este aminoácido pode ser convertido em L-alanina e piruvato, com acesso imediato ao ciclo de *Krebs*. Somente quando as reservas de L-glutamina caem são disparados os mecanismos da lipólise nos adipócitos e a β -oxidação dos ácidos graxos, na mitocôndria. Esta é a razão pela qual exercícios de curta duração não contribuem para reduzir o acúmulo de gordura branca (*WAT = white adipose tissue*).

Restrição Calórica (CR) é o único meio cientificamente comprovado que aumenta a longevidade em mamíferos e humanos, além de reduzir o ganho de peso. Desde a primeira observação, o relato de *McCay & cols.* em ratos, estudos realizados quatro décadas após comprovaram a extensão da vida em animais submetidos à CR. É de se ressaltar o estudo realizado por *Miyagi* no Japão (*Okinawa*), que forneceu subsídios importantes para corroborar em humanos as descobertas sobre restrição calórica e longevidade em animais.

Outra intervenção nutricional que vem ganhando espaço nas pesquisas é a restrição à metionina (MR). Alguns estudos realizados nos portadores de homocistinúria homozigótica acabaram por indicar alterações importantes no catabolismo dos lipídios pela MR. Os resultados obtidos nos estudos com MR em animais são, mais do que encorajadores, surpreendentes, com aumento na taxa de oxidação dos ácidos graxos.

Proteínas, fatores de crescimento, hormônios e peptídeos estão envolvidos no balanço energético e ganho de peso, controlando o binômio **LIPOGÊNESE x LIPÓLISE**. Adenosina Mono Fosfato-Ativado Proteína Quinase [AMPK] é uma enzima que funciona como *sensor* dos níveis de energia no organismo. AMPK controla a função de outra enzima que regula a liberação dos ácidos graxos dos adipócitos: sirtuína-1 (SIRT-1). Esta regulação ocorre através do aumento da disponibilidade

de NAD⁺ na célula.

Até o momento foram identificadas sete sirtuínas. É importante ressaltar que todas elas foram associadas, de alguma forma, com a regulação do metabolismo energético. A mais estudada – SIRT1 – é apontada como principal efetora na restrição calórica (CR), com redução de peso, regulação dos níveis de triglicerídeos, redução do estresse oxidativo celular e aumento da longevidade em animais.

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) representam uma família de receptores nucleares intimamente ligados à lipólise no fígado e no músculo esquelético (PPAR- α) e à adipogênese (PPAR- γ). SIRT1 promove ativação dos PPAR- α , resultando em redução dos níveis de lipídios circulantes. Recentemente constatou-se que a lipidemia pós-prandial é mais importante na detecção das doenças cardiovasculares. Diversas pesquisas mostraram que a ativação dos PPAR- α contribui para a redução da lipidemia pós-prandial.

Em face das inúmeras descobertas sobre os efeitos benéficos da CR ativados pelas sirtuínas, especialmente SIRT1, é natural o grande interesse despertado e a busca de moléculas naturais indutoras dessa família de enzimas. Tais produtos têm sido chamados “mimetizadores” das sirtuínas, ou simuladores dos efeitos das sirtuínas. Dentre os estudados até agora, os fitocompostos *resveratrol* e *kaempferol* são os que apresentaram maior eficiência em animais. Entretanto, moléculas sintéticas que se candidatam a novas drogas já estão sendo desenvolvidas, com potência infinitamente maior (SRT501, SRT1702).

O acúmulo de gordura favorece o estado pró-inflamatório e pró-oxidante – nos adipócitos foi descrito sistema similar ao dos macrófagos e células “T” para a produção de citocinas. Também tem sido verificado que o aumento das citocinas nos adipócitos leva à infiltração celular no tecido adiposo por células do sistema imune, mormente macrófagos. Esta infiltração não só contribui para aumentar mais e mais o nível das citocinas, como também aumenta a massa gordurosa branca (WAT).

Por fim, é preciso atentar que variações na expressão genética humana podem mudar o comportamento metabólico individual e romper a homeostase bioenergética. Diversos polimorfismos que prejudicam o catabolismo lipídico foram identificados, os principais atingindo os genes controladores de PPAR- γ , TNF- α (*tumour necrosis factor-alpha*), IL-6 (*interleucina-6*), Apolipo A1 (*apolipoproteína A1*) e a família de enzimas antioxidantes *glutathione peroxidase* (GPx). É importante perceber, entretanto, que uma nutrição adequada, incorporando os nutracêuticos que favorecem a expressão da homeostase bioenergética – a nutrigenética – pode ajudar na redução da obesidade. Por outro lado, uma restrição calórica ajustada individualmente e a adoção de atividade física, são necessárias a esse processo. Seleção alimentar, especialmente visando regular a carga de metionina na dieta, parece ser outra perspectiva interessante para a melhoria da taxa de oxidação dos lipídios no organismo. Nutracêuticos de pesquisas mais recentes, assim como drogas que deles possam se originar, virão auxiliar nas modificações metabólicas que favorecem o combate à obesidade. Porém, segundo percebemos, não será possível romper esse

ciclo vicioso sem a educação ostensiva cultivando novos hábitos alimentares saudáveis, informando sobre a imperiosa necessidade de manter atividade física e alertando sobre o consumo alcoólico excessivo. Assim, é preciso escolher conscientemente o caminho a seguir: obesidade, ou longevidade.

Abstract: *overweight and obesity occurs in a alarming way owing to changes in eating habits and “modus vivendi” in modern society, with the sedentary life. In USA it is lovable that 65% of the population are over the weight, revealing a scary augmentation when compared with values of researches in 1980’s decade. In Brazil the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) and Ministry of Health reported a research that carried out statistical data from years 2002/2003 in wich 40.6% of the population ≥ 20 years old were at overweight – 10.5 million were obese. Statistical data from IBGE showed that overweight in male raised from 18.6% to 41%, only in three decades, while obesity raised from 2.8% to 8.8% in the same period.*

Even after unmistakable conclusions about the health hazards of trans fatty acids (TFAs) in human diet, many years were spent until governments decided to command its substitution in food - and is not clear if the substitutes of TFAs are appropriate to lipidic metabolism in man.

The genetic adaptation settled during evolution puts at first place carbohydrates as primary energetic source, from plasma and hepatic glycogen. The amount of glucose in the body are limited e fastly spent under fasting. According to researches with athletes, the glycogen reserve in liver would waste way in 30 minutes or less, under wearing exercise. The L-glutamine stock in plasma is the second fuel source to bioenergetics, since it can be converted to L-alanine and pyruvate, with direct access to Kreb’s cycle. Only when L-glutamine are grieved, lipolysis in adipocytes and fatty acid oxidation mechanisms in mitochondria can be triggered. This is the reason why short term exercise does not change white adipose tissue (WAT).

Caloric restriction (CR) is the only procedure scientifically proven that augments longevity and decreases body weight in mammals. First observation was made by McCay, in rats - four decades after him studies confirmed that CR extends life spam in animals. We need to emphasize one study by Miyagi, in Japan (Okinawa), the first one that brought important subsidy to corroborate in humans the animal data about longevity from CR protocols.

Another nutritional intervention that comes to get more attention is the methionine restriction (MR). Some studies about special nutrition applied to homozigotic homocystinuric patients with MR show, at last, significant changes – stimulation – in fat oxidation, a curious finding to investigate.

Proteins, growth factors, hormones and peptides are involved in energy homeostasis, all controlling lipogenesis “versus” lipolysis. Adenosine Mono Phosphate-Activated Protein Kynase (AMPK) is an enzyme the works as a sensor of the energy reserves organism. AMPK regulates sirtuin-1 (SIRT-1), a deacetylase enzyme of sirtuin family, which controls the release of fatty acids from adipocytes. This regulation occurs through self-analysis of the NAD⁺ availability in the cytoplasm.

Until now there were been discovered seven sirtuins, all of them linked with energy homeostasis. The most studied is SIRT-1, known as the principal effector of the CR results, including loss of weight, regulation of triglycerides (TG) levels in plasma, reduction of cell oxidative stress and expansion of the life span in animals.

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) are a family of nuclear receptors closely related to lipolysis in liver and skeletal muscle (PPAR- α) and with the adipocyte differentiation (PPAR- γ). SIRT-1 promotes activation of PPAR- α , resulting in lower levels of circulating lipids. Recently was attested that the post-prandial lipidemia is more important to the early detection of cardiovascular diseases (CVD) and PPAR- α shows a reduction in post-prandial lipidemia.

Concerning to several findings and beneficial effects from CR, it seems occur by the sirtuins activation, especially SIRT-1, and it could be expected a raising interest on research with molecules named "mimetics of sirtuins", inductors of their activity. Between the most studied until now, the natural phytochemicals resveratrol and kaempferol are the most effective in animals and humans. However, synthetic molecules are in perspective of new drugs and have been already developed, with higher potency (SRT501, SRT1702).

The accumulation of fat facilitates pro-inflammatory and pro-oxidant states. In adipocytes has been described a similar system that produces inflammatory factors – like cytokines – that we found in macrophages and T cells. It was confirmed that elevated cytokine levels in adipocytes led to cellular infiltration of immune cells on adipose tissue, especially in WAT. This infiltration not only contributes to raise more and more cytokines, but also to augment the tissue volume in WAT.

Finally, we need attempt that variations on genetic expression in humans can change the individual metabolism and disrupt bioenergetics homeostasis. Several polymorphisms that cause damage to lipidic catabolism were described, the most important are changes in genes that controls PPAR- γ , tumour necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin 6 (IL-6), apolipoprotein A1 (ApoA1) and the family of antioxidant enzymes glutathione peroxidases (GPx).

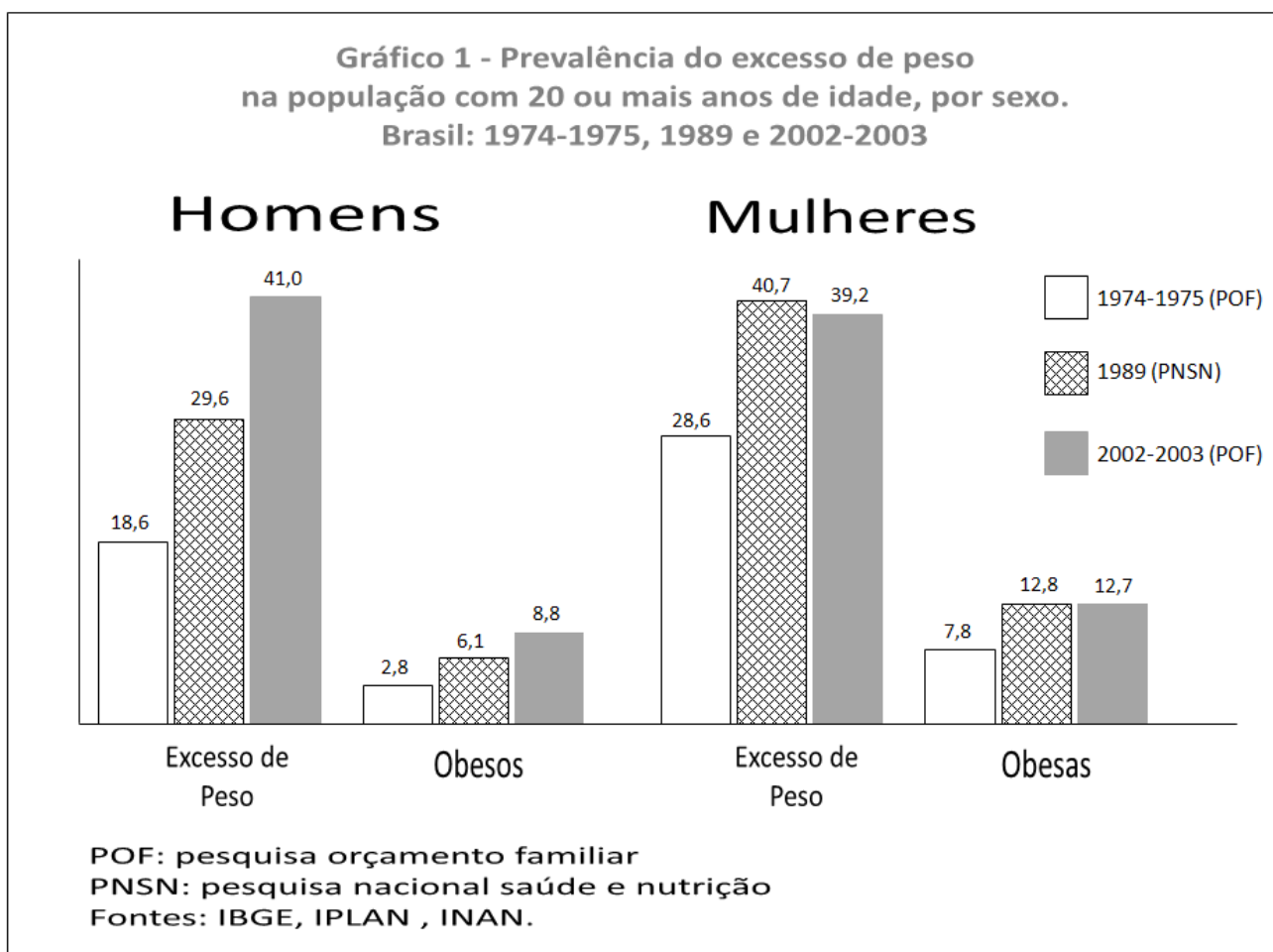
It is important to realize that good nutrition, adopting nutraceuticals that induces the genetic expression of bioenergetics homeostasis – the nutrigenetic – could help firmly to counteracts the spreading of obesity in humans. On the other hand, CR adjusted to each one and adoption of individual exercise programs are essential actions in this goal. Food selection, like methionine restriction, seems, also, an interesting perspective to optimize the fatty acids oxidation in our metabolism. Nutraceuticals from recent researches, as well drugs that have been developed from them, will come to help us to reach the changes in metabolism against obesity.

However, as we realize, it will not possible to disrupt this vicious cycle of obesity without ostensible education dictating new healthy eating habits, speaking about the imperative need of physical activity and warning of excessive alcohol consumption. So, we need consciously to choose the way to go: obesity or longevity.

Introdução:

É pertinente considerar que o avassalador aumento dos índices de sobrepeso e obesidade nas populações, tanto em países desenvolvidos como nos em desenvolvimento, tem origem nas alterações dos hábitos de vida da sociedade moderna, bem como nos avanços tecnológicos ocorridos nos últimos dois séculos. Somente nos EUA estima-se que 65% da população estão acima do peso, revelando um avanço assustador quando comparados aos valores das pesquisas na década de 1980 [1]. No Brasil o *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)* e o *Ministério da Saúde* revelaram em pesquisa de 2002/2003 que **40,6%** da população com ≥ 20 anos apresentavam excesso de peso – **10,5 milhões estão obesos** [2]. No gráfico 1 que resume a tabulação dos dados estatísticos vemos o sobrepeso masculino saltar de **18,6%** para **41%** em apenas três décadas, enquanto a obesidade nesta população avançou de **2,8%** para **8,8%** no mesmo período.

É óbvio que o abuso no consumo de carboidratos refinados (amido, açúcar) e gorduras (naturais ou sintéticas) está, irrefutavelmente, implicado nesta pandemia de sobrepeso, associado à diminuição de atividade física. Este binômio – **aumento de ingestão calórica e menor atividade física** – rompe a homeostase bioenergética.

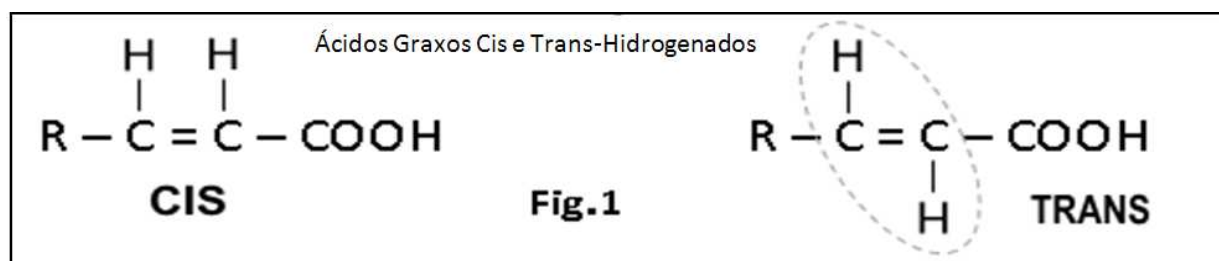


O consumo de açúcar refinado começou a se popularizar no século XIX. Após a implementação dos grandes engenhos no século XVIII o produto se destinava, quase totalmente, à exportação –

seu preço ainda era inacessível à população em geral. Com os avanços nos métodos de refinamento e na cultura da cana-de-açúcar, no século XX, o produto teve seu custo desonerado e o seu consumo *per capita* aumentou continuamente – em 2002 o consumo de sacarose representava 13,7% das calorias totais, bem acima dos 10% recomendados [2]. Na década de 1930 o consumo médio de açúcar era de 15kg por habitante por ano. Já nos anos 1940, esse número aumentou para 22kg. Na década de 1950, o consumo foi para 30kg por pessoa, passando logo a seguir para 32kg nos anos 1960. Em 1970, a média era de 40kg e, em 1990, esse índice atingiu a vultosa marca de 50kg por habitante – dados recentes mostram que continua subindo. O Brasil tornou-se um dos maiores consumidores mundiais do produto *per capita*. Cada brasileiro consome entre 51 e 55kg de açúcar por ano, enquanto a média mundial está em torno de 21kg, segundo dados da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária).

Com relação ao aumento da ingestão de gorduras, a três principais causas podem ser: 1) Industrialização da pecuária, com maior disponibilidade de gordura animal para consumo; 2) O sucesso da agroindústria oferecendo óleos vegetais em larga escala; 3) A obtenção de gorduras processadas e estabilizadas, como as chamadas gorduras trans-esterificadas (TFAs).

Não bastasse a crescente oferta de gordura animal *in natura*, o processamento químico através da hidrogenação catalítica ofertou, durante décadas, aportes elevados de gordura *trans*, cujo metabolismo é similarmente aterogênico como o das gorduras saturadas, mas com um agravante: as ligações *trans-esterificadas* criam uma estrutura tridimensional (Fig.1) de difícil acesso para as enzimas da beta-oxidação.



É impressionante lembrar que, mesmo após conclusões inequívocas sobre os malefícios da dieta contendo TFA [3], foram necessários mais de 10 anos para que os governos determinassem a sua substituição. Mesmo assim, não estão claros os seus sucedâneos, bem como sua segurança e comportamento metabólico no homem.

Todas essas drásticas alterações nos hábitos alimentares são muito recentes no ciclo evolutivo da espécie humana, mas parecem já estar contribuindo para adaptações biológicas, nem sempre favoráveis – haja vista os polimorfismos detectados em enzimas e proteínas ligadas ao catabolismo das gorduras que são prejudiciais à saúde [210-225].

A adaptação genética estabelecida durante a evolução humana coloca em primeiro plano a utilização dos carboidratos como fonte bioenergética (glicose e glicogênio) - as reservas de açúcar no organismo são limitadas e rapidamente consumidas quando não ocorre reposição.

Estudos com atletas mostraram que as reservas de glicogênio muscular podem ser drasticamente reduzidas entre 30 e 50 minutos na elevada exigência do esforço ($VO_{2max} = 67,5 + 5,5\text{ml/min}$), sob temperatura ambiental de 30°C. O sistema de recuperação da glicose – *gluconeogênese* – visa prioritariamente manter níveis adequados de glicose *no cérebro*, já que este órgão depende *exclusivamente* do açúcar como fonte de energia. No esforço prolongado as reservas de carboidratos não são suficientes para a conclusão da performance, assim, uma segunda fonte bioenergética de rápida oferta é estrategicamente reservada: o aminoácido *L-glutamina*.

A reserva de L-glutamina exerce, neste aspecto, um papel da maior relevância. Trata-se do aminoácido livre mais abundante no plasma, com facilidade para conversão em L-alanina e piruvato, cujo acesso é garantido ao ciclo de *Krebs*. Subseqüentemente, na cadeia respiratória mitocondrial, ocorre a gênese de até 36 moléculas de ATP (Adenosina Tri-Fosfato) por cada molécula de piruvato introduzida. A bioenergética aeróbica é, indiscutivelmente, a mais eficiente.

Somente após a diminuição dos níveis de L-glutamina no plasma é que começa a ser utilizado o estoque de gordura para produção de ATP. Porém, a reserva de L-glutamina é vital por ser a principal fonte de energia para os fagócitos. Vários estudos mostraram que os linfócitos, por exemplo, não exibem atividade da enzima *glutamina sintetase*, ficando completamente dependentes da L-glutamina disponível no plasma [4-6]. Assim, quando os níveis de L-glutamina no plasma começam a decair, em função do esforço (Tab.1), finalmente são acionados os estoques de gordura para suprir a demanda de ATP.

Peso Corporal	GASTO ENERGÉTICO CAMINHADA/CORRIDA Tab.1				
	4km/hora	8km/hora	10km/hora	12km/hora	16km/hora
50 kg	200 kcal	400kcal	500 kcal	600 kcal	800 kcal
58 kg	232 kcal	464 kcal	580 kcal	696 kcal	928 kcal
70 kg	280 kcal	560 kcal	700 kcal	840 kcal	1.120 kcal
78 kg	312 kcal	624 kcal	780 kcal	936 kcal	1.248 kcal
86 kg	344 kcal	688 kcal	860 kcal	1.032 kcal	1.376 kcal

O processo que compreende a transformação dos lipídios em energia é muito complexo, finalizado pela β -oxidação dos ácidos graxos, na mitocôndria. As pesquisas evidenciam, cada vez mais, uma profusão de fatores envolvidos e interligados nos passos do catabolismo lipídico, como veremos adiante. Desde o desalojamento da gordura estocada (lípases que libertam os ácidos graxos dos triglicerídeos), o transporte dos ácidos graxos (*fatty acid binding proteins = FABPs*), a admissão dos ácidos graxos do citoplasma para as mitocôndrias (sistema acetil-carnitina) e, finalmente, a clivagem oxidativa (β -oxidação) com sua coorte enzimática (Δ -dessaturases, acil desidrogenases, enoil hidrolases, hidroxiaçil desidrogenases), são inúmeros os fatores envolvidos.

Recentemente foi descoberto um novo sistema de transporte dos ácidos graxos que parece permitir a realização da β -oxidação nos *peroxissomos*, que seria comandado por ALDP (adrenoleukodystrophy protein) [7].

Os peroxissomos são pequenas organelas que se formam no citoplasma, especialmente nos hepatócitos, que foram inicialmente vinculados ao acúmulo de gordura não metabolizada. Os peroxissomos contêm enzimas oxidases ou oxigenases, fazendo supor que, de alguma forma, efetuam oxidação dos lipídios, porém de forma diferente da clivagem oxidativa ocorrida no sistema da β -oxidação, que é controlado para evitar acúmulo de peróxidos lipídicos. A ação direta de oxidases sobre a cadeia carbônica dos ácidos graxos, especialmente nos sítios das duplas ligações, pode ser extremamente danosa por resultar em compostos tóxicos, com estruturas deturpadas, como é o caso dos epóxidos carcinogênicos, entre eles a *aflatoxina*. A proliferação descontrolada de peroxissomos foi associada ao câncer hepático em animais por *Hodgson & Levi* [234]. Os autores relatam que compostos indutores da proliferação de peroxissomos – *clofibrate* – foram capazes de provocar câncer em roedores, sugerindo que a peroxidação lipídica pode produzir substâncias perigosas para o organismo. Já são conhecidos diversos grupos de produtos derivados da peroxidação lipídica que são tóxicos, como os isofuranos, isoprostanos, isoketals, lipofuscina, entre outros.

Não é difícil entender, considerando os inúmeros e meticulosos passos para o catabolismo dos lipídios, que sua ativação somente ocorra em condições de consumo das fontes prioritárias da bioenergética: carboidratos e L-glutamina. Um ácido graxo com 18 carbonos é passível de sofrer 9 reações de desacetilação para produzir 9 unidades de acetil coenzima A, cada uma capaz de gerar até 36 moléculas de ATP – um total de 324 moléculas de ATP. Trata-se de um sistema de reserva energética muito eficiente, porém não adequada à demanda imediata de energia livre, mas sim para suprir eventuais períodos sem alimentação.

As recentes modificações no *modus vivendi* – mais acesso aos alimentos e menos atividade física – podem provocar adaptações biológicas, porém em longo prazo. Algumas delas já estão ocorrendo, como os polimorfismos genéticos que serão descritos posteriormente.

Enzimas desacetilases, as sirtuínas, emergiram com grande importância no estudo da homeostase bioenergética. Neste sistema também foram identificados polimorfismos que acarretam diminuição da acetilação de histonas (H3K56) por CBP p-300, nesse caso com conseqüências prejudiciais à lipólise nos adipócitos.

Adaptações que trariam imensas modificações na homeostase bioenergética e no acúmulo de gordura, agora no terreno das hipóteses, seriam modificações no sistema de β -oxidação, com aceleração do processo de redução carbônica dos ácidos graxos através da clivagem das cadeias em estruturas tetra-carbônicas, por hipótese, ofertando succinilCoA ao ciclo de *Krebs*. Porém modificações de tal envergadura, embora exequíveis diante de exigências biológicas, levam milhões de anos para se consolidarem, o que tem levado a ciência a uma busca incansável de soluções terapêuticas que possam diminuir o desequilíbrio entre *ganho* e *dispêndio* calórico.

Esta revisão tem por objetivo reunir as informações mais relevantes que trouxeram novos quesitos para discussão sobre as alterações na homeostase bioenergética e a pandemia de obesidade.

Restrição Calórica (CR) é o único meio cientificamente comprovado que aumenta a longevidade em mamíferos e reduz o ganho de peso. A primeira observação a respeito data de 1935, com o relato de *McCay & cols* em ratos [20]. Estudos realizados quatro décadas após comprovaram o aumento da longevidade nos animais submetidos à CR e foram publicados em 1974 e 1976 [21-22] – A partir daí o interesse por esse tema estimulou considerável volume de pesquisas [23-56; 60-61]. Os dados com humanos também apontam evidências nesta direção [41, 42, 46, 51,55]. É de se ressaltar o estudo de *Miyagi & cols* [228], no Japão (*Okinawa*), que forneceu subsídios importantes para corroborar em humanos as descobertas sobre restrição calórica e longevidade em animais.

A CR é tipicamente a redução do consumo de alimentos (20-40%), enquanto se mantém nutrição qualitativa adequada [60]. CR reduz a incidência de diversas doenças [13; 61]: auto-imunes, aterosclerose, câncer, diabetes, doenças renais e doenças neurodegenerativas. Admite-se que dietas com 1.500 Kcal/dia para indivíduos com peso em torno de 70 kg sejam hipocalóricas – ajustes proporcionais considerando peso e área corporal, além da carga de esforço individual, deverão ser feitos.

Uma alternativa de CR é o jejum em dias alternados (ADF), que consiste na ingestão de alimentos *ad libitum* em um dia e no outro redução ao limite do jejum (menos de 500 kcal + água). Interessante foi observar que ADF não contribuiu para redução de peso [62] diferentemente da CR. Entretanto, o aumento de longevidade com ADF pode se assemelhar ao da CR, especialmente pela observação de redução na incidência de diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares [63]. CR associada com exercício (E) é um programa que tem sido avaliado detalhadamente. Os resultados até agora são variados, havendo estudos que demonstraram efeitos benéficos somatórios de CR + E [64-67], enquanto outros não evidenciaram alterações significativas entre CR somente e CR + E [68-70].

A CR deve obedecer a aspectos fundamentais, quais sejam:

- O balanceamento da dieta constituído pelas proporções adequadas de macronutrientes,
- A manutenção de níveis adequados dos micronutrientes essenciais, incluindo vitaminas e minerais, (Portaria 33/1998 – SVS/MS).

Nutrientes	Tab. 2
Proteínas	10-15%
Lipídios	20-25%
Carboidratos	65-70%

Mecanismos Fisiológicos pela Aplicação da CR: (29,57-59)

- i. Aumento da expressão dos genes ativadores da lipólise (PPAR α / sirtuínas), permitindo a reciclagem da gordura contida nos adipócitos.

- ii. Aumento da expressão PPAR γ que mantém funções dos adipócitos (produção de *adiponectina*) e estimula diferenciação celular para melhor distribuição da gordura. Adipócitos com sobrecarga de gordura são mais propensos às reações inflamatórias mediadas por hidroperóxidos e isoprostanos.
- iii. Aumento na expressão da enzima *carnitina palmitoil transferase 1-A* [CPT1_A], implementando a capacidade de transporte dos ácidos graxos para a mitocôndria, onde ocorre a β -oxidação.
- iv. Bloqueio dos receptores que sinalizam lipogênese e adipogênese (ADD₁/SREBP, C/EBP α),
- v. Redução no índice de glicação protéica e estresse oxidativo celular.

Restrição na Dieta (DR) de nutrientes específicos ou grupos de nutrientes é um caminho que tem sido investigado, também. Pesquisas excepcionais relataram que a restrição de carboidratos e lipídios não contribuiu para a longevidade de animais [71-73], mas a grande maioria delas mostram o contrário (23-56; 60-61).

Muitos estudos evidenciaram que o excesso de gordura na dieta é fator para aumento da incidência de doenças cardiovasculares (*CVD = cardiovascular diseases*). Sendo esse grupo a maior causa de mortalidade mundial há várias décadas, é inquestionável que a restrição de lipídios exerça efeito preventivo das CVD e contribua para a longevidade.

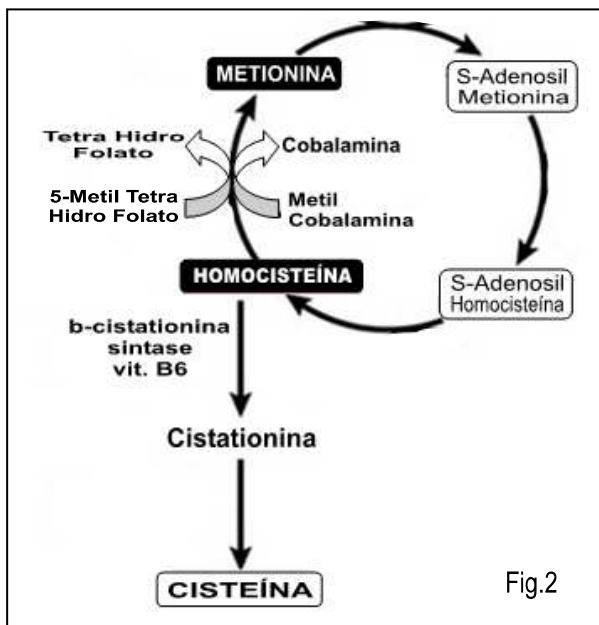
Por outro lado, há provas suficientes de que o abuso no consumo de carboidratos não complexados contribui para exaustão pancreática e subsequente aparecimento de diabetes tipo 2. Estudos recentes [128] mostram claramente que a restrição de glicose foi a única intervenção comprovada que reduziu a expressão de TXNIP (*thioredoxin interacting protein*) nos modelos *in vitro* e *in vivo*. O aumento da expressão de TXNIP reduz a proteção das tioredoxinas sobre células pancreáticas, levando a apoptose celular, insuficiência pancreática e diabetes tipo II.

Assim, é de se entender que, sendo os carboidratos e lipídios as fontes calóricas de maior influência no *quantum* de quilocalorias por dia, a **CR** deve, obrigatoriamente, considerar a adequação de novos limites para estes macronutrientes, preservando a ingestão de proteínas.

A restrição de carboidratos se faz especialmente aos produtos não integrais. Com relação às gorduras, devem ser evitadas as saturadas e trans-esterificadas, com preferência para ácidos graxos insaturados, especialmente os mono-insaturados que são menos afetados pela oxidação natural e os de cadeia carbônica média (12 carbonos, óleo de coco), estes que dispensam o sistema acil-carnitina para serem conduzidos à mitocôndria. Ácidos graxos essenciais, especialmente do tipo *ômega 3*, devem ser objeto de adequação nutricional devido à importância na prevenção de CVD.

Restrição de Metionina (MR):

Alguns estudos com portadores de homocistinúria homozigótica mostraram que a restrição de



metionina (**MR**) produz alterações importantes no catabolismo dos lipídios. Os resultados obtidos nos estudos com animais são, mais do que encorajadores, surpreendentes – ficou demonstrado que os índices de oxidação de ácidos graxos são implementados pela **MR**, assim como se verificou redução nos marcadores inflamatórios.

Metionina é um aminoácido essencial cujo catabolismo gera S-Adenosil Metionina [SAME], um importante agente metilante [fig.2]. Entre as principais reações do **SAME** estão metilação de histamina e adrenalina, com inativação, e também

metilação dos genes. O segundo mais importante subproduto da metionina é outro aminoácido, cisteína, precursor de um peptídeo essencial para a homeostase redox celular, L-glutationa. Há um aminoácido não protéico antioxidante que se origina da cisteína: taurina, que apresenta marcante agonismo ao GABA (ácido gama aminobutírico) nos receptores GABA(a). A suplementação com L-taurina pode aumentar as reservas do ácido tauroursodesoxicólico, um ácido biliar que estimula a drenagem de lipídios do fígado, além de ampliar os níveis de **ADIPONECTINA**. De fato, administração de L-taurina apresenta resultados terapêuticos no tratamento da esteatose e nas dislipidemias, como veremos adiante.

A suplementação com L-taurina pode aumentar as reservas do ácido tauroursodesoxicólico, um ácido biliar que estimula a drenagem de lipídios do fígado, além de ampliar os níveis de **ADIPONECTINA**. De fato, administração de L-taurina apresenta resultados terapêuticos no tratamento da esteatose e nas dislipidemias.

Voltando à formação de L-cisteína no catabolismo de L-metionina, ocorre um composto cuja toxicidade é comprovada nas pesquisas médicas: a **HOMOCISTEÍNA**, descoberta em 1952. Uma década depois, em 1962, foram descritos os primeiros casos de homocistinúria. Logo depois, **HOMOCISTEÍNA** foi detectada na urina de crianças com deficiência mental. A homocistinúria homozigótica é uma doença genética em decorrência da ausência da enzima *cistationina β-sintetase*. O pioneiro a relatar a toxicidade da homocisteína foi *McCully*, patologista americano, que descreveu lesões vasculares graves em jovens portadores de homocistinúria homozigótica, em 1969 [88]. Nestes pacientes a homocisteinemia é muito elevada, o que facilitou as conclusões de *McCully*. Décadas após, entretanto, outros pesquisadores viram-se diante de resultados inusitados em pacientes com *homocistinúria heterozigótica*, cujos níveis são menores do que os encontrados nos homozigóticos, porém mais elevados do que nos indivíduos normais. A determinação dos níveis referenciais aceitáveis de homocisteína plasmática tem sido motivo de intensa busca e não podemos dizer que já é um fato consolidado. *Neves e cols* [107] sugerem

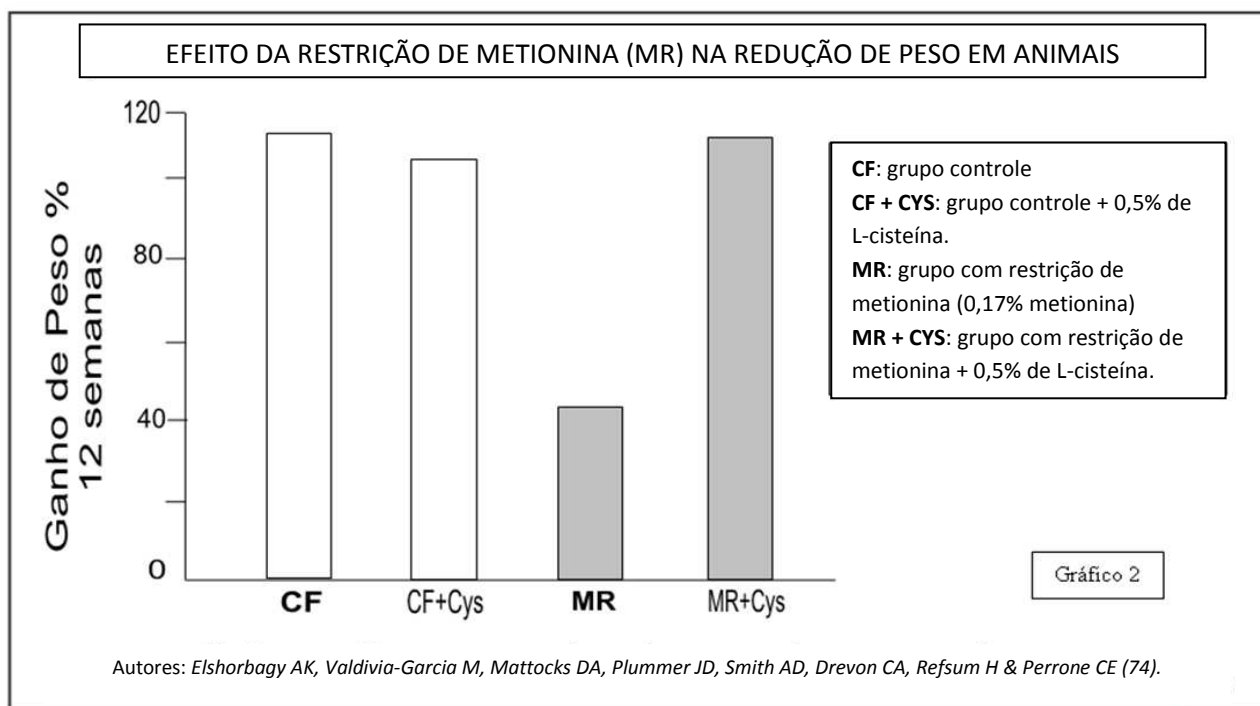
valores limítrofes poderados (Tab.3).

TABELA 3: Níveis Referenciais de Homocisteinemia		
HOMOCISTEÍNA Mmol/L	Homens	Mulheres
Aceitável	8 – 14	6 – 12
Moderada	>14 - 30	
Elevada	> 30 – 100	
Severa	>100	

As implicações de homocisteinemia moderada foram assinaladas com diversas condições patológicas: *angina pectoris*, *doença tromboembólica*, *acidentes vasculares cerebrais*, *doenças neurodegenerativas*, *doenças renais*, *estresse oxidativo celular* e *peroxidação lipídica*. Também estão disponíveis publicações relacionando aumento de homocisteína com *síndrome metabólica*, *obesidade* e *resistência à*

insulina [89-106], o que parece indicar que os efeitos benéficos da **MR** são decorrentes, ao menos *Elshorbagy & cols* avaliaram os resultados de **MR** sobre o perfil dos lipídios e ganho de peso em animais, com resultados expressivos. Utilizando ratos *Fischer* os autores aplicaram dietas com restrição de metionina limitada ao máximo de 0,17% na carga total de aminoácidos. Os resultados mostram redução drástica no ganho de peso (gráfico 2), que atingiu até 60% após as doze semanas da pesquisa [74].

No estudo em tela os autores verificaram que a **MR** foi capaz de reduzir triglicerídeos (TG), explicado pela inibição na atividade da enzima SCD1 (*stearil CoA desaturase*), catalisadora da síntese de ácidos graxos monoinsaturados que compõem os triglicerídeos. É importante observar que o índice de atividade de SCD1 se correlaciona com o IMC e com o percentual de gordura corporal [147].



Antes desta publicação, membros dessa mesma equipe já haviam demonstrado que **MR** poderia diminuir o ganho de peso em animais [75-76].

Plaisance & cols [77] realizaram, então, uma pesquisa de **MR** em humanos, para verificar se são reprodutíveis os resultados obtidos com animais – foram selecionados 26 voluntários com síndrome metabólica, acompanhados por 16 semanas. No estudo os cientistas aplicaram dieta especial isenta L-metionina utilizando **HOMINEX-2**®, contendo 0,9g de L-cistina por 100g de produto – vale ressaltar que a hidrólise de L-Cistina fornece duas moléculas de L-CISTEÍNA. Nos cálculos finais o grupo **sem MR** ingeriu 35mg/kg/peso de metionina, enquanto o grupo *com MR* 2mg/kg/peso, abaixo do requisito diário estabelecido 12,6 mg/kg/peso [78-80].

Vejam os resultados do grupo **MR** após 16 semanas:

Peso Corporal: inalterado; **Adiponectina:** aumento de 22,2%; **Taxa de Oxidação de Gorduras:** aumento de 76,5%; **Triglicerídeos** → diminuição de 9,1%.

O estudo mostra que, efetivamente, a taxa de oxidação das gorduras foi claramente implementada [76,5%] com a restrição de metionina (**MR**), coerente com a redução dos índices de triglicerídeos. Os resultados sobre a adiponectina também são expressivos, evidenciando um aumento de 22,2%. Isto contribui para diminuição da resistência à insulina – a concentração sérica de adiponectina está diretamente relacionada com a sensibilidade à insulina [81-84]. Quando injetada em animais *adiponectina* acelera a oxidação de ácidos graxos e diminui os níveis plasmáticos de glicose [81].

A redução observada nos teores de **TRIGLICERÍDEOS** [9,1%] é compatível com o aumento da taxa de oxidação dos ácidos graxos anotada.

O peso dos voluntários não mostrou alterações, diferentemente do que se observou nos estudos com animais de laboratório. A discussão sobre a validade de estudos animais quando se compara com humanos apresenta múltiplas opiniões. *Worp & cols*. [85] questionam porque apenas 1/3 dos estudos animais resultam em pesquisas clínicas bem sucedidas. É preciso observar, entretanto, que a grande maioria das drogas em uso terapêutico foram desenvolvidas a partir de modelos animais, ainda que os dados obtidos em humanos não tenham sido, inicialmente, significativos [86.]

A análise das possíveis causas para essa discrepância enfatiza falhas estatísticas e/ou metodológicas [84-86]. É importante considerar, porém, a *seleção* dos animais para teste – jovens, sem morbidades, geneticamente padronizados. São aspectos que não podem ser obtidos com voluntários humanos.

No caso da pesquisa com **MR**, é bem possível que futuros estudos, envolvendo número maior de voluntários, com maior tempo de duração, possam mostrar resultados semelhantes em humanos àqueles obtidos com animais, especialmente no que tange à perda de peso, pois os demais parâmetros sobre o catabolismo dos ácidos graxos foram confirmados.

Presença de metionina nos alimentos (Tab.4): em geral alimentos de origem animal são os mais ricos em metionina, incluindo carnes, peixes, e laticínios.

Tabela 4: TEOR DE METIONINA NOS ALIMENTOS [g/100g]							
ALIMENTO	TEOR	ALIMENTO	TEOR	ALIMENTO	TEOR	ALIMENTO	TEOR
Algas (spirulina)	1,15	Queijo Parmezon	1,11	Carne Bovina	0,98	Frango (peito)	0,97
Atum em Lata	0,86	Anchova	0,85	Carne de Porco	0,85	Queijo Mozzarella	0,85
Queijo Prato	0,82	Salmão	0,82	Peru	0,81	Salame	0,79
Tilápia	0,77	Sardinha	0,73	Bacalhau	0,67	Siri	0,67
Carne de Carneiro	0,65	Gelatina	0,61	Esturjão	0,61	Nozes	0,61
Queijo Brie	0,59	Camarão	0,59	Queijo de Cabra	0,57	Queijo Camembert	0,56
Presunto	0,48	Ovo Cozido	0,38	Polvo	0,34	Aveia integral	0,34
Feijão Preto	0,33	Feijão Branco	0,32	Amendoim	0,31	Queijo Ricota	0,28
Requeijão Light	0,25	Requeijão Comum	0,19	Biscoito Cracker	0,17	Yogourt	0,13
Tofu	0,11	Leite Semi	0,1	Leite Integral	0,08	Lentilha	0,08
Banana	0,07	Macarrão	0,07	Arroz	0,05	Côco	0,04
Leite de Côco	0,04	Abacate	0,04	Ervilha	0,04	Brócolis	0,03
Shitake	0,03	Batata Doce	0,02	Leite Humano	0,02	Cebolas	0,02
Passas	0,02	Carambola	0,02	Beterraba	0,02	Repolho	0,02
Cenoura	0,02	Tomate	0,01	Tomate	0,01	Chicória	0,01

Fatores que controlam armazenamento, distribuição e consumo de gorduras:

Proteínas (incluindo enzimas), fatores de crescimento e peptídeos são as inúmeras biomoléculas envolvidas no balanço energético e ganho de peso – **LIPOGÊNESE versus LIPÓLISE**. É um sistema que está se revelando cada vez mais complexo, com a introdução de novos atores e novos papéis: listamos os principais na tabela 5.

TABELA 5: PRINCIPAIS FATORES ENVOLVIDOS NA LIPÓLISE E NA ADIPOGÊNESE.				
SIRTUÍNAS	AMPK	FGF21	DsbA-L	H3K56
LKB1	PGC-1 α	PPARs	C/EBP α	Dio2
CBP p-300	ADD1	SREBP-1	UCP-2	VISFATINA
RESISTINA	ADIPSINA	LEPTINA	ADIPONECTINA	KLOTHO

O Sistema AMPK: Adenosina Mono Fosfato-Ativado Proteína Quinase [AMPK] é uma enzima que funciona como *sensor* dos níveis de energia. Quando aumentam os níveis de AMP (Adenosina Mono-Fosfato) na célula é uma indicação de que a disponibilidade de ATP diminuiu, por esgotamento do sistema de regeneração extra-mitocondrial (creatina-P) e do mitocondrial (nicotinamida adenina dinucleotídeo-fosfato, NADP). AMPK estimula a β -oxidação dos ácidos graxos, mas é controlada por outra enzima, *serina/treonina quinase-11* (STK₁₁ ou LKB₁), que é

sensível ao esforço e monitora as reservas energéticas (9). LKB₁ regula a gluconeogênese no fígado e parece estar envolvida com os benefícios de drogas como *metformina* e *tiazolidinedionas*, utilizadas no diabetes tipo II. A constatação de que a AMPK mantém o balanço energético através do acionamento de vias catabólicas dos lipídios e da biogênese de novas mitocôndrias torna essa enzima importante no estudo da obesidade. AMPK controla, ainda, a função de outra enzima que regula a liberação dos ácidos graxos nos adipócitos: **SIRT-1**. Esta regulação ocorre através do aumento da disponibilidade de NAD⁺ na célula.

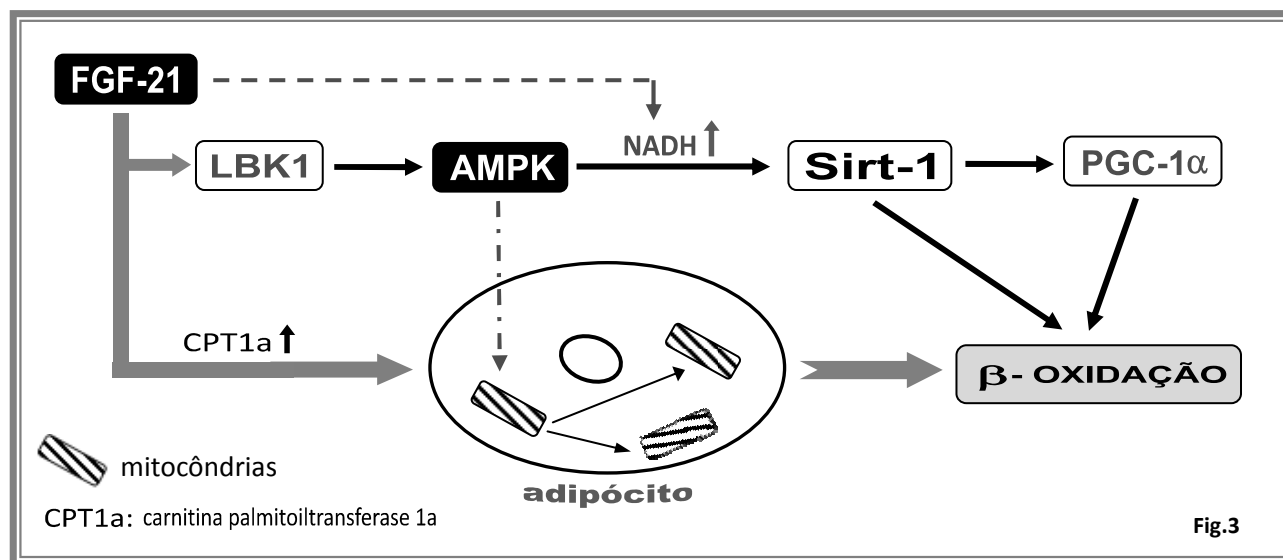


Fig. 3: o esquema mostra a ação do FGF-21 (fibroblast growth factor-21) em três fases, **a)** aumentando a disponibilidade do NADH e permitindo que AMPK ative sirt-1; **b)** liberando LKB₁ que libera AMPK e **c)** estimulando a enzima CPT1a, responsável pelo transporte dos ácidos graxos para o interior da mitocôndria.

O aumento do NADH estimula a liberação de H⁺ e aumenta a razão NAD/NADH, levando à estimulação de **SIRT-1**, um dos principais fatores que induzem lipólise, através do co-ativador do receptor gama proliferador ativado do peroxissomo (PGC-1α).

A importância da AMPK na obesidade tem levado pesquisadores ao aprofundamento em sua coorte bioquímica e fisiológica, surgindo evidências de que, além da LKB₁, o fator de crescimento dos fibroblastos (**FGF₂₁**) intervém modulando a atividade de AMPK (9).

FGF₂₁ aparece como um potente regulador metabólico em diversas espécies animais, de roedores a primatas. A administração sistêmica de FGF₂₁ a macacos *rhesus* com dieta hipercalórica indutora de obesidade mostrou marcantes efeitos, antiglicêmico e antilipidêmico, com enfoque nos **TG**. Como resultado final observou-se clara redução do peso dos animais. Uma das funções hoje atribuídas ao gene **KLOTHO** é a síntese de **β-KLOTHO**, uma proteína permeável à membrana celular requisitada para a função do FGF₂₁ (10-12). **β-KLOTHO** parece regular FGF₂₁ no fígado, pâncreas e tecido adiposo, sua ativação é marcante sob restrição calórica e no jejum. FGF₂₁ é necessário à β-oxidação dos lipídios no fígado, ao “clearance” de TG e à cetogênese. Em última análise, FGF₂₁ regula o gasto e disponibilidade de energia através da modulação da AMPK e SIRT-1 via LKB₁.

A Família das Sirtuínas:

São enzimas *desacetilases* que desempenham papel importante na regulação de outras enzimas e na ativação/desativação dos genes – até pouco tempo atrás não conhecíamos esse grupo especial de proteínas. Sua principal função é a *desacetilação* das histonas – tal procedimento ativa enzimas e genes na cromatina. Até o momento foram identificadas sete **SIRTUÍNAS**, sendo que três delas – sirt1, sirt6 e sirt7 – pertencem ao núcleo celular (13). As **SIRTUÍNAS** promovem desacetilação de várias moléculas importantes: histonas e fatores de transcrição. Também foi observada a interação de **SIRT1** com a DNA metiltransferase (DNMT1). É importante ressaltar que todas as sete **SIRTUÍNAS** foram associadas, de alguma forma, com a regulação do metabolismo energético. A mais estudada – **SIRT1** – é apontada como principal efetora da restrição calórica (CR): redução de peso, redução dos TG, redução do estresse oxidativo celular e aumento da longevidade em animais.

Principais Ações das Sirtuínas sobre Fatores da Obesidade:

- **H3K56:** é um membro da família das histonas cuja atividade é regulada por acetilação/desacetilação (8). Há clara indicação de que a hiper-acetilação de **H3K56** esteja diretamente relacionada com *obesidade* e que **SIRT6**, atuando em sua desacetilação, seja fundamental no controle da obesidade (14). **SIRT1** e **SIRT2** já haviam sido apontadas como enzimas desacetilases para **H3K56** (15), conseqüentemente **SIRT1**, **SIRT2** e **SIRT6** são fatores que participam da regulação metabólica nos adipócitos e permitem ou estimulam o uso dos lipídios estocados como fonte de energia.
- **PGC-1 α e PPARs:** PGC-1 α (*peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α*) regula a atividade dos PPAR γ (*peroxisome proliferator-activator receptor gamma*), o alvo das recentes drogas anti-diabéticas *tiazolidinedionas*. Não há dúvidas de que o principal sistema de ativação para os PGC-1 α é a **SIRT1** [9;15]. É interessante observar que, além da ação hipoglicemiante dos agonistas de PPAR γ , eles são estimuladores da diferenciação dos adipócitos através do gene AP2 [16-17]. Consoante às recentes descobertas, aspectos agravantes da obesidade são decorrentes de mecanismos inflamatórios [18-19]. Nestas pesquisas tem sido demonstrado que quanto maior o volume de gordura no adipócito maior a resposta inflamatória aos subprodutos peroxidados dos lipídios: HPETES, LTB4, PGA1/2, LDLox, isoprostanos, isofuranos. A diferenciação de *adipócitos* – ativada pelos PPAR γ – é um mecanismo de adaptação objetivando melhor distribuir a gordura nestas células, diminuindo, assim, o estímulo para inflamação. Veremos a relação da obesidade com inflamação mais detalhadamente.
Não obstante, mantendo-se as condições de ruptura da homeostase bioenergética, esse processo contribui para aumento da massa gordurosa branca (*WAT = white adipose tissue*). É importante lembrar que os mecanismos indutores da lipólise, incluindo miméticos das sirtuínas, fibratos, CR e exercício [153], todos eles ativam os PPARs.
- **PPAR- α :** Sirt1 promove ativação do **PGC-1 α** , induzindo ativação dos **PPAR- α** [127] e estimulando a lipólise no fígado e no músculo esquelético – dessa forma são reduzidos os

lipídios circulantes. Com a redução dos lipídios na circulação, especialmente TG, ocorre estimulação para a lipólise no tecido adiposo, de modo a manter a homeostase lipídica. Recentemente constatou-se que a lipidemia pós-prandial é importante na detecção das doenças cardiovasculares. Pesquisas mostram que a ativação dos PPAR- α contribui para a redução da lipidemia pós-prandial. *Kimura & cols* [151] descobriram que a ação do bezafibrato, potente agonista PPAR- α , baseia-se na indução de expressão do RNA-m das enzimas da β -oxidação: *acilCoenzima A oxidase*, *carnitina palmitoil transferases* e *acilCoenzima sintetase*.

- **Enzimas da β -Oxidação:** nas reações mitocondriais a participação de sirt1 é fundamental [108], mas a observação de que sirt3 e sirt5 estão localizadas na matriz mitocondrial [108-109] é bastante sugestiva. Há indícios de que sirt4 atue estimulando a oxidação dos ácidos graxos, de forma dependente ou sinérgica com sirt1, através da ativação de MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) [109-110].

Interações já confirmadas entre as sirtuínas e enzimas da β -oxidação:

- Acetil CoA sintetase-2 [AcCoAS2]: ativada por sirt3.
- Acil CoA desidrogenase [AcCoAD]: ativada por sirt3.
- ATP sintetase [ATPS]: possivelmente ativada *indiretamente* por sirt3, pela desacetilação sirt3 parece controlar as enzimas dos complexos mitocondriais, adaptando a função mitocondrial à maior oferta *acetil CoA* proveniente da β -oxidação de ácidos graxos.
- Considerando que **SIRT1**, indiretamente, regula a expressão das enzimas *acilCoenzima A oxidase*, *carnitina palmitoil transferase* e *acilCoenzima A sintetase* é possível afirmar que à família das sirtuínas cabe relevante papel no processo de utilização e catabolismo da gordura nos mamíferos e no homem.

Adaptação à CR em Nível Central: o papel de sirt1.

Quando o alimento é reduzido o metabolismo dos animais mostra fantásticos mecanismos de adaptação, que incluem alterações fisiológicas e bioquímicas, além de mudanças comportamentais [111]. Um dos mais notáveis ajustes é a redução de atividade física em resposta à fase inicial do jejum. Entretanto, os animais se tornam mais ativos com mais tempo de privação alimentar. A prostração inicial, para conservação de energia, é substituída por hiperatividade na busca incessante pelo alimento. Essas adaptações são traduzidas bioquimicamente pela **SIRT1**.

Satoh & cols [111] investigaram a adaptação dos animais à restrição alimentar e descobriram que durante a sua implantação a expressão de **SIRT1** aumenta, medida através da interação com anticorpos anti-**SIRT1**. Localização expressiva dos precipitados de **SIRT1** foi observada no hipotálamo – núcleo *dorsomedial* e *lateral* do hipotálamo, assim como *núcleo supraquiasmático*. Os núcleos *ventromedial*, *arqueado* e *para-ventricular* não reagiram.

Green & cols [112], anteriormente, haviam detectado atividade de **SIRT1** no núcleo *supraquiasmático*, região anterior do hipotálamo densamente povoada por células nervosas, envolvida com a glândula pineal e o ciclo circadiano.

O Efeito Grelina: um dos aspectos que merece atenção, por ser fator decisivo na adesão aos protocolos de **CR** em pacientes com hiperfagia e obesos, é a liberação de **GRELINA**, que ocorre após longo período sem alimentação. Trata-se de um peptídeo hormonal (28 aminoácidos) produzido na mucosa estomacal por células P/D1 e no pâncreas (células ϵ). É um potente hormônio que estimula a ingestão de alimentos descontroladamente, dificultando ou bloqueando a resposta aos tradutores da saciedade: serotonina, leptina e adiponectina. **GRELINA** diminui a seletividade e privilegia a quantidade. Em camundongos, a administração de **GRELINA** 15 minutos após os animais terem sido saciados incentivou-os a voltar a comer continuamente. Portanto, nos protocolos de **CR** e nas dietas de modo geral, devem ser contraindicados intervalos longos sem alimentação, evitando, assim, a liberação expressiva da **GRELINA**.

Mimetizadores das Sirtuínas:

Em face dos efeitos benéficos da CR causados pelas sirtuínas, especialmente **SIRT1**, é natural o grande interesse despertado na busca de substâncias indutoras dessas enzimas. Tais produtos têm sido chamados “mimetizadores” das sirtuínas, ou simuladores dos efeitos das sirtuínas. Dentre os estudados até agora, os fitocompostos *resveratrol* e *kaempferol* são os que apresentaram maior eficiência em animais. Entretanto, moléculas sintéticas derivadas do resveratrol são candidatas a novas drogas e já estão sendo desenvolvidas, com potência infinitamente maior, como veremos mais adiante.

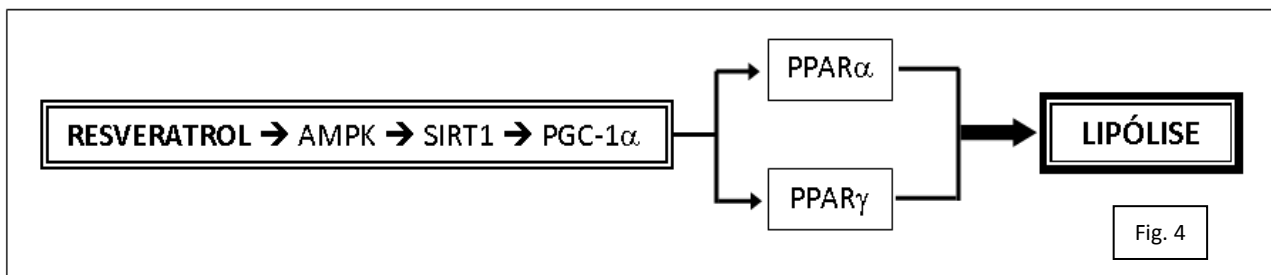
RESVERATROL: trata-se de um fitocomposto polifenólico dotado de ação antioxidante e antimicrobiana (antifúngico), encontrado em frutas, especialmente uvas e frutas vermelhas. As primeiras pesquisas com *resveratrol* mostraram ação anti-aterogênica, que levou centenas de pesquisadores às investigações sobre seu uso na prevenção das CVD. Após algumas pesquisas não tão conclusivas, *Ferrero & cols* [113] fizeram a primeira publicação da atividade antiagregante do *resveratrol* para monócitos e granulócitos junto ao endotélio vascular. Isto ocorreu em 1998, pouco depois divulgação do “French Paradox”, quando se relacionou pela primeira vez o consumo de *vinho tinto* com menor incidência de CHD (*coronary heart disease*). Entre as primeiras publicações está o artigo de *Richard* [114]. *Leiris, Boucher e Ducimetière* abordam detalhadamente os fatos em seu artigo “The French Paradox: Fact or Fiction?” [115] – o paradoxo se refere ao elevado consumo de gordura em populações francesas e a menor incidência de CHD, quando comparadas a outras populações européias.

Com mais de 600 artigos publicados e lançados na biblioteca PubMed, o *resveratrol* mostrou ações em outros campos da medicina – a maioria de artigos publicados a partir do ano de 2000 revelam a potente ação anti-cancerígena deste polifenólico.

Mais recentemente, porém, foi descoberto que o *resveratrol* pode mimetizar (simular) certas condições que surgem durante a **CR**, especialmente a expressão de **SIRT1**. De fato, a profusão de publicações [116-126] ligando *resveratrol* com aumento de **SIRT1** denota, claramente, caminhos para seu uso terapêutico na obesidade, ou para o desenvolvimento de novas drogas sintéticas

agonistas de **SIRT1** (SRT501 e SRT1720). No caso do *resveratrol*, modelos animais bem sucedidos na redução de peso usaram doses elevadas [116; 118; 129-131], que não podem ser diretamente extrapoladas para humanos (mg/kg). As doses efetivas do resveratrol em humanos, visando ações de estimulação das sirtuínas, ainda não foram determinadas.

Recentemente, *Timmers & cols* [125] elaboraram um protocolo com 11 voluntários obesos em regime duplo-cego, com 150mg/dia de *resveratrol* contra placebo, durante 30 dias. Foi confirmado que *resveratrol* ativou o sistema AMPK, aumentando sirt1 e PGC-1 α .



RESVERATROL elevou os níveis de ácidos graxos livres no músculo, mostrando claramente uma mudança na priorização dos substratos bioenergéticos. Os níveis hepáticos foram reduzidos, assim como TG, glicose e marcadores inflamatórios. Esses resultados sugerem que a realização de testes em longo prazo com voluntários humanos são necessários para confirmar o efeito clínico sobre a perda de peso com **RESVERATROL**, considerando que a estimativa de ingestão diária na dieta está entre 8 e 24mg/dia, dependendo do consumo de suas fontes vegetais (Tab. 6).

Tabela 6: Resveratrol nos Alimentos e Vegetais			
Espécie	mg/100g	Espécie	mg/100g
<i>P. cuspidatus</i>	32,00	Uvas Rosadas	0,78
Amendoim	0,17	Morangos	0,08

Alimentos ricos em resveratrol: além de fontes conhecidas como as uvas rosadas, outras frutas – *morangos* – mostram ser fontes de **RESVERATROL** na dieta [157]. Uma espécie vegetal chinesa, *Polygonum cuspidatus*, revelou-se a maior fonte conhecida de até o momento [158].

A presença de resveratrol no vinho tinto, entretanto, pode não ser tão significativa, devido à grande variação detectada – de 0,30 a 1,30mg/150ml. Além disso, a ingestão de álcool em excesso (acima de 30g/dia, segundo a Organização Mundial da Saúde – OMS), é nociva para a saúde humana. Considerando o teor de álcool médio nos vinhos tintos maduros, entre 12 e 14%, uma taça com 150ml pode conter 15g de álcool, donde concluímos que o consumo de duas taças com essa capacidade seria o limite diário. Nos vinhos com menor teor de resveratrol (0,3mg/150ml) isto nos daria uma dose de 0,6mg de resveratrol, muito aquém dos valores considerados benéficos em quaisquer de suas indicações: anti-aterogênico, anti-carcinogênico ou como estimulador das sirtuínas. Os vinhos de uvas não maduras (verdes), entretanto, têm se revelado como fonte melhor de resveratrol, devido a ser este o momento quando a uva contém os

maiores teores do composto, cuja principal atividade para a fruta é seu poder antifúngico. Além disso, os vinhos verdes contêm o menor teor alcoólico entre todos, variando de 8 a 10%.

Outros Polifenóis Mimetizadores das Sirtuínas:

- **KAEMPFEROL:** é um fitocomposto do grupo dos polifenóis, de baixo peso molecular, presente em diversos vegetais. É um potente antioxidante e influencia hormônios e enzimas, incluindo sirt1 e tiroxina (T3). *Kowalski & cols* [148] mostraram que *kaempferol* evita a oxidação da LDL e inibe a infiltração celular de monócitos na íntima,

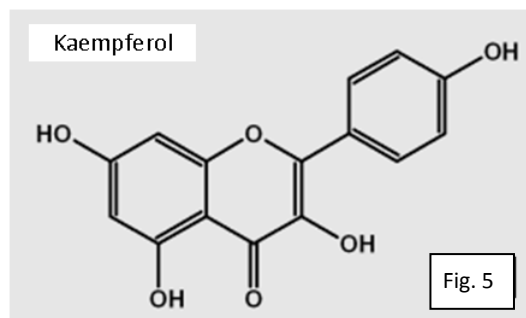


Tabela 7: Kaempferol nos Vegetais			
Alimento	mg/100g	Alimento	mg/100g
Alcaparras	135	Cebolinha	10
Couve	26	Brocolis	6
Agrião	13	Nabo	5

bloqueando a MCP-1 (*monocyte chemotact protein 1*). Esta proteína tem sido apontada como uma das principais causas da desorganização da íntima e do crescimento da placa aterosclerótica. *Kaempferol* e *quercetina* parecem atuar sinergicamente reduzindo a proliferação de células cancerígenas – o efeito da associação de ambos é maior do que a ação de cada um individualmente [149]. As pesquisas com *Kaempferol* mostram que este nutracêutico apresenta importantes ações pró-lipolíticas [141], dentre elas:

- Ativação das sirtuínas [estimula gene *Sirt2*].
- Aumento na síntese de T₃ [estimula gene *Dio2*, responsável pela síntese da enzima *deiodinase-2* (D2)]. Esta estimulação parece ser via aumento da liberação de c-AMP e maior expressão da enzima PKA.
- *Da Silva & cols* [42] demonstram que a indução de D₂ pelo *kaempferol* envolve, também, um mecanismo pós-transcricional, uma vez que a expressão do m-RNA para D₂ é bem menor do que o aumento provocado na atividade de D₂ em si. Os autores supõem que *kaempferol* aumenta a meia vida da molécula de D₂.

Outro aspecto interessante sobre o *kaempferol* é a constatação de que o composto exibe ação antiinflamatória, atuando na modulação das enzimas *ciclooxigenases* [150]. Isto significa dizer que ele contribui para diminuir subprodutos peroxidados, especialmente hidroperóxidos (5HETEs), que provocam aumento na resistência à insulina e obesidade [18-19].

- **Fisetina:** é um flavonol encontrado em muitas frutas [morangos] e vegetais. Está sendo considerada [49] uma potente substância ativadora da **SIRT1**. Já estão disponíveis estudos sobre fisetina, boa parte descrevendo seus efeitos anti-cancerígenos [132-136]. Entretanto as

pesquisas começam a mostrar os efeitos pró-sirtuínas da fisetina. Num desses estudos [137] ficou evidenciado que fisetina reverte alterações enzimáticas encontradas no diabetes (*hexoquinase, piruvato quinase, lactato desidrogenase, glucose-6-fosfatase, frutose-1,6-difosfatase, glucose-6-fosfato desidrogenase, glicogênio sintetase e glicogênio fosforilase*). Numa outra pesquisa [138], equipe de cientistas da Universidade de Maringá, no estado do Paraná, Brasil, evidenciou que **fisetina** pode inibir a *glicogenólise* no fígado de ratos. Inibição máxima de glicogenólise e glicólise foram obtidas na concentração de 200µM. A gluconeogênese a partir de lactato e piruvato foi inibida na concentração de 300µM. Esses resultados podem sugerir que **fisetina** exerce ação preservadora dos carboidratos como substrato bioenergético, redirecionando o sistema bioenergético para o catabolismo de lipídios na β-oxidação, mostrando uma ação similar a **SIRTUIN1**. Há um estudo que mostrou a redução dos níveis de aldeídos tóxicos (metilglioxal) no diabetes pela administração de fisetina [139].

- **Buteína:** fitocomposto ativador da **SIRT1** [49]. Pesquisa sugere que buteína estimula a síntese da L-glutathione e da enzima heme-oxigenase, ambos potentes antioxidantes [140]. *Pandey & cols* mostraram a capacidade da buteína de inibir o fator pró-inflamatório NFκB [175]. Sua presença em vegetais comestíveis ainda não foi bem avaliada, mas está na composição da espécie *Caragana jubata*.

NUCLEOTÍDEOS DA VITAMINA B3 E NOVAS MOLÉCULAS SINTÉTICAS.

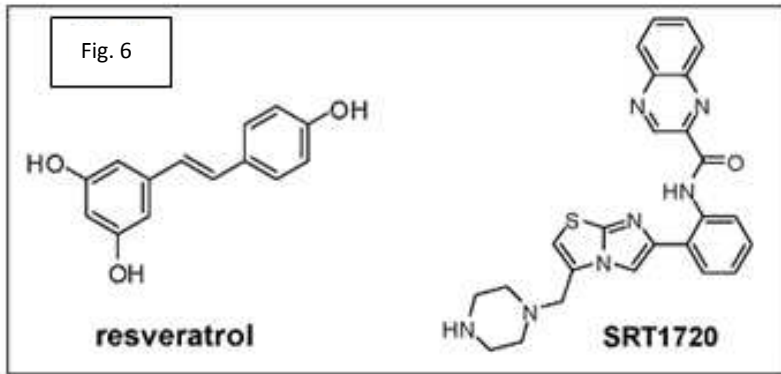
A função das enzimas da família das *sirtuínas* é plenamente dependente do **NAD** (nicotinamida adenina di-nucleotídeo), motivo pelo qual sua biodisponibilidade torna-se um fator regulatório da eficiência das sirtuínas. Mamíferos obtêm NAD a partir da nicotinamida, que sofre primeira reação com a enzima NAMPT [*nicotinamida adenina mono nucleotídeo fósforo transferase*] para se transformar em **NMN** [*nicotinamida mono nucleotídeo*]. A seguir o NMN é convertido em NAD por outra enzima - NMNAT [*nicotinamida mono nucleotídeo adenina transferase*].

As formas precursoras do **NAD** podem aumentar a sua disponibilidade: nicotinamida, nicotinamida ribosídeo (**NR**) e **NMN**. A primeira é facilmente encontrada como suplemento vitamínico, já **NR** e **NMN** são usadas apenas em pesquisas científicas.

A administração oral do **NAD** já foi objeto de várias pesquisas, especialmente no tratamento da fadiga crônica [198-201], onde foram encontrados resultados positivos. Exceto *Alegre & cols* [201], em pesquisa com 77 pacientes, que mostrou apenas redução da ansiedade e diminuição da frequência máxima cardíaca. Há suspeitas, porém, de que essa forma possa elevar a glicemia. Segundo *Imai* [202], a estimulação da biodisponibilidade do NAD é um mecanismo para implementação de atividade das sirtuínas, especificamente falando, sirt-1.

Drogas sintéticas muito mais potentes (Fig.6) que os ativadores naturais das sirtuínas estão sendo desenvolvidas, considerando a importância dessas desacetilases. *Milne & cols* [203] iniciaram testes com a molécula experimentalmente denominada **SRT1720**, registrando efeitos

surpreendentes nos animais testados.



A administração da nova droga a animais promoveu efeitos similares aos obtidos com a adoção da restrição calórica (CR). Além disso, quando administrado a ratos diabéticos, SRT1702 melhorou a resistência à insulina e ativou a lipólise nos animais,

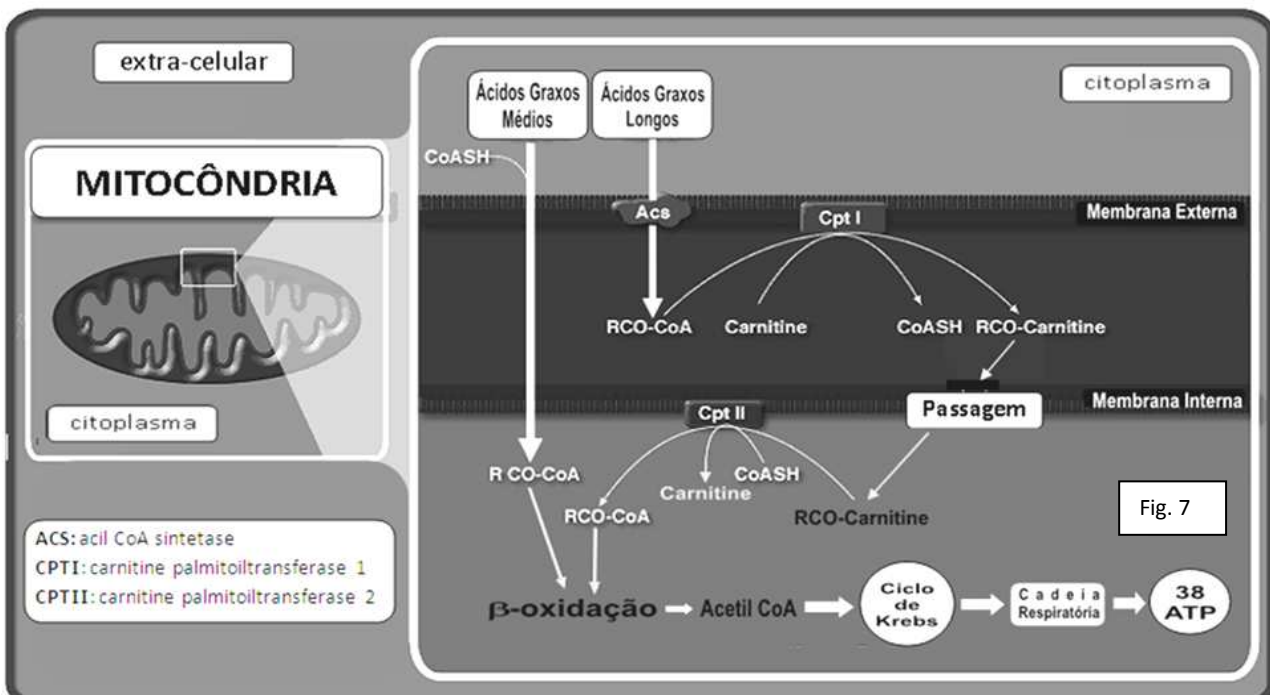
supondo-se que a principal via desse efeito é através do PGC-1 α .

BETA-OXIDAÇÃO: CARNITINA PALMITOIL TRANSFERASE (CPT-1 E CPT- 2).

Entre as enzimas envolvidas na β -oxidação as **CPTS** são críticas [152] – elas determinam o acesso dos ácidos graxos à mitocôndria. O sistema de transporte é composto pelo aminoácido L-carnitina ativado (carnitina Coenzima A), que anexa e carrega os ácidos graxos do citoplasma para a mitocôndria.

Os indutores da lipólise, incluindo *miméticos das sirtuínas*, **CR** e o *exercício*, ativam as *lipases*, com o conseqüente implemento na hidrólise dos triglicerídeos armazenados no tecido adiposo. A ação das *lipases* causa rápido aumento de ácidos graxos livres, elevando a demanda do transporte destes para o interior das mitocôndrias – um trabalho executado pela **CPT1** (espaço inter-membranas), em conjunto com **CPT2** na matriz mitocondria (Fig.7). A ação destas enzimas é fundamental para a eficiência bioenergética das gorduras, considerando que os passos subseqüentes são mais complexos, envolvendo o tratamento bioquímico das cadeias carbônicas dos ácidos graxos para criação de dupla ligação na posição do carbono β (Fig.8).

Esquema Simplificado das Fases da Beta-Oxidação de Gorduras:



COMPOSTOS QUE AUMENTAM A EXPRESSÃO DE CPT-1:

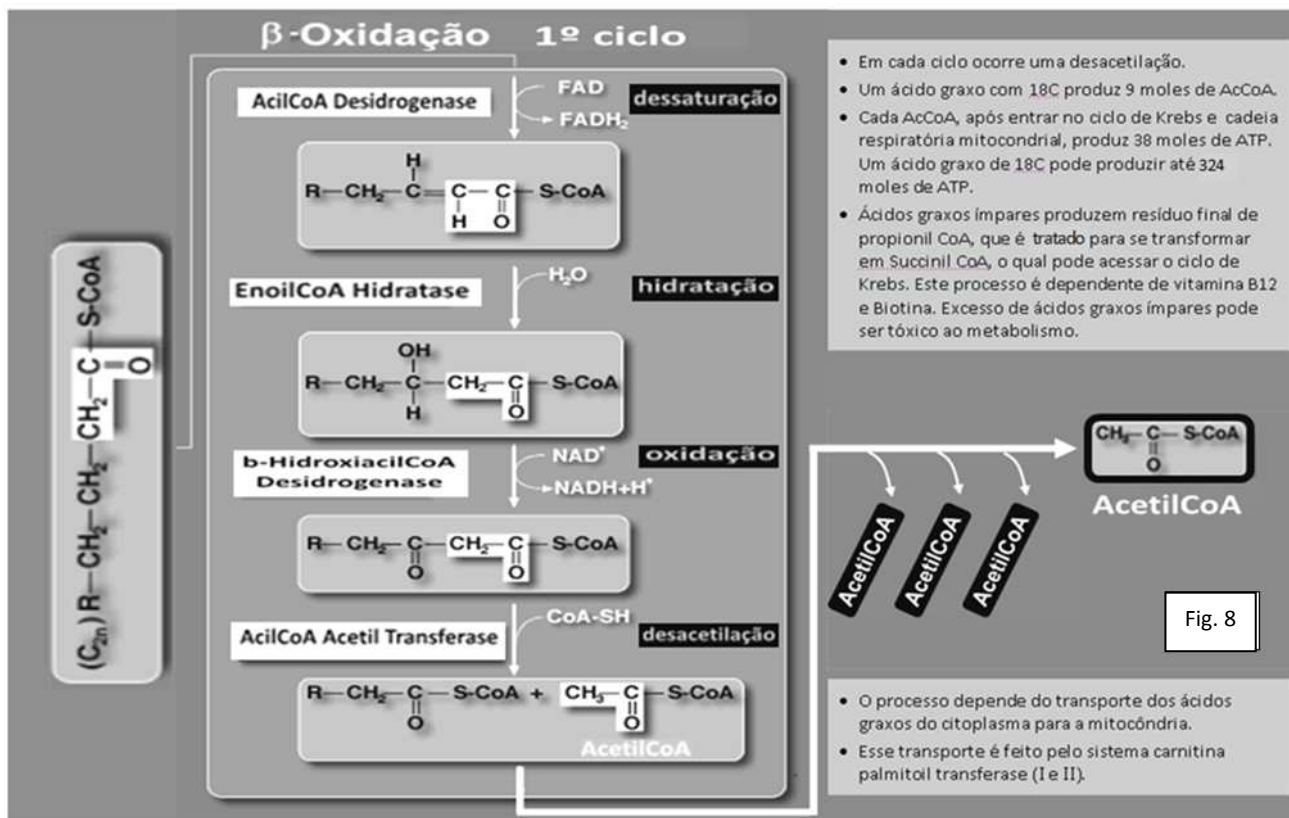
NARINGENINA: entre compostos vegetais, a **NARINGENINA** do *grape-fruit* se destaca por ativar *carnitina palmitoil transferase-1*. foi investigado o efeito de *naringenina* sobre triglicerídeos (TG) e os níveis de colesterol (CT). Foi usado modelo animal (ratos), medindo-se a expressão de PPAR- α sobre a oxidação dos ácidos graxos. A suplementação com *naringenina* reduziu significativamente **TG** totais e **CT** no fígado. *Naringenina* diminuiu o conteúdo de TG no tecido adiposo, fruto do aumento na expressão de PPAR α no fígado. Além disso, CPT-1 e UCP-2 (proteína desacopladora-2) mostraram-se aumentadas nos animais. UCPs constituem uma família de proteínas envolvidas com o transporte de ácidos graxos que drenam os níveis de ácidos graxos da mitocôndria quando eles estão muito elevados. Assim é evitada a produção de lipoperóxidos pró-inflamatórios, principalmente subprodutos de fosfolipídios da membrana [232] – deficiência de UCP-2 foi associada com obesidade. Os autores concluíram que a ativação dos PPAR α e o estímulo da oxidação dos ácidos graxos pela **NARINGENINA** podem contribuir para os efeitos hipolipidêmico e anti-adipogênico.

Alimento	mg/100g	Alimento	mg/100g
Grape Fruit	31,0	Tangerina	3,5
Lima	3,4	Laranja	3,4

REAÇÕES DA BETA-OXIDAÇÃO:

Um dos principais sistemas que influenciam o acúmulo de gordura é a β -oxidação. Através da β -oxidação os ácidos graxos são degradados em unidades di-carbônicas (acetil), sendo que no caso de ácidos graxos ímpares, ao final, é produzida uma unidade tri-carbônica (propionil). A finalização da oxidação dos ácidos graxos depende do número de carbonos de sua cadeia. Um ácido graxo com átomos de 18 carbonos levará mais tempo para ser totalmente oxidado, em relação a um ácido graxo com 12 carbonos. Encontramos esses ácidos graxos médios em certos vegetais, como o coco, rico em ácido láurico (12 C). A oxidação desses ácidos graxos de cadeia média (vide fig.7) dispensa o sistema de transporte com L-Carnitina CoA, sendo, portanto, muito mais rápida.

Um ácido graxo fornece a metade do número de carbonos de sua cadeia em acetil CoA, capaz de produzir até 38 moles de ATP. A preferência do organismo por carboidratos e L-glutamina como bioenergéticos se deve, em primeiro lugar, à rapidez com que ambos são oxidados até acetil CoA e admitidos no ciclo de Krebs.



FATORES QUE MODULAM A LIPOGÊNESE:

C/EBP-α: (*CCAAT enhancer binding protein alpha*) é uma proteína humana codificada pelo gene *CEBPA*. Pode também formar heterodímeros com as proteínas relacionadas – CEBP-β e CEBP-γ. Foi observado que adipócitos deficientes em **C/EBP-α** acumulam *menos* lipídios e deixam de induzir os receptores PPAR-γ, diminuindo a diferenciação dessas células. A consolidação destas pesquisas mostra uma relação de interdependência entre **C/EBP-α** e os receptores **PPAR-γ**, sendo que a expressão hiperativada de **C/EBP-α** leva à diferenciação dos adipócitos de forma desordenada, à lipogênese e expansão de tecido gorduroso branco (WAT).

Por outro lado, há indícios de que **C/EBP-α** possa regular a síntese de **LEPTINA** [233], o que torna ainda mais complexa a análise dos papéis de **C/EBP-α** na lipogênese.

Desde a sua primeira descrição por *Zhang & cols* [155], a **LEPTINA** foi vinculada à obesidade em animais e humanos – defeitos na sua biossíntese ou nos seus receptores causam severa obesidade.

Nos animais, a administração de **LEPTINA** promove intensa inapetência e aumento no gasto de energia, levando à perda de peso rapidamente. Entre os principais mecanismos envolvidos está a inibição do neuropeptídeo “Y” (estimulador do apetite). **LEPTINA** pode, ainda, aumentar a taxa metabólica em repouso (gasto calórico basal) [156].

Em humanos, casos de obesidade grave mostram níveis elevados de **LEPTINA** plasmática, sugerindo um possível mecanismo de *resistência à leptina*.

SREBP-1c:

Sterol Response Element-Binding Protein 1 é um fator genético que supra-regula fatores lipogênicos. *SREBP-1* é estimulado por IGF-1 (*insulin growth factor-1*) para provocar lipogênese, pois se liga às seqüências nucleotídicas de síntese do colesterol e dos ácidos graxos. Há três membros na família SREBP: SREBP-1A, SREBP-1c e SREBP-2. SREBP-1A é o mais potente ativador da transcrição e tipicamente controla genes das vias de síntese dos ácidos graxos. SREBP-2, por sua vez, controla a transcrição dos genes associados com a biossíntese de colesterol [159].

A lipogênese pode ser estimulada por insulina e glicose. SREBP-1c é ativada pela insulina através de proteólise no retículo endoplasmático (RE). SREBP-1c, por sua vez, ativa os genes da glicólise, promovendo aumento de acetil CoA, cujo acúmulo provoca a síntese de ácidos graxos, a maneira mais eficiente de compactar a energia. Na resistência à insulina ocorre ativação da lipogênese hepática, que pode causar esteatose. Dados recentes sugerem que a ativação de SREBP-1c e a conseqüente lipogênese são originários do estresse oxidativo no RE [160].

Fitocompostos que atuam modulando SREBP.

- **Epigallocatequina 3 Galato [EGCG]:** é um fitocomposto presente no chá (*Camellia sinensis*) cujas pesquisas vêm mostrando interessantes propriedades médicas. Efeito antiproliferativo do **EGCG** foi detectado em mais de um estudo [162-166], Outros estudos na área neurológica estão causando interesse, principalmente sobre a contenção dos efeitos tóxicos do peptídeo β -amilóide [167-169].

Porém, um estudo [161] que chamou atenção sobre o **EGCG** foi publicado em 2009, no qual ficou evidente a capacidade do composto em modular genes envolvidos com adiposidade. *Lee & cols* observaram que a administração de **EGCG** a camundongos obesos promoveu redução no peso dos animais – os autores se dedicaram, então, a buscar mecanismos que justificassem a descoberta realizada.

As primeiras mudanças observadas foram reduções consideráveis de TG no plasma e no conteúdo da gordura hepática. Na gordura branca foi detectada redução no mRNA de genes ligados à adipogênese, como PPAR- γ , C/EBP- α , SREBP-1c, AP2 (*adipocyte fatty acid-binding protein*), LPL (*lipoprotein lipase*) e FAS (*fatty acid synthase*). **EGCG** mostrou mais atividade lipolítica, aumentando a expressão dos genes que controlam a enzima CPT-1 e UCP2 (*proteína desacopladora 2*), HSL (*hormone sensitive lipase*) e ATGL (*adipose triglyceride lipase*), este último vital para drenagem dos adipócitos. Os autores concluíram que **EGCG** efetivamente reduz massa adiposa e melhora o perfil lipídico plasmático nos animais submetidos a dieta com alto teor de gordura. Outros estudos corroboram efeitos do **EGCG** sobre adipócitos [170-173].

Fitocompostos que atuam modulando TNF- α .

- **CHÁ VERDE:** o efeito redutor do TNF- α sobre adiponectina, induzindo obesidade, está

confirmado. Biomoléculas que atuam modulando e diminuindo a resposta desse fator inflamatório podem ser úteis no manejo dos programas para redução de peso. O *chá verde* é proveniente da *Camellia sinensis*, a mesma espécie que fornece o *chá preto*. A diferença é que o chá verde não sofre torrefação em temperaturas elevadas, preservando seu conteúdo de antioxidantes. O *chá verde* contém teores significativos de **EGCG** e variada composição de antioxidantes polifenólicos com ação hipolipidêmica largamente documentada [176-181]. Embora os efeitos sobre a redução de peso em humanos com o extrato do *chá verde* não tenham sido estatisticamente comprovados, os resultados positivos sobre os marcadores lipídicos e inflamatórios pela sua administração são evidentes [181].

Ação sobre o TNF- α : Jin & cols [182] avaliando os efeitos do *chá verde* sobre a fisiopatologia óssea (osteólise), *in vitro* e *in vivo*, verificaram que **EGCG** realmente inibe a liberação de TNF- α . Pesquisando os mecanismos de ação, comprovaram que tal efeito se dá pela modulação do acoplamento da proteína I κ B- α ao fator NF κ B, onde a proteólise de I κ B- α determina a ativação de NF κ B. Mais estudos confirmaram a importante ação antiinflamatória do **EGCG** sobre TNF- α [182-183].

- **ILEX PARAGUARIENSIS:** conhecida como *erva mate*, apresenta rica composição em antioxidantes polifenólicos. Dois artigos publicados por revistas do grupo *Nature*, elaborados por cientistas brasileiros, focalizam com nitidez os efeitos anti-adipogênicos dos extratos de erva mate [195-196]. Na primeira publicação [195] os autores discutiram a importância da perspectiva inflamatória no fenômeno da obesidade, considerando o tecido adiposo como um importante órgão secretor de adipoquinas. Muitas das substâncias secretadas no tecido adiposo podem acelerar o armazenamento de TG e disparar a diferenciação dos adipócitos, ação que, inicialmente é uma adaptação à homeostase lipídica pois visa melhor distribuição da gordura em excesso. Entretanto, com lipogênese *cronicamente* elevada, a diferenciação de adipócitos expande a massa gordurosa branca (WAT) [fig.9].

Além disso, outros produtos secretados nos adipócitos interferem com a homeostase cardiovascular, contribuindo para aumento da pressão arterial. Entre estes está MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1) que promove infiltração celular no endotélio, angiotensinogênio e PAI-1 (*plasminogen activator inhibitor-1*).

Considerando que modelos animais são apropriados para essa investigação, os autores utilizaram camundongos geneticamente padronizados, submetidos a dietas com alto teor gorduroso. No grupo administrado com extrato de erva mate, a administração por sonda intragástrica forneceu 5,82mg/g de cafeína; 3,30mg/g de teobromina; 0,58mg/g de ácido caféico; 348mg/g de polifenóis, a cada dia. Desses componentes, as xantinas (*cafeína* e *teobromina*) são moléculas capazes de ativar a lipólise em adipócitos, por inibição de *fosfodiesterases* e aumento da oferta de **AMP-c** [197]. Sobre os polifenólicos, é de conhecimento geral que apresentam forte atividade antioxidante e são capazes de migrar do citoplasma para a membrana celular e o retículo endoplasmático.

Após 8 semanas da dieta hiper-calórica houve significativo aumento de peso nos animais não tratados, assim como da glicemia. Os animais que receberam *erva mate*, porém, mostraram significativa redução no peso. Na conclusão do estudo os autores consideraram o extrato de erva mate detentor de potente atividade anti-obesidade *in vivo*.

Tabela 9: Efeitos do Extrato de Erva Mate em Animais.		
Marcadores Inflamatórios (Redução)	Homeostase Vascular (Redução)	Ativadores da Lipólise (Aumento)
TNF- α	PAI-1	Adiponectina
	MCP-1	PPAR- γ
IL-6	Receptores MCP-1	PGC-1 α
	Resistina	UCP-1

TNF- α : *tumor necrosis factor α* , IL-6: *interleucina 6*, PAI-1: *plasminogen activator inhibitor 1*, MCP-1: *monocyte chemotact protein-1*, PPAR- γ : *peroxissome proliferator-activated receptor γ* , PGC-1 α : *peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α* , UCP-1: *uncoupled protein 1*.

Ação de *I. paraguariensis* sobre a Lipase Pancreática: numa outra pesquisa [196] foi abordada a atividade hipolipidêmica da erva mate através do bloqueio da *lipase pancreática* (PL). Lípases estão distribuídas em vários órgãos, glândulas e células, tendo a finalidade de hidrolisar complexos lipídicos – TG e lipoproteínas. Aquelas lípases lançadas no trato gastrointestinal, como a lipase pancreática (PL), são necessárias à pré-digestão desses lipídios, que fornece ácidos graxos livres, única forma em que podem ser absorvidos após esterificação com os ácidos biliares.

PL, sem dúvida, é um fator decisivo no tratamento da gordura – sua inibição promove aumento da excreção dos ácidos graxos nas fezes. Drogas sintéticas com alta potência sobre **PL**, como o *orlistat*, podem provocar diarreias devido ao elevado teor de gordura retido nas fezes. Substâncias naturais contidas na erva mate e também presentes no chá verde (*C. sinensis*) já haviam sido apontadas como inibidores da **PL**: flavonóides e taninos, por exemplo.

Neste teste os animais usados foram camundongos padronizados geneticamente e submetidos à administração de *erva mate* em grupos diferentes, com dietas hipercalóricas e dietas padrão. Após 16 semanas, os resultados das medições da **PL** mostraram redução do emulsificado com *taurocolato* e óleo de oliva, indicando clara inibição desta lipase pelo extrato de *I. paraguariensis*.

Adiponectina, DsbA-L e Ácido TauroUrso Desoxicólico:

Adiponectina é um peptídeo com 244 aminoácidos cujo gene está localizado no cromossoma

3q27, susceptível de polimorfismos que levam à síndrome metabólica (MS). Isto mostra claramente a influência da queda de **ADIPONECTINA** na iniciação da MS. Os níveis plasmáticos de adiponectina são inversamente relacionados com o teor de gordura visceral, embora sua expressão seja menor nas vísceras do que no tecido subcutâneo.

Inibição da adiponectina: TNF- α é um potente inibidor da adiponectina, o que mostra a importância da discussão sobre o papel da inflamação na obesidade.

Indivíduos obesos apresentam a tendência de níveis baixos de adiponectina, provavelmente devido aos mecanismos inflamatórios gerados nos adipócitos quando atingem volume elevado de gordura. **Adiponectina** também está baixa nos pacientes com síndrome metabólica e resistência à insulina.

Adiponectina recombinante reduz imediatamente a glicose em indivíduos diabéticos e normais, sem estímulo da secreção de insulina. Supõe-se que a redução da glicemia promovida pela adiponectina seja mediada pela supressão da gluconeogênese hepática. Dois tipos de receptores para **adiponectina** (AdR1 e AdR2) foram identificados no fígado e no músculo.

PPAR- γ , abundantes no tecido adiposo, controlam a diferenciação dos adipócitos – necessária para impedir o aumento de volume gorduroso na célula – e a expressão de vários genes nos adipócitos. Agonistas PPAR- γ como as tiazolidinedionas têm a habilidade de diminuir a resistência à insulina e aumentar a liberação de adiponectina. *Tiazolidinedionas* antagonizam os efeitos nocivos de TNF- α sobre a adiponectina, restaurando os níveis adequados.

Uma descoberta de *Zhou & cols* [184] coloca novo foco sobre a eficiência da **adiponectina**. Os autores postulam ser esse hormônio o centro de controle sobre a sensibilidade à insulina. A estocagem da **adiponectina** na célula ocorre no *retículo endoplasmático (RE)*, em três formas distintas: trímero, hexâmero e uma forma de alto peso molecular (multímera). Cada uma dessas formas exerce papel diferenciado na regulação da **adiponectina** no retículo endoplasmático. Defeitos na polimerização da adiponectina – envolvendo as proteínas Ero1-1 α , Erp44 e GPR94 – afetam não somente sua secreção, mas também sua eficiência. O organismo assegura o funcionamento hormonal da adiponectina através do controle antioxidante no **RE**, onde a homeostase redox é crítica em função da grande produção de radicais livres naquele sítio celular. Assim, moléculas especiais chamadas *chaperonas* – poderosos antioxidantes – estão presentes no **RE** para garantir o perfeito funcionamento da adiponectina. Entre essas *chaperonas*, o **ÁCIDO TAUROURSODESÓXICO** é dos mais relevantes.

A mais importante descoberta de *Zhou*, entretanto, foi uma **nova proteína** que interage com adiponectina, **DsbA-L** (*disulfide-bond A oxidoreductase-like protein*), que se expressa em vários tecidos – rins, pâncreas, coração, com ênfase para o tecido adiposo. Nos animais e voluntários humanos submetidos a dietas altamente calóricas (obesos), a expressão de **DsbA-L** cai dramaticamente. O mais interessante é que a pesquisa mostra, também, que a melhor forma de manter o desempenho da **adiponectina** é promover o controle do estresse oxidativo no **RE**.

Nos testes laboratoriais, para checar a relação do estresse oxidativo no RE e a função da **adiponectina**, *Zhou & cols* separaram grupos de camundongos obesos, tratados com **ÁCIDO TAUROURSODESOXICÓLICO** e outros sem tratamento. Os animais que receberam o **ÁCIDO TAUROURSODESOXICÓLICO** mostraram imediata redução na expressão da proteína lipogênica **C/EBP- α** e aumento da interação da **adiponectina** com **DsbA-L**, o que potencializa sua atividade hormonal:

ADIPONECTINA → ADIPONECTINA-DsbA-L → Lipólise

L-TAURINA:

É um aminoácido não protéico sulfurado cujos papéis no metabolismo lipídico têm sido consecutivamente comprovados. Em outras áreas, como na neurotransmissão, por exemplo, o papel de L-aurina já havia sido enaltecido após as descobertas sobre sua função agonista para o GABA, nos receptores GABA(a) [185-191]. A partir dessa constatação L-aurina tem sido, eventualmente, empregada como moderado ansiolítico, embora faltem estudos clínicos que confirmem esse efeito de modo mais abrangente.

O uso de L-aurina nas dislipidemias tem sido preconizado, assim como na infiltração gordurosa hepática. Há fortes indícios de que sua suplementação auxilie na redução da lipogênese e obesidade, especialmente após a publicação de *Tsuboyama-Kasaoka* [193]. Na análise dos possíveis mecanismos sobre a ação anti-adipogênica de L-Taurina é preciso levar em conta:

- 1) A ação antioxidante exercida por **L-TAURINA** e seu papel estabilizador sobre as membranas, incluindo o RE. *Piña-Zentella & cols* mostraram como L-aurina pode diminuir a formação de H_2O_2 , diminuindo o estresse oxidativo e ativando a lipólise nos adipócitos [194].
- 2) O estresse oxidativo celular, especialmente no RE, compromete as ações anti-adipogênicas, incluindo a função da adiponectina [184].
- 3) L-aurina é precursora do **ÁCIDO TAUROURSODESOXICÓLICO**, cuja ação estimuladora sobre **adiponectina** foi evidenciada.
- 4) O efeito ansiolítico de L-aurina (agonista do GABA), que poderia contribuir para diminuição da hiperfagia compulsiva.

Inflamação: causa ou efeito da obesidade? Ou ambos?

O acúmulo de gordura favorece o estado pró-oxidante e pró-inflamatório e no tecido adiposo [204] – nos adipócitos foi descrito sistema similar ao de macrófagos e células “T” na produção de citocinas [208]. Também foi verificado que o aumento de citocinas nos adipócitos leva à infiltração do tecido adiposo por células do sistema imune, mormente macrófagos. A infiltração de macrófagos não só eleva a liberação de citocinas, como também aumenta o volume do tecido adiposo e a compressão dos tecidos adjacentes, piorando o quadro inflamatório:

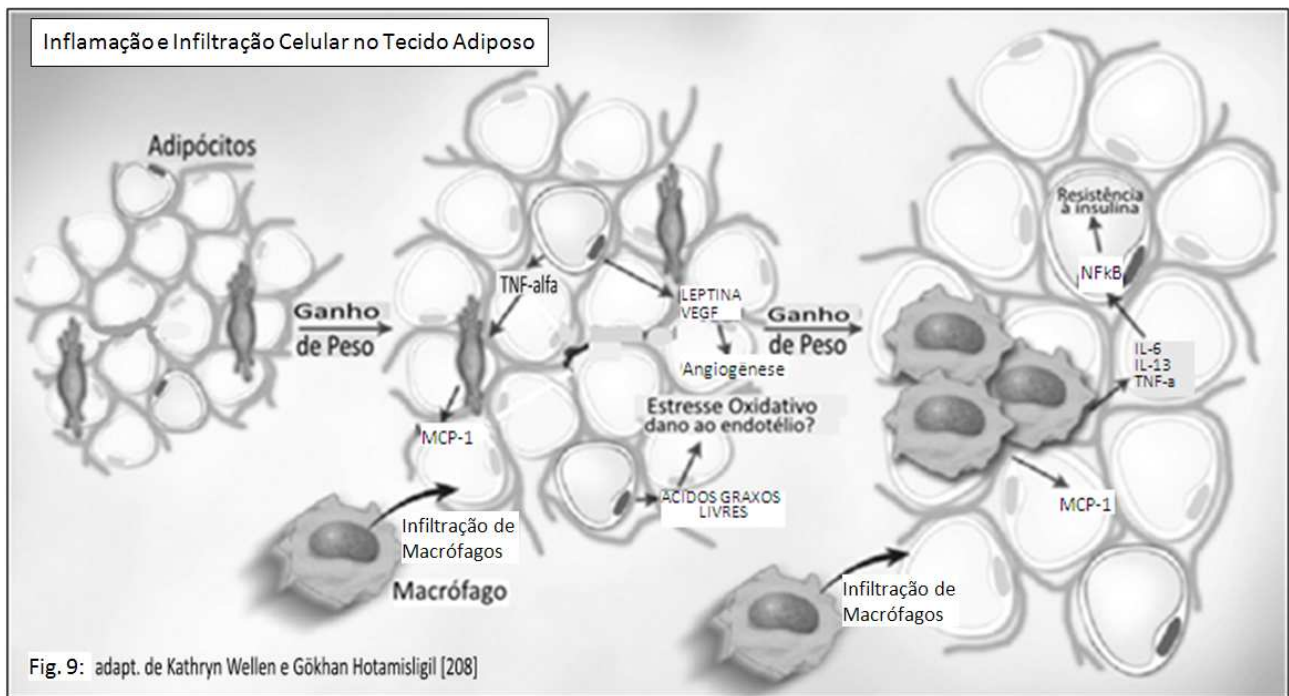
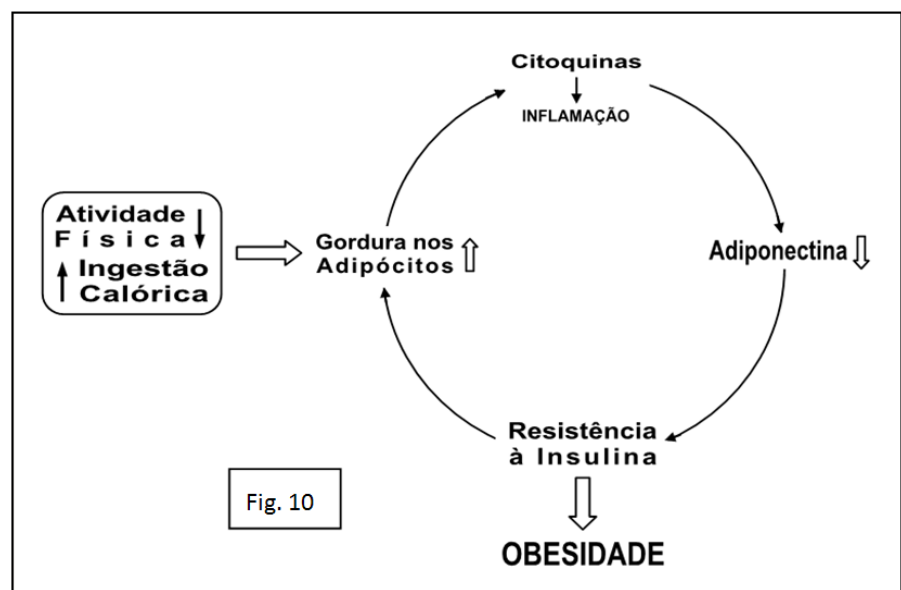


Fig.9: na obesidade o tecido adiposo apresenta inflamação por infiltração progressiva dos macrófagos, o que contribui para o avanço da *adipogênese*. O aumento no volume de gordura nos adipócitos promove a secreção e liberação de **TNF- α** , que estimula os pré-adipócitos a produzirem **MCP-1** (*monocyte chemoattractant protein-1*). Da mesma forma, células endoteliais secretam MCP-1 em resposta às citocinas e contribuem para aumentar a atração dos macrófagos para o tecido adiposo, num ciclo vicioso. O fato da expressão de MCP-1 ser anterior a outros marcadores inflamatórios faz supor que sua liberação inicial parte de outras células que não os macrófagos. Nesse processo ocorre, simultaneamente, estimulação de *leptina* e diminuição de *adiponectina*, o que, possivelmente, induz à instalação de uma *resistência à leptina*. A liberação de VEGF (*vascular endothelium growth factor*) estimula crescimento vascular, facilitando o transporte das citocinas pelo interior do tecido adiposo.

A compressão do endotélio pela dilatação gordurosa, por sua vez, promove liberação de mais fatores inflamatórios

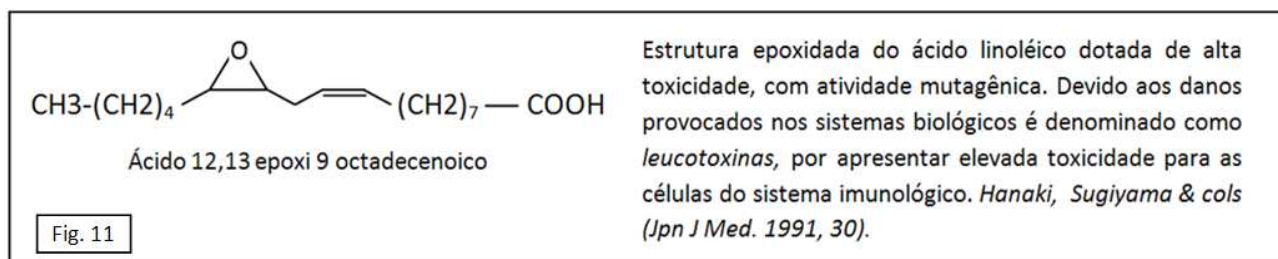
endoteliais e a lipólise desordenada reforça o recrutamento de macrófagos pelo tecido adiposo. O aumento de citocinas [TNF- α , IL-6] inibe a liberação de **adiponectina** e todos esses fatores, ao final, perpetuam o ciclo de expansão do tecido



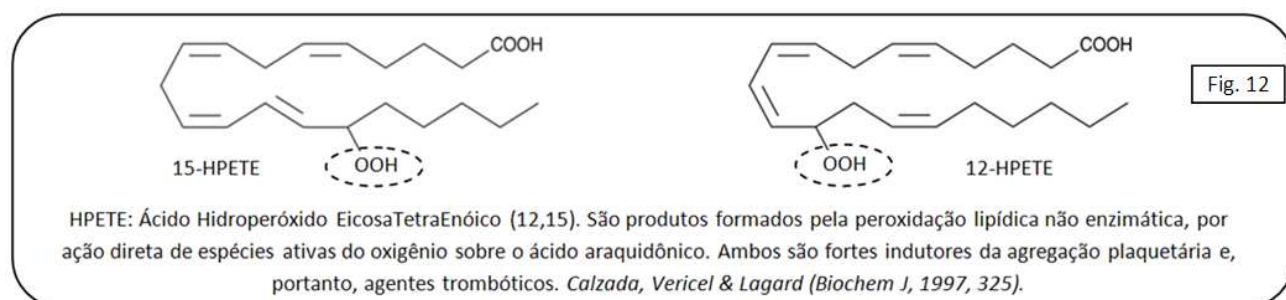
gorduroso. Por outro lado, o aumento de citocinas [TNF- α , IL-6] inibe a liberação de hormônios importantes que atuam no metabolismo contra a obesidade, como a **adiponectina**. Assim, parece que estamos diante de um ciclo (Fig. 10)

Há provas suficientes de que o acúmulo de gordura abdominal e visceral contribui para o desenvolvimento da resistência à insulina, levando ao diabetes II – um dos mecanismos é a introdução do GLUT-4 (*glucose transporter 4*) na membrana celular. O que ainda não havia sido suficientemente discutido é que o acúmulo de gordura predispõe, precipuamente, à gênese de peróxidos lipídicos como *hidroperóxidos (HPTEs)*, *isoprostanos*, *isofuranos* e *epóxidos*, todos capazes de *reativar* os mecanismos inflamatórios.

Todos esses subprodutos disparam os fatores pró-inflamatórios, entre eles o **TNF- α** , um dos principais indutores do fator **NF κ B** – ambos ativam a diferenciação desordenada dos adipócitos e provocam a lipólise desregulada, além de estimularem a gênese das espécies ativas do oxigênio (radicais livre = RL). O **TNF- α** inibe, ainda, a liberação de **PERILIPINA**, uma proteína que modula a atividade das *lípsases*. Tanto a *diferenciação dos adipócitos* e a *lipólise*, quando *desregulados*, provocam a liberação descoordenada dos ácidos graxos, impactando a β -oxidação e estimulando a oxidação destes em níveis não mitocondriais, nos peroxissomos, por exemplo. É sabido que a oxidação dos ácidos graxos nestas organelas – os *peroxissomos* – transcorre *sem* mecanismos de controle que evitam a formação dos derivados peroxidados (epóxidos), dotados de elevada toxicidade. Por outro lado, o rápido acúmulo de ácidos graxos livres inviabiliza a necessária biogênese mitocondrial, responsiva ao aumento da demanda para a β -oxidação.



Outras estruturas tóxicas para os mamíferos são os derivados peroxidados do ácido araquidônico, abundante na membrana celular. Os hidroxiperóxidos do ácido araquidônico (HPETEs) são moléculas reconhecidamente carcinogênicas, além de iniciadores da apoptose precoce celular, que leva à necrose (Fig. 12).



Outro aspecto relevante é que TNF- α e NFkB aumentam a gênese de espécies ativas do oxigênio, lesivas para as estruturas dos receptores insulínrgicos. A elevação de outros marcadores inflamatórios já foi detectada em indivíduos obesos: IL-6, IL-8 e proteína “C” reativa [205-207], ficando clara a influência da inflamação na obesidade.

TNF- α sem dúvida está aumentado no tecido adiposo, induzindo NFkB e o aumento da gênese de RL, lesivos para as estruturas dos receptores insulínrgicos. Novas drogas, que estão sendo desenvolvidas a partir da molécula do *resveratrol* (SRT501 e SRT1720), estão mostrando potente atividade anti-TNF- α mesmo sob estimulação do *lipopolissacarídeo* (LPS).

Portanto, além do *quantum* de calorias na dieta, a origem dessas calorias determina, adicionalmente, a gravidade da obesidade. Quanto mais calorias sejam preenchidas por *lipídios, ácidos graxos saturados, poli-insaturados de cadeia longa* ou *trans-esterificados*, mais críticos ficam os níveis de lipoperóxidos estimulantes do **TNF- α** .

Segundo *Curti & cols*, no artigo de revisão [204], relevantes mecanismos secundários inflamatórios que comprometem o metabolismo lipídico são:

Tab 10: Mecanismos Subjacentes que Prejudicam o Metabolismo Lipídico		
Acumulação de Diacil-Glicerol	Ativação do Fator NFkB	Aumento na Expressão de <i>Protein Kinase C</i> (PKc)
Aumento de <i>Mitogen Activated Protein Kinases</i> (MAPK)	Diminuição de PGC-1 α	Diminuição de Adiponectina
Atração e Infiltração Celular (macrófagos e neutrófilos) na Massa Gordurosa Branca (WAT)		

NFkB: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; **PGC-1 α** : peroxissome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α)

É importante lembrar que as descobertas sobre os efeitos da **CR** mostraram, coerentemente, que um dos principais mecanismos pelo qual ela reverte a resistência à insulina é a *redução do estresse oxidativo* provocado pelo aumento de RL. Isto é relatado em *todos* os estudos que investigaram profundamente a **CR**. No processo inflamatório incidente na obesidade o **TNF- α** é o marcador que mostrou maior *constância* nas medições nos indivíduos obesos, aparecendo invariavelmente aumentado. Sabemos que este fator é um dos mais poderosos ativadores do **NFkB**, fator de transcrição considerado o “maestro” da inflamação, pois modula a síntese de proteínas e vários fatores pró-inflamatórios: *citoquinas* (IL-1, IL-6, IL-8), *cicloxygenases* e *leucotrienos* (PGE2, LKB4), *óxido nítrico sintase induzida* (iNOS). Além destes marcadores inflamatórios, *Siervo & cols* [209] registraram em crianças obesas um aumento significativo de **proteína “C” reativa**.

Mecanismos de Lipogênese:

A sensibilidade ao radical *acetila* é o principal mecanismo da lipogênese, que ocorre no fígado e no tecido adiposo – *acetila* é o principal combustível para o sistema aeróbico bioenergético, alimentando o ciclo de *Krebs* (ciclo do ácido cítrico) e a cadeia respiratória mitocondrial (CRM). A maneira mais eficiente de armazenamento de *acetila* é através da síntese de ácidos graxos, que conjuga várias moléculas de *acetila*. Portanto, a lipogênese é uma estratégia de sobrevivência do organismo, onde os ácidos graxos, após ressintetizados, são compactados na forma de *triglicérides*. Os carboidratos são, no aspecto quantitativo, a mais importante fonte de *acetila* presente na dieta – em segundo lugar, sob essa mesma ótica, vêm os lipídios [Fig.13]. Entretanto, não se pode olvidar que o *álcool etílico*, liberando radicais *acetila* no fígado, pode aumentar a lipogênese, dependendo da quantidade ingerida e da frequência do consumo.

No tecido adiposo a esterificação dos ácidos graxos com o glicerol forma **TGs** que são armazenados nos adipócitos. No fígado, os **TGs** ali produzidos formam as VLDLs (*very low density lipoproteins*), e são exportados para outros tecidos.

Enzimas indiretamente envolvidas na oferta de acetila ou piruvato:

- Citrato liase: citrato + CoA + ATP → acetil CoA + oxaloacetato + ADP + Pi
- Malato desidrogenase: oxaloacetato + NADH → Malato + NAD⁺
- Enzima Málica: malato + NADP → piruvato + NADPH

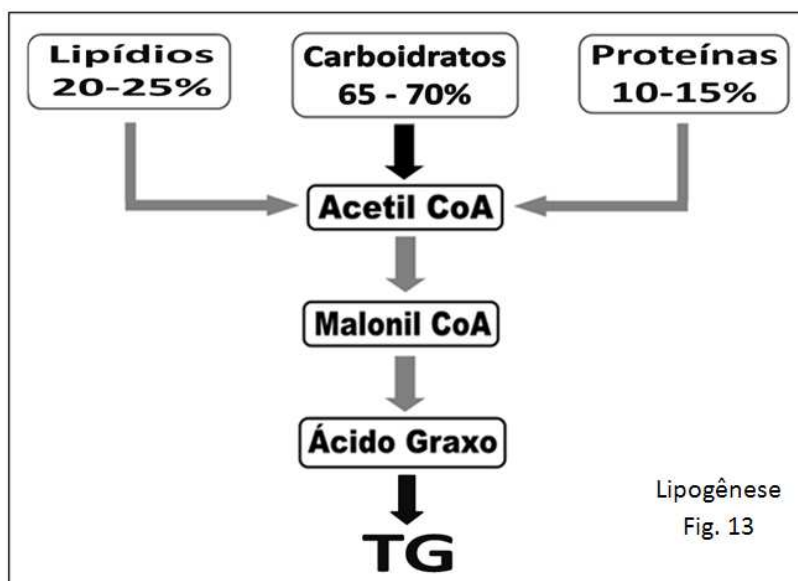
A inibição da *citrato liase* pode ser obtida, por competição, com a administração de **hidroxicitrato**, presente em fitoterápicos como *Garcinia cambuja*. Um estudo publicado no *British Journal of Nutrition* [229] verificou que doses orais de 500mg de *hidroxicitrato* foram capazes de aumentar a glicogenólise pós-prandial, reduzindo a lipogênese. *Onakpoya & cols*, porém, afirmam em sua revisão [230] que a redução de peso com *hidroxicitrato* foi pequena. Possivelmente os estudos citados usaram extratos vegetais *não padronizados*, passíveis de grandes variações nos teores dos ativos. Mesmo assim, nesta revisão [229], são relacionados trabalhos protocolarmente corretos que mostraram ação do *hidroxicitrato* na contenção da lipogênese.

Enzimas diretamente envolvidas na lipogênese:

- Acetil CoA Carboxilase: acetil CoA + HCO₃⁻ → malonilCoA
- Ácido Graxo Sintase: acetilCoA + 7 malonil CoA → Ácido Palmítico
- AcilCoA Sintetase: palmitato, oleato + CoA → palmitoil, oleilCoA
- Estearil CoA Dessaturase (SCD1): ácidos graxos saturados → ácidos graxos insaturados → triglicérides

Para esse grupo de enzimas ainda são insuficientes os dados sobre compostos que atuam na sua inibição, reduzindo a lipogênese. Condutas metabólicas, como a restrição à metionina, mostraram redução na atividade de SCD1.

A eficiência da lipogênese é tal que os principais nutrientes contribuem para a gênese de TG (triglicerídeos) [Fig. 13].



Álcool Etilico na Obesidade:

O metabolismo do *álcool etílico* nos humanos parece ser bem antigo, uma vez que nos deparamos com uma enzima específica para a sua metabolização – *acetaldéido desidrogenase (ALDH)*. A partir da ingestão do álcool sua absorção se inicia rapidamente na mucosa estomacal, contrariando a regra da grande maioria de substâncias, drogas e nutrientes, cuja absorção se dá preferencialmente em nível intestinal.

Essa característica diferente se deve a peculiaridades do álcool etílico, pequeno peso molecular e característica química especial: hidrossolubilidade e lipossolubilidade. Dessa forma, o álcool etílico consegue maior índice de absorção na mucosa gástrica. Após a absorção, sua primeira passagem hepática ativa os sistemas de biotransformação de quatro maneiras diferentes e complementares.

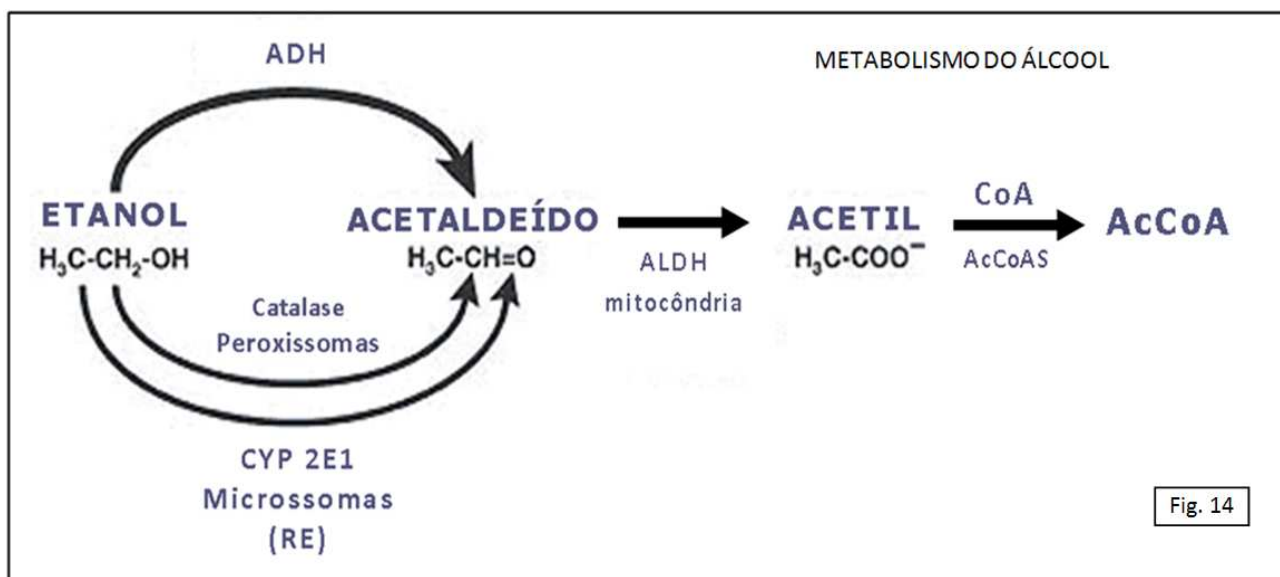


Fig. 14

- Sucessivas oxidações, catalisadas por *álcool desidrogenase* (ADH) e *acetaldeído desidrogenase* (ALDH), ambas dependentes do NAD^+ e tendo *molibdênio* como metal catalisador [Fig.14],
- Reação com *catalase* nos peroxissomos,
- Reação com oxidases do *CYP 2E1* (citocromo 2E1),
- Pequenas quantidades de álcool podem interagir com ácidos graxos formando *ésteres etílicos dos ácidos graxos* (FAEEs), que são tóxicos para o fígado e o pâncreas – podem causar cirrose e pancreatite.

O metabolismo do álcool gera uma carga elevada de *espécies reativas do oxigênio* (radicais livres), a começar pelo aumento do *anion superóxido* (O_2^*), seguido por *peróxido de hidrogênio* (H_2O_2) e *hidroxila* (OH^*). O álcool etílico provoca inflamação no fígado e está ligado à infiltração gordurosa nesse órgão (esteatose hepática).

A esteatose ocorre basicamente pela grande oferta de acetila (AcetilCoA) no fígado [Fig.14], que estimula a lipogênese. Assim, ao consumir bebidas alcoólicas, é preciso considerar que o aporte da lipogênese será maior, com repercussões negativas: *dislipidemias*, *síndrome metabólica* e *obesidade*. Por outro lado, o *estresse oxidativo* gerado pelo álcool etílico influencia o fenômeno inflamatório no tecido adiposo, contribuindo para a resistência à insulina e diabetes II.

Expressão Genética e Predisposição à Obesidade:

Variações na expressão genética humana podem mudar o metabolismo e a homeostase bioenergética. Polimorfismos podem surgir por vários motivos, incluindo as interferências de uma nutrição inadequada.

Segundo *Curti & cols* [204], corroborando tantas pesquisas já publicadas, a redução da ingestão de gordura saturada e o acréscimo de grãos integrais, frutas, vegetais, carnes magras e óleos com predominância de ácido oléico, podem reduzir a incidência de doenças metabólicas.

Havendo predisposição genética, uma dieta mal orientada (excesso de gordura saturada e carboidratos refinados; baixa ingestão de antioxidantes), pode levar rapidamente à obesidade.

Principais Polimorfismos Genéticos Associados com Obesidade:

PPAR- γ .

O polimorfismo mais encontrado para este receptor nuclear hormonal é o SNP (*single-nucleotide polymorphism*) tipo Pro12Ala, onde ocorre a substituição de *L-alanina* por *L-prolina* no códon 12. Ele está associado ao diabetes tipo II e obesidade e apresenta incidência de acordo com a origem étnica – 14 a 15% de ocorrência em caucasianos. No estudo de *Frederiksen & cols* [210] foi relatada maior incidência do polimorfismo Pro12Ala nos indivíduos com resistência à insulina, quando comparados ao padrão Ala/Ala. Outra diferença, mais marcante, foi o perfil de TG no plasma: menor nos indivíduos tipo genético Ala/Ala. As medidas da circunferência abdominal

apresentaram apenas ligeiro aumento no grupo heterozigótico Pro12Ala.

Embora ainda haja alguma controvérsia sobre a influência do polimorfismo Pro12Ala na obesidade, a maioria dos estudos aponta relação positiva entre ambos. Sobre a incidência do diabetes tipo II, mesmo um estudo que não constatou relação de Pro12Ala com obesidade [211] confirmou que esse polimorfismo apresenta tendência à dislipidemia (TG) e ao diabetes II. Existem muitas provas de que esse polimorfismo (Pro12Ala) seja, de fato, causador da elevação de TG no plasma, aumento da resistência à insulina e obesidade [212-213].

TNF- α .

Este fator tem um papel preponderante na inflamação, junto com NFkB. Está bastante documentado que, na obesidade, o TNF- α encontra-se aumentado e desempenha papel importante no desenvolvimento da resistência à insulina. A concentração de TNF- α em cultura de hemácias humanas mostra boa estabilidade, o que permite checar as variações significativas segundo o genótipo [214].

A pesquisa de *Sobti & cols* [215] avaliou e comparou 688 voluntários, sendo 250 portadores de síndrome metabólica (MS), 224 obesos com doença coronariana (CAD) e diabetes II e, por fim, 214 controles. Na busca de conclusões sobre o polimorfismo TNF α -308G/Ä, verificou-se que os pacientes com CAD/Diabetes II tinham relação com esse genótipo, assim como diabéticos II. O genótipo TNF α -308A/G apresentou certo efeito de proteção contra CAD.

O genótipo TNF α -308A apresentou forte relação com obesidade, CAD e diabetes II nos pacientes com síndrome metabólica. Os autores concluíram que variações heterozigóticas TNF α -308G/A podem ser importantes fatores de risco para desenvolvimento da síndrome metabólica, diabetes tipo II e obesidade, tanto em homens como mulheres. Por outro lado, a variação A/G parece exercer ação preventiva sobre a ocorrência de doença coronariana nos pacientes obesos e portadores de diabetes II.

Outros estudos relacionados por *Curti & cols* [204] confirmam que a variação TNF α -308A também está associada com maior predisposição para doenças infecciosas e autoimunes. Nos indivíduos não obesos portadores de TNF α -308A a constatação de níveis elevados de marcadores pró-inflamatórios (proteína "C" reativa) foi verificada em alguns estudos, mas não em todos. Talvez isso possa ser explicado por variações na seleção de voluntários e amostragem, já que há indicativos da relação das variações polimórficas do TNF α -308A/G com inflamação.

Outros polimorfismos para o gene TNF- α tem sido investigados (238/G, 376/A), mas os resultados iniciais foram conflitantes para a relação com diabetes tipo II. Entretanto, os tipos 238/G, 308/A e 376/G estão ligados ao aumento da produção de TNF- α .

IL-6.

Esta é uma interleucina pró-inflamatória secretada por larga variedade de células, incluindo os

adipócitos. Há indícios, porém, de que ela possa atuar, em certas circunstâncias, modulando a síntese de citocinas anti-inflamatórias. Nas inflamações crônicas seus efeitos parecem ser estimulantes da cascata pró-inflamatória das citocinas.

Nos seres humanos há razoável comprovação de que níveis elevados de IL-6 estão associados com obesidade e gordura visceral [218-219]. *Al-Gayyar & cols* [216] perceberam níveis elevados de IL-6 nos pacientes com síndrome metabólica e cirrose não alcoólica, enquanto investigavam os efeitos de ômega-3 (óleo de peixe) em doses diárias de 2g. Os pacientes tratados com óleo de peixe mostraram redução nos marcadores inflamatórios, especialmente IL-6 e TNF- α . Outro aspecto que liga a IL-6 à síndrome metabólica e obesidade é a CRP (proteína “C” reativa), pois essa proteína é dependente da ativação genética de IL-6 para sua produção. Como a CRP é freqüentemente apontada em níveis elevados em ambos os casos, síndrome metabólica e obesidade, o aumento de IL-6 é uma forte indicação [217].

Stephens & cols [218-220] estudaram a variação polimórfica do gene IL-6/174G>C e concluíram que este polimorfismo aumenta a oferta de IL-6, contribuindo para alterações metabólicas como síndrome metabólica, diabetes tipo II e obesidade. Num de seus estudos preliminares, os autores verificaram que essa alteração polimórfica também induz ao diabetes tipo II [219]. O genótipo -174C alelo foi relacionado com aumento de IMC nos indivíduos com diabetes tipo II. Estes mesmos autores realizaram outro experimento [220] onde constataram que o polimorfismo IL-6/174G>C é compatível com o desenvolvimento de obesidade, após análise de 571 voluntários selecionados com síndrome metabólica e o estado pré-diabético.

Apolipoproteína A1.

Esta lipoproteína é um componente majoritário da fração HDL, cuja síntese ocorre no fígado e no intestino delgado. HDL é um transportador de colesterol que contém uma importante enzima antioxidante, a paraoxonase-1. Ela é responsável pela ação anti-aterogênica da HDL. Uma publicação recente de *Life Sciences* (*Loued, Isabelle, Berrougui & Khalil*) concluiu que o complexo HDL-paraoxonase-1 tem ação anti-inflamatória [221].

Infelizmente, mais de uma dúzia de mutações no gene Apo A1 já foram descritas [204], desde rupturas até aberrações e deleções. A super-expressão de Apo A1 protege contra o desenvolvimento de aterosclerose, mesmo sob dieta hiper-gordurosa, mas a mutação conhecida como *A-I Milano* é causadora de hipo-regulação da HDL e, conforme as pesquisas, consiste na substituição de *L-cisteína* por *L-arginina* na posição 173. Da mesma forma, outros polimorfismos (MspIB, PstI, SstI e PvuII RSV) também estão associados com decréscimo na produção de HDL, refletindo uma diminuição nas defesas antioxidantes e associando à maior incidência de doença coronariana [222].

Glutathione Peroxidases.

É uma família de enzimas cuja importância para a defesa antiaterogênica é majoritária. As

enzimas glutathione peroxidase (GPxs) atuam na reversão dos peróxidos lipídicos, mesmo daqueles formados por vias diretas, não enzimáticas. *Wolin* [223] postula que a deficiência de GPx-3 cria um estado pró-trombótico e de disfunção vascular. Em camundongos a deficiência de GPx-3 causa a elevação de P-Selectina, proteína aterogênica, uma vez que estimula a adesão de monócitos ao endotélio vascular e sua infiltração na íntima. A deficiência de GPx-3 tem sido associada com aumento de peróxidos extracelulares e diminuição da disponibilidade de óxido nítrico, além de aumento da agregação plaquetária.

As mais estudadas variedades de GPx são Gpx-1 e Gpx-2. Ambas são fundamentais no tratamento de peróxidos celulares e extracelulares, incluindo H₂O₂. É conhecido que o peróxido de hidrogênio é o substrato para a gênese do radical livre do oxigênio hidroxila (HO*), dotado de maior potencial para alterações nas cadeias lipídicas, tanto saturadas como insaturadas. O radical OH* exibe alta reatividade, capaz de promover alterações profundas na cadeia lipídica, formando peróxidos tóxicos que estimulam a reação inflamatória – incluindo TNF- α e NF κ B. A importância da família GPx é de tal envergadura que sua expressão é considerada um dos fatores genéticos da longevidade. Isto se explica de forma lógica, a partir do conhecimento sobre o metabolismo oxidativo celular, onde a enzima antioxidante SOD (*superoxide dismutase*) promove elevação de H₂O₂ no citoplasma, requisitando maior atividade das peroxiredoxinas (Prxs) e de GPx-1/2. A neutralização do excesso de H₂O₂ evita a explosão oxidativa de radicais OH*, crítica para as funções celulares. O aumento de OH* pode, inclusive, ativar mecanismos apoptóticos nas células e interferir com as divisões celulares programadas – o número de *Hayflick*.

Foi estabelecido que o aumento de peróxidos lipídicos estimula a agregação plaquetária, reduzindo os níveis de NO (óxido nítrico). Quaisquer alterações polimórficas que resultem em diminuição de expressão de GPx-1 e GPx-2 podem, efetivamente, contribuir para sérios prejuízos no metabolismo lipídico.

Jablonska & cols [224] estabeleceram uma relação de eficiência da GPx-1 e o *quantum* de selênio no plasma. Nos indivíduos examinados a concentração plasmática de selênio foi 54,4 μ g/L. A relação entre a atividade GPx-1 e a concentração de selênio variou de acordo com os genótipos: Pro/Pro = 0,44; Pro/Leu = 0,35 e Leu/Leu = 0,25. Isto significa que a relação de eficiência foi maior na seqüência Pro/Pro > Pro/Leu > Leu/Leu.

Um estudo realizado no Brasil por *Cozzolino & cols* [225] confirmou o que foi relatado na pesquisa de *Jablonska* [224]. Os autores avaliaram a suplementação com nozes brasileiras em mulheres com obesidade mórbida, totalizando 290 μ g de selênio por dia. A freqüência dos genótipos foi de 0,487; 0,378, e 0,135 para Pro/Pro, Pro/Leu e Leu/Leu, respectivamente. No início do estudo 100% dos indivíduos haviam sido considerados como deficientes em selênio. Após a suplementação com as nozes brasileiras (Castanha-do-Pará) houve aumento no selênio plasmático. Adicionalmente, o grupo Pro/Pro mostrou menos danos ao DNA após a suplementação com nozes brasileiras.

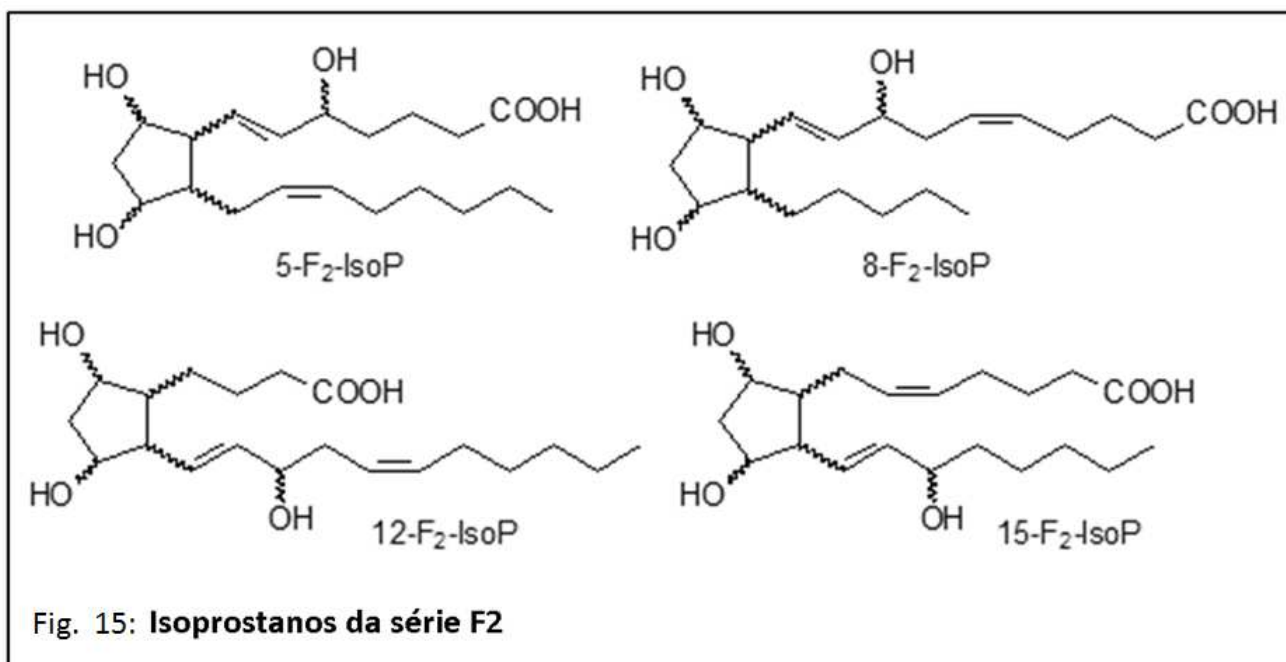
Um polimorfismo que já foi identificado – Pro198Leu – tem sido associado com diminuição da

expressão de GPx [223]. Outro polimorfismo – 718C – resultou em diminuição da GPx-4 e foi associado com aumento dos subprodutos da lipoxigenase: *hidroperóxidos do ácido araquidônico*, *leucotrieno A4*, *leucotrieno B4*, todos capazes de causar alterações na permeabilidade vascular. Esses distúrbios na família GPx acarretam sérios aumentos nos subprodutos da peroxidação lipídica enzimática (lipoxigenase), mas também na peroxidação não enzimática a partir do acúmulo de OH^* , que promove alterações nas estruturas derivadas do ácido araquidônico. Essas deformações levam à formação de compostos inflamatórios (*isoprostanos*, *isofuranos*), com repercussão direta na cascata inflamatória que ativa a agregação de células do sistema imunológico, especialmente monócitos e macrófagos (fig.8).

Isoprostanos são compostos similares às prostaglandinas, porém produzidos no organismo a partir de oxidação não enzimática – sem concurso de cicloxigenases – derivados do ácido araquidônico. As reações que produzem os isoprostanos são catalisadas por espécies ativas do oxigênio, mormente o radical hidroxila (OH^*) formado por H_2O_2 de escape à ação de Prx/GPx, sob catálise de Fe^{+2} ou Cu^{+2} . Estas reações, por não dependerem de enzimas, não estão sujeitas a controle endógeno antioxidante – quanto maior a disponibilidade de ácido araquidônico maior a fuga dos sistemas cicloxigenases 1 e 2.

Embora os *isoprostanos* apresentem meia-vida curta, possuem potente atividade biológica, especialmente sobre os pulmões e rins. Os *isoprostanos* da série F2 são os mais ativos biologicamente, sendo originários da prostaglandina H2. Sucessivas transformações dão origem a outros compostos trombóticos e pró-inflamatórios, *isotromboxanos* e *isoketals*.

Um trabalho recém publicado [227] mostrou o forte envolvimento dos *isoprostanos F2* com diabetes tipo II, através da avaliação urinária em 138 pacientes portadores do diabetes II. Isto vem exigir mais pesquisas com esse grupo de produtos, porque a abrangência de patologias relacionadas aos *isoprostanos* está sendo rapidamente ampliada. Com a vinculação ao diabetes II, possivelmente surgirão ligações dos *isoprostanos* com síndrome metabólica e a obesidade.



Conclusões:

O crescimento da incidência do sobrepeso e obesidade, incluindo a variedade mórbida, é um fato incontestável na sociedade moderna. Os motivos mais visíveis são as dietas hipercalóricas e diminuição de atividade física. Esse binômio compõe um quadro inevitável de ruptura da homeostase bioenergética, levando ao acúmulo do excedente energético, contabilizado pelo aumento da oferta de acetilCoA proveniente dos carboidratos, lipídios e proteínas. Somando-se a eles, o uso abusivo de bebidas alcoólicas gera uma carga extra e não nutricional de acetilCoA no fígado, podendo agravar o aumento de gordura visceral, esteatose e obesidade. O sistema de armazenamento de reserva energética nos mamíferos é fruto de eficiência metabólica obtida ao longo de milhões de anos de adaptação às condições precárias de obtenção do alimento. Assim, as enzimas que comandam a lipogênese e a adipogênese, controladas por grande variedade de genes, promovem de forma eficiente a estocagem do excesso calórico.

Por outro lado, o sistema absorptivo dos nutrientes não está dotado de seletividade para rejeitar a carga calórica excessiva, especialmente os carboidratos que possuem um eficiente e rápido sistema de absorção gastrointestinal. Os lipídios, contando com facilitadores de sua absorção – os ácidos biliares – recebem um tratamento eficiente que leva à sua absorção intestinal. As proteínas representam o grupo alimentar com mais etapas e dificuldades absorptivas, devido à exigência da total fragmentação das cadeias peptídicas antes de atingirem o lúmen intestinal – só podem ser absorvidos os aminoácidos livres ou dipeptídeos, diferentemente dos outros grupos alimentares.

Fica claro que, independente de pequenas variações na proporção entre os macronutrientes, a perspectiva de absorção para carboidratos como fonte bioenergética é priorizada. Após o armazenamento da gordura no tecido adiposo, sua utilização dependerá de rígidos sistemas reguladores, envolvendo múltipla expressão genética e inúmeros hormônios (leptina, adiponectina, visfatina, resistina), enzimas (sirtuínas, enzimas da beta-oxidação, enzimas lipolíticas nos adipócitos) e receptores nucleares (PPARs).

O tecido adiposo retém, ainda, outros nutrientes além da fonte bioenergética – sua utilização obedece a um plano de segurança. Enquanto houver suficiente fornecimento de substratos de rápida transformação bioenergética – carboidratos simples (dissacarídeos) e estabilidade dos níveis plasmáticos de L-glutamina – não serão emitidos sinais químicos e hormonais para utilização da gordura acumulada. Especialmente quando o gasto energético é mantido em níveis baixos, como no sedentarismo moderno.

Estudos realizados mostram que um grupo de enzimas especiais – as *sirtuínas* – exerce papéis importantes na mobilização da gordura acumulada. Aliás, a importância dessas enzimas transcende ao catabolismo lipídico, uma vez que muitos estudos citados anteriormente mostram que elas estão firmemente associadas com a longevidade dos mamíferos.

Entre as ações que, confirmadamente, aumentam a atividade de sirt-1 sobre a lipólise nos adipócitos está a restrição calórica (CR). Curiosamente, essa conduta é considerada a única forma comprovada de aumento da longevidade em mamíferos. Em humanos, destarte as

dificuldades de realização de pesquisas deste porte, tudo indica no mesmo sentido, haja vista as descobertas com os anciões de *Okinawa*, no Japão.

CR é um procedimento que não pode ser adotado indiscriminadamente, mas sim ajustado às necessidades individuais, considerando peso, área corporal, hábitos de vida, carga de atividade física. Embora não tenha sido fixado os níveis de kcal na CR, é aceito que esteja compreendida entre 60 e 80% em relação médias praticadas (1.800kcal para mulheres) e (2.200kcal para homens). A supervisão nutricional adequada deve existir para avaliar as modificações na ingestão de alimentos, de modo a manter os micronutrientes (vitaminas, minerais, antioxidantes, ácidos graxos essenciais) em níveis corretos.

Outros métodos para regulação do metabolismo lipídico e perda de peso têm sido discutidos, como a restrição nutricional específica. Entre estes destacamos a restrição à metionina (MR). Os resultados obtidos com a MR mostram melhorias no catabolismo lipídico, com flagrante aumento na taxa de oxidação dos ácidos graxos e conseqüente diminuição no peso corporal, em animais. Em seres humanos, MR não mostrou claramente redução de peso, mas confirmou os achados sobre a otimização metabólica dos lipídios nos animais, incluindo diminuição de TG. A associação entre CR e MR ainda não foi bem explorada.

As pesquisas nesta área estão ativas e há suposições de que os efeitos benéficos da MR são decorrentes, ao menos em parte, da redução que ela promove nos níveis de *homocisteína*, aminoácido tóxico que já havia sido identificado em diversos estudos, a partir do pioneiro *McCully*. Outro aspecto importante na homeostase bioenergética é o equilíbrio na atividade dos receptores nucleares PPARs. PPARs- α estimulam a lipólise no fígado e músculo esquelético, reduzindo os níveis de lipídios circulantes. PPARs- γ regulam a diferenciação de adipócitos, mecanismo usado para estabelecer nova homeostase nos adipócitos. Está comprovado que adipócitos com nível maior de gordura, diferentes daqueles com menor volume, tornam-se ativos secretores de citocinas, levando à inflamação e também à infiltração celular no tecido adiposo por células do sistema imune. Angiogênese também foi relatada nesta situação.

No capítulo sobre inflamação na obesidade temos uma discussão e relato de sucessivas descobertas sobre as ações nefastas de citocinas sobre hormônios importantes para conter a obesidade, como **adiponectina**, que promove lipólise e **leptina**, que, sendo um inibidor natural do apetite, parece estar envolvida com um fenômeno agravante: resistência à leptina.

Descobertas com os ácidos biliares – especialmente **ácido tauroursodesoxicólico** – mostram seu efeito estimulador na liberação de adiponectina em indivíduos obesos.

Fitocompostos que mimetizam as ações das sirtuínas compõem, hoje, um grupo alvo de sucessivas e importantes pesquisas sobre as modificações das prioridades bioenergéticas do organismo, de carboidratos para lipídios. Dentre eles estão *resveratrol*, *epigallocatequina 3 galato*, *kaempferol*, *fisetina*, *buteína*.

Por fim, é de se registrar o grande interesse no mapeamento dos polimorfismos genéticos que contribuem para o avanço da obesidade na sociedade moderna, em várias regiões do planeta.

Destes polimorfismos, os que acometem genes TNF- α , PPARs, IL-6, Apolipoproteína A1 e as enzimas glutathiona peroxidases são os que mais despertam interesse, pelas evidências de envolvimento com diabetes tipo II e obesidade. Um novo ramo da nutrição – a *nutrigenética* – surge com possibilidade de trazer melhorias significativas, a partir da inclusão nutricional de fatores que mimetizam as sirtuínas e podem mudar a resposta dos genótipos frente à obesidade. Analisando esse vasto contexto sobre o acúmulo de gordura e excesso de peso, percebe-se que durante milhões de anos fomos adaptados a um sistema metabólico que continua vigente, cujo exclusivo objetivo é assegurar a sobrevivência em condições de vulnerabilidade quanto à obtenção dos alimentos. Longos períodos em busca do alimento, consumo limitado de calorias e elevado grau de esforço físico para obtê-las impediam acúmulo significativo de gordura. A abundância de chaves controladoras do resgate da gordura do tecido adiposo – *enzimas, hormônios, fatores de crescimento, peptídeos e proteínas* – mostra como a gordura é estratégica na sobrevivência dos animais. Entretanto, o seu acúmulo, opostamente, é um incontestável fator que restringe a longevidade.

Nutracêuticos de pesquisas mais recentes, assim como drogas que deles possam se originar, virão auxiliar nas modificações metabólicas que favorecem o combate à obesidade. Porém, segundo percebemos, não será possível romper esse ciclo vicioso sem a educação ostensiva cultivando novos hábitos alimentares saudáveis, informando sobre a imperiosa necessidade de manter atividade física e alertando sobre o consumo alcoólico excessivo. Assim, é preciso escolher conscientemente o caminho a seguir: obesidade, ou longevidade.

Referências:

1. The Epidemic of Obesity. *Stein CJ & Colditz GA*. J Clin Endoc Metab, 2004, 89(6): 2522-2525.
2. Pesquisa Orçamentos Familiares 2002-2003, IBGE/MS (http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=278)
3. Dietary saturated and **trans fatty acids** and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study. *Kromhout D & cols*. Prev Med, 1995, 24(3):308-315.
4. Effect of physical activity on glutamine metabolism. *Agostini F & Biolo G*. Curr Opin Clin Nutr Metabol Care, 2010, 13(1), 58-64.
5. Therapeutic considerations of L-glutamine: a review of the literature. *Miller AL*. Altern Med Rev, 1999, 4(4), 239-248.
6. Dietary glutamine supplementation modulates Th1/Th2 cytokine and interleukin-6 expressions in septic mice. *Yeh CL, Hsu CS, Yeh SI & Chen WJ*. Cytokine, 2005, 31(5), 329-334.
7. Identification of a new fatty acid synthesis-transport machinery at the peroxisomal membrane. *Hillebrand M, Gersting SW, Lotz-Havla AS, Schaefer A, Rosewich H, Valerius O, Muntau AC,*

- Gaertner J.* J Biol Chem, 2011 Nov 1.
8. Genome-Wide profiling of H3K56 acetylation and transcription factor binding sites in human adipocytes. *Lo KL, Bauchmann MK, Baumann AP, Donahue CJ, Thiede MA, Hayes LS, dês Etages AG & Fraenkel E.* PLoS one, 2011, 6(6) e-19778.
 9. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK-SIRT1-PGC1 α pathway. *Chau MDL, Gao J, Yang Q, Wu Z & Gromada J.* PNAS, 2010, 107(28), 12553-12558.
 10. FGF-21/FGF-21 receptor interaction and activation is determined by b-klotho. *Kharitononkov A & cols.* J Cell Physiol, 2008, 215, 1-7.
 11. Tissue specific expression of b-klotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF-19 and FGF-21. *Kurosu H & cols.* J Biol Chem, 2007, 282, 26687-26695.
 12. Betaklotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Ogawa Y & cols.* Proc Natl Acad Sci USA (PNAS), 2007, 104, 7432-7437.
 13. At the crossroad of lifespan, calorie restriction, chromatin and disease. *Mostoslavsky R, Esteller M & Vaquero A.* Cell Cycle, 2010, 9(10), 1907-1912.
 14. Neural sirtuin 6 (sirt6) ablation attenuates somatic growth and causes obesity. *Schwer B, Schumacher B, Lombard DB, Xiao C, Kurtev MV & cols.* PNAS, 2010, 107, 21790-21794.
 15. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and sirt-1. *Rodgers JT & cols.* Nature, 2005, 434, 113-118.
 16. PPAR- γ : adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Spiegelman BM.* Diabetes, 1998, 47, 507-514.
 17. Transdifferentiation of myoblasts by the adipogenic transcription factors PPAR- γ and C/EBP α . *Hu E, Tontonoz P & Spiegelman BM.* PNAS, 1995, 92, 9856-98860.
 18. Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia and obesity: implications for a nutrigenic approach. *Curti MLR, Jacob P, Borges MC, Rogero MM & Ferreira SR.* J Obesity, 2011, article ID497401.
 19. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Michalik L, Auwerx J, Berger JP, Chatterjee VK, Glass CK, Gonzalez FJ, Grimaldi PA, Kadowaki T, Lazar MA, O'rahilly S, Palmer CN, Plutzky J, Reddy JK, Spiegelman BM, Staels B & Wahli W.* Pharmacol Ver, 2006, 58, 726-741.
 20. The effect of retarded growth upon the length of the life span and upon the ultimate body size. *MacCay CM & cols* – J Nutr, 1935 (10), 63:79.
 21. The effects of dietary caloric restriction on maturity and senescence, with particular reference to fertility and longevity. *Ball ZB, Barnes RH, Visscher MB* – Am J Physiol, 1947 150(3),
 22. Influence of diet on survival of mice. *Fernandes G, Yunis EJ, Good RA* – Proc Natl Acad Sci U S A, 1976 Apr; 73(4), 1279:1283.
 23. Differential effects of dietary caloric and protein restriction in the aging rat. *Davis TA, Bales CW & cols* – Exp Gerontol, 1983, 18(6), 427:435.

24. Longevity-assurance mechanisms and caloric restriction. *Turturro A, Hart RW* – *Ann N Y Acad Sci*, 1991, 621, 363:372.
25. Caloric restriction in non-human primates: a progress report. *Roth GS, Ingram DK, Cutler RG* – *Aging (Milano)*, 1991 Dec, 3(4), 391:392.
26. Mid-life onset of dietary restriction extends life and prolongs cognitive functioning. *Means LW, & cols* – *Physiol Behav*, 1993 Sep, 54(3), 503:508.
27. The effects of overfeeding and dietary restriction on Sprague-Dawley rat survival and early pathology biomarkers of aging. *Keenan KP & cols* – *Toxicol Pathol*, 1994, 22(3), 300:315.
28. Role of caloric restriction in the prolongation of life. *McCarter RJ* – *Clin Geriatr Med*, 1995 Nov, 11(4), 553:565.
29. Caloric restriction and aging. *Weindruch R* – *Sci Am*, 1996 Jan, 274(1), 46:52.
30. The physiologic, neurologic, and behavioral effects of caloric restriction related to aging, disease, and environmental factors. *Duffy PH & cols* – *Environ Res*, 1997, 73(1-2), 242:248.
31. Caloric restriction and aging: an update. *Masoro EJ* – *Exp Gerontol*, 2000 May, 35(3), 299:305.
32. Caloric intake and aging: mechanisms in rodents and a study in nonhuman primates. *Wanagat J, Allison DB & Weindruch R* – *Toxicol Sci*, 1999 Dec, 52(2 Suppl), 35:40.
33. Aging and longevity genes. *Jazwinski SM* – *Acta Biochim Pol*, 2000; 47(2), 269:279.
34. Caloric restriction in primates and relevance to humans. *Roth GS, Ingram DK, Lane MA* – *Ann N Y Acad Sci*, 2001 Apr, 928, 305:315.
35. Caloric restriction in primates. *Lane MA, Black A, Handy A, Tilmont EM, Ingram DK, Roth GS* – *Ann N Y Acad Sci*, 2001 Apr, 928, 287:295.
36. Stress resistance by caloric restriction for longevity. *Yu BP, Chung HY* – *Ann N Y Acad Sci*, 2001 Apr, 928, 39:47
37. Caloric restriction and aging in primates: Relevance to humans and possible CR mimetics. *Lane MA, Mattison J, Ingram DK, Roth GS* – *Microsc Res Tech*, 2002 Nov, 59(4), 335:338.
38. Sirtuin gene expression in human mononuclear cells is modulated by caloric restriction. *Crujeiras AB, Parra D, Goyenechea E, Martínez JA* – *Eur J Clin Invest*, 2008 Sep, 38(9), 672:678.
39. Prolonged caloric restriction in obese patients with type 2 diabetes mellitus decreases myocardial triglyceride content and improves myocardial function. *Hammer S, Snel M, Lamb HJ, Jazet IM, van der Meer RW, Pijl H, Meinders EA, Romijn JA, de Roos A, Smit JW* – *J Am Coll Cardiol*, 2008 Sep, 52(12), 1006:1012.
40. Calorie restriction, oxidative stress and longevity. *López-Torres M, Barja G* – *Rev Esp Geriatr Gerontol*, 2008 Jul-Aug, 43(4), 252:260. Spanish.
41. Impact of westernization on the nutrition of Japanese: changes in physique, cancer, longevity and centenarians. *Kagawa Y* – *Prev Med*, 1978, 7(2), 205:217.
42. Effect of caloric restriction in non-obese humans on physiological, psychological and behavioral outcomes. *Redman LM & cols* – *Physiol Behav*, 2008 Aug, 4(5),.

43. Hungry for life: How the arcuate nucleus and neuropeptide Y may play a critical role in mediating the benefits of calorie restriction. *Minor RK, Chang JW, de Cabo R* – *Mol Cell Endocrinol*, 2009 Feb, 299(1), 79:88.
44. Effects of caloric restriction on cardiovascular aging in non-human primates and humans. *Cruzen C, Colman RJ* – *Clin Geriatr Med*, 2009 Nov, 25(4), 733:743.
45. Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Cantó C, Auwerx J* – *Trends Endocrinol Metab*, 2009 Sep, 20(7), 325:331.
46. Effect of caloric restriction on myocardial fatty acid uptake, left ventricular mass, and cardiac work in obese adults. *Viljanen APR & cols* – *Am J Cardiol*, 2009 Jun, 103(12).
47. Caloric restriction and longevity: the science and the ascetic experience. *Mehta LH, Roth GS* – *Ann N Y Acad Sci*, 2009 Aug; 1172, 28:33.
48. Caloric restriction and anti-aging. *Shirasawa T* – *Nippon Ronen Igakkai Zasshi*, 2009 May; 46(3), 222:224. Japanese
49. SIRT1 and caloric restriction: an insight into possible trade-offs between robustness and frailty. *Imai S* – *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2009 Jul, 12(4), 350:356.
50. Caloric restriction and aging: studies in mice and monkeys. *Anderson RM, Shanmuganayagam D, Weindruch R* – *Toxicol Pathol*, 2009, 37(1), 47:51.
51. Short-term low calorie diet intervention reduces serum advanced glycation end products in healthy overweight or obese adults. *Gugliucci A & cols* – *Ann Nutr Metab*, 2009, 54(3), 197:201.
52. Extending healthy life span--from yeast to humans. *Fontana L, Partridge L, Longo VD* – *Science*, 2010 Apr 16, 328(5976):321-326.
53. Calorie restriction and cancer prevention: metabolic and molecular mechanisms. *Longo VD, Fontana L* – *Trends Pharmacol Sci*, 2010, 31(2), 89:98.
54. Metabolic reprogramming, caloric restriction and aging. *Anderson RM, Weindruch R* – *Trends Endocrinol Metab*, 2010 Mar; 21(3), 134:141.
55. The physiologic effects of caloric restriction are reflected in the *in vivo* adipocyte - enriched proteome of overweight / obese subjects. The physiologic effects of caloric restriction are reflected in the *in vivo* adipocyte-enriched proteome of overweight/obese subjects. *Bouwman FG, Claessens M, van Baak MA, Noben JP, Wang P, Saris WH, Mariman EC*. *J Proteome Res*. 2009 Dec; (12):5532-5540.
56. Effect of caloric restriction in non-obese humans on physiological, psychological and behavioral outcomes. *Redman LM, Martin CK, Williamson DA & Ravussin E*. *Physiol Behav*, 2008, 94(5), 643-648.
57. Sirt-1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-g. *Picard F & cols* – *Nature*, 2004, 429 (6993), 711:726.
58. Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity. *Wu Z & cols* – *Mol Cell*. 1999 Feb, 3(2), 151:158.

59. ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Foretz m & cols* – Mol Cell Biol, 1999, 19(5), 3760:3768.
60. Impact of caloric and dietary restriction regimens on markers of health and longevity in humans and animals: a summary of available findings. *Trepanowski JF, Canale RE, Marshall KE, Kabir MM, Bloomer RJ*. Nutr J. 2011 Oct 7;10:107.
61. SIRT1 and caloric restriction: an insight into possible trade-offs between robustness and frailty. *Imai S*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2009 Jul;12(4):350-6.
62. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. *Anson RM, Guo Z, de Cabo R, Iyun T, Rios M, Hagepanos A, Ingram DK, Lane MA, Mattson MP*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 May 13;100(10):6216-62.
63. Alternate-day fasting and chronic disease prevention: a review of human and animal trials. *Varady KA, Hellerstein MK*. Am J Clin Nutr. 2007 Jul;86(1):7-13.
64. Relative role of caloric restriction and exercise training upon susceptibility to isoproterenol-induced myocardial infarction in male rats. *Crandall DL, Feirer RP, Griffith DR, Beitz DC*. Am J Clin Nutr. 1981 May;34(5):841-842.
65. Tandem action of exercise training and food restriction completely preserves ischemic preconditioning in the aging heart. *Abete P, Testa G, Galizia G, Mazzella F, Della Morte D, de Santis D, Calabrese C, Cacciatore F, Gargiulo G, Ferrara N, Rengo G, Sica V, Napoli C, Rengo F*. Exp Gerontol. 2005 Jan-Feb;40(1-2):43-50.
66. Effects of caloric restriction and exercise on age-related, chronic inflammation assessed by C-reactive protein and interleukin-6. *Kalani R, Judge S, Carter C, Pahor M, Leeuwenburgh C*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2006 Mar;61(3):211-217.
67. Lifelong exercise and mild (8%) caloric restriction attenuate age-induced alterations in plantaris muscle morphology, oxidative stress and IGF-1 in the Fischer-344 rat. *Kim JH, Kwak HB, Leeuwenburgh C, Lawler JM*. Exp Gerontol. 2008 Apr;43(4):317-329.
68. Mortality rate and longevity of food-restricted exercising male rats: a reevaluation. *Holloszy JO*. J Appl Physiol. 1997 Feb;82(2):399-403.
69. Moderate caloric restriction increases diaphragmatic antioxidant enzyme mRNA, but not when combined with lifelong exercise. *Deruisseau KC, Kavazis AN, Judge S, Murlasits Z, Deering MA, Quindry JC, Lee Y, Falk DJ, Leeuwenburgh C, Powers SK*. Antioxid Redox Signal. 2006 Mar-Apr; (3-4):539-57.
70. Hepatic oxidative stress during aging: effects of 8% long-term calorie restriction and lifelong exercise. *Seo AY, Hofer T, Sung B, Judge S, Chung HY, Leeuwenburgh C*. Antioxid Redox Signal. 2006 Mar-Apr;8(3-4):529-538.
71. Crucial dietary factors in maximizing life span and longevity in autoimmune-prone mice. *Kubo C, Johnson BC, Gajjar A, Good RA*. J Nutr. 1987 Jun;117(6):1129-1135.
72. Effect of lipid restriction on mitochondrial free radical production and oxidative DNA damage.

- Sanz A, Caro P, Sanchez JG, Barja G. *Annals N Y Acad Sci.* 2006 May;1067:200-209.
73. Carbohydrate restriction does not change mitochondrial free radical generation and oxidative DNA damage. Sanz A, Gómez J, Caro P, Barja G. *J Bioenerg Biomembr.* 2006 Dec;38(5-6):327-333.
 74. Cysteine supplementation reverses methionine restriction effects on rat adiposity: significance of stearyl-coenzyme A desaturase. Elshorbagy AK, Valdivia-Garcia M, Mattocks DA, Plummer JD, Smith AD, Drevon CA, Refsum H, Perrone CE. *J Lipid Res.* 2011 Jan;52(1):104-112.
 75. Methionine restriction effects on mitochondrial biogenesis and aerobic capacity in white adipose tissue, liver, and skeletal muscle of F344 rats. Perrone CE, Mattocks DA, Jarvis-Morar M, Plummer JD, Orentreich N. *Metabolism.* 2010 Jul;59(7):1000-11.
 76. Methionine restriction decreases visceral fat mass and preserves insulin action in aging male Fischer 344 rats independent of energy restriction. Malloy VL, Krajcik RA, Bailey SJ, Hristopoulos G, Plummer JD, Orentreich N. *Aging Cell.* 2006 Aug;5(4):305-314.
 77. Dietary methionine restriction increases fat oxidation in obese adults with metabolic syndrome. Plaisance EP, Greenway FL, Boudreau A, Hill KL, Johnson WD, Krajcik RA, Perrone CE, Orentreich N, Cefalu WT, Gettys TW. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 May;96(5): E836-840.
 78. Sparing of Methionine Requirements: Evaluation of Human Data Takes Sulfur Amino Acids Beyond Protein. Fukagawa N. *J Nutr,* 2006, 136, 1676S-1681S, June Supplement, 5th Amino Acid Assessment Workshop: Session II.
 79. Dietary cysteine reduces the methionine requirement in men. Marco Di Buono, Linda J Wykes, Ronald O Ball and Paul B Pencharz. *Am J Clin Nutr,* 2001, 74(6), 761-766.
 80. The In Vivo Sparing of Methionine by Cysteine in Sulfur Amino Acid Requirements in Animal Models and Adult Humans. Ball RO, Courtney-Martin G & Pencharz PB. *J Nutr,* 2006, 136:1682S-1693S, June Supplement: 5th Amino Acid Assessment Workshop: Session II.
 81. Adipose tissue adiponectin production and adiponectin serum concentration in human obesity and insulin resistance. Hoffstedt J, Arvidsson E, Sjölin E, Wahlen & Arner P. *J Clin Endoc Metab,* 2004, 89(3), 1391-1396.
 82. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Jun;20(6):1595-1599.
 83. Circulating adiponectin levels are reduced in nonobese but insulin-resistant first-degree relatives of type 2 diabetic patients. Pellmé F, Smith U, Funahashi T, Matsuzawa Y, Brekke H, Wiklund O, Taskinen MR, Jansson PA. *Diabetes.* 2003 May;52(5):1182-1186.
 84. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 May;86(5):1930-1935.

85. Can animal models of disease reliably inform human studies? *Der Worp HB, Howells DW, Sena ES, Porritt MJ, Rewell S, O'Collins V & Macleod MR*. PloS Medicine, 2010, 7(3).
86. Translating animal research into clinical benefit. *Hackam DG*. Brit Med J, 2007, 334, 163-164 editorials.
87. Translation of research evidence from animals to humans. *Hackman DG & Redelmeier DA*. JAMA, 2006, 296 (14), research letter.
88. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arterioesclerosis. *McCully KS*. Am J Pathol, 1969, 56(1), 111-128.
89. Hyperhomocysteinemia and the presence of cardiovascular disease are associated with kynurenic acid levels and carotid atherosclerosis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Pawlak K, Mysliwiec M, Pawlak D*. Thromb Res. 2011 Sep 8.
90. Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk. *Veeranna V, Zalawadiya SK, Niraj A, Pradhan J, Ference B, Burack RC, Jacob S, Afonso L*. J Am Coll Cardiol. 2011, 58(10):1025-1033.
91. Relationship between lipid profiles and plasma total homocysteine, cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects. *Xiao Y, Zhang Y, Lv X, Su D, Li D, Xia M, Qiu J, Ling W, Ma J*. Lipids Health Dis. 2011 Aug 12;10:137.
92. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. *Humphrey LL, Fu R, Rogers K, Freeman M & Helfand M*. Mayo Clinic Proceedings, 2008, 83 (11), 1203–1212.
93. Lipoprotein(a) and homocysteine as genetic risk factors for vascular and neuropathic diabetic foot in type 2 diabetes mellitus. *Gazzaruso C, Coppola A, Montalcini T, Baffero E, Garzaniti A, Pelissero G, Collaviti S, Grugnetti A, Gallotti P, Pujia A, Solerte SB, Giustina A*. Endocrine, 2011 Oct 11.
94. Hyperhomocysteinemia and leg ulcers: A prospective study of 68 patients. *Studer M, Barbaud A, Truchetet F, N'guyen PL, Bursztejn AC, Schmutz JL*. Ann Dermatol Venereol. 2011 Oct; 138(10):645-651.
95. A comprehensive association analysis of homocysteine metabolic pathway genes in Singaporean Chinese with ischemic stroke. *Low HQ, Chen CP, Kasiman K, Thalamuthu A, Ng SS, Foo JN, Chang HM, Wong MC, Tai ES, Liu J*. PLoS One. 2011;6(9):e24757.
96. Elevated plasma homocysteine level is an independent predictor of coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes mellitus. *Soinio M, Marniemi J, Laakso M, Lehto S & Rönkämaa T*. Annals of Internal Medicine, 2004, 140 (2), 94–100.
97. Hyperhomocysteinemia is independently associated with albuminuria in the population-based CoLaus study. *Marti F, Vollenweider P, Marques-Vidal PM, Mooser V, Waeber G, Paccaud F, Bochud M*. BMC Public Health. 2011 Sep 26; 11:733.
98. Homocysteine as a risk factor for nephropathy and retinopathy in Type 2 diabetes. *Looker HC, Fagot-Campagna A, Gunter EW & cols*. Diabetologia, 2003, 46 (6), 766–772.

99. Hyperhomocysteinemia in type 2 diabetes: relationship to macroangiopathy, nephropathy, and insulin resistance. *Buyschaert M, Dramais AS, Wallemacq PE & Hermans MP.* Diabetes Care, 2000, 23 (12), 1816–1822.
100. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the framingham offspring cohort. *Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWS, Rich S, Rosenberg IH & Selhub J.* Am J Clin Nutr, 2001, 73 (3), 613–621.
101. Hyperhomocysteinemia correlates with insulin resistance and low-grade systemic inflammation in obese prepubertal children. *Martos R, Valle M, Morales R, Cañete R, Gavilan MI & Sánchez-Margalet V.* Metabolism, 2006, 55 (1), 72–77.
102. Metabolic syndrome, insulin resistance, fibrinogen, homocysteine, leptin, and C-reactive protein in obese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Basoglu OK, Sarac F, Sarac S, Uluer H, Yilmaz C.* Ann Thorac Med. 2011 Jul;6(3):120-125.
103. Homocysteine and ghrelin link with polycystic ovary syndrome in relation to obesity. *Altuğ Şen T, Köken R, Narıcı A, Yilmazer M.* J Pediatr Adolesc Gynecol. 2011 Aug;24(4):211-7.
104. Early reduction of circulating homocysteine levels in Goto-Kakizaki rat, a spontaneous nonobese model of type 2 diabetes. *Noll C, Lacraz G, Ehses J, Coulaud J, Bailbe D, Paul JL, Portha B, Homo-Delarche F, Janel N.* Biochim Biophys Acta. 2011 Jun;1812(6):699-702.
105. Hyperhomocysteinemia, obesity and cryptogenic stroke. *Vayá A, Ejarque I, Tembl J, Corella D, Laiz B.* Clin Hemorheol Microcirc. 2011;47(1):53-58.
106. Serum adiponectin, leptin, C-peptide, homocysteine, and colorectal adenoma recurrence in the Polyp Prevention Trial. *Bobé G, Murphy G, Rogers CJ, Hance KW, Albert PS, Laiyemo AO, Sansbury LB, Lanza E, Schatzkin A, Cross AJ.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2010 Jun;19(6):1441-1452.
107. Homocisteína. *Neves LB, Macedo DM & Lopes AC.* J Bras Patol Med Lab, 2004, 40(5), 311-320.
108. Distinct effects of calorie restriction and resveratrol on diet induced obesity and fatty liver formation. *Tauriainen E, Luostarinen M, Martonen E, Finckenberg P, Kovalainen M, Huotari A, Herzig KH, Lecklin A & Mervaala E.* J Nutr Metabol, 2011, ID 525094.
109. Mitochondrial sirtuins. *Huang JY, Hirschey MD, Shimazu T, Ho L & Verdin E.* Bioch et Biophys Acta, 2010, 1804(8), 1645-1651.
110. SIRT4 regulates fatty acid oxidation and mitochondrial gene expression in liver and muscle cells. *Nasrin N, Wu X, Fortier E, Feng Y, Bare' OC, Chen S, Ren X, Wu Z, Streeper RS, Bordone L.* J Biol Chem, 2010, 285(42), 31995-32002.
111. SIRT1 promotes the central adaptive response to diet restriction through activation of the dorsomedial and lateral nuclei of the hypothalamus. *Satoh A, Brace CS, Ben-Josef G, West T, Wozniak DF, Holtzman DM.* J Neurosci, 2010, 30(30), 10220-10232.
112. The meter of metabolism. *Green CB, Takahashi JS, & Bass J.* Cell, 2008, 134, 728-742.
113. Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Ferrero*

- ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F, Corsi MM, Bonfrate M, Ferrara F, De Caterina R, Giovannini L, Bertelli A. Am J Clin Nutr. 1998, Dec; 68(6):1208-1214.*
114. Les facteurs de risqué coronarien. Le paradoxe français. *Richard JL. Arch Mal Coer Vaiss, 1987, 17-21.*
 115. The French paradox: fact or fiction? *Leiris J, Boucher F, Ducimetière P & Holdsworth M. Dialogues Cardio Dis, 2008, 13(3), 181-208.*
 116. Metabolic effects of resveratrol in mammals--a link between improved insulin action and aging. *Fröjdö S, Durand C, Pirola L. Curr Aging Sci. 2008 Dec;1(3):145-51.*
 117. The inhibitory effect of resveratrol on leptin secretion from rat adipocytes. *Szkudelska K, Nogowski L, Szkudelski T. Eur J Clin Invest. 2009 Oct; 39(10):899-905.*
 118. Effects of different doses of resveratrol on body fat and serum parameters in rats fed a hypercaloric diet. *Macarulla MT, Alberdi G, Gómez S, Tueros I, Bald C, Rodríguez VM, Martínez JA, Portillo MP. J Physiol Biochem. 2009 Dec; 65(4):369-76.*
 119. Resveratrol regulates human adipocyte number and function in a Sirt1-dependent manner. *Fischer-Posovszky P, Kukulus V, Tews D, Unterkircher T, Debatin KM, Fulda S, Wabitsch M. Am J Clin Nutr. 2010 Jul;92(1):5-15.*
 120. Resveratrol: a relevant pharmacological approach for the treatment of metabolic syndrome? *Beaudeau JL, Nivet-Antoine V, Giral P. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2010 Nov;13(6):729-736.*
 121. Sirtuin activators: designing molecules to extend life span. *Camins A, Sureda FX, Junyent F, Verdaguer E, Folch J, Pelegri C, Vilaplana J, Beas-Zarate C, Pallàs M. Biochim Biophys Acta. 2010 Oct-Dec; 1799(10-12):740-749.*
 122. Resveratrol, sirtuins, and the promise of a DR mimetic. *Baur JA. Mech Ageing Dev. 2010 Apr;131(4):261-269.*
 123. A possibility of nutraceuticals as an anti-aging intervention: activation of sirtuins by promoting mammalian NAD biosynthesis. *Imai S. Pharmacol Res. 2010 Jul;62(1):42-47.*
 124. .Mediobasal hypothalamic SIRT1 is essential for resveratrol's effects on insulin action in rats. *Knight CM, Gutierrez-Juarez R, Lam TK, Arrieta-Cruz I, Huang L, Schwartz G, Barzilai N, Rossetti L. Diabetes. 2011 Nov; 60(11):2691-2700.*
 125. Calorie Restriction-like Effects of 30 Days of Resveratrol Supplementation on Energy Metabolism and Metabolic Profile in Obese Humans. *Timmers S, Konings E, Bilet L, Houtkooper RH, van de Weijer T, Goossens GH, Hoeks J, van der Krieken S, Ryu D, Kersten S, Moonen-Kornips E, Hesselink MK, Kunz I, Schrauwen-Hinderling VB, Blaak EE, Auwerx J, Schrauwen P. Cell Metab. 2011 Nov 2; 14(5):612-622.*
 126. Activation of Sirt1 by Resveratrol Inhibits TNF- α Induced Inflammation in Fibroblasts. *Zhu X, Liu Q, Wang M, Liang M, Yang X, Xu X, Zou H, Qiu J. PLoS One. 2011; 6(11):e27081.*
 127. Sirt1 acts in association with PPAR α to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation. *Planavila A, Iglesias R, Giral M, Villarroya F. Cardiovasc Res.*

2011 May 1;90(2):276-84.

128. Dual targeting of the antagonistic pathways mediated by Sirt1 and TXNIP as a putative approach to enhance the efficacy of anti-aging interventions. *Mousa SA, Gallati C, Simone T, Dier E, Yalcin M, Dyskin E, Thangirala S, Hanko C, Rebbaa A.* Aging (Albany NY). 2009 Mar 31;1(4):412-424.
129. Female rats fed a high-fat diet were associated with vascular dysfunction and cardiac fibrosis in the absence of overt obesity and hyperlipidemia: therapeutic potential of resveratrol. *Aubin MC, Lajoie C, Clément R, Gosselin H, Calderone A, Perrault LP.* J Pharmacol Exp Ther. 2008 Jun;325(3):961-968.
130. The effects of chronic resveratrol treatment on vascular responsiveness of streptozotocin-induced diabetic rats. *Silan C.* Biol Pharm Bull. 2008 May 31(5):897-902.
131. Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. *Kim S, Jin Y, Choi Y, Park T.* Biochem Pharmacol. 2011 Jun 1;81(11):1343-1351.
132. The dietary flavonol fisetin enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in prostate cancer cells. *Szliszka E, Helewski KJ, Mizgala E, Krol W.* Int J Oncol. 2011 Oct;39(4):771-9. doi: 10.3892/ijo.2011.1116.
133. Dietary flavonoid fisetin targets caspase-3-deficient human breast cancer MCF-7 cells by induction of caspase-7-associated apoptosis and inhibition of autophagy. *Yang PM, Tseng HH, Peng CW, Chen WS, Chiu SJ.* Int J Oncol. 2011 Sep 15. doi: 10.3892/ijo.2011.1203.
134. Fisetin induces apoptosis in human cervical cancer HeLa cells through ERK1/2-mediated activation of caspase-8/caspase-3-dependent pathway. *Ying TH, Yang SF, Tsai SJ, Hsieh SC, Huang YC, Bau DT, Hsieh YH.* Arch Toxicol. 2011 Oct 1.
135. Fisetin, a novel flavonol attenuates benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. *Ravichandran N, Suresh G, Ramesh B, Siva GV.* Food Chem Toxicol. 2011 May;49(5):1141-7
136. Fisetin: a natural fist against melanoma? *Arbiser JL, Fisher DE.* J Invest Dermatol. 2011 Jun;131(6):1187-1189.
137. Modulatory effects of fisetin, a bioflavonoid, on hyperglycemia by attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in hepatic and renal tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Prasath GS, Subramanian SP.* Eur J Pharmacol. 2011 Oct 15;668(3):492-496.
138. The actions of fisetin on glucose metabolism in the rat liver. *Constantin RP, Constantin J, Pagadigorria CL, Ishii-Iwamoto EL, Bracht A, Ono Mde K, Yamamoto NS.* Cell Biochem Funct. 2010 Mar;28(2):149-58
139. Fisetin lowers methylglyoxal dependent protein glycation and limits the complications of diabetes. *Maher P, Dargusch R, Ehren JL, Okada S, Sharma K, Schubert D.* PLoS One. 2011;6(6):e21226.
140. Induction of glutathione synthesis and heme oxygenase 1 by the flavonoids butein and phloretin

- is mediated through the ERK/Nrf2 pathway and protects against oxidative stress. *Yang YC, Lii CK, Lin AH, Yeh YW, Yao HT, Li CC, Liu KL, Chen HW*. *Free Radic Biol Med*. 2011 Dec 1; 51(11):2073-81.
141. The small polyphenolic molecule kaempferol increases cellular energy expenditure and thyroid hormone activation. *da Silva WS, Harney JW, Kim BW, Li J, Bianco SDC, Crescenzi A, Christoffolete MA, Huang SA & Bianco AC*. *Diabetes*, 2007, 56, 767.-776
 142. http://nutrition.merschat.com/foods-by-nutrient.cgi?Nutr_No=786.
 143. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos 4a. edição revisada e ampliada. NEPA, Min Desenv Social Combate Fome / Min Saúde.
 144. <http://www.aeb.org/food-manufacturers/egg-nutrition-and-trends/nutrient-composition#5>.
 145. <http://www.food-allergens.de/password/symposium-3-1/shrimps/shrimps-composition.htm>
 146. <http://nutritiondata.self.com/facts/legumes-and-legume-products/4393/2>.
 147. Fatty acid desaturation index correlates with body mass and adiposity indices of obesity in Wistar NIN obese mutant rat strains WNIN/Ob and WNIN/GR-Ob. *Jeyakumar SM, Lopamudra P, Padmini S, Balakrishna N, Giridharan NV & Vajreswari A*. *Nutr Metabol*, 2009, 6(27).
 148. Effect of kaempferol on the production and gene expression of monocyte chemoattractant protein-1 in J774.2 macrophages. *Kowalski J, Samojedny A, Paul M, Pietsz G, Wilczok T*. *Pharmacol Rep*. 2005 Jan-Feb;57(1):107-112.
 149. Synergistic antiproliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol in cultured human cancer cell lines. *Ackland ML, van de Waarsenburg S, Jones R*. *In Vivo*. 2005 Jan-Feb;19(1):69-76.
 150. Modulation of the cyclooxygenase pathway via inhibition of nitric oxide production contributes to the anti-inflammatory activity of kaempferol. *Mahat MY, Kulkarni NM, Vishwakarma SL, Khan FR, Thippeswamy BS, Hebballi V, Adhyapak AA, Benade VS, Ashfaque SM, Tubachi S, Patil BM*. *Eur J Pharmacol*. 2010 Sep 10; 642(1-3):169-176.
 151. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR α) suppresses postprandial lipidemia through fatty acid oxidation in enterocytes. *Kimura R, Takahashi N, Murota K, Yamada Y, Niiya S, Kanzaki N, Murakami Y, Moriyama T, Goto T, Kawada T*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Jun 24;410(1):1-6.
 152. Lipid metabolism in the heart – contribution of BMIPP to the diseased heart. *Nohara R*. *Ann Nucl Med*, 2001, 15(5), 403-409.
 153. Exercise improved rat metabolism by raising PPAR- α . *Zhang S, Liu Y, Li Q, Dong X, Hu H, Hu R, Ye H, Wu Y, Hu R, Li Y*. *Int J Sports Med*. 2011 Aug; 32(8):568-573.
 154. Dietary naringenin increases hepatic peroxisome proliferators-activated receptor α protein expression and decreases plasma triglyceride and adiposity in rats. *Cho KW, Kim YO, Andrade JE, Burgess JR, Kim YC*. *Eur J Nutr*. 2011 Mar; 50(2):81-88.
 155. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Zhang Y, Proenca R, Maffaei M, Barone M, Leopold L & Friedmann JM*. *Nature*, 1994, 372, 425-432.

156. Resting metabolic rate in healthy adults: relation to growth hormone status and leptin levels. *Jorgensen JOL, Vahl N, Dall R & Christiansen JS*. *Metabolism*, 1998, 47, 1134-1139.
157. Resveratrol content in strawberry fruit is affected by preharvest conditions. *Wang SY, Chen CT, Wang CY, Chen P*. *J Agric Food Chem*. 2007 Oct 3; 55(20):8269-8274.
158. Increasing the content of active constituents in *Polygonum cuspidatum* hairy root by gene transformation technology. *Miao XY, Yu SH, Shen YZ, Huang ZJ*. *Yao Xue Xue Bao*. 2007 Sep; 42(9):995-999.
159. Activation of cholesterol synthesis in preference to fatty acid synthesis in liver and adipose tissue of transgenic mice overproducing sterol regulatory element-binding protein-2. Horton JD, Shimomura I, Brown MS, Hammer RE, Goldstein JL, Shimano H. *J Clin Invest*. 1998 Jun 1;101(11):2331-2339.
160. Hepatic steatosis: a role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c. *Ferré P, Foufelle F*. *Diabetes Obes Metab*. 2010 Oct; 12 Suppl 2:83-92.
161. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate reduces body weight with regulation of multiple genes expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Lee MS, Kim CT, Kim Y*. *Ann Nutr Metab*. 2009;54(2):151-157.
162. Epigallocatechin-3-gallate inhibits proliferation and migration of human colon cancer SW620 cells in vitro. *Zhou F, Zhou H, Wang T, Mu Y, Wu B, Guo DL, Zhang XM, Wu Y*. *Acta Pharmacol Sin*. 2011 Nov 21. doi: 10.1038/aps.2011.139.
163. Pro-apoptotic and anti-inflammatory properties of the green tea constituent epigallocatechin gallate increase photodynamic therapy responsiveness. *Ferrario A, Luna M, Rucker N, Wong S, Gomer CJ*. *Lasers Surg Med*. 2011 Sep; 43(7):644-650.
164. Green Tea Catechins Reduce Invasive Potential of Human Melanoma Cells by Targeting COX-2, PGE(2) Receptors and Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *Singh T, Katiyar SK*. *PLoS One*. 2011; 6(10):e25224. Epub 2011 Oct 13.
165. Epigallocatechin gallate, the major component of polyphenols in green tea, inhibits telomere attrition mediated cardiomyocyte apoptosis in cardiac hypertrophy. *Sheng R, Gu ZL, Xie ML*. *Int J Cardiol*. 2011 Oct 14.
166. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate suppresses melanoma growth by inhibiting inflammasome and IL-1 β secretion. *Ellis LZ, Liu W, Luo Y, Okamoto M, Qu D, Dunn JH, Fujita M*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Oct 28; 414(3):551-556.
167. (-)-Epigallocatechin-3-gallate Protects Against Neuronal Cell Death and Improves Cerebral Function After Traumatic Brain Injury in Rats. *Itoh T, Imano M, Nishida S, Tsubaki M, Hashimoto S, Ito A, Satou T*. *Neuromolecular Med*. 2011 Dec; 13(4):300-309.
168. 670nm Lase light and ECGC complementarily reduce amyloid-b aggregates in human neuroblastoma cells: basis for treatment of Alzheimer's disease? *Sommer AP, Bieschke J, Friedrich RP, Zhua D, Wanker EE, Fecht HJ, Mereles D, Hunstein W*. *Photomed Laser Surg*. 2011 Oct 26.

169. Black Tea Theaflavins Inhibit Formation of Toxic Amyloid- β and α -Synuclein Fibrils. *Grelle G, Otto A, Lorenz M, Frank RF, Wanker EE, Bieschke J*. *Biochemistry*. 2011 Nov 16.
170. Effects of Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-gallate on Newly Developed High-Fat/Western-Style Diet-Induced Obesity and Metabolic Syndrome in Mice. *Chen YK, Cheung C, Reuhl KR, Liu AB, Lee MJ, Lu YP, Yang CS*. *J Agric Food Chem*. 2011 Nov 9;59(21):11862-11871.
171. Tea catechins modulate the glucose transport system in 3T3-L1 adipocytes. *Ueda M, Furuyashiki T, Yamada K, Aoki Y, Sakane I, Fukuda I, Yoshida K, Ashida H*. *Food Funct*. 2010 Nov;1(2):167-73.
172. Comparison of the effect of oligonol, a new lychee fruit-derived low molecular form of polyphenol, and epigallocatechin-3-gallate on lipolysis in rat primary adipocytes. *Ogasawara J, Kitadate K, Nishioka H, Fujii H, Sakurai T, Kizaki T, Izawa T, Ishida H, Ohno H*. *Phytother Res*. 2011 Mar;25(3):467-71.
173. Effect of Plant Polyphenols on Adipokine Secretion from Human SGBS Adipocytes. *Derdemezis CS, Kiortsis DN, Tsimihodimos V, Petraki MP, Vezyraki P, Elisaf MS, Tselepis AD*. *Biochem Res Int*. 2011;2011:285618.
174. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K*. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Apr 16;221(2):286-9.
175. Butein, a Tetrahydroxychalcone, Inhibits Nuclear Factor (NF)- κ B and NF- κ B-regulated Gene Expression through Direct Inhibition of I κ B α Kinase β on Cysteine 179 Residue. *Pandey MK, Sandur SK, Sung B, Sethi G, Kunnumakkara AB & Aggarwal BB*. *J Biol Chem*, 282, 17340-17350.
176. The putative effects of green tea on body fat: an evaluation of the evidence and a review of the potential mechanisms. *Thavanesan N*. *Br J Nutr*. 2011 Nov; 106(9):1297-1309.
177. Does supplementation with green tea extract improve insulin resistance in obese type 2 diabetics? A randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial. *Hsu CH, Liao YL, Lin SC, Tsai TH, Huang CJ, Chou P*. *Altern Med Rev*. 2011 Jun;16(2):157-163.
178. Green tea aqueous extract reduces visceral fat and decreases protein availability in rats fed with a high-fat diet. *Bajerska J, Wozniewicz M, Jeszka J, Drzymala-Czyz S, Walkowiak J*. *Nutr Res*. 2011 Feb;31(2):157-64.
179. Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. *Rains TM, Agarwal S, Maki KC*. *J Nutr Biochem*. 2011 Jan; 22(1):1-7.
180. Green tea catechins, caffeine and body-weight regulation. *Westerterp-Plantenga MS*. *Physiol Behav*. 2010 Apr 26;100(1):42-46.
181. Green tea improves metabolic biomarkers, not weight or body composition: a pilot study in overweight breast cancer survivors. *Stendell-Hollis NR, Thomson CA, Thompson PA, Bea JW, Cussler EC, Hakim IA*. *J Hum Nutr Diet*. 2010 Dec; 23(6):590-600.

182. Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin gallate on titanium particle-induced TNF- α release and in vivo osteolysis. *Jin S, Park JY, Hong JM, Kim TH, Shin HI, Park EK, Kim SY. Exp Mol Med.* 2011 Jul 30; 43(7):411-418.
183. Green tea polyphenols reduce autoimmune symptoms in a murine model for human Sjogren's syndrome and protect human salivary acinar cells from TNF-alpha-induced cytotoxicity. *Hsu SD, Dickinson DP, Qin H, Borke J, Ogbureke KU, Winger JN, Camba AM, Bollag WB, Stöppler HJ, Sharawy MM, Schuster GS. Autoimmunity.* 2007 Mar; 40(2):138-147.
184. DsbA-L alleviates endoplasmic reticulum stress-induced adiponectin downregulation. *Zhou L, Liu M, Zhang J, Chen H, Dong LQ & Liu F. Diabetes,* 2010 Nov, 59, 2809-2815.
185. Taurine activates GABA(A) but not GABA(B) receptors in rat hippocampal CA1 area. *del Olmo N, Bustamante J, del Rio RM, Solis JM – Brain Res,* 2000, 864:298–307.
186. Activation of GABA(A) receptors by taurine and muscimol blocks the neurotoxicity of beta-amyloid in rat hippocampal and cortical neurons. *Paula-Lima AC, De Felice FG, Brito-Moreira J, Ferreira ST – Neuropharmacology,* 2005, 49(8):1140-1148.
187. Modulation of human GABA ρ 1 receptors by taurine. *Ochoa-de la Paz LD, Martínez-Dávila IA, Miledi R, Martínez-Torres A – Neurosci Res,* 2008, 61(3):302-308.
188. Taurine activates glycine and gamma-aminobutyric acid A receptors in rat substantia gelatinosa neurons. *Wu J & cols – Neuroreport,* 2008, 19(3):333-337.
189. Taurine is a potent activator of extrasynaptic GABA(A) receptors in the thalamus. *Jia F & cols – J Neurosci,* 2008, 28(1):106-115.
190. Neuroprotective effect of taurine against focal cerebral ischemia in rats possibly mediated by activation of both GABA(A) and glycine receptors. *Wang GH, Jiang ZL, Fan XJ, Zhang L, Li X, Ke KF – Neuropharmacology,* 2007, 52(5):1199-1209.
191. Pharmacological characterization of GABA(A) receptors in taurine-fed mice. *L'Amoreaux WJ, Marsillo A, El Idrissi A – J Biomed Sci,* 2010, 17 Suppl 1:S14.
192. Tauroursodeoxycholic acid partially prevents apoptosis induced by 3-nitropropionic acid: evidence for a mitochondrial pathway independent of the permeability transition. *Rodrigues CM, Steiers CL, Keene CD, Ma X, Kren BT, Low WC, Steer CJ. J Neurochem.* 2000 Dec;75(6):2368-2379.
193. Taurine (2-aminoethanesulfonic acid) deficiency creates a vicious circle promoting obesity. *Tsuboyama-Kasaoka N & cols – Endocrinology,* 2006, 147(7):3276-3284.
194. Taurine in adipocytes prevents insulin-mediated H₂O₂ generation and activates Pka and lipolysis. *Piña-Zentella G, de la Rosa-Cuevas G, Vázquez-Meza H, Piña E, de Piña MZ. Amino Acids,* 2011 May 3.
195. Antiobesity effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) in high fat diet –induced obese mice. *Arçari DP, Bartchewsky W, dos Santos TW, Oliveira KA, Funck A, Pedrazzoli J, de Souza MF, Saad MJ, Bastos DHM, Gambero A, Carvalho PO & Ribeiro ML. Obesity,* 2009, 17(12), 2127-2133.

196. Maté tea inhibits in vitro pancreatic lipase activity and has hypolipidemic effect on high fat diet induced obese mice. *Martins F, Noso TM, Porto VB, Curiel A, Gambero A, Bastos DHM, Ribeiro ML & Carvalho PO.* Obesity, 2010, 18(1), 42-47.
197. Potentiation of the thermogenic antiobesity effects of ephedrine by dietary methylxanthines: adenosine antagonism or phosphodiesterase inhibition? *Dulloo AG, Seydoux J, Girardier L.* Metabolism. 1992 Nov; 41(11):1233-1241.
198. Comparison of oral nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) versus conventional therapy for chronic fatigue syndrome. *Santaella ML, Font I, Disdier OM.* P R Health Sci J. 2004 Jun;23(2):89-93.
199. Therapeutic effects of oral NADH on the symptoms of patients with chronic fatigue syndrome. *Forsyth LM, Preuss HG, MacDowell AL, Chiazze L Jr, Birkmayer GD, Bellanti JA.* Ann Allergy Asthma Immunol. 1999 Feb;82(2):185-191.
200. Complementary and alternative medicine for patients with chronic fatigue syndrome: A systematic review. *Alraek T, Lee MS, Choi TY, Cao H, Liu J.* BMC Complement Altern Med. 2011 Oct 7;11:87.
201. Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) in patients with chronic fatigue syndrome. *Alegre J, Rosés JM, Javierre C, Ruiz-Baqués A, Segundo MJ, de Sevilla TF.* Rev Clin Esp. 2010 Jun;210(6):284-288.
202. A possibility of nutraceuticals as an anti-aging intervention: activation of sirtuins by promoting mammalian NAD biosynthesis. *Imai S.* Pharmacol Res, 2010, 62(1), 42-47.
203. Small molecules activators of sirt1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, Jin L, Boss O, Perni RB, Vu CB, Bemis JE, Xie R, Disch JS, Ng PY, Nunes JJ, Lynch AV, Yang H, Galonek H, Israelian K, Choy W, Iffland A, Lavu S, Medvedik O, Sinclair DA, Olefsky JM, Jirousek MR Elliott PJ & Westphal CH.* Nature, 2007, 450, 712-7.
204. Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia and obesity: implications for a nutrigenetic approach. *Curti MLR, Jacob P, Borges MC, Rogero MM & Ferreira SRG.* J Obesity, 2011, ID 497401.
205. Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: the HIFMECH study. *Yudkin JS, Juhan-Vague I, Hawe E, Humphries SE, di Minno G, Margaglione M, Tremoli E, Kooistra T, Morange PE, Lundman P, Mohamed-Ali V, Hamsten A; HIFMECH Study Group.* Metabolism. 2004 Jul;53(7):852-857.
206. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Fernández-Real JM & Ricart W.* Endoc Rev, 2003, 24(3), 278-301.
207. Normal-weight obese syndrome: early inflammation. *de Lorenzo A, del Gobbo V, Premrov MG, Bigioni M, Galvano F, Di Renzo L.* Am J Clin Nutr, 85(1), 40-45.
208. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *Wellen KE & Hotamisligil GS.* J Clin Invest. 2003; 112(12):1785–1788.

209. Body mass index is directly associated with biomarkers of angiogenesis and inflammation in children and adolescents. *Siervo M, Ruggiero D, Sorice R, Nutile T, Aversano M, Iafusco M, Vetrano F, Wells JC, Stephan BC, Ciullo M.* Nutrition. 2011 Nov 22.
210. Studies of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma gene in the Danish MONICA cohort: homozygosity of the Ala allele confers a decreased risk of the insulin resistance syndrome. *Frederiksen L, Brødbæk K, Fenger M, Jørgensen T, Borch-Johnsen K, Madsbad S, Urhammer SA.* J Clin Endocrinol Metab. 2002 Aug; 87(8):3989-3992.
211. Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population. *Ghoussaini M, Meyre D, Lobbens S, Charpentier G, Clément K, Charles MA, Tauber M, Weill J, Froguel P.* BMC Med Genet. 2005 Mar 22;6:11.
212. Energy balance and food intake: the role of PPARgamma gene polymorphisms. *Cecil JE, Watt P, Palmer CN, Hetherington M.* Physiol Behav. 2006 Jun 30; 88(3):227-33.
213. The minor allele of the PPARgamma2 pro12Ala polymorphism is associated with lower postprandial TAG and insulin levels in non-obese healthy men. *Helwig U, Rubin D, Kiosz J, Schreiber S, Fölsch UR, Nothnagel M, Döring F, Schrezenmeir J.* Br J Nutr. 2007 May; 97(5):847-854.
214. Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Louis E, Franchimont D, Piron A, Gevaert Y, Schaaf-Lafontaine N, Roland S, Mahieu P, Malaise M, De Groot D, Louis R, Belaiche J.* Clin Exp Immunol. 1998 Sep; 113(3):401-406.
215. Risk of obesity and type 2 diabetes with tumor necrosis factor- α 308G/A gene polymorphism in metabolic syndrome and coronary artery disease subjects. *Sobti RC, Kler R, Sharma YP, Talwar KK, Singh N.* Mol Cell Biochem. 2011 Nov 13.
216. Fish oil improves lipid metabolism and ameliorates inflammation in patients with metabolic syndrome: Impact of nonalcoholic fatty liver disease. *Al-Gayyar MM, Shams ME, Barakat EA.* Pharm Biol. 2011 Nov 21.
217. A long-range PCR method for genotyping promoter variants in the interleukin-6 gene. *Stephens JW, Palmen JM, Hurel SJ, Humphries SE.* Thromb Haemost. 2003 Apr;89(4):765-757.
218. An interaction between the interleukin-6 -174G>C gene variant and urinary protein excretion influences plasma oxidative stress in subjects with type 2 diabetes. *Stephens JW, Hurel SJ, Acharya J, Humphries SE.* Cardiovasc Diabetol. 2004 Mar 1;3:2.
219. A common functional variant in the interleukin-6 gene is associated with increased body mass index in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Stephens JW, Hurel SJ, Cooper JA, Acharya J, Miller GJ, Humphries SE.* Mol Genet Metab. 2004 Jun;82(2):180-186.
220. Association between plasma IL-6, the IL6 -174G>C gene variant and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus. *Stephens JW, Hurel SJ, Lowe GD, Rumley A, Humphries SE.* Mol Genet Metab. 2007 Apr;90(4):422-428.
221. The anti-inflammatory effect of paraoxonase 1 against oxidized lipids depends on its

- association with high density lipoproteins. *Loued S, Isabelle M, Berrougui H, Khalil A.* Life Sci. 2011 Oct 29.
222. DNA polymorphisms at the apolipoprotein A1-CIII loci in Taiwanese: correlation of plasma APOCIII with triglyceride level and body mass index. *Wu JH, Kao JT, Wen MS, Lo SK.* J Formos Med Assoc. 2000 May; 99(5):367-374.
223. Plasma Glutathione Peroxidase Activity is Potentially a Key Regulator of Vascular Disease-Associated Thrombosis. *Wolin MS.* Circulation, 2011; 123: 1923-1924.
224. Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. *Jablonska E, Gromadzinska J, Reszka E, Wasowicz W, Sobala W, Szeszenia-Dabrowska N, Boffetta P.* Eur J Nutr. 2009 Sep;48(6):383-386.
225. Associations between glutathione peroxidase-1 Pro198Leu polymorphism, selenium status, and DNA damage levels in obese women after consumption of Brazil nuts. *Cominetti C, de Bortoli MC, Purgatto E, Ong TP, Moreno FS, Garrido AB Jr, Cozzolino SM.* Nutrition. 2011 Sep;27(9):891-896.
226. The biochemistry of the isoprostane, neuroprostane, and isofuran pathways of lipid peroxidation. *Roberts LJ 2nd, Fessel JP.* Chem Phys Lipids. 2004 Mar; 128(1-2):173-186.
227. Urinary F2-Isoprostanes as a Biomarker of Reduced Risk of Type 2 Diabetes. *Il'yasova D, Spasojevic I, Base K, Zhang H, Wang F, Young SP, Millington DS, D'Agostino RB Jr, Wagenknecht LE.* Diabetes Care. 2011 Nov 18.
228. Longevity and diet in Okinawa, Japan: the past, present and future. *Miyagi S, Iwama N, Kawabata T, Hasegawa K.* Asia Pac J Public Health. 2003;15 Supp 3-9.
229. Oral hydroxycitrate supplementation enhances glycogen synthesis in exercised human skeletal muscle. *Cheng IS, Huang SW, Lu HC, Wu CL, Chu YC, Lee SD, Huang CY, Kuo CH.* Br J Nutr. 2011 Aug 9:1-8.
230. The Use of Garcinia Extract (Hydroxycitric Acid) as a Weight loss Supplement: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Clinical Trials. *Onakpoya I, Hung SK, Perry R, Wider B, Ernst E.* J Obes. 2011;2011:509038.
231. Inhibition of stearoyl-CoA desaturase1 activates AMPK and exhibits beneficial lipid metabolic effects in vitro. *Kim E, Lee JH, Ntambi JM, Hyun CK.* Eur J Pharmacol, 2011 Dec, 672(1-3):38-44.
232. The role of uncoupling protein 2 (UCP2) on the development of type 2 diabetes mellitus and its chronic complications. *Souza BM, Assmann TS, Kliemann LM, Gross JL, Canani LH, Crispim D.* Arq Bras Endocrinol Metabol. 2011 Jun; 55(4):239-248.
233. Endoplasmic reticulum stress-induced CHOP activation mediates the down-regulation of leptin in human neuroblastoma SH-SY5Y cells treated with the oxysterol 27-hydroxycholesterol. *Marwarha G, Dasari B, Ghribi O.* Cell Signal. 2012 Feb; 24(2):484-92.
234. Introduction to Biochemical Toxicology – 2ª Edição, 1994. *Hodgson, E & Levi PE* – Ed. Appleton & Lange.